

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**GÜRÜLTÜYE BAĞLI İŞİTME KAYBINDA
OLEUROPEİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DR. ÖZGÜR KÜMÜŞ

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2019

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

GÜRÜLTÜYE BAĞLI İŞİTME KAYBINDA OLEUROPEİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

ÖZGÜR KÜMÜŞ

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. SEMİH SÜTAY

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2018.KB.SAG.037
proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER	I
TABLO LİSTESİ	IV
ŞEKİL LİSTESİ	V
KISALTMALAR	VII
TEŞEKKÜR	VIII
ÖZET	1
ABSTRACT	3
1.GİRİŞ VE AMAÇ	5
1.1 Problemin Tanımı ve Önemi	5
1.2 Araştırmanın Amacı ve Hipotezi.....	6
2.GENEL BİLGİLER	7
2.1 KULAK ANATOMİSİ VE İŞİTME FİZYOLOJİSİ	7
2.1.1 İnsan Kulağının Anatomisi ve Fizyolojisi	7
2.1.1.1 Dış Kulak	7
2.1.1.2 Orta Kulak.....	8
2.1.1.3 İç Kulak.....	8
2.1.1.3.1 Koklea	9
2.1.1.3.1.1 Tüylü Hücreler	11
2.1.1.3.2 Kokleanın İnnervasyonu.....	13
2.1.1.4 Santral İşitsel Yolların Anatomisi	14
2.1.2 Sıçan Kulak Anatomisi ve İşitme Fizyolojisi	15
2.2 GÜRÜLTÜYE BAĞLI İŞİTME KAYBI	17
2.2.1 Gürültü ve Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı Epidemiyolojisi	17
2.2.1.1 Geçici Eşik Değişikliği.....	19
2.2.1.2 Kalıcı Eşik Değişikliği.....	19
2.2.1.3 Eşdeğer Enerji Kavramı.....	20
2.2.2 Gürültüye Bağlı İşitme Kaybında Objektif Odyolojik Değerlendirme	21
2.2.2.1 Otoakustik Emisyonlar (OAE).....	21
2.2.2.1.1 Otoakustik Emisyon Türleri ve Özellikleri.....	22
2.2.2.1.1.1 Spontan Otoakustik Emisyonlar	22

2.2.2.1.1.2 Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar.....	22
2.2.2.2 İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP)	22
2.2.3 Sıçanlarda İşitmenin Değerlendirilmesi	24
2.2.4 İç Kulakta Gürültüye Bağlı Hasarın Mekanizmaları	26
2.2.4.1 Gürültüye Bağlı Mekanik Hasar Oluşumu.....	26
2.2.4.2 Gürültüye Bağlı Metabolik Hasar Oluşumu.....	27
2.2.4.2.1 İç Kulakta Serbest Radikallerin Etkileri	27
2.2.4.2.2 Kokleada Kalsiyum Homeostazı ve Serbest Radikal Üretimi	28
2.2.4.2.3 Glutamat Eksitotoksitesi	29
2.2.4.2.4 Programlı Hücre Ölümü ve Nekroz	29
2.2.5 Gürültüye Bağlı İşitme Kaybında Antioksidanlar ve Oleuropein	31
2.2.5.1 Antioksidan Ajanlar	31
2.2.5.1.1 Oleuropein.....	31
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1 Araştırmanın Tipi	34
3.2 Araştırmanın Yeri ve Zamanı	34
3.3 Araştırmanın Evreni ve Örneklemi / Çalışma Grupları.....	34
3.4 Araştırma Materyali.....	36
3.5 Araştırmanın Değişkenleri	37
3.6 Veri Toplama Araçları	37
3.6.1 Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı Modelinin Oluşturulması.....	38
3.6.2 Anestezi Yöntemi	39
3.6.3 İşitme Değerlendirmesi	39
3.6.3.1 İşitme Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi	39
3.6.3.2 Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon Testi	41
3.6.3.3 İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri Testi.....	42
3.6.4 Ajan Uygulaması.....	43
3.6.5 Histolojik İnceleme	44
3.6.5.1 Hematoksilen – Eozin Boyama	44
3.6.5.2 TUNEL Boyama	44
3.7 Araştırmanın Planı ve Takvimi	45
3.8 Verilerin Değerlendirilmesi	46
3.9 Etik Kurul Onayı	46
4.BULGULAR	47

4.1 İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP)	47
4.1.1 Dalga Morfolojisi	47
4.1.2 Tüm Grupların İUBP Eşik Ortalamaları ve Değişimi	49
4.2 Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) Bulguları	60
4.3 Histolojik Görüntüleme Sonuçları	62
4.3.1 Işık Mikroskopi Bulguları	62
4.3.2 TUNEL Tekniği ile Korti Organı ve Spiral Ganglion Hücrelerinde Apoptoz Belirlenmesi	69
5.TARTIŞMA	71
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	82
7.KAYNAKLAR	83
8.EKLER	92

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. NIOSH ve OSHA' ya göre gürültü düzeyi ile maruz kalınması önerilen süre ilişkisi

Tablo 2. Gruplara uygulanan deneysel işlemlerin zaman çizelgesi.

Tablo 3. Tüm grupların bazal işitme değerlendirmesindeki İUBP eşik ortalamaları ve standart sapma değerleri

Tablo 4. Grupların her bir frekanstaki bazal, 1, 7 ve 10. günde saptanan İUBP eşiklerinin maksimum, minimum, medyan, ortalama ve standart sapma değerleri (dB SPL) ile Friedman varyans analizindeki p değerleri

Tablo 5. Gürültü verilen SF grubunda gürültü sonrasında 1,7 ve 10. günler arasında işitme eşik değişimlerinin istatistiksel dağılımı (* $p < 0,05$)

Tablo 6. Gürültü verilen OLE grubunda gürültü sonrasında 1,7 ve 10. günler arasında işitme eşik değişimlerinin istatistiksel dağılımı (* $p < 0,05$)

Tablo 7. Deney SF ve Deney OLE grubuna ait 4 kHz, 8kHz, 12 kHz, 16 kHz ve 32 kHz'e ait işitme eşik değişimleri ortalamalarının Mann-Whitney U testi ile yapılan analizlerdeki p değerleri ($p < 0,05^*$)

Tablo 8. Her bir gruptaki sıçanların sağ ve sol kulaklarına ait İUBP eşiklerinin ortalama ve standart sapma değerleri

Tablo 9. Tüm grupların bazal DPOAE amplitüdüleri ve standart hata değerleri

Tablo 10. Kontrol SF ve Kontrol OLE gruplarının 1,7 ve 10. Gün DPOAE yanıtlarının ortalama amplitüdüleri ve standart hata değerleri (dB)

Tablo 11. Tüm gruplarda HE boyamasıyla yapılan ışık mikroskopik incelemede spiral ganglionlardaki piknotik hücre yüzdelerinin ortalama \pm standart sapma ve minimum/maksimum değerleri

Tablo 12. Tüm gruplarda HE boyamasıyla yapılan ışık mikroskopik incelemede spiral ganglionlardaki piknotik hücre yüzdelerinin Mann-Whitney U testi ile ikişerli analizi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Korti organını oluşturan yapılar.

Şekil 2. İç ve Dış Tüylü Hücrelerin şematik gösterimi.

Şekil 3. Kokleadan, temporal lob korteksine dek işitme yolları.

Şekil 4. Laboratuvar hayvanlarının insanla karşılaştırmalı işitme frekans aralıkları

Şekil 5. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri Dalgaları ve Kaynaklandıkları Düşünülen Sinirsel Yapılar

Şekil 6. Gürültüye bağlı DTH'lerde meydana gelen mekanik hasar

Şekil 7. Oleuropein ve oleuropein hidroliz ürünlerinin kimyasal yapısı

Şekil 8. Bilgisayar aracılığıyla üretilen 4 kHz oktav band gürültüye ait frekans spektrumu

Şekil 9. Sıçanlara uygulanan GBİK modelinde gürültü verilmesi işlemi

Şekil 10. İUBP test uygulamasında kullanılan test düzeneği

Şekil 11. Sıçanlara DPOAE testinin uygulanması

Şekil 12. İUBP testi uygulaması ve elektrotların yerleşimi

Şekil 13. Oleuropeinin oral gavaj yolu ile uygulanması ve toz formundaki görünümü

Şekil 14. Kontrol grubundaki sıçanın sağ ve sol kulağından 4 kHz frekansta elde edilen İUBP dalga morfolojisi

Şekil 15. Kontrol grubundaki sıçanın sağ ve sol kulağından 8 kHz frekansta elde edilen İUBP dalga morfolojisi

Şekil 16. Deney SF grubundaki sıçanın sağ ve sol kulağından bazal ölçümlerde 12 kHz frekansta elde edilen İUBP dalga morfolojisi

Şekil 17. Kontrol grubundaki sıçanın sağ ve sol kulağından 16 kHz frekansta elde edilen İUBP dalga morfolojisi

Şekil 18. Kontrol grubundaki sıçanın sağ ve sol kulağından 32 kHz frekansta elde edilen İUBP dalga morfolojisi

Şekil 19. Gürültüye maruz kalmayan SF (Kontrol SF) grubunun ajan uygulaması öncesi ve sonrası İUBP eşik ortalamaları

Şekil 20. Gürültüye maruz kalmayan OLE (Kontrol OLE) grubunun ajan uygulaması öncesi ve sonrası İUBP eşik ortalamaları

Şekil 21. Sıçanlara gürültü verilmesi sonrası 1.gün İUBP testinde 8 kHz frekansta ileri düzeyde işitme kaybı örneği

Şekil 22. Sıçanlara gürültü verilmesi sonrası 1.gün İUBP testinde 16 kHz frekansta ileri düzeyde işitme kaybı örneği

Şekil 23. Tüm grupların 4 kHz frekansında günlere göre İUBP eşik değişimleri

Şekil 24. Tüm grupların 8 kHz frekansında günlere göre İUBP eşik değişimleri

Şekil 25. Tüm grupların 12 kHz frekansında günlere göre İUBP eşik değişimleri

Şekil 26. Tüm grupların 16 kHz frekansında günlere göre İUBP eşik değişimleri

Şekil 27. Tüm grupların 32 kHz frekansında günlere göre İUBP eşik değişimleri

Şekil 28. Kontrol OLE grubuna ait korti organının 100x büyütmede HE boyaması

Şekil 29. Kontrol SF grubuna ait korti organının 100x büyütmede HE boyaması

Şekil 30. Kontrol OLE grubuna ait korti organının 400x büyütmede HE boyaması

Şekil 31. Kontrol SF grubuna ait koklea kesitinin 10x büyütmede HE boyaması

Şekil 32. Kontrol OLE grubuna ait spiral ganglion kesitinin 100x büyütmede HE boyaması

Şekil 33. Kontrol SF grubuna ait spiral ganglion kesitinin 100x büyütmede HE boyaması

Şekil 34. Deney SF grubuna korti organı kesitinin 100x büyütmede HE boyaması

Şekil 35. Deney SF grubuna ait spiral ganglion kesitinin 100x büyütmede HE boyaması

Şekil 36. Deney OLE grubuna ait spiral ganglion kesitinin 40x büyütmede HE boyaması

Şekil 37. Deney OLE grubuna ait spiral ganglion kesitinin 100x büyütmede HE boyaması

Şekil 38. Kontrol SF grubunda TUNEL tekniği ile yapılan boyamalarda korti organının 100x büyütmede ışık mikroskopik görüntüsü

Şekil 39. Deney SF grubunda TUNEL tekniği ile yapılan boyamalarda spiral ganglion hücrelerinin 100x büyütmede ışık mikroskopik görüntüsü

KISALTMALAR

DKY: Dış Kulak Yolu

dB: Desibel

Hz: Hertz

kHz: Kilo-Hertz

İTH: İç Tüylü Hücre

DTH: Dış Tüylü Hücre

Ca+2: Kalsiyum

SPL: Sound Pressure Level (Ses Basıncı Düzeyi)

GBİK: Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı

GED: Geçici Eşik Değişikliği

KED: Kalıcı Eşik Değişikliği

OAE: Otoakustik Emisyon

DPOAE: Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon

İUBP: İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri

OLE: Oleuropein

O²: Oksijen

ONOO-: Peroksinitrit

OH: Hidroksil

NO: Nitrik Oksit

TNF-alfa: Tümör Nekroz Faktörü – alfa

NAC: N- Asetil sistein

SF: Serum Fizyolojik

NAC: N-Asetil sistein

TUNEL: Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated Nick And Labelling

8-OHdG: 8-hidroksi-2-deoksiguanozin

MDA: Malondialdehit

4-HNE: 4-hidroksinonenal

HE: Hematoksilen - Eozin

NIOSH: Ulusal iş sağlığı ve güvenliği enstitüsü (National Institute for Occupational Safety and Health)

OSHA: İş Güvenliği ve Sağlığı Yönetimi (Occupational Safety and Health Administration)

TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık eğitimim süresince değerli bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tez çalışmamın yürütülmesinde emekleri olan Sayın Prof. Dr. Semih Sütay' a teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimi yolunda önerilerinden faydalandığım, yardımlarını ve fikirlerini hiçbir zaman unutmayacağım ve bugünlere gelmemizde büyük emekleri olan değerli hocalarım Prof. Dr. Enis Alpin Güneri' ye, Prof. Dr. Ahmet Ömer İkiz' e, Prof. Dr. Taner Kemal Erdağ' a, Prof. Dr. Mustafa Cenk Ecevit' e, Doç. Dr. Ersoy Doğan' a, Öğr. Üyesi Uzm. Dr. Yüksel Olgun'a ve Öğr. Gör. Uzm. Dr. Aslı Çakır Çetin' e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmasını beraberce yürüttüğümüz odyoloji ünitesinden Sayın Prof. Dr. Günay Kırkım' a, Öğr. Gör. Dr. Serpil Mungan Durankaya' ya, Öğr. Gör. Dr. Selhan Gürkan' a, Öğr. Gör. Hande Evin' e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam esnasında histopatolojik değerlendirmelerin gerçekleştirilmesini sağlayan Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Safiye AKTAŞ' a, istatistiksel analizlerin yapılması aşamasındaki değerli katkılarından ötürü Sayın Prof. Dr. Hülya Ellidokuz' a, hayvan deneyleri sürecindeki destekleri açısından Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalından Sayın Uzm. Biyolog Meryem Çalışır' a teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığım boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, bilgi ve becerilerini benimle paylaşmaktan çekinmeyen ve anabilim dalımızdan uzmanlıklarını alıp ayrılan uzmanlarımıza; eğitimimiz süresince sevgi ve dostluklarını hissettiren tüm sevgili asistan arkadaşlarıma, poliklinik, servis ve ameliyathane personellerimize teşekkür ederim.

Hayatım boyunca hiçbir fedakârlıktan kaçınmadan beni yetiştiren ve bugünlere getiren, her zaman desteklerini omuzlarımda hissettiğim aileme en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Tanıştığımız günden bu yana bana sonsuz sevgi ve destek gösteren, kendisinden çok şey öğrendiğim, hep yanımda olan ve beni güçlendiren, sevgili eşim Dr. Deniz Varlık Kümüş' e çok teşekkür ederim.

ÖZGÜR KÜMÜŞ

OCAK, 2019

İZMİR

ÖZET

Gürültüye Bağlı İşitme Kaybında Oleuropeinin Etkisinin Araştırılması

Dr. Özgür KÜMÜŞ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı
İnciraltı, İZMİR

Amaç ve Hipotez

Bu çalışmamızda antioksidan özellikleri olduğu bilinen Oleuropein (OLE) bileşiğinin sıçanlarda oluşturulan gürültüye bağlı işitme kaybı (GBİK) modelindeki olası koruyucu etkinliğinin araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Araştırmaya dahil edilen 28 erişkin erkek albino sıçan rastgele dört gruba ayrıldı. Kontrol serum fizyolojik (SF) (n=7) grubu; gürültü verilmeyen ve etken madde çözeltisi ile eş hacimde olacak şekilde 2 cc/kg/gün SF uygulanan grup, kontrol OLE (n=7) grubu; gürültü verilmeyen ve 50 mg/kg/gün OLE uygulanan grup olarak düzenlendi. Deney SF (n=7) grubu; gürültü verilen ve 2 cc/kg/gün SF uygulanan grup, deney OLE (n=7) grubu; gürültü verilen ve 50 mg/kg/gün OLE uygulanan grup olarak düzenlendi. Tüm sıçanlara SF ve OLE oral gavaj yoluyla uygulandı.

Deney grubundaki toplam 14 sıçana 120 dB SPL şiddetinde, 4 kHz oktav bantta 4 saat süre ile gürültü verildi. İşitme düzeyi ölçümleri 4, 8, 12, 16 ve 32 kHz frekanslarında işitsel uyarılmış beyinsapı potansiyelleri (İUBP) ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE) testleri ile yapıldı. İUBP ve DPOAE testleri gürültü verilmesi öncesinde ve gürültü verilmesi sonrası 1, 7 ve 10. günde yapıldı.

Son testler sonrası 10. günde tüm sıçanlar kurban edildi. Kurbanın ardından sıçanların temporal kemikleri çıkarılarak koklea ve spiral ganglion hücreleri ışık mikroskopunda hematoxilen-eozin ve TUNEL boyama yöntemiyle değerlendirildi.

Bulgular

İUBP testi sonuçlarına göre deney OLE grubunda, deney SF grubuna kıyasla tüm frekanslarda daha iyi işitme eşikleri elde edildi. İstatistiksel anlamlılık ise 8, 12, 16 ve 32 kHz frekanslarda görüldü ($p < 0,05$). Histopatolojik değerlendirmelerde ise deney SF grubuna kıyasla, deney OLE grubunda daha az spiral ganglion hücre hasarı izlendi. Ancak bu yönde istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$).

Sonuç

Elde edilen bulgulara göre OLE gürültüye bağlı işitme kaybında kullanılabilir faydalı bir antioksidan olabilir. Ancak bu koruyucu etkinin kanıtlanmasına yönelik ek araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Gürültüye bağlı işitme kaybı, antioksidan, Oleuropein

ABSTRACT

The Investigation of The Effect of Oleuropein on Noise-Induced Hearing Loss

Dr. Özgür KÜMÜŞ

Dokuz Eylül University, Medical Faculty, Otorhinolaryngology Department

İnciraltı, İZMİR

Objective and Hypothesis

In this study, it was aimed to investigate the possible protective effect of Oleuropein (OLE) compound, which is known to have antioxidant properties in noise induced hearing loss (NIHL) rat animal model.

Materials and Methods

Twenty-eight adult male albino rats included in the study were randomly assigned into four groups. Groups were designated as: Control serum physiological (SF) group (n = 7), the group which were not exposed to noise and administered equivalent volume of active substance solution 2 cc / kg / day SF. Control OLE (n = 7) group, with no noise exposure and 50 mg / kg / day OLE administration. Test SF (n = 7) group; the group that was exposed to noise and administered 2 cc / kg / day SF; and test OLE (n = 7) group, the group that was exposed to noise and OLE administered at 50 mg / kg / day. SF and OLE were administered via oral gavage to all rats.

A total of 14 rats in the test group were subjected to noise at 120 dB SPL 4 kHz octave band for 4 hours. Hearing level measurements were made with auditory brainstem responses (ABR) and distortion product otoacoustic emission (DPOAE) tests at 4, 8, 12, 16 and 32 kHz frequencies. ABR and DPOAE tests were performed before the noise exposure and on the 1st, 7th and 10th days after the noise exposure.

After the last hearing assessments, all rats were sacrificed on the 10th day. After sacrifice, temporal bones of the rats were removed and the cochlea and spiral ganglion cells were evaluated by light microscopy using hematoxylin-eosin and TUNEL staining.

Results

ABR test revealed better hearing thresholds in the test OLE group at all frequencies compared to the test SF group. Statistical significance was observed at frequencies of 8, 12, 16 and 32 kHz ($p < 0.05$). In the histopathological evaluations, less spiral ganglion cell damage was observed in the test OLE group compared to the test SF group. However, no statistically significant difference was found ($p > 0.05$).

Conclusion

Oleuropein might be a useful antioxidant that can be used in noise induced hearing loss. However, additional research is required for confirmation of this protective effect.

Key words: Noise induced hearing loss, antioxidant, oleuropein

1. GİRİŞ VE AMAÇ

1.1 Problemin Tanımı ve Önemi

İnsan ve toplum üzerinde olumsuz etki yapan ve istenmeyen seslere gürültü denmektedir. Belirgin bir yapısı olmayan, içerdiği öğelerle kişiyi bedensel veya psikolojik olarak etkileyebilen ses düzeni olarak da tanımlanabilen gürültü, insanlarda tinnitusa ve işitme kaybına yol açmasının yanı sıra iletişimin bozulmasına, stres artışına, konsantrasyon bozukluklarına, çalışma güçlüğüne, uyku sorunlarına ve kardiyovasküler hastalıklara neden olabilen ciddi bir mesleki tehlike olarak kabul edilmektedir (1,2).

Aşırı gürültüye maruz kalmak en sık rastlanan önlenabilir işitme kaybı sebebidir. Küresel nüfusun en az %5 ila %16'sının gürültüden kaynaklanan işitme kaybı riski altında olduğu ve bunun 600 milyondan fazla insana karşılık geldiği bilinmektedir. Dünya Sağlık Örgütü, tüm işitme kaybı vakalarının üçte birinin gürültüye maruz kalma ile ilişkili olduğunu bildirmektedir (3,4).

Gürültüye bağlı işitme kaybından korunmada en temel strateji gürültünün, oluştuğu kaynaktan önlenmesi amacıyla kulak tıkaçları ve kulaklıklar gibi kişisel koruyucu ekipmanların kullanımınıdır (5). Bunun dışında bazı meslek gruplarının iş ortamında maruz kaldığı gürültünün şiddeti ve süresinin belirlenen standartlarda düzenlenmesi gerektiği konusunda yapılan birçok çalışma mevcuttur (2).

Gürültüye maruz kalma sonrası iç kulakta temel olarak mekanik ve metabolik hasar sonucu işitme kaybı ortaya çıkar. Serbest oksijen ve serbest azot radikallerinin artışının yarattığı oksidatif stres sonucu aktive olan apoptotik yollar ve nekroza bağlı olarak iç kulakta hücre kaybı meydana gelir (6). Birçok araştırmacı tarafından gürültüye bağlı işitme kaybı ile mücadele amacıyla medikal tedavi yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu amaçla sıklıkla antioksidan özellikteki ajanlar kullanılmakla beraber henüz etkinliği geniş çapta kanıtlanmış bir ajan bulunmamaktadır (6).

Oleuropein, zeytin meyvesinin ilk dönemlerinde meyvede daha fazla bulunan, olgunlaşmanın ardından metabolizasyonu sonucu miktarı azalan bir maddedir. Zeytinin acılığından sorumlu bu bileşik, zeytin ağacının tamamında bulunmakla beraber en çok yaprak kısmından izole edilmektedir. Birçok araştırmacı

tarafından oleuropeinin güçlü antioksidan etkilerinin olduğu ileri sür÷lmektedir. Bunun yanı sıra antiviral, antienflamatuar, antiaterojenik ve antikarsinojenik etkileri olduğu da bildirilmiştir (7–9).

1.2 Araştırmanın Amacı ve Hipotezi

Oleuropein uygulamasının gür÷ltüye bağlı işitme kaybı üzerine olası etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla gür÷ltüye maruz bırakılan sıçanların objektif odyolojik ve histopatolojik yöntemlerle incelenerek koruyucu etkinliğinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Araştırmanın hipotezi:

H0: Gür÷ltüye bağlı işitme kaybı oluşturulan sıçanlarda Oleuropein bileşiğinin işitme kaybına karşı koruyucu etkisi yoktur.

H1: Gür÷ltüye bağlı işitme kaybı oluşturulan sıçanlarda Oleuropein bileşiğinin işitme kaybına karşı koruyucu etkisi vardır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 KULAK ANATOMİSİ VE İŞİTME FİZYOLOJİSİ

2.1.1 İnsan Kulağının Anatomisi ve İşitme Fizyolojisi

Sesin kaynağından kulağa ulaşması havadaki, sudaki veya diğer ortamlardaki moleküllerin kompresyonu ve rarefaksiyonundan (yani titreşiminden) ibaret olan dalgalar aracılığı ile olur. Kulağa dalgalar halinde gelen bu ses enerjisi bir yandan sırasıyla dış, orta ve iç kulak yapılarında iletilirken diğer yandan da dönüşüme uğrar. Son olarak iç kulakta elektriksel bir enerjiye dönüştürülmüş bu enerji koklear sinire ve santral bağlantılardan geçerek temporal lob korteksindeki transvers temporal girusa gelirler. Heschl Girusu da denilen bu bölge işitme merkezi olarak adlandırılır (10).

2.1.1.1 Dış Kulak

Dış kulak, kulak kepçesi (aurikula) ile meatustan timpan membrana kadar uzanan dış kulak yolundan oluşmaktadır. Aurikulanın merkezi olan konka, yetişkinlerde yaklaşık 2.5 cm uzunluğundaki dış kulak yolu (DKY) ile devam eder. DKY'nin lateral üçte biri kıkırdaklı bölümdür ve serumen üreten bezler ve kıl foliküllerini içerir. Geriye kalan medial üçte ikisi ise kemikle çevrili olan bölümdür ve medialinde timpan membranla sonlanır (11).

Aurikula şekli ve kafadaki konumu ile çevredeki sesleri toplama işlevini görür. Yaklaşık 135 derecelik bir açıdaki sesleri toplar ve bunun dışındakileri yansıtır. Bu yönüyle dış kulak ve kafa işitmede pasif ancak önemli bir role sahiptir. Aurikula çukuru 4-5 kHz' lik bir rezonans frekansına sahiptir. Aurikula, rezonans frekansında daha belirgin olmak üzere sesin şiddetini 6 dB kadar artırmaktadır (10,11).

Dış kulak yolu bir ucu açık, diğer ucu kapalı bir boru gibidir ve aurikuladan gelen ses dalgalarını timpan membrana iletir. Bu iletme işlevi esnasında frekansa özgü bir amplifikasyon da yapar. Bu amplifikasyon 1-8 kHz arasında belirgin olup 2.5-3 kHz'de pik yapar ve 15-20 dB'i bulur (10–12).

2.1.1.2 Orta Kulak

Orta kulak timpan membran, malleus, inkus ve stapes kemikçiklerini içeren kısımdır ve yaklaşık 2 ml hacmindedir. Timpanik anulusa olan pozisyonlarına göre epitimpanum, mezotimpanum ve hipotimpanum alt bölümlerine ayrılır. Akustik enerjiyi, dış kulak yolundaki hava ortamından, kokleadaki sıvı ortamına iletme işlevini görür (10,13). İletim işlevinin yanı sıra orta kulak bir empedans eşleştirme aygıtı olarak da görev yapar. Bu işlev üç şekilde gerçekleştirilmektedir. Birinci faktör timpan membranın etkin vibrasyon alanının, stapes tabanının etkin vibrasyon alanından 17 ila 20 kat geniş olmasıdır. İkinci faktör, kemikçik zincirin manivela etkisidir. İnkus uzun kolu manubrium mallei ve malleus boynundan 1,3 kat kısa bir yapıdadır. Üçüncü faktör ise timpan membranın konveks yapısı olarak açıklanmaktadır. Bu üç faktörün yarattığı etki ile yaklaşık 25-30 dB'lik bir kazanç ortaya çıkar (11,14).

Timpan membran pars tensa ve pars flaksida bölümlerinden oluşur. Pars flaksida yapısı gereği ses iletiminde aktif rol almaz. Pars tensa kısmında zar üç tabaka halinde olup lateralde epitel, medialde mukoza ve orta tabakada ise radier, parabolik, sirküler ve semilunar şekillerde dizilmiş liflerin yer aldığı fibröz tabaka bulunmaktadır. Fibröz tabaka kulak zarına rotasyon hareketi yaptırdığı ve gerginliği sağladığı için işitme fizyolojisi açısından önemlidir (10).

Orta kulakta yer alan diğer bir önemli yapı ise östaki tüpü yani farengotimpanik tüptür. Orta kulak havalanması ve drenaj görevlerini üstlenir; hem fizyolojik hem de patolojik bakımdan önemlidir (11,12). Ayrıca orta kulakta tensor timpani ve stapedius adında iki çizgili kas yer almaktadır. Tensor timpani kası, malleus ile temasta olup, malleusun uzun kolunu mediale doğru çeker ve kulak zarının titreşimini azaltır. Stapes kası ise stapesi orta kulağa doğru çeker ve yüksek şiddetteki seslerin iç kulağa girişini engellemiş olur (11).

2.1.1.3 İç Kulak

Kemik labirent temporal kemiğin petröz parçası içinde yer almaktadır. İşitme ve denge duyusu ile ilgili spesifik duyu hücrelerini içerir. Yuvarlak ve oval pencereler yoluyla orta kulak, koklear ve vestibüler akuaduktuslar yolu ile de kafa içi ile

bağlantılıdır. Ön labirent (koklea), vestibül ve arka labirent (yarım daire kanalları) olarak adlandırılan üç yapıdan ibarettir (15).

Membranöz labirent ise utrikül, sakkül, duktus semisirkularis, duktus endolenfatikus, duktus perilenfatikus, duktus koklearis ve korti organından oluşur. Membranöz ve kemik labirentler arasında sodyumdan zengin perilenf ve membranöz labirentin içinde ise potasyum iyonları bakımından zengin endolenf bulunur (11,15).

2.1.1.3.1 Koklea

İşitme sisteminin reseptör organı olan kokleanın temel fonksiyonu, akustik bir dalgayı santral sinir sistemine iletilebilecek şekilde elektrokimyasal bir uyarana dönüştürmektir (10). Koklea, skala vestibuli, skala media ve skala timpani adı verilen üç bölümden oluşan, insanlarda uzunluğu 25-40 mm arasında değişen, salyangoz gibi, kendi eksenini etrafında 2,5 tur dönüşlü sarmal tarzdaki kemik kanaldan ibarettir (10,11,16).

Kokleanın eksenini modiolus oluşturur. İçindeki kanallardan koklear damar ve VIII. kranial sinir lifleri geçer. Kokleanın ortasında, kokleanın tümü boyunca üçgen şeklinde uzanan duktus koklearis (skala media) bulunur. Tabanda duktus reuniens denilen ince bir kanalla vestibüldeki sakkulusa bağlıdır. Skala timpani ve skala vestibüli kokleanın apeksinde, helikotremada birbiriyle bağlantılıdır (10–12,16).

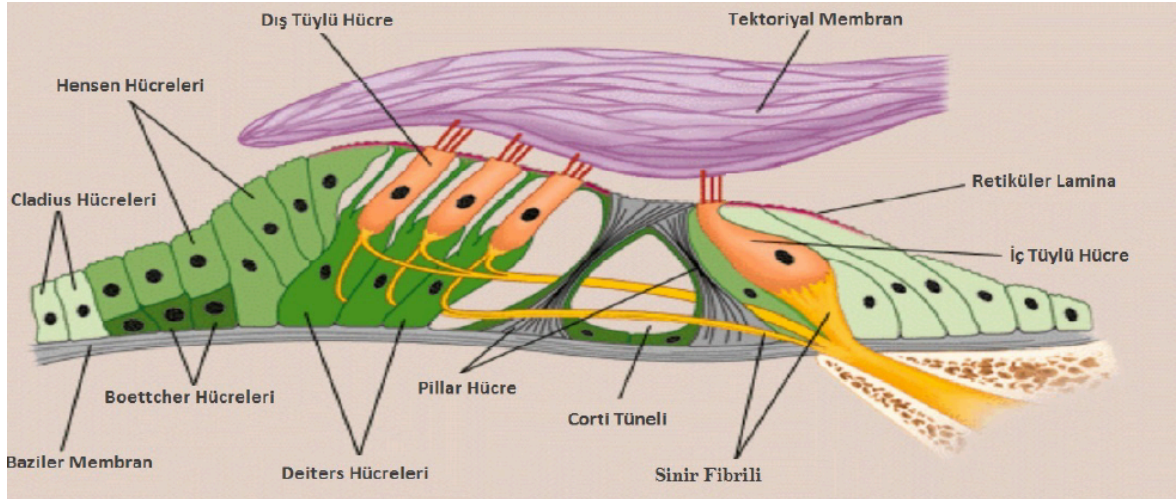
Skala vestibuli ve timpani, 4 mEq/L potasyum ile 139 mEq/L sodyum konsantrasyonlu, ekstrasellüler sıvıya benzeyen perilenf sıvısını içerir. Skala media, Reissner membranı, baziler membran, kemik spiral lamina ve lateral duvar ile sınırlanmıştır. Skala media ise 144 mEq/L potasyum, 13 mEq/L sodyum konsantrasyonlu, intrasellüler sıvıya benzeyen endolenf içermektedir (11). Endolenfin stria vaskularis tarafından üretildiği kabul edilmektedir (11,16).

Çok katlı yassı epitelden oluşan stria vaskularis; endolenfteki yüksek K⁺, düşük Na⁺ iyon potansiyelini sağlayan marjinal hücrelerden, fagositoz yeteneği olan intermediate hücrelerden, epitel ve endotelin bazal membranının birleşmesinden oluşan ve molekül geçişine izin vermeyen bazal hücrelerden oluşur. Stria vaskularisin mitokondri açısından zengin olması nedeniyle kokleanın enerji kaynağı

olduğu ve transdüksiyon için oldukça önem taşıdığı düşünölmektedir. Stria vaskölaris Na⁺/K⁺ ATPaz, adenil siklaz ve karbonik anhidraz gibi endolenfe aktif iyon pompalamasını ve sıvı transportu işlemini gerçekleştiren enzimlerden zengindir. Endolenfatik potansiyel enerjisi, stria vaskölaris ve spiral ligament mitokondrileri tarafından üretilir (10,11,15,16).

Akustik enerji kokleaya, oval penceredeki stapes tabanının piston benzeri hareketi ile erişmekte ve direkt olarak skala vestibulinin perilenfi ile eşleşmektedir. Perilenfe ulaşan ses enerjisi, ortalama 32 mm uzunluğundaki baziler membranda uzunlamasına ilerleyen dalgalar şeklinde, bazaldan apekse doğru hareketlenmeye yol açar. Baziler membranın genişliği bazal kıvrımdan apikal kıvrıma doğru giderek artar. Bu durum frekans seçiciliğinde ve ses şiddetinin algılanmasında önem taşır. Yüksek frekanslı sesler tarafından oluşan dalgalar kokleanın apikal bölgesine ulaşmazken, düşük frekanslı ses dalgaları baziler membranın tüm uzunluğu boyunca ilerlemektedir (10,11,16).

Koklear duktusun tabanının iç kısmı kemik spiral lamina tarafından oluşturulur. Kemik spiral lamina içe doğru paralel iki çıkıntı yapar. Üst çıkıntı spiral limbus olup buraya tektoriyal membran yapışır. Membranöz spiral laminanın başladığı alt çıkıntıdan ise koklear sinir lifleri geçerek korti organına uzanır. Membranöz spiral laminanın alt kısmında skala timpani üstünde korti organı yer alır. Bu yapı, spiral limbustan iç sulkus ve dış duvardan dış sulkus ile ayrılır. Korti organında işitsel duyu hücreleri ve destek hücreleri yer alır. Duyu hücreleri iç ve dış tüylü hücreler (İTH, DTH) olmak üzere iki grup halinde dizilirler. İTH genelde tek sıra halinde dizilmişken, DTH'ler 3-4 düzensiz sıra halinde dizilirler. Bunun dışında destekleyici hücreler (Deiters, Hensen, Claudius, Boettcher), tektoriyal membran ve retiköler lamina (kutiköler plaka kompleksi) korti organında yer alırlar (Şekil 1) (10,11,16).



Şekil 1. Korti organını oluşturan yapılar.

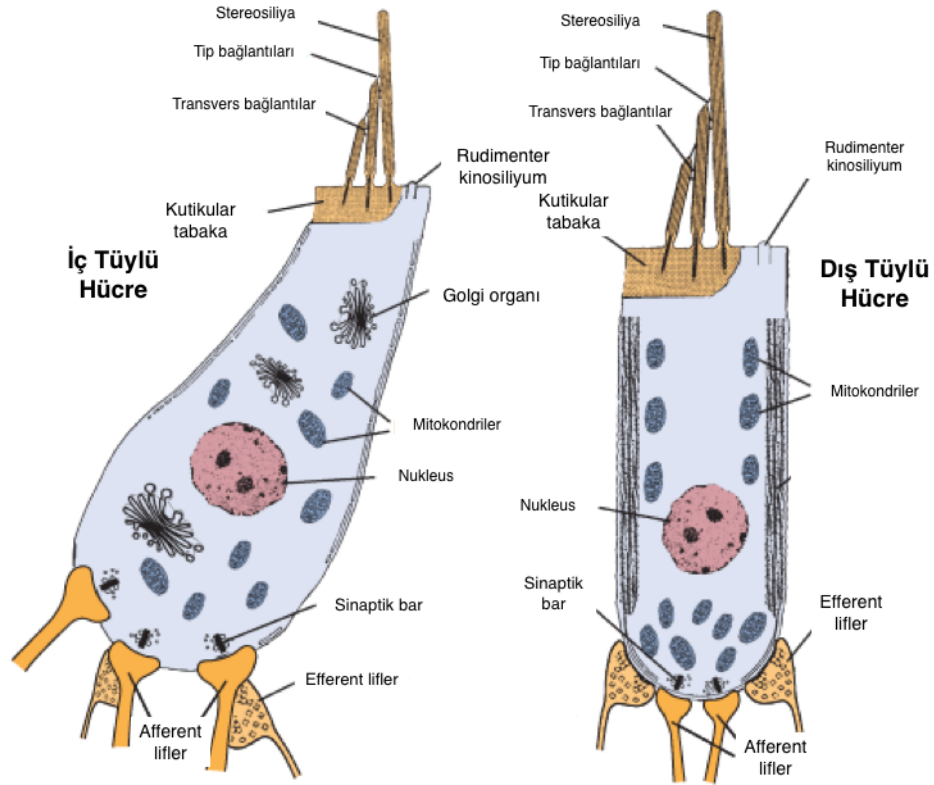
(<http://www.d.umn.edu/~jfitzake/Lectures/UndergradPharmacy/SensoryPhysiology/Audition/OrganOfCorti.html> web sitesinden alınarak uyarlanmıştır. Erişim tarihi: 16.05.2018)

Korti organı üzerinde yer alan tektoriyal membran, asellüler yapıda olup %97 su, %3 protein ve karbonhidrat içeriğine sahip jel şeklinde matriksi olan fibriler bir yapıdadır. Dış tüylü hücrelerin en uzun stereosilyalarının ucu tektoriyal membranın alt yüzüne yapışır veya içine gömülür. Tektoriyal membran akustik uyarıyla birlikte tüylü hücrelerin hareketini kontrol eder ve baziler membran hareketiyle eş hareket sergiler (10).

2.1.1.3.1.1 Tüylü Hücreler

Korti organında yer alan tüylü hücreler, mekanik enerjinin elektriksel enerjiye dönüştürülmesinde önem taşır. Her tüylü hücrenin korti organı içinde bir gövdesi ve kutikuler tabaka olarak adlandırılan kalın üst yüzü vardır. Bu yüzden stereosilya denilen tüy demetleri çıkar. Bunlar gerçek silya olmayıp hücre membranı ile kaplanmış aktin moleküllerinden oluşan büyük mikrovilliler olarak kabul edilebilir. İç tüylü ve DTH'leri korti tüneli ile birbirinden ayrılırlar. İç tüylü hücrelerin gevşek yapılı büyük bir gövdesi ve dar bir tepesi vardır. Uzun eksenleri korti tüneline doğrudur (Şekil-1). Sinir lifleri ve uçları, hücrenin alt kısmının etrafını sarar. Üstteki kalın kutikuler tabakadan çıkan stereosilyalar, koklear duktusun eksenine paralel 2 veya 3 sıra halinde dizilirler. En içteki sıra en kısa iken, en uzun olanlar en dışa

yerleşmiştir. İnsanlarda 3500 kadar İTH olduğu bilinmektedir. Hücreler yaklaşık 12 mikrometre çapında olup destek hücreleri ile çevrelenmiştir. Kokleadaki tüm afferent sinir sonlanmalarının yaklaşık %95'i İTH' lerdedir (Şekil 2)(10,11,16).



Şekil 2. İç ve Dış Tüylü Hücrelerin şematik gösterimi. İTH'ler flask bir yapıya sahiptir. Geniş afferent ve dolaylı efferent innervasyon alırlar. DTH'ler silindirik ve doğrudan afferent ve efferent innervasyon alırlar (16).

İç tüylü hücrelerin tepesindeki stereosilyalar, mekano-elektriksel transdüksiyon (MET) adı verilen iyon iletim kanallarına sahiptir. Bu kanallar, stereosilyalar en uzun siliyuma doğru eğildiğinde açılır. Mekano-elektriksel transdüksiyon kanallarının açılmasıyla oluşan potansiyel fark nedeniyle iç tüylü hücre içine K^+ akışı gerçekleşir ve depolarizasyon olur. Depolarizasyon ile hücre içinin negatif yükü azalır. Hücre gövdelerinde voltaj değişimine duyarlı olan kalsiyum (Ca^{2+}) kanalları açılır. Perilenften hücre içine Ca^{2+} akımıyla birlikte, İTH' lerde hücre tabanından sinaptik boşluğa glutamat nörotransmitter salınımı başlar ve

afferent fibriller ateşlenir. Kalsiyumun artışı, kalsiyuma duyarlı potasyum kanallarını uyarır. Potasyumun dışarı çıkması hücreyi repolarize eder. Artan hücre içi Ca^{+2} , iyon pompası yardımı ile hücre dışına atılır. Stereosilyalarda dinlenme durumunda, transdüksiyon kanalları kısmen açıktır ve çok az miktarda nörotransmitter salınımına yol açmaktadır (10,17,18).

İnsanlarda 10000-13000 civarında bulunduğu bilinen DTH' ler, yaklaşık 8 mikrometre çapında, silindirik yapıda olup, çekirdekleri afferent ve efferent sinir uçlarının yapıştığı alt kutba yakındır. DTH stereosilyaları bazal kıvrımda 'W' şeklinde iken orta kıvrımda 'V' şeklinde, apekte ise düz bir dizilimdedir. Stereosilyaların sayısı da bazalden apekse doğru azalırken, boyutu uzar. Anatomik pozisyon ve frekans arasındaki bu ilişki, tonotopik yerleşim olarak adlandırılır. Ayrıca baziler membranın yanıtını güçlendirerek güçsüz seslerin şiddetinin artırılmasında mekanik bir yükseltici rolü oynar. Koklear amplifikatör mekanizması, tüylü hücrelerin elektrik sinyallerine yanıt olarak kasılma ve uzama yeteneklerine dayandırılmaktadır. Bir stereosilya demetindeki her silya kısa fibrillerle bitişiğindeki daha uzun silyalara bağlıdır. Aynı bağlantılar İTH' ler için de benzer şekildedir (Şekil-2) (16,17,19).

2.1.1.3.2 Kokleanın İnnervasyonu

Koklea, beyin sapıyla hem afferent , hem de efferent liflerle bağlıdır. Duyusal bilgileri taşıyan afferent hücreler spiral gangliondadır. Bunların terminal dendritleri tüylü hücrelere bağlanır. Efferent sinir hücreleri ise beyin sapındadır ve lifleri spiral gangliondan direkt geçer. İnsanlarda her koklear sinirde yaklaşık 30000 miyelinli sinir lifi vardır ve bunların tamamı afferent liflerdir. Efferent lifler superior vestibuler sinir içerisinde bulunur. Afferent lifler modiolustan geçtikten sonra spiral kanala uzanır. Spiral ganglion hücrelerinin %95'i büyük Tip I hücrelerdir. Diğer türlerden farklı olarak büyük kısmı miyelinize olmayan bu liflerin tümü bipolar tipte hücrelere aittir. Tip I hücrelerin terminal dendritleri İTH' lerin gövdesinin alt kısmında, her hücreye yaklaşık 10 dendrit gelecek şekilde sinaps yaparlar (10,16).

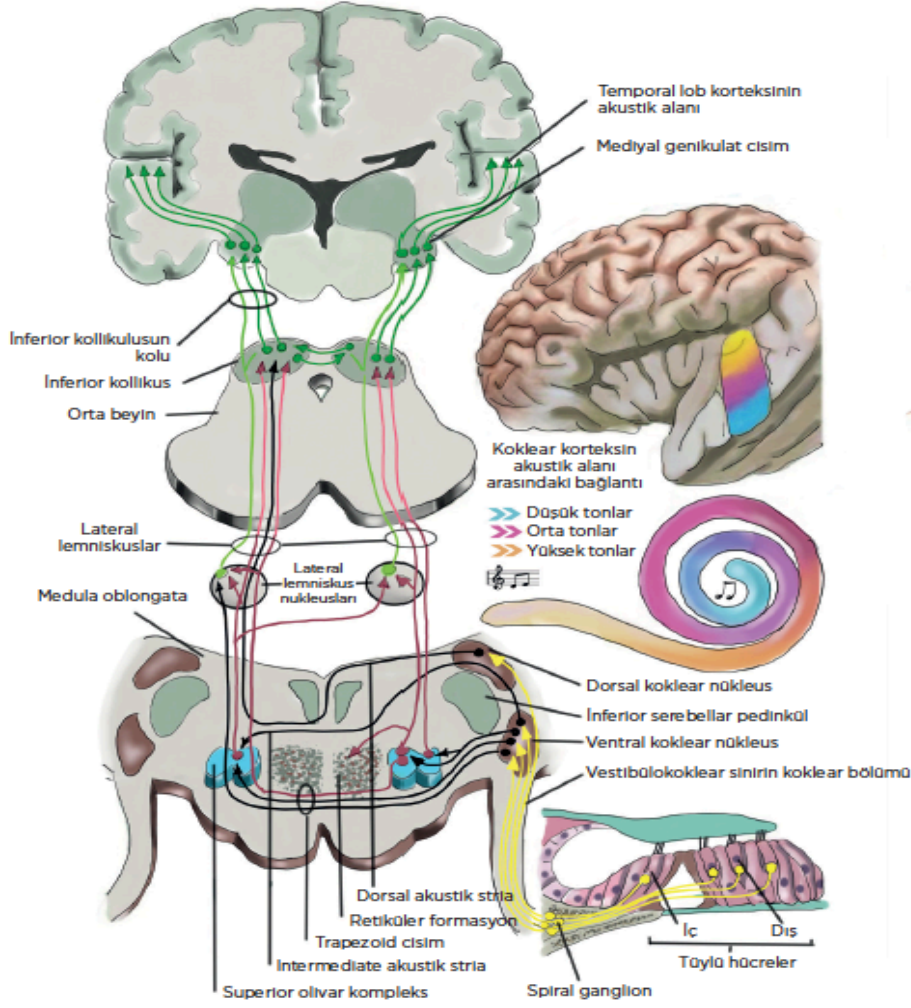
Spiral ganglion hücrelerinin kalan %5' lik kısmı ise küçüktür ve bazen miyelinize bazen de miyelinsizdir. Hücreler unipolar ya da bipolar olabilir. Tip II hücre olarak adlandırılan bu hücrelerin dendritleri ise DTH' lerle sinaps yapar (10).

2.1.1.4 Santral İşitsel Yolların Anatomisi

Spiral gangliondaki bipolar hücrelerin santral uzantıları, VIII. Kraniyal sinirin miyelinli, koklear kısmını oluşturur. Sinir içindeki lifler tonotopik bir konfigürasyonda organize olmuşlardır. Düşük frekanslı sesler sinirin merkezinde yer alırken, yüksek frekanslı sesler sinirin dış yüzeyindeki apikal lifleri sarar (17,20).

İşitsel bilginin işlenmesi için, santral işitme yollarında yedi ana merkez mevcuttur (Şekil 3). Aşağıdan yukarıya doğru bu merkezler, medulla oblongata düzeyinde koklear nükleus, ponsta süperior olivar kompleks, mezensefalonda lateral lemniskus, inferior kollikulus ve süperior kollikulus, talamusta medial genikulat cisim ve işitsel kortekstir (10,16–18).

Koklear nükleustan çıkan liflerin çoğu kontralateral superior olivar komplekse ulaşmakta, daha az sayıdaki diğer lifler ise ipsilateral superior olivar komplekse uzanmaktadır. Superior olivar kompleksin, her iki kulaktan girdilerin birleştiği ilk merkez olduğu düşünülmektedir. Superior olivar kompleksin üstündeki işitsel nükleuslar, kulaklardan gelen girdilerle birlikte eksitatör veya inhibitör olabilir. Medial superior olivar kompleks, dış tüylü hücrelerde sonlanan çaprazlanmış efferent liflerin kaynağıdır. Aynı şekilde lateral superior olivar kompleks de, iç tüylü hücrelerde sonlanan çaprazlanmamış efferent liflerin kaynağıdır (16,17,20).



Şekil 3. Kokleadan, temporal lob korteksine dek işitme yolları (20).

2.1.2 Sıçan Kulak Anatomisi ve İşitme Fizyolojisi

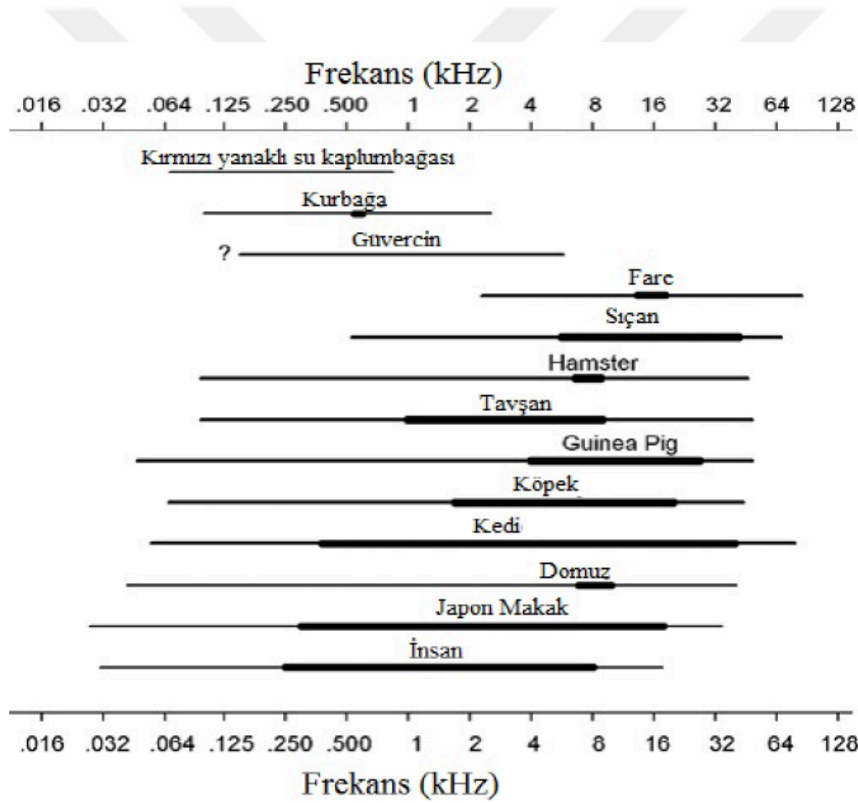
Sıçanların kulak anatomisi ve fizyolojisinin, insanınki ile benzer yapıda olması sebebiyle sıçanlar deneysel araştırmalarda yoğun olarak kullanılmaktadır. Sıçan kulağı da insan kulağı gibi dış, orta ve iç kulak olmak üzere üç kısımdan oluşur (21–23).

Dış kulak yolu medialinde, insandaki mastoid hücrelerine benzeyen bulla yer alır. Bulla DKY'yi anteriora doğru iter. Sıçan timpan membranında pars flaksida yer almaz. Ayrıca timpan membranda malleus ile inkus arasında bir açıklık yer alır (23,24).

Orta kulakta malleidoinkudal kompleks ve stapes olmak üzere iki kemikçik yer alır. Boyut olarak insandakinin yaklaşık dörtte biri büyüklüktedir ve tümü

epitimpanum bölgesinde yerleşimlidir (23–25). Sıçanlarda timpan membranın yüzey alanı ile stapes tabanı arasındaki oran yaklaşık 33'tür. Yine sıçanlarda manibrium mallei ile inkusun uzun kolu arasındaki oran 3,21 olarak saptanmıştır (23,25).

Koklea sıçanlarda 9-11 mm uzunluğunda, 2,5-3 turlu dönüğe sahip yapıdadır. İnsanlardakine benzer şekilde skala vestibuli, skala timpani ve skala media bulunur. Perilinf ve endolinf içeriği yine insanlardakine benzer saptanmıştır. Kokleanın tüm kesitlerinde tektoriyal membran, Deiters hücreleri, Reissner membranı izlenmekte olup, Hansen hücreleri her zaman gözlenmemiştir (23,24). Sıçanlarda DTH sayısı yaklaşık 7000 kadar iken, İTH sayısı 2000, işitsel sinir fibrilleri ise yaklaşık 3000'dir (18).



Şekil 4. Laboratuvar hayvanlarının insanla karşılaştırmalı işitme frekans aralıkları. İnce çizgi 60 dB Sound Pressure Level (SPL), kalın çizgi ise 10 dB SPL şiddetinde elde edilen eşik değerlerini göstermektedir (26).

Deney hayvanlarının birçoğunun tiz frekans işitmesi insanlardan daha iyidir. Bu varyasyonun ana nedeni, küçük memelilerin, kafa yüzeyinin ses üzerindeki zayıflatıcı etkisi ile sağlanan yüksek frekanslı ses-lokalizasyon işaretlerini kullanmak için daha büyük memelilerden daha yüksek frekansları duymak zorunda olmalarıdır. Sonuç olarak, küçük kafaya sahip olan memeliler genellikle büyük kafaları olan memelilerden daha iyi yüksek frekanslı işitmeye sahiptir (26).

Sıçanların, yapılan davranışsal araştırmalar sonucunda, 0,25-70 kHz aralığındaki sesleri duyduğu bildirilmiştir. Sıçanların işitmesi alçak frekanslardan yüksek frekanslara doğru gidildikçe artar. Sıçanlarda 8 kHz ve 32 kHz arasındaki frekanslarda işitmenin en iyi düzeyde olduğu saptanmıştır (Şekil 4) (26). Sıçan kokleasında da insandaki ile tam olarak benzerlik göstermese de tonotopik organizasyon bulunmaktadır. Yüksek frekanslar bazalde, alçak frekanslar ise apikalde yerleşim gösterirler (26).

2.2 GÜRÜLTÜYE BAĞLI İŞİTME KAYBI

2.2.1 Gürültü ve Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı Epidemiyolojisi

Gürültü, ansiklopedik olarak dinlenmekte olan seslere karışan istenmeyen herhangi bir ses, sesbilimde periyodik olmayan frekanslardan oluşan ses birimlerinin oluşturduğu tayfı tanımlamaktadır. İnsan ve toplum üzerinde olumsuz etki yapan ve istenmeyen seslere gürültü denmektedir. Belirgin bir yapısı olmayan, içerdği öğelerle kişiyi bedensel veya psikolojik olarak etkileyebilen ses düzeni olarak da tanımlanmaktadır (1).

Gürültü, insanlarda iletişimin bozulmasına, stres artışına, konsantrasyon bozukluklarına, çalışma güçlüğüne, uyku sorunlarına, kardiyovasküler hastalıklara, tinnitusa, işitme kaybına neden olan ciddi bir mesleki tehlike olarak kabul edilmektedir (2,18).

Aşırı gürültüye maruz kalmak en sık önlenemez işitme kaybı sebebidir. Küresel nüfusun en az %5 ila %16'sının gürültüden kaynaklanan işitme kaybı riski altında olduğu ve bunun 600 milyondan fazla insanı etkilediği öne sürülmüştür. Amerika Birleşik Devletleri nüfusunun %15 ila %25'inin bir şekilde gürültüye bağlı işitme sorunları olduğu saptanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü, tüm işitme kaybı

vakalarının üçte birinin gürültüye maruz kalma ile ilişkili olduğunu bildirmektedir (2–4,19).

Gürültüye bağlı işitme kaybı (GBİK), on yıllarca süren çalışma, işyeri ortamında alınan önlemler ve düzenlemelere rağmen, çalışan bireylerin ikinci en sık hastane başvuru nedeni olan mesleki hastalıktır (2). Madencilik sektörü, inşaat sektörü ve fabrika çalışanları (ağır sanayi ve odunculuk) ve silahlı kuvvetler çalışanlarının GBİK' den en sık etkilenen meslek grupları olduğu bildirilmektedir (2–4,18,27). Gürültüye bağlı işitme kaybına neden olan risk faktörleri yaş, erkek cinsiyet, düşük sosyoekonomik düzey, bilinen kulak hastalığı olması, diyabet ve hipertansiyon gibi ek komorbid hastalık varlığı olarak özetlenebilir (27).

Çevre gürültüsünün temporal paternleri tipik olarak sürekli, fluktuan, aralıklı (intermittan) veya impulsif olarak tanımlanmaktadır. Gürültüye bağlı işitme kaybının düzeyi yaş, cinsiyet, gürültünün temporal paterni, şiddeti, frekansı, süresi, kaynağa olan uzaklık, başın kaynağa göre konumu ve ek komorbid hastalık tanısı olmasından etkilenir (2,27,28).

Gürültüye bağlı işitme kaybı saf ses odyogramda, genellikle 4 kHz frekansta, 3 kHz ve 6 kHz' lik komşu frekanslara da yayılan tipik çentik görüntüsü oluşturur. Genellikle 8 kHz' de düzleşme görülür. 4 kHz civarında frekansların gürültüden en fazla etkilenmesi, büyük olasılıkla DKY rezonans frekansı ve orta kulağın mekanik özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Presbiakuzi de tipik olarak yüksek frekans etkilenmesine yol açacağı için; bu çentik yaşlanmayla birlikte kaybolabilir ve bu da GBİK' nin presbiakuziden ayırt edilmesini zorlaştırır. Kronik gürültüye maruz kalmanın da 8 kHz' de işitme kaybına neden olabileceği bildirilmiştir. Maruz kalma süresi arttığında, tanımlanan çentik daha derin ve daha geniş hale gelebilir ve yine 2 kHz, 1 kHz ve 0,5 kHz gibi daha düşük frekansları da etkileyebilir. GBİK' nin, yüksek frekanslarda 75 dB' den, düşük frekanslarda ise 40 dB' den daha üst düzeyde izlenmediği bildirilmekle beraber, uzun süreli gürültüye maruz kalan bazı bireylerde çok ileri derece işitme kaybının da görülebileceğinden bahsedilmiştir (3,19,28).

Gürültüye bağlı işitme kaybının görüldüğü frekansın, uyarının frekansının yaklaşık 1,5 oktav üzerinde olduğu bildirilmiştir. Çevresel gürültüler genellikle geniş bant gürültü formunda olup maksimum uyarımın gerçekleştiği frekans, genellikle

1,5-2 kHz' dir. GBİK'nın 4 kHz yakınında çentik yapmasının bir nedeni de budur (18,29,30).

Gürültü travmasının, maruz kalmanın yoğunluğuna ve süresine bağlı olarak iç kulağa verdiği hasar 2 grupta sınıflanabilir. Bunlar Geçici Eşik Değişikliği (GED) ve Kalıcı Eşik Değişikliği (KED) olarak adlandırılır (2–4,28,29).

2.2.1.1 Geçici Eşik Değişikliği (GED)

Geçici eşik değişikliği, genelde gürültünün şiddeti, frekansı ve maruz kalma süresine göre değişmekle birlikte 3 – 6 kHz arası frekanslardaki işitme eşiklerinin düşmesi ile karakterize bir durumdur. Bu geçici durum 24 ila 48 saat içerisinde düzelmektedir. İşitmede azalmaya tinnitus, seslerin boğuk işitilmesi, diplakuzi de sıklıkla eşlik eder (28,31). Patogenezinde, stereosilyaların geçici şişliği, distorsiyonu veya füzyonu ve DTH' lere ait stereosilyaların tectoriyal membrandan ayrılması gösterilmiştir (3,4). Geçici eşik değişikliği sonrası işitme eski düzeyine dönse bile, bu durumun yaşla ilişkili işitme kaybına yatkınlık oluşturduğu bildirilmiştir (3).

2.2.1.2 Kalıcı Eşik Değişikliği (KED)

Kalıcı eşik değişikliği, GED' in düzelmemesi sonrası ortaya çıkan ve kokleada kalıcı hasarların gözleendiği genellikle irreversibl bir durumdur. Yoğun gürültüye maruz kalma (130 dB ve üzeri, impulsif gürültü) sonrası kulak zarı ve iç kulağa doğrudan mekanik hasar (korti organın bazal membrandan ayrılması, perilenf endolenf karışması vb.) olasılığının yanı sıra, KED' nin karakteristik özelliği DTH ve daha az olarak İTH ölümü ve İTH sinaptik bağlantılarının kaybıdır. İTH' lerin afferent terminallerinde şişme ve dejenerasyon olur, bunu afferent liflerin ve spiral ganglion nöronlarının dejenerasyonu takip eder. Sinir liflerinin dejenerasyonları, aylar veya yıllar boyunca ilerleme eğilimi gösterirken, hücre hasarının boyutu, gürültüye bağlı travmanın sona ermesinden sonra günler veya haftalar boyunca artabilir. Memelilerdeki tüylü hücreler yenilenmediğinden, kayıp geri döndürülemez boyuta ulaşır (3,4,6,28,32).

Klasik olarak, akustik aşırı uyarımın neden olduğu KED, iki gruba ayrılmıştır. Akustik travma olarak adlandırılan tür, çok yoğun bir sese (örn., Patlayıcı bir gürültü) tek ve kısa süreli maruz kalmadan kaynaklanır ve ani, genellikle ağrılı bir işitme

kaybıyla sonuçlanır. Diğer tip işitme kaybına genellikle gürültüye bağlı işitme kaybı (GBİK) denir ve daha az yoğun ses seviyelerine kronik maruz kalmaya bağlı oluşur (28).

Gürültüye bağlı işitme kaybına spesifik tanımlanmış semptom ve bulgular; 1) Esas olarak DTH' lerin etkilendiği, kalıcı bir sensorinöral işitme kaybı; 2) Odyolojik bulgularda tanımlanan işitme kaybının derecesine ve paternine neden olacak düzeyde kronik gürültü öyküsü (8 saat / gün, > 85 dB) 3) 5 ila 10 yıllık gürültülü ortamda kalma süresince kademeli olarak artan işitme kaybı; 4) Başlangıçta 3 ila 8 kHz arasındaki yüksek frekansları içerip, 2 kHz ve daha alçak frekansları etkilemeyen işitme kaybı; 5) Odyolojik testlerle uyumlu konuşmayı ayırt etme skorları ve 6) Gürültüye travmasının sona ermesinden sonraki dönemde de stabilleşen işitme kaybı olarak tanımlanmıştır (27,28).

2.2.1.3 Eşdeğer Enerji Kavramı

Eşdeğer enerji düzeyi kavramına göre, maruz kalınan sesin şiddeti ile süresinin çarpımı sabittir. Bireylerin belirli bir periyotta (günlük/haftalık) maruz kaldığı ses enerji miktarı eşdeğer enerji düzeyi (dBA) olarak ifade edilir. Bu kavram, işitme hasarına neden olabilecek gürültü düzeyinin tahmininde kullanılır. Genelde 75- 78 dBA' nın üzerindeki gürültü, işitme hasarına yol açan seviye olarak kabul edilir. Ulusal iş sağlığı ve güvenliği enstitüsü (National Institute for Occupational Safety and Health: NIOSH) ve İş Güvenliği ve Sağlığı Yönetimi (Occupational Safety and Health Administration: OSHA)'nin gürültü düzeyi ile maruz kalınması önerilen süreye ilişkin önerisi Tablo 1'de verilmektedir. NIOSH ses enerji düzeyi 3 dBA arttığında sürenin yarıya inmesi gerektiğini önerirken, OSHA ses düzeyi 5 dBA arttığında maruz kalınması gereken sürenin yarıya inmesini önermektedir (3,18).

Tablo 1. NIOSH ve OSHA'ya göre gürültü düzeyi ile maruz kalınması önerilen süre ilişkisi

Gürültü Düzeyi (dBA)	Süre (Saat)	
	NIOSH	OSHA
85	8	16
86	6,4	13,9
87	5,0	12,1
88	4	10,6
89	3,17	9,2
90	2,5	8
91	2	6,9
92	1,6	6,01
93	1,0	5,3
94	0,9	4,6
95	0,8	4

2.2.2 Gürültüye Bağlı İşitme Kaybında Objektif Odyolojik Değerlendirme

2.2.2.1 Otoakustik Emisyonlar (OAE)

Amerikalı bilim adamı Gold ilk olarak 1948 yılında kokleada aktif bir mekanizmanın var olduğu görüşünü ortaya atmıştır. Bu teoriden 30 yıl sonra 1978' de İngiliz bilim adamı Kemp, otoakustik emisyonların (OAE) varlığını ispatlamıştır. Yapılan araştırmalarda kokleanın sesli uyarana yanıt olarak sadece bazalden apikale doğru değil aynı zamanda geriye doğru enerji ürettiği ortaya konulmuştur (33).

Sağlıklı kulaklarda uyarın olsun ya da olmasın kokleadaki DTH' lerden kaynaklanan OAE' ler, iç kulak sıvıları, kemikçik zincir ve timpan membran yoluyla DKY' na yayılır. Bu akustik enerjinin, DKY' na yerleştirilen çok hassas ve minyatür mikrofonlarla kaydedilmesi ile OAE ölçülür (34).

2.2.2.1.1 Otoakustik Emisyon Türleri ve Özellikleri

Otoakustik emisyonlar uyaran kullanılıp kullanılmamasına göre iki grup olarak sınıflanabilir; spontan otoakustik emisyonlar ve uyarılmış (evoked) otoakustik emisyonlar.

2.2.2.1.1.1 Spontan Otoakustik Emisyonlar

Sağlıklı genç kulaklarda hiçbir akustik uyaran olmaksızın 10 ile 30 dB SPL düzeyinde yayılan saf seslere denir. 0,5-9 kHz aralığında gözlenebilir. Sensörinöral işitme kaybının 30 dB' i aştığı durumlarda gözlenmediği bilinmektedir (33).

2.2.2.1.1.2 Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar

Uyarılmış OAE'lar, ortaya çıkarılmaları için kullanılan uyaranların çeşidine göre sınıflandırılırlar.

1. Geçici Uyarılmış Otoakustik Emisyonlar (Transient evoked otoacoustic emissions, TEOAE): Kısa süreli akustik uyarandan sonra kaydedilirler.
2. Uyaran Frekansına Bağlı Otoakustik Emisyonlar (Stimulus frequency otoacoustic emissions, SFOAE): Sürekli olarak ve düşük şiddette verilen uyarıcıya cevaben aynı frekansta yayılan emisyonlardır.
3. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyonlar (Distortion product otoacoustic emissions, DPOAE): Aynı anda verilen f_1 ve f_2 ($f_1 < f_2$) olarak isimlendirilen iki farklı frekanstaki saf sesin, kokleada meydana getirdiği intermodülasyon distorsiyonunun ölçümüdür. Bu ilişkinin fonksiyonu $f_2 - f_1$, $2f_1 - f_2$ gibi farklı biçimlerde olabilir. DPOAE' lerin elde edilmesinde temel frekansların arasındaki oranın önemi büyüktür. Sinyal gürültü oranı 3 dB ve üzerinde ise DPOAE yanıtları genellikle var kabul edilir. DPOAE' ler 40-50 dB HL' yi aşan sensorinöral işitme kayıplarında elde edilemez. Sağlıklı insanlarda %90 üzeri oranlarda DPOAE saptanmaktadır (33).

2.2.2.2 İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP)

İşitsel uyarılmış beyinsapı potansiyelleri (İUBP), uyaranın kokleaya ulaşmasının ardından ilk 15 milisaniyede (ms) ortaya çıkan erken latanslı

potansiyellerdir. Gerçek anlamda bir işitme testi olmaktan çok işitsel sistemdeki afferent nöronların eşzamanlı ortaya çıkan aksiyon potansiyellerinin bir yansımasıdır (35).

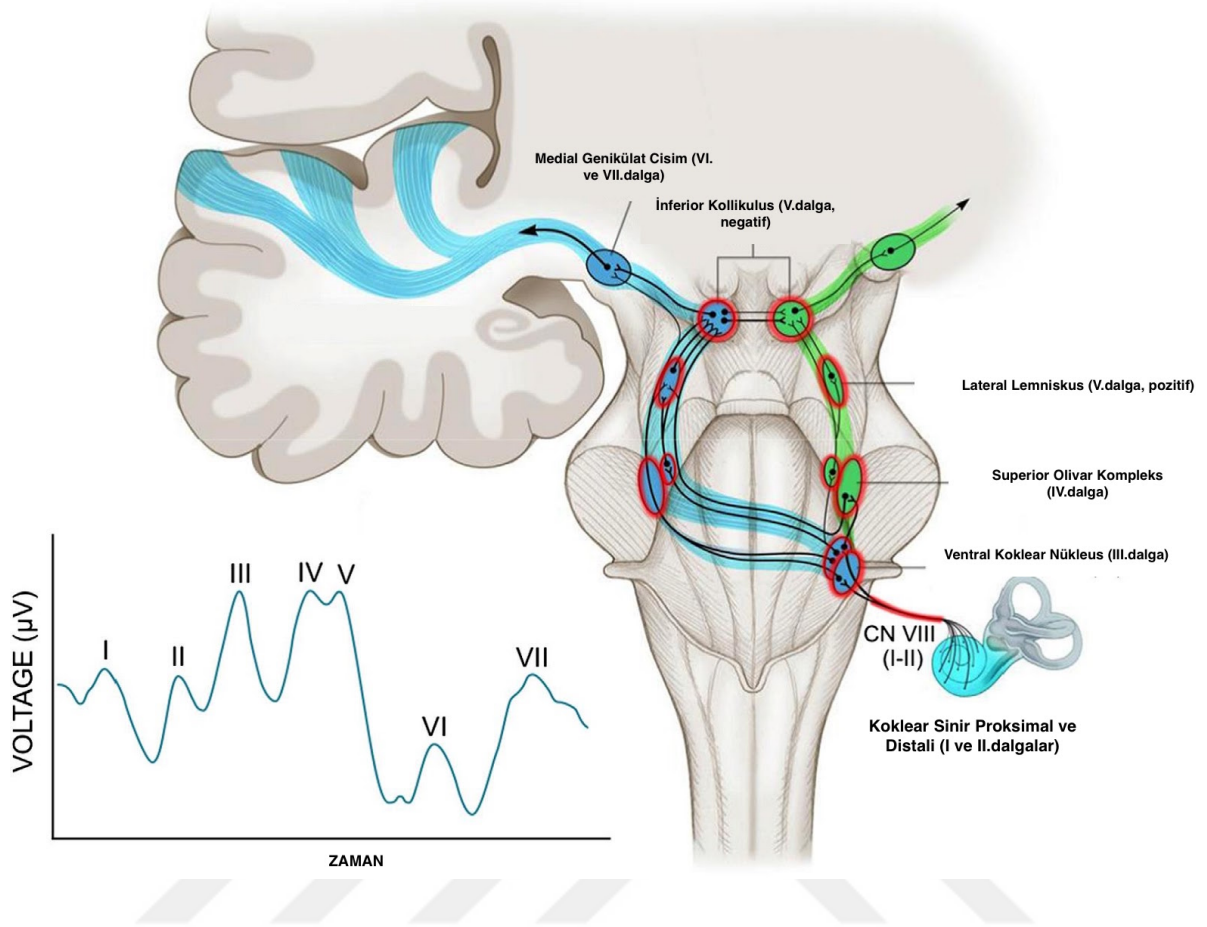
İşitsel uyarılmış beyinsapı potansiyelleri ilk olarak Sohmer ve Feinmesser tarafından 1967'de kaydedilmiş, 1971 yılında ise Jewett ve Williston tarafından günümüzdeki haliyle tanımlanmıştır (36).

İşitsel uyarılmış beyinsapı potansiyellerinde toplam yedi adet dalga tanımlanmıştır. Bunlar latanslarına göre I'den VII'ye kadar romen rakamlarıyla küçükten büyüğe sıralanarak isimlendirilmiştir. İUBP dalgalarının kaynaklandığı düşünülen anatomik yapılar tek bir sinirsel yapı ile sınırlandırılmasa da kabul edilen genel görüş aşağıdaki gibidir;

- **I. dalga:** Koklear sinirin distal bölümü
- **II. dalga:** Koklear sinirin proksimal bölümü
- **III. dalga:** Ventral koklear nukleus (bulbus)
- **IV. dalga:** Superior olivar kompleks (alt pons)
- **V. dalga:** Pozitif kısmı lateral lemniskus (mezensefalon) , negatif kısmı inferior kollikulus (35,36)

İşitme sisteminde patoloji bulunmayan bireylerde standart olarak I, III ve V. dalgalar saptanırken, standart verteks – ipsilateral mastoid derivasyonlarında II, IV, VI ve VII. dalgaların gözlenmesi seyrekdir. Bundan dolayı normatif çalışmalarda ve ayırıcı tanı amaçlı testlerde sadece I, III ve V. dalgaları ilgilendiren ölçümler kullanılmaktadır. Eşik saptama amaçlı uygulamalarda ise sadece V. dalganın varlığı araştırılır (35,36).

Klinik uygulamalarda işitme eşiklerini tahmin etmeye yardımcı olan bir araçtır. İUBP, retrokoklear yolların işitsel beyinsapı boyunca bütünlüğünün değerlendirilmesine yardımcı olmak için de kullanılabilir ve böylece kafa tabanı cerrahisi sırasında işitsel işlevi izlemek için de kullanılır (36).



Şekil 5. İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri Dalgaları ve Kaynaklandıkları Düşünülen Sinirsel Yapılar (<http://www.hearingfoundation.in/HearingTest.htm> web sitesinden alınarak uyarlanmıştır. Erişim tarihi:16.05.2018)

İUBP testinde işitsel uyarılar klik ve ton burst uyarın olarak iki şekilde verilebilir. Klik uyarın 100 mikrosaniyelik uyarındır ve 500 Hz - 4000 Hz bölgesindeki işitmeden etkilenir. Ancak en çok 2000-4000 Hz saf ses eşikleri ile uyumludur. Geniş bant uyarım yaparak tüm kokleadaki frekans yanıtını sağlarken, ton burst uyarın klik uyarına kıyasla frekansa spesifik bilgi sağlar (30,36).

2.2.3 Sıçanlarda İşitmenin Değerlendirilmesi

Albino Wistar sıçanlar, rodentia takımının Muridae familyasında sınıflanan beyaz renkli sıçan türüdür. Bu sıçanlar birçok deneysel çalışmada kullanılmasının yanı sıra aynı zamanda pet hayvanı olarak da kullanılmaktadır. Deneysel çalışmalarda tercih edilmesinin nedeni çabuk üreyebilmesi, beslenme ve bakım

maliyetlerinin düşük olması, deneysel çalışmalara kolay uyum göstermesi olarak sıralanabilir (37).

Sensorinöral işitme kaybı ile ilgili çoğu biyolojik çalışma, kedi, çinçilla, gerbil, kobay, fare ve sıçan üzerinde gerçekleştirilmiştir. Kediler dayanıklı hayvanlar olduğundan, uzun süreli elektrofizyolojik kayıt için daha uygun olarak değerlendirilmiştir. Moleküler biyoloji ve genomikteki hızlı gelişmelerle birlikte, araştırmalar, sıçanların ve farelerin, özellikle de genetik çeşitliliğin etkilerinin büyük ölçüde azaldığı doğuştan gelen suşlarının kullanımına doğru kaymıştır. Ayrıca sıçanların iç kulak anatomisi ve işitme fizyolojisinin, insandakiyle olan benzerliği nedeniyle sıçanlar GBİK' e yönelik deneysel araştırmalarda rahatlıkla kullanılabilir (4,29).

Sıçanlarda işitme değerlendirilmesinde davranışsal ve elektrofizyolojik yöntemler uygulanabilir. Davranışlar yöntemler işitme düzeyi ve frekansı hakkında oldukça geniş bilgiler verse de hayvanların şartlandırılması gerekliliği de göz önüne alınarak zaman kısıtlılığı ve objektif bir yöntem olmaması nedeniyle elektrofizyolojik yöntemlerin kullanımı ön plana çıkmıştır. Bu nedenlerle, İUBP ve DPOAE testleri fare, sıçan ve diğer deney hayvanlarında en yaygın kullanılan yöntemlerdir (29,31,38).

Distorsiyon ürünü OAE testi tüylü hücrelerin, özellikle de DTH' lerin fonksiyonu hakkında bilgi verirken, iç kulağın tüm fonksiyonuna ilişkin ayrıntılı bilgi verememektedir (33,36).

İşitsel uyarılmış beyinsapı potansiyellerinde, klik uyaran işitsel değerlendirmelerde kullanılmasına rağmen yapısı gereği frekansa spesifik bilgi verememektedir. Bu nedenle frekansa spesifik bilgi veren tone burst İUBP'nin kullanılması daha uygundur. Tone burst uyaran ile gerçekleştirilecek işitsel değerlendirme, farklı frekans alanları hakkında daha ayrıntılı değerlendirme sağlar. Ayrıca sıçanların işitebildiği frekans aralığının 70-80 kHz düzeylerine dek çıkması nedeniyle mutlaka tiz frekans değerlendirilmeleri de yapılmalıdır (26,29).

Dişi sıçanlarda, erkeklere göre dalga latansında kısalma ve amplitüdünde artma izlenir. Bazı ilaçların dalga latansında veya amplitüdünde küçük değişiklikler yapabileceği bilinmektedir. Ketamin sıçanlarda sıklıkla kullanılan hızlı ve kısa etkili bir anesteziktir. Ketaminin bilindiği kadarıyla latans ve amplitüdde herhangi bir etkisi

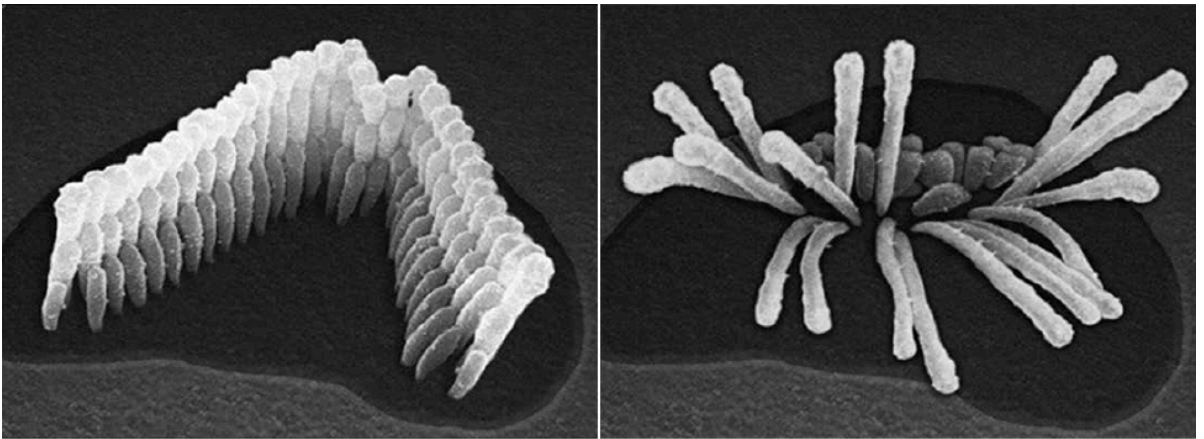
bulunmamaktadır. İUBP dalgaları vücut sıcaklığından etkilenir. Vücut sıcaklığı 10°C altına indiğinde latansta uzama, amplitüdde düşme, 42°C üzerine çıktığında ise latansta kısalma görülmektedir (39).

2.2.4 İç Kulakta Gürültüye Bağlı Hasarın Mekanizmaları

Yüksek şiddette akustik enerji maruz kalma sonrası tüylü hücrelerin, nöronların ve koklea lateral duvarının mekanik etkiye bağlı hasarlandığı ve kaybedildiği 20 yıldan uzun süredir bilinen bir durumdur. Ancak bu konuda yapılan ileri araştırmalar sonucu GBİK'nın sadece mekanik etkiye değil aynı zamanda hücre içi bazı metabolik olaylara bağlı olduğu gösterilmiştir (40).

2.2.4.1 Gürültüye Bağlı Mekanik Hasar Oluşumu

Yüksek şiddetteki gürültüye uzun süre maruz kalma veya ani, patlama tarzındaki gürültüye kısa süreli maruz kalmayla beraber orta kulak ve iç kulak yapılarında mekanik hasar meydana gelebilir. Bunlar timpan membran perforasyonu, kemikçik zincirde ayrılma, stereosilyaların tektoriyal membranla olan bağlantılarının hasarlanması, tüylü hücrelerin yapılarının hasar görmesi (Şekil 6), silyaların birbiri ile olan bağlantılarının kopması, destek hücrelerin ve bazal membranın hasarlanması sonucu perilenf-endolenf karışması ve skar oluşumu olarak özetlenebilir (3,4,6,28,40).



Şekil 6. Gürültüye bağlı DTH'lerde meydana gelen mekanik hasar. (<https://thehearinginstitute.org/hidden-hearing-loss-effect> web sitesinden alınarak uyarlanmıştır. Erişim tarihi: 17.05.2018)

2.2.4.2 Gürültüye Bağlı Metabolik Hasar Oluşumu

Gürültüye bağlı işitme kaybı oluşumunun büyük bir bölümünden, hücrelerin kendi içinde meydana gelen biyokimyasal süreçlerin aracılık ettiği tüylü hücre hasarı sorumludur. Yaklaşık 20 yıl öncesine kadar daha az bilinen bu süreçler, hücre ölümü ve sağ kalım mekanizmaları üzerinde yoğun araştırmalar yapan ve hücre ölümünün düzenlenmesinin kür arayışlarında önem taşıdığı deneysel onkolojik araştırmalarla aydınlatılmaya başlanmıştır (40).

2.2.4.2.1 İç Kulakta Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çiftelenmemiş elektron bulunduran yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Serbest radikaller birçok fizyolojik ve patolojik mekanizma ile ortaya çıkabilirler. Hücrelerde mekanik ya da metabolik bir aşırı uyarılma sonucu reaktif oksijen türleri ve hücrelerde halihazırda var olan antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulması oksidatif hasara neden olur (6,28,40).

Tüylü hücre hasarında serbest oksijen radikallerinin önemli bir rolü olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. Serbest oksijen radikallerinin yanı sıra, bir reaktif azot ürünü olan peroksinitrit (ONOO-), nitrik oksit (NO) ve superoksit radikalleri, GBİK sonrası erken dönemde hücrede saptanan tehlikeli serbest radikallerdir. Bu serbest radikaller, DNA, proteinler, sitozolik moleküller, hücre yüzeyi reseptörleri ve membran lipitleri dahil olmak üzere hücreler içinde çok sayıda bileşen ile kimyasal olarak reaksiyona girerek hasara neden olurlar, böylece birçok hücre içi mekanizmayı etkilerler. Gürültüye bağlı işitme kaybının yanı sıra, ototoksik ilaçlarla tedavinin de kokleada serbest radikal türlerinin oluşumunu artırdığı gözlenmiştir (28,40,41).

Serbest oksijen radikalleri, gürültü travmasının hemen sonrasında koklear dokuda tespit edilmiştir. Herhangi bir morfolojik hasar belirtisi ortaya çıkmadan önce dahi tüylü hücrelerde serbest radikaller gözlenir, bu da hasarın başlatılmasında rolleri olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, serbest radikallerin, sese maruz kalmadan sonraki 7-10 günlük süreçte kokleada bazaldan apekse doğru yayıldığı

saptanmıştır. Bu durum, oksidatif stresin ilerleyici koklear hasarı indüklediğini göstermektedir (40,42).

Serbest radikaller doğrudan ortaya çıkan biyokimyasal hasarın ötesinde, dolaylı etkilere de sahiptir. Araştırmacılar, serbest radikallerin kokleada lipid peroksidasyonunu tetikleyerek yüksek derecede toksik ürünlerin ortaya çıkmasına neden olduğunu saptamıştır. Lipit peroksidasyon ürünlerinin kendisi apoptoza yol açabilirken, izoprostanlar gibi vazoaktif lipid peroksidasyon ürünleri de aşırı gürültüyle ilişkili olabilecek düşük koklear kan akımına yol açabilir. Gürültü kaynaklı iskemi ve takip eden reperfüzyon, pozitif bir geri besleme döngüsünde radikal oluşumunu daha da artırabilir (6,40,42).

Serbest radikaller, interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-a) gibi proinflamatuvar sitokinlerin artışı yoluyla da inflamasyonda artışa yol açarlar. Bu proinflamatuvar mediyatörler de koklear hasarı artırır (6,43).

2.2.4.2.2 Kokleada Kalsiyum Homeostazı ve Serbest Radikal Üretimi

Hücrelerde mitokondri, metabolizmasının yan ürünleri olarak üretilen serbest radikallerin en önemli kaynağıdır. Mitokondriyal kaynaklı serbest radikaller, potent bir antioksidan enzim olan NADPH gibi indirgeyici mekanizmalar tarafından sıkı şekilde kontrol edilir. Serbest radikallerin sitoplazmaya geçmesini mitokondriyal membran sınırlar. Mitokondriyal membran bütünlüğünün ve / veya potansiyelinin kaybı, radikallerin sitoplazmaya salınmasına ve ayrıca serbest radikal üretiminin artmasına da yol açabilir. Kalsiyum homeostazı bu sürecin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (40).

Esterberg ve ark. aminoglikozid antibiyotiklerin, endoplazmik retikulum (ER) ve mitokondri arasında kalsiyum homeostazını bozarak tüylü hücrelerdeki sitoplazmik serbest radikalleri indükleyebileceğini bulmuşlardır. Aminoglikozidlerin, kalsiyum akışını endoplazmik retikulundan mitokondriye doğru artırabildiğini göstermişlerdir. Mitokondirde artan kalsiyum miktarının ise, mitokondriyal membran potansiyelinin kaybına ve artan membran geçirgenliğine yol açtığını saptamışlardır (44).

Serbest kalsiyum, yüksek düzeyde gürültüye maruz kalmanın hemen sonrasında hücre içinde artmış olarak bulunmuştur. Bu kalsiyum artışı,

ekstrasellüler kompartmandan bazı iyon kanalları yoluyla olmaktadır. Hücre içine geçen kalsiyum da intrasellüler kalsiyum depolarını boşaltıcı etki göstererek kalsiyum düzeyinde belirgin artma meydana getirir. Hücre içi artan kalsiyum da hem serbest radikal üretimini tetikler hem de radikallerden bağımsız olarak apoptotik ve nekrotik hücre ölüm yollarını aktive eder (6,40).

2.2.4.2.3 Glutamat Eksitotoksitesi

Glutamat, afferent liflerin eksitator nörotransmitteri olarak görev yapar. Aşırı gürültü, iç tüylü hücrelerin sinaptik aralıklarında nörotransmitter olarak görev yapan glutamatın, aşırı salınımına yol açar. Glutamatın aşırı salınımı eksitotoksite olarak adlandırılır. Buna bağlı olarak hücrede hızlı bir şekilde serbest radikal oluşumu tetiklenir ve kokleada serbest radikal artışı gerçekleşir. Bu şekilde de apoptoz ile tüylü hücre veya nöronal hücre ölümü gerçekleşir. Glutamatın düşük olması normal eksitasyonun aksamasına, aşırı yükselmesi ise kalsiyum homeostazisinin bozulmasına neden olur. Glutamat hücre içine kalsiyum geçişine neden olarak hücreye hasar verir (6,18,29,40,45).

Glutamat eksitotoksitesi; lipid peroksidasyonu, Na-K ATPaz aktivitesinin engellenmesi, mitokondrial solunum enzimlerinin blokajı, gliseraldehit-3 fosfat dehidrogenaz engellenmesi yoluyla hücre ölümüne yol açan, serbest radikallerin ortaya çıkması ile sonuçlanan bir dizi olaylar zincirini başlatır (6).

2.2.4.2.4 Programlı Hücre Ölümü ve Nekroz

Yoğun gürültüye maruz kalma sonrasında kokleadaki tüylü hücreler ve diğer hücrelerde apoptoz ve nekrozun birlikte etkili olduğu görülmüştür. Apoptoza daha çok yoğun gürültüye maruz kalan bölgelerde rastlanmakla beraber, nekroz kokleadaki diğer bölgelerde de yoğun olarak görülmektedir (46).

Apoptoz, organizmanın homeostazını sürdürebilmesi için gerekli olan programlı hücre ölümüdür. Apoptoz sürecinde, komşu hücrelerle bağlantı kopması ve büzüşme, kromatin yoğunlaşması ve hücrenin piknotik bir görünüm alması sonrası hücre DNA'sı nükleozomlarından ayrılır. Ancak organellerin yapısal bütünlüğü korunur. Hücre membranı yapısındaki fosfolipidlerin, hücre membranı iç yüzünden dış yüzüne transloke olur. Hücrenin nükleusu küçülüp parçalara ayrılır.

Sonuçta oluşan apoptotik cisimcikler makrofajlar tarafından tanınır ve fagositoz gerçekleşir. Bu süreç sonucunda inflamasyon gözlenmez (46).

Apoptoz, ekstrensek ve intrinsek yollarla uyarılan kaspazların bazı ardışık reaksiyonları tetiklemesi ile olur. Ekstrensek yol TNF-alfa (Tümör Nekroz Faktörü) gibi ekstrasellüler bir habercinin transmembran ölüm reseptörlerini uyarmasıyla başlar. Uyarıyla beraber kaspaz-8 parçalanıp kaspaz 3 ve 7'nin rol aldığı bir ölüm yolağı aktive olur. İntrinsek yol ise mitokondriyal membran geçirgenliğinin artması ile başlar. Geçirgenlik artışı ile serbest radikaller ve sitokrom c hücre içine salınır. Sitokrom c APAF-1'e bağlanarak apoptozomu oluşturur. Oluşan apoptozom ise kaspaz-9 u aktive ederek ölüm yolağını başlatır. Bunun dışında kaspaz bağımsız diğer yollarla da apoptoz aktive olabilir (3,40,47). Bcl-2 proteinleri apoptozun düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Bax ve Bak gibi proapoptotik aile üyeleri, apoptozu aktive ederken, Bcl-2 ve Bcl-xL gibi anti-apoptotik üyeler apoptozu inhibe eder (40).

Nekroz; hücre çekirdeğinin hasarlanması ve ödemlenmesi ile ilişkili pasif bir hücre ölüm mekanizmasıdır. Gürültü, ısı, toksik maddeler gibi dışarıdan gelen fiziksel ve kimyasal uyarılar, hücrede iyon dengesinin bozulmasına yol açar. Bu durumda hücreler sıvı alır ve organeller şişer. Plazma membran bütünlüğü erken aşamada bozulur, buna bağlı ozmotik dengenin de bozulmasıyla hücreler şişerek ölüme gider. Bütünlüğü bozulan hücre içeriğinin ekstrasellüler boşluklara geçmesiyle enflamasyon meydana gelir. Bu olay sonrasında makrofajlar, nekrotik dokuya göç eder ve enflamasyon başlar. Apoptoz ile nekroz arasındaki en önemli fark budur (30).

Gürültüye maruz kalma sonrasında ölüm yollarından hangisinin etkili olacağı konusunda iki faktörün rol oynadığı düşünülmektedir. Bunlardan ilki uyarın şiddetidir. Gürültü 105 dB şiddetinde ise genellikle nekroz tetiklenirken, 120 dB ve üzerinde apoptozun etkili olduğu varsayılır. İkinci bir faktör ise morfolojik analizlerle gürültüye maruz kalma arasındaki zaman aralıklarıdır. Hasarın 1. Saatinden itibaren başlayan apoptoz, dört günden sonra azalır ve 30 güne kadar devam eder (48).

2.2.5 Gürültüye Bağlı İşitme Kaybında Antioksidanlar ve Oleuropein

2.2.5.1 Antioksidanlar

Gürültüye bağlı işitme kaybından korunmada konvansiyonel koruyucu yöntemlerin (gürültünün kaynağında azaltılması, maruz kalma süresinin kısaltılması, kişisel koruyucu kulaklık vb. ekipmanlar kullanılması) yanı sıra farmakolojik ajanların kullanımı konusunda yapılan araştırmalar halen devam etmektedir (3,4,28).

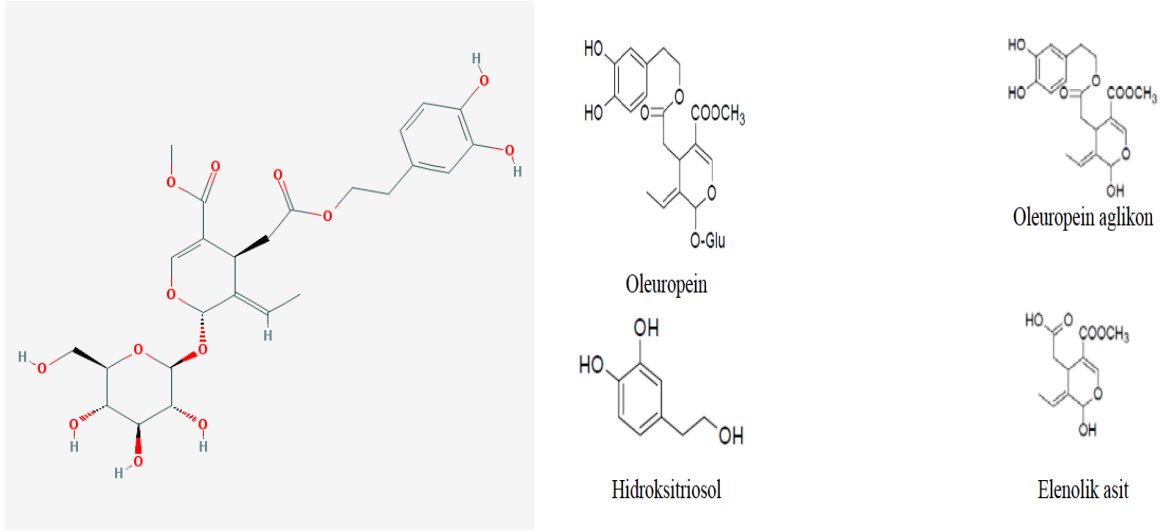
Glutasyon, D-metiyonin, ebselen, asetil L-karnitin, resveratrol, askorbik asit ve suda çözünebilir koenzim Q gibi antioksidanlar, gürültüye maruz kalmadan önce uygulandığında hayvan modellerinde GBİK' nı azaltıcı etkiler göstermiştir. A1 adozin reseptörü agonistleri, ferulik asit, D-metionin veya serbest radikal çöpçüleri olarak salisilat ve troloksun kombine olarak verildiği ve gürültü travmasının ardından üç güne kadar olan tedavilerin de GBİK' nda faydalı etkileri olduğu izlenmiştir. Antioksidanlar arasında, N-asetilsistein (NAC), çeşitli koşullar, hayvan modelleri ve dozajlar altında gürültü travmasını azaltmak için muhtemelen en kapsamlı olarak değerlendirilen ajanlardandır. Bununla birlikte, NAC sadece gürültüden önce verildiğinde değil, aynı zamanda maruz kaldıktan sonra da GBİK' na karşı koruyucu etkiler sergilemiştir. Şaşırtıcı bir şekilde, bazı çalışmalar da NAC' ın koruyucu etkisini göstermede başarısız olmuştur (4,6,21,49).

Bunların dışında nörotrofik faktörler, kalsiyum kanal blokerleri, vazodilatatör ajanlar, glutamat antagonistleri ve steroid hormonlar da GBİK'ndan korunmada kullanılması yönünde deneysel araştırmalar yapılan moleküllerdir (4).

2.2.5.1.1 Oleuropein

İlk kez 1908 yılında Bourquelot ve Vintilesco tarafından keşfedilen Oleuropein (OLE) adlı bileşiğin yapısı ancak 1960 yılında tanımlanabilmiştir. Oleuropein, zeytin meyvesinin ilk dönemlerinde meyvede daha fazla bulunan, olgunlaşmanın ilerlemesi ile zamanla metabolize olarak miktarı azalan ve meyveye acılık veren bir maddedir. Zeytin ağacının tamamında bulunduğu bilinen bu bileşiğin doğada bilinen en önemli kaynağı zeytinciliğin yan ürünü olan zeytin yaprağıdır (60-90 mg/g (kuru ağırlık)) (7,8).

Oleuropein, üç yapısal alt birimden oluşmakta olup bunlar hidroksitriosol diğer bir deyişle 4-(2-hidroksietil) benzen-1,2 diol olarak adlandırılan bir polifenol ile sekoiridoit elenolik asit ve glikoz molekülüdür (Şekil 7)(9,50,51).



Şekil 7. Oleuropein ve oleuropein hidroliz ürünlerinin kimyasal yapısı. (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Oleuropein> web sitesinden alınarak uyarlanmıştır. Erişim tarihi: 22.05.2018)

Zeytinin hasattan hemen sonra tüketilememesinden sorumlu olan bu molekül, suda çözünbilme özelliğine sahiptir. Klasik salamura yöntemi, alkali uygulaması, enzimatik yöntem ya da hidrolize edilerek zeytinden uzaklaştırılabilmektedir. Enzimatik hidroliz yönteminde oleuropein β -glikozidaz enzim aktivitesiyle glikoz ve oleuropein aglikona parçalanmakta, daha sonra esteraz enzimiyle hidroksitriosol ve elenolik asit oluşmaktadır (Şekil 7)(7,51).

Oleuropein, enteral yolla alımdan otuz dakika ila iki saat sonra plazmada maksimum konsantrasyonda saptanmıştır. Altı saat sonra ise plazmada bazal değerlere dönüldüğü izlenmiştir. Mide ve jejunumdan emildiği düşünülmektedir. Doza, alım şekline (katı, sıvıda çözülmüş halde vb.) ve cinsiyete (erkek cinsiyette daha hızlı konjugasyona uğradığı bildirilmiştir) bağlı olarak emiliminin ve atılımının değiştiği görülmüştür. En önemli metaboliti hidroksitriosoldür ve idrar ile konjuge (glukronit ve sülfat ile) metaboliti olarak atılmaktadır. Sekiz saat içerisinde idrar ile tüm metabolitlerin atılımının tamamlandığı bulunmuştur (52–54).

Oleuropeinin antioksidan, antimikrobiyel, antienflamatuar, antiaterojenik, antikarsinojenik, antiviral aktiviteler dahil olmak üzere çok sayıda farmakolojik özelliğe sahip olduğu birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur. Oleuropeinin ana biyoaktif metaboliti hidrokstriosolün, doğal olarak elde edilen güçlü bir antioksidan olduğu, diğer yapısal alt birimi elenolik asitin ise güçlü antiviral etki gösterdiği bildirilmektedir (7,9,50,55–58).

Oleuropeinin antioksidan potansiyeli temel olarak hidroksil grubunun serbest hidrojeni ve fenoksil radikalleri arasında bir molekül içi hidrojen bağı oluşumu yoluyla radikal stabiliteyi artırma yeteneğiyle açıklanabilir (59). Oleuropeinin güçlü antioksidan aktivitesi esas olarak kimyasal yapısında hidroksil gruplarının (özellikle 1,2-dihidroksibenzen parçası) bulunmasından kaynaklanır. Bu hidroksil grupları oksidasyonu önlemek için hidrojen vererek etki eder (57). Oleuropein ve ana metaboliti olan hidrokstriosol; hidroksil radikalleri (OH), peroksinitrit (ONOOH-) ve süperoksit radikallerinin güçlü temizleyicileridir. Hidrokstriosolün ana metabolitlerinden olan homovalinik alkol ve tirozol de daha az potent şekilde benzer etkiler sergilemektedir (9,58). Oleuropeinin, in vitro olarak, (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikali testi ile) oksidatif strese karşı koyabildiği, askorbik asit (C vitamini) ve alfa-tokoferole (E vitamini) benzer bir antioksidan potansiyeli olduğu gösterilmiştir (55).

Oleuropeinin lipit oksidasyonu üzerindeki koruyucu etkileri, malondialdehit ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) gibi lipit peroksit yan ürünlerinin üretimini azaltmasıyla ilişkilidir. Ayrıca yapılan bir araştırma, sağlıklı gönüllülerde OLE uygulamasının doza bağımlı bir şekilde, in vivo lipit peroksidasyonunu gösteren 8-izo-PGF2 α 'nın idrarla atılımını azalttığını göstermiştir (59).

Oleuropeinin, enflamasyon bölgesinde nötrofil myeloperoksidaz tarafından in vivo olarak üretilen güçlü bir oksidan olan hipokloröz aside karşı radikal çöpçüsü etkisi bulunmaktadır (59). Oleuropein ayrıca güçlü bir NO çöpçüsüdür. Ayrıca hücrelerde indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunu da artırmaktadır (60). In vivo olarak (alloksan-diyabetik tavşanlarda), OLE, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GRx), katalaz (CAT) gibi enzimatik antioksidanların düzeyini ve aktivitelerini ve glutatyon, alfa-tokoferol, beta-karoten ve askorbik asit gibi enzimatik olmayan antioksidanların seviyesini artırdığı gösterilmiştir (57).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Araştırmanın Tipi

Araştırma deneysel çalışma olarak planlandı. Araştırmadaki odyolojik değerlendirmeleri yapan, sıçanlara ajan uygulaması ve histolojik değerlendirmeleri gerçekleştiren araştırmacılar körleştirildi.

3.2 Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Araştırmanın deneysel bölümü olan odyolojik değerlendirmelerin uygulanması ve gürültüye bağlı işitme kaybı modelinin oluşturulması Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Histopatolojik değerlendirmeler ise Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü'nde gerçekleştirildi. Araştırmaya Haziran 2017 tarihinde literatür tarama ile başlandı, Şubat ve Mart 2018'de veri toplama işlemi ve deneysel araştırmalar yapıldıktan sonra, Eylül 2018'de sonlandırıldı.

3.3 Araştırmanın Evreni ve Örneklemi / Çalışma Grupları

Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda randomize biçimde outbred soy olarak üretilen wistar sıçanlarla deneysel olarak gerçekleştirildi. Wistar sıçanların deneysel araştırmalarda sağladığı pratik avantajlar, insan kulağı ile anatomik ve fizyolojik benzerliği nedeniyle gürültüye bağlı işitme kaybına yönelik güncel literatürde yapılan araştırmalar sonucunda model indüksiyonu açısından wistar sıçanların kullanıldığı göz önüne alınarak bu model seçildi.

Çalışmaya 28 erkek sıçanın 56 kulağı dahil edildi. Tüm sıçanların işitme ölçümünden önce otoskopik / otomikroskopik bakısı yapılarak dış kulak kanalları salim olanlar ile timpanik membranı normal olanlar araştırmaya dahil edildi.

Araştırmada kontrol ve deney grupları aşağıdaki şekilde planlandı:

Kontrol serum fizyolojik grubu (n=7): Kontrol grubunun bazal işitme ölçümünün ardından 1. saatten 10. güne kadar, 24 saat aralıklarla her gün aynı saatte, Oleuropein çözeltisiyle eş hacimde (yaklaşık 2 cc/kg/gün) serum fizyolojik (SF) oral gavaj yoluyla uygulandı. Araştırmanın 1, 7 ve 10. gününde işitme ölçümleri gerçekleştirildi ve 10. günün sonunda eter anestezisi altında sakrifiye edildi.

Kontrol OLE grubu (n=7): Deneysel kontrol grubu, bazal işitme değerlendirmesi sonrası 1. saatten 10. güne kadar, 24 saat aralıklarla her gün aynı saatte, 50 mg/kg/gün Oleuropein çözeltisi (distile su içerisinde 50 mg / 2 cc düzeyinde çözülerek) oral gavaj yoluyla verildi. 1, 7 ve 10. gün işitsel ölçümlerin ardından eter anestezisi altında sakrifikasyon gerçekleştirildi.

Gürültü serum fizyolojik grubu (n=7): Gürültü kontrol grubunun araştırma öncesinde bazal işitme değerlendirmesi gerçekleştirildi ardından protokole uygun şekilde gürültü verildi. Gürültü sonrası 1. saatten itibaren 10. güne kadar, 24 saat aralıklarla her gün aynı saatte, Oleuropein çözeltisiyle eş hacimde (yaklaşık 2 cc/kg/gün) serum fizyolojik oral gavaj yoluyla uygulandı. 1, 7 ve 10. gün işitme ölçümleri ve 10. gün işitme ölçümünün ardından eter anestezisi altında sakrifikasyon gerçekleştirildi.

Gürültü OLE grubu (n=7): Gürültü deney grubuna bazal işitme değerlendirmesi sonrasında protokole uygun şekilde gürültü verildi. Ardından 1. saatten 10. güne kadar, 24 saat aralıklarla her gün aynı saatte, 50 mg/kg/gün Oleuropein çözeltisi (distile su içerisinde 50 mg / 2 cc düzeyinde çözülerek) oral gavaj yoluyla verildi. 1, 7 ve 10. gün işitme ölçümleri ve 10. gün işitme ölçümünün ardından eter anestezisi altında sakrifikasyon gerçekleştirildi.

Deneysel modeller uygun şartlarda ve cerrahi setler ile gerçekleştirildi. Sıçanlar birbirinden kuyruklarına çizgi boyama yapılarak ayrıldı. Sakrifikasyondan sonra hayvanlar ve ortaya çıkan atıklar, tıbbi atık torbalarına alınarak Deney Hayvanları Multidisipliner Laboratuvarı tarafından hastanenin imha bölümüne gönderilerek kurallara uygun koşullarda ve şekilde yok edildi. Gruplara yapılan uygulamalar, işitme değerlendirmeleri ve sıçanların sakrifikasyonunun zamansal çizelgesi Tablo 2 'de verildi.

Tablo 2. Gruplara uygulanan deneysel işlemlerin zaman çizelgesi.

	Kontrol SF	Kontrol OLE	Gürültü SF	Gürültü OLE
Çalışma 0. Gün (Bazal Ölçümler)	DPOAE ve ABR ile bazal değerlendirme	DPOAE ve ABR ile bazal değerlendirme	DPOAE ve ABR ile bazal değerlendirme	DPOAE ve ABR ile bazal değerlendirme
Çalışma 1. Gün	-SF oral gavaj yoluyla uygulanması -DPOAE ve ABR ölçümü	-OLE oral gavaj yoluyla uygulanması -DPOAE ve ABR ölçümü	-Gürültü verilmesi ve 1.saatte SF oral gavaj yoluyla uygulanması -DPOAE ve ABR ölçümü	-Gürültü verilmesi ve 1.saatte OLE oral gavaj yoluyla uygulanması -DPOAE ve ABR ölçümü
Çalışma 1-7. Gün	-SF oral gavaj yoluyla uygulanması	-OLE oral gavaj yoluyla uygulanması	-SF oral gavaj yoluyla uygulanması	-OLE oral gavaj yoluyla uygulanması
Çalışma 7. Gün	-SF oral gavaj yoluyla uygulanması -DPOAE ve ABR ölçümü	-OLE oral gavaj yoluyla uygulanması -DPOAE ve ABR ölçümü	-SF oral gavaj yoluyla uygulanması -DPOAE ve ABR ölçümü	-OLE oral gavaj yoluyla uygulanması -DPOAE ve ABR ölçümü
Çalışma 7-10. Gün	-SF oral gavaj yoluyla uygulanması	-OLE oral gavaj yoluyla uygulanması	-SF oral gavaj yoluyla uygulanması	-OLE oral gavaj yoluyla uygulanması
Çalışma 10. Gün	-DPOAE ve ABR ölçümü -Sakrifikasyon	-DPOAE ve ABR ölçümü -Sakrifikasyon	-DPOAE ve ABR ölçümü -Sakrifikasyon	-DPOAE ve ABR ölçümü -Sakrifikasyon

3.4 Araştırma Materyali

Araştırmada ortalama 250-300 gr ağırlığındaki, 28 wistar cinsi (*Rattus norvegicus*) erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisiplin Laboratuvarı Deney Hayvanları Birimi'nden Şubat – Mart 2018 tarihlerinde temin edildi. Sıçanlar araştırma boyunca oda ısısında (20 ± 2 °C) ve 12' şer saatlik aydınlık / karanlık ortamında tutulup, standart pellet wistar sıçan yemi ve dinlendirilmiş musluk suyu ile beslendi, su ve yeme serbestçe ulaşabilmeleri sağlandı.

3.5 Araştırmanın Değişkenleri

Araştırmanın bağımlı değişkeni: İşitme kaybındaki değişim

Araştırmanın bağımsız değişkeni: Oleuropein (OLE), ajan uygulama süresi, gürültü modeli

Araştırmanın kontrollü değişkeni: Cinsiyet, ağırlık

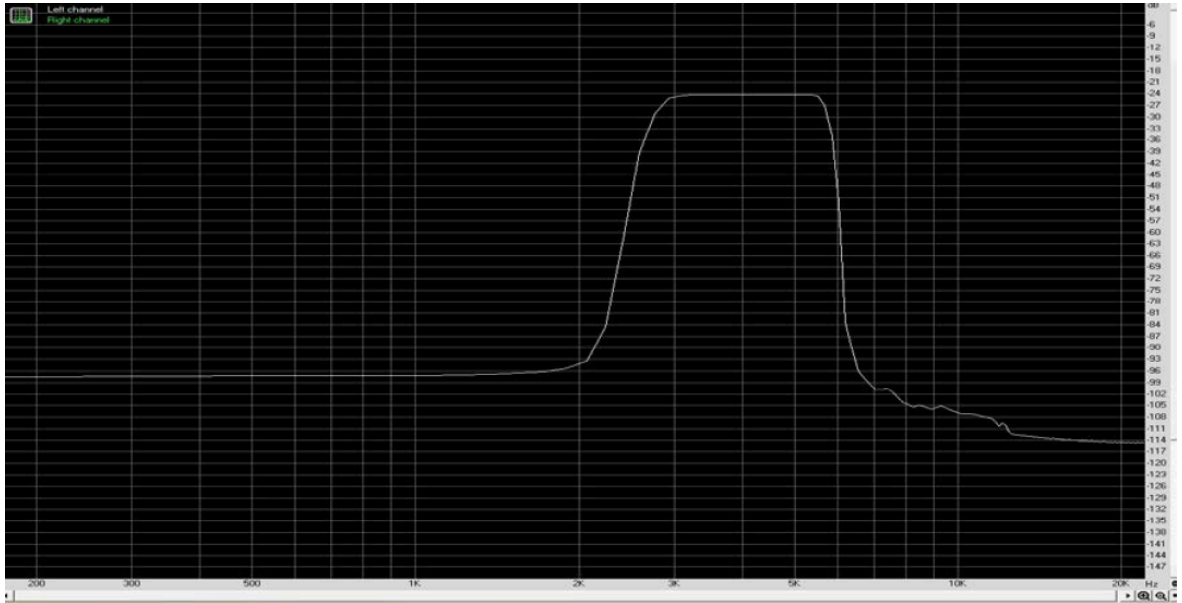
3.6 Veri Toplama Araçları

Literatürde GBİK oluşturulan hayvan modellerinde olası koruyucu ajanların etkisini araştırmak amacıyla objektif odyolojik tetkiklerin kullanımı yaygındır. Bu amaçla en çok tercih edilen yöntem yüksek frekansların da değerlendirilebildiği yüksek frekans İUBP ve DPOAE testleridir (28,61–63). Sıçanların yüksek frekans işitmelerinin daha iyi olduğu bilindiğinden, araştırmamızda da yüksek frekans İUBP ve DPOAE testleri kullanıldı. Ancak mevcut DPOAE test cihazımız ile 1 kHz - 8 kHz frekans aralığında ölçüm yapılabildiği ve yüksek frekans ölçüm özelliklerine sahip olmadığı için 8 kHz üzeri DPOAE değerlendirmesi gerçekleştirilemedi.

Görülebilir bir dış kulak yolu olan, kulak zarı veya orta kulak patolojisi olmadığı otoskopi ve gerektiğinde otomikroskopi ile doğrulanan, kulak kepçesi, baş ve gövdesinde görünen cilt patolojisi olmayan, DPOAE testinde uygun sinyal-gürültü oranı elde edilen sıçanlar araştırmaya dahil edildi. İşitme değerlendirmeleri öncesinde sıçanlara Ketamin hidroklorid (50mg/kg) ve Ksilazin hidroklorid (5mg/kg) intraperitoneal yolla uygulanarak anestezi sağlandı (64). Otoskopik bakışı doğal ve DPOAE testinde yanıt elde edilen sıçanlara yüksek frekans işitsel uyarılmış beyinsapı potansiyelleri testi uygulandı. İşitmesinin normal olduğu odyolojik değerlendirme ile belirlenen sıçanlardan rastgele seçim yapılarak dört ayrı grup oluşturuldu. Bazal işitme değerlendirmesi sonrası iki gruba gürültü verildi. Literatürde gürültü sonrası 10. günden sonra işitme eşiklerinin stabilize ettiği, İUBP eşiklerinin yanında tüylü hücre kaybının da 10 gün sonunda artış göstermediği bildirilmiştir (6,18,30,62). Araştırmada bu nedenle travma sonrası 1. saatten itibaren 10. güne kadar gruplara her gün OLE ve SF oral gavaj yoluyla uygulandı. Onuncu gün, son odyolojik testlerden sonra sakrifikasyon gerçekleştirildi.

3.6.1 Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı Modelinin Oluşturulması

Gürültüye bağlı işitme kaybı modelinde gürültü verilmesi işlemi için her bir sıçan genişliği 14x14 cm, yüksekliği 12 cm, duvarları ve tepesi tel, tabanı plastik bir kafese yerleştirildi. Gürültü verilmesi boyunca sıçanların suya ve pellet yeme serbestçe ulaşmaları sağlandı. Gürültüye bağlı işitme kaybı modeli için, alt ve üst sınır frekansları 2840 Hz - 5680 Hz olan 4 kHz oktav bant gürültü kullanıldı. Gürültü bilgisayar aracılığı ile üretildi (Şekil 8). Üretilen akustik uyarın König PRO-2008S amplifikatör ile güçlendirilerek Spekon CT-51AS tweeter hoparlör ile sunuldu. Hoparlör, kafes tabanını ortalayacak şekilde kafes tabanından 25 cm yukarıya monte edildi. Gürültü şiddeti, ses düzeyi ölçer (sound level meter) mikrofonu kafes tabanının orta noktasına yerleştirilerek yapılan ölçümlerde 120 dB SPL olacak şekilde kalibre edildi. Her bir hayvan 4 saat süre ile gürültüye maruz bırakıldı. Gürültüye maruz kalmayan sıçanlar da aynı kafeste 4 saat tutuldu. Sıçanlara uygulanan gürültüye bağlı işitme kaybı modeli Şekil 9 'da verilmektedir.



Şekil 8. Bilgisayar aracılığıyla üretilen 4 kHz oktav band gürültüye ait frekans spektrumu.



Şekil 9. Sıçanlara uygulanan GBİK modelinde gürültü verilmesi işlemi

3.6.2 Anestezi Yöntemi

Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon Testi (DPOAE) ve İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri Testleri (İUBP) uygulanması öncesinde sıçanlara anestezi uygulandı. Öncelikle 50 mg/kg %10'luk Ketamin (Ketasol 10 ml, 100 mg/ml flakon, Richterpharma ag, Avusturya) ve 5 mg/kg Ksilazin (Basilazin %2, Bavet İlaç San. Ve Tic. A.Ş, Türkiye) intraperitoneal yolla verilerek anestezileri sağlandı (64). Sıçanların gürültüye maruz kalması sonrası 10. gün DPOAE ve İUBP testlerinden sonra yüksek doz eter solutularak sakrifikasyonları gerçekleştirildi.

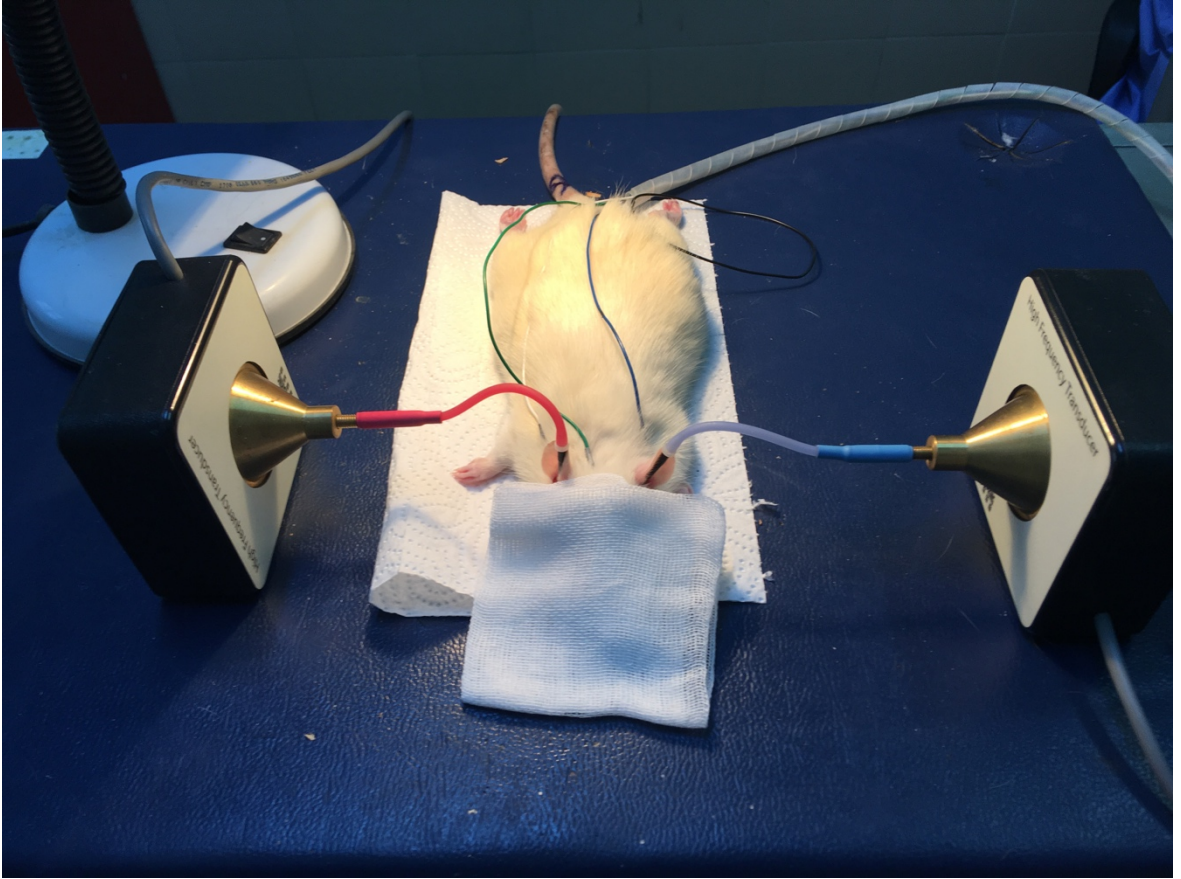
3.6.3 İşitme Değerlendirmesi

3.6.3.1 İşitme Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi

Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon Testi (DPOAE) ve İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri Testi (İUBP); sıçanlara gürültü verilmesi öncesinde

işitmenin bazal değerlendirmesi amacıyla, gürültü sonrasında ise 1. , 7. günde ve 10. günde işitsel fonksiyonları değerlendirmek amacıyla uygulandı.

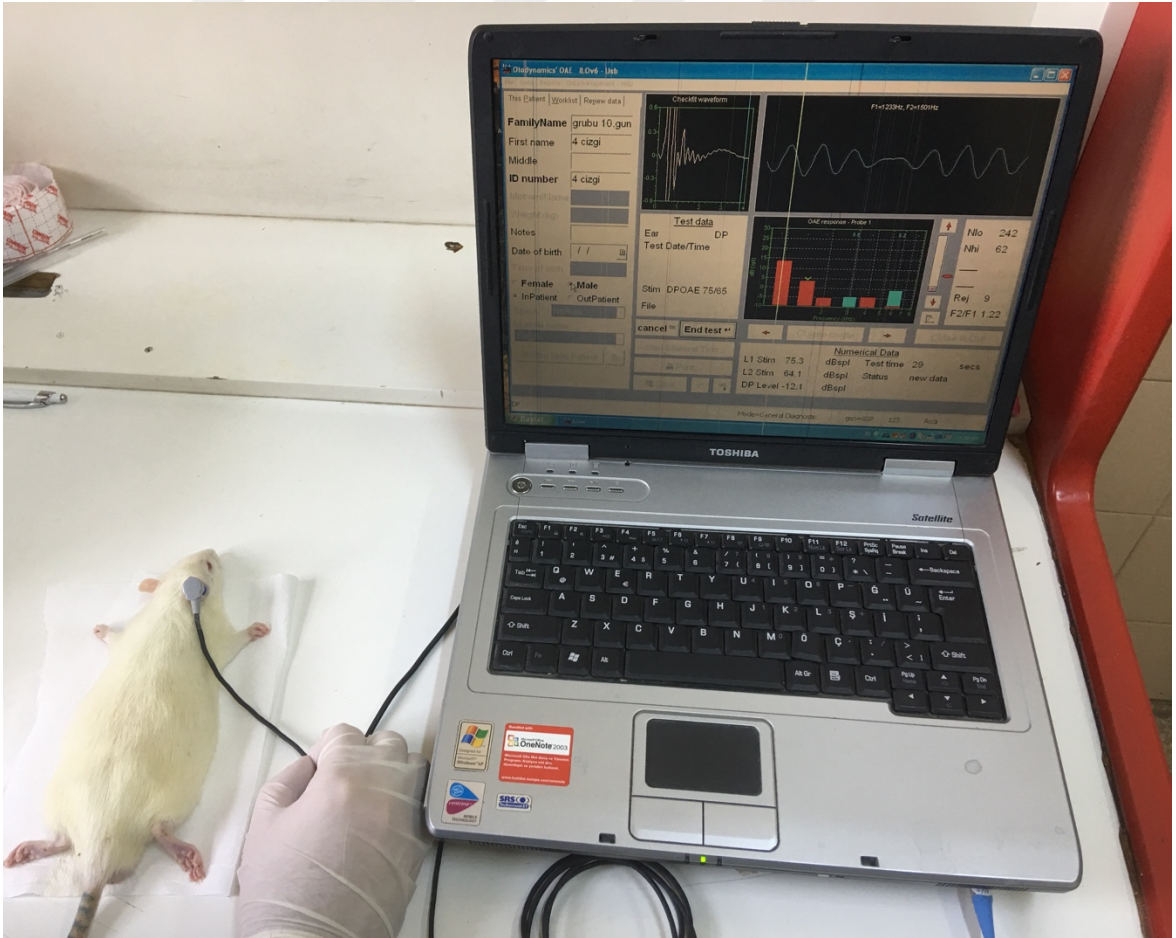
Odyolojik testler anestezi altında ve ortam gürültüsü 40 dB SPL (A) 'nın altında olan bir odada uygulandı. DPOAE testinde 1 kHz sonrası tüm frekanslarda sinyal-gürültü oranı elde edilen ve İUBP testinde işitme eşikleri 25 dB SPL ve altında elde edilen ratlar araştırmaya dahil edildi. Test boyunca sıçanların hipotermiye girmelerini önlemek amacıyla gözleri spanç ile kapatılarak spot ışığı kullanıldı. Spot ışığından gözlerinin kurumaması için serum fizyolojik gözlerine aralıklarla damlatıldı (Şekil 10).



Şekil 10. İUBP test uygulamasında kullanılan test düzeneği

3.6.3.2 Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon Testi

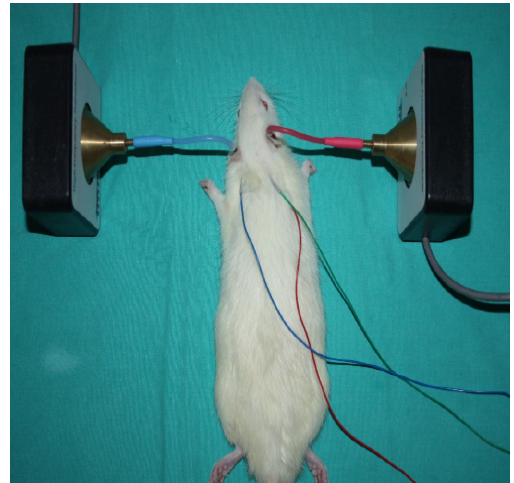
DPOAE testleri “Otodynamics ILO-V6 Cochlear Emission Analyzer”, 5.61 (Otodynamics, London) versiyonu kullanılarak gerçekleştirildi. DPOAE testi ortam gürültüsü 40 dB SPL (A)’nın altında olan sessiz odada uygulandı. Sıçanlara yatar şekilde problemlerin yerleşimine uygun pozisyon verilip sağ ve sol kulaklara ayrı ayrı test uygulandı. DPOAE testi için f_2 ve f_1 frekansları arasındaki oran (f_2/f_1) 1.22 olacak şekilde ayarlandı. L1-L2 seviyeleri arasındaki fark 10 dB SPL (L1 = 75 dB SPL, L2 = 65dB SPL) şiddetinde tutuldu. DPOAE’ lar, $2f_1-f_2$ frekansında ölçüldü. Her bir frekans için sinyal gürültü oranı 3 dB’ den büyük değerler OAE var olarak değerlendirildi. DPOAE, f_1 ve f_2 ’nin geometrik ortalamalarında 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000 ve 8000 Hz’ deki sinyal-gürültü oranları kaydedildi (Şekil 11).



Şekil 11. Sıçanlara DPOAE testinin uygulanması

3.6.3.3 İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri Testi

İşitsel uyarılmış beyinsapı potansiyelleri testlerinde Intelligent Hearing Systems (IHS, Miami, FL) cihazı Smart-EP 10 versiyonu kullanıldı. Cihazın kalibrasyonu IHS Corp. tarafından gerçekleştirildi. Uyarın olarak 37.1 / sn tekrarlama sıklığında, alterne polaritede 4, 8, 12, 16 ve 32 kHz' de, uyarının frekans spektrumunu daha darlaştırmak amacıyla Blackman zarfıyla, iniş-çıkış süresi 1000 ms olan ton burst uyarın kullanıldı. II. dalganın elde edildiği en düşük şiddet düzeyi sıçanın o frekanstaki işitme eşiği olarak kabul edildi. 70 dB SPL şiddetinden başlanarak II. dalga elde edildiğinde şiddeti azaltma, II. dalga elde edilmediğinde şiddeti artırma yöntemiyle her iki kulağın işitme eşikleri belirlendi. Eşik üstü seviyelerde uyarın şiddeti 10 dB, eşiğe yaklaştıkça uyarın şiddeti 5 dB azaltılırken, II. dalga elde edilmediğinde uyarın 5 dB artırıldı. Elektrotlarla toplanan biyoelektriksel yanıtlar 30 - 3000 Hz bant geçirgen filtreden geçirilerek 31.3 mikrosaniye örnekleme hızında analogdan dijitale çevrildi. 1024 averajlama sayısı ile kayıtlanan dalgalar, eşiğin bulunduğu son şiddet düzeyine kadar art arda ikişer kez kaydedildi. Kayıt sırasında sub-dermal iğne elektrotlar kullanıldı. Aktif elektrot vertekse, referans elektrot test kulağına, toprak elektrot ise karşı kulağın ventrolateraline (kulak altı) yerleştirdi (Şekil 10,12). Elektrot dirençleri 1 kohm'nin altında tutuldu. Uyarının sunumunda 4 kHz ölçümünde Intelligent Hearing Systems ER3A insert earphone (300 ohm), yüksek frekans (8-32 kHz) ölçümünde ise Intelligent Hearing Systems yüksek frekans insert kulaklık kullanıldı.

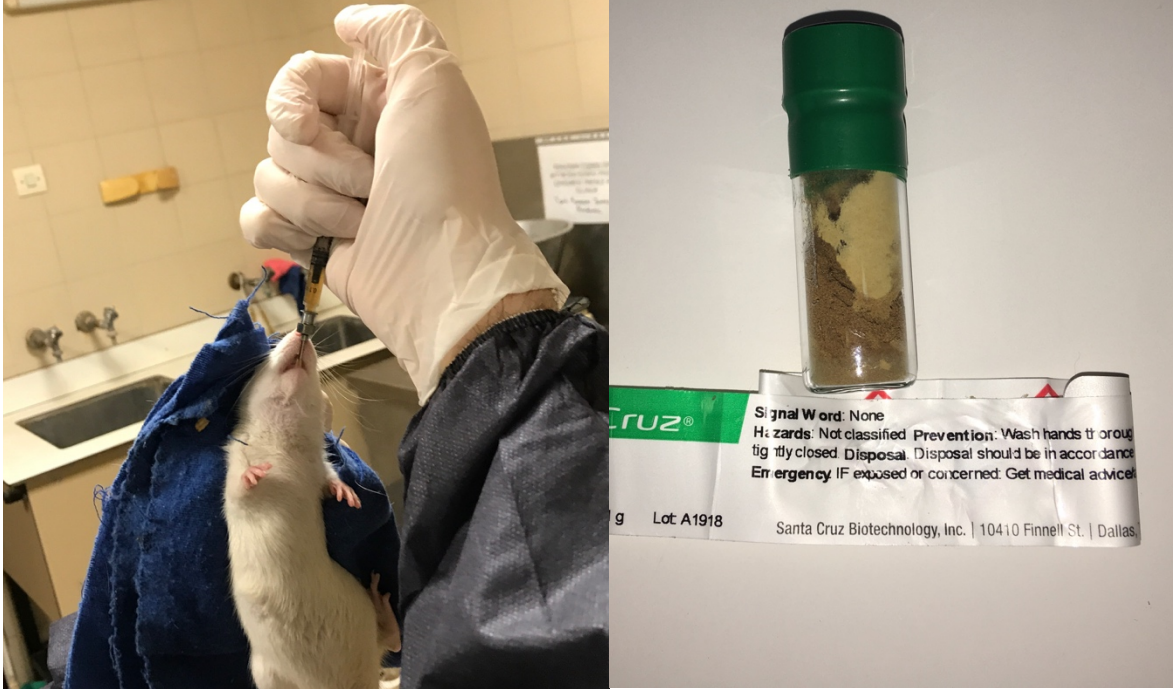


Şekil 12. İUBP testi uygulaması ve elektrotların yerleşimi

3.6.4 Ajan Uygulaması

Oleuropein toz formda (Santa Cruz Biotechnology Inc., CAS no:32619-42-4, Dallas, Texas, ABD) 50 mg / 2 cc distile suda çözülerek hazırlandı. Hazırlanan çözeltiden günlük uygulanacak dozlar ayrı ayrı eppendorf tüplerine konularak -18 santigrat derecede saklandı. Her gün ajan uygulamasından hemen önce çözülüp oda sıcaklığına getirildikten sonra sıçanlara verilmesi sağlandı. 50 mg/kg/gün dozunda, gürültü alan grupta gürültüden 1 saat sonra başlanacak şekilde 10 gün boyunca, 24 saat aralıklarla her gün aynı saatte, oral gavaj yoluyla verildi.

Oleuropein için uygun oral gavaj dozu daha önce yapılmış araştırmalarda belirtilen dozlar dikkate alınarak belirlendi (56,65). Serum fizyolojik grubu OLE grubunun aldığı çözelti ile aynı hacimde 2 cc/kg/gün olacak şekilde gürültü sonrası 1. saat başlanarak 10. güne kadar oral gavaj yoluyla verildi (Şekil 13). Gürültü almayan OLE ve SF grubuna gürültü gruplarıyla aynı zamanlama çizelgesinde ve eş dozlarda OLE ile SF uygulandı. Oral uygulama sonrası herhangi bir toksisite gözlenmedi.



Şekil 13. Oleuropeinin oral gavaj yolu ile uygulanması ve toz formundaki görünümü

3.6.5 Histolojik İnceleme

3.6.5.1 Hematoksilen – Eozin Boyama

Tüm sıçanların sağ ve sol temporal kemikleri, 10. gün radyolojik incelemeleri sonrasında eter anestezisi altında bütün olarak disseke edilerek çıkarıldı. Hemen sonrasında hacminin 10 katı miktarda % 10 formalin solüsyonu içine konuldu. Oda ısısında 48 saat tespit edildi. Doku örnekleri, 5 gün %5 glacial asetik asit solüsyonunda dekalsifikasyona bırakıldı. Dekalsifiye olduğunda kesit alınarak kontrol edilip çeşme suyunda bir saat yıkandıktan sonra kasetlenip rutin parafin doku takibine alındı. Hazırlanan parafin bloklardan alınan 5 mikronluk kesitler Hematoksilen - Eozin boyaması ile boyanarak, histopatolojik olarak değerlendirildi. Boyama işlemlerinin tamamlanmasının ardından hazırlanan preparatlar Olympus BX-50 model ışık mikroskobu ve video kameradan (Samsung 520, SCC-101BP) oluşan görüntü analiz sistemi (DP Controller Olympus Corp. 3.1.1.267) aracılığıyla bilgisayar ekranında kaydedilerek değerlendirildi. Koklea örneklerinde korti organını oluşturan hücrelerin yapı ve dizilimleri, spiral gangliyon hücrelerinde sayı, nükleuslarında piknotik değişiklikler ve kromatolizis varlığı ve stria vasküleriste vakuolizasyon varlığı kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

3.6.5.2 TUNEL Boyama

Koklear nükleus seviyesinden alınan kesitler dokudaki apoptotik hücreleri göstermek amacı ile Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated Nick And Labelling (TUNEL) tekniği ile boyandı (BIOTnA Biotech, TAAP01D). TUNEL apoptoz boyama için in situ cell death detection TUNEL system kiti kullanıldı. Kesitler boyama için iki gece 37 °C, bir gece 60 °C'lik etüvde tutulduktan sonra, 3 değişim ksilol ile deparafinizasyon işlemi gerçekleştirilip, azalan derecede alkol serileri ile dehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dakika bekletildi. Kesitler doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 10 dakika %3'lük H₂O₂ uygulandıktan sonra 15 dakika 20 micg/ml proteinase K ile inkübe edildikten sonra, 3 defa 5'er dakika fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile yıkanarak 10 dakika pretreatment solüsyonunda bekletilip yıkama yapmadan kesitler TdT-enzimi 37 °C' de 2 saat inkübe edildi. Ardından PBS ile oda sıcaklığında 10 dakika yıkanarak kesitler

background reducing tamponda 30 dakika bekletildi tekrar PBS de 5 dakika yıkanıp, anti-digoksinin ile 37 °C' de 60 dakika inkübe edildi. Tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler TUNEL reaksiyonunun görünürlüğünü saptamak amacıyla diaminobenzidine ile boyanıp su ile yıkandıktan sonra Mayers hematoksilen ile zemin boyaması yapılarak kesitler %70, %80 ve %96'lık alkollerde dehidratasyon ve 30'ar dakika 3 değişim ksilol ile şeffaflaştırma işleminden sonra entellan ile kapatıldı. Işık mikroskopunda koklea ve spiral gangliondaki tüm hücreler sayılarak bu alanlardaki pozitif kahverengi boyanan hücreler ile oranlanıp % olarak apoptoz pozitifliği belirlenmeye çalışıldı.

3.7 Araştırmanın Planı ve Takvimi

Yıllar	2017								2018										
	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım
Yapılanlar																			
Literatür taraması yapılması	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•					
Etik Kurul onayının alınması					•	•	•												
Deney hayvanları üzerindeki çalışmaların yapılması									•	•	•								
Verilerin girilmesi												•	•	•	•				
Histopatolojik çalışmaların yapılması											•	•	•	•	•				
İstatistiksel analizlerin yapılması													•	•					
Tez yazımı														•	•	•	•		

3.8 Verilerin Değerlendirilmesi

Oleuropein uygulanan ve uygulanmayan grupların odyolojik test sonuçları kendi aralarında ve birbiriyle karşılaştırıldı. Işık mikroskopisi altında yapılan incelemeler sonucunda grupların spiral ganglion hücrelerindeki piknotik hücre oranları da birbiriyle karşılaştırıldı. Veriler %95 persantil tarzında sunuldu. Araştırma sonuçlarının istatistik analizi, SPSS için Windows istatistik programının 24.0 versiyonu kullanılarak $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde incelendi. Tüm veriler ortalama \pm standart sapma olarak gösterildi. Shapiro – Wilk testi ile verilerimizin normal dağılım sınırlarında olmadığı izlendiğinden nonparametrik testler kullanıldı. Tanımlayıcı istatistik ile birlikte, gruplar arası farklılıkların analizinde Kruskal Wallis analizi kullanıldı. Farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Grup içi ölçümler ise Friedman varyans analizi ve Wilcoxon İşaretili Sıralar testi ile değerlendirildi.

3.9 Etik Kurul Onayı

Bu çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 46/2017 protokol numaralı 14.11.2017 gün ve 20 sayılı etik kurulu onayı doğrultusunda gerçekleştirildi (Ek 1).

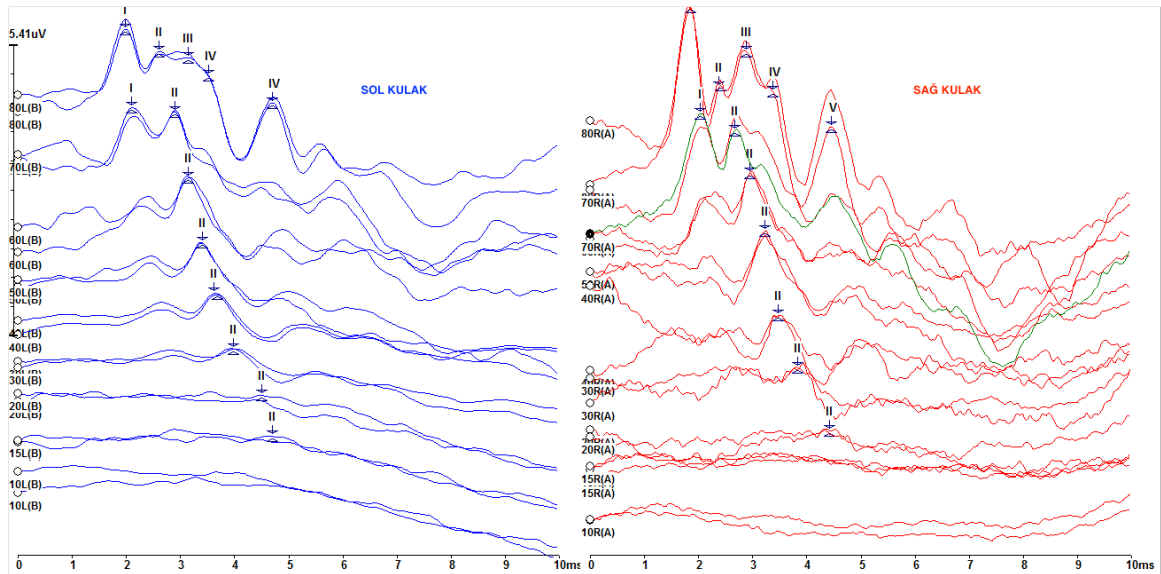
4. BULGULAR

Araştırmada Oleuropein (OLE)' nin gürültüye bağlı işitme kaybı modelinde olası koruyucu etkisi araştırıldı. Olası etkiyi değerlendirmek amacıyla her biri 7 sıçandan oluşturulan 4 grup rastgele ayrılarak bazal işitsel uyarılmış beyin sapı potansiyelleri (İUBP) testleri gerçekleştirildi. Gürültü verilmesi ve ajan uygulaması sonrası 1, 7 ve 10. günlerde İUBP testinde eşik ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE) testinde amplitüd değişiklikleri değerlendirildi. Ayrıca tüm gruplarda hematoksilen-eozin boyaması ve TUNEL boyama yapılarak histopatolojik olarak korti organı ve spiral ganglion hücreleri değerlendirildi.

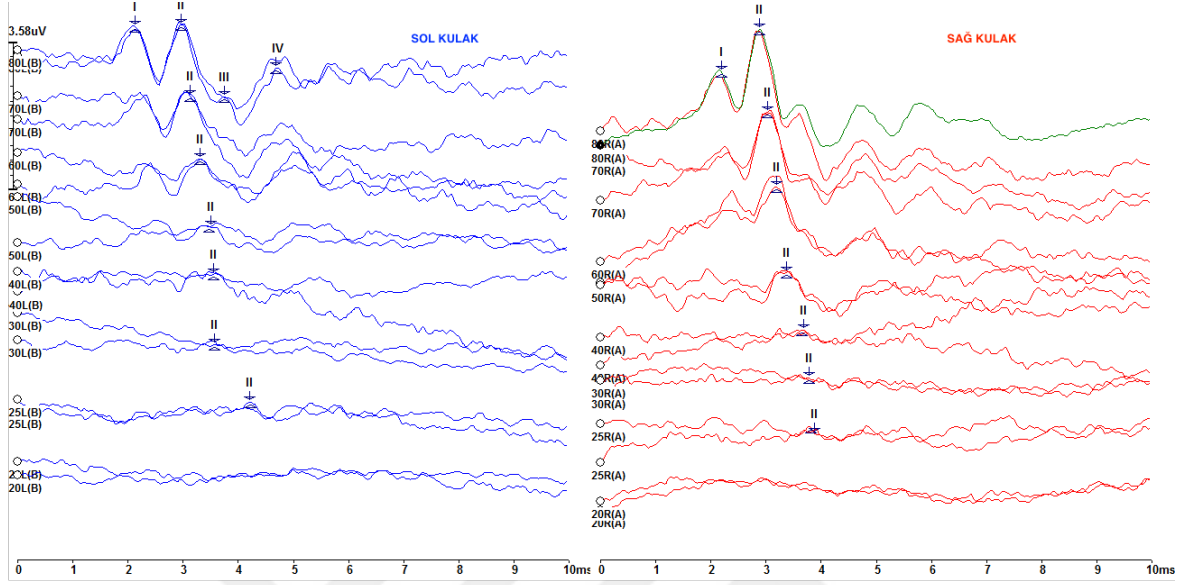
4.1 İşitsel Uyarılmış Beyinsapı Potansiyelleri (İUBP)

4.1.1 Dalga Morfolojisi

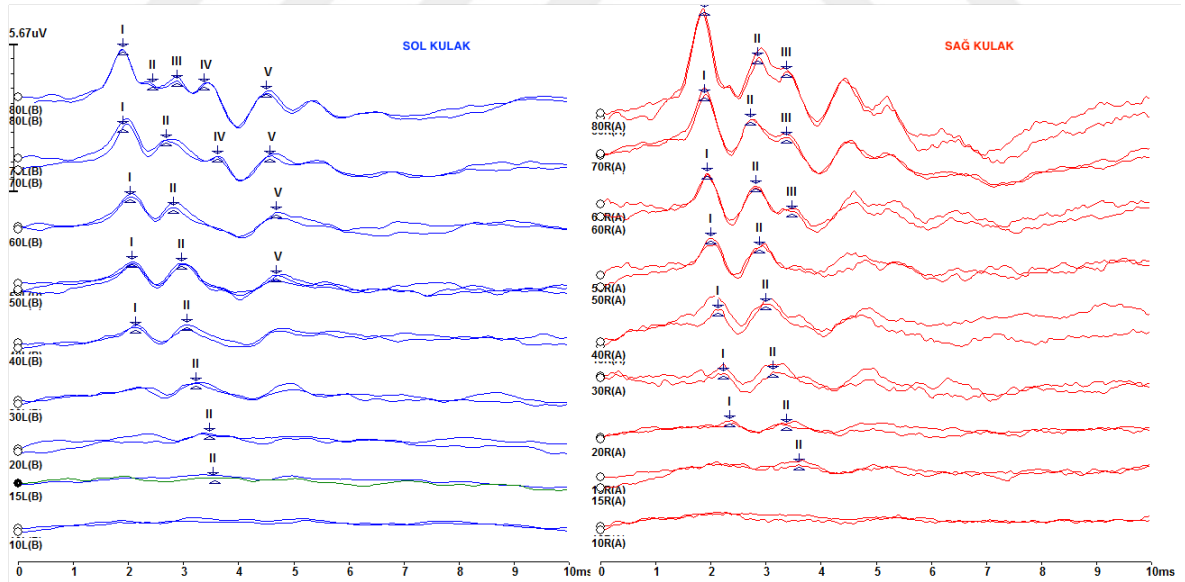
Sıçanlara uygulanan bazal İUBP testinde elde edilen dalgalar morfolojileri açısından değerlendirildi. Bazal İUBP testinde I, II, III, IV ve V. dalgalar elde edildi. Elde edilen dalgalar içerisinde II. dalga en belirgin olan dalga, III. dalga genellikle II. dalga ile bileşik ve en düşük amplitüdü dalga olarak izlenirken V. dalga her zaman elde edilemedi. İlk ortaya çıkan, en belirgin ve son kaybolan dalga olması nedeniyle eşğin belirlenmesinde II. dalga kullanıldı (Şekil 14-18).



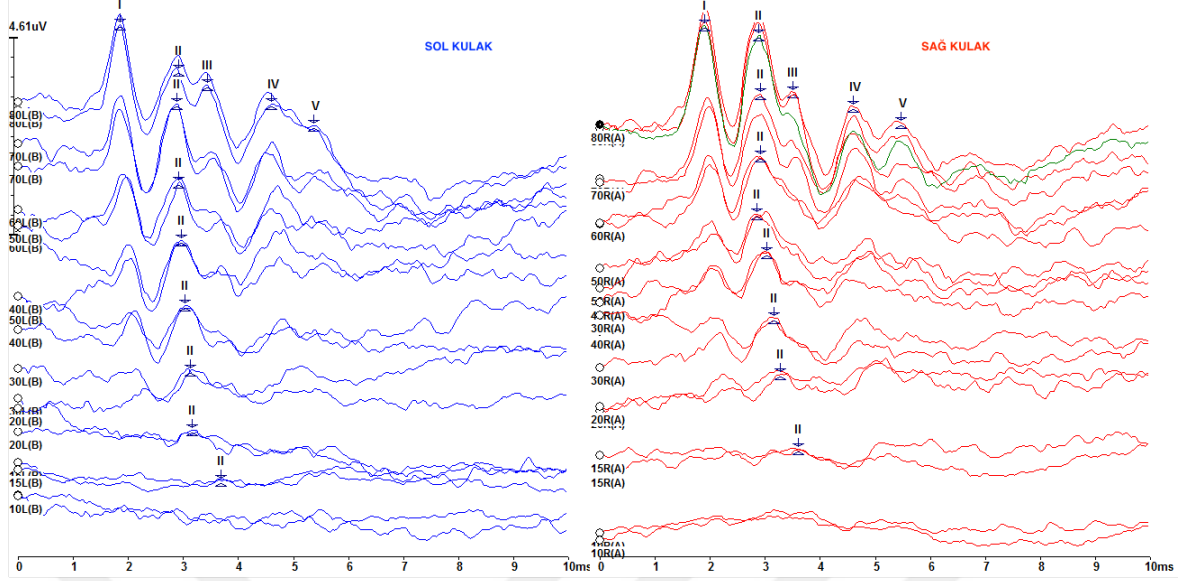
Şekil 14. Kontrol grubundaki sıçanın sağ ve sol kulağından 4 kHz frekansta elde edilen İUBP dalga morfolojisi



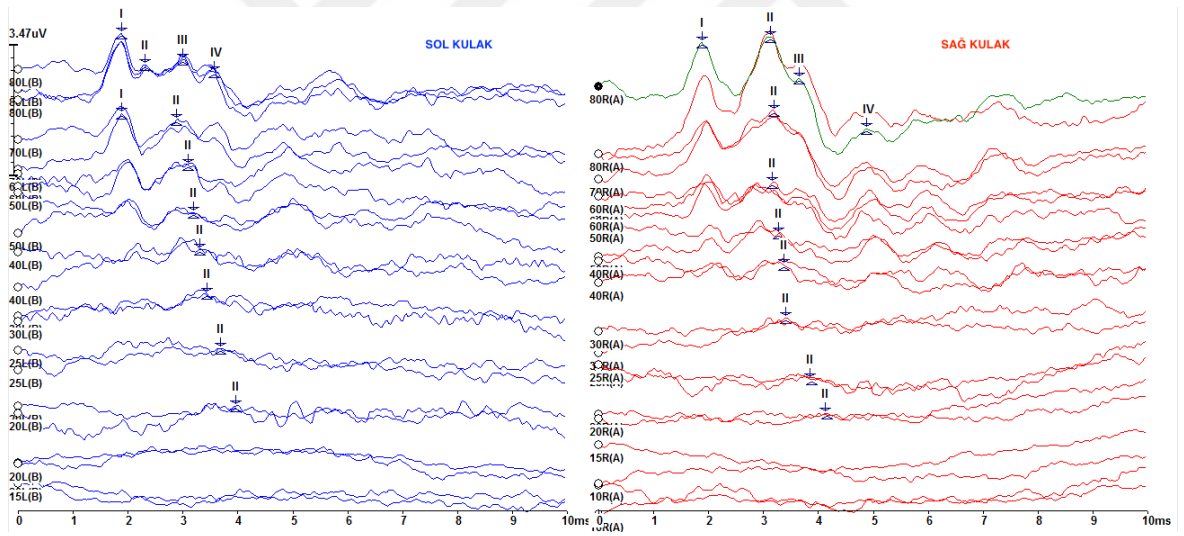
Şekil 15. Kontrol grubundaki sıçanın sağ ve sol kulağından 8 kHz frekansta elde edilen İBP dalga morfolojisi



Şekil 16. Deney SF grubundaki sıçanın sağ ve sol kulağından bazal ölçümlerde 12 kHz frekansta elde edilen İBP dalga morfolojisi



Şekil 17. Kontrol grubundaki sıçanın sağ ve sol kulağından 16 kHz frekansta elde edilen İUBP dalga morfolojisi



Şekil 18. Kontrol grubundaki sıçanın sağ ve sol kulağından 32 kHz frekansta elde edilen İUBP dalga morfolojisi

4.1.2 Tüm Grupların İUBP Eşik Ortalamaları ve Değişimi

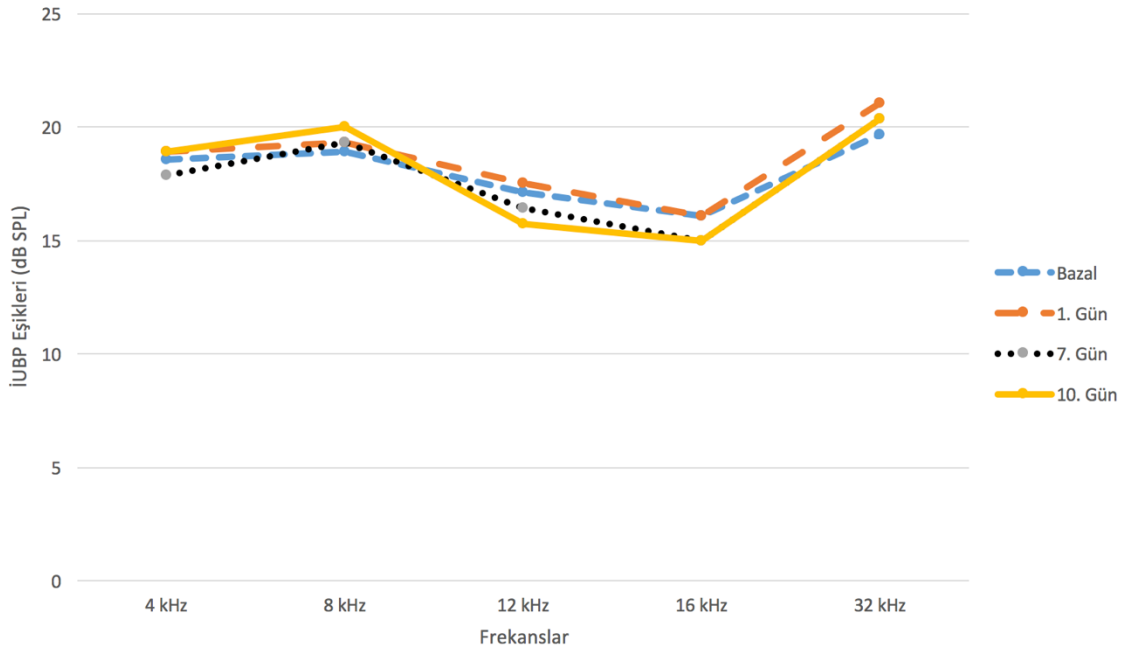
Dört grup sıçan, gürültüye maruz kalmayan; serum fizyolojik (SF) ve Oleuropein (OLE) kontrol grubu ile gürültüye maruz kalan; serum fizyolojik ve OLE deney grubu olarak iki kategoriye ayrılarak değerlendirildi.

Gürültüye maruz kalan ve kalmayan tüm gruplarda uygulamalardan önce yapılan bazal işitme değerlendirmesinde Kruskal-Wallis analizi ile gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 3). Tüm grupların işitme değerlendirmesi yapılan her bir frekanstaki ortalama eşik değerlerine bakıldığında, en iyi değerlerin 16 kHz frekansında olduğu görüldü.

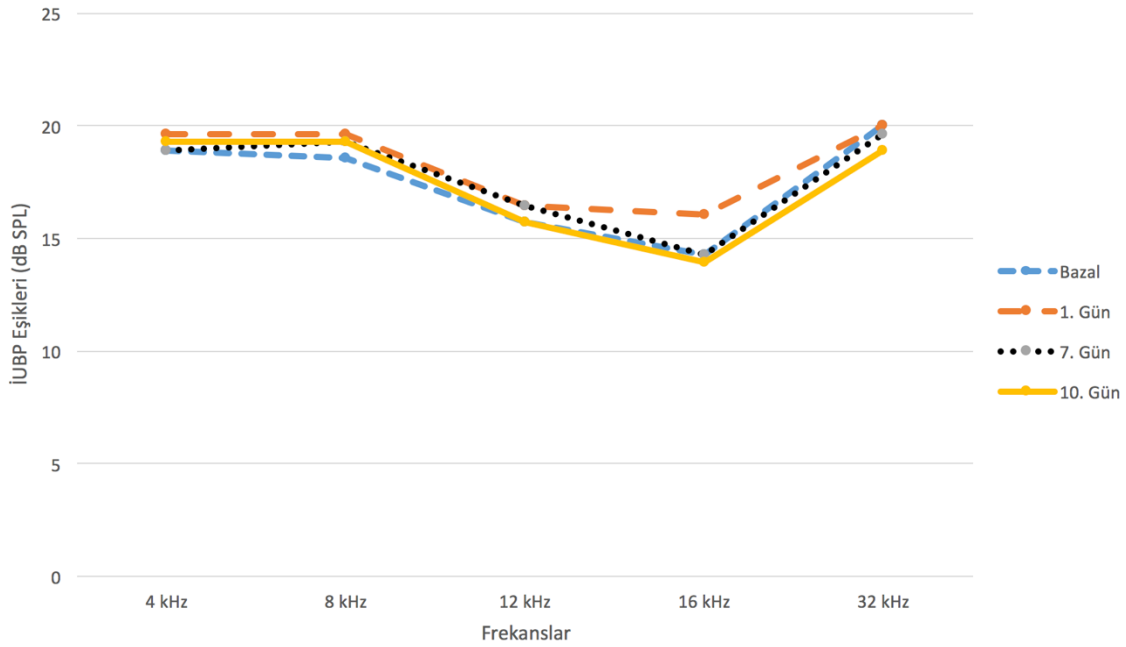
Tablo 3. Tüm grupların bazal işitme değerlendirmesindeki İUBP eşik ortalamaları ve standart sapma değerleri (dB SPL)

Frekans	KONTROL		DENEY	
	SF	OLE	SF	OLE
4 kHz	18,57 ± 2,34	18,93 ± 2,12	17,86 ± 2,56	17,14 ± 2,56
8 kHz	18,93 ± 2,12	18,57 ± 2,34	16,79 ± 2,48	18,57 ± 2,34
12 kHz	17,14 ± 2,56	15,71 ± 1,81	15,71 ± 2,67	15,00 ± 1,96
16 kHz	16,07 ± 2,12	14,29 ± 1,81	14,64 ± 2,37	15,00 ± 1,96
32 kHz	19,64 ± 1,33	20,00 ± 1,96	18,57 ± 3,63	17,85 ± 2,56

Gürültüye maruz kalmayan SF ve OLE grubunun 4 kHz, 8 kHz, 12 kHz, 16 kHz ve 32 kHz frekanslarında ajan uygulaması öncesi ve sonrası 1, 7 ve 10. gün yapılan İUBP ölçümlerinde elde edilen işitme eşikleri, Friedman varyans ve Wilcoxon işaretli sıralar testi ile yapılan analizlerde istatistiksel olarak birbirinden anlamlı farklılık göstermedi (Şekil 19,20) ($p>0,05$). OLE ve SF' in işitme düzeyleri üzerine herhangi bir etkisi saptanmadı.

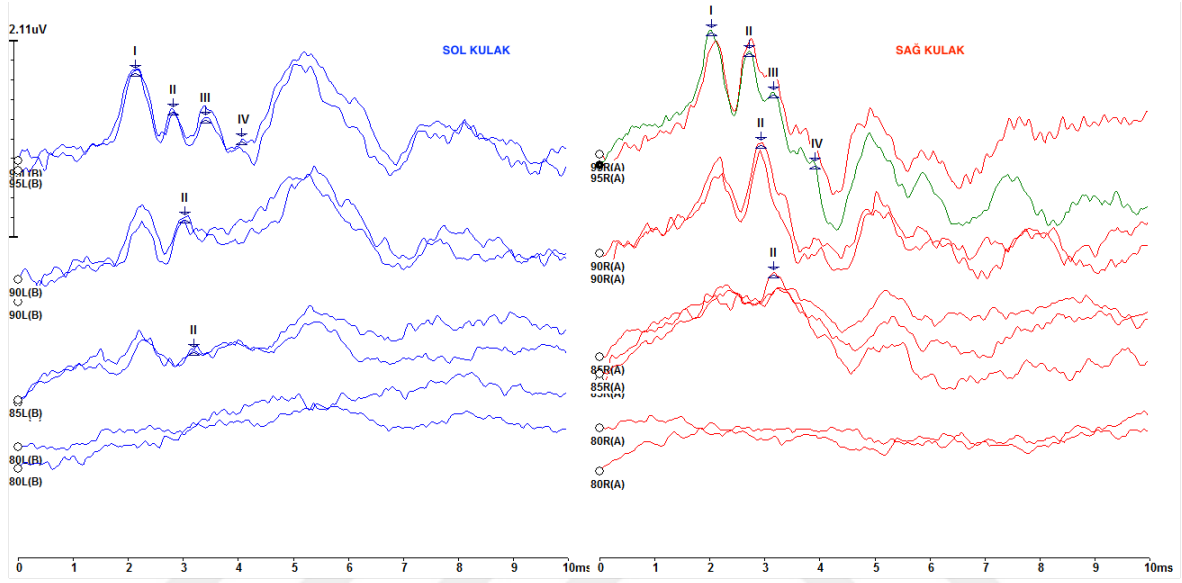


Şekil 19. Gürültüye maruz kalmayan SF (Kontrol SF) grubunun ajan uygulaması öncesi ve sonrası İUBP eşik ortalamaları

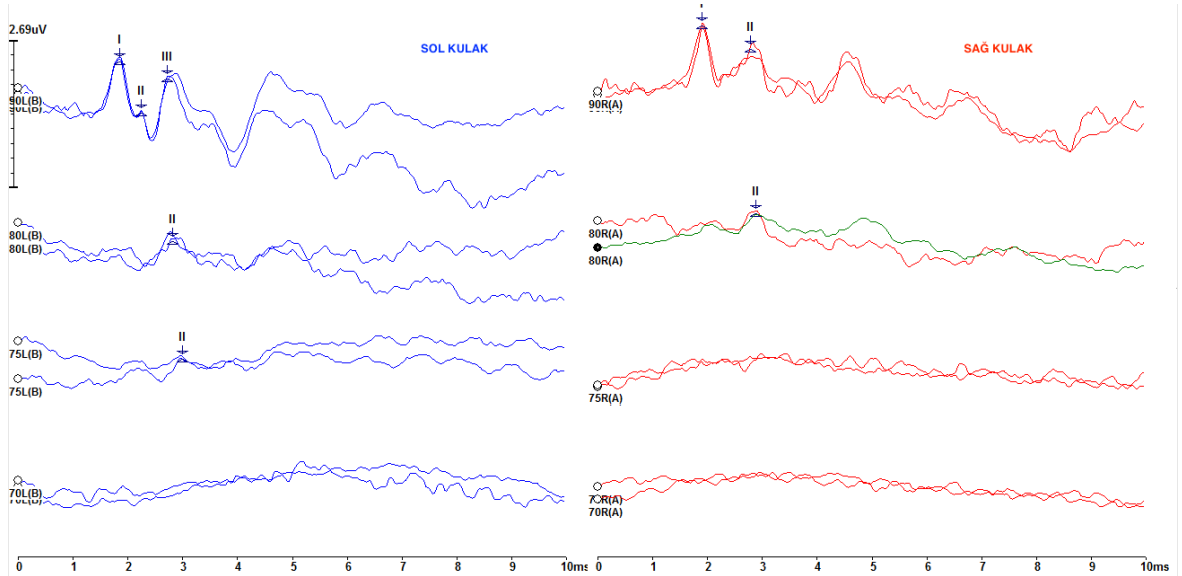


Şekil 20. Gürültüye maruz kalmayan OLE (Kontrol OLE) grubunun ajan uygulaması öncesi ve sonrası İUBP eşik ortalamaları

Gürültü verilmesi sonrası yapılan 1, 7 ve 10. gün ölçümlerinde deney SF ve deney OLE grubunda tüm frekanslarda orta ileri, ileri ve çok ileri derecede işitme kaybı saptandı (Şekil 21-22). Bütün grupların her bir frekanstaki bazal, 1, 7 ve 10. günde saptanan İUBP eşiklerinin maksimum, minimum, medyan, ortalama ve standart sapma değerleri (dB SPL) ile Friedman varyans analizindeki p değerleri Tablo 4 'te verildi.



Şekil 21. Sıçanlara gürültü verilmesi sonrası 1.gün İUBP testinde 8 kHz frekansta ileri düzeyde işitme kaybı örneği



Şekil 22. Sıçanlara gürültü verilmesi sonrası 1.gün İUBP testinde 16 kHz frekansta ileri düzeyde işitme kaybı örneği

Gürültü verilen SF ve OLE gruplarının bazal işitme değerlendirmeleri ile gürültü sonrası 1. gün gerçekleştirilen işitme ölçümlerinde işitme kaybında belirgin artış görüldü ve bu artış Wilcoxon işaretli sıralar testi ile 4, 8, 12, 16 ve 32 kHz frekanslarında değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0,01$). Yüz yirmi dB SPL şiddetinde 4 kHz oktav bant gürültüye 4 saat maruz kalan sıçanların gürültü sonrası yapılan ölçümleri değerlendirildiğinde, 4 kHz, 8 kHz, 12 kHz, 16 kHz ve 32 kHz frekansları arasında birinci günden 10. güne kadar gürültüden en fazla etkilenen frekans 8 kHz olarak belirlendi.

Wilcoxon işaretli sıralar testinde gürültü verilen SF grubunda, 4, 8 ve 32 kHz frekansında gürültüye maruz kalma sonrasında 1-7. gün, 1-10. gün, 12 ve 16 kHz frekansında ise 1-10. gün İUBP sonuçları arasında işitme kaybı açısından anlamlı farklılık gözlenirken; 7-10. gün ölçümleri arasında tüm frekanslarda anlamlı farklılık gözlenmedi ($p > 0,05$) (Tablo 5).

Tablo 5. Gürültü verilen SF grubunda gürültü sonrasında 1,7 ve 10. Günler arasında işitme eşik değişimlerinin istatistiksel dağılımı (* $p < 0,05$) ve 1,7 ve 10. Günlerdeki dB SPL cinsinden işitme eşik ortalamaları

	4 kHz	8 kHz	12 kHz	16 kHz	32 kHz
1-7. Gün p	<u>0,002*</u>	<u>0,009*</u>	0,130	0,070	<u>0,009*</u>
1./7. Gün dB	<u>79,6 / 73,9</u>	<u>92,1 / 84,9</u>	80,7 / 78,5	79,6 / 76,4	<u>87,1 / 79,6</u>
1-10. Gün p	<u>0,004*</u>	<u>0,003*</u>	<u>0,032*</u>	<u>0,027*</u>	<u>0,004*</u>
1./10. Gün dB	<u>79,6 / 73,9</u>	<u>92,1 / 86,0</u>	<u>80,7 / 76,7</u>	<u>79,6 / 75,0</u>	<u>87,1 / 79,2</u>
7-10. Gün p	1,000	0,317	0,059	0,234	0,763
7./10. Gün dB	73,9 / 73,9	84,9 / 86,0	78,5 / 76,7	76,4 / 75,0	79,6 / 79,2

Gürültü verilen OLE grubunda ise Wilcoxon işaretli sıralar testinde 4, 8, 12, 16 ve 32 kHz frekansında gürültü verilmesi sonrasında 1-7. gün, 1-10. Gün İUBP sonuçları arasında işitme kaybı açısından anlamlı farklılık gözlenirken; 7-10. gün ölçümleri arasında tüm frekanslarda anlamlı farklılık gözlenmedi ($p > 0,05$) (Tablo 6).

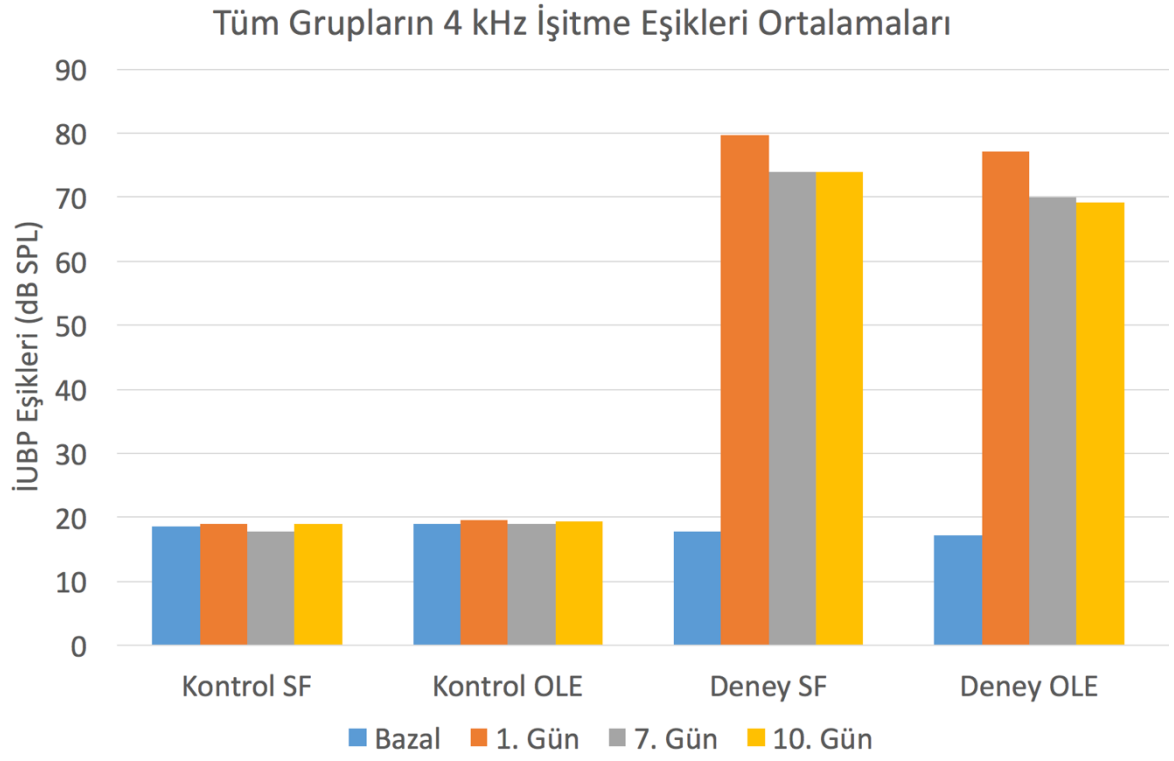
Tablo 6. Gürültü verilen OLE grubunda gürültü sonrasında 1,7 ve 10. günler arasında işitme eşik değişimlerinin istatistiksel dağılımı (* $p < 0,05$) ve 1,7 ve 10. Günlerdeki dB SPL cinsinden işitme eşik ortalamaları

	4 kHz	8 kHz	12 kHz	16 kHz	32 kHz
1-7. Gün p	<u>0,002*</u>	<u>0,003*</u>	<u>0,002*</u>	<u>0,001*</u>	<u>0,001*</u>
1./7. Gün dB	<u>77,1 / 70,0</u>	<u>87,8 / 81,7</u>	<u>80,7 / 69,2</u>	<u>76,4 / 66,4</u>	<u>78,9 / 63,2</u>
1-10. Gün p	<u>0,002*</u>	<u>0,002*</u>	<u>0,001*</u>	<u>0,001*</u>	<u>0,001*</u>
1./10. Gün dB	<u>77,1 / 69,2</u>	<u>87,8 / 80,0</u>	<u>80,7 / 68,2</u>	<u>76,4 / 65,7</u>	<u>78,9 / 61,7</u>
7-10. Gün p	0,726	0,059	0,257	0,480	0,331
7./10. Gün dB	70,0 / 69,2	81,7 / 80,0	69,2 / 68,2	66,4 / 65,7	63,2 / 61,7

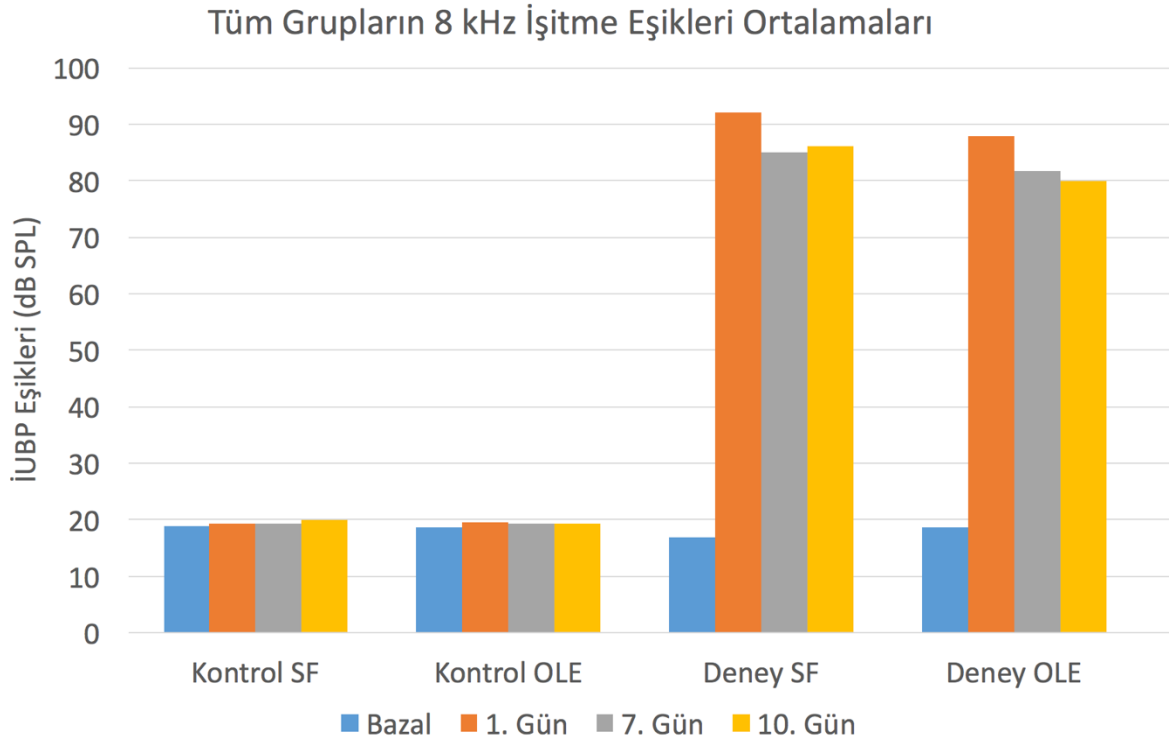
Her bir frekansta elde edilen işitme eşiklerinin gruplara ve günlere göre değişimi Şekil 23-27’de verilmiştir. Buna göre Deney OLE grubunun işitme eşikleri ortalamaları, tüm frekanslarda Deney SF grubuna göre daha iyi olarak saptanmıştır. Mann-Whitney U testi ile yapılan analizde ise Deney OLE grubunun 8, 12, 16 ve 32 kHz frekanslardaki 7 ve 10. gün İUBP eşiklerinde Deney SF grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha iyi eşikler elde edildi ($p < 0,05$). Deney SF ve Deney OLE grubuna ait 4 kHz, 8kHz, 12 kHz, 16 kHz ve 32 kHz’e ait işitme eşik değişimleri ortalamalarının Mann-Whitney U testi ile yapılan analizlerdeki p değerleri Tablo 7’ de verildi.

Tablo 7. Deney SF ve Deney OLE grubuna ait 4 kHz, 8kHz, 12 kHz, 16 kHz ve 32 kHz’e ait işitme eşik değişimleri ortalamalarının Mann-Whitney U testi ile yapılan analizlerdeki p değerleri ($p < 0,05*$)

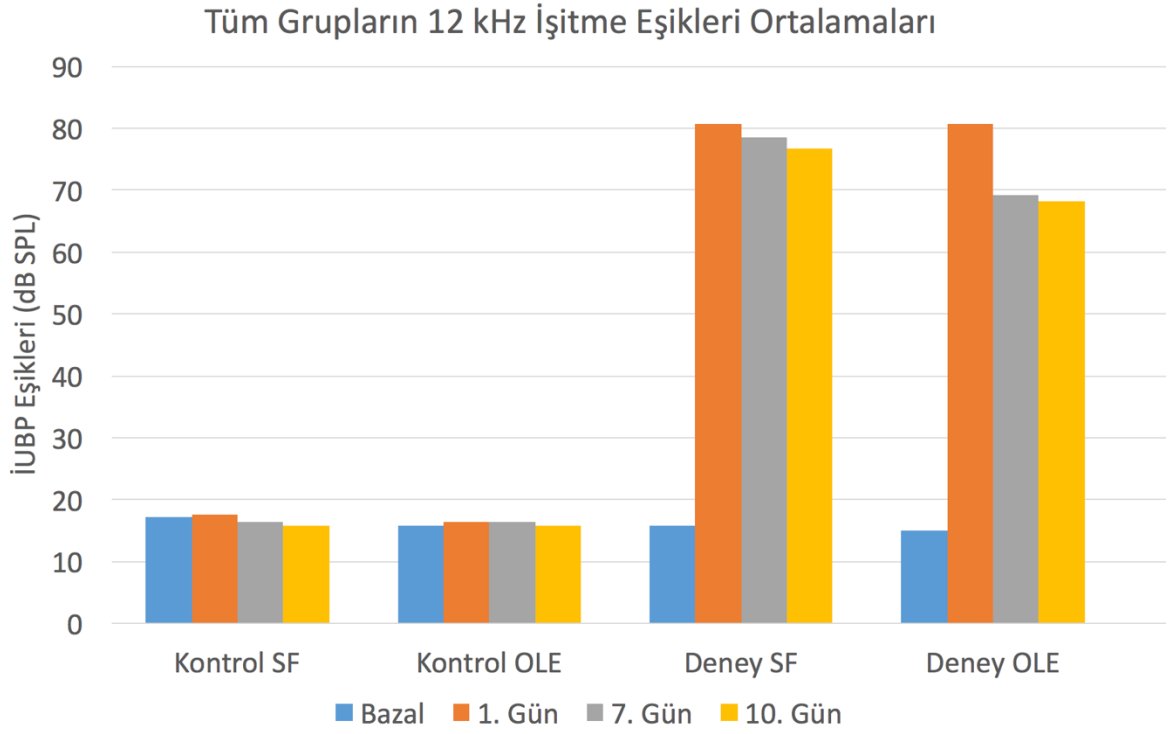
	4 kHz (p değeri)	8 kHz (p değeri)	12 kHz (p değeri)	16 kHz (p değeri)	32 kHz (p değeri)
1. Gün	0,382	0,058	0,887	0,407	0,096
7. Gün	0,116	<u>0,037*</u>	<u>0,003*</u>	<u>0,001*</u>	<u>0,008*</u>
10. Gün	0,067	<u>0,026*</u>	<u>0,020*</u>	<u>0,005*</u>	<u>0,003*</u>



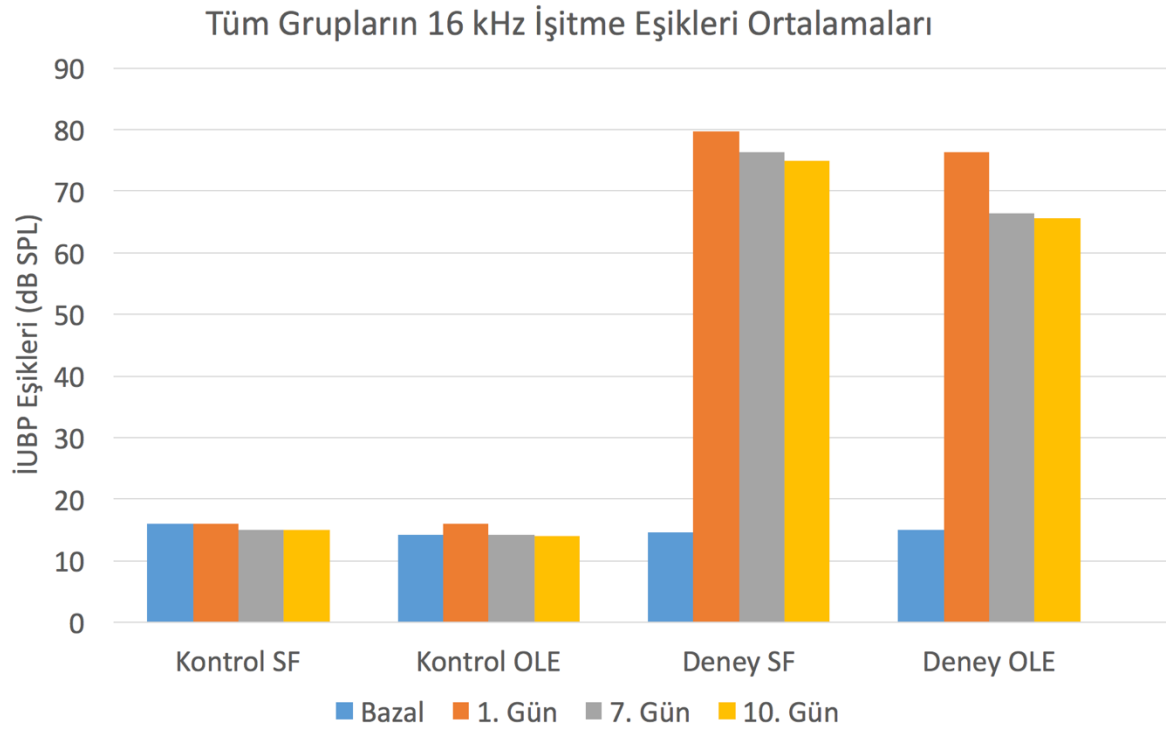
Şekil 23. Tüm grupların 4 kHz frekansında günlere göre İUBP eşik değişimleri



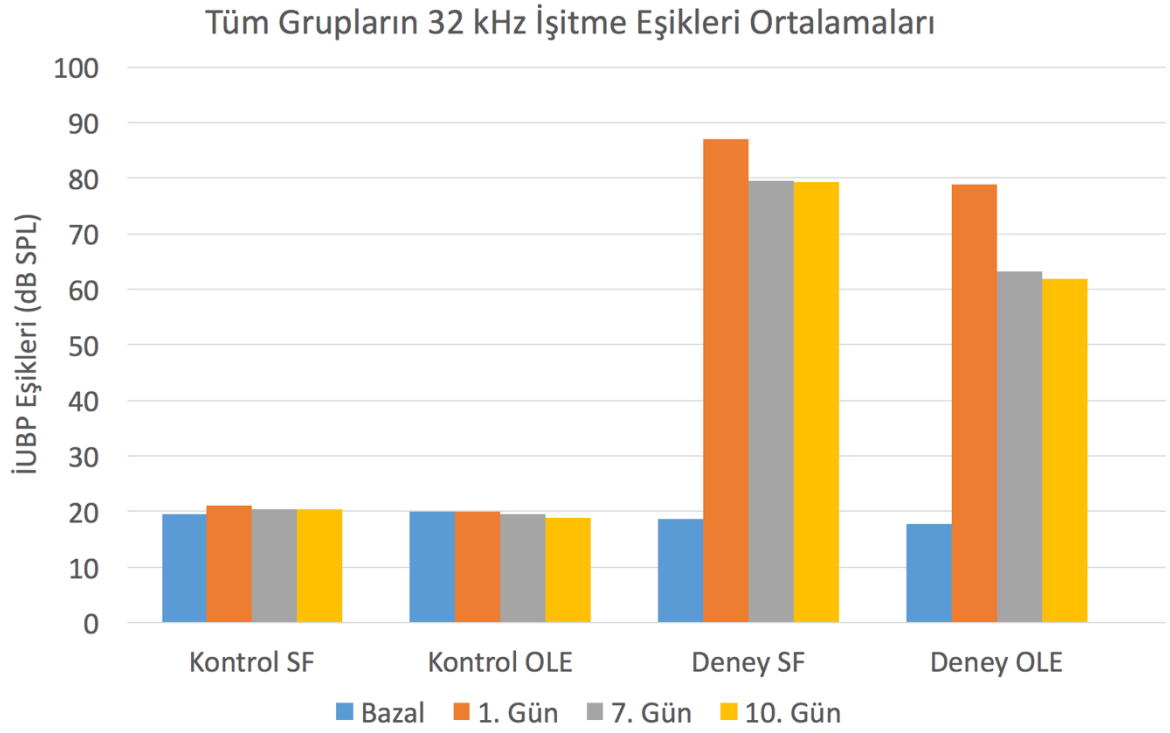
Şekil 24. Tüm grupların 8 kHz frekansında günlere göre İUBP eşik değişimleri



Şekil 25. Tüm grupların 12 kHz frekansında günlere göre İUBP eşik değişimleri



Şekil 26. Tüm grupların 16 kHz frekansında günlere göre İUBP eşik değişimleri



Şekil 27. Tüm grupların 32 kHz frekansında günlere göre İUBP eşik değişimleri

Gürültüye maruz kalan ve kalmayan gruplarda sağ ve sol kulakta elde edilen bazal, 1, 7 ve 10. gün işitme eşikleri kendi içinde Wilcoxon işaretli sıralar testi ile değerlendirildiğinde hiçbir grupta kulaklar arasında anlamlı farklılık olmadığı izlendi. Her bir gruptaki sıçanların sağ ve sol kulaklarına ait İUBP eşiklerinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 8’de verilmektedir.

Tablo 8. Her bir gruptaki sıçanların sağ ve sol kulaklarına ait İUBP eşiklerinin ortalama ve standart sapma değerleri

		Kontrol SF		Kontrol OLE		Deney SF		Deney OLE	
		Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
4 kHz	Bazal	19,29±1,89	18,57±2,44	20,00±0,00	17,14±2,67	17,86±2,67	17,86±2,67	17,14±2,67	17,14±2,67
	1. Gün	19,29±1,89	20,00±2,88	20,00±0,00	17,86±2,67	82,86±5,66	76,43±6,90	80,00±8,16	74,29±6,07
	7. Gün	19,29±1,89	18,57±2,44	18,57±2,44	17,14±2,67	76,43±3,78	71,43±6,90	74,29±9,32	65,71±5,34
	10. Gün	19,29±1,89	19,29±1,89	19,29±1,89	18,57±2,44	76,43±4,75	71,43±4,75	72,8±11,49	65,71±5,34
8 kHz	Bazal	18,57±2,44	18,57±2,44	18,57±2,44	19,29±1,89	16,43±2,44	17,14±2,67	19,29±1,89	17,86±2,67
	1. Gün	20,00±2,88	19,29±1,89	18,57±2,44	20,00±0,00	90,71±4,49	93,57±2,44	87,86±6,36	87,86±6,98
	7. Gün	19,29±1,89	19,29±1,89	19,29±1,89	19,29±1,89	85,71±3,45	88,57±3,78	81,43±8,52	82,14±8,09
	10. Gün	19,29±1,89	19,29±1,89	19,29±3,45	20,71±1,89	85,71±3,45	86,43±3,78	79,2±10,17	80,71±7,86
12 kHz	Bazal	15,71±1,89	15,71±1,89	16,43±2,44	17,86±2,67	15,71±1,89	15,71±3,45	15,00±0,00	15,00±2,88
	1. Gün	16,43±2,44	16,43±2,44	17,86±1,89	17,14±2,67	80,71±6,72	80,71±7,31	83,57±7,48	77,86±6,98
	7. Gün	16,43±2,44	16,43±2,44	15,71±3,45	17,14±2,67	80,00±5,00	77,14±5,66	72,8±10,74	65,71±9,75
	10. Gün	15,71±1,89	15,71±1,89	16,43±2,44	15,00±0,00	77,86±4,88	75,71±5,34	70,7±12,39	65,7±10,17
16 kHz	Bazal	14,29±1,89	14,29±1,89	15,71±1,89	16,43±2,44	13,57±2,44	15,71±1,89	15,00±0,00	15,00±2,88
	1. Gün	17,14±3,93	15,00±2,88	15,71±3,45	16,43±3,78	78,57±2,44	80,7±10,17	77,14±5,66	75,71±5,34
	7. Gün	14,29±1,89	14,29±1,89	15,00±2,88	15,00±0,00	76,43±4,75	76,43±5,56	66,43±9,88	66,43±9,88
	10. Gün	14,29±1,89	13,57±2,44	15,00±0,00	15,00±0,00	75,71±3,45	74,29±4,49	66,4±10,69	65,0±10,40
32 kHz	Bazal	19,29±1,89	20,71±1,89	20,00±0,00	19,29±1,89	17,86±3,93	19,29±3,45	17,86±2,67	17,86±2,67
	1. Gün	19,29±1,89	20,71±1,89	20,71±1,89	21,43±3,78	86,43±8,01	87,86±5,66	80,0±18,48	77,86±8,59
	7. Gün	19,29±1,89	20,00±2,88	20,00±0,00	20,71±3,45	82,14±8,59	77,14±8,09	63,5±23,40	62,8±18,45
	10. Gün	19,29±1,89	18,57±2,44	20,00±0,00	20,71±1,89	81,43±6,90	77,14±7,55	61,4±19,51	62,1±18,67

4.2 Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) Bulguları

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE) testinde 1 kHz, 1,5 kHz, 2 kHz, 3 kHz, 4 kHz, 6 kHz, 8 kHz frekanslarında ve 75/65 dB SPL uyaran şiddetlerinde sinyal gürültü oranı hesaplanarak amplitüdler değerlendirildi. Kontrol SF grubu dışındaki grupların bazal DPOAE amplitüdüleri 1 kHz'den 8 kHz'e doğru gittikçe artış gösterdi. Kontrol SF grubunda en yüksek amplitüd 6 kHz' de saptanırken, diğer grupların hepsinde en düşük amplitüd 1 kHz'de, en yüksek amplitüd ise 8 kHz'de elde edildi. Bazal DPOAE amplitüdlerine ilişkin ortalama ve standart hata değerleri Tablo 9'da verildi.

Tablo 9. Tüm grupların bazal DPOAE amplitüdleri ve standart hata değerleri

Gruplar Frekans	Kontrol SF	Kontrol OLE	Deney SF	Deney OLE
1 kHz	0,20 ± 0,2	0,13 ± 0,1	0,37 ± 0,2	0,04 ± 0,04
1,5 kHz	6,54 ± 1,7	4,00 ± 1,6	6,14 ± 1,3	9,95 ± 2,4
2 kHz	21,70 ± 1,3	20,30 ± 1,4	21,7 ± 0,5	20,20 ± 0,7
3 kHz	26,50 ± 1,1	22,12 ± 1,8	26,27 ± 0,9	23,11 ± 1,4
4 kHz	34,47 ± 1,0	34,91 ± 1,1	35,86 ± 1,0	32,25 ± 1,8
6 kHz	43,42 ± 1,3	40,70 ± 1,9	41,29 ± 0,4	40,60 ± 0,6
8 kHz	42,86 ± 0,7	41,27 ± 1,0	41,80 ± 0,6	43,77 ± 1,1

Tüm grupların bazal DPOAE amplitüd ortalamaları Mann-Whitney U testi ile ikiye bölünmüş olarak karşılaştırıldığında, hiçbir grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$). Gürültüye maruz kalmayan Kontrol SF ve Kontrol OLE gruplarının bazal, 1.gün, 7.gün ve 10.gün DPOAE amplitüdleri arasında Friedman varyans analizinde istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$).

Tablo 10. Kontrol SF ve Kontrol OLE gruplarının 1,7 ve 10. Gün DPOAE yanıtlarının ortalama amplitüdüleri ve standart hata değerleri (dB)

<u>Gün</u>	<u>Frekans</u>	<u>Kontrol SF</u>	<u>Kontrol OLE</u>
1. Gün	1 kHz	0,07 ± 0,04	0,30 ± 0,2
	1,5 kHz	7,32 ± 2,1	3,43 ± 1,3
	2 kHz	14,97 ± 2,6	16,00 ± 1,2
	3 kHz	25,22 ± 1,3	23,96 ± ± 1,9
	4 kHz	34,40 ± 1,4	32,51 ± 2,0
	6 kHz	40,12 ± 0,8	40,32 ± 2,2
	8 kHz	38,59 ± 1,3	38,34 ± 1,6
7. Gün	1 kHz	0,07 ± 0,07	0,52 ± 0,3
	1,5 kHz	8,00 ± 1,8	10,5 ± 2,2
	2 kHz	15,60 ± 1,9	17,00 ± 2,0
	3 kHz	24,50 ± 1,6	24,40 ± 1,8
	4 kHz	34,52 ± 1,0	33,48 ± 2,0
	6 kHz	40,55 ± 0,8	39,67 ± 2,1
	8 kHz	39,27 ± 1,1	38,70 ± 1,1
10. Gün	1 kHz	0,43 ± 0,2	0,00 ± 0,0
	1,5 kHz	9,70 ± 2,2	10,97 ± 2,2
	2 kHz	15,82 ± 2,3	16,20 ± 2,2
	3 kHz	24,80 ± 1,4	24,32 ± 1,8
	4 kHz	32,84 ± 1,3	31,91 ± 1,9
	6 kHz	40,94 ± 1,0	40,97 ± 2,7
	8 kHz	39,69 ± 1,4	36,58 ± 1,9

Gürültüye maruz bırakılan Deney SF ve Deney OLE gruplarının gürültü sonrası 1, 7 ve 10. Gün DPOAE yanıtları tamamen kaybolduğundan bu verilerle ilgili istatistiksel analiz gerçekleştirilemedi.

4.3 Histolojik Görüntüleme Sonuçları

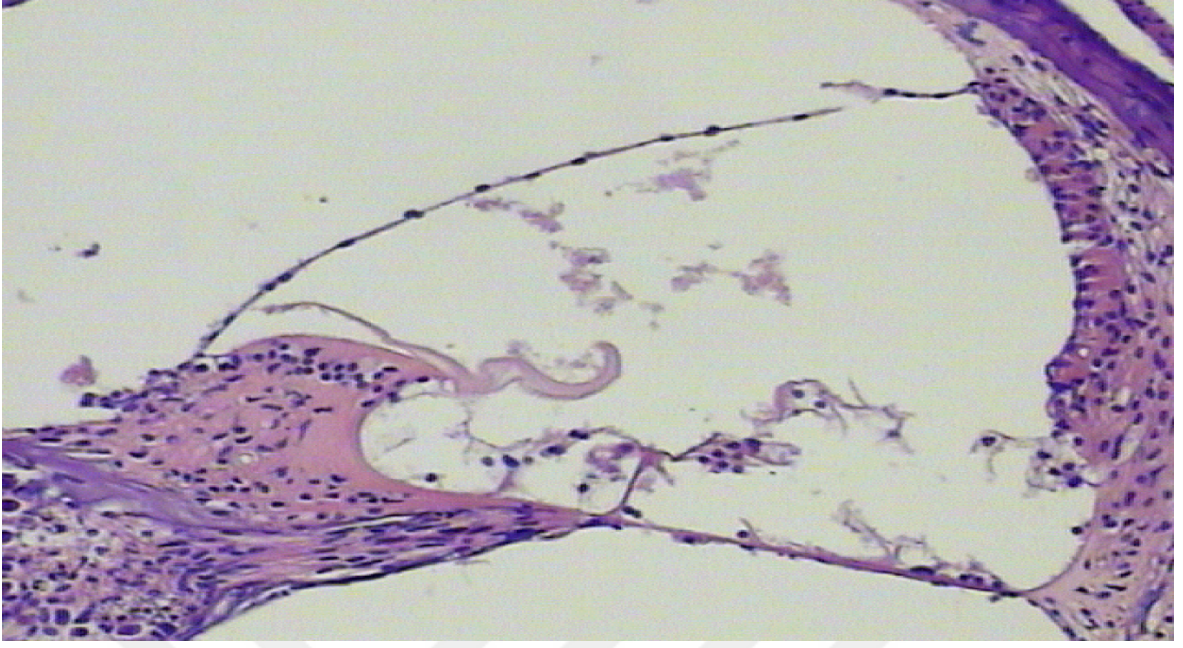
4.3.1 Işık Mikroskopi Bulguları

Kontrol ve deney gruplarındaki sıçanların sakrifikasyonundan sonra kesitler elde edilerek tümüne Hematoksilen-Eozin (HE) boyamaları yapıldı ve histolojik olarak iç kulak ve spiral ganglion hücreleri değerlendirildi.

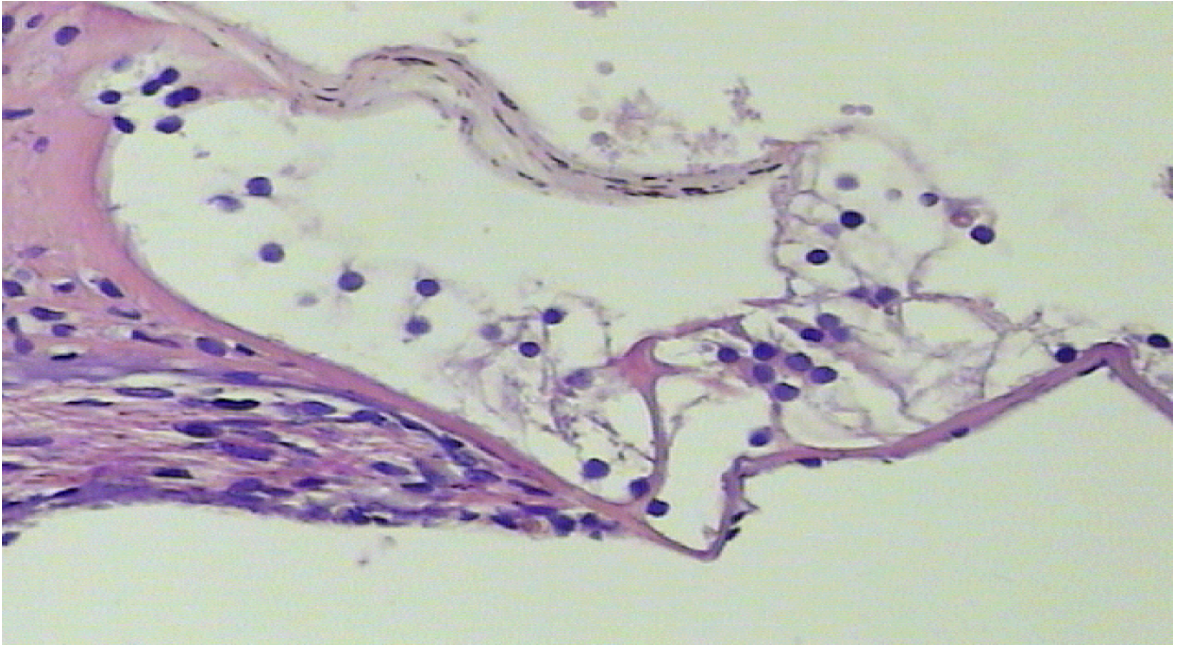
Kontrol SF ve kontrol OLE gruplarının iç kulak kesitleri incelendiğinde; HE boyamasında kokleanın skala vestibüli, skala media ve skala timpani olmak üzere 3 bölüme ayrıldığı izlendi. Skala media ile skala vestibülünün birbirinden Reissner membranı ile ayrıldığı gözlemlendi. Skala mediada korti organı ve tabanında ise baziler membran tanındı. Baziler membranın üzerinde tüylü hücreler ve destek hücreleri gözlemlendi. Korti organının yan duvarında stria vaskularis ve marjinal hücreler tanındı. (Şekil 28,29,31). Korti organının daha yakın büyütmesi şekil 30 'da verildi.



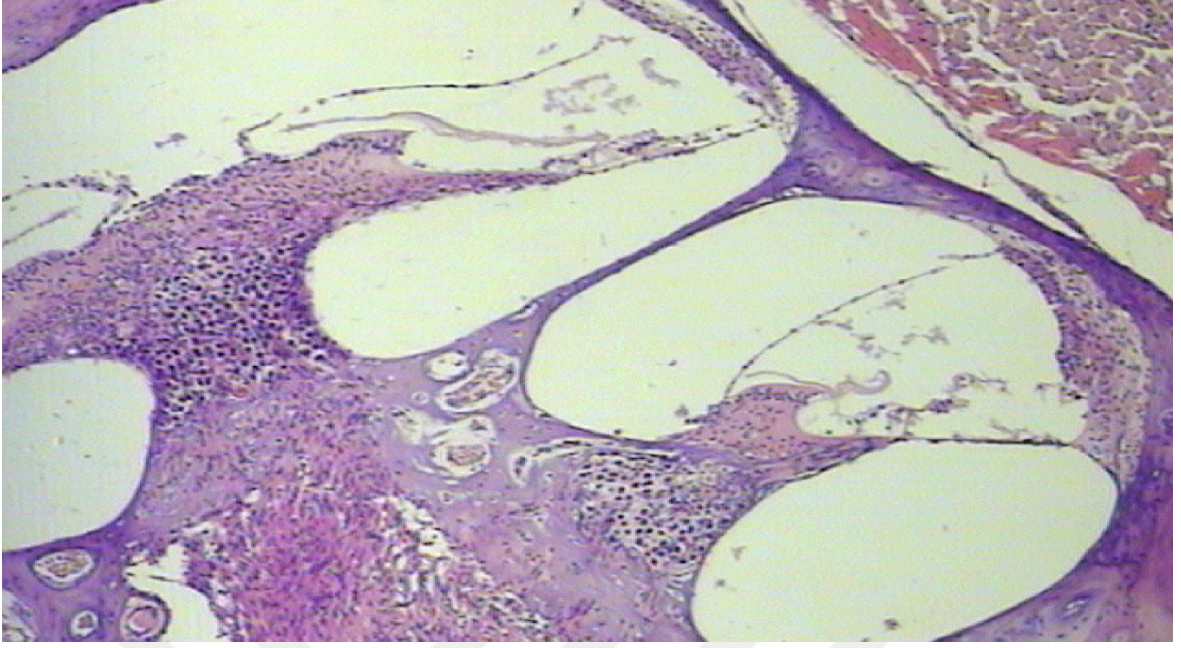
Şekil 28. Kontrol OLE grubuna ait korti organın 100x büyütmede HE boyaması



Şekil 29. Kontrol SF grubuna ait korti organının 100x büyütmede HE boyaması

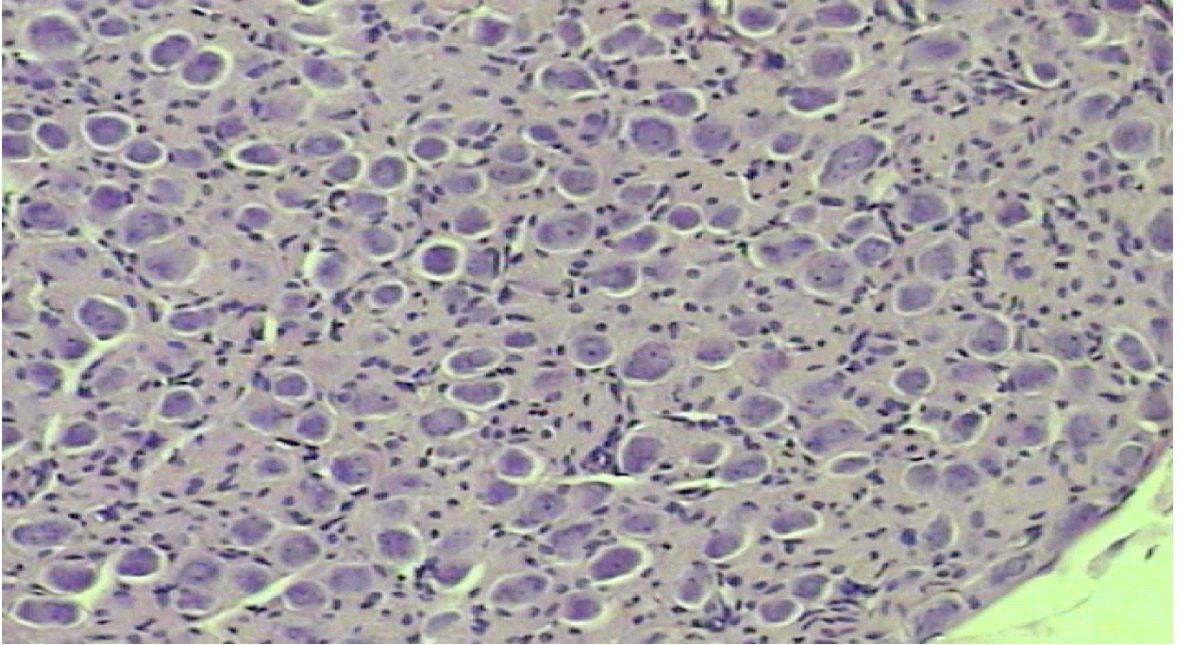


Şekil 30. Kontrol OLE grubuna ait korti organının 400x büyütmede HE boyaması

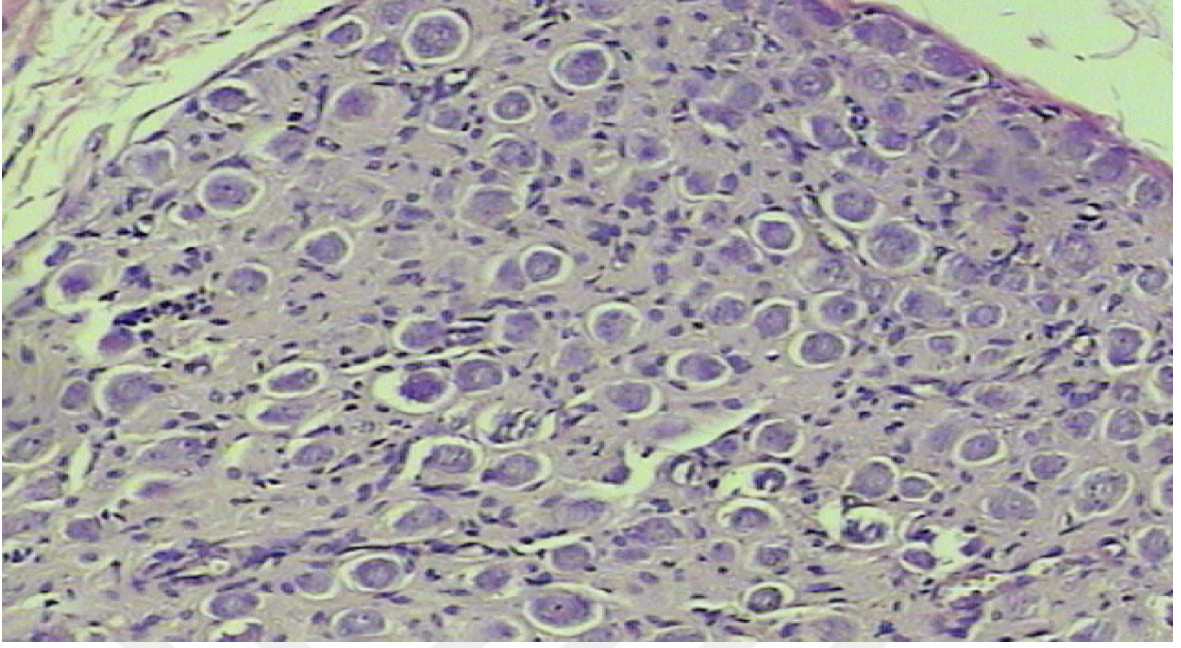


Şekil 31. Kontrol SF grubuna ait koklea kesitinin 10x büyütmede HE boyaması

Spiral gangliona ait HE boyamasında kontrol grubundaki sıçanların histolojik görüntülemeleri izlenmektedir. (Şekil 32,33)

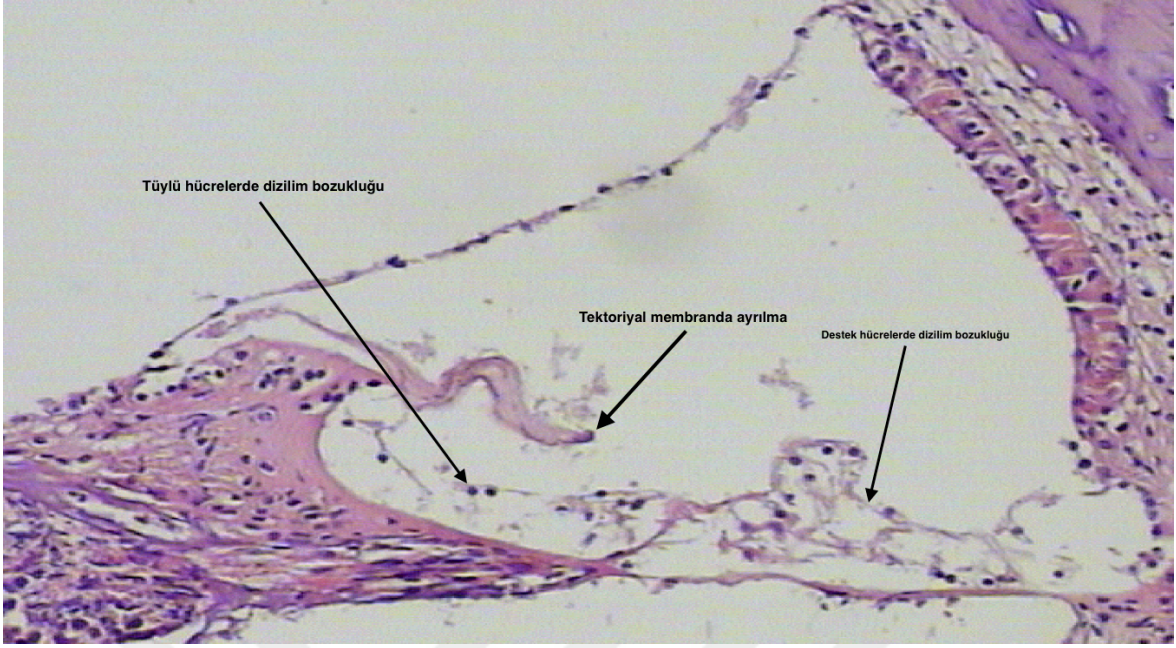


Şekil 32. Kontrol OLE grubuna ait spiral ganglion kesitinin 100x büyütmede HE boyaması

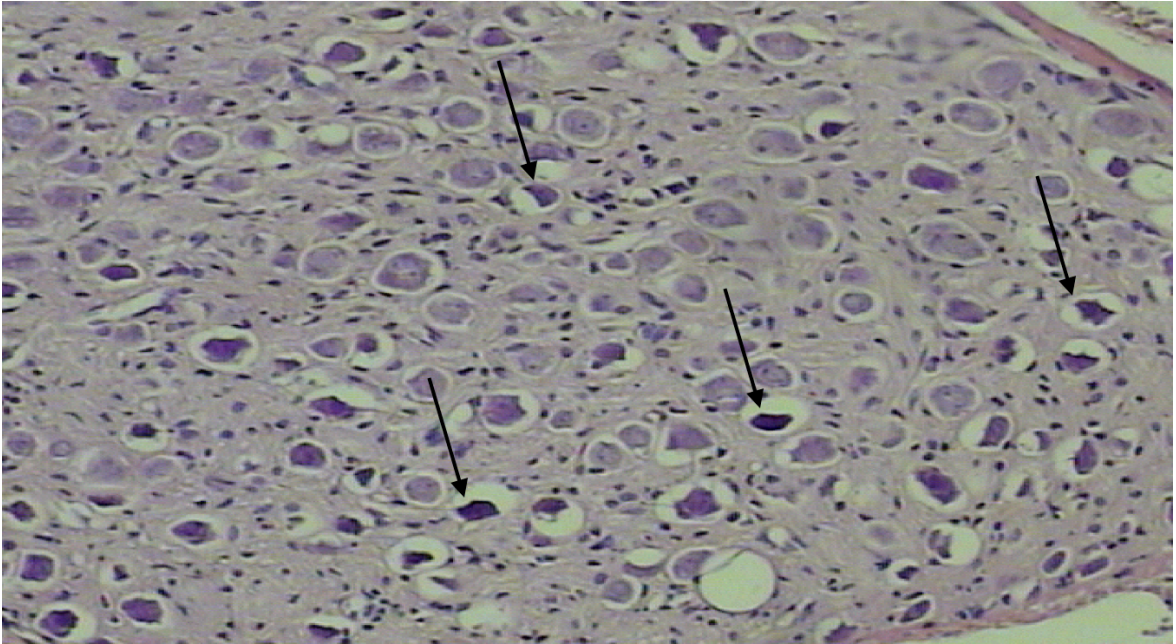


Şekil 33. Kontrol SF grubuna ait spiral ganglion kesitinin 100x büyütmede HE boyaması

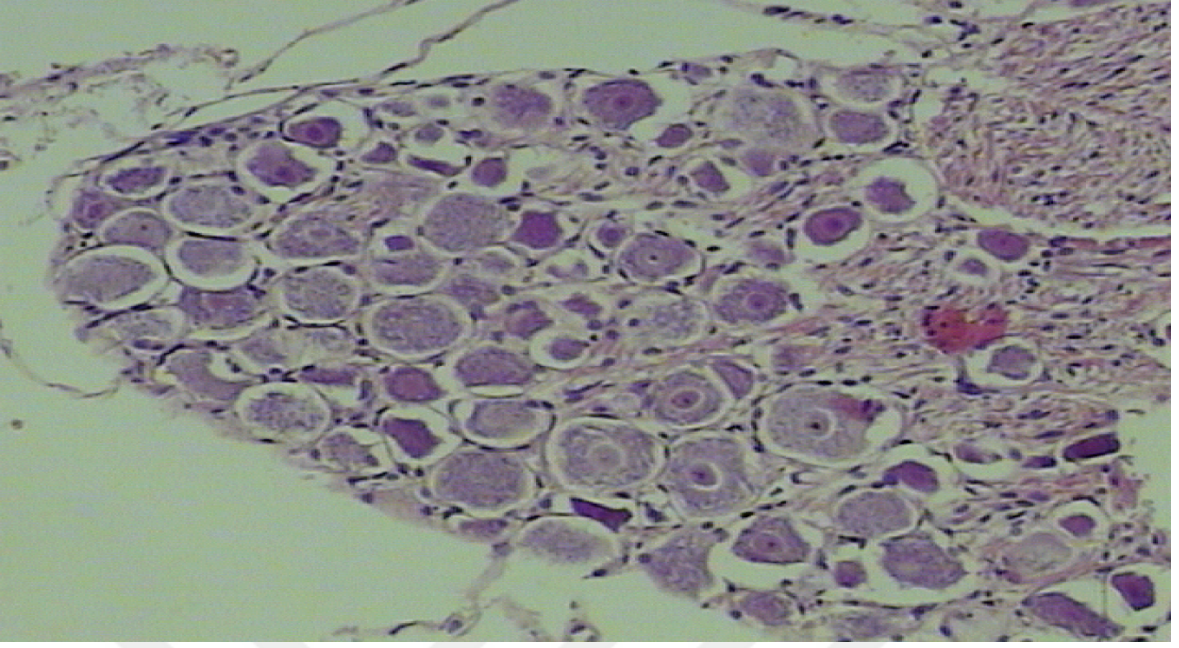
Deney SF ve Deney OLE grubunun histopatolojik incelemelerinde HE boyamasıyla kontrol grubuna kıyasla özellikle spiral ganglion hücrelerinde belirgin olacak şekilde piknotik değişiklikler, hücre sayısında azalma, schwann hücre proliferasyonu ve hücre morfolojisinde bozulmalar gözlemlendi. Korti organına ait incelemelerde ise hücrelerde dizilim bozukluğu dikkati çekti (Şekil 34-37).



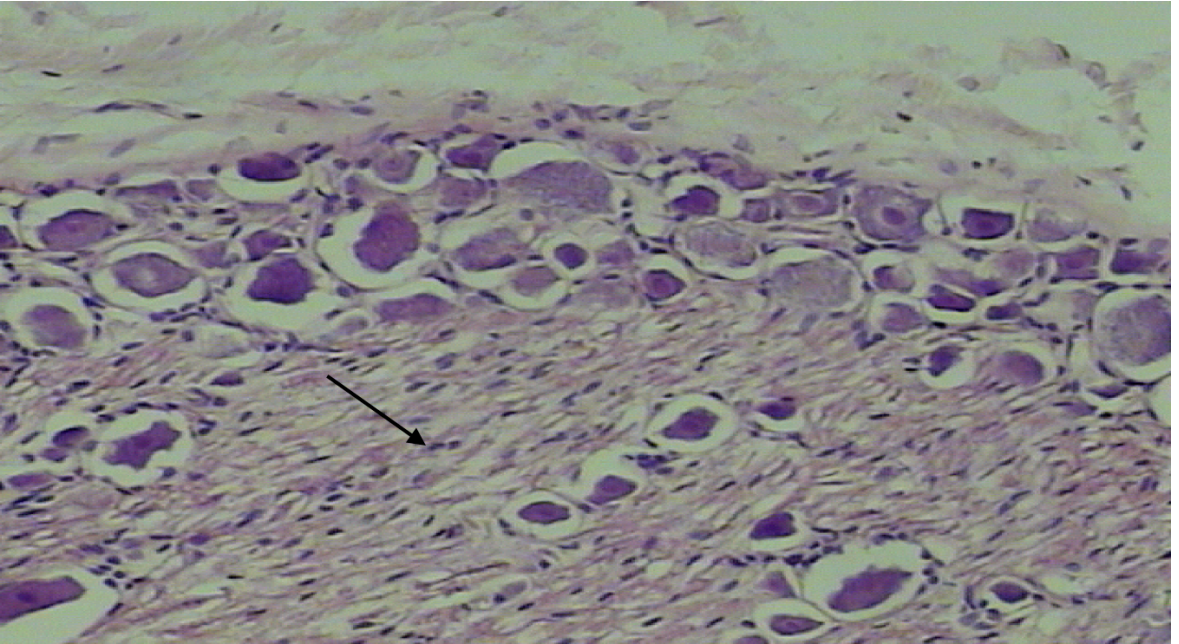
Şekil 34. Deney SF grubuna ait korti organı kesitinin 100x büyütmede HE boyaması. Okla gösterilen hücrelerde morfolojik bozukluklar izlenmekte



Şekil 35. Deney SF grubuna ait spiral ganglion kesitinin 100x büyütmede HE boyaması. Okla gösterilen hücrelerde piknotik değişiklikler ve hücre dejenerasyonu izlenmekte



Şekil 36. Deney OLE grubuna ait spiral ganglion kesitinin 40x büyütmede HE boyaması. Hücrelerde piknotik değişiklikler ve hücre dejenerasyonu izlenmekte



Şekil 37. Deney OLE grubuna ait spiral ganglion kesitinin 100x büyütmede HE boyaması. Hücrelerde piknotik değişiklikler ve hücre dejenerasyonu izlenmekte. Schwann hücre proliferasyonu okla gösterildi

Işık mikroskopik incelemede, sıçan spiral ganglionlarındaki piknotik hücre yüzdeleri tüm gruplardaki her hayvan için ayrı ayrı değerlendirildi. Yapılan değerlendirme sonucunda deney SF grubuna kıyasla, deney OLE grubunda piknotik hücre yüzdesinin daha az olduğu saptandı (Tablo 11).

Tablo 11. Tüm gruplarda HE boyamasıyla yapılan ışık mikroskopik incelemede spiral ganglionlardaki piknotik hücre yüzdelerinin ortalama \pm standart sapma ve minimum/maksimum değerleri

Gruplar \ Piknotik Hücre %	Ortalama \pm Std.Sapma %	Minimum/Maksimum %
Kontrol SF	0,86 \pm 0,90	0/2
Kontrol OLE	0,86 \pm 0,90	0/2
Deney SF	20 \pm 3,21	16/25
Deney OLE	16,29 \pm 4,71	11/24

Mann-Whitney U testi ile gruplar arasında yapılan ikişerli analizlerde deney SF ve deney OLE grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı ($p > 0,05$) (Tablo 12).

Tablo 12. Tüm gruplarda HE boyamasıyla yapılan ışık mikroskopik incelemede spiral ganglionlardaki piknotik hücre yüzdelerinin Mann-Whitney U testi* ile ikişerli analizi

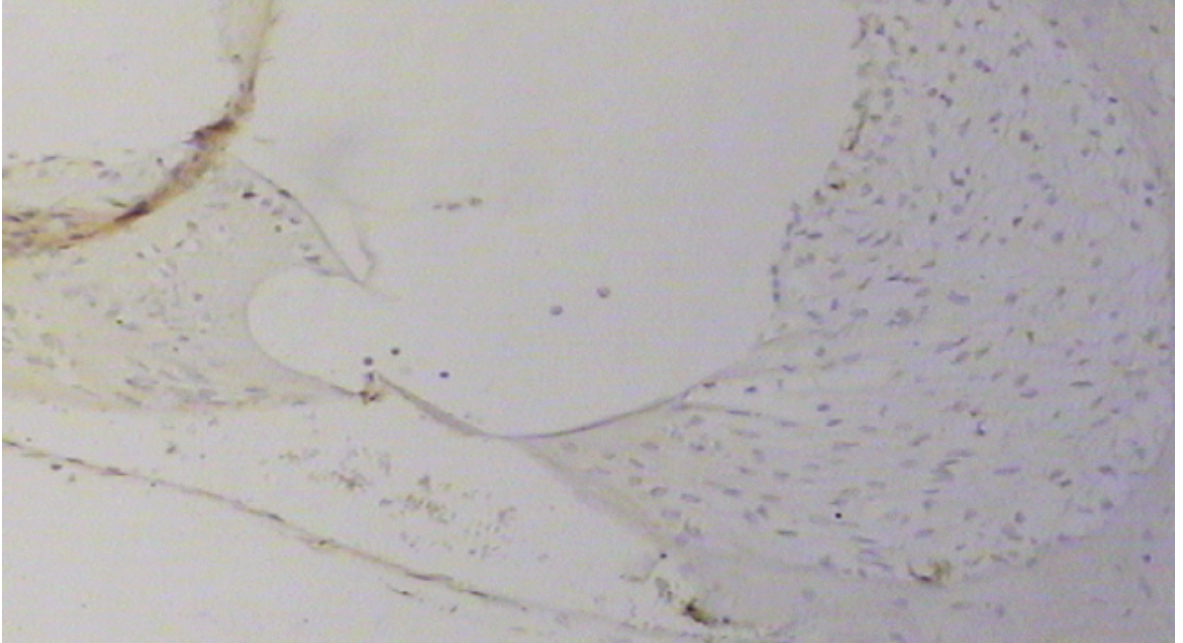
Gruplar	p değeri*
Deney SF – Deney OLE	0,124
Kontrol SF – Deney OLE	<u>0,001</u>
Deney SF – Kontrol OLE	<u>0,001</u>
Deney SF – Kontrol SF	<u>0,001</u>
Kontrol SF – Kontrol OLE	1,00

4.3.2 TUNEL Tekniği ile Korti Organı ve Spiral Ganglion Hücreslerinde Apoptoz Belirlenmesi

Terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) dUTP Nick-End Etiketleme (TUNEL) testi, apoptozun geç evrelerinde yaygın DNA yıkımına uğrayan apoptotik hücreleri saptamak için tasarlanmıştır. Bu yöntemde, TdT' nin bir şablondan bağımsız olarak çift iplikli DNA kopmalarının künt uçlarını etiketleme yeteneğine dayanarak apoptik hücreler boyanmaktadır (66).

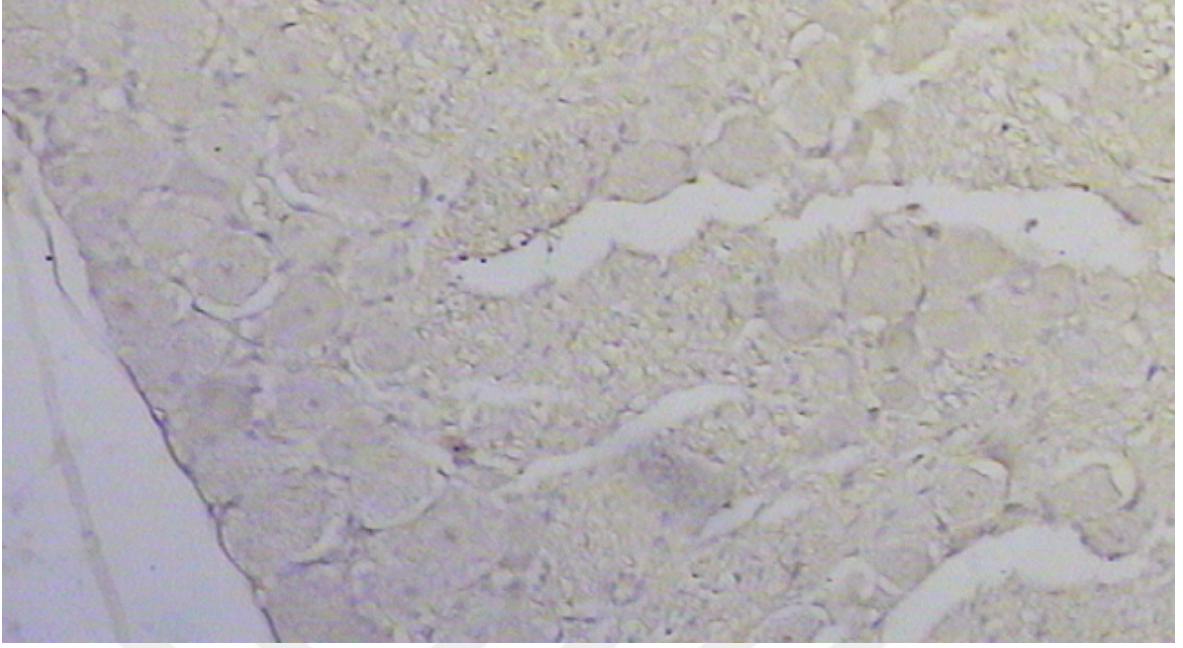
Apoptoz oranını saptayabilmek amacıyla, hazırlanan iç kulak kesitlerinde TUNEL yöntemiyle boyama yapılarak TUNEL pozitif hücreler araştırıldı.

Kontrol SF ve kontrol OLE gruplarında korti organı ve spiral ganglion hücrelerinde TUNEL pozitif hücreye rastlanmadı ve normal histolojik yapı izlendi (Şekil 38).



Şekil 38. Kontrol SF grubunda TUNEL tekniği ile yapılan boyamalarda korti organının 100x büyütmede ışık mikroskobik görüntüsü.

Deney SF ve deney OLE gruplarında da korti organı ve spiral ganglion hücrelerinde TUNEL pozitif hücreye rastlanmadı (Şekil 39).



Şekil 39. Deney SF grubunda TUNEL tekniği ile yapılan boyamalarda spiral ganglion hücrelerinin 100x büyütmede ışık mikroskobik görüntüsü.

Deney grubuna ait tüm iç kulak kesitlerinde TUNEL tekniği ile apoptotik boyanan hücreye rastlanmadığı için bu konuda karşılaştırma ve istatistiksel değerlendirme gerçekleştirilmedi.

5. TARTIŞMA

Aşırı gürültüye maruz kalmak en sık önlenebilir işitme kaybı nedenidir. Gürültüye bağlı işitme kaybının (GBİK), dünya nüfusunun en az %5 ila %16'sını ilgilendirdiği ve bu oranın 600 milyondan fazla insana eşit olduğu öne sürülmektedir (3). 2011-2012 yıllarında Amerika Birleşik Devletleri' nin Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezlerince (CDC) yapılan bir araştırmada Amerika Birleşik Devletleri nüfusunun %6 ila %24'ünün gürültüye bağlı işitme sorunları olduğu saptanmıştır (67). Dünya Sağlık Örgütü, tüm işitme kaybı vakalarının üçte birinin gürültüye maruz kalma ile ilişkili olduğunu bildirmektedir (2). Yine bazı araştırmacılara göre 12-19 yaş arası genç nüfusun %17 kadarının işitme değerlendirmelerinde tek veya her iki kulakta GBİK ile uyumlu bulgular gözlenmiştir (68).

Dünya nüfusunun çoğunu ilgilendiren GBİK, insanlarda stres artışına, psikolojik sorunlara, konsantrasyon bozukluklarına, çalışma güçlüğüne, uyku sorunlarına ve kardiyovasküler hastalıklara yol açmaktadır. Genel olarak yaşam kalitesinin bozulmasına neden olan bu durumun önlenmesi ve/veya tedavi edilmesi günümüze dek birçok araştırmacının ilgi odağı olmuştur (2).

Gürültüye bağlı işitme kaybı için günümüze dek kanıtlanmış spesifik bir tedavi seçeneği olmadığından, kulak tıkacı gibi yüksek gürültüye karşı koruma sağlayan materyallerin kullanımı hala birincil stratejidir. Bununla birlikte, bu materyallerin etkisi düzenli ve etkili kullanıma bağlıdır. Epidemiyolojik bir çalışmada, askeri personeller arasında kulak koruyucu kullanımından yarar sağlandığını ancak bunun tam bir koruma sağlamadığı görülmüştür. Bunun iki olası nedeni olarak yetersiz kullanım ve saha koşullarının, laboratuvar koşulları ile bariz farklılıklar gösterdiği öne sürülmüştür. Ayrıca, kulağı kapatmak çevresel farkındalığı ve iletişimi de engellediği için tercih edilmemektedir (69).

Gürültüye bağlı işitme kaybından korunmada günümüze dek birçok hayvan modelinde ve bazı klinik çalışmalarda farmakolojik tedaviler denenmiştir. Bu tedavi seçenekleri, GBİK' nın oluşma mekanizmasının çeşitli basamaklarına etki etmesi amaçlanarak tercih edilmiştir (69). Bunlardan en sık kullanılanı steroid tedavileridir. Temel olarak gürültünün yol açtığı inflamatuvar yanıtları baskılayarak etki etmesi amacıyla en sık deksametazon ve metilprednizolon kullanılmıştır. Wang ve ark kobaylarda GBİK modeli oluşturulması sonrası intraperitoneal yoldan, Takemura ve

ark ise yine kobaylardaki GBİK modelinde intratimpanik yoldan deksametazon uyguladığı çalışmalarda, işitme kaybına karşı koruyucu etkiler saptamışlardır (70,71). Buna karşın sıçanlarda 120 dB SPL ile oluşturulan diğer bir GBİK modelinde deksametazonun koruyucu etkisi olmadığı belirtilmiştir (72). Deksametazonun, GBİK ile başvuran hastalarda oral steroid ve oral steroid ile beraber intratimpanik yolla uygulandığı bir klinik araştırmada, kombine kullanımın koruyucu etkileri olduğu gözlenmiştir (73).

Steroidler dışında hayvan modelleri ve klinik araştırmalarda en sık kullanılan diğer maddeler antioksidan grubu ajanlardır. Bu ajanlar GBİK' daki oksidatif stresi baskılayarak etki ederler. Bu ajanlardan bazıları N-asetil sistein (NAC), vitamin A, C, E, B12, furosemid, Koenzim Q, timokinon olarak izlenmiştir (61,62,74,75).

Gürültüye bağlı işitme kaybının hücresel patogenezinde bilindiği üzere glutamat eksitotoksitesisi, azalmış koklear kan akımı, kalsiyum metabolizmasının bozulması ve aktive olan apoptoz yolları rol almaktadır. Bu aşamalara etki etmesi amacıyla sırasıyla bir NMDA antogonisti olan dizosilpin, bir vazodilatatör olan pentoksifilin ve magnezyum, kalsiyum kanal blokerleri ve JNK yolağı inhibitörleri gibi antiapoptotik sayısız ajan hayvan modellerinde ve klinik araştırmalarda kullanılmıştır (3,69).

Çalışmamızda antioksidan özellikleri olduğu kabul edilen Oleuropein (OLE) bileşiğinin, sıçanlarda oluşturulan GBİK' na karşı olası koruyucu etkileri odyolojik ve histopatolojik yöntemlerle araştırıldı. Gürültüye bağlı işitme kaybında OLE' nin etkisine yönelik İngilizce ve Türkçe literatür taramasında benzer bir araştırmaya rastlanmadığından araştırmamız bu yöndeki ilk çalışma olarak önem taşımaktadır.

Laboratuvar hayvanlarında gürültüye bağlı işitme kaybı modeli üzerinde yıllardır çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Bu amaçla sıklıkla sıçanlar, kobaylar, çinçillalar ve tavşanların kullanıldığı görülmektedir. Sıçanların iç kulak anatomisi ve işitme fizyolojisinin, insandakiyle olan benzerliği nedeniyle sıçanlar GBİK'e yönelik deneysel araştırmalarda rahatlıkla kullanılabilir (4,29). Wistar sıçanlarda dalga morfolojisinin incelendiği bir araştırmada İUBP dalgalarından II. dalganın en belirgin dalga olduğu, IV ve V. dalganın genelde birbirine bitişik olarak benzer amplitüde izlendiği ve en düşük amplitüdlü dalganın da III. dalga olduğunu saptamışlardır. I. dalganın kaynağının, insanlarda gözlenen I. ve II. dalga ile aynı

kaynak olan işitme sinirinden kaynaklandığını, II. dalganın ise insandaki III. ve V. dalganın analoğu olarak koklear nükleus kompleksinden kaynaklandığını, III. dalganın ise superior olivar kompleks kaynaklı olduğunu ve insandaki IV. dalganın analoğu olduğunu göstermişlerdir (76). Sıçanlarda oluşturduğumuz GBİK modeli kullanılan çalışmamızda da ABR ölçümlerinde eşik belirleme amacıyla ilk ortaya çıkan, en belirgin ve son kaybolan dalga olması nedeniyle II. dalga kullanıldı.

Sisplatin ototoksisitesinde OLE'nin koruyucu etkisine yönelik yapılan, 24 dişi sıçanın üç gruba ayrılarak incelendiği bir araştırmada deney grubuna intraperitoneal yoldan iki gün boyunca 8 mg/kg/gün sisplatin verilerek ototoksisite modeli oluşturulmuş ve bu gruba birinci günden başlayarak 15 gün boyunca 50 mg/kg/gün dozunda OLE gavaj yoluyla uygulanmıştır. Tüm gruplara ajanların verilmesinden 30 dakika önce ve sisplatin uygulamasının 15. gününde 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24 ve 35 kHz frekanslarda DPOAE ölçümü yapılmıştır. Sisplatin ve OLE verilen grubun 15. gün DPOAE sonuçları, sadece sisplatin verilen grupla karşılaştırıldığında 6, 12, 18, 24 ve 35 kHz frekanslardaki amplitüdlerin istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (65). Araştırmamızda ise yüksek frekans İUBP testi ile yapılan değerlendirmede koruyucu etki açısından istatistiksel anlamlı farklılık 8, 12, 16 ve 32 kHz eşiklerde bulunmuş olup sonuçlar bu açıdan uyumludur. Ancak kliniğimizde yüksek frekans DPOAE cihazı bulunmadığından ve gürültü verilmesi sonrası DPOAE' de 6 ve 8 kHz frekanslar dahil tüm yanıtlar kaybolduğundan sağlıklı bir karşılaştırma yapmak mümkün değildir.

Oleuropeinin antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral ve antikanser etkileri olduğu birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur. Zhang ve ark., sıçanlarda oluşturulan deneysel otoimmün myokardit modelinde 20 mg/kg/gün OLE' yi 4 hafta boyunca oral gavaj yoluyla uygulamışlar ve bu süre sonunda histopatolojik, immünohistokimyasal ve hemodinamik değerlendirmeler yapmışlardır. Yaptıkları histopatolojik değerlendirmelerde OLE'nin sıçan myokard dokusunda inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azalttığını, proinflamatuvar sitokin düzeylerini ve T lenfosit proliferasyonunu düşürdüğünü bulmuşlardır (77).

Potocnjak ve ark'nın farelerde oluşturduğu, sisplatinin indüklediği akut renal yetmezlik modelinde 5, 10 ve 20 mg/kg/gün OLE, sisplatin verilmesinden 48 saat sonra iki gün boyunca oral gavaj yoluyla verilmiştir. Oleuropein verilen grupta üre

ve kreatinin düzeylerinin verilmeyen gruba kıyasla düşük olduğunu, oksidatif bir enzim olan CYP2E1 ve lipit peroksidasyonu son ürünleri olan 4-HNE (4-hidroksinonenal) ve 3-NT 'nin ekspresyonunun azaldığını, TNF-alfa gibi proinflamatuvar sitokinlerin düzeyinin azaldığını, p53, Bax ve Bcl-2'nin western blot tekniği ile ölçümü ve TUNEL yöntemi ile renal apoptozun baskılandığını bulmuşlardır. En etkili dozun 20 mg/kg/gün olduğunu belirtmişlerdir (78). Benzer şekilde Geyikoğlu ve ark. tarafından sıçanlarda oluşturulan sisplatine bağlı akut renal yetmezlik modelinde de 50, 100 ve 200 mg/kg/gün OLE 3 gün boyunca intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Bu araştırmada oksidatif DNA hasarının güvenilir bir göstergesi olan 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) ve lipit peroksidasyonu göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyleri ölçülerek oksidatif hasar gösterilmiştir. Oleuropein dozu 100 ve 200 mg/kg/gün olarak düzenlenen gruplarda 8-OHdG ve MDA düzeyleri benzer oranda azalmıştır. Bu durumu, 100 mg/kg/gün dozunda OLE'nin güçlü antioksidan etkilere sahip olduğu ve sisplatine bağlı renal hücre hasarında koruyucu etkileri olduğu şeklinde yorumlamışlardır (56).

Sıçanlarda oluşturulan deltametinin indüklediği nörotoksisite modeliyle yapılan diğer bir çalışmada ise deltametrin verilmesi öncesi yedi gün boyunca sıçanlara 20 mg/kg/gün OLE intraperitoneal yolla uygulanmış ve sonrasında yapılan histopatolojik ve immünokimyasal değerlendirmelerde, kontrol grubuna kıyasla OLE verilen grupta apoptozun daha düşük düzeyde saptandığı bulunmuştur (79).

Çalışmamızda oluşturulan GBİK modelinde de işitme kaybı gelişiminde rol alan mekanizmalardan bazılarının, hücre içi serbest radikallerin, lipit peroksidasyonu ürünlerinin ve proinflamatuvar sitokinlerin artışı yoluyla gerçekleşen apoptoz ve nekroza bağlı hücre ölümü olabileceği düşünüldü. Bu açıdan literatürde bulunan kardiyotoksisite, nefrotoksisite ve nörotoksisite modellerinde gözlenen apoptozu baskılayıcı, proinflamatuvar sitokinleri ve lipit peroksidasyonu son ürünlerini azaltıcı etkilerinden yararlanmak amacıyla oleuropein bileşiğinin kullanılması tercih edildi. Literatür incelendiğinde, oleuropeinin farklı doz ve yollarla ve de farklı modellerde uygulandığı ve daha önce GBİK modelinde uygulanmadığı açıkça görülmektedir. Daha önce sisplatin ototoksisitesinde OLE' nin 50 mg/kg/gün olarak uygulanması ve diğer araştırmalarda da etkili doz aralığının 20-100

mg/kg/gün arasında değiştiği de göz önüne alınarak 50 mg/kg/gün dozunda uygulanması tercih edildi.

Araştırmamızda oleuropein, oral gavaj ile sıçanlara verildi. Gürültüye maruz kalan kişilerde kolay yoldan alınabilmesi ve insana uyarlanabilir olması açısından bu yol tercih edildi. Oleuropeinin metabolizması ve atılımına bakıldığında, enteral yolla alımdan otuz dakika ila iki saat sonra plazmada maksimum konsantrasyona ulaştığı, mide ve jejunumdan emildiği izlenmiştir. Doza, alım şekline bağlı olarak emiliminin ve atılımının değiştiği görölmüştür. Erkek cinsiyette daha hızlı konjugasyona uğradığı bildirilmiştir (53,54). Çalışmamızda kullanılan erkek sıçanlarda da oral alım sonrası herhangi bir yan etkiye rastlanmadı ve oleuropeine bağlı bir toksisite ile karşılaşılmadı.

Gürültüye bağlı işitme kaybı modellerinin kullanıldığı benzer çalışmalarda koruyucu etkisi olması beklenen ajanların gürültüye maruz bırakılmanın öncesinde ve/veya sonrasında verildiği görölmüştür. Bizim çalışmamızda, kliniğimizde yürütölen diğer bir çalışmayla benzer şekilde gürültüye maruz kalma sonrası ajan verildi (18). Literatüre bakıldığında gürültü travması sonrası ilk 24 saatte başlanan antioksidan tedavinin en az öncesinde başlananlar kadar etkili olduğu ancak bu sürenin 3 günden fazla geciktirilmemesi gerektiği belirtilmiştir (6). Yamashita ve ark. ise serbest oksijen radikalleri ve serbest azot radikalleri üretiminin gürültüden hemen sonra başlayıp 7-10 gün süresince devam ettiği ve bu süre içinde uygulanacak antioksidan tedavinin etkili olacağından bahsetmiş, ayrıca on günlük süre sonrasında DTH kaybı ve İUBP eşiklerinin stabilizeştiğini saptamışlardır (42). Bu bilgiler ışığında çalışmamızda OLE tedavisi gürültü verilmesinin 1 saat sonrasında başlayarak 24 saat aralıklarla 10 gün boyunca uygulandı. Gürültüyle ne zaman karşılaşılabileceği her zaman tahmin edilebilir olmadığından ve kullanım kolaylığı açısından, travma sonrası oral yoldan OLE kullanımının etkilerinin araştırılması planlandı.

Literatüre bakıldığında gürültüye bağlı işitme kaybı modeli oluşturulmasında bir standart olmadığı görölmektedir. Çalışmamızda, daha önce kliniğimizde yapılan bir çalışmada da kullanılan yöntemle benzer şekilde 4 kHz oktav band frekansında 120 dB SPL şiddetinde gürültü dört saat boyunca sıçanlara verildi. Evin ve ark yaptđı ve çalışmamızla aynı gürültü modelinin kullanıldığı araştırmada gürültü

sonrası birinci gün yapılan İUBP' de en yüksek eşikler 85 dB düzeyinde izlenmiştir (30). Kashani ve ark. tarafından yapılan, aynı gürültü modelinin tavşanlarda uygulandığı ve koruyucu ajan olarak N-asetil sisteinin kullanıldığı çalışmada ise 1. gün yapılan İUBP' de en yüksek eşğin 50 dB düzeylerinde saptandığı görülmüştür (80). Bunun dışında yine 4 kHz oktav band gürültünün 120 dB SPL şiddetinde 5 saat verildiği araştırmalarda 1. gün 4, 8 ve 16 kHz İUBP eşikleri 60 ve 50 dB dolaylarında izlenmiştir (62,81). Ogurlu ve ark'nın sıçanlarda oluşturduğu ve koruyucu ajan olarak timokinon kullandığı akustik travma modelinde de 4 kHz oktav band gürültü 120 dB SPL şiddetinde 4 saat olarak uygulanmış ve sıçanların kafaları hoparlörden 5-7 cm uzaklıkta konumlandırılmıştır. Travma sonrası ilk gün, İUBP ile yapılan 2 ve 4 kHz ölçümlerde 45-50 dB eşikler saptanmıştır (61). Çalışmamızda ise, verilen gürültü sonrası gerçekleştirilen 1.gün İUBP ölçümleri ortalamalarında en yüksek 8 kHz frekansta 92 dB, en düşük ise 16 kHz frekansta 76 dB olmak üzere çok ileri ve ileri derecede işitme kaybı ile uyumlu işitme eşikleri saptandı. Literatürdeki bu araştırmalarla karşılaştırıldığında bizim elde ettiğimiz işitme eşikleri sözü geçen araştırmalara göre yüksektir. Ayrıca sadece Ogurlu ve ark'nın çalışmasında hoparlörün kafaya olan uzaklığı 5-7 cm olarak belirtilmiş olup diğer çalışmalarda bu bilgilerde eksiklik izlenmiştir. Bizim araştırmamızda ise hoparlör kafes tabanından 25 cm yukarıda konumlandırılmış olmasına rağmen Ogurlu ve ark. çalışmasına göre 4 kHz frekansında dahi daha kötü eşikler elde edilmiştir. Bu durumun çalışmanın gerçekleştirildiği ortam koşullarına (örn; kafes büyüklüğü, hayvanın serbestçe geniş bir alanda dolaşması, gürültünün veriliş şekli) bağlı olabileceği düşünülmüştür (61).

Gürültüye bağlı işitme kaybı modeli oluşturulan çalışmalarda birçok antioksidan ajan farklı sürelerde ve farklı yollardan kullanılmış ve farklı etkiler saptanmıştır. Bielefeld ve ark. tarafından çinçillalarda yapılan GBİK çalışmasında 4 kHz oktav band, 105 dB şiddetteki gürültünün 6 saat, 155 dB impuls gürültünün 75 defa tekrarlanarak ve 2 saat boyunca dar band 108 dB şeklinde 3 farklı gürültü modeli kullanılmış ve koruyucu ajan olarak NAC verilmiştir. Bu araştırmada, araştırmamıza benzer şekilde kullanılan gürültü modeli olan 6 saat boyunca 105 dB, 4 kHz oktav band gürültü verilen gruba 325 mg/kg NAC oral gavajla gürültüye maruz bırakılmanın 2 gün öncesinde başlayıp, 2 gün sonra sonlanacak şekilde toplam 5

gün 10 doz olarak 4 cc/kg SF içerisinde çözülerek verilmiştir. Gürültü sonrası 1.gün İUBP ile 8 kHz frekansta 45 dB eşik gözlenmiş olup 3 hafta sonraki İUBP' de aynı frekansta eşikler 30 dB düzeyinde saptanmıştır. Yaklaşık 15 dB' lik bir kazanç izlenmiştir (74).

Le Prell ve ark kobaylarda 4 kHz oktav band, 120 dB SPL gürültüyü 5 saat boyunca uygulamış ve A,C,E vitaminleri ve magnezyumu gürültüden 1 saat önce ve 5 gün sonrasına dek intraperitoneal yolla vermişlerdir. Gürültü sonrası yaptıkları İUBP' de 4 kHz' de 40, 8 ve 16 kHz frekanslarda ile 50 dB işitme eşikleri saptamışlar, tedavi sonrasında ise yaklaşık 30 dB işitme kazancı elde etmişlerdir (62). Bunun dışında glutatyon, D-metiyonin, resveratrol, koenzim Q, likopen, ginseng bileşikleri gibi antioksidanların da kullanıldığı birçok araştırmada İUBP ile tespit edilen işitme kazancı 10-30 dB arasında değişmektedir (4,18,21,25,82).

Araştırmamızda, gürültüye maruz bırakılan sıçanlara uygulanan OLE tedavisinin 10. gününde yapılan İUBP testinde 1.güne göre yaklaşık olarak 4 kHz frekansta 8 dB, 8 kHz frekansta 8 dB, 12 kHz frekansta 12 dB, 16 kHz frekansta 11 dB ve 32 kHz frekansta ise 17 dB kazanç elde edildi. Bu verilere göre araştırılan tüm frekanslardaki düzelme istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p<0,05$). Oleuropein verilen grubun 10 .gün İUBP eşikleri, gürültüye maruz kalan ancak koruyucu ajan verilmeyen grubun eşikleri ile kıyaslandığında 4 kHz frekansta 4,6 dB, 8 kHz frekansta 6,1 dB, 12 kHz frekansta 8,6 dB, 16 kHz frekansta 9,3 dB ve 32 kHz frekansta ise 17,5 dB daha iyi eşikler elde edildi. Saptanan iyileştirici etki açısından istatistiksel anlamlı farklılık ise 8, 12, 16 ve 32 kHz frekanslarda gözlemlendi ($p<0,05$). Bu bulgular literatürdeki ortalamalara göre düşük olarak değerlendirildi. Ancak yukarıda bahsedilen modellerin çoğunda oluşturulan işitme kaybı orta veya orta ileri düzeyde olup koruyucu ajanların etkisi bu modellerde araştırılmıştır. Bizim çalışmamızda ileri ve çok ileri düzeyde işitme kaybı elde edilmesi sonrası ajan kullanıldığından ortalama işitme kazancının düşüklüğü bu durumla ilişkilendirilebilir.

Gürültünün frekansı, şiddeti ve karakteristiğine bağlı olarak işitmenin etkileneceği frekansın da değişmesi beklenmektedir. Salvi ve ark., 4 kHz oktav bant gürültü verildiğinde işitme eşiklerinin 2 kHz üstünde özellikle de 8 kHz' de daha kötüleştiği, 16 kHz' e doğru daha iyi eşikler saptandığını ifade etmiştir (29).

Çalışmamızda da 4 kHz oktav bant gürültü kullanıldı ve bu araştırmayla uyumlu olarak işitme kaybı en belirgin 8 kHz frekansta elde edildi.

Sıçanların kafes içerisinde hareketli olması, uyku halinde olması ve gürültü verilmesi işlemi esnasında bir kulağının üzerine yatması durumunda iki kulak arasında gürültüden etkilenme farkı oluşabileceği düşüncesinden yola çıkarak gürültü alan gruplarda İUBP eşikleri sağ ve sol kulak arasında karşılaştırılmış ve kulaklar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Ayrıca ACOEM (American College of Occupational and Environmental Medicine) gürültü ve işitmeyi koruma komitesi de GBİK' nin genellikle iki taraflı ve simetrik olduğunu ifade etmiştir (83). Çalışmamızdaki sonuçlar da bu bulgularla uyumludur.

Çalışmamızda, sıçanların bilinen işitme aralığı olan 0,25-70 kHz frekanslarında DPOAE testi ile etkili bir biçimde değerlendirilip değerlendirilemeyeceği sorusuna da yanıt arandı. Araştırmamızda bütün grupların bazal değerlendirmeleri ile kontrol gruplarının 1, 7 ve 10. gün DPOAE testindeki sinyal gürültü oranlarında SF grubu dışındaki grupların bazal DPOAE amplitüdüleri 1 kHz'den 8 kHz'e doğru gittikçe artış gösterdi. Kontrol SF grubunda en yüksek amplitüd 6 kHz' de saptanırken, diğer grupların hepsinde en düşük amplitüd 1 kHz'de, en yüksek amplitüd ise 8 kHz'de elde edildi. Sıçanların işitme aralığı dikkate alındığında uygulanan DPOAE testinin de İUBP testinde olduğu gibi yüksek frekans ölçüm özelliklerine sahip olması gerektiği düşünülmektedir. Kliniğimizde yüksek frekanslarda ölçüm özelliği bulunan İUBP bulunmasına rağmen yüksek frekans DPOAE bulunmadığı için 8 kHz'e kadar değerlendirme yapılabilirdi.

DPOAE testi maliyet yönünden ekonomik, hızlı sonuç veren, girişimsel olmayan bir testtir. Fakat yapılan ölçümler, prob yerleşiminden, kulak kanalının darlığından, kulak veya probda az da olsa serümen varlığından, ortam gürültüsünden yani tüm dış etkenlerden kolaylıkla etkilenmektedir. Ortam koşulları mümkün olduğunca benzer olsa dahi yapılan ardışık ölçümler arasında amplitüdüde farklılıklar görülebilmektedir. Deney hayvanlarında dar olan dış kulak yoluna probun doğru yerleştirilmemesi emisyon amplitüdülerinde değişikliklere neden olmaktadır. Bu nedenle deney hayvanının otoskopik bakışının yapılması, uygun ve derin sedasyon yapılması, emisyon ölçümünde uygun probun kullanılması gereklidir

(33,34). Çalışmamızda DPOAE testinde grupların bazal değerlendirmesinde istatistiksel anlamlı fark görülmedi.

Attias ve ark ve Balatsouras ve ark yaptıkları çalışmalarda DPOAE' nin, GBİK modellerinde gürültünün ilk etkilerinin saptanmasında ve antioksidanlara yanıtların değerlendirmesinde yararlı bir test olduğunu bildirmişlerdir (84,85). Yapılan diğer bir çalışmada ise 40 dB üstü eşik değişimlerinde DPOAE yanıtlarının kaybolabileceği ve bu testin genellikle 30-35 dB nHL işitme kaybına kadar işitsel fonksiyon ve dış tüylü hücre hasarı hakkında bilgi verirken, 35-100 dB nHL işitme kaybı aralığında tüylü hücre fonksiyonu veya iç kulağın durumu ile ilgili ayırt edici bilgi veremediğini bildirmiştir. Ayrıca DPOAE, İTH ve işitme sınırı hakkında da bilgi verememektedir (29). Bu nedenle çalışmamıza benzer deneysel araştırmalarda işitsel fonksiyonun değerlendirilmesi için elektrofizyolojik testlerin kullanılmasının uygun olacağı düşünüldü.

Araştırmamızda gürültüye maruz kalan gruplarda 1. günden itibaren DPOAE yanıtları kaybolduğundan, gürültü sonrası ölçümlerle ilgili emisyon açısından istatistiksel analiz yapılamadı. Bu nedenle DPOAE testinin GBİK modelinde tek başına işitme değerlendirme yöntemi olarak kullanılmasının uygun olmayabileceği düşünüldü. Buna rağmen çalışmaya dahil edilecek sıçanların seçiminde hızlıca uygulanması nedeniyle, araştırmalarda kullanılmasının etkili olabileceği kanısına varıldı.

Çalışmamızın histopatolojik değerlendirme ayağında tüm gruplardaki sıçanların iç kulaklarından hazırlanan 5 mikronluk kesitlere öncelikle hematoksilen-eozin (HE) boyama yapılarak ışık mikroskopi altında değerlendirildi. Deney SF ve deney OLE gruplarına ait birçok örnekte korti organında yer alan tüylü hücrelerde dizilim bozukluğu, tektoriyal membranda ayrılmalar, destek hücrelerinde dejenerasyonlar izlendi. Ancak alınan tüm kesitlerin homojen olmaması, kimi kesitlerde tekniğe bağlı olduğu düşünülen yapısal bozulmalarla karşılaşılması nedeniyle korti organında histolojik olarak hasarlı hücrelerin oranlarının değerlendirilmesi ve bu yönde sağlıklı bir karşılaştırma yapmak mümkün olmadı. Ancak spiral ganglionların görüntülediği kesitlerde histopatolojik incelemeleri gerçekleştiren araştırmacı tarafından piknotik değişikliklerin yüzde olarak oranları deney ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldı. Deney OLE grubunda % 16,29' luk

piknotik değişiklikler izlenmesine karşın deney SF grubunda bu oran % 20 düzeyinde idi. Literatüre bakıldığında kalıcı eşik değişikliği mekanizmaları arasında DTH, İTH kayıpları; sonrasında ise spiral ganglion ve afferent sinir liflerinde dejenerasyonun yer aldığı bilinmektedir (28,32,40,86). Çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak korti organında ve spiral ganglion hücrelerinde yukarıda tanımlanan histolojik bulgular izlendi. Bu bulgularla beraber değerlendirildiğinde OLE 'nin histolojik olarak da iç kulakta koruyucu etkileri olduğunu gözlemlemekle beraber bu farklılık açısından istatistiksel anlamlılık saptanmadı ($p>0,05$).

Histopatolojik değerlendirme sürecinin diğer ayağında gerçekleştirilen TUNEL boyamada kontrol gruplarında normal histolojik bulgular gözlendi. Benzer şekilde deney SF ve deney OLE gruplarında da TUNEL-pozitif apoptotik hücrelere rastlanmadı. Yapılan araştırmalarda gürültüye bağlı işitme kaybında hücresel düzeyde "reseptör interacting protein" (RIP)' in regüle ettiği nekroz ve kaspaz-8' in regüle ettiği apoptoz süreçlerinin beraber ve bir denge içerisinde rol oynadığı bilinmektedir (43,86). Hematoksilen-eozin boyamada deney gruplarında, nekroza bağlı hücre kaybının göstergesi olarak hem korti organı hem de spiral ganglion düzeyinde hücre zarlarının düzensizleşmesi ve hücrelerde piknotik değişiklikler gözlendi. Ancak TUNEL boyamada deney gruplarında, TUNEL-pozitif apoptotik hücre saptanmadı. Benzer gürültü modelinin kullanıldığı bir araştırmada deneysel olarak GBİK oluşturulan kontrol grubu sıçanlarda TUNEL boyamada korti organı ve spiral ganglion düzeyinde % 67 ve % 92 oranında TUNEL-pozitif apoptotik hücre izlenmiştir (18). Fujita ve ark. tarafından koklear iskemi modeli oluşturulan sıçanlarda bir ginseng bileşiği olan gRb1 intravenöz yoldan uygulanmış ve 7.günde yapılan TUNEL boyama ile değerlendirmede spiral ganglion hücrelerinde koruyucu etki gözlenmiştir (87). Coordes ve ark. tarafından fareler üzerinde 3 saat boyunca 5-20 kHz frekans aralığında 115 dB şiddetinde geniş bant gürültü verilerek GBİK modeli oluşturulmuş, 6.saat, 24.saat ve 7.günde sakrifikasyonlar uygulanmıştır. Sonrasında dorsal, ventral koklear nükleus ve inferior colliculus düzeyinde TUNEL boyama ile histolojik incelemeler yapılmış ve bu düzeylerde zamanla ilişkili olarak apoptoz ilişkili patofizyolojik değişiklikler gözlemişlerdir (88). Çalışmamızda TUNEL tekniğinde apoptoz pozitif boyanan hücre izlenmemesinin, verilen gürültü modelinin farklılığına bağlı ön planda nekrotik hücre ölüm yolunun baskın olması veya TUNEL

boyama yapılan kesitlerin yeri ve kesit alma tekniğindeki farklılıklara bağlı olabileceği düşünöldü.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada sıçanlarda, 4 kHz oktav band frekansında 4 saat süreyle 120 dB şiddette gürültü verilerek gürültüye bağlı işitme kaybı modeli başarıyla oluşturuldu.

Sıçanların İUBP testi ile yapılan odyolojik değerlendirmesinde, gürültü ve OLE verilen Deney OLE grubunun 4, 8, 12, 16 ve 32 kHz frekanslarındaki işitme eşik ortalamaları, gürültü ve SF verilen Deney SF grubuna kıyasla daha düşük olarak saptandı. Saptanan iyileştirici etki açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık ise 8, 12, 16 ve 32 kHz frekanslarında bulundu.

Bu alışmada Oleuropeinin GBİK' na karşı koruyucu etkileri olabileceği odyolojik olarak gösterildi.

Histopatolojik incelemelerde ise oleuropein alan grupta özellikle spiral ganglion hücrelerindeki dejenerasyonun daha az olduğu saptanmakla beraber bu yönde istatistiksel anlamlı fark elde edilmedi.

Literatürde, hayvanlarda oluşturulan gürültüye bağlı işitme kaybı modellerinin arasında tutarsızlıklar olduğu izlendi. Benzer çalışmaların sağlıklı yürütülebilmesi açısından bu konuda standardizasyonun sağlanması yararlı olacağı düşünüldü.

Oleuropein bileşiğinin gürültüye bağlı işitme kaybındaki etki mekanizmalarının, etkin dozunun ve verilif yolunun farklı gürültü şiddetlerinde ve sürelerinde etkilerinin ortaya konulabilmesi açısından ek araştırmalara ihtiyaç olduğu gözlemlendi.

7. KAYNAKLAR

1. Güler Ç, Çobanoğlu Z. Gürültü. In: Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi. 1th ed. Ankara: Aydoğdu Ofset; 1994. p. 1–43.
2. Tikka C, Verbeek JH, Kateman E, Morata TC, Dreschler WA, Ferrite S. Interventions to prevent occupational noise-induced hearing loss. Cochrane database Syst Rev. 2017 Jul;7:7–41.
3. Le TN, Straatman L V, Lea J, Westerberg B. Current insights in noise-induced hearing loss: a literature review of the underlying mechanism, pathophysiology, asymmetry, and management options. J Otolaryngol - Head Neck Surg. 2017 May 23;46:41.
4. Sha S-H, Schacht J. Emerging therapeutic interventions against noise-induced hearing loss. Expert Opin Investig Drugs. 2017 Jan 2;26(1):85–96.
5. Oishi N, Schacht J. Emerging treatments for noise-induced hearing loss. Expert Opin Emerg Drugs. 2011 Jun;16(2):235–45.
6. Le Prell CG, Yamashita D, Minami SB, Yamasoba T, Miller JM. Mechanisms of noise-induced hearing loss indicate multiple methods of prevention. Hear Res. 2007;226(1–2):22–43.
7. Gökçen Y, Uylaşer V. Doğal Bir Antimikrobiyel: Oleuropein. J Agric Fac Uludag Univ. 2011;142(25):131–42.
8. Beauchamp GK, Keast RSJ, Morel D, Lin J, Pika J, Han Q, et al. Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. Nature. 2005 Aug 31;437:45.
9. Umeno A, Takashima M, Murotomi K, Nakajima Y, Koike T, Matsuo T, et al. Radical-scavenging Activity and Antioxidative Effects of Olive Leaf Components Oleuropein and Hydroxytyrosol in Comparison with Homovanillic Alcohol. J Oleo Sci. 2015;64(7):793–800.
10. Kanlıkama M. İşitme fizyolojisi. In: Çelik O, editor. Otoloji ve Nörotoloji. İstanbul: Elit Ofset Matbaacılık; 2013. p. 59–84.
11. Mills Samir JH, Khariwala S, Weber PC. İşitmenin Anatomi ve Fizyolojisi. In: Bailey BJ, Johnson JT, Newlands SD, editors. Baş&Boyun Cerrahisi - Otolarengoloji. 4th ed. Ankara: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 1883–904.

12. Merchant SN, Rosowski JJ. Auditory Physiology. In: Gulya AJ, Glasscock ME, editors. Glasscock–Shambaugh Surgery of the Ear. 5th editio. Spain: BC Decker Inc; 2003. p. 59–75.
13. Francis HW. Anatomy of the Temporal Bone, External Ear, and Middle Ear. In: Flint PW, Haughey BH, Lund V, Niparko JK, Robbins KT, Thomas JR, et al., editors. Cummings Otolaryngology - Head and Neck Surgery. Sixth Edit. Canada: Elsevier Inc.; 2015. p. 1821–30.
14. İkiz AÖ. Ses fiziği ve orta kulak mekaniği. In: Çelik O, editor. Otoloji ve Nörootoloji. İstanbul: Elit Ofset Matbaacılık; 2013. p. 113–30.
15. Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Akyıldız N, editor. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 1998. 3-56 p.
16. Runge CL, Friedland DR. Anatomy of the Auditory System. In: Flint PW, Haughey BH, Lund V, Niparko JK, Robbins KT, Thomas JR, et al., editors. Cummings Otolaryngology. Sixth Edit. Canada: Elsevier Inc.; 2015. p. 1987–93.e2.
17. Moller AR. Hearing: Anatomy, Physiology, and disorders of the auditory system, Second Edition. 2nd ed. USA: Elsevier Inc.; 2006. 3-299 p.
18. Mungan Durankaya S. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybında Kore Kırmızı Ginseng (KRG)' in Etkisinin Araştırılması, Odyoloji Doktora Tezi. İzmir, Dokuz Eylül University; 2015.
19. Liberman MC. Noise-induced and age-related hearing loss: new perspectives and potential therapies. F1000Research. 2017;6:927.
20. Özdemir S. İç Kulak, İşitme Siniri ve Santral Koklear Yolların Fizyolojisi. In: Önerci M, Güneri EA, editors. Nörootoloji. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi; 2016. p. 26–34.
21. Olgun Y, Kirkim G, Kolatan E, Kiray M, Bagriyanik A, Olgun A, et al. Friend or foe? Effect of oral resveratrol on cisplatin ototoxicity. Laryngoscope. 2014 Mar;124(3):760–6.
22. Doğan E, Olgun Y, Kırkım G, Kolatan E, Ercetin P, Aktaş S, et al. The Protective Effect of Recombinant Human Erythropoietin against Cisplatin-Induced Ototoxicity. J Int Adv Otol. 2014 Oct;10(3):205–10.
23. Albuquerque AAS, Rossato M, Oliveira JAA de, Hyppolito MA. 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.
24. Hellstrom SO. Surgical anatomy of the rat middle ear. Vol. 119, *Otolaryngology--head and neck surgery: official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery.* England; 1998. p. 556–8.
 25. Arıcı M. Sıçanlarda Akustik Travmaya Bağlı İşitme Kaybı Modelinde Likopenin Etkisinin Araştırılması, Tıpta Uzmanlık Tezi. İzmir, Dokuz Eylül Üniversitesi; 2015.
 26. Heffner HE, Heffner RS. Hearing ranges of laboratory animals. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2007 Jan;46(1):20–2.
 27. Lie A, Skogstad M, Johannessen HA, Tynes T, Mehlum IS, Nordby K-C, et al. Occupational noise exposure and hearing: a systematic review. Vol. 89, *International Archives of Occupational and Environmental Health.* Berlin/Heidelberg; 2016. p. 351–72.
 28. Lonsbury Martin BL, Martin GK. Noise-Induced Hearing Loss. In: Flint PW, Haughey BH, Lund V, Niparko JK, Robbins KT, Thomas JR, et al., editors. *Cummings Otolaryngology.* Sixth Edit. Canada: Elsevier Inc.; 2015. p. 2345–2358.e3.
 29. Salvi R, Boettcher FA. Animal Models of Noise-Induced Hearing Loss. In: Conn PM, editor. *Sourcebook of Models for Biomedical Research.* Totowa, NJ: Humana Press; 2008. p. 289–301.
 30. Evin H. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı Etiyolojisinde Curcuma Longa (Curcumin)'in Etkisinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi. İzmir, Dokuz Eylül Üniversitesi; 2015.
 31. Turner JG, Parrish JL, Hughes LF, Toth LA, Caspary DM. Hearing in Laboratory Animals: Strain Differences and Nonauditory Effects of Noise. Vol. 55, *Comparative medicine.* 2005. p. 12–23.
 32. Liberman MC. Noise-Induced Hearing Loss: Permanent Versus Temporary Threshold Shifts and the Effects of Hair Cell Versus Neuronal Degeneration. *Adv Exp Med Biol.* 2016;875:1–7.
 33. Külekçi S, Kırkım G. Otoakustik Emisyonlar. In: Çelik O, editor. *Otoloji ve*

- Nörootoloji. İstanbul: Elit Ofset Matbaacılık; 2013. p. 1019–26.
34. Kemp DT. Otoacoustic emissions, their origin in cochlear function, and use. *Br Med Bull.* 2002;63:223–41.
 35. Şerbetçioğlu B. Otolojik ve Nöro-otolojik Hastada Odyolojik Değerlendirme. In: Çelik O, editor. *Otoloji ve Nörootoloji.* İstanbul: Elit Ofset Matbaacılık; 2013. p. 981–7.
 36. Brown CJ, Johnson TA. Electrophysiologic Assessment of Hearing. In: Flint PW, Haughey BH, Lund V, Niparko JK, Robbins KT, Thomas JR, et al., editors. *Cummings Otolaryngology - Head and Neck Surgery.* Sixth Edit. Canada: Elsevier Inc.; 2015. p. 1904–15.
 37. Soylu SM. Rat Fizyolojisi. *Journal of Clinical and Analytical Medicine.* 2010.
 38. Willott JF. Factors affecting hearing in mice, rats, and other laboratory animals. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2007 Jan;46(1):23–7.
 39. Shaw NA. The auditory evoked potential in the rat—a review. *Prog Neurobiol.* 1988;31(1):19–45.
 40. Kurabi A, Keithley EM, Housley GD, Ryan AF, Wong AC-Y. Cellular mechanisms of noise-induced hearing loss. *Hear Res.* 2017 Jun;349:129–37.
 41. Lu J, Li W, Du X, Ewert DL, West MB, Stewart C, et al. Antioxidants reduce cellular and functional changes induced by intense noise in the inner ear and cochlear nucleus. *J Assoc Res Otolaryngol.* 2014 Jun;15(3):353–72.
 42. Yamashita D, Jiang H-Y, Schacht J, Miller JM. Delayed production of free radicals following noise exposure. *Brain Res.* 2004 Sep;1019(1–2):201–9.
 43. Wakabayashi K, Fujioka M, Kanzaki S, Okano HJ, Shibata S, Yamashita D, et al. Blockade of interleukin-6 signaling suppressed cochlear inflammatory response and improved hearing impairment in noise-damaged mice cochlea. *Neurosci Res.* 2010 Apr;66(4):345–52.
 44. Esterberg R, Hailey DW, Coffin AB, Raible DW, Rubel EW. Disruption of intracellular calcium regulation is integral to aminoglycoside-induced hair cell death. *J Neurosci.* 2013 Apr;33(17):7513–25.
 45. Pujol R, Puel J. Excitotoxicity, Synaptic Repair, and Functional Recovery in the Mammalian Cochlea: A Review of Recent Findings. *Ann New York Acad Sci.* 1999;Nov 28(884):249–54.

46. Hu BH, Henderson D, Nicotera. The Caspase Pathway in Noise-Induced Apoptosis of the Chinchilla Cochlea. *JARO J Assoc Res Otolaryngol*. 2003 Dec;4(4):466–77.
47. Henderson D, Bielefeld EC, Harris KC, Hu BH. The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss. *Ear Hear*. 2006 Feb;27(1):1–19.
48. Op de Beeck K, Schacht J, Van Camp G. Apoptosis in acquired and genetic hearing impairment: the programmed death of the hair cell. *Hear Res*. 2011 Nov;281(1–2):18–27.
49. Gunes D, Kirkim G, Kolatan E, Guneri EA, Ozogul C, Altun Z, et al. Evaluation of the effect of acetyl L-carnitine on experimental cisplatin ototoxicity and neurotoxicity. *Chemotherapy*. 2011;57(3):186–94.
50. Kruk I, Aboul-Enein HY, Michalska T, Lichszteld K, Kladna A. Scavenging of reactive oxygen species by the plant phenols genistein and oleuropein. *Luminescence*. 2005;20(2):81–9.
51. Gikas E, N. Bazoti F, Tsarbopoulos A. Conformation of oleuropein, the major bioactive compound of *Olea europea*. *J Mol Struc-Theochem*. 2007 Nov 1;821:125–32.
52. Andreadou I, Iliodromitis EK, Mikros E, Constantinou M, Agalias A, Magiatis P, et al. The olive constituent oleuropein exhibits anti-ischemic, antioxidative, and hypolipidemic effects in anesthetized rabbits. *J Nutr*. 2006 Aug;136(8):2213–9.
53. de Bock M, Thorstensen EB, Derraik JGB, Henderson H V., Hofman PL, Cutfield WS. Human absorption and metabolism of oleuropein and hydroxytyrosol ingested as olive (*Olea europaea* L.) leaf extract. *Mol Nutr Food Res*. 2013;57(11):2079–85.
54. Rubio L, Valls R-M, Macia A, Pedret A, Giralt M, Romero M-P, et al. Impact of olive oil phenolic concentration on human plasmatic phenolic metabolites. *Food Chem*. 2012 Dec;135(4):2922–9.
55. Visioli F, Bellomo G, Galli C. Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998;247(1):60–4.
56. Geyikoglu F, Emir M, Colak S, Koc K, Turkez H, Bakir M, et al. Effect of oleuropein against chemotherapy drug-induced histological changes,

- oxidative stress, and DNA damages in rat kidney injury. *J Food Drug Anal.* 2017;25(2):447–59.
57. Hassen I, Casabianca H, Hosni K. Biological activities of the natural antioxidant oleuropein: Exceeding the expectation - A mini-review. *J Funct Foods.* 2015;18:926–40.
 58. Rietjens SJ, Bast A, Haenen GRMM. New Insights into Controversies on the Antioxidant Potential of the Olive Oil Antioxidant Hydroxytyrosol. *J Agric Food Chem.* 2007;55(18):7609–14.
 59. Barbaro B, Toietta G, Maggio R, Arciello M, Tarocchi M, Galli A, et al. Effects of the Olive-Derived Polyphenol Oleuropein on Human Health. Antonio S-C, editor. *Int J Mol Sci.* 2014 Oct;15(10):18508–24.
 60. Domitrovic R, Jakovac H, Marchesi VV, Sain I, Romic Z, Rahelic D. Preventive and therapeutic effects of oleuropein against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. *Pharmacol Res.* 2012 Apr;65(4):451–64.
 61. Ogurlu M, Celebi Erdivanli O, Tumkaya L, Ozgur A, Ozergin Coskun Z, Terzi S, et al. The therapeutic effect of thymoquinone on acoustic trauma-induced hearing loss in rats. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology.* 2017;274(2):743–9.
 62. Le Prell CG, Hughes LF, Miller JM. Free radical scavengers, vitamins A, C, and E, plus magnesium reduces noise trauma. Vol. 42, *Free radical biology & medicine.* 2007. p. 1454–63.
 63. Kanagawa E, Sugahara K, Hirose Y, Mikuriya T, Shimogori H, Yamashita H. Effects of substance P during the recovery of hearing function after noise-induced hearing loss. *Brain Res.* 2014 Sep;1582:187–96.
 64. Gaertner DJ, Hallman TM, Hankenson FC, Batchelder MA. Anesthesia and Analgesia for Laboratory Rodents. In: Fish RE, Brown MJ, Danneman PJ, Alicia Z K, editors. *Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals.* Second Edi. Boston: Elsevier Inc.; 2008. p. 239–97.
 65. Çelik M. Ratlarda cisplatin ototoksitesinde oleuropein kullanımının protektif etkinliği , *Tıpta Uzmanlık Tezi.* Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi; 2016.
 66. Kyrylkova K, Kyryachenko S, Leid M, Kioussi C. Detection of apoptosis by TUNEL assay. *Methods Mol Biol.* 2012;887:41–7.

67. NIDCD Fact Sheet, Noise-Induced Hearing Loss [Internet]. NIH Pub. No. 99-4233. 2014 [cited 2018 Oct 10]. p. 1–4. Available from: <https://www.nidcd.nih.gov/sites/default/files/Documents/health/hearing/NoiseInducedHearingLoss.pdf>
68. Henderson E, Testa MA, Hartnick C. Prevalence of Noise-Induced Hearing-Threshold Shifts and Hearing Loss Among US Youths. *Pediatrics*. 2011 Jan 1;127(1):e39 LP-e46.
69. Sakat MS, Kilic K, Bercin S. Pharmacological agents used for treatment and prevention in noise-induced hearing loss. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016 Dec;273(12):4089–101.
70. Wang B, Liu Y, Chi F, Zhang Y, Yang M, Zhu X. Dexamethasone suppresses cochlear Hes1 expression after noise exposure. *Acta Otolaryngol*. 2013 Mar;133(3):233–8.
71. Takemura K, Komeda M, Yagi M, Himeno C, Izumikawa M, Doi T, et al. Direct inner ear infusion of dexamethasone attenuates noise-induced trauma in guinea pig. *Hear Res*. 2004 Oct;196(1–2):58–68.
72. Bas E, Martinez-Soriano F, Lainez JM, Marco J. An experimental comparative study of dexamethasone, melatonin and tacrolimus in noise-induced hearing loss. *Acta Otolaryngol*. 2009 Apr;129(4):385–9.
73. Zhou Y, Zheng G, Zheng H, Zhou R, Zhu X, Zhang Q. Primary Observation of Early Transtympanic Steroid Injection in Patients with Delayed Treatment of Noise-Induced Hearing Loss. *Audiol Neurotol*. 2013;18(2):89–94.
74. Bielefeld EC, Kopke RD, Jackson RL, Coleman JKM, Liu J, Henderson D. Noise protection with N-acetyl-L-cysteine (NAC) using a variety of noise exposures, NAC doses, and routes of administration. *Acta Otolaryngol*. 2007 Sep;127(9):914–9.
75. Ewert DL, Lu J, Li W, Du X, Floyd R, Kopke R. Antioxidant treatment reduces blast-induced cochlear damage and hearing loss. *Hear Res*. 2012 Mar;285(1–2):29–39.
76. Alvarado JC, Fuentes-Santamaria V, Jareno-Flores T, Blanco JL, Juiz JM. Normal variations in the morphology of auditory brainstem response (ABR) waveforms: a study in Wistar rats. *Neurosci Res*. 2012 Aug;73(4):302–11.

77. Zhang J-Y, Yang Z, Fang K, Shi Z-L, Ren D-H, Sun J. Oleuropein prevents the development of experimental autoimmune myocarditis in rats. *Int Immunopharmacol.* 2017 Jul;48:187–95.
78. Potocnjak I, Skoda M, Pernjak-Pugel E, Persic MP, Domitrovic R. Oral administration of oleuropein attenuates cisplatin-induced acute renal injury in mice through inhibition of ERK signaling. *Mol Nutr Food Res.* 2016 Mar;60(3):530–41.
79. Khalatbary AR, Ghaffari E, Mohammadnegad B. Protective Role of Oleuropein against Acute Deltamethrin-Induced Neurotoxicity in Rat Brain. *Iran Biomed J.* 2015;19(4):247–53.
80. Motalebi Kashani M, Saberi H, Hannani M. Prevention of Acoustic Trauma-Induced Hearing Loss by N-acetylcysteine Administration in Rabbits. Vol. 1, *Archives of Trauma Research.* 2013. p. 145–50.
81. Minami SB, Yamashita D, Schacht J, Miller JM. Calcineurin activation contributes to noise-induced hearing loss. *J Neurosci Res.* 2004 Nov;78(3):383–92.
82. Claussen AD, Fox DJ, Yu XC, Meech RP, Verhulst SJ, Hargrove TL, et al. D-methionine pre-loading reduces both noise-induced permanent threshold shift and outer hair cell loss in the chinchilla. *Int J Audiol.* 2013 Dec;52(12):801–7.
83. ACOEM evidence-based statement: noise-induced hearing loss. *J Occup Environ Med.* 2003 Jun;45(6):579–81.
84. Attias J, Bresloff I, Reshef I, Horowitz G, Furman V. Evaluating noise induced hearing loss with distortion product otoacoustic emissions. *Br J Audiol.* 1998 Feb;32(1):39–46.
85. Balatsouras DG, Tsimpiris N, Korres S, Karapantzos I, Papadimitriou N, Danielidis V. The effect of impulse noise on distortion product otoacoustic emissions. *Int J Audiol.* 2005 Sep;44(9):540–9.
86. Zheng H-W, Chen J, Sha S-H. Receptor-interacting protein kinases modulate noise-induced sensory hair cell death. *Cell Death & Dis.* 2014 May 29;5:e1262.
87. Fujita K, Hakuba N, Hata R, Morizane I, Yoshida T, Shudou M, et al. Ginsenoside Rb1 protects against damage to the spiral ganglion cells after

- cochlear ischemia. *Neurosci Lett*. 2007 Mar;415(2):113–7.
88. Coordes A, Groschel M, Ernst A, Basta D. Apoptotic cascades in the central auditory pathway after noise exposure. *J Neurotrauma*. 2012 Apr;29(6):1249–54.



8.EKLER



Gündem No/ Toplantı No/Yıl : 03/20/2017
Toplantı Tarihi : 14 Kasım 2017

Sayın, Prof.Dr. Semih SÜTAY
DEÜ Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı

46/2017 Protokol No'lu; Öğretim Üyelerinden yürütücüsü olduğu "Gürültüye Bağlı İşitme Kaybında Oleuropeinin Etkisinin Araştırılması" isimli; Özgür Gümüş, Yüksel Olgun, Günay Kırkım, Serpil Mungan Durankaya, Safiye Aktaş, Osman Yılmaz ve Meryem Çalışır'ın araştırmacı olduğu, 32 adet Wistar Albino erkek rat'ın kullanıldığı projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

Prof.Dr.Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Başkanı
(Araştırmacı)


Prof. Dr. Ali Necati GÖKMEN
Başkan Vekili

Prof. Dr. Safiye AKTAŞ
Üye (Araştırmacı)


Prof. Dr. Hatice Nur OLGUN
Üye

Prof. Dr. Gülüğün OKTAY
Üye (Topl. Katılmadı)

Prof. Dr. Günay KIRKIM
Üye (Araştırmacı)

Prof. Dr. Tarkan ERTAY
Üye

Prof. Dr. Pembe UYSUN KESKİNOĞLU
Danışman


Prof. Dr. Nergiz DURMUŞ
Üye

Prof. Dr. Zekiye Sultan ALTUN
Üye

Doç. Dr. Nermi Nüket GÖÇMEN MAS
Üye

Yard. Doç. Dr. Orhan KALEMCI
Üye


Zehra KINAM
Üye


Vet. Hekim Adnan ŞERPEN
Üye

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin başvuru formunda bold karakter kullanılarak yapılmak projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.



The Power to Question

SAFETY DATA SHEET

Santa Cruz Biotechnology, Inc.

Revision date 19-Aug-2016

Version 1.2

1. IDENTIFICATION OF THE SUBSTANCE/PREPARATION AND OF THE COMPANY/UNDERTAKING

Product identifier

Product Name Oleuropein
Product Code SC-286622

Recommended use of the chemical and restrictions on use

For research use only. Not intended for diagnostic or therapeutic use.

Details of the supplier of the safety data sheet

Santa Cruz Biotechnology, Inc.
10410 Finnell Street
Dallas, TX 75220
831.457.3800
800.457.3801
scbt@scbt.com

Emergency telephone number

Chemtrec
1.800.424.9300 (Within USA)
+1.703.527.3887 (Outside USA)

2. HAZARDS IDENTIFICATION

This chemical is not considered hazardous by the 2012 OSHA Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.122).

Classification

Not a dangerous substance or mixture according to the Globally Harmonized System (GHS)

Label elements

Signal word Not classified
Hazard statements Not classified
Symbols/Pictograms Not classified

Precautionary Statements - Prevention
Precautionary Statements - Response

Wash hands thoroughly after handling
IF exposed or concerned: Get medical advice/attention

Hazards not otherwise classified (HNOC)

Hazards not otherwise classified (HNOC) Not applicable

Other Information

Unknown acute toxicity 100% of the mixture consists of ingredient(s) of unknown toxicity.

NFPA	Health hazards	0		HMIS	Health hazards	0
	Flammability	1			Flammability	1
	Stability	0			Physical hazards	0
	Physical and chemical properties	-			Personal protection	-

3. COMPOSITION/INFORMATION ON INGREDIENTS

CAS No 32619-42-4
Molecular Weight 540.52
Formula C₂₅H₃₂O₁₃