



**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ  
ENSİTİTÜSÜ  
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI  
ODYOLOJİ ve KONUŞMA SES BOZUKLUKLARI  
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**METFORMİNİN GÜRÜLTÜYE BAĞLI  
OTOTOKSİSİTEDE KORUYUCU ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Uzm. Dr. Gülin Gökçen Kesici**

**Yüksek Lisans Tezi**

**ANKARA**

**2016**



**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ  
ENSİTİTÜSÜ  
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI  
ODYOLOJİ ve KONUŞMA SES BOZUKLUKLARI  
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**METFORMİNİN GÜRÜLTÜYE BAĞLI  
OTOTOKSİSİTEDE KORUYUCU ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Uzm. Dr. GÜlin Gökçen Kesici**

**TEZ DANIŞMANI**

**PROF. DR. LEVENT NACİ ÖZLÜOĞLU**

**Yüksek Lisans Tezi**

**ANKARA**

**2016**

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

Odyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Gülin Gökçen Kesici tarafından yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29/09/2016

Tez Konusu: "Metforminin Gürültüye Bağlı Ototoksisitede Koruyucu Etkisinin Araştırılması"

**TEZ DANIŞMANI: Prof. Dr. Levent N. ÖZLÜOĞLU**

**TEZ JÜRİSİ ÜYELERİ**

Prof. Dr. Levent N. Özlüoğlu

Başkent Üniversitesi

Prof. Dr. Selim S. Erbek

Başkent Üniversitesi

Doç. Dr. Bülent Gündüz

Gazi Üniversitesi

**ONAY:** Bu tez, Başkent Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunun 29 / 09 / 2016 tarih ve 151 Karar Sayısı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Rengin ERDAL  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca sonsuz bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, bu çalışmanın ortaya çıkmasında sınırsız destek ve yardımları olan, bilimsel katkılarını, sabrını ve hoşgörüsünü esirgemeyen değerli hocam sayın Prof. Dr. Levent Naci Özlüoğlu' na;

Her birinden ayrı ayrı çok şey öğrendiğim, bilgi ve desteklerini benden esirgemeyen değerli hocalarımsayın Prof. Dr. Ayşe Gül Güven, Prof. Dr. Hatice Seyra Erbek ve Prof. Dr. Selim Sermed Erbek'e;

Bu çalışmanın yürütülmesi aşamasındaki özverili yaklaşımları ve destekleri nedeniyle Başkent Üniversitesi Deney Hayvanı Araştırma Merkezi çalışanlarına;

Eğitimim süresince tecrübelerini benimle paylaşan Odym. Sinem Kapıcıoğlu ve Odym. Güldeniz Pekcan'a;

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm dönem arkadaşlarıma;

Hayatımın her aşamasında yanımda olan anneme, babama ve kardeşime;

Ve hayatımın anlamı olan sevgili eşim ve oğluma;

En içten teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Gülin Gökçen Kesici, Metforminin Gürültüye Bağlı Ototoksistide Koruyucu Etkisinin Araştırılması, Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Odyoloji ve Konuşma Ses Bozuklukları Yüksek Lisans Programı Yüksek Lisans Tezi, 2016.**

Gürültüye bağlı işitme kaybı erişkin popülasyonun işitme kayıplarının en önemli nedenlerinden biridir. Gürültü sonrası kokleada reaktif oksijen seviyeleri artmaktadır ve koklear kan akımı bozulmaktadır. Birçok antioksidan tedavinin gürültüye bağlı işitme kaybında koruyucu etkisi tespit edilmiştir. Metformin etkili ve güvenli bir diyabet ilacı olmasının yanında aynı zamanda antioksidan ve nöroprotektif etkilere de sahiptir. Bu çalışma gürültü maruziyeti sonrası oluşan ototoksisteye karşı metforminin koruyuculuğunun test edildiği *in vivo* kontrollü deneysel bir hayvan çalışmasıdır. Bu çalışma Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından onaylanmıştır ve Başkent Üniversitesi hayvan deneyleri laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmaya 24 rat dahil edilmiş, birinci grup sadece gürültü, ikinci grup sadece metformin, üçüncü grup gürültü ve metformin verilen, dördüncü grup da kontrol grubu olacak şekilde ayarlanmıştır. Tüm ratların bazal DPOAE ve ABR uygulamaları yapıldıktan sonra, metformin grubu (2. grup) ve metformin + gürültü grubu (3. grup) 10 gün boyunca gavaj yolu ile günde tek doz salin içinde çözülmüş 300 mg/kg metformin (Glucophage®) tedavisi almıştır. 11. gün gürültü grubu (1. grup) ve metformin + gürültü grubuna (3. grup) 15 saat süreyle 105 dB SPL şiddetinde beyaz gürültü uygulanmıştır. Gürültü maruziyeti sonrası 1., 7. ve 21. gün tüm gruptaki ratların DPOAE ve ABR ölçümleri tekrarlanmıştır. Metformin tedavisi alan 2. ve 3. gruptaki ratlar çalışma bitimine kadar toplam 31 gün boyunca metformin tedavisi almaya devam etmiştir. 1. ve 3. grubun ABR eşik değerleri ve DPAOE ölçümleri gürültü maruziyeti sonrası 1. gün bozulurken, 1. grupta bozulma 7. ve 21. günlerde devam etmiş, 3. grupta 7.

günde normale dönmüştür. Metformin grubunda metformin tedavisi ile ABR eşiklerinde ve DPOAE ölçümlerinde fark oluşmamıştır. Sonuç olarak metforminin gürültüye bağlı ototoksiteye karşı ratlarda tedavi edici etkisi bulunmuştur. Metformin gürültüye bağlı işitme kaybında alternatif bir tedavi olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: gürültüye bağlı işitme kaybı, metformin, ototoksite, antioksidan, rat

Tez çalışmasına Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından onay verilmiştir.

## ABSTRACT

**Gülin Gökçen Kesici, Investigation of Protective Effect of Metformin In Noise-related Ototoxicity, Başkent University Institute of Health Sciences Department of Otorhinolaryngology Master Program in Audiology and Speech Voice Disorders Master Thesis, 2016.**

Noise-induced hearing loss is one of major causes of hearing loss in the adult population. Reactive oxygen levels increases in cochlea after noise and cochlear blood flow is impaired. The protective effects of many antioxidant treatments were determined in noise-induced hearing loss. Besides being effective and safe diabetes drug metformin has also antioxidant, and neuroprotective effect. This study tested protection of metformin against noise induced ototoxicity as an in vivo controlled experimental animal study. This study was approved by Başkent University Medical and Health Sciences Research Committee and was carried out in animal laboratory of Baskent University. Twenty four rats were included in the study; groups were set as: the first group was exposed to noise, the second group received metformin, the third group was exposed to noise and received metformin, the fourth group control group. After baseline DPOAE and ABR measurements of all rats, metformin group (group 2) and metformin + noise group (group 3) received 300 mg/kg metformin (Glucophage®) treatment dissolved in saline as single dose in a day by using gavage for 10 days. Noise group (group 1) and metformin + noise group (group 3) were exposed to 105 dB SPL white noise for 15 hours at 11<sup>th</sup> day. DPOAE and ABR measurements of the rats in all groups were repeated at 1<sup>st</sup>, 7<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup> days after noise exposure. The rats in 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> groups continued to receive metformin treatment for 31 days until the end of the study. At the first day after noise exposure, ABR thresholds and DPOAE measurements were deteriorated in 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> groups, deterioration continued at 7<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> days in the first group, deterioration returned to normal at 7<sup>th</sup> day in the third group. There were no changes in

ABR thresholds and DPOAE measurements with metformin treatment in metformin group. As a result, it was found that metformin has therapeutic effect on noise-induced ototoxicity in rats. Metformin can be used as an alternative treatment of noise induced hearing loss.

Keywords: noise-induced hearing loss, metformin, ototoxicity, antioxidant, rat

The thesis study has been approved by Baskent University Medical and Health Sciences Research Committee.





# İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

<b>ONAY SAYFASI</b>	<b>iii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iv</b>
<b>ÖZET</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>vii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>ix</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b>	<b>xi</b>
<b>ŞEKİLLER</b>	<b>xii</b>
<b>TABLolar</b>	<b>xiii</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>2</b>
2.1.Ses Dalgaları ve Özellikleri	2
2.2.İşitmenin Anatomi ve Fizyolojisi	3
2.2.1. Dış Kulak	3
2.2.2. Orta Kulak	3
2.2.3. Koklea	5
2.2.4. İşitme Siniri	8
2.2.5. Santral İşitme Sistemi	8
2.3. Ratlarda İşitme	9
2.4. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı	10
2.5. Elektrofizyolojik Ölçümler	11
2.5.1. İşitsel beyinsapı odyometrisi (Auditory Brain-stem Response Audiometry - ABR)	11
2.5.1.1. Ratlarda ABR Ölçümü	12
2.5.2. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE)	14
2.6. Metformin ve İşitme ile İlişkisi	16
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>18</b>
3.1. Deney Hayvanları	18
3.2. Çalışma Prosedürü	19
3.3. İşitme Değerlendirmesi	19

3.3.1. DPOAE Ölçümü	19
3.3.2. ABR Ölçümü	20
3.4. İstatistiksel Analiz	21
<b>4. BULGULAR</b>	<b>23</b>
4.1. ABR Sonuçları	23
4.1.1. ABR eşik değerleri	23
4.1.2. ABR latans değerleri	27
4.2. DPOAE Sonuçları	28
4.2.1. DPOAE amplitüt değerleri	28
4.2.2. DPOAE SNR değerleri	32
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>36</b>
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	<b>42</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>43</b>
<b>8. EK – PROJE ONAYI</b>	

## SİMGELER ve KISALTMALAR

Hz	Hertz
Pa	Pascal
SPL	Ses basınç seviyesi
Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> ATPaz	sodyum-potasyum trifosfotaz
ABR Response Audiometry)	İşitsel beyinsapı odyometrisi (Auditory Brain-stem
DPOAE	Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon
OAE	otoakustik emisyon
AMPK/Sirt1	5' adenzin monofosfat-aktive protein kinaz/sirtuin1
AMP	selüler adenzin monofosfat
NAD	nikotinamid adenzin dinükleotid
GSHP	glutatyon peroksidaz
SOD	süperoksit dismutaz
MDA	malondialdehit
SNR	sinyal-gürültü oranı
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
PARP	poli-ADP-riboz polimeraz
AMPK	AMP-aktive kinaz

## ŞEKİLLER

### Şekil

2.1. Timpanik membran ve stapes tabanı arasındaki vibrasyon alanlarının farkının şematik gösterimi	4
2.2. Koklea kesitinin şematik görünümü	5
2.3. Santral işitme yolları	9
2.4. İnsanlar ile labaratuvar hayvanlarının işitme aralıklarının karşılaştırılması.	10
2.5. Ratlarda ABR dalga örneği	13
2.6. Ratlarda ABR dalga örneği	13
2.7. Ratlarda ABR dalga örneği	13
2.8. Ratlarda frekansa göre ABR örneği	13
2.9. Ratlarda ABR örneği.	14
3.1. Ratlarda DPOAE ölçümü	20
3.2. Ratlarda ABR ölçümü	21
4.1. Bir ratın bazal ölçüm örneği	25
4.2. Gürültü grubunda bir ratın gürültü maruziyeti sonrası 1. gün ölçümü	25
4.3. DPOAE ölçüm örneği	29

## TABLÖLAR

### Tablo

<b>4.1.</b> ABR eşik ölçümlerinin gruplara ve bazal, gürültü sonrası 1., 7., 21. günlerdeki ölçümlere göre karşılaştırması	26
<b>4.2.</b> ABR II. dalganın latans ölçümlerinin gruplara ve bazal, gürültü sonrası 1., 7., 21. günlerdeki ölçümlere göre karşılaştırması	27
<b>4.3.</b> DPOAE amplitüt ölçümlerinin gruplarda frekanslara ve bazal, gürültü sonrası 1., 7., 21. günlerdeki ölçümlere göre karşılaştırması	30
<b>4.4.</b> DPOAE amplitüt ölçümleri arasında istatistiksel anlamlı fark olan ölçümlerin ikili fark karşılaştırması	31
<b>4.5.</b> DPOAE SNR ölçümlerinin gruplarda frekanslara ve bazal, gürültü sonrası 1., 7., 21. günlerdeki ölçümlere göre karşılaştırması	34
<b>4.6.</b> DPOAE SNR ölçümleri arasında istatistiksel anlamlı fark olan ölçümlerin ikili fark karşılaştırması	35

## 1. GİRİŞ

Gürültüye bağlı işitme kaybı dünya çapında erişkin popülasyonun işitme kaybının en önemli nedenlerinden biridir. Gürültüye bağlı işitme kaybı orta kulak ve iç kulak yapılarında mekanik hasara yol açabilmektedir. Çoğunlukla dış saçlı hücrelerin fonksiyonel ünitelerinde biyokimyasal değişimlere ve işitsel sinir liflerinde hücre hasara neden olmaktadır. Gürültü sonrası kokleada reaktif oksijen seviyeleri artmaktadır ve koklear kan akımı bozulmaktadır. Serbest oksijen radikalleri hücrelerin DNA hasarına, lipid ve protein kırılmalarına ve hücre ölümüne neden olmaktadır.

Metformin antidiyabetik bir ilaç olmasının yanında aynı zamanda antioksidan, renoprotektif, kardiyoprotektif, nöroprotektif ve antikanser bir ilaçtır. Nranal toksisitede kan-beyin bariyerini geçerek toksisitenin neden olduğu serbest oksijen radikallerinin artımını azaltarak hücre ölümünü engeller.

Gürültü maruziyeti sonrası hücrelerin hasardan korunması çok önemlidir. Bu nedenle gürültü maruziyeti sonrası koruyucu ve hasarı tedavi edici bir protokolün geliştirilmesi önemlidir.

Bu deneysel çalışmada amacımız gürültü maruziyeti sonrası metforminin işitme sistemine olan etkilerinin elektrofizyolojik olarak gösterilmesidir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Ses Dalgaları ve Özellikleri

Bir enerji türü olan ses, atmosferde canlıların işitme organları tarafından algılanabilen periyodik basınç değişiklikleridir ve bir maddedeki moleküllerin titreşmesi sonucu oluşur. Ses dalgalarının yayılması için maddesel bir ortam gereklidir yani ses dalgaları boşlukta yayılamaz. Ses içinde bulunduğu ortamın moleküllerinin ardışık olarak sıkışması ve gevşemesine neden olarak dalgalar halinde yayılır. Ses bir basınç dalgası olarak adlandırılır, çünkü havadaki moleküller birbirine yaklaşarak sıkıştığında, basınç artar (kompresyon); uzaklaşarak gevşediğinde ise basınç azalır (rarefaksiyon).

Sesin iki temel özelliği, frekansı ve şiddetidir. Frekans, bir saniye süresindeki ses dalgalarının yaptığı oskülasyon sayısıdır. Birimi *hertz* (Hz)'dir. İnsanların duyabildikleri frekans aralığı 20 – 20.000 Hz' dir. Birçok diğer memeliler ultrasound (>20.000 Hz) sesleri işitebilmektedirler. [1] Sesin şiddeti, ses dalgalarının kompresyon fazı sırasında hava moleküllerini ne kadar sıkıştırdığını yansıtır. Yani ses basıncısının lokal atmosferik basınçta yaptığı değişimdir. Ses basıncının birimi *pascal* (Pa)' dir. Ses basınç seviyesi (*Sound Pressure Level, SPL*) ise ses basıncının logaritmik bir ölçüsüdür ve birimi dB' dir. Kulak, timpanik membranda bir hidrojen molekülünün çapından daha küçük hava titreşimi oluşturan sesi tespit edebilir.

Ses dalgalarının yayılmasına ortam tarafından gösterilen dirence akustik direnç veya empedans adı verilmektedir. Sesin bir ortamdan diğerine geçişi sırasında (hava, sıvı, katı ortam) bir kısım enerji yansır. Evrimleşme sürecinde kara hayvanları ses enerjisini hava ortamından içi sıvı dolu iç kulak ortamına taşıırken geri yansıyan enerjiyi azaltıp, transfer edilen enerjiyi artırabilmek için ses toplayıcı dış kulak yollarını ve orta kulaktaki mekanik güçlendirici yapıları geliştirmişlerdir.[2]

## 2.2. İşitmenin Anatomi ve Fizyolojisi

İşitmenin anatomi ve fizyolojisi, dış kulak, orta kulak, koklea ve santral işitme sistemi bölümlerine ayrılarak anlatılabilir.

### 2.2.1. Dış kulak

Dış kulak, pinna ve lateralde timpanik membran ile sonlanan dış kulak yolundan oluşur. Dış kulak ve baş akustik özelliklerinden dolayı işitmede pasif ama önemli role sahiptirler. Pinnanın konka bölümü yaklaşık 5 kHz rezonansa sahiptir. Ayrıca pinnanın bölümlerinin irregüler yapısı diğer rezonans ve antirezonans özellikleri sağlayarak sesin yönünün tespitine yardım eder. [3]Dış kulak rezonans özelliğinden dolayı; 3 kHz' de yaklaşık 15 dB, 2-5 kHz arasında ise 10 dB' den fazla ses kazancı sağlar. Rezonans frekansı dış kulak yolunun uzunluğuna bağlıdır ve 2.5 cm uzunluğundaki bir dış kulak yolu için rezonans frekansı yaklaşık 3,5 kHz' dir. [3] Gürültüye bağlı işitme kaybının ilk ve en belirgin 4 kHz bölgesinde gerçekleşmesinin nedenlerinden biri de dış kulağın akustik özellikleridir. [4]

Sesin lokalizasyonunda önemli rol oynayan baş, dalga boyunun genişliği kendisinden küçük olan frekanslarda zayıflatıcı etki gösterir. Yani 2 kHz' den daha büyük frekanslarda başın bu gölge etkisi ile interaural ses yoğunluğu farkı 5-15 dB arasında olur ve bu fark sesin lokalizasyonunda kullanılır. Sesin dalga boyu başın genişliğinden daha büyük olduğu frekanslarda ise baş sesin azalmasına daha az neden olur. Ayrıca sesin iletimindeki interaural zaman farkı (yaklaşık 0,6 msn) da sesin lokalizasyonunda kullanılır.

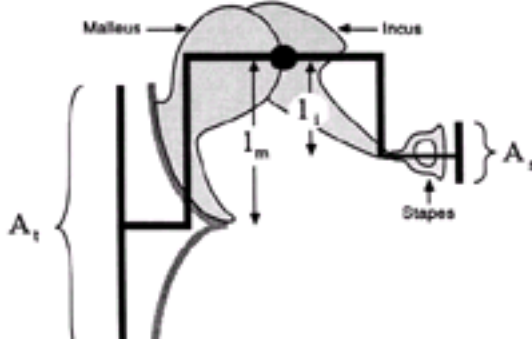
### 2.2.2. Orta kulak

Orta kulak dış kulak yolundan aldığı akustik enerjiyi içi sıvı dolu kokleaya transfer eder. Sese düşük direnç gösteren havadan yüksek direnç gösteren sıvıya sesin transferinde meydana gelebilecek 30 dB' lik kaybı önlemek için orta kulak 3 mekanizma kullanır:

1. İlk ve en önemli yol; timpanik membranın etkili vibrasyon bölgesinin stapes tabanındaki etkili vibrasyon bölgesinden 17-20 kat daha geniş olmasıdır. (Şekil 2.1)



**Şekil 2.1.** Timpanik membran ve stapes tabanı arasındaki vibrasyon alanlarının farkının şematik gösterimi (Byron J. Bailey Head and Neck Surgery-Otolaryngology 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins Publishers; 2001:1016'dan alınmıştır.)



2. İkinci mekanizma; manubrium ve malleusun boynu inkusun uzun kolundan 1.3 kat daha uzundur. Bu kaldıraç etkisi sayesinde malleus kolundaki enerji inkusa 1.3 kat güçlenerek aktarılır.
3. En son ve daha az etkili mekanizma ise; timpanik membranın şeklidir. Kulak zarı etrafındaki anulusda titreşmeyip orta kısımda titreşerek enerjiyi manubriumda yoğunlaştırır.

Yukarıda bahsedilen üç mekanizmanın etkisi ile orta kulakta yaklaşık 25-30 dB'lik ses basınç kazancı elde edilir.

Orta kulak içerisinde bulunan kemikçik sistem, ligamentler ve hava nedeniyle hem kitle hem kompliyans etkisi olan ve bu nedenle rezonans özellikleri olan bir sistemdir. Ses basıncının orta kulaktan transferi insanda yaklaşık 800-900 Hz' de artmaktadır, bu frekans orta kulağın rezonans frekansıdır. İnsan kulağı başın, dış kulak yolunun, orta kulağın ve kokleanın mevcut empedansının özellikleri nedeniyle 20 kHz' den daha yüksek frekanslı sesleri orta kulaktan kokleaya transfer edemediği için duyamaz. Ayrıca transfer edilen en yüksek enerji konsantrasyonunun olduğu frekans bölgesi 3-4 kHz' dir. [4]

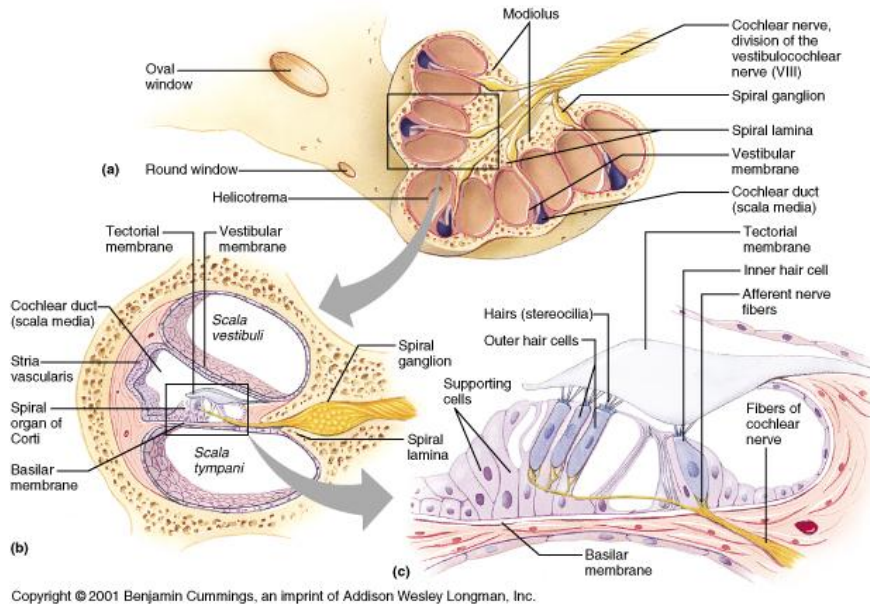
Orta kulakta tensor timpani ve stapes kası olmak üzere iki kas yer almaktadır. Yaklaşık 80 dB' den daha şiddetli ses varlığında stapes kası refleksi olarak kasılarak ossiküler zincir ve timpanik membranın katılığını artırıp kokleayı yüksek sestem

korur. Laboratuvar çalışmaları stapediale refleksi kokleayı özellikle 2 kHz' den daha düşük frekanstaki seslerden koruduğunu göstermiştir. [5] Tensor timpani kasının kasılması sonucu timpanik membranın gerginliği artmaktadır.

### 2.2.3. Koklea

İnsan kokleası yaklaşık 35 mm uzunluğunda skala vestibuli, skala media ve skala timpani adlı üç kısma bölünen sarmal şeklinde bir kemik kanaldır. Skala vestibuli ve skala timpani içerisinde ekstraselüler sıvılara benzeyen perilenf, skala mediada ise intraselüler sıvılara benzeyen endolenf bulunur. Perilenf ve endolenf arasındaki bu kimyasal kompozisyon farkı duyu hücrelerinin aktiviteleri için gerekli elektrokimyasal enerjiyi sağlar. Skala media yaklaşık olarak 80 mV istirahat potansiyeline sahiptir ve bu endokoklear potansiyel kokleanın lateral duvarında yer alan stria vaskularisdeki özelleşmiş hücrelerin sodyum-potasyum trifosfat (Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPaz) pompası tarafından sağlanır. [6] Şekil 2.2'de koklea kesitinin şematik görünümü yer almaktadır.

Şekil 2.2. Koklea kesitinin şematik görünümü



Akustik enerji stapes tabanında yer alan oval pencereden kokleanın skala vestibuli bölümündeki perilenfe taşınır. Buradaki perilenf kokleanın apeksinde yer alan helikotrema adlı açıklıktan skala timpani ile bağlantılıdır. Korti organı kemik spiral laminada yer alan baziller membran üzerinde yer alan kokleanın duyuşal epiteldir. Korti organında dış ve iç saçlı hücreler, destek hücreleri (Deiters, Hensen, Claudius), tektoriyel membran ve retiküler lamina yer alır.

Dış ve iç saçlı hücreler mekanik bir enerji olan akustik enerjinin nöral bir enerji olan elektriksel enerjiye dönüşmesinde rol oynarlar. Bu iki grup hücrenin morfolojik ve nöral inervasyon açısından farklılıkları bulunmaktadır. Spiral ganglion işitme sinirinin gövdesini oluşturur ve korti organından uyarı alan dendritleri, aksonları aracılığıyla beyin sapında yer alan koklear nukleusa iletimi gerçekleştirir. Dendritlerin %90-95'i iç saçlı hücreler ile sinaps yapar ve tip I nöron olarak adlandırılır. Her iç saçlı hücresi yaklaşık 15-20 tip I nöron ile inerve edilir. Dendritlerin %5-10'u ise dış saçlı hücreler ile sinaps yapar ve tip II nöron olarak adlandırılır. Her tip II nöron yaklaşık 10 dış saçlı hücreyi inerve eder. [3]

Ses iç kulağa iletildiğinde koklear sıvıların titreşimi ile titreşen baziller membranın hareketi ilerleyen dalga şeklindedir. Çünkü baziller membran tabanda apekse göre daha gergindir ve ilerleyen dalga daima bazalden apekse doğrudur. Yüksek frekans sesin oluşturduğu ilerleyen dalga kokleanın bazalinde maksimum yer değiştirme yaparken, düşük frekans sesler ise apikalde daha fazla yer değiştirmeye neden olur. Yüksek frekans seslerin ilerleyen dalgaları kokleanın apikaline ulaşamazken, düşük frekans seslerin dalgaları baziller membran uzunluğu boyunca uzanır. İlerleyen dalga hareketi ile dış saçlı hücre aktivitesi oluşur ve dış saçlı hücreler kokleanın spesifik frekans bölgesindeki baziller membran hareketini arttırırlar. Koklear amplifiyer olarak isimlendirilen bu özellik frekans seçiciliğine ve az şiddetteki seslerin saptanmasına katkıda bulunur. Kokleadaki bu amplifiyer özelliği otoakustik emisyonlar ile de desteklenmektedir. Kulağa kısa süreli bir sinyal verildiğinde, kokleadan dış kulak yoluna bir eko yayılır ve ekonun enerjisi verilen kısa süreli sinyalin enerjisinden fazla olduğu için koklear amplifiyer özelliği kanıtlanmış olur. [7]

Saçlı hücrelerin apikal yüzeylerinde sterosilya adı verilen filamentöz aktin sitoskeletonlar bulunur ve kıtsadan uzuna doğru dizilmişlerdir. Sterosilyaların uzun tarafa doğru defleksiyonu sterosilyaların duvarında yerleşmiş mekanoelektrik transdüksiyon kanallarının açılmasına, diğer yöne defleksiyonu ise bu kanalların kapanmasına neden olur. Kanalların açılması  $K^+$  ve  $Ca^{++}$  iyonlarının hücre içine girmesine ve hücrenin depolarizasyonuna yol açarak uyarılmasına neden olur.

Kokleadan ekstraselüler olarak 4 tip potansiyel kaydedilebilir: [8]

**1-Endolenfatik Potansiyel:** Diğer potansiyellerin aksine koklea uyarılmadığı zaman da var olan elektrik potansiyelidir. Skala mediadan kaydedilen 80-100 mV luk bir potansiyeldir. Kokleadaki stria vaskularisten kaynaklanır ve  $Na^+$ ,  $K^+$  ATPaz transport enzimi tarafından iyon transferi ile oluşturulur.

**2- Koklear mikrofonik:** Koklea veya yuvarlak pencereden kaydedilen alternatif akım voltajlarıdır. Baziller membran hareketi tarafından dış saçlı hücrelerin rezistansı değiştirilir ve bu potansiyeller dış saçlı hücrelere  $K^+$  iyon akımını yansıtır. Sonuç olarak endolenfatik potansiyelde küçük bir azalma ile birlikte bir akım oluşur. Voltajda gerçekleşen bu hareket koklear mikrofoniktir. Baziller membran hareketleri ve ses uyarınları ile direkt ilişkilidir.

**3- Sumasyon potansiyeli:** Kokleadan sese yanıt olarak kaydedilen doğru akım potansiyel kayıdır. Potansiyeller elektrotun lokalizasyonuna veya stimulusun frekans ve seviyesine bağlı olarak pozitif veya negatif olabilir. Sumasyon potansiyelinin birçok kaynağı olmasına rağmen en çok dış saçlı hücrelerde stimulusa cevap olarak oluşan intraselüler potansiyellerden kaynaklanır.

**4- Birleşik Aksiyon Potansiyeli:** İşitme siniri liflerinden kaynaklanan potansiyeldir. Senkronize nöral aktivite sonucu oluşur ve kafatasına yerleştirilen skalp elektrotu, dış kulak yoluna yerleştirilen elektrot veya transtimpanik yolla yuvarlak pencereye yerleştirilen bir elektrot ile ölçülebilir. Stimulus şiddeti arttıkça birleşik aksiyon potansiyeli amplitütü artar ve latansı azalır. [8]

#### **2.2.4. İşitme sınırı**

Memeli işitme sınırında yer alan lifler spontan deşarj hızlarına göre üç kategoriye ayrılır: yüksek (18-120 spike/sn), orta (0,5-18 spike/sn) ve düşük (0-0,5 spike/sn). Spontan aktivitesi daha yüksek olan lifler diğerlerine göre daha düşük şiddetteki işitsel sinyallere cevap verir. Yüksek spontan hızlı lifler, daha kalın dendritlere sahiptir ve modiolus tarafındaki iç saçlı hücrelerde sonlanır. İşitme sınırına ait her bir lifi spesifik bir frekansa ayarlıdır.

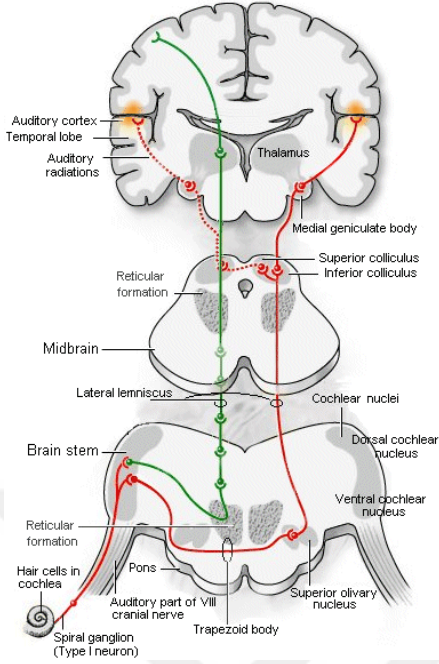
#### **2.2.5. Santral işitme sistemi**

Santral işitme sisteminin asendan ve desandan yolları Şekil 2.3'de gösterilmiştir. İşitme sınırının afferent lifleri koklear nukleusta sonlanır. Koklear nukleustan birçok lif beyin sapında kontralateral superior olivary komplekse geçer. Superior olivary kompleks her iki kulaktan impuls alan ilk merkezdir. Genellikle kontralateral lifler eksitator, ipsilateral lifler ise inhibitördür.

Inferior kollikulus işitsel davranışlardan, sesin frekans ve şiddetinin ayırımından ve binaural işitmeden sorumlu bir merkezdir. Talamusun medial genikulat body kısmının fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir ve bilgileri işitsel kortekse iletir.

İşitsel korteks temporal lobun Sylvian fissüründe yer almaktadır. Primer ve sekonder işitsel bölgelerde tüm işitsel işlemler gerçekleştirilir. Baziller membrandan işitsel kortekse kadar tüm işitme yolağındaki hücreler tonotopik olarak organize olmuştur. [9]

**Şekil 2.3.**Santral işitme yolları



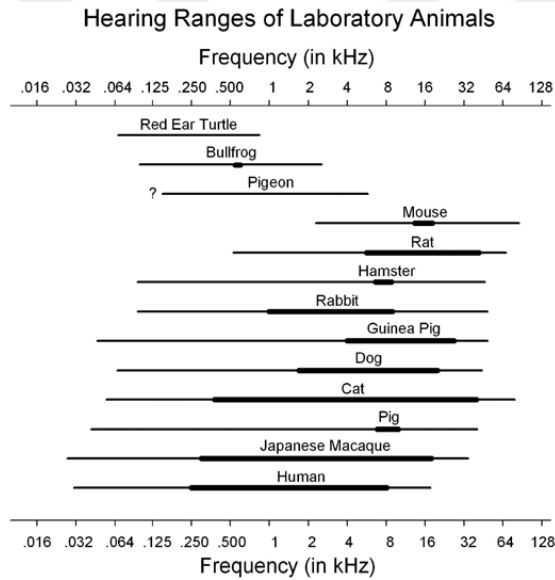
### 2.3. Ratlarda İşitme

Yapısal ve fonksiyonel olarak insanlar ile kemiriciler arasında ufak farklar olmasına rağmen, genel olarak işitme sistemi tüm memelilerde benzerdir. [10] Yapılan birçok araştırmalar sonucu kemiricilerin işitme sistemleri insan dışındaki diğer memelilere göre çok iyi bilinmektedir. [11] Bu nedenlerle kemirgen modelleri insan çalışmaları için sıkça kullanılmaktadır. Kemirgenler arasında ratlar maliyetlerinin az oluşu, orta kulak enfeksiyonlarına dirençli oluşu, uzun ömürlü oluşu, anestezi ajanlarına hassasiyetlerinin guinea piglerden daha az oluşu ve yaşam koşullarına kolay adaptasyon yetenekleri nedeniyle işitme ile ilgili çalışmalarda sıkça tercih edilmektedirler. [12]

Koka ve ark., ratların kafa ve pinna uzunlukları, birbirlerine göre açılarının ölçümleri, kafanın sferik oluşu ve pinnanın hareketliliğinin ölçümlerini kullanarak yaptıkları çalışmada; tüm bu anatomik özelliklerin yüksek frekans işitmedeki önemini tespit etmişlerdir. Ratlarda pinnanın 20-35 kHz aralığında 5-12 dB, 15 kHz'in altında ise daha az bir kazanç sağladığı tespit edilmiştir. [13] Baş ise 17.2 kHz' de  $24.1 \pm 3.3$  dB kazanç sağlamaktadır. Aynı çalışmada interaural şiddet farkının

düşük frekanslarda (<5 kHz) az olduğu ancak yüksek frekanslara doğru (20 kHz'e kadar) hızla arttığı belirlenmiştir. Heffner ve Masterton ratlarda frekans ayırım eşiklerini %1-2 olarak ölçmüşlerdir. [14] Kafa ve pinnanın anatomik ve fonksiyonel özellikleri yanında kokleanın da anatomik özellikleri gereği ratların işitme duyuları yüksek frekanslarda iyi gelişmiştir. Şekil 2.4'de ratların ve diğer laboratuvar hayvanlarının işitme frekans aralıklarının insanlar ile karşılaştırılması görülmektedir.

**Şekil 2.4.** İnsanlar ile laboratuvar hayvanlarının işitme aralıklarının karşılaştırılması. [14] (İnce çizgiler 60 dB SPL'de duyulabilen frekans aralığını, kalın çizgiler ise 10 dB SPL'de duyulabilen frekans aralığını göstermektedir.)



#### 2.4. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı

Gürültüye bağlı işitme kaybı dünya çapında erişkin popülasyonun işitme kaybının en önemli nedenlerinden biridir. [15] Kısa süreli gürültü maruziyeti sonrası işitmede geçici eşik kaymaları olurken, uzun süreli gürültüde kalıcı eşik kaymaları ve sonuçta irreversible işitme kayıpları olmaktadır. Ani ve yüksek şiddetteki gürültüye maruziyet sonrası oluşan akustik travmada ise geçici veya kalıcı işitme kayıpları oluşabilmektedir. Bu tip travmada; timpanik membranda perforasyonlar, kemikçik

zincirde kopmalar, oval ve yuvarlak pencere fistülleri ve korti organında mekanik hasarlar oluşabilmektedir.

Gürültüye bağlı işitme kaybı orta kulak ve iç kulak yapılarında mekanik hasara yol açabilmektedir. Çoğunlukla dış saçlı hücrelerin fonksiyonel ünitelerinde biyokimyasal değişimlere ve işitsel sinir liflerinde hücre hasara neden olmaktadır. [16, 17] Gürültü sonrası kokleada reaktif oksijen seviyeleri artmaktadır ve koklear kan akımı bozulmaktadır. [18] Serbest oksijen radikalleri hücrelerin DNA hasarına, lipid ve protein kırılmalarına ve hücre ölümüne neden olmaktadır. [19] Ayrıca serbest radikaller hücre apoptozisini tetiklemektedir. [19]

Gürültüye bağlı işitme kaybı tedavisinde antioksidan moleküller oksidatif stresi azaltarak hücre ölümünü azaltabilirler. [20] Ayrıca serbest oksijen radikalleri için supresörler ve anti-inflamatuvar ajanlar da işitme kaybından etkilenmeyi azaltabilmektedir.

## **2.5. Elektrofizyolojik Ölçümler**

Bu bölümde gürültüye bağlı işitme kaybının etkilerinin saptanmasında çalışmamızda kullanılan İşitsel beyinsapı odyometri (Auditory Brain-stem Response Audiometry) (ABR) ve Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon (DPOAE) ölçümlerinden bahsedilecektir.

### **2.5.1. İşitsel beyinsapı odyometri (Auditory Brain-stem Response Audiometry - ABR)**

İşitsel yolların alt bölümündeki çok sayıdaki nöronun senkronize cevaplarının kaydedildiği, akustik uyarana verilen elektriksel yanıtlardır. İç kulaktan başlayıp beyin sapı düzeyindeki nöral yolların akustik uyarana karşı gösterdiği elektriksel aktivitenin sonucu oluşurlar.

Normal bir ABR trasesinde, roma rakamları ile numaralandırılan, 10 msn içinde ortaya çıkan yedi verteks pozitif dalga yer alır. ABR trasesinde, I. ve II.

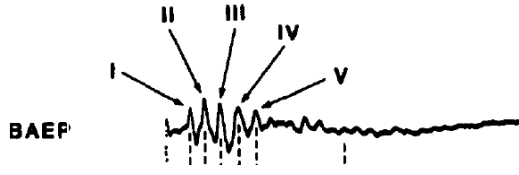


dalgalar işitsel sinir kaynaklı senkronize nöral aktiviteyi gösterir. III. dalganın koklear nükleus ve kontralateral superior olivar kompleksden, IV. dalganın superior olivar nükleusdan kaynaklandığı kabul edilmektedir. İnsanlarda ABR dalgaları tanınırken temel alınan dalga olan V. dalganın tepe kısmı lateral lemniskustan inen kısmı ise inferior kollikulustan kaynaklanmaktadır. ABR ölçümlerinde bir dalganın amplitüdü kişiler arasında ve aynı kişinin değişik ölçümleri arasında farklılıklar gösterebilirken, latanslar daha stabildir. [21]

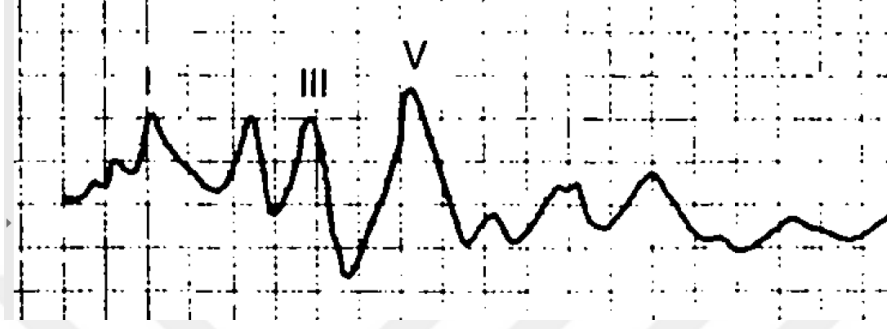
### **2.5.1.1.Ratlarda ABR ölçümü**

Ratlarda ve kemirgenlerde işitme siniri sadece bir dalganın oluşturulmasını takip edebilecek kadar kısa olduğu için insanlar ile karşılaştırıldığında; insanlardaki I. ve II. dalga hayvanların I. dalgasıyla, III. dalga hayvanın II. dalgasıyla ve IV. dalga hayvanın III. dalgasıyla eşittir. [22] İnsanlarda işitme sinirinin uyarılması ile I. ve II. dalga oluşur çünkü işitme sinirinin uzunluğu proksimalinden ve distalinden bölünmüş iki ayrı dalga kaydı alacak kadar uzundur. [23] Yapılan bir çalışmaya göre ratlarda II. dalga posterior ventral nükleusdan, III. dalga anterior ventral nükleusdan ve trapezoid cisimden, IV. dalga superior olivar kompleksden ve V. dalga lateral lemniskus ve inferior kollikulustan kaynaklanmaktadır. [24] Henry ve ark.'a göre IV. dalga lateral lemniskus ve inferior kollikulustan, V. dalga ise medial genikulat cisim ve/veya talamokortikal yollardan kaynaklanmaktadır. [25] Başka bir çalışmaya göre lateral lemniskustaki patolojiler IV. ve V. dalgada değişiklikler yapmaktadır. [26]

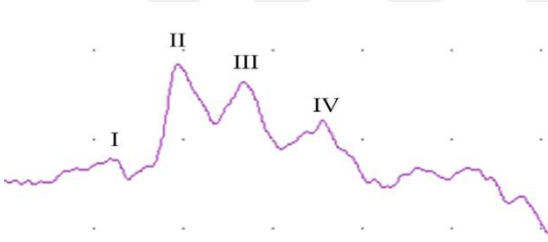
İnsanlarda I., III. ve V. dalgalar belirgindir ve inter-peak latanslar için sıklıkla kullanılırlar. Ayrıca III. ve V. dalga en geniş dalgalar olduğu için işitme eşiklerinin tespiti için kullanılırlar. İnsanların aksine ratlarda II. dalga en geniş, III. dalga ise en küçük dalgadır ve V. dalga ise ABR ölçümlerinde eşik tespitinde kullanılmaz. [27] Ratlarda santral işitsel iletim zamanını hesaplamak için genellikle II. dalga (koklear nükleus kaynaklı) kullanılır. [28] Ratlarda dalga II, koklear nükleus kompleksinden kaynaklanır ve insanlardaki karşılığı dalga III' dür. Ratlardaki en belirgin dalganın neden II. dalga olduğu bu hipotez ile açıklanmaktadır. [26] Diğer dalgaları tanımak için referans dalga olarak II. dalga kullanılır. (Ratlarda ABR örnekleri şekil 2.5-2.9)



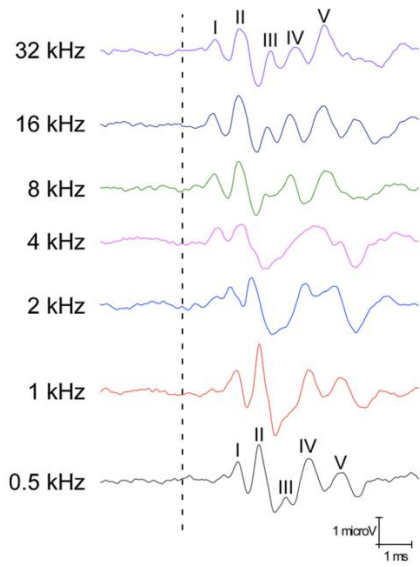
Şekil 2.5. Ratlarda ABR dalga örneği [29]



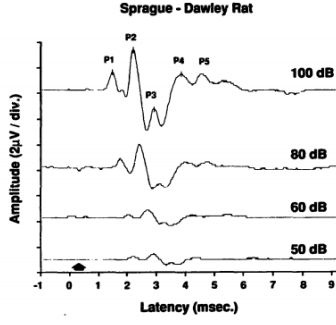
Şekil 2.6. Ratlarda ABR dalga örneği [30]



Şekil 2.7. Ratlarda ABR dalga örneği [31]



Şekil 2.8. Ratlarda frekansa göre ABR örneği [24]



**Şekil 2.9.** Ratlarda ABR örneği. Overbeck ve Church'nun çalışmadan alınmıştır.[27]

### 2.5.2. Distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE)

David Kemp 1978 yılında kulak zarının önüne yerleştirilen çok hassas mikrofonlar aracılığıyla sağlıklı kulaklardan elde edilen çok düşük seviyeli seslerin varlığını göstermiştir. [32] Elde edilen bu seslerin sadece spontan olarak oluşmadığı, akustik uyarılar sonucu da elde edildiği bulunmuştur. Kemp bu seslerin dış saçlı hücreler tarafından üretildiğini ve iç kulağın non-lineer fonksiyonları sonucu oluştuğunu belirtmiştir. Bu buluşu izleyen başka bir çalışmada dış saçlı hücrelerin uyarılması ile, hücrede kasılma ve uzamaların olduğu, baziller membranı hareket ettirebildikleri gösterilmiştir. [33] Bu gözlemler sonucu dış saçlı hücrelerin baziller membranı hareketini artırarak koklear amplifikasyon, ince ayar ve hassasiyet sağladığı düşünülmüştür. Dış saçlı hücrelerin hareketi ile düşük şiddetteki akustik uyarıların baziller membranda oluşturduğu dalgaların amplitütü artmakta ve ince frekans seçiciliğine neden olmaktadır. Otoakustik emisyonlar işte bu dış saçlı hücrelerin ince ayar fonksiyonunun sonucudur.

Dış saçlı hücrelerin hasarı sonucu işitsel duyarlılık, frekans keskinliği ve dinamik aralık özelliği azalır. [34] Otoakustik emisyonlar ise alınamaz. Dış saçlı hücrelerin fonksiyonunun değerlendirildiği otoakustik emisyonlar (OAE) ortaya çıkış yollarına göre ikiye ayrılırlar: akustik uyarı olmadan oluşan spontan OAE ve

akustik uyarın ile ortaya çıkan uyarılmış OAE. Uyarılmış OAE ise kendi içinde transient OAE, distorsiyon ürünü OAE ve stimulus frekansı OAE olarak üçe ayrılır.

İki farklı frekanstaki saf sesin eş zamanlı olarak kulağa verilmesi sonrasında oluşan otoakustik emisyonlara distorsiyon ürünü OAE' lar denilmektedir. Distorsiyon ürünlerinin bulunması normal kokleanın nonlineer özelliğinin kanıtı olarak değerlendirilmektedir. Kulağa verilen iki saf sesin frekansı  $f_1$  ve  $f_2$ , şiddetleri ise  $L_1$  ve  $L_2$  olarak tanımlanmaktadır ve ortaya çıkan OAE'nun frekansı ( $f_3$ ), uyarın temel frekanslardan farklı ancak aritmetik olarak onlarla ilişkilidir. Uyarın olarak verilen iki sesin frekansı, şiddeti ve birbirleriyle oranları elde edilen DPOAE amplitütleri üzerinde etkilidir. Stimulus frekansları sistematik olarak değiştirilerek alçak frekansdan yükseğe doğru farklı frekans bölgelerinde kaydedilip distorsiyon ürünü odyogram elde edilebilir. Cevapların anlamlı olduğuna karar verirken DPOAE dalga büyüklüğünün gürültüye olan oranının 3-6 dB'den büyük olması gerekir.

DPOAE ölçümü açısından insanlar ve hayvanlar arasında bir takım farklar vardır. [35] Hayvanlar insanlara göre daha yüksek DPOAE seviyelerine, daha az belirgin DPOAE yapısına ve daha düşük transient OAE ve stimulus frekansı OAE' a sahiptirler. Bunun nedeni olarak gösterilen 2 hipotez: 1. Yansıyan tip emisyon kaynağı (distorsiyon yerinin kaynağı stimulusun iki ton altındadır) insanda hayvanlara göre daha baskın olması ve 2. Distorsiyon frekansındaki yansıma kaynağı DPOAE seviyesine negatif katkıda bulunur.

CD1 farelerde yapılan bir çalışmada  $L_1=L_2$  olduğu zaman işitme kaybı durumunda DPOAE seviyeleri maksimum kayma göstermiştir. [36] Dış saçlı hücre kaybı ile DPOAE değişimleri korele olduğu için işitme kaybının incelendiği hayvan modellerinde bu test sık olarak kullanılmaktadır. DPOAE seviyesinde değişimler ile ABR eşikleri de tutarlıdır. Ancak DPOAE ölçümleri ile ABR eşikleri arasında farklılıklar olabilir. Çünkü DPOAE ölçümü primer olarak dış saçlı hücre fonksiyonunu yansıtırken, ABR periferik ve santral işitsel elementlerin bir kombinasyonunu yansıtır. DPOAE' daki değişimlerin dış saçlı hücre sterosilyalarındaki değişimler ile, DPOAE' ların yokluğunun ise dış saçlı hücre kaybı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. [36]

## 2.6. Metformin ve İşitme ile İlişkisi

Metformin tip 2 diyabet için başlangıç tedavisi olarak düşünülen, oldukça etkili, güvenli, kilo kontrolü sağlayan, hipoglisemi riski yaratmayan ve diyabet ile ilişkili komorbid hastalıkları ve ölümü önleyen bir ilaçtır. [37] Metforminin kan glukozunu azaltma etkisi 5' adenosin monofosfat-aktive protein kinaz/sirtuin1 (AMPK/Sirt1) yolağının aktivasyonuna bağlıdır. AMPK aktivasyonu sonrası ya mitokondriyal solunum zincir kompleksi 1 inhibe olur [38] ya da AMP-deaminaz inhibe olur. [39] Her iki mekanizma mitokondriyal enerji üretiminin inhibisyonu ile birlikte ya da inhibisyon olmadan selüler adenosin monofosfat (AMP) artımına ve AMPK aktivasyonuna neden olur. AMPK aktivasyonu ile nikotinamid adenosin dinükleotid (NAD<sup>+</sup>/NADH oranı) artarak Sirt aktivasyonuna neden olur. [40]

Yapılan araştırmalarda metforminin sadece antidiyabetik bir ilaç olmadığı aynı zamanda antioksidan, renoprotektif, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antikanser, IGF-1 sinyal regülatörü olduğu tespit edilmiştir. [41-43] Ayrıca kemoterapi kaynaklı nöropatiyi engellediği, sisplatin tedavisi sonrası oluşan intradermal sinir liflerinin azalmasını engellediği tespit edilmiştir. [44] Metforminin nöroprotektif etkisi ile ilgili bir diğer fare çalışmalarında; diyabet ile ilgili beyin nörodejenerasyonunu önlediği [45-46], etanolün neden olduğu nöronal apoptozu önlediği [47] gösterilmiştir. Metformin kan-beyin bariyerini kolayca geçer ve böylece santral nöronları direkt olarak aktive ettiği düşünülmektedir. [48] Ratlarda yapılan bir başka çalışmada; serebral iskemi ve sonrasında reperfüzyon oluşturulmuş, metforminin oksidatif stres göstergesi olan glutatyon peroksidaz (GSHP), süperoksit dismutaz (SOD) ve malondialdehit (MDA) seviyelerini azalttığı gösterilmiştir. [49]

Metforminin nöroprotektif etkisinden dolayı ototoksositeye karşı koruyucu etkisinin de olabileceği düşünülmüş ve bu alanda üç adet hücre kültürü çalışması ve iki adet hem hücre kültürü hem de hayvan çalışması yapılmıştır. Bu çalışmalardan birinde rat utrikulünden elde edilen hücre kültüründe gentamisin ile toksisite oluşturularak metforminin antioksidan etkisi değerlendirilmiş ve metforminin hücre içinde serbest oksijen radikallerini ve hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu azaltarak vestibulotoksositeyi azalttığı belirlenmiştir. [50] Auditory hair cell kültürü üzerinde yapılan bir başka çalışmada metforminin sisplatin toksisitesine karşı koruduğu, hücre

içi kalsiyum konsantrasyonunu azalttığı, apoptozisi önlediği ve serbest oksijen radikallerini sınırladığı tespit edilmiştir. [51] Oishi ve ark.'nın yaptığı çalışmada gentamisin toksisitesine karşı auditory hair cell kültüründe metforminin hücre içi kalsiyum ve serbest oksijen radikallerini modüle ederek apoptozu engellediği tespit edilmiştir. [52] Auditory hair cell kültürü ve hayvanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada radyasyon tarafından indüklenmiş toksisiteden metformin sonrası hair cell kültüründeki hücrelerin korunduğu, hayvanlarda ise ABR ile yapılan işitsel testlerde işitmenin daha az etkilendiği ancak farkın istatistiksel anlamlı olmadığı gösterilmiştir. [53] Auditory hair cell kültürü ve farelerde yapılan diğer bir çalışmada ise metforminin in vitro ototoksisiteyi koruduğu tespit edilmiş, ancak in vivo ABR ile yapılan ölçümlerde anlamlı eşik değişimi tespit edilmemiştir. [54]

Bu çalışmada ratlarda metforminin gürültüye bağlı işitme kaybına karşı koruyucu etkisi vardır hipotezini test etmek istedik. Bu hipotez AMPK aktivasyonunun sinir sistemi üzerinde direkt veya indirekt nöroprotektif etkisi olduğu, intraselüler serbest oksijen radikallerini azalttığı ve bu iki mekanizma ile gürültüye bağlı nörotoksisiteyi önleyeceği kavramı üzerine kurulmuştur. Literatürde metforminin ototoksisiteye karşı koruyucu etkisi hücre kültürlerinde tespit edilmesine rağmen in vivo iki hayvan çalışması vardır ve sonuçlar çelişkilidir. Bu nedenle bu çalışmada gürültü tarafından oluşturulmuş ototoksisiteye karşı metforminin koruyuculuğunun test edildiği invivo kontrollü deneysel bir hayvan çalışması planlanmıştır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından onaylanmıştır (Proje no: DA16/26, 11/04/2016 tarih ve 16/27 sayılı kararı ile) ve Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Odyoloji, Konuşma ve Ses Bozuklukları Yüksek Lisans Programı tezi olarak yapılmıştır. Çalışma Başkent Üniversitesi hayvan deneyleri laboratuvarında yürütülmüştür.

#### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada kullanılacak yeterli büyüklükteki örneklem genişliğini tespit etmek için güç analiz programı kullanılarak her bir grup için altışar rat olacak şekilde toplam 24 rat kullanılması planlandı. Sağlıklı, 11 aylık, ortalama ağırlığı 380-450 gr arasında olan Sprague Dawley cinsi erkek ratlar çalışmaya dahil edildi.

Ratlar; 12 saat aydınlık 12 saat karanlıkta, 25 °C sıcaklıkta serbest yemek ve su alabildikleri ve arka plan gürültü seviyesinin 50 dB'in altında olduğu bir ortamda barındırıldı.

Tüm ratlara genel anestezi altında otoskopik muayene yapıldı, dış kulak yolundaki debris ve buşonlar temizlendi ve normal timpanik membran görüntüsü sağlandı. Hiçbir hayvanda orta kulak patolojisi veya timpanik membran patolojisi saptanmadı.

Çalışmaya dahil edilen 24 rat altışar rattan oluşan dört gruba ayrıldı:

1. Grup: Gürültü grubu (n=6), sadece gürültü maruziyeti olan grup
2. Grup: Metformin grubu (n=6), sadece metformin tedavisi alan grup
3. Grup: Gürültü + metformin grubu (n=6), hem gürültü maruziyeti olan hem de metformin tedavisi alan grup
4. Grup: Kontrol grubu (n=6), gürültü maruziyeti olmayan ve metformin tedavisi almayan grup

### 3.2.Çalışma Prosedürü

Ketamin HCL (Ketalar Ampul, Pfizer, İstanbul) 60 mg/kg intraperitoneal ve xylazanine HCl (Rhompun Ampul, Bayer, İstanbul) 6 mg/kg intraperitoneal verilerek anestezi uygulandıktan sonra tüm ratların DPOAE (Distortion Product Otoakustik Emisyon) ve ABR (Auditory Brainstem Response) uygulamaları yapıldı ve işitmelerinin bazal değerleri belirlendi. Metformin grubu (2. grup) ve metformin + gürültü grubu (3. grup) 10 gün boyunca gavaj yolu ile günde tek doz salin içinde çözülmüş 300 mg/kg metformin (Glucophage®) tedavisi aldı ve ağırlıkları günlük takip edildi. 11. gün gürültü grubu (1. grup) ve metformin + gürültü grubuna (3. grup) 15 saat süreyle 105 dB SPL şiddetinde beyaz gürültü hopörlör mesafesi eşit olacak şekilde serbest alan hopörleri ile odyometri kabini (İnteracoustic AC 40 Odyometre cihazı ile) verildi. Gürültü maruziyeti sonrası 1., 7. ve 21. gün tüm gruplardaki ratların DPOAE ve ABR ölçümleri tekrarlandı. Metformin tedavisi alan 2. ve 3. gruptaki ratlar çalışma bitimine kadar toplam 31 gün boyunca metformin tedavisi almaya devam etti.

Günlük tartımı yapılan hayvanların kilo kaybı olmadı. Metformin tedavisi hayvanlar tarafından iyi tolere edildi.

### 3.3. İşitme Değerlendirmesi

Ratların işitme değerlendirilmesi için DPOAE ve ABR ölçümleri yapıldı.

#### 3.3.1. DPOAE ölçümü

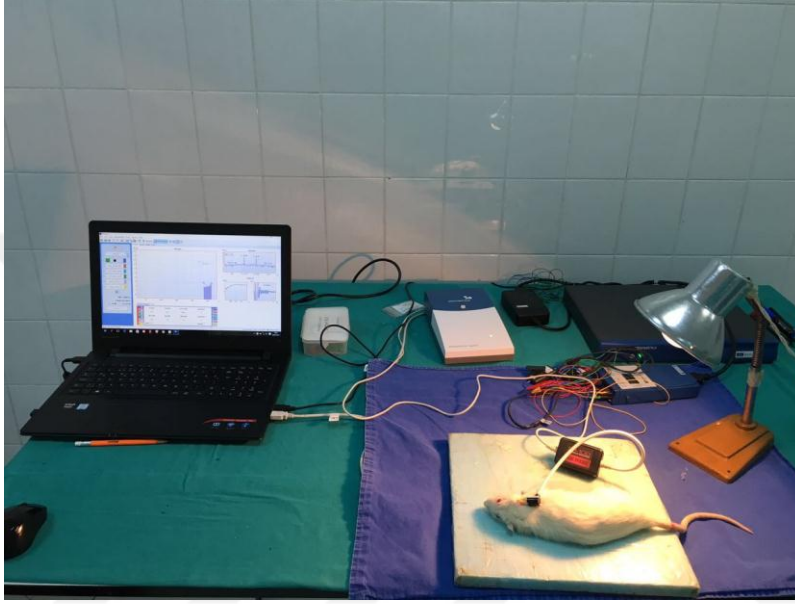
Bu çalışmada Madsen Capella (OTOSuite Otoakustik Emisyonlar modülü Capella) cihazı ile DPOAE ölçümü yapıldı. Cihazın probunun (ER-10D OAE Probu) ucuna dış kulak yolunu kapayacak timpanometri kauçuk probu takılarak ölçüm yapıldı. (Şekil 3.1) Cihazın monitöründe prob göstergesinin ve dalga formunun uygun konfigürasyonda olduğu görülerek ölçüme başlandı. Ölçümler gürültü düzeyinin 50 dB' i geçmediği bir odada yapıldı. (Şekil 3.1)

500 Hz – 10.000 Hz aralığında DP gram ölçümü alındı. DPOAE' de uyaran parametreleri; f2 ve f1 frekansları arasındaki oran (f2/f1) 1.22, uyaran şiddeti L1=55



ve L2=55 olacak şekilde ayarlandı. Her oktav için dört frekans ölçümü yapılarak DP gram kaydedildi. Altı frekans noktası örneklendi: 1191 Hz, 2001 Hz, 3359 Hz, 4755 Hz, 6728 Hz ve 9511 Hz frekanslarında DPOAE amplitüt ve sinyal-gürültü oranı (SNR) değerleri kaydedildi.

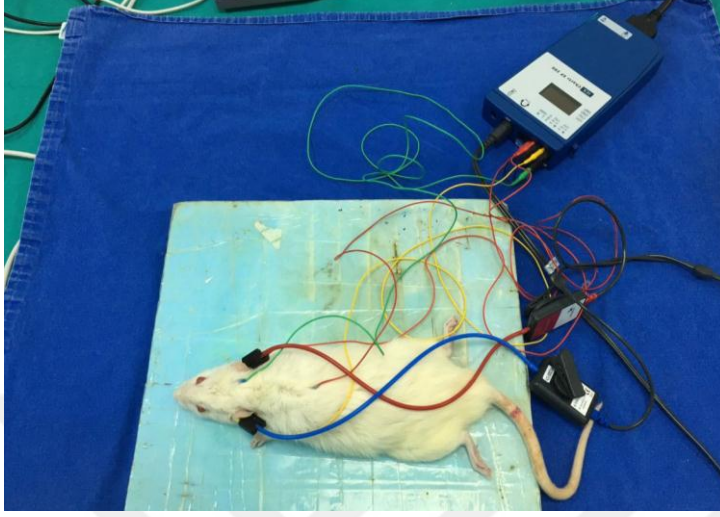
### Şekil 3.1. Ratlarda DPOAE ölçümü



### 3.3.2. ABR ölçümü

Bu çalışmada ABR ölçümleri için ICS Chartr EP 200 cihazı kullanıldı. Ölçümler gürültü düzeyinin 50 dB'i geçmediği bir odada yapıldı. ABR yanıtları subdermal yerleştirilen iğne elektrotlarla kaydedildi. Aktif elektrot vertekse, referans elektrotlar bilateral kulak ventrolateraline ve toprak elektrot sırt bölgesine yerleştirildi. Stimulus klik uyararı olacak şekilde rarefaction polaritedeinsert kulaklıklar aracılığıyla verildi. Filtre 100-3000 Hz; tekrar oranı 21,1/sn; zaman penceresi 15 msn, ortalama 2000 yanıt ile yapıldı. Ölçüm öncesinde elektrotların impedansının 0 ile 3 kOhm arasında olduğu kontrol edildi. İnsert kulaklıklar ölçüm sırasında bilateral yerleştirildi. Böylece ölçüm yapılmayan kulak oklude edilerek kontralateral kulağın yüksek ses şiddetlerinde binaural stimülasyonu önlendi. (Şekil 3.2)

**Şekil 3.2.** Ratlarda ABR ölçümü



Eşik düzeyi, gözle saptanabilen, tekrarlanabilirliği olan en düşük şiddet seviyesi olarak tanımlandı. Uyarıcı, 80 dB HL düzeyinde verilmeye başlandı ve şiddet düzeyi eşiğe yaklaşıncaya kadar 20 dB' lik adımlarla azaltıldı. Eşige yaklaşıncaya 10 dB'lik şiddet artışları ile eşik saptandı. Dalganın güvenilirliği açısından her ölçüm için en az iki trase oluşturuldu. ABR eşiği, ABR' nin II. dalgasının gözlenebildiği en düşük şiddet seviyesi olarak tanımlandı. Latans ölçümü için en belirgin dalga olan II. dalga belirlendi ve II. dalganın latansları her bir ölçüm için 80 dB HL şiddetinde ölçüldü.

### **3.4. İstatistiksel Analiz**

Veriler SPSS versiyon 15 paket programı (Statistical Package for Social Sciences v.15, IBM, Chicago, IL) ile analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile, varyansların homojenliği Levene testi ile kontrol edildi. ABR latanslarının grup içinde, dört ölçüm arasında fark olup olmadığının analizi için normal dağılıma uyduğu ve varyansları homojen olduğu için parametrik testlerden tekrarlayan ölçümler analizi kullanıldı. ABR eşik değerleri, DPOAE amplitüt ve SNR değerleri normal dağılıma uymadığı için nonparametrik testlerden

gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi ve grup içi ölçümlerinin karşılaştırmasında Friedman testi kullanıldı. Kruskal Wallis testi kullanılarak yapılan analizlerde gruplar arası fark anlamlı bulunduğunda hangi grubun birbirinden farklı olduğunun gösterilmesi için ikişerli Mann Whitney U testi kullanılarak p değerine Bonferroni düzeltmesi uygulanarak değerlendirildi. Friedman testi kullanılarak yapılan analizlerde grup içi ölçümler arasında fark anlamlı bulunduğunda hangi ölçümlerin birbirinden farklı olduğunun gösterilmesi için ikişerli Wilcoxon testi kullanılarak p değerine Bonferroni düzeltmesi uygulanarak değerlendirildi. Her bir gruptaki altı ratın toplam 12 kulağı istatistiksel analize dahil edildi. Tanımlayıcı istatistikler için parametrik testlerde mean, standart deviasyon, nonparametrik testlerde ise mean, standart deviasyon, median ve 25. ve 75. eyrek değerleri verildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. ABR Sonuçları

#### 4.1.1. ABR eşik değerleri

ABR eşik değerlerinin tanımlayıcı istatistiği Tablo 4.1' de gösterilmiştir.

Çalışma başlangıcında yapılan bazal işitmenin değerlendirildiği ABR ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. (p=0,691)

Gürültü maruziyetinden sonra 1., 7. ve 21. gün ABR ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.1)

Gürültü maruziyetinden sonra 1. gün ABR ölçümlerinde Grup 1-2, Grup 1-4, Grup 2-3 ve Grup 3-4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.1)

Gürültü maruziyetinden sonra 7.günde ABR ölçümlerinde Grup 1-2, Grup 1-3 ve Grup 1-4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.1)

Gürültü maruziyetinden sonra 21. günde ABR ölçümlerinde Grup 1-2, Grup 1-3 ve Grup 1-4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.1)

**Gürültü grubunda (Grup 1)** ratların bazal, gürültü maruziyetinden sonra 1., 7., 21. gün ABR ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (p=0,00)

Bazal ölçüm değerleri ile gürültü maruziyeti sonrası yapılan tüm ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.1)

Gürültü maruziyetinden sonra yapılan ölçümler kendi arasında karşılaştırıldığında sadece 1. gün ile 21. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.1)

**Metformin grubunda (Grup 2)** ratların bazal, gürültü maruziyetinden sonra 1., 7., 21. gün ABR ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. ( $p=0,219$ )

**Gürültü+metformin grubunda (Grup 3)** ratların bazal, gürültü maruziyetinden sonra 1., 7., 21. gün ABR ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. ( $p=0,00$ )

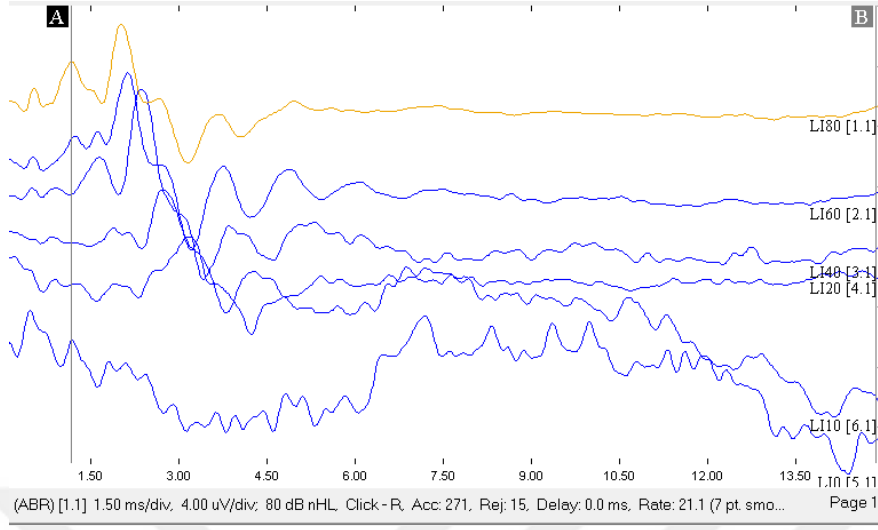
Bu grupta bazal ölçüm ile gürültü maruziyetinin 1. gününde yapılan ölçüm arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. ( $p=0,002$ )

Bazal ölçüm ile gürültü maruziyetinin 7. ve 21. gününde yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. (Tablo 4.1)

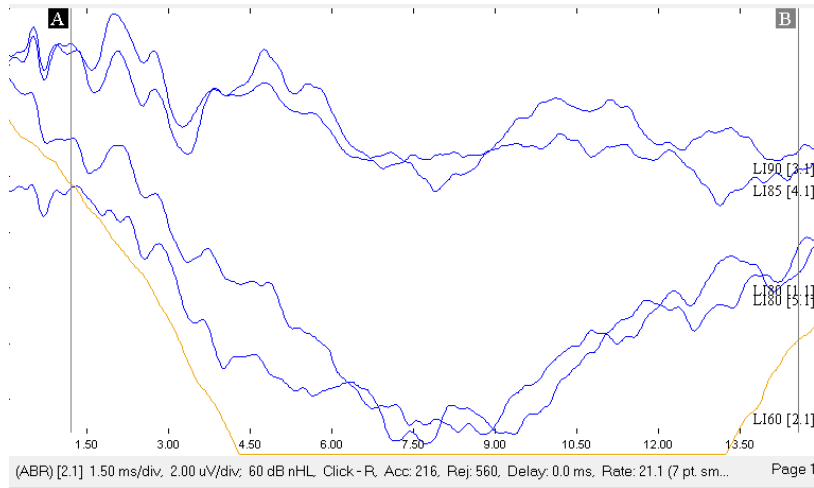
Gürültü maruziyetinin 1. günü ile 7. ve 21. gününde yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.1)

**Kontrol grubunda (Grup 4)** ratların bazal, gürültü maruziyetinden sonra 1., 7., 21. gün ABR ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. ( $p=0,207$ )

**Şekil 4.1.** Bir ratın bazal ölçüm örneği (10 dB HL eşik)



**Şekil 4.2.** Gürültü grubunda bir ratın gürültü maruziyeti sonrası 1. gün ölçümü (80 dB HL eşik)



**Tablo 4.1.** ABR eşik ölçümlerinin gruplara ve bazal, gürültü sonrası 1., 7., 21. günlerdeki ölçümlere göre karşılaştırması

Gruplar	ABR eşik ölçümü				p***	p****
	Pre	Post 1.gün	Post 7.gün	Post 21.gün		
Gürültü grubu n=12 Mean±SD (median) 1.ve 3. çeyrek	5±6,74 (0) 0-10	35±17,83 (30) 20-40	23,3±13,7 (20) 10-37,5	22,5±14,2 (20) 10-30	<b>00,00</b>	Pre-post1 <b>0,002</b> Pre-post7 <b>0,005</b> Pre-post21 <b>0,005</b> Post1-7 0,11 Post1-21 <b>0,006</b> Post7-21 0,655
Metformin grubu n=12 Mean±SD (median) 1.ve 3. Çeyrek	4,16±5,14 (0) 0-10	8,3±5,77 (10) 2,5-10	8,3±6,68 (5) 0-10	5±7,97 (0) 0-10		00,21 9
Gürültü+metformin grubu n=12 Mean±SD (median) 1.ve 3. çeyrek	3,3±4,92 (0) 0-10	28,3±7,17 (30) 20-30	10±8,52 (10) 2,5-10	9,16±7,92 (10) 0-17,5	<b>0,00</b>	Pre-post1 <b>0,002</b> Pre-post7 0,023 Pre-post21 0,053 Post1-7 <b>0,002</b> Post1-21 <b>0,001</b> Post7-21 0,564
Kontrol grubu n=12 Mean±SD (median) 1.ve 3. Çeyrek	5,83±5,14 (10) 0-10	9,16±6,68 (10) 2,5-10	7,5±4,52 (10) 2,5-10	6,66±4,92 (10) 0-10		00,20 7
p*	0,69	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>		
p**		Grup1-2 <b>0,00</b> Grup1-3 0,54 Grup1-4 <b>0,00</b> Grup2-3 <b>0,00</b> Grup2-4 0,763 Grup3-4 <b>0,00</b>	Grup1-2 <b>0,001</b> Grup1-3 <b>0,008</b> Grup1-4 <b>0,001</b> Grup2-3 0,203 Grup2-4 0,368 Grup3-4 0,531	Grup1-2 <b>0,001</b> Grup1-3 <b>0,008</b> Grup1-4 <b>0,001</b> Grup2-3 0,166 Grup2-4 0,303 Grup3-4 0,440		

\* Grup karşılaştırmaları Kruskal Wallis testi ile yapıldı (istatistiksel anlamlılık p<0,05)

p\*\* Gruplarası farklar için Mann-Whitney U testi kullanıldı (anlamlılık seviyesi için Bonferroni düzeltmesi ile p<0,0083 alındı)

p\*\*\* Grup içi karşılaştırmaları Friedman testi ile yapıldı (istatistiksel anlamlılık p<0,05)

p\*\*\*\* Grup içi ölçümlerinin birbirleriyle karşılaştırması için Wilcoxon testi uygulandı (anlamlılık seviyesi için Bonferroni düzeltmesi ile p<0,0083 alındı)

#### 4.1.2. ABR latans değerleri

Gruplar arasında bazal, gürültü maruziyetinin 1., 7., 21. gününde elde edilen latans değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. (Tablo 4.2)

Her bir grup içinde bazal, gürültü maruziyetinin 1., 7., 21. gününde elde edilen latans değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. (Tablo 4.2)

**Tablo 4.2.** ABR II. dalganın latans ölçümlerinin gruplara ve bazal, gürültü sonrası 1., 7., 21. günlerdeki ölçümlere göre karşılaştırması

Gruplar	ABR latans ölçümü				p**
	Pre	Post 1.gün	Post 7.gün	Post 21.gün	
Gürültü grubu mean ±SD	1,183±0,07	1,180±0,07	1,177±0,08	1,195±0,07	0,743
Metformin grubu mean ±SD	1,238±0,10	1,200±0,04	1,228±0,05	1,258±0,07	0,274
Gürültü+metformin grubu mean ± SD	1,182±0,08	1,163±0,08	1,177±0,09	1,197±0,064	0,681
Kontrol grubu mean ±SD	1,171±0,88	1,200±,09	1,215±0,08	1,209±0,07	0,260
p*	0,259	0,615	0,301	0,116	

p\* One Way ANOVA testi

p\*\* Tekrarlayan ölçümler analizi testi



## 4.2. DPOAE Değerleri

### 4.2.1. DPOAE amplitüt değerleri

DPOAE amplitüt değerlerinin gruplara ve frekanslara göre dağılımı Tablo 4.3' de gösterilmiştir.

**Gürültü grubunda (Grup 1)** DPOAE ölçümünün yapıldığı her bir frekans için (1191 Hz, 2001 Hz, 3359 Hz, 4155 Hz, 6728 Hz, 9511 Hz) bazal, gürültü maruziyetinin 1., 7., 21. günlerinde yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.3)

Gürültü grubunda 1191 Hz, 3359 Hz, 4155 Hz, 6728 Hz, 9511 Hz frekanslarında yapılan ölçümlerde bazal ve gürültü maruziyetinden sonra yapılan tüm ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.4)

Gürültü grubunda 1191 Hz, 3359 Hz, 4155 Hz, 6728 Hz, 9511 Hz' de gürültü maruziyeti sonrası yapılan üç ölçüm arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. (Tablo 4.4)

Gürültü grubunda 2001 Hz' de yapılan ölçümlerde sadece bazal ve gürültü maruziyetinin 1. gününde yapılan ölçüm arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Diğer günlerde yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. (Tablo 4.4)

**Metformin grubunda (Grup 2)** DPOAE ölçümünün yapıldığı her bir frekans için (1191 Hz, 2001 Hz, 3359 Hz, 4155 Hz, 6728 Hz, 9511 Hz) bazal, gürültü maruziyetinin 1., 7., 21. günlerinde yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. (Tablo 4.3)

**Gürültü+metformin grubunda (Grup 3)** DPOAE ölçümünün yapıldığı 1191 Hz, 4155 Hz, 6728 Hz, 9511 Hz frekanslarında bazal, gürültü maruziyetinin 1., 7., 21. günlerinde yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.3)

Gürültü+metformin grubunda 2001 Hz, 3359 Hz frekanslarında bazal, gürültü maruziyetinin 1., 7., 21. günlerinde yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. (Tablo 4.3)

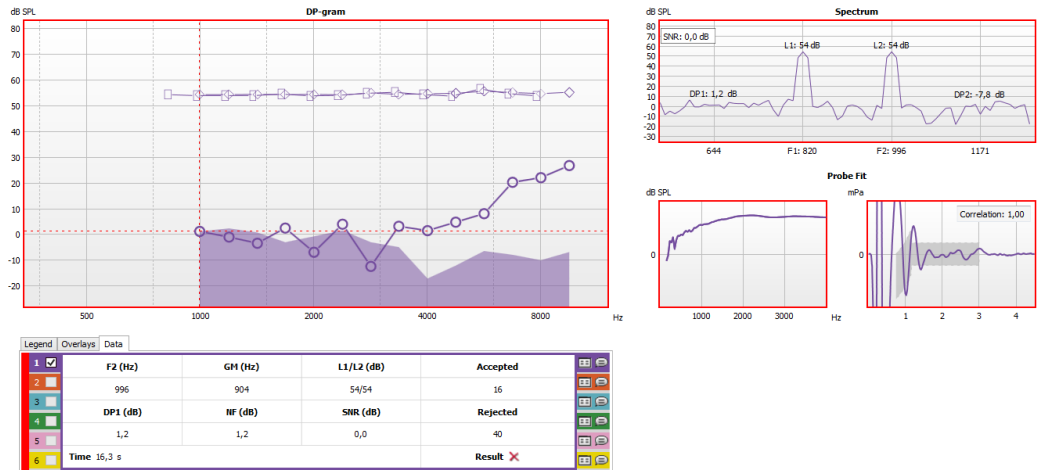
Gürültü+metformin grubunda 1191 Hz, 4155 Hz, 6728 Hz, 9511 Hz frekanslarında bazal ve gürültü maruziyetinin 1.günlerinde yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.4)

Gürültü+metformin grubunda 1191 Hz, 4155 Hz frekanslarında bazal, gürültü maruziyetinin 7. günlerinde yapılan ölçümler arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.4)

Gürültü+metformin grubunda 6728 Hz' de gürültü maruziyetinin 1. günü ile gürültü maruziyetinin 7 ve 21. günlerinde yapılan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.4)

**Kontrol grubunda (Grup 4)** DPOAE ölçümünün yapıldığı her bir frekans için (1191 Hz, 2001 Hz, 3359 Hz, 4155 Hz, 6728 Hz, 9511 Hz) bazal, gürültü maruziyetinin 1., 7., 21. günlerinde yapılan ölçümler arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır. (Tablo 4.3)

**Şekil 4.3.** DPOAE ölçüm örneği



**Tablo 4.3.** DPOAE amplitüt ölçümlerinin gruplarda frekanslara ve bazal, gürültü sonrası 1., 7., 21. günlerdeki ölçümlere göre karşılaştırması

Ölçüm değerleri	Gürültü grubu	Metformin grubu	Gürültü + metformin grubu	Kontrol grubu
Pre Ölçüm değerleri				
1191 Hz Amplitüt (dB)	8,14±2,53 (7,9)	10,3±4,96 (10,6)	10,65±6,63 (8,75)	7,85±3,54 (7,8)
2001 Hz Amplitüt (dB)	3,3±11,79 (3,3)	5,48±1,15 (4,85)	5,09±6,7 (5,05)	3,64±2,47 (2,9)
3359 Hz Amplitüt (dB)	5,46±1,58 (6,0)	4,77±2,40 (4,4)	5,20±3,05 (4,05)	4,55±1,48 (4,4)
4755 Hz Amplitüt (dB)	11,45±5,06 (11,85)	11,43±6,47 (9,45)	12,35±6,56 (10,6)	10,26±5,38 (11,4)
6728 Hz Amplitüt (dB)	12,71 ±8,1 (12,05)	11,83±5,93 (11,25)	13,04±6,56 (10,6)	9,65±6,77 (7,25)
9511 Hz Amplitüt (dB)	12,87±8,2 (12,5)	12,1±5,31 (13,9)	12,5±3,39 (13,05)	11,03±7,05 (11,0)
Post 1 Ölçüm değerleri				
1191 Hz Amplitüt (dB)	-11,15±9,38 (-11,0)	7,62±5,63 (5,2)	-6,2±10,97 (-4,25)	9,16±8,21 (7,95)
2001 Hz Amplitüt (dB)	-9,93±9,93 (-11,9)	6,99±3,21 (6,55)	-5,93±8,61 (-5,8)	5,74±4,41 (4,85)
3359 Hz Amplitüt (dB)	-12,6±6,84 (-11,3)	4,78±1,14 (5,0)	-6,01±9,06 (-6,4)	5,64 ±6,41 (6,65)
4755 Hz Amplitüt (dB)	-9,3±7,26 (-9,6)	7,2±4,87 (6,8)	-6,10±8,18 (-5,5)	11,67±6,33 (12,0)
6728 Hz Amplitüt (dB)	-10,05±6,49 (-11,1)	8,42±2,89 (8,65)	-5,78±7,2 (-7,9)	8,7±7,24 (8,1)
9511 Hz Amplitüt (dB)	-7,37±11,4 (-8,45)	10,09±2,99 (9,9)	0,48±5,83 (0,00)	13,04±6,0 (14,2)
Post 7 Ölçüm değerleri				
1191 Hz Amplitüt (dB)	-7,97±4,62 (-8,9)	7,56±6,08 (7,2)	1,08±11,25 (3,75)	9,53±8,27 (8,55)
2001 Hz Amplitüt (dB)	-7,43±13,6 (-9,15)	7,65±3,98 (6,55)	2,00±8,54 (4,90)	4,38±3,17 (5,0)
3359 Hz Amplitüt (dB)	-9,25±9,9 (-9,5)	8,5±3,72 (7,3)	0,05±9,19 (2,35)	5,48±6,47 (6,95)
4755 Hz Amplitüt (dB)	-6,24±9,9 (-8,7)	6,33±2,06 (6,2)	-0,70±9,97 (3,3)	10,89±5,87 (12,8)
6728 Hz Amplitüt (dB)	-7,18±9,5 (-7,9)	7,95±4,86 (6,45)	7,34±5,42 (5,35)	9,13±8,6 (7,0)
9511 Hz Amplitüt (dB)	-7,49±14,03 (-10,4)	9,64±6,16 (6,75)	8,71±7,13 (7,7)	13,6±6,41 (14,4)
Post 21 Ölçüm değerleri				
1191 Hz Amplitüt (dB)	-3,53±11,18 (-4,75)	7,67±5,87 (9,95)	2,74±7,79 (4,15)	7,7±5,03 (8,3)
2001 Hz Amplitüt (dB)	-3,15±9,09 (-6,45)	7,6±5,77 (5,6)	-0,28±11,92 (4,40)	5,44±7,45 (4,25)
3359 Hz Amplitüt (dB)	-6,3±8,21 (-6,1)	7,51±3,9 (6,4)	-0,85±8,98 (3,50)	5,02±4,05 (5,55)
4755 Hz Amplitüt (dB)	-9,3±7,9 (-11,65)	6,63±3,71 (5,05)	-1,12±11,39 (2,65)	6,63±6,06 (8,15)
6728 Hz Amplitüt (dB)	-6,02±12,37 (-7,55)	7,37±5,1 (5,65)	6,48±3,14 (6,15)	9,51±5,68 (8,8)
9511 Hz Amplitüt (dB)	-6,98±11,2 (-8,15)	10,27±5,8 (8,2)	9,76±5,98 (7,45)	10,15±8,53 (10,95)
P*				
1191 Hz Amplitüt (dB)	<b>0,00</b>	0,441	<b>0,00</b>	0,749
2001 Hz Amplitüt (dB)	<b>0,048</b>	0,637	0,075	0,291
3359 Hz Amplitüt (dB)	<b>0,00</b>	0,122	0,082	0,287
4755 Hz Amplitüt (dB)	<b>0,001</b>	0,082	<b>0,00</b>	0,066
6728 Hz Amplitüt (dB)	<b>0,00</b>	0,212	<b>0,00</b>	0,801
9511 Hz Amplitüt (dB)	<b>0,00</b>	0,685	<b>0,006</b>	0,231

p\* Friedman testi

**Tablo 4.4.** DPOAE amplitüt ölçümleri arasında istatistiksel anlamlı fark olan ölçümlerin ikili fark karşılaştırması

Gruplar	p* değerleri					
	Pre-post1	Pre-post7	Pre-post21	Post1-7	Post1-21	Post7-21
<b>Gürültü grubu</b>						
1191 Hz amp	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	<b>0,008</b>	0,272	0,099	0,209
2001 Hz amp	<b>0,008</b>	0,041	0,060	0,530	0,060	0,347
3359 Hz amp	<b>0,002</b>	<b>0,004</b>	<b>0,002</b>	0,456	0,055	0,272
4755 Hz amp	<b>0,003</b>	<b>0,005</b>	<b>0,003</b>	0,308	0,638	0,158
6728 Hz amp	<b>0,002</b>	<b>0,003</b>	<b>0,002</b>	0,530	0,583	0,937
9511 Hz amp	<b>0,002</b>	<b>0,004</b>	<b>0,003</b>	0,875	0,594	0,638
<b>Metformin grubu</b>						
1191 Hz amp						
2001 Hz amp						
3359 Hz amp						
4755 Hz amp						
6728 Hz amp						
9511 Hz amp						
<b>Gürültü+metformin grubu</b>						
1191 Hz amp	<b>0,003</b>	<b>0,002</b>	0,100	0,158	0,028	0,695
2001 Hz amp	-	-	-	-	-	-
3359 Hz amp	-	-	-	-	-	-
4755 Hz amp	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	0,015	0,084	0,289	0,937
6728 Hz amp	<b>0,002</b>	0,028	0,010	<b>0,003</b>	<b>0,003</b>	0,695
9511 Hz amp	<b>0,003</b>	0,209	0,050	0,028	0,010	0,583
<b>Kontrol grubu</b>						
1191 Hz amp						
2001 Hz amp						
3359 Hz amp						
4755 Hz amp						
6728 Hz amp						
9511 Hz amp						

p\* Grup içi ölçümlerinin birbirleriyle karşılaştırması için Wilcoxon testi uygulandı (anlamlılık seviyesi için Bonferroni düzeltmesi ile  $p < 0,0083$  alındı)

#### 4.2.2.DPOAE SNR değerleri

**Gürültü grubunda (Grup 1)** DPOAE ölçümünün yapıldığı her bir frekans için (1191 Hz, 2001 Hz, 3359 Hz, 4155 Hz, 6728 Hz, 9511 Hz) bazal, gürültü maruziyetinin 1.,7.,21. günlerinde yapılan DPOAE SNR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.5)

Gürültü grubunda tüm frekanslarda (1191 Hz, 2001 Hz, 3359 Hz, 4155 Hz, 6728 Hz, 9511 Hz) bazal ve gürültü maruziyetinin 1. günlerinde yapılan DPOAE SNR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.6)

Gürültü grubunda 1191 Hz, 3359 Hz, 4155 Hz, 6728 Hz, 9511 Hz frekanslarında bazal ve gürültü maruziyetinin 7. günlerinde yapılan DPOAE SNR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.6)

Gürültü grubunda 2001 Hz, 4155 Hz, 6728 Hz, 9511 Hz frekanslarında bazal ve gürültü maruziyetinin 21. günlerinde yapılan DPOAE SNR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.6)

**Metformin grubunda (Grup 2)** DPOAE ölçümünün yapıldığı her bir frekans için (1191 Hz, 2001 Hz, 3359 Hz, 4155 Hz, 6728 Hz, 9511 Hz) bazal, gürültü maruziyetinin 1., 7., 21. günlerinde yapılan DPOAE SNR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. (Tablo 4.5)

**Gürültü+metformin grubunda (Grup 3)** DPOAE ölçümünün yapıldığı her bir frekans için (1191 Hz, 2001 Hz, 3359 Hz, 4155 Hz, 6728 Hz, 9511 Hz) bazal, gürültü maruziyetinin 1., 7., 21. günlerinde yapılan DPOAE SNR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.5)

Gürültü+metformin grubunda tüm frekanslarda (1191 Hz, 2001 Hz, 3359 Hz, 4155 Hz, 6728 Hz, 9511 Hz) bazal ve gürültü maruziyetinin 1. günlerinde yapılan DPOAE SNR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.6)

Gürültü+metformin grubunda 6728 Hz' de gürültü maruziyetinin 1. günü ile gürültü maruziyetinin 7. ve 21. günlerinde elde edilen DPOAE SNR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.6)

Gürültü+metformin grubunda 9511 Hz' de gürültü maruziyetinin 7. günü ile gürültü maruziyetinin 21. günlerinde elde edilen DPOAE SNR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (Tablo 4.6)

**Kontrol grubunda (Grup 4)** DPOAE ölçümünün yapıldığı her bir frekans için (1191 Hz, 2001 Hz, 3359 Hz, 4155 Hz, 6728 Hz, 9511 Hz) bazal, gürültü maruziyetinin 1., 7., 21. günlerinde yapılan DPOAE SNR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. (Tablo 4.5)

**Tablo 4.5.** DPOAE SNR ölçümlerinin gruplarda frekanslara ve bazal, gürültü sonrası 1., 7., 21. günlerdeki ölçümlere göre karşılaştırması

Ölçüm değerleri	Gürültü grubu	Metformin grubu	Gürültü + metformin grubu	Kontrol grubu
Pre Ölçüm değerleri				
1191 Hz SNR	4,85±2,66 (4,85)	6,2±1,67 (6,5)	6,67±2,17 (6,6)	5,26±4,07 (3,25)
2001 Hz SNR	4,5±2,95 (5,2)	5,38±1,94 (4,7)	5,97±1,76 (6,5)	5,75±2,18 (6,5)
3359 Hz SNR	4,38±2,03 (5,4)	5,67±1,67 (6,05)	6,13±1,89 (6,35)	5,14±1,82 (5,2)
4755 Hz SNR	8,01±4,53 (7,35)	9,9±4,46 (8,9)	10,46±7,88 (8,05)	7,84±3,97 (7,1)
6728 Hz SNR	10,86 ±8,81 (8,85)	12,45±6,09 (11,5)	13,32±10,52 (7,95)	12,15±9,46 (10,15)
9511 Hz SNR	16,86±8,6 (14,85)	15,12±6,88 (15,95)	15,36±9,4 (11,15)	13,77±8,77 (10,45)
Post 1 Ölçüm değerleri				
1191 Hz SNR	-5,55±7,74 (-6,1)	6,49±2,94 (6,95)	-6,2±11,85 (-1,5)	8,8±5,19 (9,40)
2001 Hz SNR	-8,62±8,53 (-9,45)	5,5±1,91 (5,4)	-7,25±8,83 (-4,65)	6,14±2,85 (5,20)
3359 Hz SNR	-10,15±5,66 (-19,9)	5,3±2,56 (5,05)	-5,05±6,23 (-3,4)	6,47 ±2,75 (6,40)
4755 Hz SNR	-7,7±9,13 (-9,9)	7,33±2,98 (7,05)	-6,53±7,79 (-6,15)	10,39±4,77 (9,35)
6728 Hz SNR	-11,05±8,06 (-9,25)	9,29±5,16 (8,1)	-6,89±7,99 (-5,1)	9,79±7,79 (7,4)
9511 Hz SNR	-10,1±13,07 (-10,3)	10,1±3,7 (9,35)	0,91±4,92 (1,25)	14,19±5,45 (13,15)
Post 7 Ölçüm değerleri				
1191 Hz SNR	-9,05±8,60 (-8,0)	6,66±1,85 (6,45)	2,34±5,97 (3,2)	8,26±5,66 (9,8)
2001 Hz SNR	-7,99±10,74 (-11,3)	7,55±3,91 (6,5)	0,42±7,34 (3,2)	5,6±2,22 (5,85)
3359 Hz SNR	-7,28±7,51 (-6,9)	7,79±4,58 (8,65)	-0,2±10,59 (4,1)	6,34±3,36 (6,0)
4755 Hz SNR	-6,53±11,55 (-11,1)	7,21±5,09 (5,3)	0,54±13,14 (4,05)	10,58±5,51 (8,5)
6728 Hz SNR	-10,91±6,25 (-9,8)	7,71±7,98 (5,6)	6,4±6,98 (7,3)	9,22±7,94 (8,3)
9511 Hz SNR	-12,3±10,96 (-14,0)	9,2±6,99 (8,1)	5,56±9,4 (5,75)	13,09±6,93 (14,75)
Post 21 Ölçüm değerleri				
1191 Hz SNR	-5,42±9,78 (-6,2)	7,22±2,96 (6,45)	2,86±6,36 (3,9)	6,14±6,16 (5,4)
2001 Hz SNR	-5,07±8,95 (-5,65)	6,75±3,83 (6,35)	-0,95±9,33 (-1,25)	3,75±4,29 (5,05)
3359 Hz SNR	-6,65±11,14 (-5,1)	8,75±7,24 (6,3)	-0,1±10,33 (3,40)	4,51±4,09 (6,60)
4755 Hz SNR	-7,75±10,8 (-5,7)	7,28±2,95 (7,05)	-0,01±7,91 (-0,6)	6,2±4,82 (7,20)
6728 Hz SNR	-12,3±12,5 (-13,0)	7,58±5,05 (6,1)	9,25±7,1 (7,05)	8,77±5,93 (8,15)
9511 Hz SNR	-9,99±12,1 (-10,65)	9,53±7,09 (8,15)	12,62±11,11 (9,2)	10,53±7,88 (8,75)
p*				
1191 Hz SNR	<b>0,011</b>	0,978	<b>0,00</b>	0,348
2001 Hz SNR	<b>0,013</b>	0,557	<b>0,008</b>	0,419
3359 Hz SNR	<b>0,001</b>	0,098	<b>0,009</b>	0,662
4755 Hz SNR	<b>0,001</b>	0,076	<b>0,001</b>	0,195
6728 Hz SNR	<b>0,00</b>	0,081	<b>0,00</b>	0,585
9511 Hz SNR	<b>0,00</b>	0,069	<b>0,00</b>	0,369

p\* Friedman testi

**Tablo 4.6.** DPOAE SNR ölçümleri arasında istatistiksel anlamlı fark olan ölçümlerin ikili fark karşılaştırması

Gruplar	p* değerleri					
	Pre-post1	Pre-post7	Pre-post21	Post1-7	Post1-21	Post7-21
Gürültü grubu						
1191 Hz SNR	<b>0,005</b>	<b>0,003</b>	0,012	0,272	0,480	0,209
2001 Hz SNR	<b>0,002</b>	0,023	<b>0,006</b>	0,875	0,209	0,638
3359 Hz SNR	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	0,013	0,308	0,286	0,814
4755 Hz SNR	<b>0,002</b>	<b>0,004</b>	<b>0,003</b>	0,906	0,906	0,875
6728 Hz SNR	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	<b>0,003</b>	0,875	0,929	0,583
9511 Hz SNR	<b>0,002</b>	<b>0,003</b>	<b>0,004</b>	0,814	0,754	0,346
Metformin grubu						
1191 Hz SNR						
2001 Hz SNR						
3359 Hz SNR						
4755 Hz SNR						
6728 Hz SNR						
9511 Hz SNR						
Gürültü+metformin grubu						
1191 Hz SNR	<b>0,002</b>	0,034	0,126	0,019	0,015	0,784
2001 Hz SNR	<b>0,002</b>	0,028	0,041	0,060	0,117	0,695
3359 Hz SNR	<b>0,002</b>	0,117	0,099	0,092	0,117	0,937
4755 Hz SNR	<b>0,002</b>	0,041	0,010	0,012	0,182	0,754
6728 Hz SNR	<b>0,002</b>	0,239	0,580	<b>0,008</b>	<b>0,002</b>	0,583
9511 Hz SNR	<b>0,002</b>	0,060	0,433	0,050	<b>0,002</b>	0,084
Kontrol grubu						
1191 Hz SNR						
2001 Hz SNR						
3359 Hz SNR						
4755 Hz SNR						
6728 Hz SNR						
9511 Hz SNR						

p\* Grup içi ölçümlerinin birbirleriyle karşılaştırması için Wilcoxon testi uygulandı. (anlamlılık seviyesi için Bonferroni düzeltmesi ile  $p < 0,0083$  alındı)



## 5. TARTIŞMA

Gürültüye bağlı işitme kaybı çoğunlukla dış tüylü hücrelerin fonksiyonel ünitelerinde biyokimyasal değişimlere ve işitsel sinir liflerinde hücre hasara neden olmaktadır. [16, 17] Bu yapısal ve metabolik hasarda primer rolü hücresel düzeyde reaktif oksijen radikallerinin artması ve koklear kan akımının bozulması oynar. [18] Serbest oksijen radikalleri hücrelerin DNA hasarına, lipid ve protein kırılmalarına ve hücre ölümüne neden olmaktadır. [19] Yapılan bir çalışmada hayvanlar gürültüye maruz bırakıldıktan sonra serbest oksijen radikallerinin kontrol grubuna göre 30 kat arttığı tespit edilmiştir. [55] Metforminin ratlarda serebral iskemiyaratılarak yapılan bir çalışmasında oksidatif stres göstergesi olan glutatyon peroksidaz (GSHP), süperoksit dismutaz (SOD) ve malondialdehit (MDA) seviyelerini azalttığı gösterilmiştir. [49] Bu mekanizma ile metforminin nöroprotektif etkisi birçok hayvan çalışmasında gösterilmiştir.[44-47] Bu çalışma metforminin antioksidan, serbest oksijen radikallerini azaltıcı, nöroprotektif etkisinin gürültüye bağlı işitme kaybında da koruyucu ve tedavi edici olabileceği görüşü üzerine yapılmıştır.

Kemirgenler ile insanların işitme sistemleri aralarında yapısal ve fonksiyonel olarak ufak farklar olmasına rağmen benzerdir. [10] Ayrıca kemirgenlerin işitme sistemleri diğer hayvanlara göre çok iyi bilinmektedir. [11] Bu nedenlerle kemirgen modelleri insan çalışmaları için sıkça kullanılmaktadır. Kemirgenler arasında ratlar maliyetlerinin az oluşu, orta kulak enfeksiyonlarına dirençli oluşu, uzun ömürlü oluşu, anestezik ajanlara hassasiyetlerinin guinea piglerden daha az oluşu ve yaşam koşullarına kolay adaptasyon yetenekleri nedeniyle işitme ile ilgili çalışmalarda sıkça tercih edilmektedirler. [12] Yapılan bir çalışmada ratların gürültüye oldukça hassas olduklarının tespit edilmesiyle ratlar gürültüye bağlı işitme kaybının uygulandığı modellerde çok sık kullanılmaktadır. [56] Bu nedenlerden ötürü çalışmamızda Sprague - Dawley ratları tercih edilmiştir.

Akustik travma modellerinde kullanılan gürültünün cinsi, frekansı, şiddeti, süresi ve yöntemi arasında literatürde çok farklı örnekler vardır. Standart bir travma modelinin olmaması çalışmalar arasındaki sonuçların karşılaştırılabilmesini

güçleştirmektedir. **Beyaz gürültünün;** 1-12 kHz bandında 110 dB 6 saat [57], 6 kHz 115 dB de 1 m<sup>3</sup> alanda 2 saat [58], **oktav bant gürültünün;** 4 kHz 126 dB 5 saat [59], 8 kHz 105 dB 4 saat [60], 10-20 kHz 104 dB 35 gün [61] ya da iki gün 12 saat arayla 2 kez 6 saatlik 4 kHz 105 dB [62], **dar bant gürültünün;** 12 kHz 126 dB 2 saat [63], 16-20 kHz 104 dB 8 gün [61] ya da 16 kHz 115 dB 1 saat insert kulaklık ile [64], **band-pass gürültünün;** 8-12 kHz 110 dB 24 saat [65], 125-20.000 Hz 110 dB 2 saat [66], **saf sesin;** 10 kHz 120 dB 60 dakika [67] verildiği gibi literatürde çok değişik gürültü tipinde, frekans aralığında, şiddetinde ve süresinde çalışma bulunmaktadır. Ayrıca gürültünün veriliş şekilleri de oldukça değişiklik göstermektedir: odyoloji kabinlerinde, hayvanlara özel küçük kabinlerde, amplifikatörlerin kafes ağızlarına yerleştirilmesiyle ya da hayvanlara anestezi verilerek insert kulaklıklar aracılığıyla. Odyolojik kabinlerde verilen gürültü süresinin kulaklıklar aracılığıyla verilen gürültü süresine göre uzun olması gerekmektedir. Beyaz gürültünün tüm frekanslarda eşit miktarda ses şiddeti içermesi nedeniyle tüm koklea boyunca homojen bir hasar meydana getirdiği için çalışmamızda 105 dB 15 saat süreyle beyaz gürültü uyguladık. [68] Çalışmamızda gürültü ve gürültü+metformin gruplarının gürültü öncesi ve gürültü sonrası 1. günündeki ABR eşik ölçümlerinin ve DPOAE amplitüt ve sinyal/gürültü oranlarının gürültü sonrası 1. gün aleyhine istatistiksel anlamlı bozulması bu çalışmadaki gürültü modelinin başarılı olduğunu göstermektedir.

Gürültü maruziyeti öncesi tüm grupların ABR eşiklerinin değerlendirildiği bazal ölçümlerde gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktu, tüm grupların işitme eşikleri benzerdi. Bu sonuç yaşları aynı olan ratların benzer ortamlarda bulunan, gürültüye ve ototoksisiteye maruz kalmamış, işitmesi normal sağlıklı ratlar olduğunu göstermektedir. Ayrıca grupların bazal ölçümündeki işitme eşik değerleri klik uyarının kullanıldığı literatür ile uyumludur. [69]

Gürültü maruziyetinin olduğu gürültü ve gürültü+metformin gruplarının gürültü sonrası 1. günde işitme eşikleri bazal ölçümlere göre istatistiksel anlamlı yükselmiş, gürültü modelimiz başarılı olmuş, ancak gürültü grubunun 7. ve 21. günündeki eşikleri bazal ölçüme göre anlamlı yüksek devam ederken, gürültü+metformin grubunda 7. günde eşik ölçümleri bazal ölçümler ile arasında

istatistiksel anlamlı fark olmayacak eşiklere düşmüştür. Bu sonuç metformin tedavisinin gürültü toksisitesine karşı tedavi edici etkisinin olduğunu göstermektedir. Metforminin ototoksositeye karşı iyileştirici etkisi iç kulak hücre kültürü çalışmalarında gösterilmiştir. [50-52, 54] Gürültü maruziyeti sonrası hücre hasarında primer rolü serbest oksijen radikallerinin, kalsiyumun hücre içinde artması ve apoptozisin başlaması oynar. [18, 55] İç kulak hücre kültüründe yapılan çalışmalarda sisplatin ve gentamisin oluşturduğu ototoksositeye karşı metforminin koruyucu etkisinin olduğu ve bu koruyuculuğu hücre içinde kalsiyum konsantrasyonunu azaltarak, ototoksosite sonucu artan apoptozis oranını azaltarak ve artan kaspaz-3 ve poli-ADP-riboz polimeraz (PARP) üretimini azaltarak hücre viabilitesini arttırdığı tespit edilmiştir. [51, 52] Hücre toksisitesi üzerine metformin ile yapılan diğer çalışmalarda metforminin hücre içi kalsiyum retansiyonu ve mitokondriyal permeabiliteyi düzenleyerek hücre ölümünü azalttığı gösterilmiştir. [70, 71] Ayrıca metforminin hücre içi serbest oksijen radikallerini azaltarak DNA hasarını ve mutasyonları önlediği saptanmıştır. [72] Bir çalışmada iç kulakta AMP-aktive kinaz (AMPK)'nın varlığının akustik travmayı iyileştirici etkisinin olduğu gösterilmiştir. [73] Metforminin AMPK' yı aktive edici etkisi [74] nedeniyle gürültüye karşı koruyuculuğu gerçekleşebilir. Ancak Oishi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada gentamisin toksisitesine karşı fare kokleasından alınan hücre kültüründe metforminin invitro koruyuculuğu saptanırken, guinea piglerde invivo koruyuculuğu saptanmamıştır. [54] Bu çalışmada hayvanlara gentamisin tedavisi ile birlikte iki hafta 30 mg/kg, 75 mg/kg ve 100 mg/kg dozlarında metformin tedavisi subkütan enjeksiyon ile uygulanmıştır. Bu çalışmada metforminin iyileştirici etkisinin bulunmaması ilacın enjeksiyon yöntemi ile yapılmasına bağlı olabilir. Çünkü metformin hidrofilik bir ilaçtır ve %99,9'u fizyolojik pH'da katyonik özellikte bulunur. Oral absorpsiyonu, hepatik alımı ve renal atılımı organik katyonik transporterlar ve plazma membran monoamin transporterlar aracılığıyla yapılmaktadır.[51] Metforminin hidrofilik özelliğinden dolayı subkütan yapılması etkinliğinin ortaya çıkmamasına neden olmuş olabilir. Çalışmamızda 300 mg/kg metformin kullanılması ve oral biyoyararlanımı mükemmel olduğu için gavaj yoluyla uygulanması ototoksositeye karşı iyileştiriciliğinin ortaya çıkmasına neden olmuş olabilir. Ayrıca çalışmamızda ototoksik ajan yerine gürültü toksisitesinin

kullanılması ilaç etkileşimini de azaltarak iyileştirici etkisinin açığa çıkması ile sonuçlanabilir.

Akustik travma sonrası 1. günde metformin+gürültü grubu ile gürültü grubu arasında ABR eşik değerleri arasında anlamlı fark saptanmaması metformin tedavisinin travmanın ilk gününde akustik travmadan korumadığını göstermektedir. Ancak gürültü grubunun gürültü sonrası 7. gün eşik değerlerinin gürültü sonrası 1. gün değerleri ile aynı kalmasına rağmen metformin+gürültü grubunun eşik değerlerinin gürültü sonrası 7. günde anlamlı düzelmesi ve bazal ölçüm değerleri ile arasında istatistiksel anlamlı fark olmayan değerlere düşmesi metformin tedavisinin 7. günde akustik travmanın etkisini tamamen düzelttiğini göstermektedir. Akustik travma sonrası serbest oksijen radikallerinin ilk yarım saatte oluştuğu, apoptotik kaskadın 12 saatte başladığı gösterilmiştir. [75, 76] Bu bulgular eşliğinde travmanın 1. gününden sonra metforminin iyileştirici etkisi oluşmaktadır. Ayrıca akustik travmada kullanılacak ajanların travma öncesinde kullanılmasının daha etkin olacağı düşünülmektedir.

Metformin grubunda ratların bazal ölçümleri ile tedavi başladıktan sonraki 11., 18. ve 32. günlerdeki (gürültü grubunun 1., 7. ve 21. günleri) işitme eşikleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bu sonuç metforminin kulak için ototoksisiteye sahip olmadığını göstermektedir. Hücre kültürü çalışmalarında, metforminin hücre kültürüne uygulanması ile hücre içindeki kalsiyum konsantrasyonunun aynı kaldığı, [51, 52] morfolojisinin değişmediği saptanmıştır. [50] Bu çalışmalar çalışmamızı desteklemektedir. Ayrıca metforminin diyabetik hastalarda kullanılan dozunun (5 mM) 100 kat dozunda bile hücre kültüründe güvenilir olduğu gösterilmiştir. [53]

Çalışmamızda gruplar arasında ve grup içlerinde dört ölçüm arasında (pre-, gürültü sonrası 1. , 7. ve 21. günler) ABR' nin II. dalga latanslarında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. Bu sonuç Mannström ve ark.' nın ratlarda değişen şiddet seviyelerinde (101 dB, 104 dB, 107 dB ve 110 dB), tekrarlayan gürültüler ile kalıcı ve geçici işitme kaybı oluşturdukları çalışmaya benzerdir. [77] Bu çalışmada ABR latanslarında kontrol grubuna göre hiçbir grupta anlamlı fark saptanmamıştır. Ancak bu bulguların aksine Alvarado ve ark. yaptıkları çalışmada; gürültü maruziyeti

sonrası ratlarda yedi farklı frekans (0,5, 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 Hz) içinden sadece 8 kHz' de dalga II latansında uzama saptanmıştır. [78] Çalışmamızda dalga II latansında uzama tespit etmememizin nedeni klik uyaran ile ölçüm yapmış olmamız ve 8 kHz frekansındaki latansı tespit etmememiz olabilir.

DPOAE amplitüt fonksiyonunun 1 kHz ile 16 kHz arasında ABR eşikleri ile iyi konfirme olduğu gösterilmiştir. [79] Ayrıca farelerde yapılan bir çalışmada dış saçlı hücreler ile DPOAE değişimlerinin işitme kaybında iyi korele olduğu bulunmuştur. [36] CD1 farelerinin ABR eşikleri normal olsa bile dış saçlı hücre eksikliğinde ve sterosilya patolojilerinde DPOAE seviyelerinin anlamlı az olduğu görülmüştür. [36] Bu çalışmalardan yola çıkarak DPOAE ölçümünün akustik travmanın tespitinde önemli olduğu ve kullanılabileceği söylenebilir.

Çalışmamızda gürültü grubunda bazal ölçümler ile gürültü sonrası 1. günde yapılan ölçümler arasında tüm frekanslarda (1191 Hz, 2001 Hz, 3359 Hz, 4755 Hz, 6728 Hz ve 9511 Hz) DPOAE ölçümlerinde amplitüt ve SNR değerlerinde istatistiksel anlamlı fark izlenmiştir. Gürültü birçok koklear segmentin fonksiyonunu inhibe eder ya da destrükte eder. Bu mekanizmalar sonucu emisyonların kaynağı olan dış saçlı hücrelerin metabolik kaynakları azalır ve gürültü sonrası DPOAE ölçümlerindeki bozulmalar bu süreçlere bağlanabilir. Gürültü+metformin grubunda ise SNR değerlerinde tüm frekanslarda fark izlenirken, amplitüt değerlerinde 2001 Hz ve 3359 Hz dışındaki diğer dört frekansda anlamlı fark tespit edilmiştir. Gürültü alan bu iki grupta ABR eşik değerleri ile konfirme olacak şekilde gürültü sonrası DPOAE ölçümleri bozulmuştur. Bu sonuçlar ABR eşik değerleri ile DPOAE değerlerinin iyi korele olduğunu göstermektedir ve farelerde yapılan bir çalışmada da gösterilmiştir. [36] Gürültü+metformin grubunda gürültü sonrası 1. günde DPOAE SNR değerlerinde 2001 Hz ve 3359 Hz frekanslarının etkilenmemesi metforminin bu frekanslarda daha etkili olduğu ile ilgili olabilir. Gürültü grubunda gürültünün etkisi ile 7. ve 21. günlerde DPOAE amplitütlerinde 2001 Hz frekansı hariç diğer frekanslarda fark devam etmektedir. ABR eşik ölçümünün aksine DPOAE amplitüt ve SNR değerlerinde 1. ve 21. günler arasında fark izlenmemiştir. Bu sonuç ABR eşikleri 21. günde düşse bile DPOAE amplitütlerindeki ve SNR' deki bozulmanın 21. günde de devam ettiğini göstermektedir. Bu sonuç dış saçlı hücrelerin akustik

travmaya hassas olması ve eşikler düzelse bile dış saçlı hücrelerdeki fonksiyon kaybının devam etmesi ile ilgili olabilir. Gürültü+metformin grubunda ise 1. günden sonraki ölçümlerde DPOAE amplitüt ve SNR değerleri düzelmektedir. Bu sonuç metforminin gürültüye karşı tedavi edici etkisini göstermektedir ve ABR eşik ölçümleri ile koreledir.

Metformin ve kontrol gruplarında ABR eşik ölçümlerine benzer şekilde DPOAE amplitüt ve SNR değerlerinde dört ölçüm arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır. Bu sonuçlar metforminin uzun süreli kullanımının DPOAE ölçümlerinde bozulmaya neden olmadığını ve iç kulak açısından güvenli bir ilaç olduğunu göstermektedir.

DPOAE ölçümleri akustik travmanın tespitinde kullanılabilir ucuz, non-invaziv, kolay, kısa süren bir objektif testtir. Ancak DPOAE ölçümleri ile ABR eşik değerleri arasında ufak farklılıklar görülebilmektedir. Çünkü DPOAE ölçümleri direkt olarak dış saçlı hücrelerin fonksiyonun yansıtırken, ABR ölçümleri işitsel elemanların hem periferik hem de santral komponentlerinin kombinasyonunu yansıtır.

Gürültüye bağlı işitme kaybı sanayileşmiş toplumlarda sık görülen hastalıklardan biridir ve en sık önlenemez işitme kaybı nedenidir. Tüm işitme kayıplarının üçte birinin gürültü maruziyetine bağlı olduğu tahmin edilmektedir. [80] Mesleki gürültü maruziyeti gürültüye bağlı işitme kayıplarının büyük bölümünü oluşturmaktadır ve ABD’de en önlenemez meslek hastalığıdır. [81] Dünya çapındaki tüm insanların %10’ unun gürültüye bağlı işitme kaybı riski olduğu düşünülmektedir. [81] Gürültüye bağlı ototoksitenin azaltılması ve ortaya çıkan ototoksitenin tedavi edilmesi için birçok çalışma devam etmektedir. Çalışmamızda metforminin gürültüye bağlı ototoksitede yararlı olabileceği gösterilmiştir. Metformin çok güvenli bir ilaç olduğu ve sık kullanıldığı için, gürültüye bağlı işitme kaybında iyi bir alternatif ilaç olabilir. [82] Metforminin insanlarda gürültüye bağlı ortaya çıkan ototoksitedeki etkilerinin belirlenmesi için randomize prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 6. Sonuç ve Öneriler

- 15 saat süreyle 105 dB SPL şiddetinde beyaz gürültü ratlarda ototoksitate yaratarak ABR eşiklerinde yükselmeye ve DPOAE ölçümlerinde bozulmaya neden olmaktadır.
- Gürültü grubunda gürültü sonrası 7. ve 21. gün ABR eşiklerindeki yükselme devam ederken, gürültü+metformin grubunda 7. gün düzelme olmaktadır.
- Gürültü grubunda 21. gün ABR eşik ölçümleri 1. güne göre düzelirken, DPOAE ölçümleri 21. günde de 1. gün değerleri gibi bozuk devam etmektedir.
- Metformin grubunda metformin tedavisi ile ABR eşiklerinde ve DPOAE ölçümlerinde fark oluşmamaktadır.
- Metforminin gürültüye bağlı ototoksititeye karşı ratlarda tedavi edici etkisi bulunmaktadır.
- Güvenli bir ilaç olduğu için metformin gürültüye bağlı işitme kaybında alternatif bir ilaç olarak kullanılabilir.
- Metforminin insanlarda gürültüye bağlı ortaya çıkan ototoksitedeki etkilerinin belirlenmesi için randomize prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Plack C.J. Sense of hearing. Lawrence. First edition. Manwah, Erlbaum Associates Inc. 15-52, 2005.
2. Fleischer G. Evolutionary principles of the mammalian middle ear. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 5: 3-70, 1978
3. Mills JH, Khariwala SS, Weber PC. Anatomy and physiology of hearing. *Bailey Head and Neck Surgery-Otolaryngology*. (Bailey BJ, Jhonson JT, Newlands SD, ed) 4th edition. Lippincott Williams & Wilkins Publishers. 1884-1903, 2006.
4. Rosowski, J.J. The effects of external- and middle-ear filtering on auditory threshold and noise-induced hearing loss. *J Acoust Soc Am* 1:124-35, 1991.
5. Moller A. The acoustic middle ear muscle reflex. *Handbook of sensory physiology* (Keidel WD, Neff WD, ed) New York, Springer-Verlag. Vol. V, 312-329, 1974.
6. Schulte BA. and Adams JC. Distribution of immunoreactive Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase in gerbil cochlea. *J Histochem Cytochem* 2:127-34, 1989.
7. Duckert LG. Anatomy of the skull base, temporal bone, external ear and middle ear. *Otolaryngology Head & Neck Surgery* (Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE ed). 3rd edition. St Louis, Mosby-Year Book. 2533-46, 1998.
8. Schmiedt RA. Basic techniques for the measurement of cochlear potentials. *Auditory investigation: the scientific and technological basis* (Beagley HA, ed) Oxford, Clarendon Press. 201-232, 1979.
9. Abbas PJ, Miller CA. Physiology of the auditory system. *Otolaryngology Head & Neck Surgery*. (Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE ed) 3rd edition. St. Louis, Mosby-Year Book. 2831-74, 1998.
10. Fay RR. Comparative psychoacoustics. *Hear Res* 3: 295-305, 1998.
11. Willott JF. Factors affecting hearing in mice, rats, and other laboratory animals. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 1: 23-7, 2007.



12. Martini, A, Hatzopoulos S, Rubini R, et al., An animal model based on the Sprague Dawley rat for the evaluation of ototoxicity. *Ann N Y Acad Sci* 884: 85-98, 1999.
13. Koka K, Read HL and Tollin DJ. The acoustical cues to sound location in the rat: measurements of directional transfer functions. *J Acoust Soc Am* 6: 4297-309, 2008.
14. Heffner HE. and Heffner RS. Hearing ranges of laboratory animals. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 1: 20-2, 2007.
15. Nelson DI, Nelson RY, Concha-Barrientos M, et al., The global burden of occupational noise-induced hearing loss. *Am J Ind Med* 6: 446-58, 2005.
16. Dinh CT, Goncalves S, Bas E, et al., Molecular regulation of auditory hair cell death and approaches to protect sensory receptor cells and/or stimulate repair following acoustic trauma. *Front Cell Neurosci* 9: 96, 2015.
17. Turcot A, Girard SA, Courteau M, et al., Noise-induced hearing loss and combined noise and vibration exposure. *Occup Med (Lond)* 3: 238-44, 2015.
18. Bielefeld EC. Reduction in impulse noise-induced permanent threshold shift with intracochlear application of an NADPH oxidase inhibitor. *J Am Acad Audiol* 6: 461-73, 2013.
19. Henderson D, Bielefeld EC, Harris KC, et al., The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss. *Ear Hear* 1: 1-19, 2006.
20. Le Prell CG, Yamashita D, Minami SB, et al., Mechanisms of noise-induced hearing loss indicate multiple methods of prevention. *Hear Res* 1: 22-43, 2007.
21. Gorga MP, Kaminski JR, Beauchaine KA, et al., Auditory brainstem responses to tone bursts in normally hearing subjects. *J Speech Hear Res* 1: 87-97, 1988.
22. Zaaroor M. and Starr A. Auditory brain-stem evoked potentials in cat after kainic acid induced neuronal loss I. Superior olivary complex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 5: 422-35, 1991.
23. Hashimoto I, Ishiyama Y, Yoshimoto T, et al., Brain-stem auditory-evoked potentials recorded directly from human brain-stem and thalamus. *Brain* 4: 841-59, 1981.

24. Alvarado JC, Fuentes-Santamaria V, Jareno-Flores T, et al., Normal variations in the morphology of auditory brainstem response (ABR) waveforms: a study in Wistar rats. *Neurosci Res* 4: 302-11, 2012.
25. Henry KR. Differential changes of auditory nerve and brain stem short latency evoked potentials in the laboratory mouse. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 4: 452-9, 1979.
26. Chen TJ. and Chen SS. Generator study of brainstem auditory evoked potentials by a radiofrequency lesion method in rats. *Exp Brain Res* 3: 537-42, 1991.
27. Overbeck GW. and Church MW. Effects of tone burst frequency and intensity on the auditory brainstem response (ABR) from albino and pigmented rats. *Hear Res* 2: 129-37, 1992.
28. Shaw NA. The temporal relationship between the brainstem and primary cortical auditory evoked potentials. *Prog Neurobiol* 2: 95-103, 1995.
29. Shaw NA. Central auditory conduction time in the rat. *Exp Brain Res* 1: 217-20, 1990.
30. Shvili Y, Gafter U, Zohar Y, et al., Brainstem auditory evoked responses in rats with experimental chronic renal failure. *Clin Sci (Lond)* 4: 415-7, 1989.
31. Lilienthal H, Korkalainen M, Andersson PL, et al., Developmental exposure to purity-controlled polychlorinated biphenyl congeners (PCB74 and PCB95) in rats: effects on brainstem auditory evoked potentials and catalepsy. *Toxicology* 237: 22-31, 2015.
32. Kemp DT. Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *J Acoust Soc Am* 5: 1386-91, 1978.
33. Mammano F. and Ashmore JF. Reverse transduction measured in the isolated cochlea by laser Michelson interferometry. *Nature* 365: 838-41, 1993.
34. Liberman MC. Single-neuron labeling and chronic cochlear pathology. I. Threshold shift and characteristic-frequency shift. *Hear Res* 1: 33-41, 1984.
35. Brown AM. Acoustic distortion from rodent ears: a comparison of responses from rats, guinea pigs and gerbils. *Hear Res* 1: 25-37, 1987.

36. Le Calvez, S, Avan P, Gilain L, et al., CD1 hearing-impaired mice. I: Distortion product otoacoustic emission levels, cochlear function and morphology. *Hear Res* 1-2: 37-50, 1998.
37. Viollet B, Guigas B, Sanz Garcia N, et al., *Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview*. *Clin Sci (Lond)* 6: 253-70, 2012
38. Owen MR, Doran E, and Halestrap AP. Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. *Biochem J* 3: 607-14, 2000.
39. Ouyang J, Parakhia RA and Ochs RS. Metformin activates AMP kinase through inhibition of AMP deaminase. *J Biol Chem* 1: 1-11, 2011.
40. Caton PW, Nayuni NK, Kieswich J, et al., Metformin suppresses hepatic gluconeogenesis through induction of SIRT1 and GCN5. *J Endocrinol* 1: 97-106, 2010.
41. Alhaider AA, Korashy HM, Sayed-Ahmed MM, et al., Metformin attenuates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats through modulation of oxidative stress genes expression. *Chem Biol Interact* 3: 233-42, 2011.
42. Morales AI, Detaille D, Prieto M, et al., Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria-dependent pathway. *Kidney Int* 10: 861-9, 2010.
43. Patil SP, Jain PD, Ghumatkar PJ, et al., Neuroprotective effect of metformin in MPTP-induced Parkinson's disease in mice. *Neuroscience* 277: 747-54, 2014.
44. Mao-Ying QL, Kavelaars A, Krukowski K, et al., The anti-diabetic drug metformin protects against chemotherapy-induced peripheral neuropathy in a mouse model. *PLoS One* 6: e100701, 2014.
45. Correia S, Carvalho C, Santos MS, et al., Metformin protects the brain against the oxidative imbalance promoted by type 2 diabetes. *Med Chem* 4: 358-64, 2008.
46. El-MirMY, Detaille D, G RV, et al., Neuroprotective role of antidiabetic drug metformin against apoptotic cell death in primary cortical neurons. *J Mol Neurosci* 1: 77-87, 2008.

47. Ullah I, Ullah N, Naseer MI, et al., Neuroprotection with metformin and thymoquinone against ethanol-induced apoptotic neurodegeneration in prenatal rat cortical neurons. *BMC Neurosci* 13: 11, 2012.
48. Lv WS, Wen JP, Li L, et al., The effect of metformin on food intake and its potential role in hypothalamic regulation in obese diabetic rats. *Brain Res* 1444: 11-9, 2012.
49. Abd-Elsameea AA, Moustaf AA, and Mohamed AM. Modulation of the oxidative stress by metformin in the cerebrum of rats exposed to global cerebral ischemia and ischemia/reperfusion. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 16: 2387-92, 2014.
50. Lee JY, Lee SH, Chang JW, et al., Protective effect of metformin on gentamicin-induced vestibulotoxicity in rat primary cell culture. *Clin Exp Otorhinolaryngol* 4: 286-94, 2014.
51. Chang J, Jung HH, Yang JY, et al., Protective effect of metformin against cisplatin-induced ototoxicity in an auditory cell line. *J Assoc Res Otolaryngol* 2: 149-58, 2014.
52. Chang J, Jung HH, Yang JY, et al., Protective role of antidiabetic drug metformin against gentamicin induced apoptosis in auditory cell line. *Hear Res* 1-2: 92-6, 2011.
53. Mujica-Mota MA, Salehi P, Devic S, et al., Safety and otoprotection of metformin in radiation-induced sensorineural hearing loss in the guinea pig. *Otolaryngol Head Neck Surg* 5: 859-65, 2014.
54. Oishi N, Kendall A, and Schacht J. Metformin protects against gentamicin-induced hair cell death in vitro but not ototoxicity in vivo. *Neurosci Lett* **583**: 65-9, 2014.
55. Ohinata Y, Yamasoba T, Schacht J, et al., Glutathione limits noise-induced hearing loss. *Hear Res* 1-2: 28-34, 2000.
56. Duan M, Laurell G, Qiu J, et al., Susceptibility to impulse noise trauma in different species: guinea pig, rat and mouse. *Acta Otolaryngol* 3: 277-83, 2008.
57. Kaymakci M, Acar M, Burukoglu D, et al., The Potential Protective Effects of 2-aminoethyl Diphenylborinate against Inner Ear Acoustic Trauma:

- Experimental Study Using Transmission and Scanning Electron Microscopy. *J Int Adv Otol* 1: 1-5, 2015.
58. Cascella V, Giordano P, Hatzopoulos S, et al., A new oral otoprotective agent. Part 1: Electrophysiology data from protection against noise-induced hearing loss. *Med Sci Monit* 1: BR1-8, 2012.
  59. Kurioka T, Matsunobu T, Niwa K, et al., Activated protein C rescues the cochlea from noise-induced hearing loss. *Brain Res* **1583**: 201-10, 2014.
  60. Lorito G, Giordano P, Prosser S, et al., Noise-induced hearing loss: a study on the pharmacological protection in the Sprague Dawley rat with N-acetylcysteine. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 3: 133-9, 2006.
  61. Chen GD, Sheppard A, and Salvi R, Noise trauma induced plastic changes in brain regions outside the classical auditory pathway. *Neuroscience* 315: 228-45, 2016.
  62. Campbell KC, Meech RP, Klemens JJ, et al., Prevention of noise- and drug-induced hearing loss with D-methionine. *Hear Res* 1-2: 92-103, 2007.
  63. Baizer JS, Wong KM, Manohar S, et al., Effects of acoustic trauma on the auditory system of the rat: The role of microglia. *Neuroscience* 303: 299-311, 2015.
  64. Zheng Y, McPherson K, Reid P, et al., The anti-inflammatory selective melanocortin receptor subtype 4 agonist, RO27-3225, fails to prevent acoustic trauma-induced tinnitus in rats. *Eur J Pharmacol* 761: 206-10, 2015.
  65. Vlajkovic SM, Lin SC, Wong AC, et al., Noise-induced changes in expression levels of NADPH oxidases in the cochlea. *Hear Res* 304: 145-52, 2013.
  66. Jahani L, Mehrparvar AH, Esmailidehaj M, et al., The Effect of Atorvastatin on Preventing Noise-Induced Hearing Loss: An Experimental Study. *Int J Occup Environ Med* 1: 15-21, 2016.
  67. Fetoni AR, Troiani D, Eramo SL, et al., Efficacy of different routes of administration for Coenzyme Q10 formulation in noise-induced hearing loss: systemic versus transtympanic modality. *Acta Otolaryngol* 4: 391-9, 2012.

68. Ward WD. Noise-Induced Hearing Damage. Otolaryngology. (Paparella MM, Gluckman JL, Meyerhoff WL. ed) 3rd edition. Philadelphia, W.B. Saunders Co. Vol. 2, 1639-1652, 1991.
69. Stewart C, Yu Y, Huang J, et al., Effects of high intensity noise on the vestibular system in rats. *Hear Res* 335: 118-27, 2016.
70. Guigas B, Detaille D, Chauvin C, et al., Metformin inhibits mitochondrial permeability transition and cell death: a pharmacological in vitro study. *Biochem J* 3: 877-84, 2004.
71. Lablanche S, Cottet-Rousselle C, Lamarche F, et al., Protection of pancreatic INS-1 beta-cells from glucose- and fructose-induced cell death by inhibiting mitochondrial permeability transition with cyclosporin A or metformin. *Cell Death Dis* 2: e134, 2011.
72. Algire C, Moiseeva O, Deschenes-Simard X, et al., Metformin reduces endogenous reactive oxygen species and associated DNA damage. *Cancer Prev Res (Phila)* 5: 536-43, 2012.
73. Foller M, Jaumann M, Dettling J, et al., AMP-activated protein kinase in BK-channel regulation and protection against hearing loss following acoustic overstimulation. *FASEB J* 10: 4243-53, 2012.
74. Poels J, Spasic MR, Callaerts P, et al., Expanding roles for AMP-activated protein kinase in neuronal survival and autophagy. *Bioessays* 9: 944-52, 2009.
75. Yamane H, Nakai Y, Takayama M, et al., The emergence of free radicals after acoustic trauma and strial blood flow. *Acta Otolaryngol Suppl* 519: 87-92, 1995.
76. Hu BH, Henderson D, and Nicotera TM. Involvement of apoptosis in progression of cochlear lesion following exposure to intense noise. *Hear Res* 1-2: 62-71, 2002.
77. Mannstrom P, Kirkegaard M, and Ulfendahl M. Repeated Moderate Noise Exposure in the Rat--an Early Adulthood Noise Exposure Model. *J Assoc Res Otolaryngol* 6: 763-72, 2015.
78. Alvarado JC, Fuentes-Santamaria V, Gabaldon-Ull MC, et al., Noise-Induced "Toughening" Effect in Wistar Rats: Enhanced Auditory Brainstem

Responses Are Related to Calretinin and Nitric Oxide Synthase Upregulation. *Front Neuroanat* 10: 19, 2016.

79. Keats BJ, Nouri N, Huang JM, et al., The deafness locus (dn) maps to mouse chromosome 19. *Mamm Genome* 1: 8-10, 1995.
80. Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, et al., Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 380: 2163-96, 2012.
81. Basner M, Babisch W, Davis A, et al., Auditory and non-auditory effects of noise on health. *Lancet* 383: 1325-32, 2014.
82. Goodarzi MO. and Bryer-Ash M. Metformin revisited: re-evaluation of its properties and role in the pharmacopoeia of modern antidiabetic agents. *Diabetes Obes Metab* 6: 654-65, 2005.