

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ-BOYUN CERRAHİSİ ANABİLİMDALİ

S-ALLYLMERCAPTOCYSTEİNE, DİALLYL DİSULFİDE VE
YÜKSEK DOZ B12 VİTAMİNİNİN RATLARDA
OLUŞTURULAN GÜRÜLTÜYE BAĞLI İŞİTME KAYBINDA
KORUYUCU ETKİNLİĞİ.

UZMANLIK TEZİ
Dr. MUAMMER MELİH ŞAHİN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MEHMET BİROL UĞUR

ANKARA
AĞUSTOS 2016

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ VE BAŞ-BOYUN CERRAHİSİ ANABİLİMDALI**

**S-ALLYLMERCAPTOCYSTEİNE, DİALLYL DİSULFİDE VE
YÜKSEK DOZ B12 VİTAMİNİNİN RATLARDA
OLUŞTURULAN GÜRÜLTÜYE BAĞLI İŞİTME KAYBINDA
KORUYUCU ETKİNLİĞİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. MUAMMER MELİH ŞAHİN**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MEHMET BİROL UĞUR**

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
01/2015-14 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ANKARA
AĞUSTOS 2016**

TEŞEKKÜR

En başta Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nı bir marka haline getiren, zor günlerinde dahi bilgi ve becerisini bizimle paylaşmaktan kaçınmayan, çalışmanın cerrahi aşamasına bizzat iştirak ederek deney hayvanlarındaki otolojik cerrahi birikimini bana ısrarla ve yorulmadan aktaran bu tezin fikir babası sayın Prof. Dr. Nebil Göksu'ya sonsuz saygı ve teşekkürü bir borç bilirim.

Uzmanlık eğitimim boyunca her zaman sevgi, anlayış ve mesleki tecrübelerini bizlerden esirgemeyen, çok sevdiğim ve saydığım değerli tez hocam Prof. Dr. Mehmet Birol Uğur'a;

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini bizlerden esirgemeyen tüm hocalarıma;5 yıllık bu zorlu süreçte sevgi, hoşgörü, anlayış ve dostluklarıyla hayatımı kolaylaştıran çok değerli asistan arkadaşlarıma;

Yaşamımın her döneminde beni destekleyen, daima beni istediğim herşeyi başarabileceğim konusunda yüreklendiren, beni ben yapan, bana bahşedilen en büyük nimet olarak gördüğüm canım eşim Seda ve tatlı yavrumuz Defne'ye çok teşekkür ederim. Son olarak hep doktor olmamı ama her şeyden önce dürüstlük ve iyi niyetten taviz vermemem konusunda beni eğiten, sevgili annem ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. M. Melih ŞAHİN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
KISALTMALAR.....	iv
TABLolar DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Embriyoloji	4
2.1.1. Kohlea Gelişimi	6
2.2. Kulak Anatomisi	8
2.2.1. Kohlea Anatomisi	14
2.3. Santral Sinir Sistemi	27
2.3.1. VIII. Kranial Sinir.....	27
2.3.2. Kohlear Nükleuslar ve Akustik Stria	28
2.3.3. Süperior Olivar Kompleks ve Olivokohlear Demet.....	29
2.3.4. Lateral Lemniskus.....	30
2.3.5. İnferior Kollikulus	30
2.3.6. Medial Genikulat Cisim	31
2.3.7. İşitme Korteksi.....	32
2.4. İşitme Fizyolojisi	32
2.5. İşitsel Beyin Sapı Cevabı	37
2.6. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı.....	39
2.6.1. Gürültünün Tanımı, Karakteristiği ve Dökümantasyonu.....	39
2.6.2. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı Patofizyolojisi.....	45
2.6.3. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybına Yatkınlık	47
2.7. B12 Vitamini.....	48

2.8. Sarımsak Özütleri (S-allylmercaptocysteine ve Dallyl Disulfide).....	50
2.9. Winstar Ratlar.....	53
2.9.1. Rat Kulağı Anatomisi Ve İşitme Özellikleri.....	53
2.9.2. Deney Hayvanlarında Beyinsapı Cevapları (ABR)	56
3. MATERYAL VE METHOD.....	58
3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	58
3.2. Gürültü Modelinin Oluşturulması.....	61
3.3. Hayvanlara Anestezi Verilmesi	62
3.4. Odyolojik İnceleme.....	62
3.5. Cerrahi Uygulama.....	64
3.6. Transmisyon Elektromikroskopik İnceleme	65
3.6.1. Histolojik Yöntem.....	65
3.7. İstatistiksel Değerlendirme	67
4. BULGULAR.....	68
4.1. İşitsel Beyin Sapı Cevabı Bulguları (ABR).....	68
4.2. Histolojik inceleme Bulguları	86
4.2.1. Işık Mikroskopi Bulguları.....	86
4.2.2. Elektron Mikroskopi Bulguları	100
5. TARTIŞMA	109
6. SONUÇ.....	130
7. ÖZET	132
8. ABSTRACT.....	134
9. KAYNAKLAR	136

KISALTMALAR

GBİK	: Gürültüye bağlı işitme kaybı
SAMC	: S-allylmercaptocysteine
DADS	: Diallyl disulfide
ABR	: İşitsel Beyinsapı Cevabı
AGE	: Bekletilmiş Sarımsak Özütü
DNA	: Deoksiribonükleik asid
ATP	: Adenozin trifosfat
ATP az	: Adenozin trifosfataz
İTH	: İç tüylü hücre
DTH	: Dış tüylü hücre
İAK	: İnternal akustik kanal
SOK	: Süperior Olivary Kompleks
MSO	: Süperior olive medial çekirdeği
LSO	: Süperior olive lateral çekirdeği
İK	: İnterior kollikulus
İBC	: İşitsel beyin sapı cevabı
dB	: Desibel
Hz	: Hertz
HL	: Hearing Level
OAE	: Otoakustik emisyon
GST	: Glutasyon S- transferaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
iNOS	: Nitrik oksid sentaz
NO	: Nitrik oksid
ONOO	: Peroxynitrite
TEM	: Transmisyon elektronmikroskopi
SEM	: Scaninig elektromikroskopi
NMDA	: N-metil-D-aspartat

AMPA	: Alfa amino-3-hidroksil-5metil-4-izoksol-propionik asid
GSH	: Glutasyon
MDA	: Malandialdehid
SOD	: Süperoksid dismutaz
GSH- 1	: Glutamat trasporter- 1
HO	: Hem oksijenaz
DMSO	: Dimetil sulfoksid
NRF2	: Nükleer faktör eritroid 2- ilişkili faktör
mg / kg	: miligram / kilogram
ip	: intraperitoneal
sc	: subkutanöz
cc	: santimetreküp
mmol	: milimol
μ	: mikron
mV	: milivolt

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 4.1: Kontrol ve B12 Grupları Arasında Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı.....	69
Tablo 4.2: Kontrol ve SAMC Grupları Arasında Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı	72
Tablo 4.3: Kontrol ve DADS Grupları Arasında Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı	75
Tablo 4.4: B12, SAMC ve DADS Grupları Arasında Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı.....	78
Tablo 4.5: Çalışma Grupları Arasında 6 kHz’de Zamanla İşitme Kaybının Dağılımı	83
Tablo 4.6: Çalışma Grupları Arasında 8 kHz’de Zamanla İşitme Kaybının Dağılımı	84
Tablo 4.7: Kontrol ve B12 Grupları Arasında Hücresel Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı.....	93
Tablo 4.8: Kontrol ve SAMC Grupları Arasında Hücresel Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı	95
Tablo 4.9: Kontrol ve DADS Grupları Arasında Hücresel Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı.....	96
Tablo 4.10: B12, SAMC ve DADS Grupları Arasında Hücresel Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı.....	99

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 2.1: Dış, Orta ve İç Kulağın Genel Görünümü	6
Şekil 2.2: Aurikula Anatomisi	9
Şekil 2.3: Kemikçik Zincir ve Timpan Membran Alanları	10
Şekil 2.4: Kemik Labirent; Koklea, Vestibül ve Yarım Daire Kanalları	12
Şekil 2.5: Membranöz Labirent	13
Şekil 2.6: Modiolar Eksende İkiye Kesilmiş Kohlea	14
Şekil 2.7: Skala Media (SM) Bileşenleri	15
Şekil 2.8: Stria Vaskülaris	17
Şekil 2.9: Kohleanın Radial Kesiti	18
Şekil 2.10: Korti Organına Kesitsel Bakış	19
Şekil 2.11: İç ve Dış Tüylü Hücrelerin Elektronmikroskopik Görüntüsü	20
Şekil 2.12: Dış Tüylü Hücre	22
Şekil 2.13: İç Tüylü Hücre	23
Şekil 2.14: İnsan kohleası damarlanması	25
Şekil 2.15: Kohleanın Frekanslara Göre Tonotropik Organizasyonu	37
Şekil 2.16: Vitamin B12'nin Kimyasal Yapısı	48
Şekil 2.17: Laboratuvar Hayvanlarının İşitme Aralıkları	56
Şekil 2.18: Ratlarda beyin sapı cevapları	57
Şekil 3.1: Deneyde kullanılan moleküller; SAMC, DADS ve B12 vitamini	60
Şekil 3.2: Gürültü modelinin oluşturulması	62
Şekil 3.3: ABR testinde prob ve elektrotların yerleştirilmesi	64
Şekil 4.1: Kontrol ve B12 Grupları Arasında Click ve 4 kHz'de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı	70
Şekil 4.2: Kontrol ve B12 Grupları Arasında 6 kHz ve 8 kHz'de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı	71
Şekil 4.3: Kontrol ve SAMC Grupları Arasında Click ve 4 kHz'de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı	73
Şekil 4.4: Kontrol ve SAMC Grupları Arasında 6 kHz ve 8 kHz'de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı	74
Şekil 4.5: Kontrol ve DADS Grupları Arasında Click ve 4 kHz'de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı	76
Şekil 4.6: Kontrol ve DADS Grupları Arasında 6 kHz ve 8 kHz'de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı	77
Şekil 4.7: B12, SAMC ve DADS Grupları Arasında Click ve 4 kHz'de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı	79
Şekil 4.8: B12, SAMC ve DADS Grupları Arasında 6 kHz ve 8 kHz'de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı	80

Şekil 4.9: Kontrol ve B12 Gruplarında Click, 4, 6 ve 8 kHz Frekanslarında Zamanla İşitme Kaybının Dağılımı.....	80
Şekil 4.10: SAMC ve DADS Gruplarında Click, 4, 6 ve 8 kHz Frekanslarında Zamanla İşitme Kaybının Dağılımı.....	82
Şekil4.11: Çalışma Grupları Arasında 6 kHz’de Zamanla İşitme Kaybının Dağılımı.....	85
Şekil4.12: Çalışma Grupları Arasında 8 kHz’de Zamanla İşitme Kaybının Dağılımı.....	85
Şekil 4.13: Kontrol grubu yarı ince kesitler.....	86
Şekil 4.14: Kontrol grubu yarı ince kesitler.....	87
Şekil 4.15: B12 vitamini uygulanan gruba ait yarı ince kesitler.....	88
Şekil 4.16: B12 vitamini uygulanan gruba ait yarı ince kesitler.....	88
Şekil 4.17: SAMC uygulanan gruba ait yarı ince kesitler.....	89
Şekil 4.18: SAMC uygulanan gruba ait yarı ince kesitler.....	90
Şekil 4.19: DADS uygulanan gruba ait yarı ince kesitler.....	91
Şekil 4.20: DADS uygulanan gruba ait yarı ince kesitler.....	92
Şekil 4.21: Kontrol Grupları Arasında Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı.....	94
Şekil4.22: Kontrol ve SAMC Grupları Arasında Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı.....	95
Şekil4.23: Kontrol ve DADS Grupları Arasında Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı.....	97
Şekil 4.24: B12, SAMC ve DADS Grupları Arasında Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı.....	100
Şekil 4.25: Kontrol grubuna ait elektron mikroskopik incelemeler.....	101
Şekil 4.26: Kontrol grubuna ait elektron mikroskopik incelemeler.....	102
Şekil 4.27: B12 vitamini uygulanan gruba ait elektron mikroskobu incelemeler.....	103
Şekil 4.28: B12 vitamini uygulanan gruba ait elektron mikroskopik incelemeler.....	104
Şekil 4.29: SAMC uygulanan gruba ait elektron mikroskopik resimler.....	105
Şekil 4.30: SAMC uygulanan gruba ait elektron mikroskopik incelemeler.....	106
Şekil 4.31: DADS uygulanan gruba ait elektron mikroskopik incelemeler.....	107
Şekil 4.32: DADS uygulanan gruba ait elektron mikroskopik incelemeler.....	107

1. GİRİŞ

Gürültü belirli bir şiddetin üzerine çıkan ve işitmeye zarar verebilecek potansiyeldeki sesler olarak tanımlanabilir. Özellikle artan endüstriyel faaliyetler neticesinde daha da yaygın görülmekte ve toplumsal bir problem haline almaktadır. Avrupa'da yaklaşık 35 milyon insan çalıştıkları tesislerde zararlı gürültü seviyelerine (>85 dB) maruz kalmaktadır (1).

Etiyolojide, hem genetik hem de çevresel faktörler rol almaktadır. Gürültü karakterine göre sürekli, dalgalı, aralıklı, basınçlı ve kırılman olmak üzere beş kategoride izlenir (2). İç kulak sürekli olan seslerin etkilerinden akustik refleks sayesinde kısmen korunmaktadır (<85 dB). Fakat yüksek şiddetteki patlayıcı gürültülerde akustik refleks devreye girmeden gürültü iç kulağa ulaşır ve özellikle 140 dB'in üzerindeki patlayıcı gürültüler geri dönüşümsüz hasar oluşturur (3).

Gürültüye bağlı işitme kaybında geçici eşik yükselmesi, belirsiz eşik yükselmesi ve sürekli eşik yükselmesi şeklinde üç eşik değeri tanımlanmıştır. Maruz kalınan gürültünün şiddeti, süresi ve kişinin yatkınlığı bunu belirler. Düşük şiddette ve kısa sürede maruz kalınan gürültü geri dönüşümlü olan geçici eşik yükselmesine neden olur. Daha yüksek şiddetteki ve uzun süreli gürültüler ise kalıcı yapısal hasarın meydana geldiği sürekli eşik yükselmesi meydana getirir (2,3).

Gürültüye bağılı işitme kaybı, uzun süre yüksek sese maruz kalma sonucu daima bilateral, simetrik ve sensörinöral tipte oluşur. En fazla kayıp 4 kHz’de görülür (3). İç kulakta meydana gelen hasar en çok spiral ligament, korti organı ve spiral ganglionda gözlenir.

Gürültüye bağılı işitme kaybında iki temel mekanizma üzerinde durulmaktadır. Birincisi ses şiddetinin kohlea üzerinde yarattığı mekanik hasar. İkincisi ise serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu metabolik hasar ve hücre ölümüdür (4). Bundan dolayı deney hayvanları üzerinde gürültünün iç kulaktaki etkilerini azaltması ve önlemesi açısından birçok antioksidan ve oksidatif stresi azaltıcı ajanın etkinliği test edilmiştir (5,6,7,8,9).

Vitamin B12 suda çözünen, özellikle hayvansal gıdalarda bulunan ve eksikliğinde birçok nörolojik problemlerin görüldüğü antioksidan bir ajandır. Gürültüye maruz kalmış ve kronik tinnitusu olan insanlarda yapılmış ölçümlerde serum B12 düzeylerinin düşük olduğu gözlenmiştir (10,11,12). Gürültüye maruziyet sonrası B12 düzeyleri anlamlı oranda düşük izlenmiş olup, oral destek ile normal düzeylerin üzerine çıkarıldığında, kontrol grubuna göre işitme seviyelerinde anlamlı bir düzelme izlenmiştir (13). Ayrıca yüksek doz B12 vitamininin sinir rejenerasyonunda da etkili olduğu gösterilmiştir (14).

S-allylmercaptocysteine (SAMC) ve Diallyl disulfide (DADS) sarımsak özütünden elde edilen, birçok çalışmada antioksidan etkisi, hücre ölümünü engelleyici rolü, hücre yenilenmesi, birçok sitokin sentezi ve ilaca bağılı

ototoksisite üzerinde olumlu etkileri araştırılmış ve gösterilmiş antioksidan ajanlardır (15-18).

Auditory Brainstem Response Audiometry (ABR) (İşitsel Beyin Sapı Cevapları), işitme sinirinden beyin sapına kadar olan alandaki çok sayıda nöronun uyarılması sonucu kaydedilen uzak saha potansiyelleri olarak tanımlanmıştır. Literatür incelendiğinde, gürültü üzerine kurgulanmış hayvan çalışmalarda Guine pig veya ratların kullanıldığını, ve işitmelerin de sıklıkla ABR veya otoakustik emisyon (OAE) ile değerlendirildiğini gözlemledik. Biz de çalışmamızda bu nedenle ratları tercih ettik ve test aşamasında da ABR kullanmaya karar verdik.

Deney hayvanlarında, GBİK oluşturulan çalışmalarda ortak bir gürültü modalitesi olmadığı için, belirlediğimiz bazı çalışmaları esas alarak gürültü modeli oluşturduk (19).

Hipotezimiz, antioksidan özelliği bulunan üç farklı ajanın (B12 vitamini, SAMC ve DADS), ratlarda oluşturulan GBİK'dan koruyucu etkinliğinin gösterilmesidir.

Çalışmamızda 6'şar hayvandan 4 grup şeklinde, toplamda 24 adet rat kullanılmıştır. Tüm hayvanlara ilaçlar verilmeden önce ABR testleri yapılmıştır. Sonrasında ilaç gruplarına sırasıyla 1 mg/kg B12 (grup B) vitamini intraperitoneal olarak, ikinci gruba SAMC 100 mg/kg (grup C) intragastrik olarak, üçüncü gruba da DADS 50 mg/kg (grup D) intragastrik olarak gürültü maruziyeti öncesinde toplamda iki hafta boyunca verilmiştir (14,15). Bu süreç boyunca kontrol grubuna

da 100 mg/kg (grup A) serum fizyolojik intragastrik yolla verilmiştir. İki haftanın sonunda tüm hayvanlar 110 dB SPL, 8 saat olacak şekilde geniş band (white noise) gürültüye maruz bırakılmıştır (19). Gürültü maruziyeti sonrasında tüm hayvanlara gürültüden hemen sonra (0. Saat), 48. saat ve 14. günlerde ABR testleri yapıldı. Gürültü sonrası da ilaçlar aynı doz ve şekillerde 2 hafta daha verilmeye devam edildi. Tedavi verilen gruplar ile kontrol grubu işitme eşikleri istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Son ABR ölçümlerinin ardından derin anestezi altında hayvanlardan intrakardiyak kan alınarak ötenazi işlemi uygulandı. Hayvanların sağ kohleaları çıkarıldı, ışık ve elektron mikroskopi için ayrıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Embriyoloji

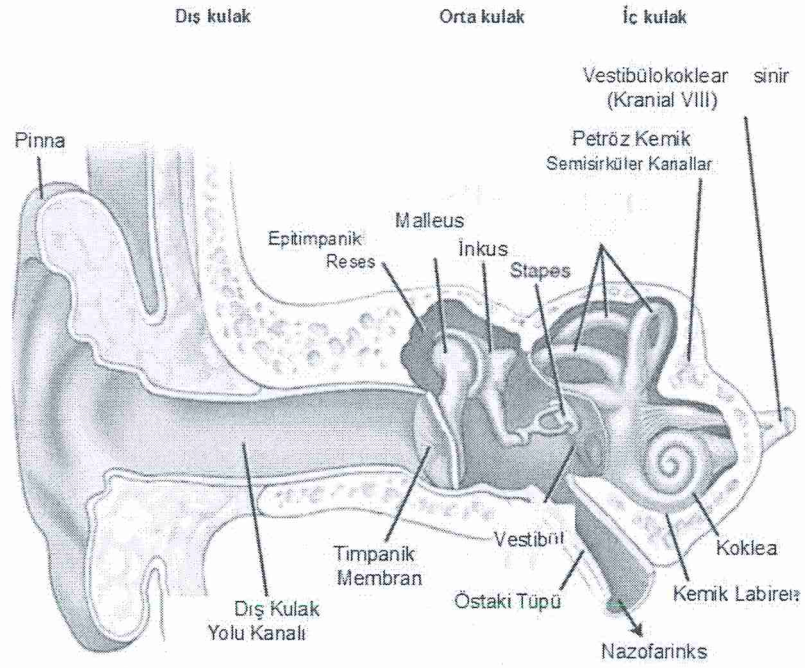
Kulak, temporal kemik içerisine yerleşik dış kulak, orta kulak ve iç kulak olmak üzere üç ayrı bölgeden oluşmaktadır (Şekil 2.1). Bu bölümler temelde farklı gelişim ve görevler üstlenerek işitme ve dengenin periferik sistemini oluştururlar (20).

Dış kulak yolu her üç germ yaprağından da köken alır. Dış kulak yolu birinci brakial yarıktan, orta kulak birinci brankial cepten gelişir. İç kulak ise beyinde rhombencephalonun her iki yanındaki ektodermden gelişir ve en erken gelişen bölümdür. Farklı embriyolojik gelişimler nedeniyle iç, orta ve dış kulak gelişim bozuklukları birbirinden bağımsız, ayrı klinikler olarak karşımıza

çıkılmaktadır. İç kulağın gelişimi ve vaskülerizasyonu beyin dokusu ile birliktelik göstermesi nedeniyle intrakraniyal birçok akkiz ve konjenital problemlerde iç kulak da etkilenecek sensörinöral işitme kayıpları izlenebilir (20).

Dördüncü hafta başında yüzey ektodermin kalınlaşması sonucu otik plak oluşur. Notokord ve paraksiyal mezodermden gelen uyarıcı etkilerle yüzeyel ektodermden otik plak oluşumu sağlanır. İki otik plak yüzey ektodermden hemen içe kıvrım yapar ve altındaki mezenşimin derinlerine girer. Böylece **otik çukur** oluşur. Yüzey ektoderm ile bağlantısını kaybeden otik keseden oluşan bir divertikül gelişip endolenfatik kanal ve kesesini oluşturmak üzere uzar. Bu durumda otik kesenin iki bölgesi tanımlanabilir (21).

1. Endolenfatik kanal, utrikül ve yarım daire kanallarının geliştiği **arka utriküler bölüm**
2. Spiral organın (korti) içinde bulunduğu kohlear kanal ve sakkulusu oluşturan **ön sakküler bölüm**



Şekil 2.1: Dış, Orta ve İç Kulağın Genel Görünümü

2.1.1. Kohlea Gelişimi

Kohlear kanal altıncı haftada gelişmeye başlar. Sakkulusun alt ucunda tübüler divertikül yapısında kohlear kanal gelişir ve membranöz kohleayı oluşturmak için spiral biçimde kıvrılır. Yedinci haftada kohleanın birinci turu oluşmuş ve sekizinci haftanın sonunda 2,5 tur tamamlanmış olur. Bu sırada kohlea ile sakkulusun geri kalan kısmı arasındaki “**ductus reuniens**” adı verilen bağlantı oluşur. Spiral organ kohlear kanal duvarındaki hücrelerden farklılaşır. Sekizinci kranial sinirin ganglion hücreleri membranöz kohlea kıvrımları boyunca göç ederler ve **spiral gangliyonu** oluştururlar (kohlear gangliyon). Sinir uzantıları bu gangliyondan tüylü hücrelerde sonlanan spiral organa uzanırlar. Spiral gangliondaki bu hücreler embriyonik bipolar yapısını korurlar (21).

Beşinci haftanın ortasında otik kesenin uyarıcı etkileri, otik kese etrafındaki mezenşimin yoğunlaşp **kıkırdak otik kapsüle** dönüşmesini sağlar. Altıncı haftanın başında yoğunlaşma tamamlanır. Endolenfatik kanal bölgesinde yoğunlaşma olmaz. İç kulak yoluna rastlayan küçük bir bölgede yumuşak alan kalır, buradan sekinci kranial sinir geçecektir. Yoğunlaşan mezenşimal doku değişir, yedinci haftada prekartilaj farklılaşır ve birkaç gün sonra gerçek kıkırdak dokusu oluşur. Kıkırdağımsı otik kapsül iç kulağın kemik labirentini oluşturmak üzere kemikleşir.

Kıkırdak yapı gevşek olduğu için membranöz labirentin gelişmesini engellemez. Membranöz labirent genişledikçe kıkırdak otik kapsülde vakuoller belirir ve bunlar daha sonra birleşip perilenfatik aralığı oluşturur. Böylece membranöz labirent perilenf (perilenfatik aralıktaki sıvı) üstünde yer alır. Kohlea kanalı ile ilişkili perilenfatik aralık iki bölümde gelişir bunlar; skala timpani ve skala vestibülidir. Skalalar önce yuvarlak pencerede (skala vestibüli), daha sonra oval pencerede (skala timpani) ortaya çıkar. Skalalar birbirine zıt olarak basiller membranın her iki tarafında gelişmeye başlarlar. Daha sonra kohlear kanalın skala vestibüliye bakan tarafında membrana vestibularis (Reissner zarı), skala timpaniye bakan tarafında ise membrana basilaris oluşur. Kohlear kanalın dış yan duvarı ile otik vezikülü çevreleyen mezenkim dokusundan gelişen kıkırdak otik kapsül taslağı arasında kalan mezenşim dokusundan spiral kohlear ligament gelişir. Kohleanın iç ucundaki otik vezikülün içerisinde kalan mezenşimden kıkırdak modiolus gelişir ve çevrede oluşan kıkırdak otik kapsül ile birleşir (21).

Korti organının gelişmesi bazal turdan apekse doğru olur. Korti organı kohlear kanalın duvarındaki hücrelerden gelişir. Kohleanın epiteli başlangıçta her yerde aynı olup, daha sonra membrana bazilarisin epitelinde farklılaşma oluşur ve dış ve iç kristalar ortaya çıkar. İç krista kohleanın merkezindedir, sonradan **limbus spiralis** yapar. Dış kristadan ise dış ve iç hücre sütunları farklılaşır. İç sütun bir sıra epitel hücresinden meydana gelmiştir. İç sütunun gelişmesi ile **iç sulkus** oluşur. Dışta kalan 3-4 sıra epitel hücresinden **Korti organı** gelişir. Her iki sütun hücrelerinden yoğun sıvı salgılanır ve **tektorial membranı** oluşturur.

Yirmi ikinci haftada iç titretili hücreler, dış titretili hücreler, destek hücreleri ve Hensen hücreleri meydana çıkar. **Stria vaskularis**, sekizinci haftada gelişmeye başlar ve yirminci haftada gelişmesini tamamlar.

Otik plağın içe çökmesi sırasında oluşan nöral oluğun her iki tarafında akustikofasial tümsek oluşur. Akustikofasial ganglionu oluşturacak bu bölge, üst ve alt diye ikiye ayrılır; üstte bulunan kısımdan n. vestibularis superior, altta bulunan kısımdan ise n. vestibularis inferior oluşur. Sekizinci kranial sinirin alt kısmı kalınlaşarak **kohlear siniri** meydana getirir.

İç kulak erişkin boyut ve şekline fetal dönemin ortalarında (20- 22. hafta) ulaşır (21).

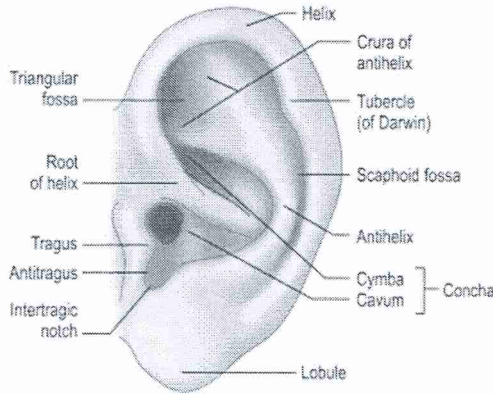
2.2. Kulak Anatomisi

Dış kulak yolu aurikuladan kulak zarına kadar olan kısmı kapsamaktadır (Şekil 2.2). Aurikulanın merkezinde konka bulunmaktadır ve erişkinlerde yaklaşık

2.5 cm lik dış kulak kanalı ile devam etmektedir. Bu kanalın dış üçte birlik kısmı kıkırdak olup üzerini örten epitelium kıl ve serümen üreten bezler ile kaplıdır. İç üçte ikilik kısım ise kemik ile devamlılık göstermekte olup kıl ve bez folikülleri içermez (22). Aurikula yapısı itibari ile sesi toplayıp filtreleyip yükseltme görevi üstlenmektedir (23,24).

Aurikulanın en üst kısmına helix, onun hemen altına ve iç kısımdaki bölümüne antihelix, helix ve antihelix arasında kalan bölüme ise scaphoid fossa adı verilir. Konka dış kulak yolunun hemen girişinde bulunan çukur kısımdır. Epitel kaplı kıkırdak bir flep olan tragus, kulak kanalının hemen girişinde bulunurken, lobul (kulak memesi) antitragusun hemen altına yerleşmiştir (25,26,27).

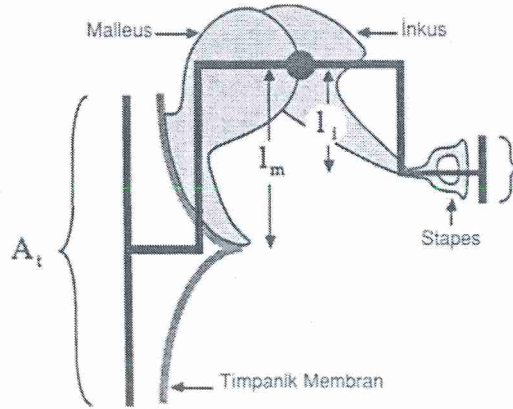
Dış kulak yolu sesi amplifiye eder. Özellikle 3000-4000 Hz'de bu amplifikasyon en üst düzeylere çıkar ve yaklaşık 12 dB'lik kazanç sağlar (27).



Şekil 2.2: Aurikula Anatomisi

Orta kulak; kulak zarı, orta kulak kavitesi, orta kulak kemikçikleri, östaki tüpü, 2 kas ve 4 ligamentten oluşan ve işitme fizyolojisinde iletim ve amplifikasyon fonksiyonu olan bir yapıdır (27). Kulak zarının kalınlığı ortalama

0,1 mm, uzunluğu 10-11 mm ve genişliği 8-9 mm'dir. Kulak zarı, dış kulak yolunun iletmış olduğu ses ile titreşerek, bu titreşimi kemikciklere iletir ve oval pencereye ulaşmış olur. Öte yandan sesin yuvarlak pencereye iletimini de engellemiş olur. Ses dalgasının iç kulağa iletiminde sırası ile malleus, inkus ve stapes kemikçikleri görev alır (Şekil 2.3). Bu kemikçikleri orta kulağa bağlayan dört adet bağ ve iki adet kas bulunmaktadır (27).



Şekil 2.3: Kemikçik Zincir ve Timpanik Membran Alanları

Malleus, bu kemikçiklerin içinde en büyük olanıdır. Yaklaşık 9 mm uzunluğunda ve 25 mg ağırlığındadır. Malleusun uzun kısmı olan manubrium, malleusun baş kısmından ince bir boyun ile ayrılmıştır. Malleusun anterior ve lateral parçaları “anterior malleolar ligament” ile birbirine bağlıdır. Manubrium, malleusun lateral parçasının sonlandığı yerde timpanik membran ile birleşirerek malleolar kıvrımları ve pars flaccidayı oluşturur (27).

Kemikçik zincirin ortanca kemiği olan inkusun ağırlığı 30 mg, uzunluğu 7 mm'dir. Kemikçik zincirin bağlantısında görev alır. En küçük kemikçik ve en son kemikçik olan stapesin ağırlığı 4 mg, kapladığı alan ise $3,2 \text{ mm}^2$ 'dir. Annuler ligament ile oval pencereye dayanır (27).

Malleus ile inkus arasındaki kaldıraç etkisi, malleus kolundaki işitsel enerjinin inkus koluna 1.3 kat fazla olarak aktarılmasını sağlamaktadır. Ayrıca zarın titreşen alanı 55 mm^2 , stapes tabanı $3,2 \text{ mm}^2$ 'dir. Böylece kulak zarındaki ses enerjisi, kemikçik zincirin kaldıraç etkisi ve zar ile stapes tabanı arasındaki farkın oluşturduğu hidrolik etki sonucu iç kulağa yaklaşık olarak 17 kat arttırılarak aktarılmış olur. Bu da yaklaşık olarak 24 dB'lik bir kazanç sağlamış olur (28).

Orta kulakta 2 önemli kas bulunur. Bunlar M. Stapedius ve M. Tensör Tympani'dir. 6 mm uzunluğunda ve 5 mm^2 çapında olan stapes kası, normal kulaklarda 70-90 dB'lik ses şiddetinde kasılarak stapes tabanını orta kulağa doğru çeker ve iç kulağı yüksek şiddetteki seslerden korur. 25 mm uzunluğunda ve 6 mm^2 çapında olan tensör timpani kası ise, tutunduğu malleusun hareket etmesiyle kulak zarını gererek veya gevşeterek zarın akustik impedansını değiştirir (25,27).

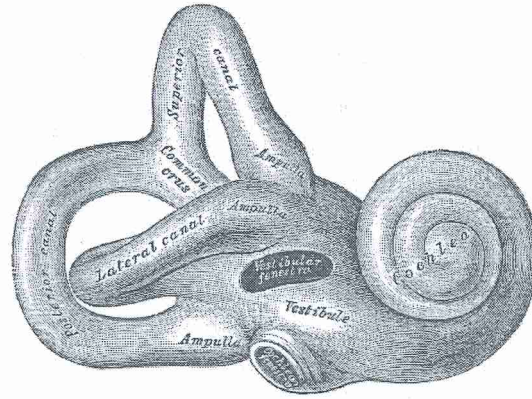
Kulak zarı ancak her iki tarafta eşit basınç olduğu zaman maksimum genlikte titreşir. Östaki tüpü orta kulak basıncını atmosfer basıncına eşitler. Erişkinlerde yaklaşık 3,5 cm uzunluğundadır ve nazofarenkse uzanır. Üst 1/3 kısmı kemik, alt 2/3 kısmı kartilajdan oluşmuştur. Östaki tüpünün ayrıca siliyer aktivitesi sayesinde savunma görevi de vardır. Fonksiyonunun bozulması halinde efüzyonlu otitis mediadan, adezhiv otit gibi kronik hastalıklara kadar geniş yelpazede hastalık tabloları oluşur (27).

İç kulak, temporal kemiğin petröz parçası içerisinde yerleşmiştir. Oval ve yuvarlak pencereler ile orta kulak, kohlea ve vestibüler akuaduktuslar ile karnium içi ile bağlantılıdır. Kemik (Şekil 2.4) ve membranöz (şekil 2.5) labirent olmak

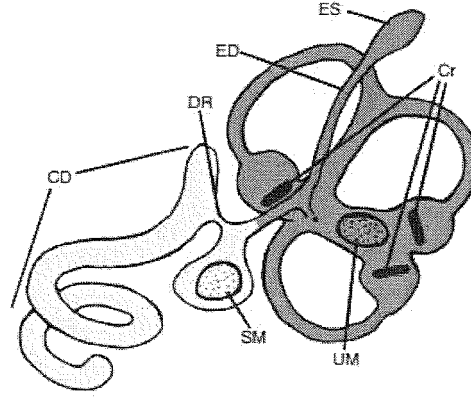
üzere iki kısımdan oluşur. Kemik labirent vücudun en sert kemik dokusu olan otik kapsül ile çevrilidir. Kemik labirent membranöz labirentin çeperini örten yapı olduğu için birbirlerinin devamı halinde aynı anatomik kısımlara ayrılırlar (29).

Bunlar; kohleayı içeren ön labirent, iki otolit organı içeren vestibül ve denge kanallarını içeren arka labirent olmak üzere işitme ve dengenin periferik organlarını içeren üç kısımdan oluşurlar (29).

İç kulak morfolojisinin anlaşılması yönelik çalışmalar, 1851'de *Alphonso Corti* ile başlamış ve *Corti*'den sonra *Reissner*, *Deiters*, *Bottcher*, *Claudius*, *Hensen* ve *Retzius*'un çalışmalarıyla kohleanın çizimlerini yapmışlar ve iç kulak yapıları hakkında günümüzde kabul gören ayrıntıları ortaya koymuşlardır. *Retzius*'un çizimleri bugünkü mikroskopik çizimlerle hemen hemen aynıdır (20, 29).



Şekil 2.4: Kemik Labirent; Koklea, Vestibül ve Yarım Daire Kanalları

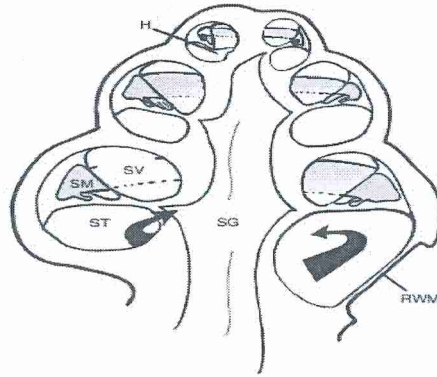


Şekil 2.5: Membranöz Labirent, CD: Kohlear Kanal, DR: Duktus Reuniens, SM: Sakuler Makula, UM: Utrikuler Makula, ED: Endolenfatik Kanal, ES: Endolenfatik Kese, Cr: Yarım Daire Kanallarının Kristalları

2.2.1. Kohlea Anatomisi

İç kulağın primer işitme organıdır. Modiolus denilen spongiöz kemik etrafında toplam uzunluğu 42 mm olan 2,5 dönüşlük bir sarmal yapar (Şekil 2.6). Kohleanın bazal döngüsünün uzunluğu ortalama 22 mm, orta döngüsünün uzunluğu 12 mm, apikal döngüsünün uzunluğu ise 6 mm'dir. İçerisinde duktus kohlearis denen boşluk bulunur. Tabanına "basis kohlea", tepesine "kupula kohlea" adı verilir (30).

Spiral kanal içinde tüm iç duvar boyunca seyreden ve dış duvara temas etmeden sonlanan yarım kemik bölmeye **kemik spiral lamina** denir. Basis kohlea ve internal akustik kanal arasında korti organına giden ve dönen sinir liflerini içeren kemik kohlear sinir kanalı bulunur. Bu kanalın uzunluğu yaklaşık 1.2 mm uzunluğunda olup apekse gidildikçe çapı azalır. "**Habenulae perforata**" denen delikler sayesinde sinir lifleri korti organına ulaşır (30,31).

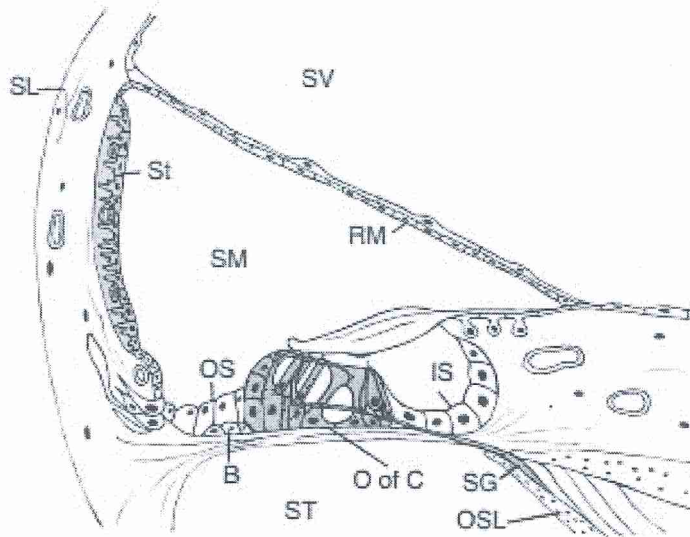


Şekil 2.6: Modiolar Eksende İkiye Kesilmiş Sağ Kohlea, H:Helicotrema, SM: Skala Media, SV: Skala Vestibüli ST: Skala Timpani SG: Modiolus içinde Spiral Ganglion RWM: Yuvarlak Pencere Membranı

Kohleadan enine kesit alındığında yukardan aşağıya doğru; Scala Vestibuli, Scala Media, Scala Tympani şeklinde sıralanır (Şekil 2.7). Scala

tympani fenestra kohlea sayesinde orta kulak ile bağlantılıdır. Scala vestibuli ve scala tympani en üst kısımda birleşerek helikotrema adı verilen yapıyı oluşturur. Scala Media ise kapalı bir uç halinde helikotremada sonlanır.

Kohlear kanal; Reissner membranı, lateral duvar ve basilar membran arasında kalan üçgen şeklinde bir yapıdır. Reissner membranı skala media ile skala vestibüliyi birbirinden ayırır. Baziler membran ise skala media ile skala tympaniyi birbirinden ayırır. Skala vestibuli ve Skala tympani, perilenf adı verilen Na^+ oranı yüksek, K^+ oranı düşük bir sıvı ile doludur. Perilenfin iyonik birleşimi sodyumca zengin katyonlu ekstrasellüler sıvılara benzer. Scala media ise stria vaskularis denen özel damar ağının aktivitesine bağlı olarak sentezlenip salgılanan, K^+ miktarı oldukça yüksek, Na^+ oranı düşük olan Endolenf (endolymph) adı verilen sıvıyla doludur (25,29). Skala media ve bileşenleri ise Şekil 2.7’de gösterilmektedir.



Şekil 2.7: Skala Media (SM) Bileşenleri, St: Stria Vaskularis, RM: Reissner Membranı, OS: Dış Sulkus Hücresi, B: Böttcher Hücresi, C: Corti Organı, SG: Spiral Ganglion, OSL: Kemik Spiral Lamina, IS: İç Sulkus Hücresi, SL: Spiral Ligament

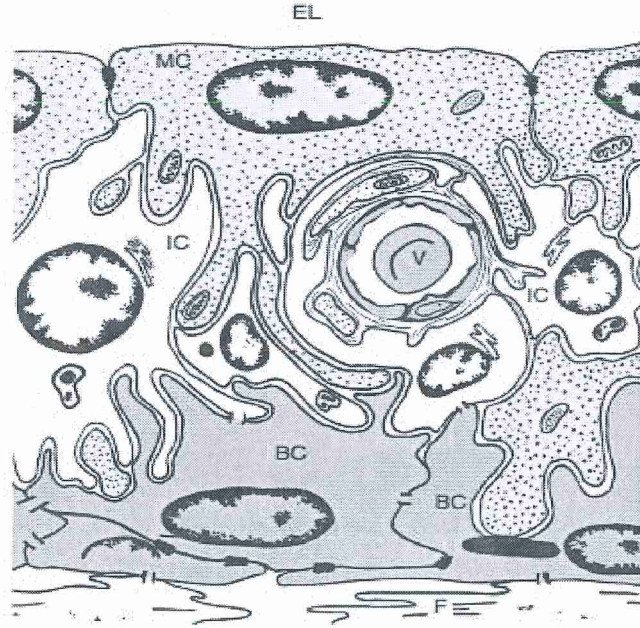
Reissner Membranı, skala media ve skala vestibüliyi birbirinden ayıran ince bir zardır. İçte spiral limbusun modiolar tarafına ve dışta stria vaskülarisin üst köşesindeki spiral ligamana bağlıdır. Üst kısımda perilenf ile dolu olan skala vestibüli ile alt kısımda ise endolenf ile dolu olan skala media ile komşudur. Perilenfe bakan hücreler yassı ve gevşek biçimde birbirine bağlanırlar. Endolenfe bakan hücreler ise kübik ve mikrovilluludur. Reissner membranı suya karşı geçirgen olmasına karşın, büyük moleküllerin geçişine izin vermez. Böylece perilenften endolenfe büyük moleküllerin geçişi engellenir (29).

Lateral duvar, kohlear kanalın yan ve dış duvarıdır. Bu tabakanın dışında da otik kapsülün iç yüzeyi vardır. Spiral ligament dış duvarın en dışta kalan kısmıdır. Gevşek bağ dokusundan yapılmıştır. Burada iyon ileten enzimler de vardır. Spiral ligamentin iç kısmında ise **stria vaskülaris** ile **spiral prominens** bulunur. Spiral ligament tip 1 ve tip 2 olmak üzere ikiye ayrılan, fibroblast benzeri hücrelerden yapılmıştır. Daha çok tip 1 hücreler bulunur. Tip 2 hücreler ise dış sulkusa ve spiral prominense yakın kısımda çoğunluktadır ve iyon ileten enzimler içerirler (32).

Stria vaskülaris, reissner membranından spiral prominense kadar uzanan endolenfe komşu hücreler içerir. Bazal membrana doğru yüzey genişliği azalır. Stria vaskülaris, marjinal, intermediate ve bazal hücreler olmak üzere üç çeşit hücreden oluşmaktadır (Şekil 2.8). Esas fonksiyon gösteren hücreler marjinal hücrelerdir. Endolenf ile temas eden yüzeylerinde Na^+ ve K^+ iyonları ile ATP içeren mitokondriler bulunur (33,34). Fagositoz yeteneği olan intermediate hücreler stria vaskülarisin orta tabakasını oluşturur. Beraberinde bu tabakada

monositler ve kapillerler bulunur. Dış tabakada ise molekül geçişine izin vermeyen bazal hücreler bulunur.

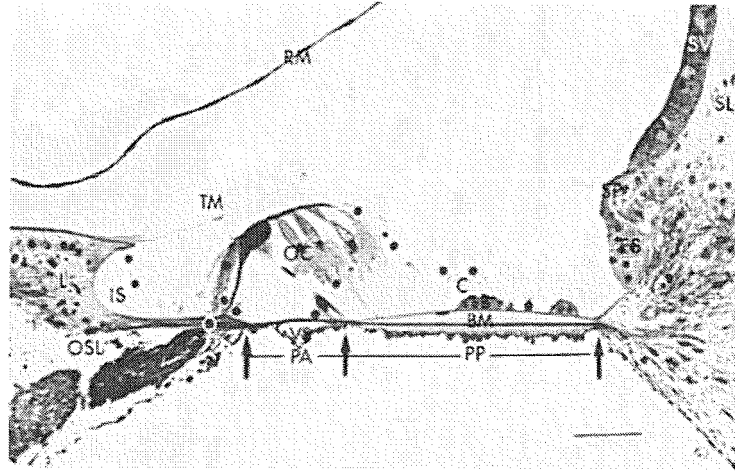
Spiral prominens, stria vaskularis ve baziler membran arasında spiral olarak uzanan bir doku kenarıdır. Bazal membranı oluşturan küboidal formda tek bir epitelyal hücre tabakası tarafından çevrenir. Spiral prominensin konnektif doku matriksi, omega şeklinde kapillerler ve çok sayıda fibroblast tip 2 hücreleri içermesi nedeniyle iyon transportu ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 2.8: Stria Vaskularis, EL: Endolenfatik Boşluk, MC: Marjinal Hücre, V: Damar, IC: Intermediate Hücre, F: Fibrosit, BC: Bazal Hücre

Bazal membran, işitme fonksiyonunda önemli görevi olan bir membrandır. Genişliği bazal turdan apikale doğru gittikçe artar. İnsanda uzunluğu 31,5 mm olarak kabul edilir. Pars arcuata ve pars pectinata diye iki kısımdan oluşur (Şekil 2,9). Pars arcuata, spiral ligamana doğru uzanır ve iki dala ayrılır. Bu dalların arasında pars pectinata bulunur. Pars pectinata, glikoprotein ve

fibronektinden zengindir ve amorf kristaller halindedir. Bazal membran boyunca genişlik büyük değişiklik gösterir. Farklı ses şiddetlerinin algılanabilmesi, bazal membran hareketlerinin frekansa özgü hareket edebilmesi neticesinde gerçekleşebilmektedir (20,29). Bazal membranın skala mediaya bakan yüzünde iç ve dış sulkus hücreleri, Boettcher hücreleri ve esas işitme organı olan korti organı bulunmaktadır.



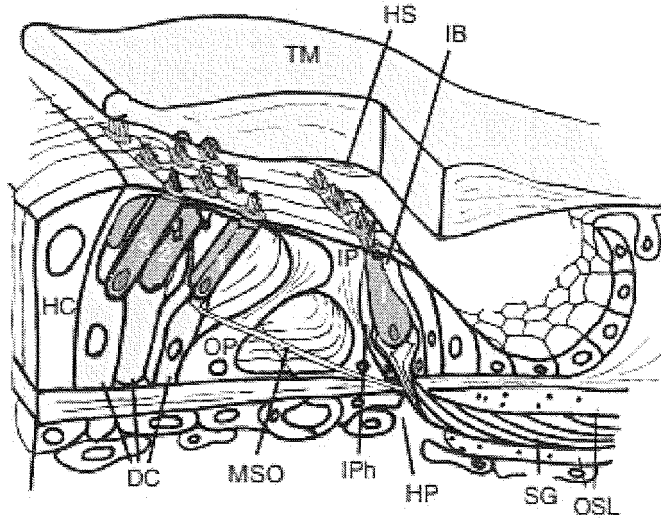
Şekil 2.9: Kohleanın Radial Kesiti, S: Reissner Mebranı, SL: Spiral Ligament, SV: Stria Vaskülaris, SP: Spiral Prominens, ES: Eksternal Sulkus, BM: Basiler Membran, PA: Pars Arcuata, PP: Pars Pectinata, B: Boettcher Hücreleri, C: Claudius Hücreleri, CO: Corti Organı, TM: Tektoryal Membran, IS: İç Sulkus Hücreleri, L: Spiral Limbus, OSL: Kemik Spiral Lamina

Claudius hücreleri, baziler membranın endolenfatik yüzeyini döşeyen küboidal formda hücrelerdir. Spiral prominens ve baziler membran arasındaki açık bir kanal olan **dış sulkusu** oluştururlar. Hensen hücrelerinden spiral prominense kadar baziler membran boyunca uzanırlar. Bu hücreler skala medianın endolenfi ile skala timpaninin perilenfi arasında sıkı bir sınır oluşturur (29,33).

Boettcher hücreleri ise Claudius hücrelerinin bazal yüzeyleri ile baziler membran arasında uzanır. En sık kohlear tabanda bulunur ve apekse doğru

gidildikçe sayıları azalır. Fonksiyonlarının fibronektin ve baziler membran oluşumu için gerekli olabilecek diğer matriks bileşenlerini üretmek olduğu düşünülmektedir (29,33).

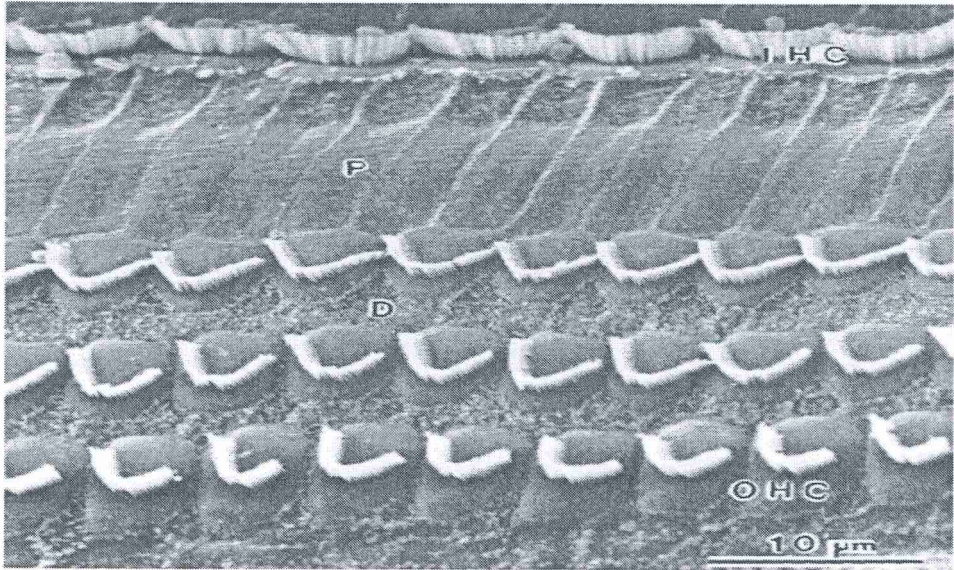
Korti organı, duktus kohlearis içerisinde, alt duvarını oluşturan baziler laminanın iç üst bölümüne yerleşiktir. Baziler laminanın skala media yüzüne bakan reseptör bir organdır. İşitme fonksiyonunda görev alan en önemli yapıdır. Korti organında (Şekil 2.10) perilenfteki mekanik titreşimleri ile sinir liflerini uyararak elektrik akımlara dönüştüren, transdüksiyon işlemini gerçekleştiren (68) iki tip sensöriyel hücre görülür; **iç ve dış tüylü hücreler (İTH ve DTH)**. Ayrıca destek hücreleri, afferent (Tip 1 ve Tip 2 spiral ganglion) ve efferent sinir sonlanmaları (medial ve lateral olivokohlear demetler), iç ve dış pillar hücreler ve Hensen hücreleri bulunur (20,29).



Şekil 2.10: Korti Organına Kesitsel Bakış, TM: Tektoriyel Membran, HS: Hensen Şeridi, IP: İç Pillar Hücre, IPh: İç Falangeal Hücre, HC: Hensen Hücresi, DC: Deiters hücresi, IB: İç Sulkus Hücresi, OP: Dış Pillar Hücre, SG: Spiral Ganglion, OSL: Kemik Spiral Laminası: İç Tüylü Hücre, 1, 2, 3: 1., 2., 3. Sıra DTH'leri (sırasıyla), HP: Habenula Perforata, MSO: Medial Superior Oliver Demetten Gelen Efferent Lifler

Sensoriyel hücreler, stereosilya denilen titrekle tüylere sahiptirler. Stereosilyalar iç ve dış tüylü hücrelerin (şekil 2.11) apikal kısmında bulunurlar. Uzunlukları içten dışa ve bazaldan apikale doğru gittikçe artar. İç titrekle tüylü hücrelerin stereosilyaları dış titrekle tüylü hücrelere göre iki kez kalındır ve küp şeklindedir. Stereosilyalar gerçek silya değildirler. Titrekle tüylerin kutikular plaklarından uzanan uzun ve sert mikrovilluslardır. En uzunları en dışta bulunur.

Stereosilyaların sertliğini içindeki aktin filamanı sağlar. Bunlar dik bir şekilde kutiküler tabakanın içine girerler. Her titrekle tüylü hücrenin apeksinde 6 veya 7 dizi stereosilya vardır. Dış tüylü hücrelerin en uzun stereosilyaları tektoryal membranın alt yüzüne bağlanır. Ancak kısa olan iç titrekle tüylü hücrelerin stereosilyaları, üzerlerini örten tektoryal membranla ilişki kurmaz (20).



Şekil 2.11: İç ve Dış Tüylü Hücrelerin Elektronmikroskopik Görüntüsü (25).

Dış titrekle tüylü hücreler, sayıları İTH'den daha fazla olup yaklaşık olarak 12000 civarındadır (35). Silindirik yapıda olup nükleusları bazal olarak yerleşim

göstermektedir Baziler membran ve retiküler laminanın dalgalanma hareketlerinden sorumlu oldukları düşünülmektedir (36). İTH'lere göre daha lateral kısımda içten dışa, üç veya dört sıra olacak şekilde dizilmişlerdir. Hücrelerin ve sterosiliaların boyları içten dışa doğru artış gösterir. Korti organı içinde, apikal ya da bazal uçlarından Deiters hücrelerine ve bunların parmaklı çıkıntılarına sıkıca bağlıdırlar. Üzerlerinde sterosiliaların bulunduğu kutikuler plak içerirler. Bu plak üzerinde endolenf hücre sitoplazması arasında bağlantı sağlamaya yarayacak aralıklar vardır.

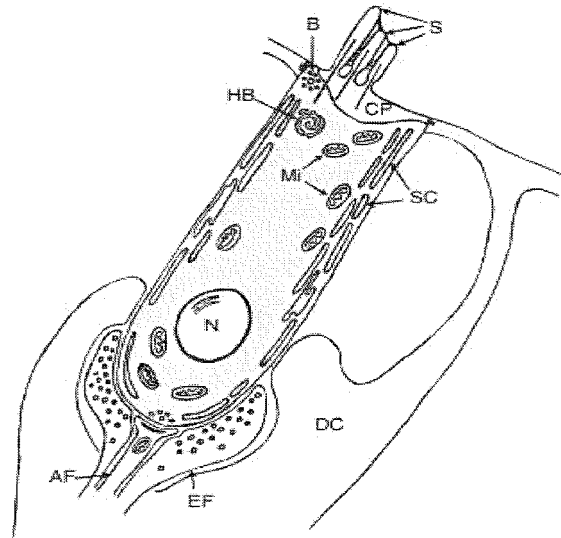
Sterosilyalar hücre yüzeyinde kutikuler plaktan uzanırlar. DTH'nin sterosiliaları "W" şeklindedir. DTH'nin uzunlukları (14- 55 mikron arası) bazalden apekse doğru gidildikçe artar. Sterosilyalar hücrenin lateral kısmında tektoriyel membrana gömülüdür. Sterosilyaların uçları katyon kapıları ile ilişkilidir. En dıştaki sterosilyaya doğru oluşan harekette K⁺ kanalları açılır ve K⁺'un hücre içine girişi olur. Hücrenin tabanındaki sinaptik aralığa hücreden sinaptik vezikül salınımı olur (35,36).

Deiters ve pillar hücreleri, DTH'lerin destek hücreleridir (şekil 2.12). Pillar hücre modiolusa yakın 1. ve 2. sıra DTH'lerle bağlantılıdır. Birinci sıradaki hücre DTH'ye modiolar ve lateral kısımdan; ikinci sıradaki hücre DTH'ye sadece modiolar kısımdan bağlanır. Üçüncü hücre ise DTH'ye Deiters hücreleri apikal ya da bazal uçlardan sıkıca bağlanır. DTH'ler ile destek hücreleri olan Deiters ve pillar hücreleri endolenf ile perilenf arasında sıkı bir bariyer oluştururlar.

Deiters hücreleri, basiler mebran üzerinde yerleşmişlerdir. Her biri DTH ve buna bağlı sinir ucunun tabanını fincan şeklinde sararlar. Sadece tabanda

açıklıkları vardır buradan afferent ve efferent sinir lifleri dış titrete tüylü hücrelere ulaşır. DTH ile Deiters hücrelerinin parmaklı çıkıntıları arasında sıvı dolu boşluk bulunur. Buna “Nuel boşluğu” adı verilir. Mikrofilamanlardan ve mikrotübüllerden oluşan iç ve dış pillar hücreleri içinde perilenf bulunan “Korti tüneline” oluşturur. Böylelikle İTH ve DTH bölgelerini birbirinden ayırırlar (37).

İç plazma membranı boyunca, kutikular tabakadan çekirdeğe doğru uzanan tabakalar halinde yüzeyaltı sisternalar vardır. Bu sisternalar içerisinde görevlerinin DTH’lerin hareketleri ile ilişkili olabileceği düşünülen **Hensen cisimcikleri** bulunur.



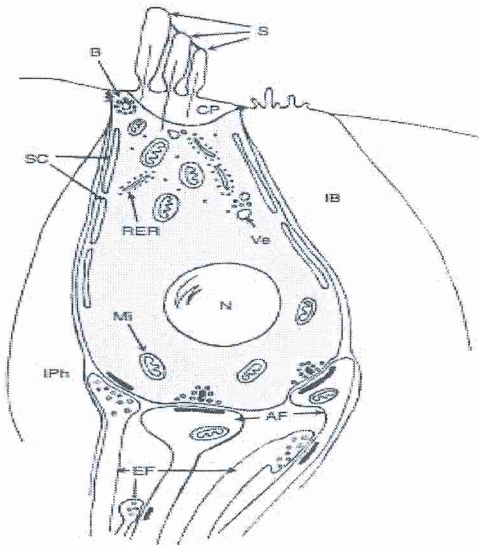
Şekil 2.12: Dış Tüylü Hücre, N: Ekstantrik Nukleus, Mi: Mitokondri, CP: Kutikuler Plak, B: Bazal Cisim, DC: Deiter Hücresi, AF: Afferent Sinir Lifi, EF: Efferent Sinir Lifi, HB: Hensen Cisimciği, SC: Yüzeyaltı Sisterna

İç titrete tüylü hücreler, ses dalgalarını nöral sinyallere kodlamakla görevlilerdir. Sayıları yaklaşık 3500 kadardır. Basık ve bülböz yapıdadırlar ve vestibüler hücrelere benzerler (şekil 2.13). Hücre çekirdekleri merkezde olup sitoplazmik organelleri dağınık yerleşimlidir. Tek sıra hücre dizileri biçiminde

korti organının modiolar tarafına yerleşmişlerdir. Pillar hücrelerinin ve korti organının lateralinde, spiral limbusun ağzında yerleşmişlerdir. Hensen şeritinin altında ve hafif lateralinde bulunur. Tektoriyel membran ve destek hücreleri ile çevrilidirler. Bu hücreler tektoriyel membran ile direk ilişki içerisinde değildirler.

İTH sterosilialarının şekli gömülü oldukları daha küçük ve oval şekilli olan kutiküler plaklarıyla da ilişkili olarak “U” şeklindedir. Taban kısmında ortalama 20 adet tip 1 afferent lif ile bağlantılıdır. Tipik olarak efferent lifler afferent sinir sonlanmalarında İTH’ler ile ilişkiliyken, erişkinlerde İTH’ler nadir olarak efferent liflerle direk bağlantı halinde de olabilmektedir. Bu durum kohlea apikal kesimlerinde daha sıktır.

İTH ve DTH kutiküler plakları ve destek hücreleri, korti organındaki hücreleri endolenfin toksik komponentlerinden koruyan **retiküler laminayı** oluştururlar (35,36,37).



Şekil 2.13: İç Tüylü Hücre, RER: Endoplazmik Retikulum, IB: İç Sınır Hücresi, IPh: İç Falangeal Hücre

Hensen hücreleri, korti organının dış-yan kısmında bulunur. Kohlea apikaline doğru uzunlukları artar. Bir kaç dizi halindedirler ve endolenf ile temas etmezler. Hensen hücreleri ile dış titreşim tüylü hücreler arasında arasındaki boşluğa “dış korti tüneli ” denir.

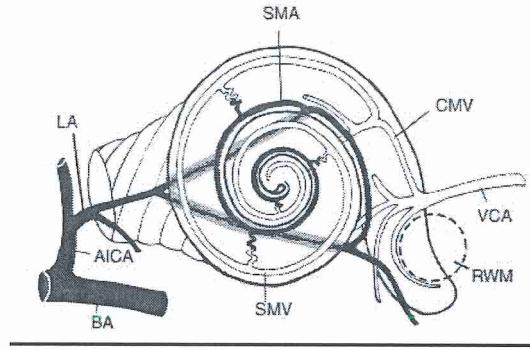
Spiral limbus, kemik spiral laminanın iç kenarına bağlanır. Spiral biçimde vaskülarize bağ dokusundan oluşur. Spiral limbusun endolenfatik yüzü ince bir hücre dışı membranla örtülüdür. Spiral limbusun bağ dokusu fibroblast benzeri hücrelerden yapılmıştır ayrıca vasküler elemanlar ve filamanlar da içerir.

İç sulkus, spiral limbusun dış kenarı ile korti organının iç kenarı ve yukarıda tektorial mebran arasında bulunan, kübik yapılı, sitoplazması açık hücrelerden oluşan kanaldır.

Tektoriyal membran, spiral limbus, iç sulkus ve korti organını örten, hücre içermeyen ekstrasellüler bir matrikstir. Fibröz materyalden yapılmıştır ve endolenfle ıslanmıştır. Dış tarafı marjinal bant denilen gevşek bir madde ile sonlanır.

İç kulağın damarlanması ise; anterior inferior serebellar arterin dalı olan labirentin arter, ikinci kranial sinir ile birlikte iç kulak yoluna girer. Labirentin arter bazen direk olarak ya da vertebral arterden de dallanabilir (38). İç kulakta dallanarak ana kohlear arteri ve anterior vestibüler arteri verir. Ana kohlear arter kohleanın apeksini besleyen spiral modiolar arter ve kohleanın bazal kıvrımını besleyen vestibülokohlear arter dallarına ayrılır. Spiral modiolar arter korti organını, lateral duvarı ve modiolusu besler. Venöz drenaj spiral modiolar venden

başlar kohleomodiolar vene boşalır, kohleaquadukt ven ile birleşir (35,37,38) (Şekil 2.14). Lenfatik drenaj ise endolenf ve perilenf olarak düşünülür, bunlar da duktus kohlearis aracılığı ile BOS'a karışır (27).



Şekil 2.14: İnsan kohleası damarlanması, BA: Basiler Arter, LA: Labirentin Arter, AICA: Anterior İnferior Serebeller Arter, SMA: Spiral Modiolar Arter, CMV: Kohleomodiolar Ven, SMV: Spiral Modiolar Ven, RWM: Yuvarlak Pencere Membranı, VCA: Kohleaquadukt Ven

Kohlear innervasyon: Kohlea üç tip sinir lifi tarafından innerve edilir:

otonom, afferent ve efferent. Otonom sinir lifleri korti organında izlenmemiştir.

Ancak kan damarları, modiolus ve spiral laminanın sinir lifleri ile ilişkilidir (40,41).

Korti organı sinirleri: İç ve dış tüylü hücreler hem afferent hem de efferent sinir lifleri ile innerve olurlar. Ancak bunların iç kulaktaki dağılımları farklıdır. Afferent liflerin yaklaşık %90'ı iç tüylü hücrelerle sinaps yapar. Geri kalan afferent sinir lifleri dış tüylü hücrelere gider. Efferent sinir lifleri ise iç ve dış tüylü hücreleri farklı şekilde innerve eder. Efferent sinapslar İTH gövdesinin yakınındaki afferent sinir lifi üzerinde sonlanırken, DTH gövdesinin tabanında sonlanırlar.

Miyelinli afferent ve efferent sinir lifleri spiral kemik laminayı radyal biçimde geçer ve laminayı terkederken myelinlerini kaybederler. Kemikteki habenula perforata denilen deliklerden geçip korti organına giderler. İTH afferentleri direkt hücre gövdesine gider. DTH afferentleri korti tüneline ve spiral demet olarak Deiters hücrelerinin arasından geçerek kohlear tabana doğru ilerler. Her sinir lifi yaklaşık 10 DTH'yi innerve eder.

Efferent sinir lifleri Rosenthal kanalı içinden spiral olarak ilerler. Kanal içindeki demete intraganglionik spiral demet denir. Bu demetten radial tarzda çıkan sinir lifleri korti organını innerve eder. İç tüylü hücreleri innerve eden efferent sinir lifleri tüylü hücre tabanının yanında iç spiral demet olarak isimlendirilen spiral bir demet oluştururlar. Bu demetteki lif sayısı kohlear apekse doğru artar. Bu lifler iç tüylü hücrelerin afferent sinir lifleri üzerine sinaptik temas oluştururlar. Diğer efferent sinir lifleri iç korti tüneline girer, spiral olarak ilerler ve sonra radyal yönde tüneli çarpazlar ve dış tüylü hücreleri innerve ederler. Dış tüylü hücrelerin innervasyonu apekse doğru azalır (41).

Spiral ganglion: İç ve dış tüylü hücreleri innerve eden nöron hücre gövdeleri spiral ganglionda bulunur. Bu hücre gövdelerini barındıran kemik kanal spiral yönde ilerler, bu kanala “**Rosenthal kanalı**” denir. Spiral ganglion içinde afferent bipolar hücre gövdelerinden kaynaklanan miyelinize sinir lifleri ve **intraganglionik spiral demet** olarak isimlendirilen efferent lifleri vardır. Otonom sinir lifleri de spiral ganglion boyunca ilerlerler (41).

Memelilerde spiral ganglion içerisinde iki tip afferent hücre bulunur. Hücrelerin %90'ı **tip 1**, geri kalan %10'u ise **tip 2** hücrelerdir. Tip 1 hücreler

geniş çekirdekli, içerisinde **Nissl cisimcikleri** bulunan bipolar hücrelerdir. Tip 1 hücreler 50 tabaka myelinle örtülüdür ve iç titreşim hücrelere giderler. Tip 2 hücreler daha küçük lobullü çekirdekli ve unipolar hücrelerdir. Miyelin kılıfları incedir, miyelinsiz olarak adlandırılırlar. Tip 2 hücreler dış titreşim tüylü hücreleri innerve ederler.

2.3. Santral Sinir Sistemi

2.3.1. VIII. Kranial Sinir

Vestibüler ve kohlear sinirlerin birleşmesiyle oluşur. İnternal akustik kanal (İAK) içerisinde fasiyal sinir ve intermedius sinirle birlikte seyreder. Kanal içerisinde transvers falsiform ve vertikal kremler sayesinde dört ayrı anatomik bölge bulunur. Süperior; önde fasiyal arkada süperior vestibüler sinir, inferior; önde koklear, arkada inferior vestibüler sinir bulunur.

Kohlear sinir vestibüler sinir ile porus akustikus internusta birleşir (42,43). İAK içinde vestibüler sinirin sakküler bölümü kohlear sinirin longitudinal fissürüne sokulan vestibulokohlear anastomozu (**Oort anastomozu**) meydana getirir. Kohlear sinir lifleri spiral bir seyri takip eder ve kohleotopik bir organizasyona sahiptir. Bazal kıvrım lifleri periferde yerleşirken, kohleanın apeksini innerve eden lifler daha derindedir (44).

Kohlear ve vestibüler sinirler arasındaki ilişki İAK'nın en lateralinden serebellopontin köşeye kadar değişiklik gösterir; iki sinir labirentten beyin sapına kadar 90° rotasyona uğrar. İAK'da anterior inferior konumda olan kohlear sinir

beyin sapına vestibüler sinire göre posterior ve lateral olarak girer. Rotasyonun çoğu İAK içinde olur (45,46). Sinir iki köke ayrılarak pontomedüller bileşkeden beyin sapına giriş yapar. Koklear sinir anteroventral kohlear nükleusun ön-iç tarafından girer. Her lif inen ve çıkan dallara ayrılır. İnen dallar posteroventral ve dorsal kohlear nükleusları innerve eder, çıkan dal ise anteroventral kohlear nükleusu innerve eder (47).

2.3.2. Kohlear Nükleuslar ve Akustik Stria

Kohlear nükleuslar, bilateral olarak pontomedüller bileşkeye lokalize, VIII. kranial sinir giriş noktasının yanındadırlar. Dördüncü ventrikülün lateral resessinin tabanında yer alırlar (47). **Ventral kohlear nükleus** ve **dorsal kohlear nükleus** olmak üzere ikiye ayrılırlar. Ventral kohlear nükleus yapısal olarak anteroventral ve posteroventral kohlear nükleus olarak sınıflandırılabilir. Anteroventral nükleus da kendi içinde anterior ve posterior alt bölümlerine ayrılır (48).

Her alt grupta yapılarına göre farklılık gösteren *küresel* ve *globüler çalı* biçimli, *multipolar*, *ahtapot*, *piramidal hücreler* ve *granüler hücreler* bulunur. Her biri farklı frekansları temsil ederek *karakteristik frekansı* oluştururlar.

Hücrelerden çıkan aksonlar üç demet oluşturur: Ventral akustik stria (trapezoid cisim de denir), intermediate akustik stria (Helde striası) ve dorsal akustik stria (Monakow striası).

Ventral akustik stria, medullayı geçerek superior lateral olive, superior medial olive, trapezoid cismin medial nükleusu ve inferior kollikulusta sonlanır.

Intermediate akustik stria, genellikle ahtapot hücrelerinden çıkar ve hem aynı taraf hem de karşı tarafta olmak üzere trapezoid cisimde, superior lateral olivede ve oliva bölgesinde sonlanır.

Dorsal akustik stria'dan çıkan lifler lateral lemniscus ve inferior kollikulusun santral nükleusunda sonlanırlar.

2.3.3. Süperior Olivar Kompleks ve Olivokohlear Demet

Pontin gri cevherin hemen dorsalinde, kaudal ponsta bulunur. Bu nükleus karmaşık birkaç çekirdekten oluşur: Süperior olive'in medial (MSO) çekirdeği, Süperior olive'in lateral (LSO) çekirdeği, Trapezoid cismin medial çekirdeği ve periolivari çekirdek.

Süperior olivar karmaşık morfolojisi, kohlear efferentlerin organizasyonu ve yerleşimleri farklı memelilerde değişkenlik gösterir. Primat olmayan türlerde MSO ve LSO çekirdekleri göze çarparken, insanlarda **MSO çekirdeği** predominanttır ve lateral nükleus küçük ve körelmiştir (49) . MSO çekirdeği bipolar nöronlardan yapılmıştır. LSO çekirdeği ise multipolar nöronlar içerir (50). MSO çekirdeği ventral akustik stria yolu ile her iki ventral kohlear nükleustan ipsilateral ve kontralateral innervasyon alır (51).

Süperior olivar kompleks (SOK), lateral lemniskusa ve lateral lemniskus yoluyla inferior kollikulusa çıkan lifler gönderir (52). SOK, olivokohlear demet yoluyla korti organındaki tüylü hücrelere de inen lifler gönderir. Bu yol ilk olarak *Rasmussen* tarafından 1946'da tanımlanmıştır (53).

2.3.4. Lateral Lemniskus

Lateral lemniskus, kohlear nükleusları ve süperior olivar kompleksi inferior kollikulusla birleştiren büyük, çıkan yoldur. Lateral lemniskus ile ilişkili üç temel hücre grubu vardır; ventral lateral lemniskus, intermediate lateral lemniskus, dorsal lateral lemniskus nükleusları. Kohleadan gelen pes frekanslar lateral lemniskusun dorsal çekirdeğine, yüksek frekanslar ise ventral çekirdeğine giderler. Lateral lemniskusun efferent projeksiyonu ise inferior kollikulusun santral kısmıdır.

2.3.5. İnferior Kollikulus

İnferior kollikuluslar (İK) bilateral olarak mezensefalonda bulunurlar. Çıkan işitme yolları için ana iletim istasyonu olarak ve alt beyin sapından medial genikulat cisme ve sonra da işitme korteksine giden akustik bilginin işlenmesinde görev yaparlar (54). İnferior kollikuluslar üç ana hücre grubundan oluşur; inferior kollikulusun santral nükleusu, İK'nın kaudal ve ventraline yerleşen inferior kollikulusun eksternal nükleusu ve perisantral nükleus. **Santral nükleus** bunlar

içinde en büyük ve en baskın olanıdır. Ventrolateral ve dorsomedial olarak bölümlere ayrılır.

Inferior kollikulusun santral nükleusu alt beyin sapından çıkan bilgilerin çoğunu alır. Her iki kohlear nükleustan, SOK'tan, lateral lemniskus nükleuslarından, işitme korteksinden inen afferentlerden input alır. İK'nın santral nükleusu düşükten yüksek frekanslara doğru düzenli bir progresyonla birlikte *tonotopik* bir organizasyon gösterir (55).

Inferiorun ana efferentleri medial genikulat cisme gider ancak İK aynı zamanda inferior kollikulus komissürü yoluyla kontralateral İK'ye de lifler gönderir (56). Posterior talamik kısmın lateral kısmı, süperior kollikulusun derin tabakaları ile de bağlantılıdır.

2.3.6. Medial Genikulat Cisim

Medial genikulat cisim, inferior kollikulusun kollarının lifleri ve işitme korteksi arasına eklenen, çıkan işitme yollarında bir iletim istasyonudur. Talamusta bulunur, lateral genikulat cismin iç tarafına yerleşmiştir. Ventral, medial ve dorsal olmak üzere bölümlere ayrılmıştır.

Medial genikulat cismin üç alt bölümü de İK'nın nükleuslarından çıkan lifleri ve işitme korteksinden inen lifleri alır (56).

2.3.7. İşitme Korteksi

İşitme korteksi, primer işitme korteksi ve ilişkili işitme alanları olarak ayrılır. İnsanlarda primer işitme korteksi (Brodmann'ın 41. ve 42. alanları) temporal lobun üst kenarlarında bulunur ve spesifik işitme ve nonspesifik ilişkili alanlar (Brodmann'ın 22. ve 52. alanları) tarafından çevrelenmiştir. İlişkili alanlar primer korteksi frontal ve temporoparietal bölgelere bağlar. Bu bölgeler dil, konuşma, görme alanlarını ilgilendirir.

İşitme korteksi talamusa, orta beyine ve ponsa üç ana inen yol verir. Her bir kortikal işitme alanı kısa geri dönüşümlü halkalar kurmak için medial genikulat cisme afferent lifler gönderir. Ayrıca primer işitme korteksi İK'nın santral nükleusunun bilateral santral ve ipsilateral perisantral nükleusları ile bağlantı kurar (57).

2.4. İşitme Fizyolojisi

Kulak, ses enerjisinin beyin tarafından algılanmasını sağlayan biyolojik bir mikrofondur. Ses enerjisi titreşimlerden oluşup hızı bulunduğu ortamın yoğunluğuna göre değişkenlik gösterir. Katı ortamlarda en hızlı şekilde yayılırken, sırasıyla sıvı ve gaz ortamlarda daha yavaş yayılım hızı gösterir. Ses enerjisinin bulunduğu ortamda karşılaştığı bu dirence akustik impedans denir. Bu durumun işitme fizyolojisinde önemli bir payı bulunmaktadır. Çünkü ses, işitme esnasında yoğunluğu az olan atmosferik alandan, yoğunluğu çok olan sıvı ortama (perilenf) geçiş göstermektedir. İki ortam arasındaki impedans farkının çok olması

enerji kaybının daha da artmasına neden olacaktır. Bu farklılık işitme fizyolojisinin temel basamaklarından birini oluşturmaktadır.

İşitme, atmosferde meydana gelen bu titreşimlerin, sırasıyla dış, orta ve iç kulak tarafından toplanarak farklı bir impedansa sahip bir ortama iletilmesi ve bunun beyindeki merkezde anlam ve karakter kazanması süreci olarak tanımlanabilir. Yani işitme birbirini izlemesi gereken basamaklar sonucu oluşabilir. İlk olarak atmosferde oluşan bu titreşimlerin, iç kulakta bulunan ve işitmenin temel organı olan kortiye iletilmesi gerekmektedir. Bu aşamada sırasıyla kulak kepçesi, dış kulak yolu, kulak zarı ve kemikçikler görev almaktadır. Bu aşama iletim aşamasıdır ve bizzat sesin kendi enerjisi ile iletimi sağlanır. İkinci aşamada ise, kortiye gelen ses enerjisinin bazı biyokimyasal süreçler neticesinde elektrik enerjisine dönüşümü sağlanır. Üçüncü aşamada ise oluşan bu enerjinin kodlanması gerekmektedir. Yani her enerji, sahip olduğu şiddet ve frekans neticesinde kortide belli sinir liflerine hitap ederek o liflerin iletimini harekete geçirmiş olur. Son aşamada ise, kortide kodlanmış olarak beyindeki işime merkezine ulaşan bu lifler, burada çözülerek anlamlaştırılır ve buna da “cognition” veya “association” denir. Tüm bu basamaklar sonrası atmosferdeki bir titreşim, beyinde bir anlam kazanmış olur (58).

Bu titreşimlerin anlam kazanabilmesi için bu yolların her birinin kendine özgü görevleri bulunmaktadır. Vücudumuz özellikle de başımızın bize ulaşan bu titreşim dalgalarında engelleyici etkisi bulunmaktadır. Fakat kulak kepçemiz ve dış kulak yolu bu titreşimleri toplamak ve orta kulağa yönlendirmekle görevlidir. Orta kulakta ise, daha az yoğun ortamdan, daha yoğun

olan perilenf ortamına geçecek olan enerjinin mevcut impedans farkından ötürü kayıp yaşamaması için bir takım amplifikatörler mevcuttur. Bunlar kemikçiklerin kaldıraç etkisi, kulak zarının oval pencereye olan yüzey alan farklılığı ve kemikçiklerin yükseltici etkisi olarak sayılabilir. Tüm bunlar sayesinde, impedans farkı nedeniyle sesin uğrayacağı desibel (dB) kaybı engellenmiş olur. Bu sayede ses enerjisi perilenfe iletilmiş olur. Perilenf sıvısı kemik bir kanal içerisinde sıkıştırılamaz olduğundan titreşim gösterebilmesi için her iki ucu membranla örtülüdür. Bu sayede titreşim göstererek bazal membranda uyarı oluşumu sağlanmış olur. Hem oval hem de yuvarlak pencereye işitme esnasında enerji iletimi olur. Fakat uyarılma şekilleri farklı olduğu için enerji aynı frekans ve fazda olmaz. Yuvarlak pencere direkt olarak kulak zarından orta kulak boşluğuna yayılan enerji sayesinde, oval pencere ise kemikçiklerin iletimi sayesinde uyarılmış olur. Yani oval pencerenin uyarılmasında orta kulaktaki amplifikasyon mekanizmaları rol almış olduğundan, iletilen ses enerjisi daha fazla olmaktadır. Her iki membran arasında oluşan bu faz farkına ‘defasaj’ denir. Waver ve Lawrence yapmış oldukları çalışmalarda bu durumu ve önemini ortaya koymuşlardır (58).

Perilenf hücre dışı sıvı ile benzerlik gösterir. Yani yüksek Na^+ konsantrasyonu ve düşük K^+ konsantrasyonu içerir (Potasyum 10 mol/l, sodyum 140 mol/l). Skala vestibüli ve timpani perilenf sıvısı ile doludur. Ses enerjisinin iç kulağa ulaşması ile birlikte perilenf titreşimi meydana gelir. Perilenf titreşimini takiben baziler membranda hareketlenme gözlenir ve bu bazal turdan başlayarak apikal tura kadar izlenebilir. Bakesy, yapmış olduğu deneysel çalışmalarda bu

dalgalanma hareketini göstermiş olup “gezinen dalgalar” olarak tanımlamıştır (59).

Bakesy, aynı zamanda farklı frekanstaki seslerin baziler membranın farklı bölgelerinde, farklı amplitüdler oluşturduğunu da gözlemlemiştir. Yüksek frekanslı seslerde bazal turda baziler membran amplitüdünün daha fazla olduğu, düşük frekanslı seslerde ise apikal bölgede baziler membran amplitüdünün yüksek olduğunu göstermiştir. Bundan dolayı, yüksek frekanslı sesler bazal turda kalır iken, alçak frekanslı seslerde gezinen dalgalar bazalden apekse kadar ulaşmaktadır (59).

Baziler membranda oluşan bu titreşimler, baziler membran üzerinde bulunan korti organında uyarı oluşturmaktadır. Korti organı, bu titreşim enerjisinin elektriksel enerjiye dönüşüp, sinir hücrelerinin uyarılmasını sağlayan dış ve iç tüylü hücreler ve destek hücrelerini içermektedir. Bu tüylü hücrelere gelen yaklaşık 50.000 lifin olduğu düşünülmektedir. Bu liflerin %90-95'i iç tüylü hücrelerde sonlanan tip 1 nöronları içerir. Geri kalan kısım ise dış tüylü hücrelerde sonlanan tip 2 nöronları içermektedir.

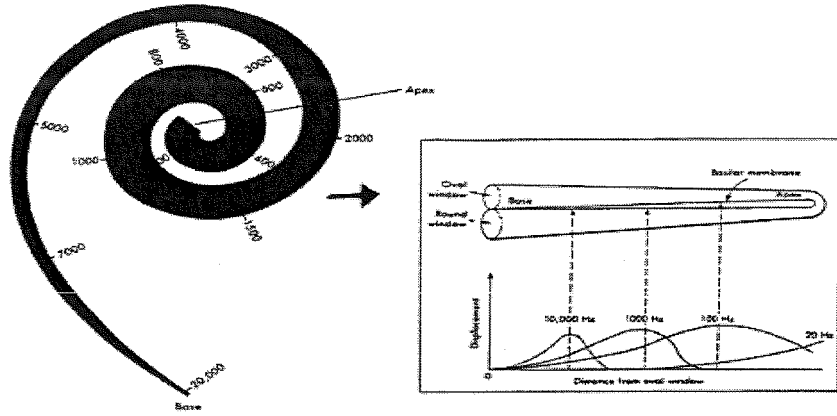
Dış titreşim tüylü hücreler frekansa özgü farklılaşma gösterebilirler. Yani kohleanın farklı bölgelerine yerleşmiş olan her bir DTH'nın maksimum titreşim gösterdiği farklı frekanslar bulunmaktadır. Baziler membranın da frekansa özgü titreşim göstermesi, dış tüylü hücrelerin frekans seçiciliğinden kaynaklanmaktadır.

Baziler membranın her hareket edişinde, tüylü hücrelerin de hareketlenmesiyle, tektoryal membran ile bu hücrelerin tepesindeki sterosilyalar üzerinde bulunan iyon kanallarının etkileşmesi sayesinde biyokimyasal değışiklikler gerçekleşir. Hareketin yönüne göre de bu kanallar açılıp kapanabilir.

DTH'ler ile tip 2 nöronların sinaptik alanlardaki nörotransmitterler hakkında kesin bir bilgi olmamakla birlikte, tip 1 nöronlar ve İTH sinapslarının temel nörotransmitteri glutamattır (60,61).

Burada iyon kanalı olarak görev yapan iki tip glutamat reseptörü bulunur; kainat ve α - amino-3-hidroksi-5-metilisoksazol-4-propionik asit (AMPA). Ayrıca iyonik glutamat reseptörlerini uyaran N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri de bulunmaktadır. Kohleada dört temel potansiyel kaydedilmiştir. Bunlar *endolenfatik potansiyel*, *kohlear mikrofonik*, *sumasyon potansiyeli* ve *birleşik aksiyon potansiyelidir*. Bu potansiyellerden sadece endolenfatik potansiyel işitsel uyarı olmaksızın, skala medyada kendiliğinden ölçülen 80-100 mV luk potansiyeldir. Bu potansiyel, yoğun damarlanmanın olduğu stria vaskülaristeki Na^+ K^+ ATPaz kanalları ile oluşmaktadır (62). Kohlear mikrofonik, DTH'lerdeki elektriksel direnci temsil eder. DHT'lerdeki sterosilyaların hareketi doğrultusunda dirençte artma ya da azalma gözlenir. DTH'lerdeki olası hasarlarda kohlear mikrofonikler kaybolur. Genellikle kohlea içerisinde veya yuvarlak pencere civarında kaydedilir. Sumasyon potansiyeli sese yanıt olarak DTH'lerin intrasellüler potansiyelleridir.

Tip 1 nöronlar bipolardır. Spiral gangliyon'dan çıkan dendritleri İTH'ye ulaşırken, aksonları süperior olivary komplekse ulaşırlar. Tip 2 nöronlar ise monopoldürler ve DTH'de sonlanırlar. Kohleada görülen frekansa spesifik ve non-linear (şekil 2.15) özellikler sinir hücrelerinde de geçerlidir.



Şekil 2.15: Kokleanın Frekanslara Göre Tonotropik Organizasyonu

2.5. İşitsel Beyin Sapı Cevabı

ABR, işitme sinirinden beyin sapı yollarına uzanan çok sayıda nöronun uyarılması sonucu kaydedilen uzak saha potansiyelleridir. İlk kez Sohmer ve Feinmesser tarafından 1967'de elektrokokleografi çalışmaları sırasında kaydedilmiş ve ilk kez 1970'te Jewett, Romano ve Willinston tarafından tanımlanmıştır. Jewett ve Willinston (1971), birbirinden bağımsız yedi dalgadan oluşan bir dalga serisi tanımlamış ve dalgaları romen rakamı ile adlandırmıştır (I-VII dalgalar). Verilen uyarılar akustik dönüştürücüler vasıtasıyla verilir ve beyin sapı davranımını yansıtan görüntüler kaydedilir (64).

Kullanılan sesler click, ton burst ve gürültüdür. Click geniş band uyarandır, ton burst ise frekansa spesifiktir. Click uyaranda baziler membranın geniş bir alanı uyarıldığı için, birçok sinir lifini eş zamanlı uyararak güçlü işitsel beyin cevabı elde edilmiş olur. Click uyaranda 1000-4000 Hz frekansı aralığındaki işitme hakkında bilgi edinilmiş olur (65,66).

I. dalga, 8. sinirin distal ucu içinde oluşan potansiyellerin uzak alan göstergesidir. Kokleadan çıkan ve internal akustik kanala giren 8. sinir liflerinin afferent aktivitesinin sonucu olarak kaydedilir. Dalga II, Moller'e göre 8. sinirin proksimal ucundan kaynaklanır. Normal işiten insanlarda dalga III'ün kaynaklarını tanımlamak üzere yapılan çalışmalara göre bu dalga, koklear çekirdek içindeki veya yakınındaki ikincil sıra nöron aktivitesinden ve koklear çekirdeğe giren sinir liflerinden doğar (64,67). Dalga IV'ün süperior oliver kompleksin medial çekirdeğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Dalga V, ABR'nin klinik uygulamasında en fazla analiz edilen bileşendir. Kaynağının inferior kollikulus olduğu düşünülür. Inferior kollikulus, işitsel beyin sapında büyük ve karmaşık rolü olan bir yapıdır. Yaklaşık 6-7 mm çapındadır. Farklı nöronal yapıya sahip alt grupların toplamının birleşimidir (64,67). VI. ve VII. dalgaların kaynakları konusunda kesin bulgular yoktur. Moller bu dalgaların inferior kollikulustaki nöronların devam eden senkronize hareketlerinden kaynaklandığını söylemektedir (67). Literatürde deney hayvanlarında yapılan ABR incelemelerinde saptanan dalga sayıları hakkında değişik rakamlar verilse de, çalışmaların genelinde ilk dört dalga değerlendirmeye alınmıştır. Bu dalgalar içinde en yüksek amplitüdü olan ve rahatça tanımlanabilen dalga III. dalgadır

(68). Çalışmamızda dalgaları belirlerken III. dalga referans alındı. Ratlarda ABR eşiği belirlenirken III. dalganın görüldüğü minimum seviye esas alındı.

2.6. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı

Gürültüye bağlı işitme kaybı (GBİK), işitmeye zarar verebilecek sesin, şiddet ve zaman eğrisine göre, akustik travma, geçici veya kalıcı eşik kayması şeklinde sınıflandırılan, tedavisi mümkün olmayan, fakat önlenmesi mümkün olan, bireysel olduğu kadar toplumsal bir sağlık sorunudur.

2.6.1. Gürültünün Tanımı, Karakteristiği ve Dökümantasyonu

Gürültü, şiddeti belirli bir seviyenin üzerine çıkarak işitmeye zarar verebilen seslere denir (69). GBİK çok uzun yıllardan beri bilinen bir sağlık sorunudur (*İşçilerin Hastalıkları*, De Morbis, Artificum Diatriba, 1713). USA National Institute of Occupational Safety & Health'e göre zararlı gürültü tanımı; günlük 8 saat boyunca 85 dB seviyesi üzerindeki sese maruz kalınması şeklinde tanımlanmıştır (70). Bu seviye üzerindeki sesler tüylü hücrelerde geri dönüşümsüz hasar meydana getirir.

GBİK, dünyada önemli bir toplumsal sağlık meselesi haline gelmiştir. Bu durumu en çok, gelişen teknoloji ve sanayi tetiklemiştir. GBİK, yaşa bağlı gelişen işitme kayıplarının ardından en sık görülen işitme kaybı nedenidir. Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü yaklaşık 30 milyon Amerikalının her gün işitme kaybı yaratabilecek düzeyde gürültüye maruz kaldığını bildirmiştir (71). Ayrıca özel

vakıflar ve İşitme Sağlığı Ulusal Seferberliği, Birleşik Devletler’de GBİK için yıllık 2 milyar dolar harcadığını tahmin etmektedir (72).

GBİK’nın uzun yıllar maruz kalınan gürültüler neticesinde sıklıkla yaşlılarda görüldüğü kabul edilse de, gelişen teknoloji ve değişen müzik dinleme alışkanlıkları neticesinde, çocuk ve gençlerin de işitme kaybı sebeplerinden biri haline gelmiştir (73).

GBİK, tedavi edilemeyen fakat önlenabilir bir durumdur. Bundan dolayı, çalışma sahalarında koruyucu önlemler alınmasını gerektirmektedir. Bazı ülkelerde aşırı gürültüye maruz bırakabilecek teknolojik cihazların kullanımının yasaklanması şeklinde bir takım önlemler, yasal zorunluluklar haline getirilmiştir (74).

GBİK, kendini yüksek frekanslarda sensörinöral tipte kayıp şeklinde (3000-6000 Hz arası) gösterir. Aynı zamanda tinnitus ve konuşmayı ayırt etme skorlarında da düşme gözlenir. Kayıp en derin 4 kHz seviyesinde olup, bu odyolojik bulguya 4 kHz çentiği denilmektedir (75).

Gürültünün birçok farklı yönleri vardır. Spektral içeriğine göre pür tone, dar band ve geniş band olmak üzere üç gruba, karakterine göre ise dalgalı, aralıklı, sürekli, basınçlı ve kırılğan olmak üzere beş kategoriye ayrılır. Sürekli sesler hiç kesilmeyen ve şiddetinde bir artış ya da azalma göstermeyen seslerdir. Aralıklı sesler, zaman zaman tamamen kaybolan seslerdir. Dalgalı seslerde ise sesin şiddetinde zaman zaman artış azalmalar izlenir. Basınçlı sesler ise tüm bu sınıflandırmanın içerisinde en travmatik olanıdır. Sesin dışında basıncın da

göstermiş olduğu etki söz konusudur. Kısa süreli olup ciddi akustik travma yaratırlar. Gaz patlamaları ve ateşli silaha yaralanmaları bu türdendir. Kırılğan sesler ise metallerin birbirine çarpmasıyla meydana gelen seslerdir ve bu tip gürültüler de akustik travmalar yaratacak düzeydedir. Kısa süreli dirler ve eko yapma özelliklerine sahiptirler (69,76).

Basıncılı ve ani seslerin sürekli olan gürültülere göre daha fazla hasar oluşturmalarının nedeni akustik refleks sisteminin devreye girememesinden kaynaklanmaktadır. Akustik refleks, yüksek seslere (>90dB) maruz kalındığında devreye giren koruyucu bir mekanizmadır. Gürültü esnasında orta kulak kaslarının kasılması ve sesin iç kulağa geçmesini zorlaştıracak direncin oluşmasını sağlamaktadır. Fakat bu sistem nöral iletim yoluyla kontrol edildiğinden, yanıt verebilmesi için 25-150 ms'lik bir süre gerekmektedir. Ani patlamalarda, bu refleks oluşmadan ses iç kulağa ulaştığı için, şiddetli hasar meydana gelmektedir ve ani, geri dönüşümü olmayan kayıplara neden olmaktadır (76).

Gürültünün seviyesi genellikle ses basınç düzeyi (SPL) olarak ifade edilir. Bu değer ses düzeyi ölçer (Sound level meter- SLM) kullanılarak, A ölçeği olarak adlandırılan formül ile desibel (dB) biriminde hesaplanır. A ölçeğinde yer alan gürültüler, 1-5 kHz arasında olup, insan kulağının eşik değer-hassasiyet eğrisini taklit eder. Orta ve yüksek frekansları içeren gürültüler ise, B ve C ölçeğinde yer alırlar. Bunlar işitme organı için daha az zararlı gürültülerdir (69,77). Standart SLM'ler gürültü büyüklüğünü otomatik olarak dB biriminde ölçmek üzere planlanmış elektronik bir şebekeye sahiptir. Etki ve vuruş gürültüsünü ölçmek için

ise, anlık başlangıcı olan sesleri doğru olarak ölçebilen özel bir yüksek nokta okuyucu SLM gereklidir (78).

Klinik olarak işime kaybının değerlendirilmesinde üç ayrı eşik değeri tanımlanmıştır (69,76):

Geçici eşik yükselmesi(Temporary Threshold Shift- TTS): TTS'de oluşan işitme kaybı geri dönüşümlüdür. Kişi orta şiddetli seslere kısa ya da uzun süre maruz kaldığında ortaya çıkan sensörinöral tipte işitme kaybıdır (79,80). İşitme kaybı yüksek frekansları içerip, klinikte 4000 Hz çentiği dediğimiz odyometrik görüntüyü oluşturur. TTS durumuna sıklıkla işitme kaybına tinnitus, yüksek sese tahammülsüzlük, boğuk sesler ve diplakuziden oluşan diğer semptomlar eşlik eder. İşitme kayıpları, genellikle 24 saatlik istirahat sonrası geri dönüş gösterir. Bu durumla ilgili olarak yapılan araştırmalarda, yeni bulgular tüylü hücrelerin 48 saatlik bir dönemde tepeden tabana kadar ultrastruktürlerini yeniden oluşturabilme yeteneğine sahip olduklarını göstermiştir (81). Burada iyileşme süresi, maruz kalınan gürültünün şiddeti ve süresine göre dakikalardan günlere kadar uzayabilir (79,80).

Belirsiz eşik yükselmesi(Asymptotic Threshold Shift- ATS): Belirli şiddetteki ses TTS'ye neden olur ve bu sese uzun süre maruz kalmak TTS'nin uzamasına neden olur. Fakat bir noktada plato oluşur ve gürültü maruziyeti devam etse dahi, işitmede daha fazla kayıp yaratmaz. Bu seviye, belirli şiddetteki sese uzun süre maruz kalmış kişilerde, işitme kaybının en üst noktası olarak tarif edilir ve PTS'nin üst sınırını olarak kabul edilir.

Sürekli eşik yükselmesi(Permanent Threshold Shift- PTS): Gürültüye maruz kalındıktan sonra, TTS eğer yeniden aşırı sese maruz kalmadan iyileşmezse, kalıcı eşik kayması (permenant threshold shift-PTS) olarak ifade edilen, işitmede kalıcı bir değişiklik meydana gelebilir (69,78). PTS'de kohleanın önemli elemanlarında kalıcı yapısal hasar meydana gelmektedir. İşitme eşiklerindeki yükselme geri dönüşümlü değildir. Gürültüye maruz kalmaya bağlı TTS ve PTS işitme kaybı evreleri arasındaki kesin ilişki bilinmemektedir. Ancak bir gürültü TTS oluşturmuyor ise PTS oluşturmaz. Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada, geçici veya kalıcı GBİK oluşumundaki temel olayların birbiriyle ilişkili olmadığı gösterilmektedir (82,83).

Nordman ve ark. (83), TTS ve PTS'de gürültü hasarının histopatolojik bulgularının farklı olduğunu göstermişlerdir. TTS maksimum etkilenen frekans bölgesindeki destek sütun cisimlerindeki bükülme ile ilişkilidir. Bunun aksine, PTS ile ilişkili olan morfolojik bozuklukların, fokal tüylü hücre kaybı ve bunlara giden sinir liflerinin uçlarında tam dejenerasyon şeklinde olduğunu göstermişlerdir.

PTS'de oluşan işitme kaybı da yine yüksek frekanslarda başlar fakat maruziyet süresi uzadıkça tüm frekansları içerisine almaya başlar, ancak 1 kHz'nin altına geçmez. Gürültüye maruziyet ortadan kalktığında, işitme kaybındaki ilerleme de durur.

PTS'nin oluştuğu tablolar iki grup halinde incelenebilir. Bunlar ani ve patlayıcı şekilde oluşan akustik travma ve yıllar içerisinde kronik gürültünün oluşturduğu GBİK'lardır (71,78).

Akustik travma ani, kısa süreli yüksek şiddeteki patlama ve basınçlı sesler sonrası kohleada meydana gelen geri dönüşümsüz hasarı tanımlar. İşitme kaybı sensörinöral olup, sesin kulak zarı ve orta kulakta yarattığı anatomik hasarlara da bağlı olarak iletim komponenti de eklenebilir. İşitme kaybı genellikle tek taraflı asimetrik olarak izlenir (77).

Gürültüye bağlı işitme kaybı, insan kulağı için zararlı sayılabilecek seviyedeki seslere (8saat/gün, 85 dBA) uzun süreler maruz kalınması sonucu ortaya çıkan işitme kaybıdır (71,78). Sıklıkla mesleksel hastalıklar olarak gözlenir. Buradaki işitme kaybı, bilateral, simetrik ve sensörinöral tiptedir. İşitme kaybı yüksek frekansları ilgilendirip, en fazla kayıp 4 kHz'de gözlenir. GBİK odyogramlarında saptanan tipik 4000 Hz ukuru;

1. DKY'nin rezonatör etkisine (84),
2. Akustik reflekslerin düşük frekanslarda i kulağı korumasına,
3. Kokleanın bazal turundaki dış tüylü hücrelerin daha hassas olmasına,
4. Orta kulağın alçak frekanslarda lineer özellik gösterip, yüksek frekanslarda lineer özellik göstermemesine bağlıdır (78,84,85).

Fakat gürültüye maruziyetin devam etmesi halinde düşük frekansları da etkilemesi mümkündür (71). Gürültüye kronik maruziyet sonrasında kohleada

yavaş ilerleyen harabiyet ile geri dönüşümsüz bir işitme kaybı gözlenir (71,86).

Gürültü maruziyeti sonrasında işitme kaybında ilerleme de azalır (76).

Gürültü sonrasında en çok ve ilk hasar kohleanın dış saçlı hücrelerinde meydana gelir ve ilerlemesi halinde iç ve dış tüylü hücrelerin hepsi zarar görür (87,88). Erken evrelerde geçici işitme kayıpları meydana gelir ve literatürde tariflenmiş çeşitli rejenerasyon mekanizmaları ile işitme kaybı düzelebilir. Schneider ve ark. (81,89), 2002’de yaptıkları çalışmalarında bu değişimin 48 saat içinde geliştiğini öne sürmektedirler.

Burada maruz kalınan gürültünün süresi ve seviyesine bağlı olarak gelişen hasar minimal kayıptan (silialarda füzyon, eğilme), destek hücrelerinin de hasarlandığı total harabiyete kadar değişebilmektedir. Dejenerasyonun belirli bir seviyenin üstüne çıkması halinde de geri dönüşümsüz süreç başlar ve kalıcı işitme kaybı gelişir (90).

2.6.2. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı Patofizyolojisi

Yüksek sese maruz kalındığında iç kulakta ve özellikle korti organında önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Kohlea sensöriyel epitelini, Hansen ve Dieter hücrelerinin desteklediği tek sıra iç tüylü ve üç sıra dış tüylü hücreler oluşturmaktadır. Maruz kalınan gürültünün içeriğine göre hasarlanma, subsellüler seviyeden total harabiyete kadar değişen spektrumda meydana gelebilir (76). Bu doğrultuda baziller membranın ciddi hareketinden kaynaklanan mekanik yaralanma, aktive olan hücrelerin metabolik yorgunluğu, vazokonstrüksiyona

neden olan aktivite sonucunda oluşan iskemi, sensoryal ve destek hücrelerinin organizasyonundaki bozulmalara bağlı olarak, kohleanın normal kimyasal cevaplarının kesintiye uğraması sonucu iyonik zehirlenme gibi birçok mekanizma ileri sürülmüştür (91).

Buradaki en belirgin hasar, elektron mikroskopi altında gösterilen dış ve iç tüylü hücrelerin silyalarında meydana gelen hasarlanmalardır. Silyalarda ilk izlenen değişiklik, silyal kökçüklerin kısalmasıdır (92). Bu durum klinik olarak TTS'yi işaret etmektedir. Fakat köklerde meydana gelen kırılma şeklindeki değişiklikler, klinik olarak PTS'yi işaret eder ve geri dönüşümsüz aşama olarak bilinir (93,94).

Tüm bu hasarlarda, fiziksel ve metabolik faktörlerin ortak rol aldığı düşünülmektedir. Literatürde, GBİK'da kohleadaki oksidatif hasar oldukça geniş yer bulmaktadır (95). Bu nedenle yapılan bir çok çalışmada, GBİK'daki hasardan serbest oksijen radikalleri sorumlu tutulmaktadır (96,97).

Kohleadaki oksidatif stres, mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, glutamat eksitoksitesi ve glutatyon azalmasına bağlı olarak meydana gelmektedir (76). Shi'nin (98) çalışmasında serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin yanı sıra nitrik oksit (NO) salınımını da tetiklediği gösterilmiştir. Bu çalışmadan yola çıkarak, Yamasita ve ark.'nın (99) yaptıkları çalışmada NO ve SOR'nin kombinasyonu sonucunda kohleada Peroxynitrite (ONOO⁻) olduğu ve bunun gürültüye maruz kalındıktan uzun süre sonra bile dokuda yer aldığı ve oluşan bu oksidan stresin hücre ölümünü tetiklediğini ortaya koymuştur. Pek çok araştırmacı GBİK'da

vasküler komponent olasılığını merak etmekle birlikte, eldeki deliller tartışmalıdır (100). Vasküler hastalığın GBİK'ya yatkınlığı arttırdığı net değildir (101).

2.6.3. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybına Yatkınlık

Gürültüye olan hassasiyet kişiden kişiye çok değişkenlik göstermektedir. Aynı şiddetteki ve süredeki sesin kişiler üzerinde oluşturduğu etkiler tamamen farklı olmaktadır (102). Bireylerin GBİK'ya olan yatkınlıklarının aynı olmadığı ilk olarak Fosbroke (1830) tarafından ileri sürülmüştür (103).

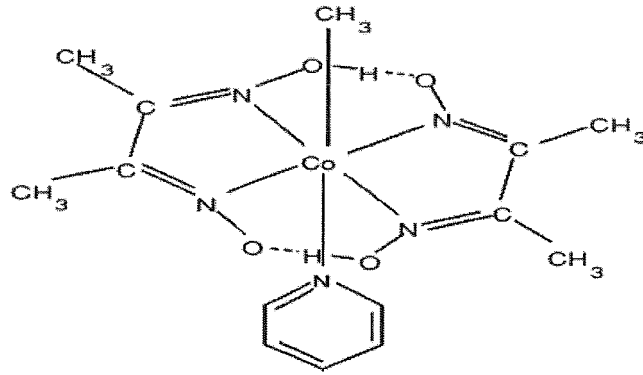
Yapılan çalışmalarda, yaş, cinsiyet, göz rengi, ırk, sigara kullanımı gibi faktörlerin kişisel duyarlılıkla ilgili olduğu bulunmuştur (104,105). Aynı iş yerinde aynı seviyedeki gürültüye maruz kalanlar arasında, kadınlarda daha az işitme kaybı gelişmesi buna bir örnektir (106,107). Gençlerin, orta ve ileri yaştakilerden GBİK'ya daha yatkın olduklarını ileri sürenlerin yanısıra, aksini iddia edenler de vardır. Ancak kobaylarda yapılan çalışmalarda, henüz tam matür olmamış işitme sisteminin daha kolay dejenere olduğu gösterilmiştir (108,109). Howel'in yaptığı çalışmada daha önce GBİK yaşamış olanların, sonraki dejenerasyonlara daha hassas olmadığı yönündedir (110).

GBİK'da kayıp ilk yıllarda daha fazla olmakla birlikte, sonraki yıllarda bu kayıp hızı azalmaktadır. Bu da, etkilenmiş olan kulağın gürültüye daha dirençli olabileceği anlamına gelebilir. Çoğu orta kulak patolojisi ses enerjisinin orta kulaktan iç kulağa geçmesini engelleyerek oluşabilecek GBİK'nın derecesini azaltır. Tek taraflı iletim tipi işitme kaybı olan olgularda bu durum saptanmıştır

(111). Otosklerozlu ve kronik otitis medialı kulakların da iletim tipi kayıp nedeniyle ses enerjisini iç kulağa daha az ilettikleri kabul edilir (112). Willson ve ark. (113) kan basıncı, kan ve idrar biyokimyası gibi 28 parametre ile yaptığı çalışmada, genel sağlık durumu ile işitme kaybı arasında bir ilişki bulunmadığını iddia etmişlerdir.

2.7. B12 Vitamini

B12 vitamini, merkezinde bulunan kobalt atomunu çevreleyen tetrapirel halkalarından ve yine kobalt atomuna bağlı yan zincirlerden oluşur (şekil 2.16) (114). Kobalt, korrin halka sistemiyle yapıya bağlanır. Korrin halkası düzleminin altında bulunan yani kobalt atomunun α -ligandına 5,6-dimetilbenzimidazol ribozid bağlanır ve imidazol halkası azotu ile kobaltın bir koordinasyonu sağlanmıştır. Bu yapı korrinoidlerin bir alt grubunu oluşturur ve kobalamin olarak tanımlanır (115,116).



Şekil 2.16: Vitamin B12'nin Kimyasal Yapısı

B12, başta DNA sentezi olmak üzere vücutta birçok önemli reaksiyonlarda koenzim veya kofaktör olarak rol almaktadır. Vitamin B12 vücutta iki önemli tepkimede koenzim olarak görev yapmaktadır. Homosisteinin metiyonin sentetaz enzimi tarafından metiyonine dönüştürülmesi tepkimesinde metilkobalamin ve metilmalonil-CoA'nın metilmalonil-CoA mutaz enzimi tarafından süksinil-CoA'ya dönüştürülmesi tepkimesinde de 5-deoksiadenozil kobalamin koenzim olarak görev almaktadır (117).

Metiyonin sentaz ve L-metilmalonil KoA mutaz enzimlerinin kofaktörü olan vitamin B12, metiyonin sentaz enzimi, metiyonin ve tetrahidrofolat (THF) oluşturmak üzere, homosistein metiltetrahidrofolattan metil grubu transferini katalizler. Vitamin B12 eksikliğinde folik asit rezervi N5-metiltetrahidrofolat halinde kalır, birinci derecede yararlı türevler oluşmaz. Buna metil folat tuzağı denir. B12 vitamin eksikliği, DNA içinde urasil birikmesine neden olmaktadır (118). Vitamin B12, emilim ve taşınmasını kolaylaştıran IF, transkobalamin-II ve haptokorrinler gibi kobalamin bağlayıcı proteinlere sahiptir (119). Gıdalar ile alınan B12 vitamini, mide ve tükürük sekresyonunda mevcut R-bağlayıcı protein, serbest kobalamin ve analoglarını bağlamaktadır. Proteine bağlı olmayan kobalamin ağızda dilaltında emilmektedir. Kobalamin-R-bağlayıcı protein kompleksi duodenumun alkali ortamında pankreatik enzimler aracılığı ile R-bağlayıcı protein sindirime uğratılır ve serbest kalan kobalamin gastrik glikoprotein olan IF' ye bağlanır. Vitamin B12-IF kompleksi endositoz ile hücre içine alınarak, kobalamin bazal membrandan portal kan dolaşımına geçmekte ve transkobalamin-II proteinine bağlanmaktadır (120).

B12 eksikliği, yetersiz alınması durumlarında veya yetersiz emilmesi gibi durumlarda meydana gelebilir. Fakat vücut depoları iki yıla kadar bu eksikliği tolere edebilir. Eksikliğinde ise başta anemi ve nöro-psikiyatrik hastalıklar görülmektedir (121).

Görülen anemi megaloblastik anemi olup sebebi, fonksiyonel folat eksikliğinin de neden olduğu pürin ve timidin sentezindeki duraklamadan dolayıdır. Ayrıca hiperhomosisteineminin ateroskleroz, serebrovasküler ve periferik vasküler hastalıklarda rolü de bilinmektedir (122,123).

Merkezi sinir sistemi ve spinal kord B12 eksikliğinden önemli ölçüde zarar görmektedir. Ayrıca B12'nin direk ve indirek etkileri ile antioksidan etkileri de gösterilmiştir (124). B12 ile ilgili işitme üzerine yapılmış çalışmalarda hem gürültüye hem de yaşa bağlı oluşan işitme kayıplarında koruyucu etkileri gösterilmiştir (11,12,13).

2.8. Sarımsak Özütleri (S-allylmercaptocysteine ve Dallyl Disulfide)

Sarımsak uzun yıllardır pek çok farklı kültürde medikal amaçlarla kullanılmıştır (125,126). Sarımsak sağlığa faydalı etkileri bulunan organosülfür bileşiklerinden zengin bir kaynaktır (127). Her birinde farklı organosülfür içerikleri bulunan kapsül, yağ ve tablet gibi farklı sarımsak özütleri bulunmaktadır (128).

Sarımsağın antioksidan etkisi olan aktif komponentleri S-allyl cysteine (SAC), S-allylmercaptocysteine (SAMC), diallyl disulfide (DADS), alliin, ve allicin'dir (129,130,131,132).

Çok sayıda çalışmada sarımsak özütü (AGE) ve organosülfür komponentlerinin güçlü antioksidan özellikleri gösterilmiştir. Bu çalışmalarda farklı antioksidan mekanizmalar ortaya konmuştur (133-137).

Reaktif oksijen (ROS) ve reaktif nitrojen (RNS) moleküllerinin temizlemesi (138):

- 1- Enzimatik ve nonenzimatik antioksidan düzeylerini arttırması
- 2- Nrf 2 faktörü aktifleştirmesi
- 3- Bazı oksidan enzimleri inhibe etmesi (ksantin oksidaz, siklooksijenaz ve NADPH oksidaz) mekanizmaları ile olmaktadır.

AGE, taze sarımsağın oda sıcaklığında paslanmaz çelikten tanklarda 20 haftaya kadar bekletilmesiyle elde edilen kokusuz bir üründür. AGE'nin bu süreçte yapılan bazı değişikliklerle farklı türevleri geliştirilmiştir;

- 1- Allicin'in protein derive sisteinle reaksiyonu sonucu S-allylmercaptocysteine oluşumu.
- 2- 3 ay bekletildikten sonra tiosulfınatların kaybıyla diallyl disulfide bileşiklerinin oluşumu.

Güçlü antioksidan etkilerinin dışında gösterilmiş başlıca etkileri, nöroprotektif etkisi (139-141), iskemik beyin hasarlarını azaltması (142,143), antiaging etkisidir (144,145).

Özellikle nörolojik birçok hastalıkta yapılmış önemli çalışmalar bulunmaktadır. Alzheimer hastalığında (146-149), Huntington hastalığında (150-152), Parkinson hastalığında (153,154) antioksidan, nöroprotektif ve iskemiye engelleyici etkileri gösterilmiştir. Ayrıca aterosklerotik hastalarda, sigara içenlerde ve orak hücreli anemide faydalı etkileri gösterilmiştir. Aterosklerozlu hastalarda lipid peroksidasyonu ve LDL oksidasyonunu azaltarak (155), orak hücreli anemide orak hücreli eritrositlerin oluşumundan sorumlu Heinz body oluşumunu azaltarak (156,157), sigara içenlerde oksidan etkilerden sorumlu Prostaglandin F₂ ailesinden F₂ isoprostanların düzeyini azaltarak (158) antioksidan etkiler göstermektedir.

Sarımsak ve sarımsak ekstraktlarının kanser önleyici etkisi hayvan modellerinde yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (159-161.). Epidemiyolojik çalışmalar sarımsak tüketimi ile kolon ve mide kanseri riski arasında ters orantı olduğunu göstermiştir (162). Sarımsağın antitrombotik (126), kan lipid düzeyini düşürücü ve kardiyoprotektif (163) etkileri gösterilmiştir. DADS ve SAMC sarımsağın bekletilme süresinde oluştuğundan, sarımsak özütünün (AGE) antioksidan etkileri taze sarımsak ve diğer ticari sarımsak preparatlarına göre daha fazladır (164).

SAC, SAMC, DADS gibi sarımsak özütlerinde sülfür atomu sayısı arttıkça radikal temizleyici özelliklerinin attığı gösterilmiştir (164).

AGE karsinogenezin erken ve geç evrelerini inhibe ederek kolon, meme, cilt, mide ve özofagus gibi pek çok dokuda tümör büyümesini inhibe etmektedir

(159,165). AGE'nin nefrotoksisiteden koruyucu etkisi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (129-132,166).

Sarımsak türevlerinin gentamisin ototoksisitesine bağlı işitme kaybından koruyuculuğunun test edildiği bir çalışmada SAM, SAMC ve DADS'nin üçünün de kontrol grubuna göre anlamlı olarak koruyucu olduğu görülmüştür. Aynı zamanda DADS ve SAMC'nin SAC'a göre daha etkili olduğu ortaya konmuştur (167).

2.9. Wistar Ratlar

Ratlar 1800'lü yıllardan bu yana laboratuvarlarda yetiştirilmektedir. İlk albino rat 1900'lü yılların başında koloni standardizasyonu yapılmaya çalışılması esnasında bulunmuştur. Daha sonralarda, Amerika'da bulunan Wistar Enstitüsü'nde üretimlerinde melezleri ortaya çıkmış ve bundan dolayı 'Wistar Albino' adını almıştır (168).

2.9.1. Rat Kulağı Anatomisi Ve İşitme Özellikleri

İçerik bakımından rat kulağı, insan kulağına ait tüm anatomik yapıları içermektedir. Fakat yapılar, insandakine göre çok daha küçük boyutlardadır. Örneğin, ratların kemikçikleri insanınkinin yaklaşık dörtte bir boyutundadır (169). Ratların orta kulak morfolojileri 1978 yılında Fleischer tarafından tanımlanmıştır. Buna göre rat orta kulağının iki ayırt edici özelliği vardır. Bunlar, malleusun

goniyal kemik bölgesinde timpanik anulusa yapışık olması ve malleus başı üzerinde orbiküler apofiz denilen geniş kütlenin varlığıdır.

İnsanlar ile ratlar arasındaki farklılıklar:

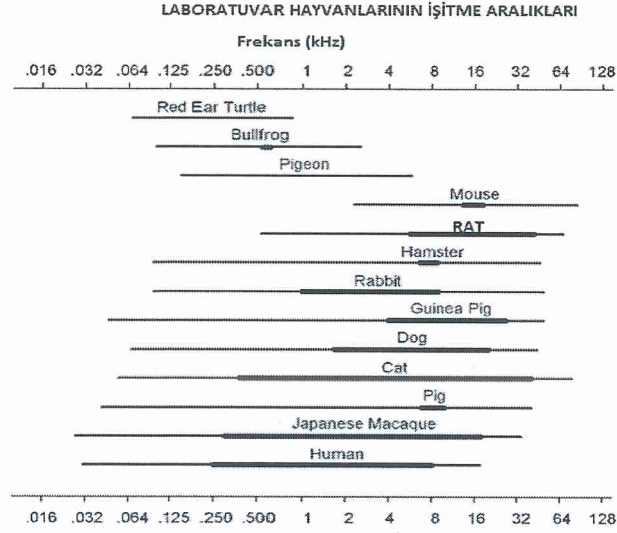
- 1- İnsanda timpanik membran yüzey alanı 66 mm^2 iken, ratlarda 11 mm^2 'dir (170).
- 2- Pars flaksida/pars tensa oranı insanda çok küçük iken bu oran ratlarda yaklaşık 1/3 civarındadır. Yani ratların pars flaksida rölatif boyutları, insana göre daha fazladır.
- 3- *Eustachian tüpü* (ET), genellikle kapalı konumdadır ve yatay yerleşimlidir. Ayrıca ET mukozası yoğunlukta goblet hücreleri içerirken, az sayıda muköz gland içermektedir (171).
- 4- ET açılma basınçları insandakine yakındır. ET silyalı ve sekretuar mukozalarla örtülü olmak üzere iki farklı kanal ile orta kulağa açılır.
- 5- İnsan ve rat mukozaları benzer mukosiliyer transport sistemi dağılımı gösterirler (172).

Rat orta kulağının genel anlamda yapısı insaninkine benzemektedir. Ratlarda, mastoid hücreler yerine tabandan çıkıntı şeklinde timpanik bulla bulunmaktadır. Orta kulak boşluğunun medial duvarını promontoryum, ET ağzı, yuvarlak pencere, oval pencere ve stapes oluşturmaktadır. Lateral duvarın büyük kısmını ise, geniş pars flaksidası ile timpanik zar oluşturmaktadır. Orta kulak mukozası skuamöz-küboidal, silyasız epitel ile örtülüdür.

İnsanda malleus-inkus kompleksi, anterior malleolar ve posterior inkudal ligamanlar doğrultusunda rotasyonel aksa sahiptir.

Fleischer'a (1978) göre ratlarda, malleusun timpanik anulusa olan belirgin fiksasyonuna rağmen, kemikçik rotasyonu mümkündür. Bu rotasyonu mümkün kılan inkus kısa kolunun bağlantısıdır. Ratlarda manibrium mallei, bu rotasyon aksına paralel yerleşimlidir. Ayrıca Fleischer (1978), malleus üzerine yerleşik orbiküler apofizin oluşturduğu kitlesel etkinin, malleus-inkus kompleksinin yerini değiştirdiği ve bunun da malleusun transvers bölümü doğrultusunda ikinci bir rotasyon aksı oluşmasını sağladığını ortaya koymuştur. Buna dayanarak, ratlarda iki tane rotasyon aksı olduğunu ve malleusun da iki adet vibrasyon modu olduğunu ortaya koymuştur.

Kohleanın eksenini, sagittal ve horizontal düzleme yerleşik bulunmaktadır. Dönüş sayısı da $21/4$ veya $21/2$ olarak belirlenmiştir. Koklear kanalın uzunluğu 12,16 mm'dir. Membranöz kokleanın yapısı insandaki gibidir (173). Ratların işitme duyuları insana göre iyi gelişmiştir. Ratlarda işitme aralığı 70 dB'de 250-80.000 Hz aralığındadır. En duyarlı oldukları frekans aralığı ise 8.000-32.000 Hz'dir. Seslere genç ratlar daha duyarlıdır. Alçak frekanslı seslerde insanlardan daha kötü duyarken, yüksek frekanslı seslerde ratlar insanlara göre çok daha iyi duymaktadırlar (şekil 2.17). Yavru ratlar soğuk ve açlık gibi stres durumlarında ultrasonik sesler çıkarırlar. Erişkin ratlar kısa ve uzun dalgalı sesler üretir (174).



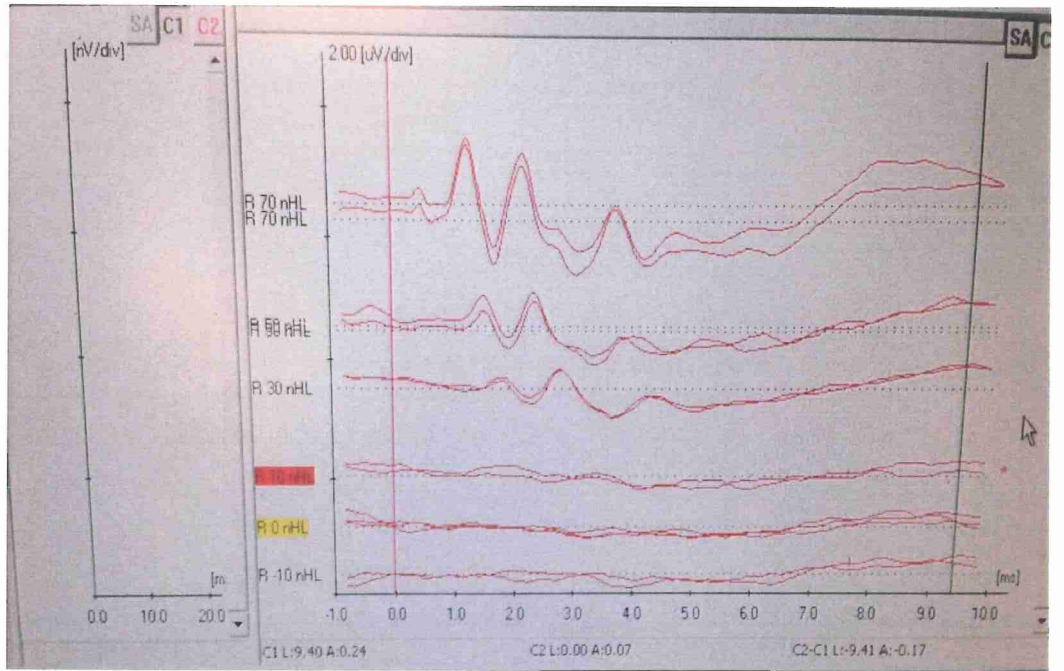
Şekil 2.17: Laboratuvar Hayvanlarının İşitme Aralıkları (175)

2.9.2. Deney Hayvanlarında Beyinsapı Cevapları (ABR)

İşitsel elektriksel akımların varlığı ilk olarak 1875 yılında Caton'un yapmış olduğu hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Uyarılmış işitsel potansiyellerini erken, orta ve geç latans cevapları olarak 3 grupta inceleyebiliriz. Erken latans cevaplar, uyarıyı takiben 1-10 msn içinde oluşan ve ABR adı verilen potansiyeller olarak adlandırılır (176,177,178).

1983 yılında *Wada ve Starr* tarafından yapılan çalışmalarda uyarının başlangıcından sonraki ilk 10 ms'de 5 pozitif ve 4 negatif dalgadan oluşan ABR'leri elde etmişlerdir. Pozitif dalgalar "P", negatif dalgalar "N" olarak adlandırılmıştır. Bu çalışmaya göre deney hayvanlarının ABR'sinde P1- N1 ipsilateral VIII. sinirden, P2- N2 ipsilateral kohlear nükleustan, P3 kontralateral superior oliver kompleksten, N3 kontralateral lateral lemniskustan, P4 her iki superior oliver kompleksten, N4 her iki lateral lemniskustan kaynaklanmaktadır.

P4 ve P5'in amplitüdleri %60 oranında az olup, belirsizlerdir (179). Literatürde deney hayvanlarıyla yapılan ABR incelemesinde gösterilmiş dalga sayıları hakkında değişik rakamlar söylene de, çalışmalarda geneline ilk dört dalga değerlendirmeye alınmıştır. Bu dalgalar içinde en yüksek amplitüde sahip olup en rahat saptanan dalga III. dalgadır (180). Çalışmamızda dalgalar belirlenirken III. dalga referans dalga kabul edildi. Ratlarda ABR eşiği belirlenirken, III. dalganın görüldüğü minimum seviye esas alınmıştır (şekil 2.18).



Şekil 2.18: Ratlarda beyin sapı cevapları

3. MATERYAL VE METHOD

Çalışmamız Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilimdalı Uzmanlık Tezi olarak yapılmıştır. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirilen çalışma için (Proje numarası: 01/2015-14) etik kurul izni alınmıştır.

Çalışma esnasında *Helsinki Nihai Senedi*'ndeki deneysel hayvan çalışmaları ile ilgili maddelerin tümüne uyuldu.

3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deneysel çalışma için GÜDAM laboratuvarından alınan, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen, genç-yetişkin winstar tip, sağlıklı, erkek ratlar kullanıldı. Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından her bir grup için 6 hayvana izin verilmiştir. Çalışmada 4 grup oluşturulup toplam 24 adet rat kullanılmıştır. Gruplar 'A' (intragastrik, 100 mg/kg serum fizyolojik, n=6), 'B' (intraperitoneal, 1 mg/kg B12, n=6), 'C' (intragastrik, 100 mg/kg SAMC, n=6), 'D' (intragastrik, 50 mg/kg DADS, n=6) olarak isimlendirildi (şekil 3.1).

Grup A:

Birinci gruba, günlük 100 mg/kg intragastrik yoldan serum fizyolojik iki hafta süre ile verildi. 2. haftanın sonunda hayvanlar gürültüye maruz bırakıldı. Gürültü, 8 saat süre ile 110 dB SPL beyaz gürültü (white noise) şeklinde tüm hayvanlara uygulandı. Ardından 14 gün süre ile aynı doz ve şekillerde serum

fizyolojikler verilmeye devam edildi. Gürültü sonrası hemen (0.saat), 48.saat ve 14. günler ABR testleri yapıldı.

Grup B:

İkinci gruba 1 mg/kg B12 vitamini intraperitoneal yoldan iki hafta süre uygulandı. İki hafta sonunda hayvanlar gürültüye maruz bırakıldı. Gürültü, 8 saat süre ile 110 dB SPL beyaz gürültü (white noise) şeklinde tüm hayvanlara uygulandı. Ardından 14 süre ile aynı doz ve şekillerde B12 verilmeye devam edildi. Gürültü sonrası hemen (0.saat), 48.saat ve 14. günler ABR testleri yapıldı.

Grup C:

Üçüncü gruba 100 mg/kg intragastrik olarak S-allylmercaptocysteine (SAMC) 2 hafta süre uygulandı. İki hafta sonunda hayvanlar gürültüye maruz bırakıldı. Gürültü, 8 saat süre ile 110 dB SPL beyaz gürültü (white noise) şeklinde tüm hayvanlara uygulandı. Ardından 14 gün süre ile aynı doz ve şekillerde S-allylmercaptocysteine verilmeye devam edildi. Gürültü sonrası hemen (0.saat), 48.saat ve 14. günler ABR testleri yapıldı.

Grup D:

Dördüncü gruba 50 mg/kg intragastrik olarak dilallyl-disulfid (DADS) 2 hafta süre uygulandı. İki hafta sonunda hayvanlar gürültüye maruz bırakıldı. Gürültü, 8 saat süre ile 110 dB SPL beyaz gürültü (white noise) şeklinde tüm hayvanlara uygulandı. Ardından 14 süre ile aynı doz ve şekillerde DADS verilmeye devam edildi. Gürültü sonrası hemen (0.saat), 48.saat ve 14. günler ABR testleri yapıldı.



Şekil 3.1: Deneyde kullanılan moleküller; SAMC, DADS ve B12 vitamini

Sadece B3 ve D3 numaralı hayvanlar gürültü sonrası 48. saat yapılması planlanan ABR'ler öncesi verilen anestezi sonrası ölmüşlerdir. İki hayvan dışındaki tüm hayvanlar çalışmayı tamamlamıştır.

3.2. Gürültü Modelinin Oluşturulması

Gürültü verme işlemi için, her grup (her kafeste kendi grubu olan toplam 6 hayvan) genişliği 40x60 cm, yüksekliği 20 cm, tepesi tel, tabanı plastik olan ayrı kafeslere yerleştirildi. Gürültü maruziyeti süresince ratların suya ve yeme serbestçe ulaşmaları sağlandı. Gürültü izole odada 'interacoustic AC 40' marka odyometri cihazı ile üretildi. Üretilen akustik uyaran 'Power Amplifier AP 70' model amplifikatör ile güçlendirilerek 'JBL Northridge E Series EC25' model iki adet hoparlör ile sunuldu. Hoparlörler kafeslerin 1 metre yanlarına eşit mesafelerde, karşılıklı yerleştirildi. Gürültü geniş band (White noise) olacak şekilde ayarlandı. Şiddeti, ses düzeyi ölçer (sound level meter) mikrofonu kafes tabanının orta noktasına yerleştirilerek yapılan ölçümlerde 110 dB SPL olacak şekilde kalibre edildi. Hayvanlar 8 saat süre ile gürültüye maruz bırakıldı. Ratlara uygulanan gürültüye bağlı işitme kaybı modeli şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2: Gürültü modelinin oluşturulması

3.3. Hayvanlara Anestezi Verilmesi

Odyolojik incelemelerden önce ratlara 5mg/kg Xylazine (Rompun ®, Bayer Vital, Leverkusen, Germany) ve 35mg/kg Ketamin HCl (Ketalar ®, Eczacıbaşı Warner Lambert, İstanbul, Türkiye) karışımı %2'lik solüsyon halinde intramusküler enjeksiyonla verilerek anestezi sağlandı.

Ratların sakrifikasyonu öncesi yüksek doz Xylazine ve Ketamin HCl karışımı intramusküler olarak uygulandı ve intrakardiyak kan alımı ile ratlar sakrifiye edildi.

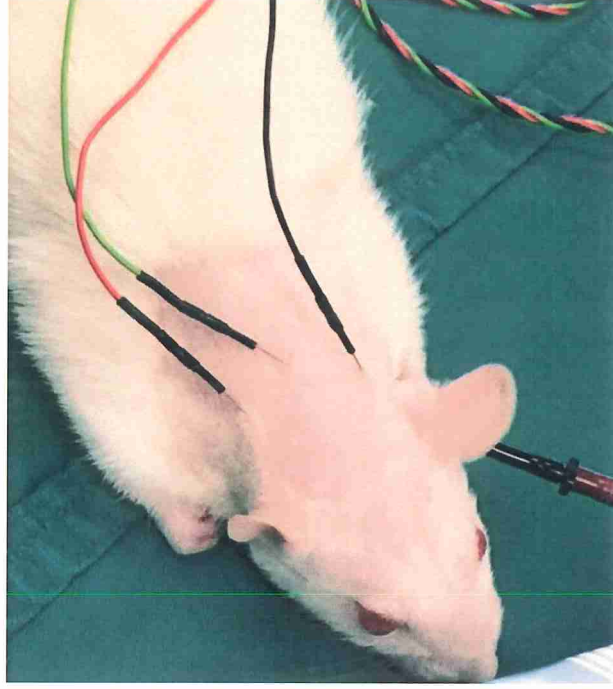
3.4. Odyolojik İnceleme

Çalışmamızda elektrofizyolojik test olarak işitsel beyin sapı cevabı (ABR) kullanılmıştır. Tüm ratların çalışma öncesi tek (sağ) taraflı işitsel beyin sapı cevaplarına bakılmıştır. Tüm ratların kulak muayeneleri otoskop ile yapılmıştır.

Çalışmaya dâhil edilen ratların dış kulak yollarının ve kulak zarlarının normal anatomide olmasına dikkat edilmiştir, buşon olması halinde temizlenmiştir.

Çalışmaya alınan ratların ABR ölçümleri Bio- Logic Systems Corp. Marka Navigatör Pro Model (2. 2. 0 versiyonu) cihaz ile gerçekleştirildi. ABR ölçümlerine başlanmadan önce paslanmaz çelikten 20x0.45 mm'lik iğne elektrotlar kullanılmıştır. Toprak elektrot sol mastoid bölge ve referans elektrot sağ mastoid bölge cilt altına, aktif elektrot vertekste cilt altına yerleştirilmiştir. Elektrotların birbirine değdirildiğinde elektrot impedansının “0” Kohm, ratlara yerleştirildikten sonra ise impedansın “5” Kohm altında olmasına dikkat edilmiştir. Ölçülen taraftaki DKY'den kanal içine pediatrik kulak problemleri yerleştirildi (şekil 3.3).

İşitsel beyin sapı cevaplarının ölçümünde 13.00 *rate click* uyaran, 10 ms analiz zamanı, 1000 *sweep*, 100-1500 Hz filtreleme rarefaction polarite kullanılmıştır. 70 dB nHL şiddet seviyesinde kayda başlanmış, alınan yanıtlara göre şiddette değişiklik yapılmıştır. ABR değerlendirmesinde “click” ve “tone-burst” uyaran kullanılmıştır. Tone-burst uyaran 4,6 ve 8 kHz'de alternating polaritede, 50-1500 Hz band-pass filtreleme yapılarak uygulanmıştır.



Şekil 3.3: ABR testinde prob ve elektrotların yerleştirilmesi.

3.5. Cerrahi Uygulama

Çalışmada kalan 22 rata, son ilaç uygulamasının ve 14. gün ABR testlerinin bitimini takiben ötanazi işlemi uygulandı. Ratların sağ temporal kemik rezeksiyonu yapıldı. Timpanik bulla kohleaya uzak bir şekilde çalışılarak açıldı ve kohlea orta kulakta görüldü. Kohleanın çevresindeki temporal kemiğe ait kısımlar kohlea etrafında olabildiğince kemik dokusu kalmayacak şekilde çıkarıldı. Kohleanın içinde bulunduğu kemik kısım histoloji ve embriyoloji bölümü tarafından hazırlanmış olan gluteraldehidli solüsyon içerisine konularak bölüme teslim edildi.

3.6.Transmisyon Elektromikroskopik İnceleme

3.6.1.Histolojik Yöntem

Dokular dekalsifikasyon işleminin tamamlanması ve tespit işleminin gerçekleşebilmesi için yaklaşık 15 gün süresince Gluteraldehit içeren EDTA'lı dekalsifikasyon solüsyonun alınarak ilk tespitleri sağlandı.

Osmiyum Tetroksit tespiti:

Osmiyum tetroksit (OsO_4) 0.1 g

Distile su 5 cc

1 kısım Sorenson fosfat tamponu + 1 kısım osmiyum tetroksit

Dokular bu şekilde hazırlanmış %1'lik osmiyum tetroksit çözeltisinde 1 saat etkin bırakıldı. Böylece tespit ve boyanmaları sağlanmış oldu.

Dehidratasyon ve blok oluşturulması:

Dokular osmiyumla ikinci kez tespit edildikten sonra, doku içindeki fazla suyun uzaklaştırılması için, artan derecelerdeki alkol serilerinden geçirildi.

%50'lik alkol 10 dakika

%60'lık alkol 10 dakika

%70'lık alkol 10 dakika

Uranil asetat30 dakika (1 g uranil asetat+50 ml %80'lik alkol karışımı hazırlandıktan sonra süzülerek 10 dakika bekletildi.)

%80'lik alkol 2 kez yıkandı ve 10 dakika bekletildi.

%90'lık alkol 10 dakika

%96'lık alkol 10 dakika

%100'lük alkol15 dakika

Propilen oksit30 dakika

Propilen oksit +1. gömme materyali 30 dakika

1. Gömme materyali (Araldit CY 212 10 cc + DDSA 10 cc): 1 gece.

2. Gömme materyali (Araldit CY 212 10 cc + DDSA 10 cc + BDMA 0.4 cc + Dibütil fitalat 1 cc): 2 saat oda ısısı.

3. Gömme materyali: 2 saat 40°C etüv.

Daha sonra dokular, içinde aynı gömme materyali bulunan 00 numara jelatin kapsüle gömüldü. Blok içindeki havanın çıkması için 1 saat oda ısısında bekletilen dokular, polimerizasyon için 24 saat 45 C'de, 48 saat 60 C'de etüvde bekletildiler. Süre sonunda etüv kapatılarak dokular etüv içinde kendi hallerinde soğumaya bırakıldı.

Hazırlanan bloklardan LKB Leica ultramikrotom ile 1 μ kalınlığında kesitler alındı ve toluidin mavisi ile boyandı. Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde incelenen kalın kesitlerin resimleri çekildi ve bu bölgeler işaretlenerek formvar kaplı bakır gridler üzerine 0.2-0.5 μ 'luk ince kesitleri alındı. Kontrast sağlamak için alınan kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanarak Carl Zeiss EVO LS 10+ED Transmission Elektron Mikroskopta (TEM) değerlendirilerek fotoğraflandı.

3.7. İstatiksel Değerlendirme

Araştırma verisi “SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL)” aracılığıyla bilgisayar ortamına yüklendi ve değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler ortanca (minimum-maksimum) olarak sunuldu. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Shapiro-Wilk Testi) kullanılarak incelendi ve tüm değişkenlerin normal dağılıma uymadığı saptandı. İki bağımsız grup arasındaki istatistiksel anlamlılıklarda Mann-Whitney U Testi, üç veya dört bağımsız grup arasındaki istatistiksel anlamlılıklarda ise Kruskal Wallis Testi istatistiksel yöntem olarak kullanıldı. Anlamlı fark saptandığında farkın kaynağını bulmaya yönelik ikili karşılaştırmalarda bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U Testi uygulandı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. İşitsel Beyin Sapı Cevabı Bulguları (ABR)

Araştırma kapsamında her grupta 6 rat olmak üzere toplam 24 rat incelendi. Serum fizyolojik verilen ratlar “kontrol” grubu olarak, B12, SAMC ve DADS verilenler ise verilen ilaç isimleriyle adlandırıldı ve bunlar çalışma grupları olarak kabul edildi. İncelenen ratların ilaç öncesinde, hemen gürültü sonrasında, gürültü sonrası 48. saatte ve 14. günde işitme kayıpları kaydedildi. Gürültü sonrası 48. saatte B12 ve DADS gruplarından birer ratın ölmesi üzerine bundan sonraki değerlendirmeler 22 rat üzerinden yapıldı.

Kontrol ve B12 grupları arasında çeşitli zamanlardaki işitme kaybının dağılımı Tablo 4.1’de sunulmuştur.

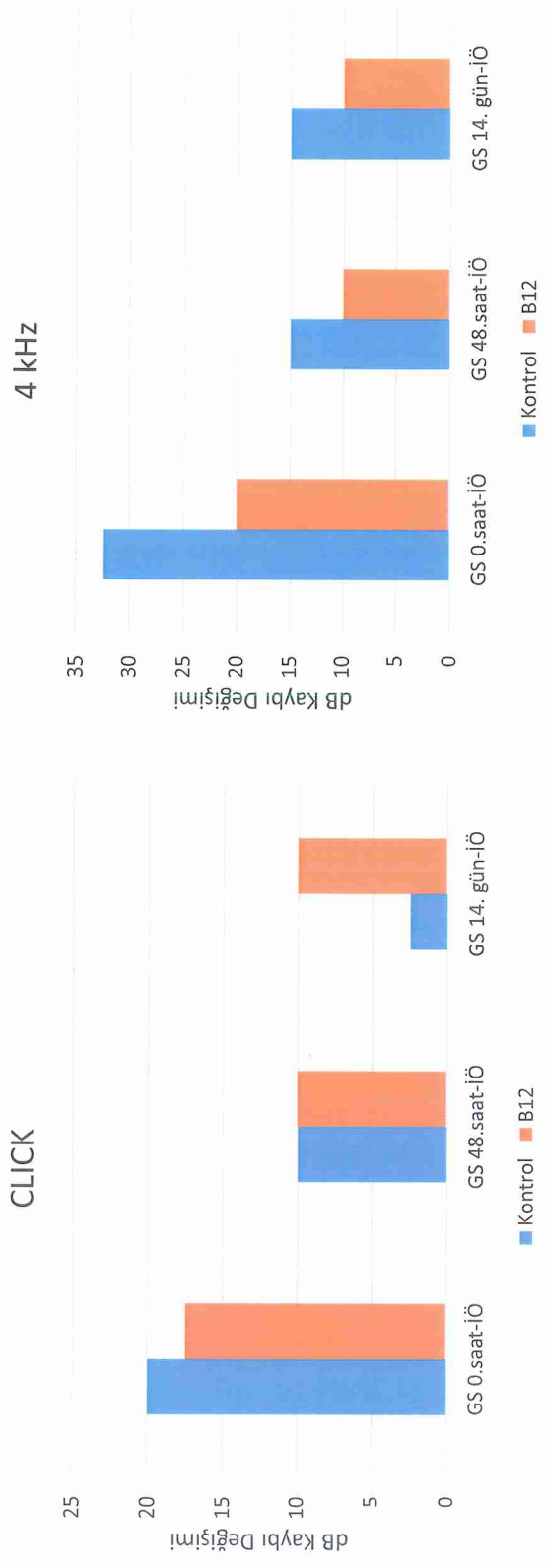
Kontrol ve B12 grupları arasında 8 kHz’de ilaç öncesine göre gürültü sonrası 14. gündeki işitme kaybı değişimi açısından ve 8 kHz’de gürültü sonrası 48. saate göre gürültü sonrası 14. gündeki işitme kaybı değişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (Mann-Whitney U Testi, $p<0,05$). B12 grubunda yer alan ratların 8 kHz’de ilaç öncesine göre gürültü sonrası 14. gündeki işitme kaybı değişimi ile 8 kHz’de gürültü sonrası 48. saate göre gürültü sonrası 14. gündeki işitme kaybı değişimi kontrol grubunda yer alanlardan anlamlı olarak düşüktü (Tablo 4.1, Şekil 4.1, 4.2).

Diğer taraftan kontrol ve B12 grupları arasında diğer tüm frekans ve zamanlardaki değişim miktarları benzerdi (Mann-Whitney U Testi, $p>0,05$) (Tablo 4.1, Şekil 4.1, 4.2).

Tablo 4.1: Kontrol ve B12 Grupları Arasında Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı

		GS 0.saat- İÖ	GS 48.sa-İÖ	GS 14.gün- İÖ	GS 48.sa-GS 0.saat	GS 14 gün – GS 0.saat	GS 14 gün- GS 48.saat
		Medyan	Medyan	Medyan	Medyan	Medyan	Medyan
		(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)
<i>Click</i>	Kontrol	20 (0;35)	10 (0;20)	2,5 (0;20)	-5 (-25;0)	-7,5 (-35;0)	0 (-10;0)
	B12	17,5 (10;25)	10 (5;15)	10 (0;10)	-5 (-20;5)	-5 (-25;0)	0 (-5;0)
	<i>p</i>	0,934	0,847	0,502	0,708	0,779	1,000
<i>4 kHz</i>	Kontrol	32,5 (15;40)	15 (0;25)	15 (0;20)	-15 (-25;-10)	-15 (-25;-15)	0 (-5;0)
	B12	20 (15;30)	10 (10;25)	10 (0;20)	-5 (-20;5)	-15 (-20;0)	-5 (-10;0)
	<i>p</i>	0,164	0,926	0,515	0,064	0,162	0,106
<i>6 kHz</i>	Kontrol	27,5 (10;30)	10 (-5;25)	10 (0;20)	-12,5 (-20;-5)	-12,5 (-20;-5)	0 (-10;5)
	B12	20 (10;25)	10 (0;15)	5 (0;20)	-5 (-20;0)	-15 (-20;0)	-5 (-15;0)
	<i>p</i>	0,221	0,848	0,072	0,264	0,707	0,134
<i>8 kHz</i>	Kontrol	27,5 (10;35)	17,5 (0;25)	17,5 (10;25)	-10 (-15;5)	-7,5 (-15;5)	0 (0;10)
	B12	20 (10;30)	5 (5;15)	5 (0;10)	-5 (-15;0)	-15 (-20;0)	-10 (-15;0)
	<i>p</i>	0,417	0,179	0,007	0,513	0,194	0,034

İÖ: İlaç öncesi; GS: Gürültü sonrası



Şekil 4.1: Kontrol ve B12 Grupları Arasında Click ve 4 kHz'de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı



Şekil 4.2: Kontrol ve B12 Grupları Arasında 6 kHz ve 8 kHz'de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı *p<0,05

Kontrol ve SAMC grupları arasında çeşitli zamanlardaki işitme kaybının dağılımı Tablo 4.2’de sunulmuştur.

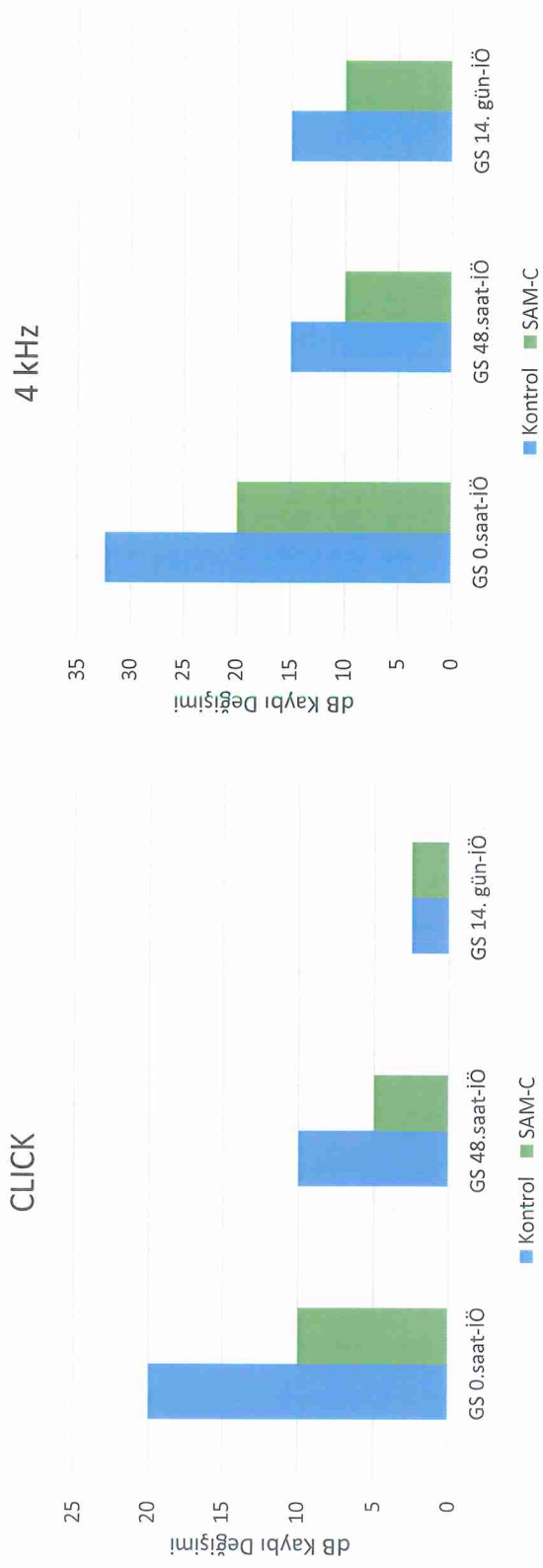
Kontrol ve SAMC grupları arasında 8 kHz’de ilaç öncesine göre gürültü sonrası 48. saat ve 14. gündeki işitme kaybı değişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,05$). SAMC grubunda yer alan ratların 8 kHz’de ilaç öncesine göre gürültü sonrası 48. saat ve 14. gündeki işitme kaybı değişimi kontrol grubunda yer alanlardan anlamlı olarak düşüktü (Tablo 4.2, Şekil 4.3, 4.4).

Diğer taraftan kontrol ve SAMC grupları arasında diğer tüm frekans ve zamanlardaki değişim miktarları benzerdi ($p>0,05$) (Tablo 4.2, Şekil 4.3, 4.4).

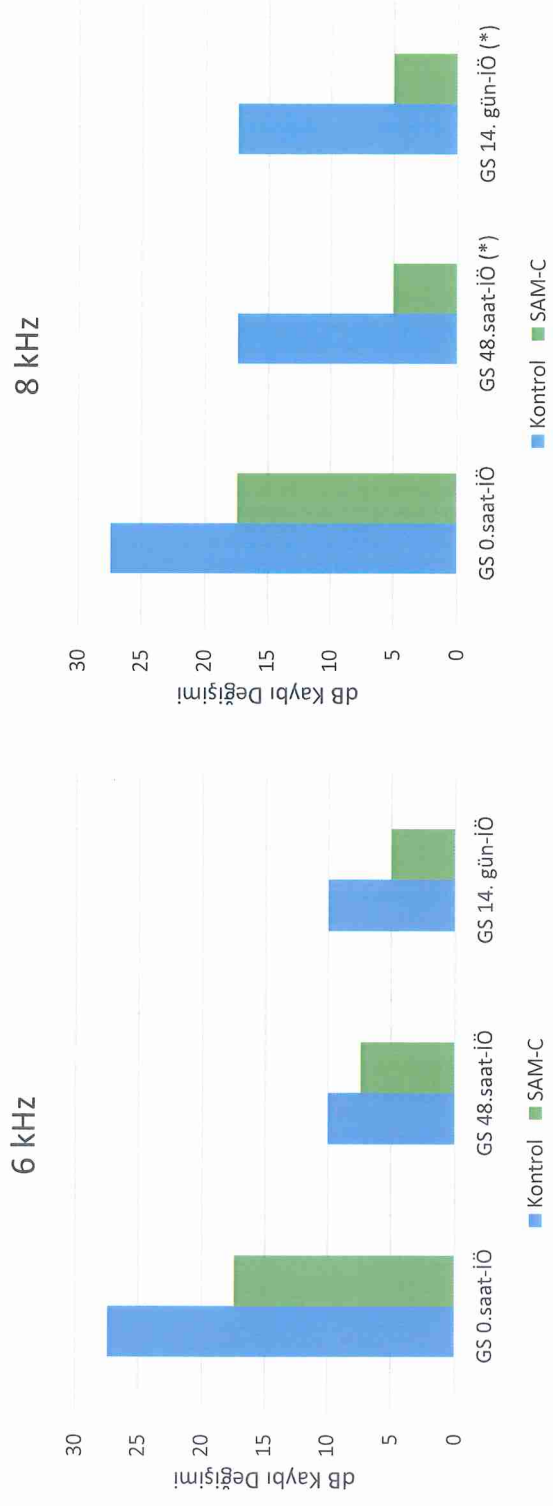
Tablo 4.2: Kontrol ve SAMC Grupları Arasında Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı

		GS 0.saat- İÖ	GS 48.sa-İÖ	GS 14.gün- İÖ	GS 48.sa-GS 0.saat	GS 14 gün – GS 0.saat	GS 14 gün- GS 48.saat
		Medyan	Medyan	Medyan	Medyan	Medyan	Medyan
		(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)
Click	Kontrol	20 (0;35)	10 (0;20)	2,5 (0;20)	-5 (-25;0)	-7,5 (-35;0)	0 (-10;0)
	SAMC	10 (5;20)	5 (0;10)	2,5 (0;10)	-7,5 (-15;0)	-5 (-20;0)	0 (-5;5)
	<i>p</i>	0,245	0,357	0,863	0,867	0,617	0,589
4 kHz	Kontrol	32,5 (15;40)	15 (0;25)	15 (0;20)	-15 (-25;-10)	-15 (-25;-15)	0 (-5;0)
	SAMC	20 (10;30)	10 (5;20)	10 (0;15)	-7,5 (-20;0)	-10 (-20;-5)	-2,5 (-5;5)
	<i>p</i>	0,105	0,568	0,490	0,103	0,065	0,859
6 kHz	Kontrol	7,5 (10;30)	10 (-5;25)	10 (0;20)	-12,5 (-20;-5)	-12,5 (-20;-5)	0 (-10;5)
	SAMC	17,5 (10;30)	7,5 (0;15)	5 (-5;15)	-12,5 (-15;-5)	-15 (-25;-5)	0 (-10;0)
	<i>p</i>	0,323	0,318	0,182	1,000	0,675	0,390
8 kHz	Kontrol	27,5 (10;35)	17,5 (0;25)	17,5 (10;25)	-10 (-15;5)	-7,5 (-15;5)	0 (0;10)
	SAMC	17,5 (15;25)	5 (0;20)	5 (-5;15)	-12,5 (-20;5)	-15 (-25;-5)	-5 (-10;5)
	<i>p</i>	0,415	0,015	0,014	0,454	0,168	0,070

İÖ: İlaç öncesi; GS: Gürültü sonrası



Şekil 4.3: Kontrol ve SAMC Grupları Arasında Click ve 4 kHz'de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı



Şekil 4.4: Kontrol ve SAMC Grupları Arasında 6 kHz ve 8 kHz’de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı *p<0,05

Kontrol ve DADS grupları arasında çeşitli zamanlardaki işitme kaybının dağılımı Tablo 4.3'te sunulmuştur.

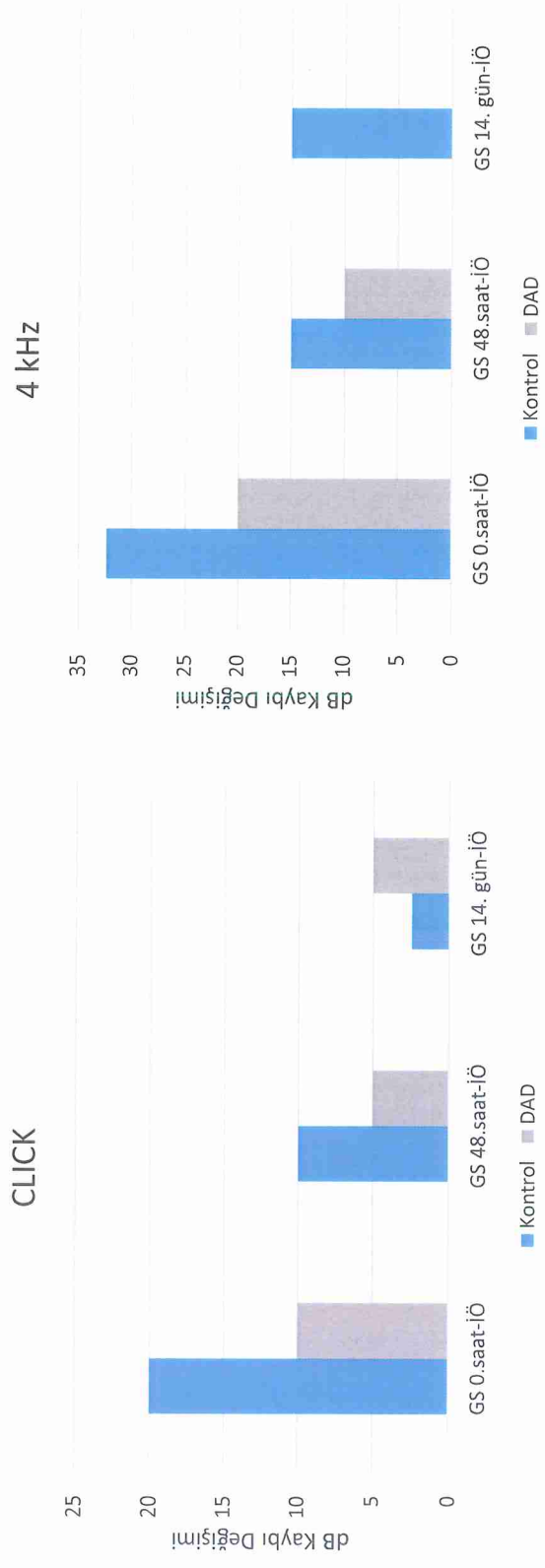
Kontrol ve DADS grupları arasında 6 ve 8 kHz'de ilaç öncesine göre gürültü sonrası 14. gündeki işitme kaybı değişimi açısından ve 8 kHz'de gürültü sonrası 48. saate göre gürültü sonrası 14. gündeki işitme kaybı değişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,05$). DADS grubunda yer alan ratların 6 ve 8 kHz'de ilaç öncesine göre gürültü sonrası 14. gündeki işitme kaybı değişimi ile 8 kHz'de gürültü sonrası 48. saate göre gürültü sonrası 14. gündeki işitme kaybı değişimi kontrol grubunda yer alanlardan anlamlı olarak düşüktü (Tablo 4.3, Şekil 4.5, 4.6).

Diğer taraftan kontrol ve DADS grupları arasında diğer tüm frekans ve zamanlardaki değişim miktarları benzerdi ($p>0,05$) (Tablo 4.3, Şekil 4.5, 4.6).

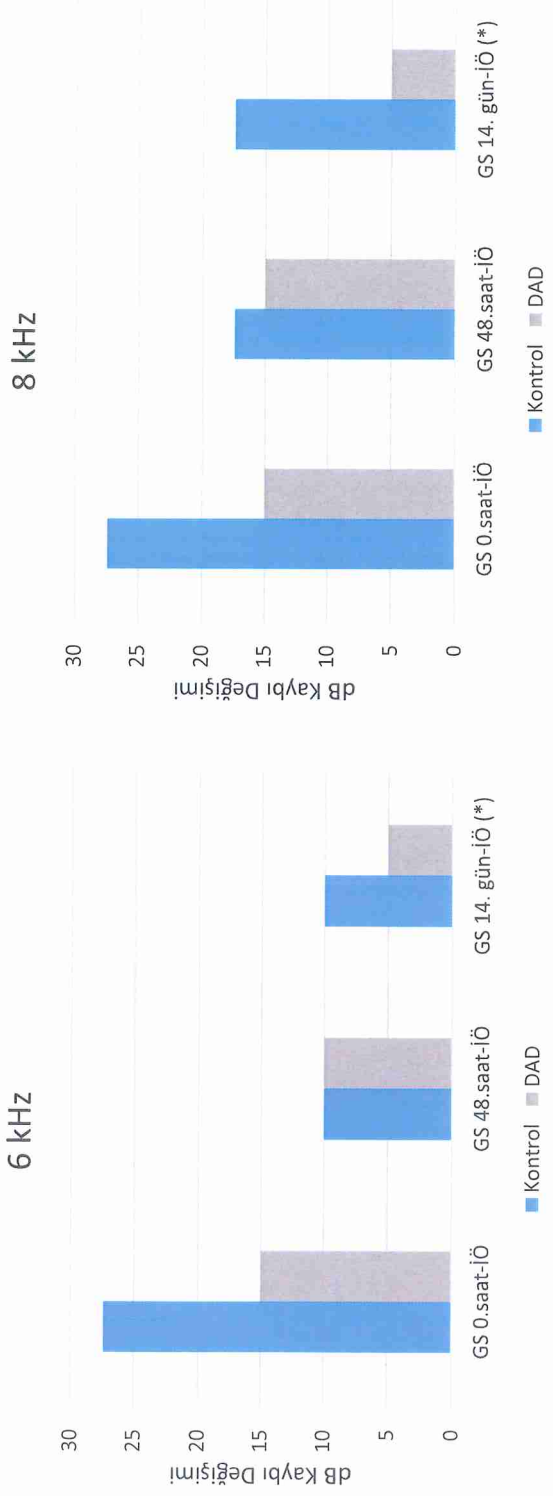
Tablo 4.3: Kontrol ve DADS Grupları Arasında Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı

		GS 0.saat- İÖ	GS 48.sa-İÖ	GS 14.gün- İÖ	GS 48.sa-GS 0.saat	GS 14 gün – GS 0.saat	GS 14 gün- GS 48.saat
		Medyan	Medyan	Medyan	Medyan	Medyan	Medyan
		(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)
Click	Kontrol	20 (0;35)	10 (0;20)	2,5 (0;20)	-5 (-25;0)	-7,5 (-35;0)	0 (-10;0)
	DADS	10 (10;20)	5 (0;10)	5 (0;10)	-5 (-10;0)	-5 (-15;0)	0 (-10;5)
	p	0,271	0,432	0,923	0,925	0,780	0,563
4 kHz	Kontrol	32,5 (15;40)	15 (0;25)	15 (0;20)	-15 (-25;-10)	-15 (-25;-15)	0 (-5;0)
	DADS	20 (5;20)	10 (5;20)	0 (0;10)	0 (-15;0)	-10 (-20;-5)	-5 (-20;0)
	p	0,065	0,852	0,072	0,052	0,188	0,077
6 kHz	Kontrol	7,5 (10;30)	10 (-5;25)	10 (0;20)	-12,5 (-20;-5)	-12,5 (-20;-5)	0 (-10;5)
	DADS	15 (0;20)	10 (0;20)	5 (0;5)	-5 (-15;0)	-15 (-15;0)	-5 (-15;0)
	p	0,073	0,708	0,047	0,089	0,847	0,134
8 kHz	Kontrol	27,5 (10;35)	17,5 (0;25)	17,5 (10;25)	-10 (-15;5)	-7,5 (-15;5)	0 (0;10)
	DADS	15 (5;20)	15 (5;20)	5 (0;15)	0 (-10;5)	-15 (-15;0)	-5 (-15;-5)
	p	0,106	0,571	0,016	0,112	0,441	0,004

İÖ: İlaç öncesi; GS: Gürültü sonrası



Şekil 4.5: Kontrol ve DADS Grupları Arasında Click ve 4 kHz'de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı



Şekil 4.6: Kontrol ve DADS Grupları Arasında 6 kHz ve 8 kHz’de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı *p<0,05

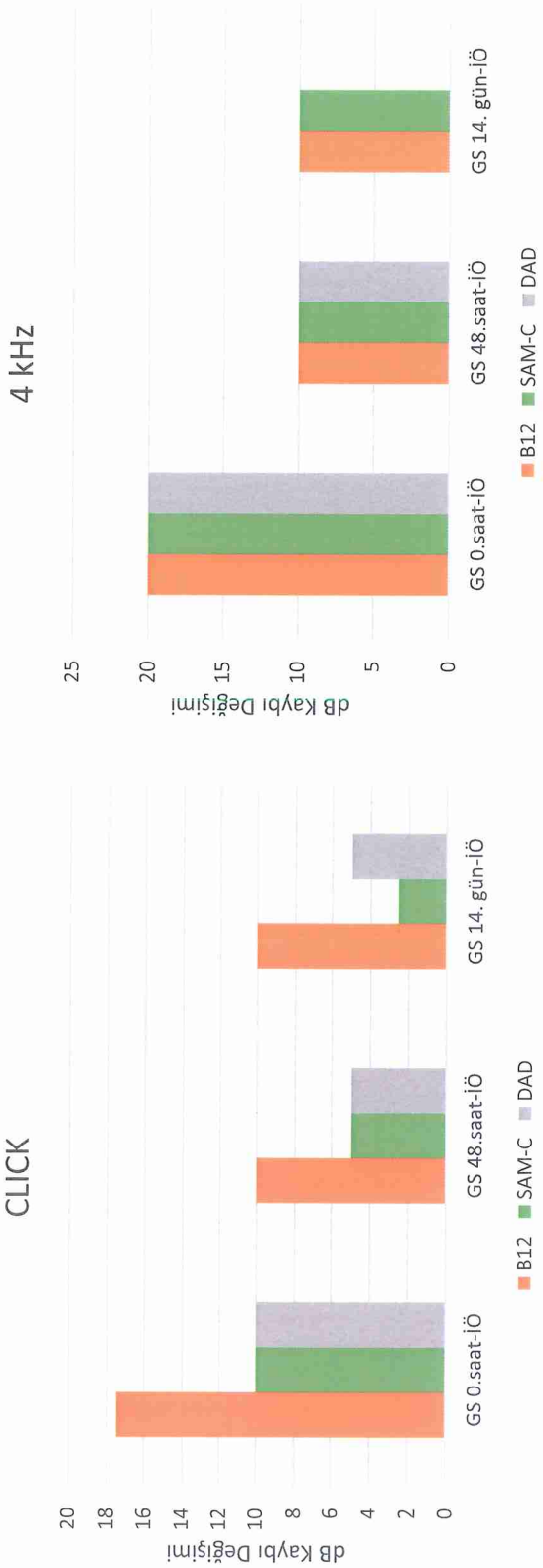
B12, SAMC ve DADS grupları arasında çeşitli zamanlardaki işitme kaybının dağılımı Tablo 4.4'te sunulmuştur.

B12, SAMC ve DADS grupları arasında tüm frekans ve zamanlardaki değişim miktarları benzerdi ($p>0,05$) (Tablo 4.4, Şekil 4.7, 4.8).

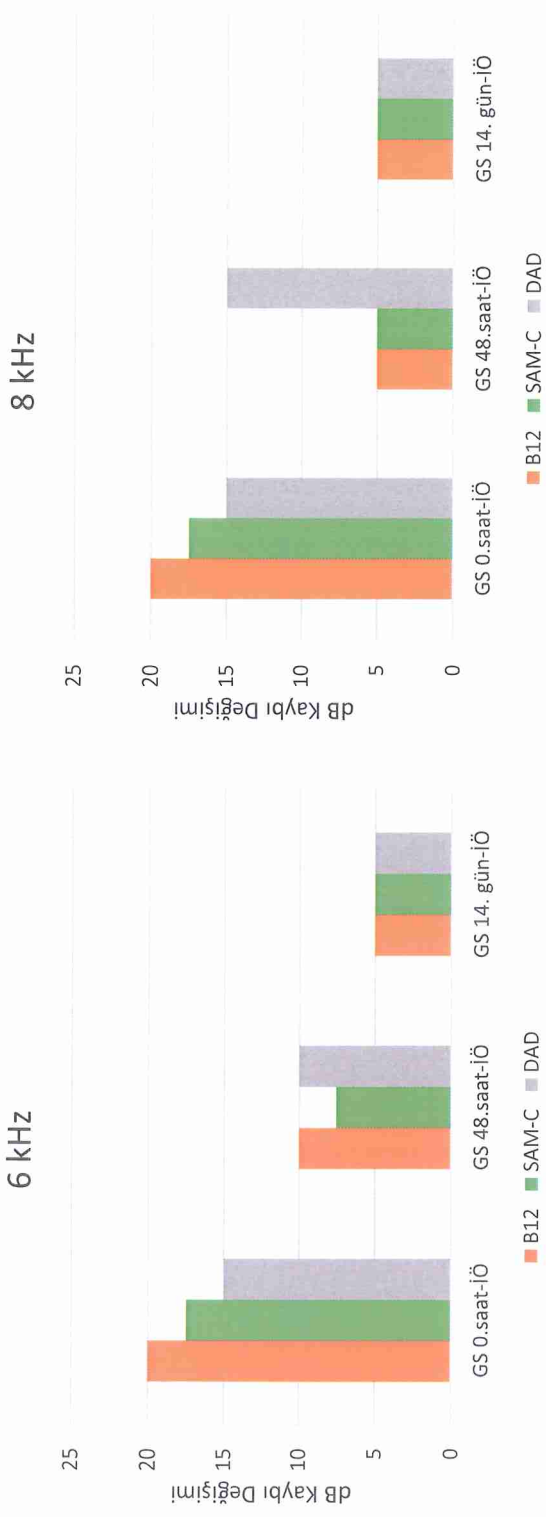
Tablo 4.4: B12, SAMC ve DADS Grupları Arasında Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı

		GS 0.saat- İÖ	GS 48.sa-İÖ	GS 14.gün- İÖ	GS 48.sa-GS 0.saat	GS 14 gün – GS 0.saat	GS 14 gün- GS 48.saat
		Medyan	Medyan	Medyan	Medyan	Medyan	Medyan
		(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)	(min;maks)
<i>Click</i>	B12	17,5 (10;25)	10 (5;15)	10 (0;10)	-5 (-20;5)	-5 (-25;0)	0 (-5;0)
	SAMC	10 (5;20)	5 (0;10)	2,5 (0;10)	-7,5 (-15;0)	-5 (-20;0)	0 (-5;5)
	DADS	10 (10;20)	5 (0;10)	5 (0;10)	-5 (-10;0)	-5 (-15;0)	0 (-10;5)
	<i>p</i>	0,222	0,265	0,482	0,992	0,973	0,861
<i>4 kHz</i>	B12	20 (15;30)	10 (10;25)	10 (0;20)	-5 (-20;5)	-15 (-20;0)	-5 (-10;0)
	SAMC	20 (10;30)	10 (5;20)	10 (0;15)	-7,5 (-20;0)	-10 (-20;-5)	-2,5 (-5;5)
	DADS	20 (5;20)	10 (5;20)	0 (0;10)	0 (-15;0)	-10 (-20;-5)	-5 (-20;0)
	<i>p</i>	0,364	0,666	0,342	0,623	0,824	0,213
<i>6 kHz</i>	B12	20 (10;25)	10 (0;15)	5 (0;20)	-5 (-20;0)	-15 (-20;0)	-5 (-15;0)
	SAMC	17,5 (10;30)	7,5 (0;15)	5 (-5;15)	-12,5 (-15;-5)	-15 (-25;-5)	0 (-10;0)
	DADS	15 (0;20)	10 (0;20)	5 (0;5)	-5 (-15;0)	-15 (-15;0)	-5 (-15;0)
	<i>p</i>	0,378	0,601	0,998	0,188	0,775	0,506
<i>8 kHz</i>	B12	20 (10;30)	5 (5;15)	5 (0;10)	-5 (-15;0)	-15 (-20;0)	-10 (-15;0)
	SAMC	17,5 (15;25)	5 (0;20)	5 (-5;15)	-12,5 (-20;5)	-15 (-25;-5)	-5 (-10;5)
	DADS	15 (5;20)	15 (5;20)	5 (0;15)	0 (-10;5)	-15 (-15;0)	-5 (-15;-5)
	<i>p</i>	0,253	0,347	0,984	0,129	0,600	0,326

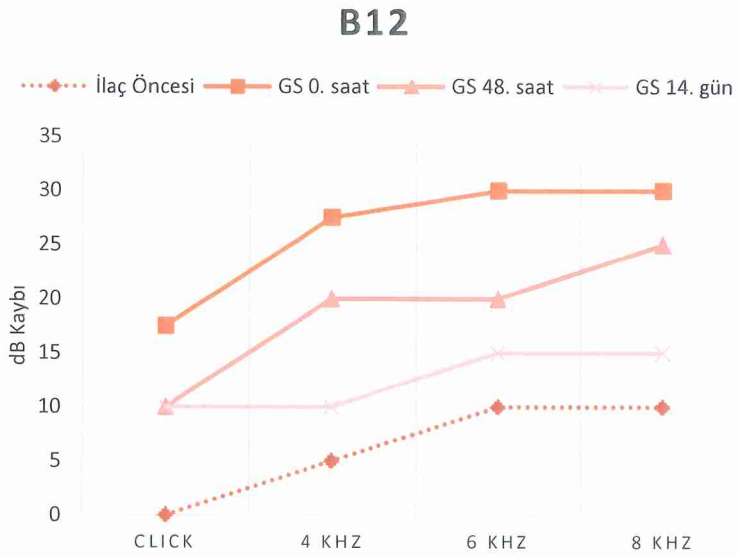
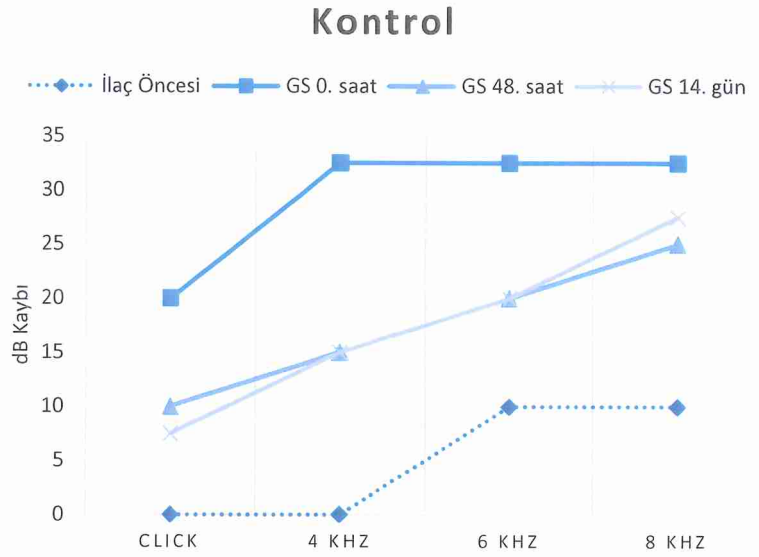
İÖ: İlaç öncesi; GS: Gürültü sonrası



Şekil 4.7: B12, SAMC ve DADS Grupları Arasında Click ve 4 kHz’de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı

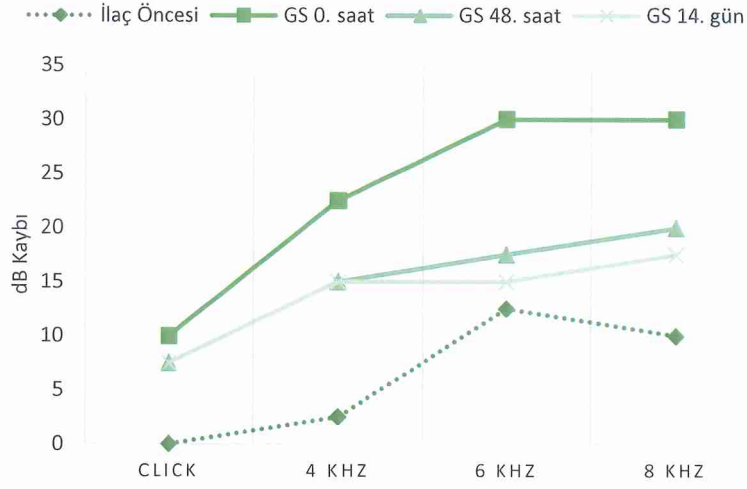


Şekil 4.8: B12, SAMC ve DADS Grupları Arasında 6 kHz ve 8 kHz’de Çeşitli Zamanlardaki İşitme Kaybı Değişim Miktarının Dağılımı

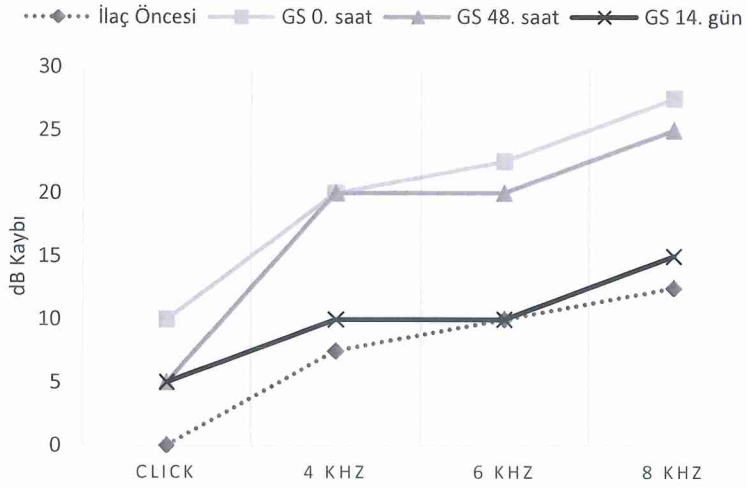


Şekil 4.9: Kontrol ve B12 Gruplarında Click, 4, 6 ve 8 kHz Frekanslarında Zamanla İşitme Kaybının Dağılımı

SAMC



DADS



Şekil 4.10: SAMC ve DADS Gruplarında Click, 4, 6 ve 8 kHz Frekanslarında Zamanla İşitme Kaybının Dağılımı

Çalışma grupları arasında 6 kHz’de zamanla işitme kaybının dağılımı Tablo 4.5’te sunulmuştur.

Çalışma grupları arasında 6 kHz’de gürültü sonrası 0. Saatteki ve 14. gündeki işitme kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken (Kruskal Wallis testi, $p<0,05$), ilaç öncesi ve gürültü sonrası 48. saatteki işitme kayıpları benzerdi ($p>0,05$). Yapılan post hoc ikili karşılaştırmalar sonucu gürültü sonrası 0. saatteki anlamlı farkın kontrol grubu ile DADS grubu arasında olduğu, gürültü sonrası 14. gündeki anlamlı farkın ise kontrol grubundan kaynaklandığı görüldü (Bonferoni düzeltilmeli Mann-Whitney U, $p<0,008$). Kontrol grubunda yer alan ratların gürültü sonrası 0. saatteki işitme kayıpları DADS grubunda yer alanlardan anlamlı olarak yüksek iken gürültü sonrası 14. gündeki işitme kayıpları B12, SAMC ve DADS gruplarından anlamlı olarak yüksekti (Tablo 4.5, Şekil 4.11).

Tablo 4.5: Çalışma Grupları Arasında 6 kHz’de Zamanla İşitme Kaybının Dağılımı

	Kontrol	B12	SAMC	DADS	
6 kHz	Medyan (min-maks)	Medyan (min-maks)	Medyan (min-maks)	Medyan (min-maks)	p
İlaç Öncesi	10 (0-20)	10 (10-20)	12,5 (0-20)	10 (5-20)	0,971
GS 0. Saat	32,5 (25-40) ^d	30 (20-45)	30 (25-35)	22,5 (20-30)	0,045
GS 48. Saat	20 (15-35)	20 (10-25)	17,5 (15-20)	20 (10-30)	0,568
GS 14. Gün	20 (20-25) ^{bcd}	15 (10-20)	15 (10-20)	10 (10-20)	0,016

^bPost-hoc ikili karşılaştırmada “B12 grubu” ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,008$)

^cPost-hoc ikili karşılaştırmada “SAMC grubu” ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,008$)

^dPost-hoc ikili karşılaştırmada “DADS grubu” ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,008$)

Çalışma grupları arasında 8 kHz’de zamanla işitme kaybının dağılımı Tablo 4.6’da sunulmuştur.

Çalışma grupları arasında 8 kHz’de gürültü sonrası 14. gündeki işitme kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken ($p<0,05$), ilaç öncesi, gürültü sonrası 0. saat ve gürültü sonrası 48. saatteki işitme kayıpları benzerdi ($p>0,05$). Yapılan post hoc ikili karşılaştırmalar sonucu gürültü sonrası gürültü sonrası 14. gündeki anlamlı farkın kontrol grubundan kaynaklandığı görüldü (Bonferroni Düzeltmeli Mann-Whitney-U Testi, $p<0,008$). Kontrol grubunda yer alan ratların gürültü sonrası 14. Gündeki işitme kayıpları B12, SAM-C ve DADS gruplarından anlamlı olarak yüksekti (Tablo 4.6, Şekil 4.12).

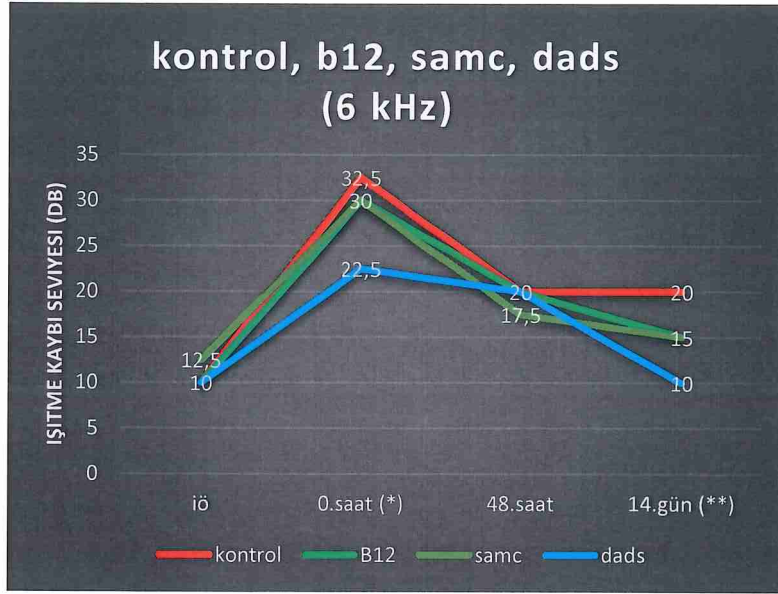
Tablo 4.6: Çalışma Grupları Arasında 8 kHz’de Zamanla İşitme Kaybının Dağılımı

	Kontrol	B12	SAMC	DADS	
8 kHz	Medyan (min-maks)	Medyan (min-maks)	Medyan (min-maks)	Medyan (min-maks)	p
İlaç Öncesi	10 (0-20)	10 (10-20)	10 (5-20)	12,5 (0-25)	0,860
GS 0. Saat	32,5 (20-45)	30 (20-50)	30 (25-40)	27,5 (20-30)	0,346
GS 48. Saat	25 (20-30)	25 (15-25)	20 (15-30)	25 (15-30)	0,250
GS 14. Gün	27,5 (25-30) ^{bcd}	15 (10-20)	17,5 (10-20)	15 (10-20)	0,003

bPost-hoc ikili karşılaştırmada “B12 grubu” ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,008$)

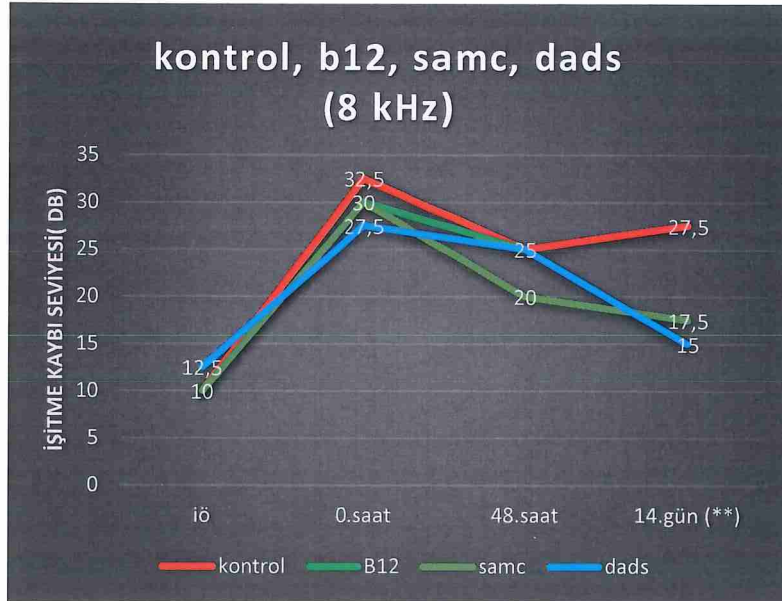
cPost-hoc ikili karşılaştırmada “SAMC grubu” ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,008$)

dPost-hoc ikili karşılaştırmada “DADS grubu” ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,008$)



Şekil 4.11: Çalışma Grupları Arasında 6 kHz’de Zamanla İşitme Kaybının Dağılımı

*Anlamli fark “kontrol ve DADS” grupları arasında **Anlamli fark “kontrol ve B12”, “kontrol ve SAMC”, “kontrol ve DADS” grupları arasında



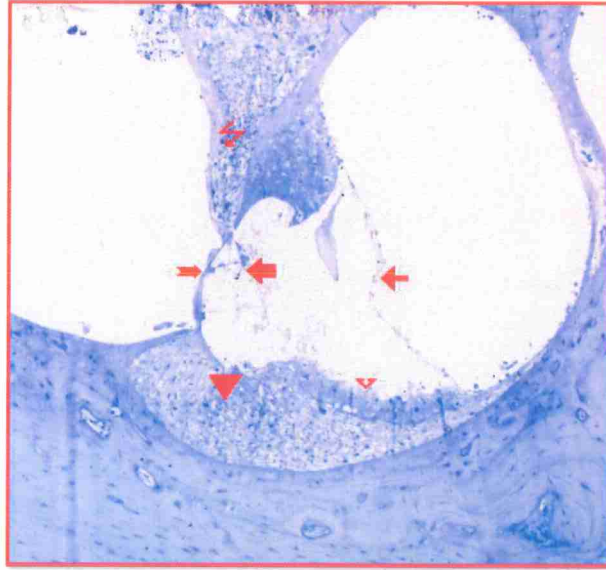
Şekil 4.12: Çalışma Grupları Arasında 8 kHz’de Zamanla İşitme Kaybının Dağılımı

**Anlamli fark “kontrol ve B12”, “kontrol ve SAMC”, “kontrol ve DADS” grupları arasında (p<0,008)

4.2. Histolojik inceleme Bulguları

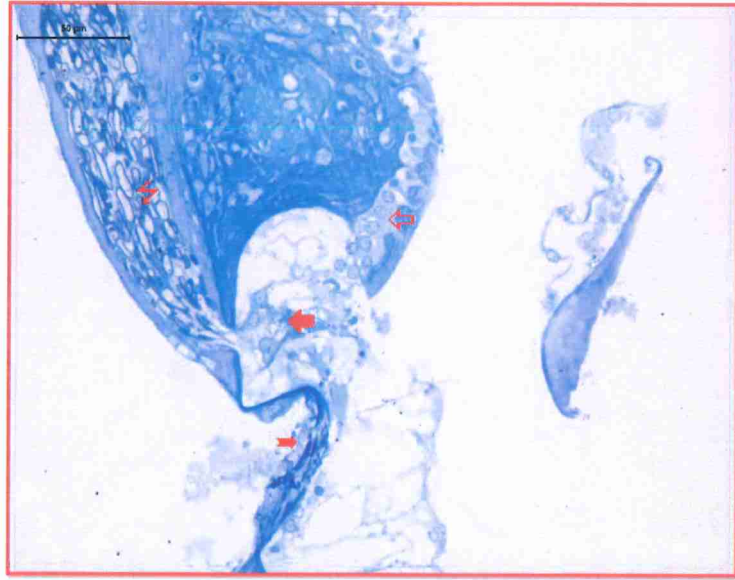
4.2.1. Işık Mikroskopi Bulguları

Kontrol grubu yarı ince kesitlerinde korti organı oldukça dejeneratif olarak izlendi. Dış tüy hücreleri, Hensen ve Klaudius hücreleri tamamen yok olmuş; bazılar membran ile ilişkilerini kaybetmiş, sadece sitoplazma ve çekirdek artıkları ile karakterizeydi. Bazılar membranda kopma ve incelmeler izlenirken, Reissner membranı normal yapısındaydı. İşitme kaybı ile doğrudan ilişkili olan stria vaskularisin bazılar membrana yakın kısmında bazal, intermediyer ve marjinal hücre kaybı izlendi. Kemik modülüsüne yakın işitme siniri aksonlarında ciddi dejeneratif bozulmalar ve miyelin kaybı görüldü (Şekil 4.13).



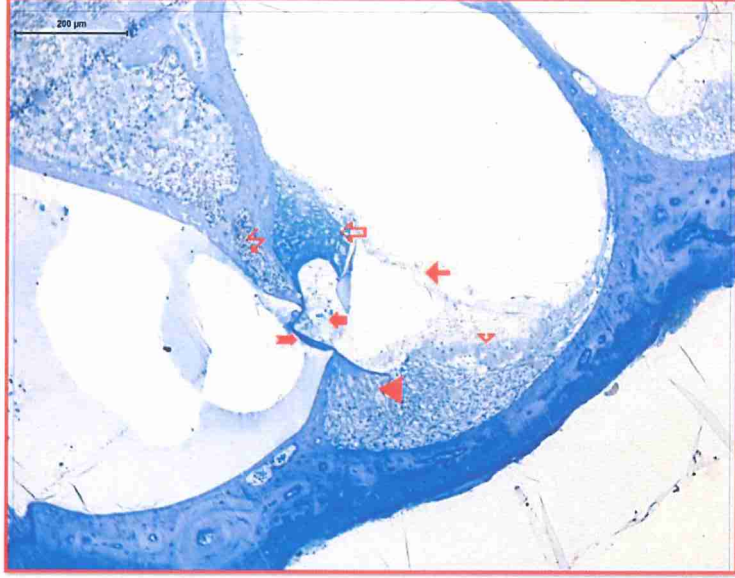
Şekil 4.13: Kontrol grubu yarı ince kesitlerinde ➡: Dış tüy, Hensen ve Klaudius hücrelerine ait sitoplazma ve çekirdek artıkları, ➡: Bazılar membran, ➡: Reissner membranı, ►: Stria vaskularis, ⚡: İşitme siniri aksonları ve ⚡: Bazal, intermediyer ve marjinal hücreler görülüyor (Toluidin blue x100).

Büyük büyültmeli incelemelerde korti tüneline yakın iç tüy hücrelerinin parçalandığı, çekirdeklerinin tünele doğru serbestleştiği, bazı iç tüy hücrelerinin ise piknotik çekirdekleri ile apoptotik görüntü sergiledikleri ve fibrin, alfa – aktinin ve miyozin akümülayonu olan apikal sitoplazmanın bazofilik görünümü ile normal yapı sergilediği izlendi (Şekil 4.14).

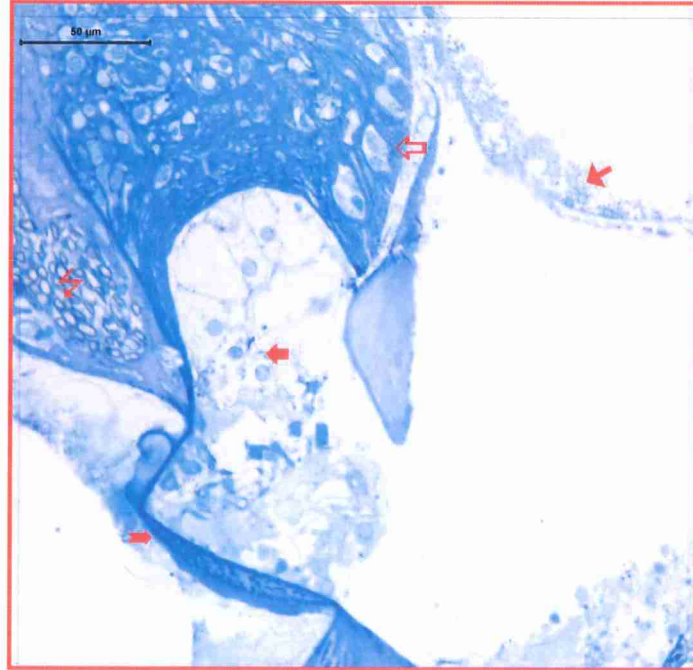


Şekil 4.14: Kontrol grubu yarı ince kesitlerinde ➡: Dış tüy, Hensen ve Klaudius hücrelerine ait sitoplazma ve çekirdek artıkları, ⇨: Bazilar membran, ⚡: İşitme siniri aksonları ve ⇨: İç tüy hücresi izleniyor (Toluidin blue x400).

B12 vitamini uygulanan grupta tespit edilen bulguların kontrol grubu ile aynı olduğu, ancak ayrıcalı olarak bu grupta Reissner membranında yırtılma ve kopmanın olaylandığı dikkati çekti (Şekil 4.15 ve 4.16).

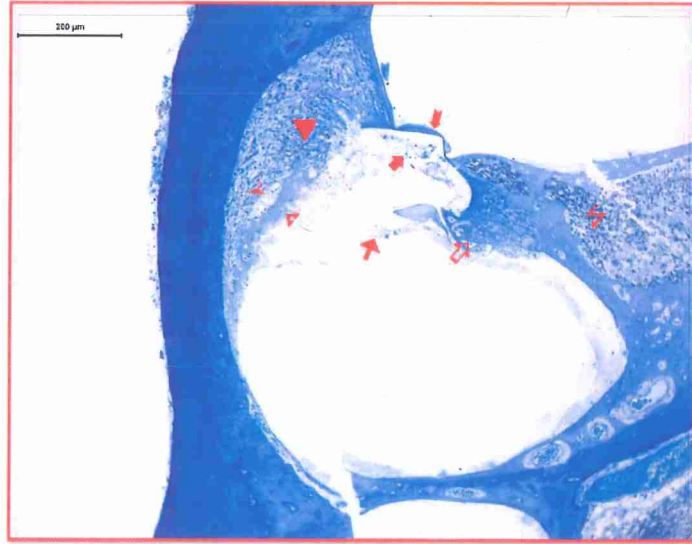


Şekil 4.15: B12 vitamini uygulanan gruba ait yarı ince kesitlerde ➡: Dış tüy, Hensen ve Klaudius hücrelerine ait sitoplazma ve çekirdek artıkları, ➡: Bazilar membran, ➡: Reissner membranı, ➡: Stria vaskülaris, ➡: İşitme siniri aksonları, ➡: İç tüy hücresi, ve ➡: Bazal, intermediyer ve marjinal hücreler görülüyor (Toluidin blue x100).



Şekil 4.16: B12 vitamini uygulanan gruba ait yarı ince kesitlerde ➡: Dış tüy, Hensen ve Klaudius hücrelerine ait sitoplazma ve çekirdek artıkları, ➡: Bazilar membran, ➡: Reissner membranı, ➡: İşitme siniri aksonları ve ➡: İç tüy hücresi görülüyor (Toluidin blue x400).

SAMC uygulanan grupta da kontrol ve B12 uygulanan gruplara benzer olarak dış tüy hücrelerinin bazılar membran ile ilişkilerini kaybettiği, nekrotik hale gelmiş bu hücrelerin sitoplazmik ve nükleer artıklarının bazılar membranın üst kısmında yer aldığı izlendi. Yine bu grupta stria vaskulariste damarlarda ödem izlenirken; bazal, intermediyer ve marjinal hücrelerin diğer iki gruba oranla daha iyi korunduğu, ancak yine bazılar membrana yakın her üç hücre grubunda da kayıp olduğu tespit edildi. Kontrol grubu ve B12 uygulanan grupta oldukça dejeneratif yapı sergileyen ganglion hücreleri bu grupta, çekirdek ve çekirdekçik yapıları ile normal histolojik görünüm göstermekteydi (Şekil 4.17).



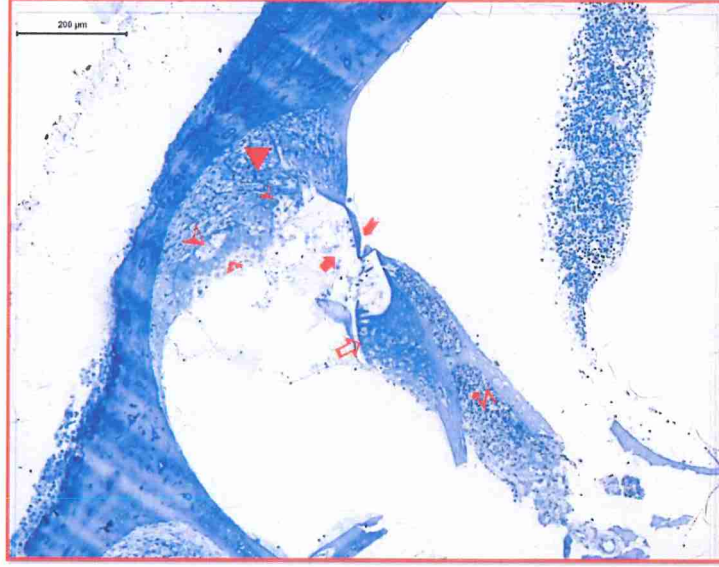
Şekil 4.17: SAMC uygulanan gruba ait yarı ince kesitlerde ➡: Dış tüy, Hensen ve Klaudius hücrelerine ait sitoplazma ve çekirdek artıkları, ➡: Bazılar membran, ➡: Reissner membranı, ►: Stria vaskularis, ⚡: İşitme siniri aksonları, ➡: İç tüy hücresi, ➤: Damarlarda ödem ve ►: Bazal, intermediyer ve marjinal hücreler görülüyor (Toluidin blue x100).

Büyük büyütme incelemelerde iç tüy hücreleri, sitoplazma, çekirdek, çekirdekçik özellikleri ve tektorial membran değişiminin diğer gruplara oranla oldukça korunmuş olduğu ve minimal dejeneratif değişimler sergilediği saptandı (Şekil 4.18).



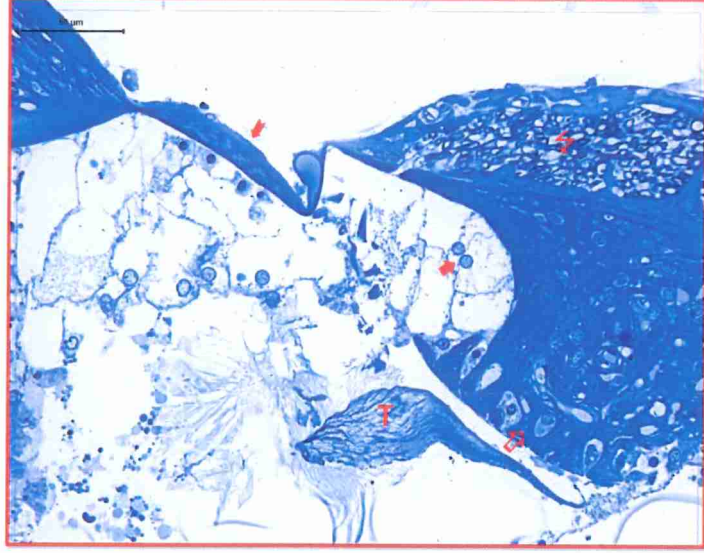
Şekil 4.18: SAMC uygulanan gruba ait yarı ince kesitlerde ➡: Dış tüy, Hensen ve Klaudius hücrelerine ait sitoplazma ve çekirdek artıkları, ⚡: İşitme siniri aksonları, ⇨: İç tüy hücresi ve T:Tektorial membran izleniyor (Toluidin blue x400).

DADS uygulanan grupta yapılan incelemelerde stria vasküleriste damar duvarı ödemi, önceki grupla eşdeğer özellikteydi. Diğer tüm gruplarla benzer şekilde bu grupta da bazılar membrana yakın stria vaskülerisin bazal, intermediyer ve marjinal hücrelerinde kayıp belirgindi. Bazılar membranda katlanmalar izlenirken; dış tüy hücrelerinin, Hensen ve Klaudius hücrelerinin anormal biçimde iç içe geçmiş nekrotik yapıları, sitoplazma ve çekirdekleri ile belirgindi (Şekil 4.19).



Şekil 4.19: DADS uygulanan gruba ait yarı ince kesitlerde ➡: Dış tüy, Hensen ve Klaudius hücrelerine ait sitoplazma ve çekirdek artıkları, ➡: Bazilar membran, ►: Stria vaskülaris, ↗: İşitme siniri aksonları, ⇨: İç tüy hücresi, ►: Damarlarda ödem ve ►: Bazal, intermediyer ve marjinal hücreler izleniyor (Toluidin blue x100).

Büyük büyütme incelemelerde iç hücre tabakasının tektorial membran değinimi normal, hücrelerin sitoplazma ve çekirdek yapıları ise normale oldukça yakın olarak izlendi. Fakat korti tüneli tamamen ortadan kaybolmuş ve bu alanın dış tüy hücresi, Hensen ve Klaudius hücrelerinin nekroze olmuş artık sitoplazma ve çekirdekleri ile dolduğu görüldü (Şekil 4.20).



Şekil 4.20: DADS uygulanan gruba ait yarı ince kesitlerde ➡: Dış tüy, Hensen ve Klaudius hücrelerine ait sitoplazma ve çekirdek artıkları, ➡: Bazılar membran, ⚡: İşitme siniri aksonları, ➡: İç tüy hücresi ve T:Tektorial membran görülüyor (Toluidin blue x400).

Bu bulgular doğrultusunda; ışık mikroskopik düzeyde her dört grupta da korti organının normal histolojik yapısından oldukça uzak olduğu, uygulanan gürültünün korti organında ciddi hasara neden olduğu tespit edildi. Sesin yüksekliği ne kadar fazla ise, bazılar membranın titreşim ve genişlemesinin de o derece arttığı bilinmekte ve dış tüy hücreleri uyarıldığında sesin yüksekliği algılanmaktadır. Deney düzeninde uygulanan gürültü oldukça yüksek desibelde olduğu için bazılar membranın genişlemesinin de doğru orantılı olarak fazla olduğu, bunu takiben zarda katlanma ve dalgalanmaların meydana geldiği ve bu titreşimler nedeni ile bazılar membran titreşiminin karşı duvarda yerleşim gösteren stria vaskularise çarpmasına yol açtığı için dış tüy hücresi ve stria vaskularisin bazılar membrana yakın kısmındaki hücre kayıplarının olaylandığı düşünüldü. B12, SAMC ve DADS uygulamalarının kontrol grubuna kıyasla daha

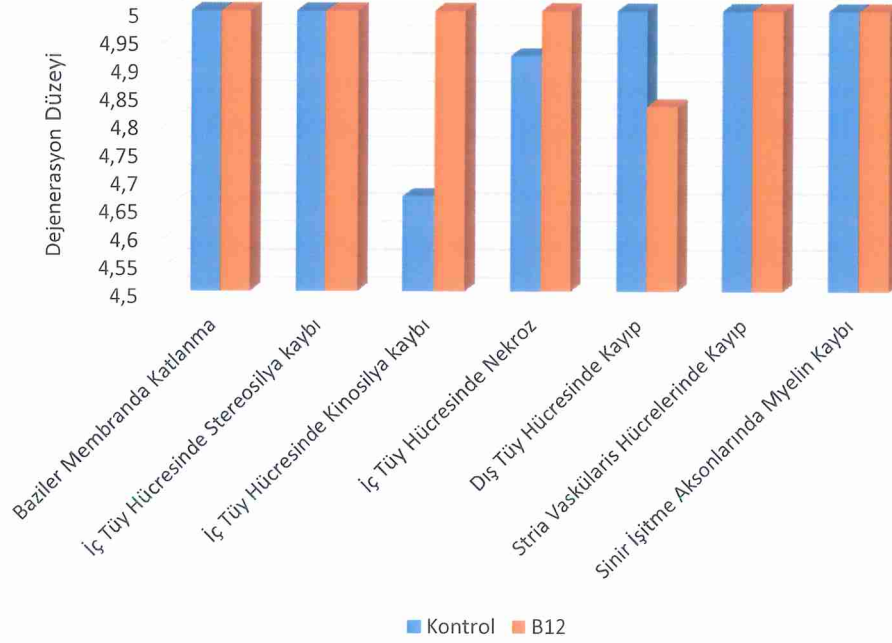
az dejeneratif bulgu sergilemelerine karşın, bu dozda uygulanan gürültü üzerinde bariz koruyucu etkiye sahip olmadıkları tespit edildi. Ancak uygulanan her 3 antioksidan içerisinde en iyi histolojik bulguların SAMC uygulanan grupta olduğu belirlendi.

Kontrol ve B12 grupları arasında hücresel dejenerasyon düzeyinin dağılımı Tablo 4.7’te sunulmuştur.

Kontrol ve B12 grupları arasında baziler membranda katlanma, iç tüy hücrelerinde stereosilya kaybı, iç tüy hücrelerinde kinosilya kaybı, iç tüy hücrelerinde nekroz, dış tüy hücrelerinde kayıp, stria vaskülaris hücrelerinde kayıp ve sinir işitme aksonlarında myelin kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 4.7, Şekil 4.21).

Tablo 4.7: Kontrol ve B12 Grupları Arasında Hücresel Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı

	Kontrol	B12	p
	Medyan (min-maks)	Medyan (min-maks)	
Baziler Membranda Katlanma	5 (5-5)	5 (4,83-5,00)	0,317
İç Tüy Hücrelerinde Stereosilya Kaybı	5 (4,5-5,0)	5 (4,67-5,00)	0,673
İç Tüy Hücrelerinde Kinosilya Kaybı	4,67 (4,67-5,00)	5 (4,67-5,00)	0,154
İç Tüy Hücrelerinde Nekroz	4,92 (4,67-5,00)	5 (4,67-5,00)	0,527
Dış Tüy Hücrelerinde Kayıp	5 (4,67-5,00)	4,83 (4,67-5,00)	0,411
Stria Vaskülaris Hücrelerinde Kayıp	5 (4,83-5,00)	5 (4,83-5,00)	0,523
Sinir İşitme Aksonlarında Myelin Kaybı	5 (4,50-5,00)	5 (4,67-5,00)	0,774



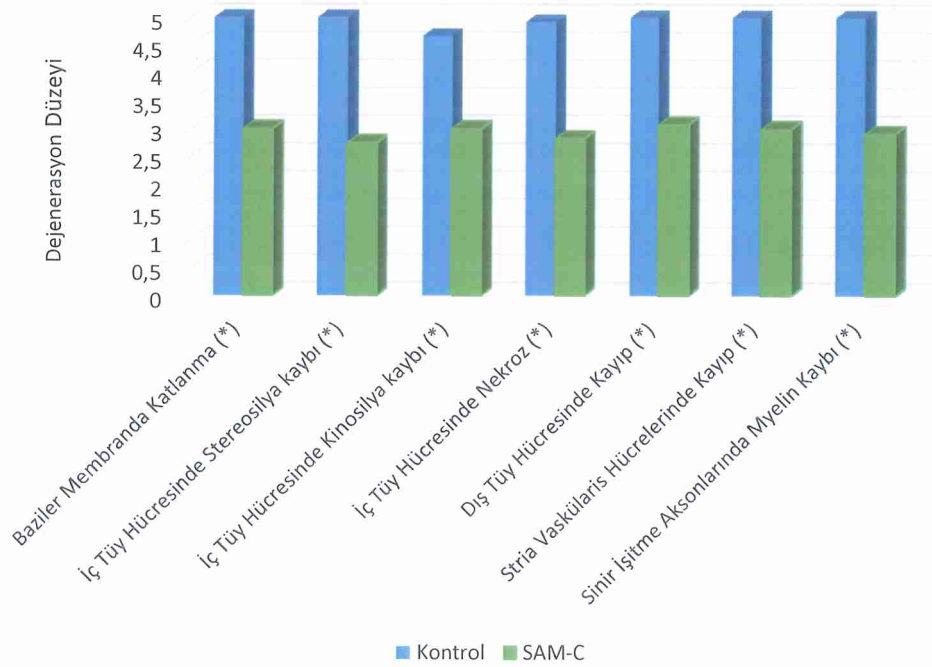
Şekil 4.21: Kontrol ve B12 Grupları Arasında Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı

Kontrol ve SAMC grupları arasında hücrel dejenerasyon düzeyinin dağılımı Tablo 4.8’da sunulmuştur.

Kontrol ve SAMC grupları arasında baziler membranda katlanma, iç tüy hücrelerinde stereosilya kaybı, iç tüy hücrelerinde kinosilya kaybı, iç tüy hücrelerinde nekroz, dış tüy hücrelerinde kayıp, stria vaskülaris hücrelerinde kayıp ve sinir işitme aksonlarında myelin kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,05$). SAMC grubunda yer alan ratların baziler membranda katlanma, iç tüy hücrelerinde stereosilya kaybı, iç tüy hücrelerinde kinosilya kaybı, iç tüy hücrelerinde nekroz, dış tüy hücrelerinde kayıp, stria vaskülaris hücrelerinde kayıp ve sinir işitme aksonlarında myelin kaybı düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak düşüktü (Tablo 4.8, Şekil 4.22).

Tablo 4.8: Kontrol ve SAMC Grupları Arasında Hücresel Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı

	Kontrol	SAMC	<i>p</i>
	Medyan (min-maks)	Medyan (min-maks)	
Baziler Membranda Katlanma	5 (5-5)	3 (2,67-3,33)	0,002
İç Tüy Hücresinde Stereosilya Kaybı	5 (4,5-5,0)	2,75 (2,17-3,50)	0,003
İç Tüy Hücresinde Kinosilya Kaybı	4,67 (4,67-5,00)	3 (2,33-3,67)	0,003
İç Tüy Hücresinde Nekroz	4,92 (4,67-5,00)	2,83 (2,67-3,50)	0,004
Dış Tüy Hücresinde Kayıp	5 (4,67-5,00)	3,08 (2,33-3,33)	0,003
Stria Vaskülaris Hücrelerinde Kayıp	5 (4,83-5,00)	3 (2,67-3,33)	0,003
Sinir İşitme Aksonlarında Myelin Kaybı	5 (4,50-5,00)	2,92 (2,67-3,33)	0,003



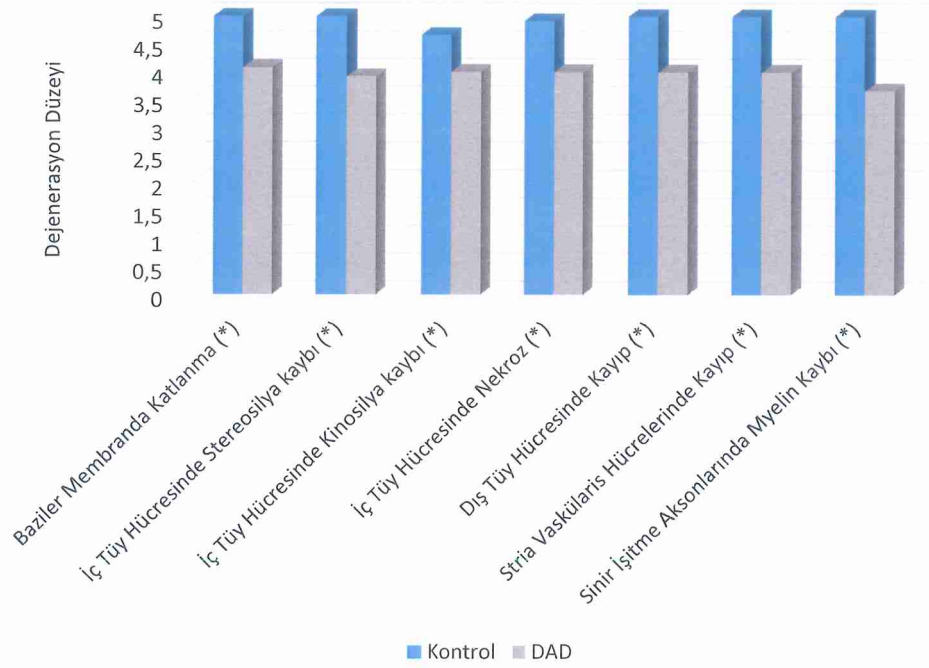
Şekil 4.22: Kontrol ve SAMC Grupları Arasında Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı

Kontrol ve DADS grupları arasında hücrel dejenerasyon düzeyinin dağılımı Tablo 4.9'da sunulmuştur.

Kontrol ve DADS grupları arasında baziler membranda katlanma, iç tüy hücrelerinde stereosilya kaybı, iç tüy hücrelerinde kinosilya kaybı, iç tüy hücrelerinde nekroz, dış tüy hücrelerinde kayıp, stria vaskülaris hücrelerinde kayıp ve sinir işitme aksonlarında myelin kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,05$). DADS grubunda yer alan ratların baziler membranda katlanma, iç tüy hücrelerinde stereosilya kaybı, iç tüy hücrelerinde kinosilya kaybı, iç tüy hücrelerinde nekroz, dış tüy hücrelerinde kayıp, stria vaskülaris hücrelerinde kayıp ve sinir işitme aksonlarında myelin kaybı düzeyleri kontrol grubundan anlamlı olarak düşüktü (Tablo 4.9, Şekil 4.23).

Tablo 4.9: Kontrol ve DADS Grupları Arasında Hücrel Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı

	Kontrol	DADS	<i>p</i>
	Medyan (min-maks)	Medyan (min-maks)	
Baziler Membranda Katlanma	5 (5-5)	4,08 (3,50-4,17)	0,002
İç Tüy Hücrelerinde Stereosilya Kaybı	5 (4,5-5,0)	3,92 (3,67-4,17)	0,003
İç Tüy Hücrelerinde Kinosilya Kaybı	4,67 (4,67-5,00)	4 (3,33-4,50)	0,003
İç Tüy Hücrelerinde Nekroz	4,92 (4,67-5,00)	4 (3,33-4,50)	0,003
Dış Tüy Hücrelerinde Kayıp	5 (4,67-5,00)	4 (3,33-4,50)	0,003
Stria Vaskülaris Hücrelerinde Kayıp	5 (4,83-5,00)	4 (3,33-4,50)	0,003
Sinir İşitme Aksonlarında Myelin Kaybı	5 (4,50-5,00)	3,67 (3,50-4,17)	0,003



Şekil 4.23: Kontrol ve DADS Grupları Arasında Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı

B12, SAMC ve DADS grupları arasında hücresel dejenerasyon düzeyinin dağılımı Tablo 4.10'da sunulmuştur.

B12, SAMC ve DADS grupları arasında baziler membranda katlanma, iç tüy hücresinde stereosilya kaybı, iç tüy hücresinde kinosilya kaybı, iç tüy hücresinde nekroz, dış tüy hücresinde kayıp, stria vaskülaris hücrelerinde kayıp ve sinir işitme aksonlarında myelin kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p < 0,05$). Yapılan post-hoc ikili karşılaştırmalar sonucu anlamlı farkların birden fazla gruptan kaynaklandığı görüldü (Bonferroni Düzeltmeli Ki-Kare Testi, $p < 0,017$). SAMC grubunda yer alan ratların baziler membranda katlanma, iç tüy hücresinde stereosilya kaybı, iç tüy hücresinde kinosilya kaybı, iç tüy hücresinde nekroz, dış tüy hücresinde kayıp, stria vaskülaris hücrelerinde kayıp ve sinir

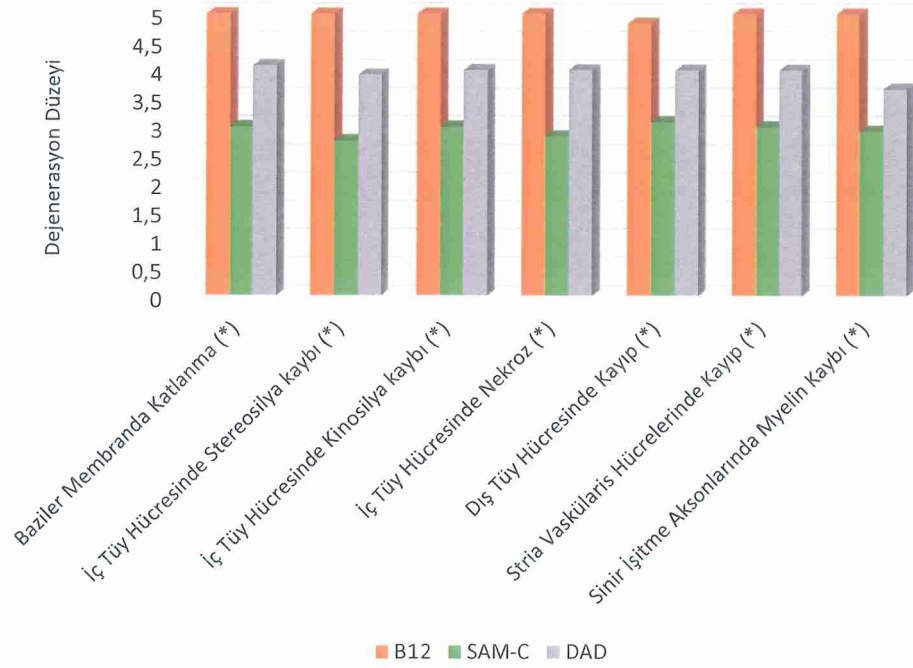
işitme aksonlarında myelin kaybı düzeyi B12 ve DADS gruplarından anlamlı olarak düşükken DADS grubunda yer alan ratların baziler membranda katlanma, iç tüy hücresinde stereosilya kaybı, iç tüy hücresinde kinosilya kaybı, iç tüy hücresinde nekroz, dış tüy hücresinde kayıp, stria vaskülaris hücrelerinde kayıp ve sinir işitme aksonlarında myelin kaybı düzeyi B12 grubundan anlamlı olarak düşüktü (Tablo 4.10, Şekil 4.24).

Tablo 4.10: B12, SAMC ve DADS Grupları Arasında Hücrel Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı

	B12		SAMC		DADS		<i>p</i>
	Medyan (min-maks)	Medyan (min-maks)	Medyan (min-maks)	Medyan (min-maks)			
Baziler Membranda Katlanma	5 (4,83-5,00) ^{bc}	3 (2,67-3,33) [°]	4,08 (3,50-4,17)	<0,001			
İç Tüy Hücresinde Stereosilya Kaybı	5 (4,67-5,00) ^{bc}	2,75 (2,17-3,50) [°]	3,92 (3,67-4,17)	<0,001			
İç Tüy Hücresinde Kinosisilya Kaybı	5 (4,67-5,00) ^{bc}	3 (2,33-3,67) [°]	4 (3,33-4,50)	0,001			
İç Tüy Hücresinde Nekroz	5 (4,67-5,00) ^{bc}	2,83 (2,67-3,50) [°]	4 (3,33-4,50)	0,001			
Dış Tüy Hücresinde Kayıp	4,83 (4,67-5,00) ^{bc}	3,08 (2,33-3,33) [°]	4 (3,33-4,50)	0,001			
Stria Vaskülaris Hücrelerinde Kayıp	5 (4,83-5,00) ^{bc}	3 (2,67-3,33) [°]	4 (3,33-4,50)	<0,001			
Sinir İtirme Aksonlarında Myelin Kaybı	5 (4,67-5,00) ^{bc}	2,92 (2,67-3,33) [°]	3,67 (3,50-4,17)	<0,001			

bPost-hoc ikili karşılaştırmada “SAMC” grubu ile anlamlı fark saptandı (p<0,017)

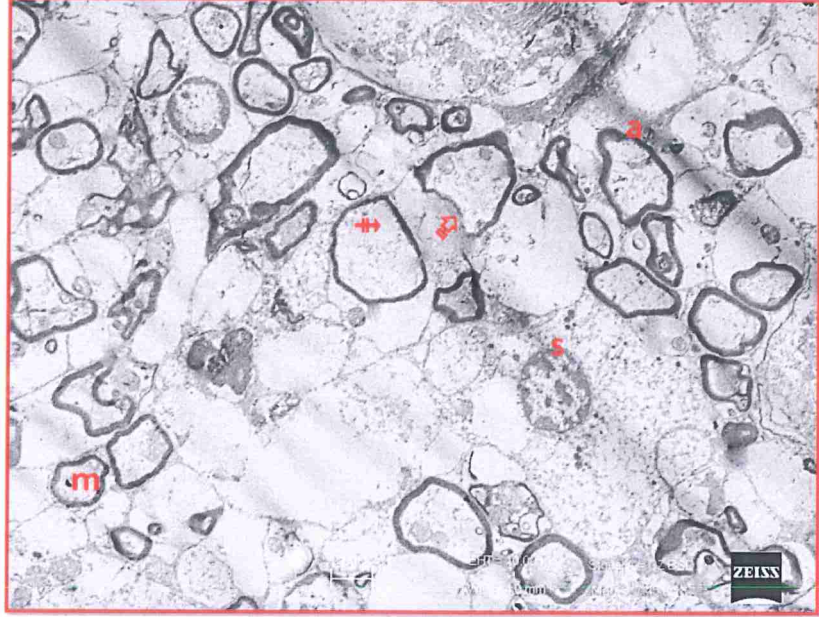
cPost-hoc ikili karşılaştırmada “DADS” grubu ile anlamlı fark saptandı (p<0,017)



Şekil 4.24: B12, SAMC ve DADS Grupları Arasında Dejenerasyon Düzeyinin Dağılımı

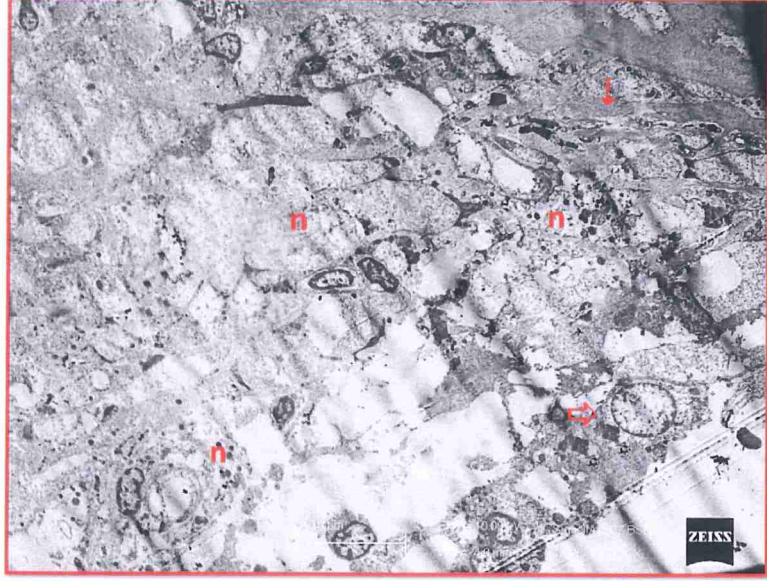
4.2.2. Elektron Mikroskopi Bulguları

Kontrol grubunda korti organında iç tüy hücrelerinin hemen alt kısmında bulunan işitme sinirine ait aksonlarda önemli ölçüde dejeneratif histolojik bulgular izlendi. Aksoplazma içerisinde miyelin figürler, akson çevresinde miyelin kaybı, aksoplazmada yerleşim gösteren aktin filamanlarında ciddi derecede kayıp, Schwann hücre çekirdek ve sitoplazmasında önemli dejeneratif değişimler ve akson sayısında önemli derecede kayıp izlendi (Şekil 4.25).



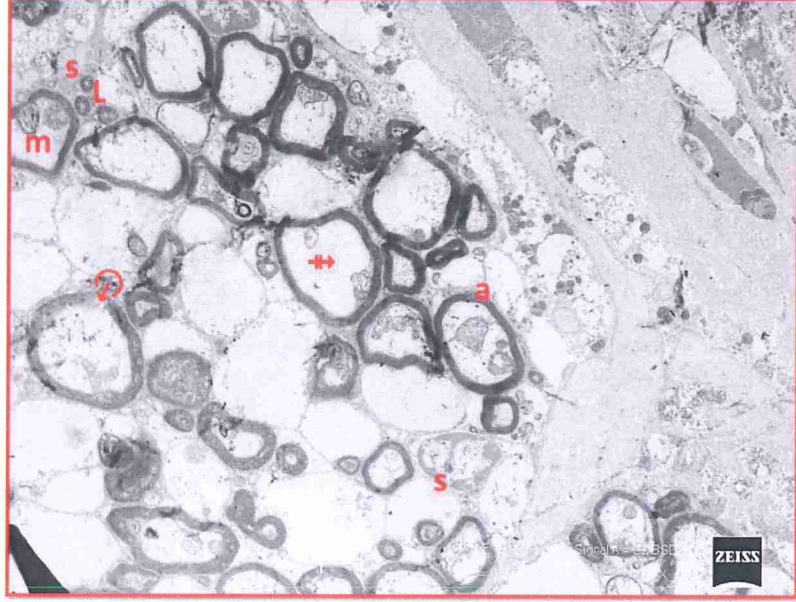
Şekil 4.25: Kontrol grubuna ait elektron mikroskopik incelemelerde a: akson, m: miyelin figür, h: miyelin kaybı, f: aktin filamanlarında kayıp, s: Schwann hücresi izleniyor (Üranil asetat-Kurşun sitrat x7.45K).

İç tüy hücresine ait elektron mikroskopik incelemelerde hücre sınırları ve organel yapıları zorlukla ayırt edilirken, hücreler nekrotik yapıda ve sitoplazmik içerikleri dağılmış halde tespit edildi. Hücre tipleri ve sitoplazmik sınırları ayırt edilemezken, hücrelerin bazal bölgelerindeki işitme sinirine ait sonlanmalarda da dejeneratif oluşumlar izlendi (Şekil 4.26).



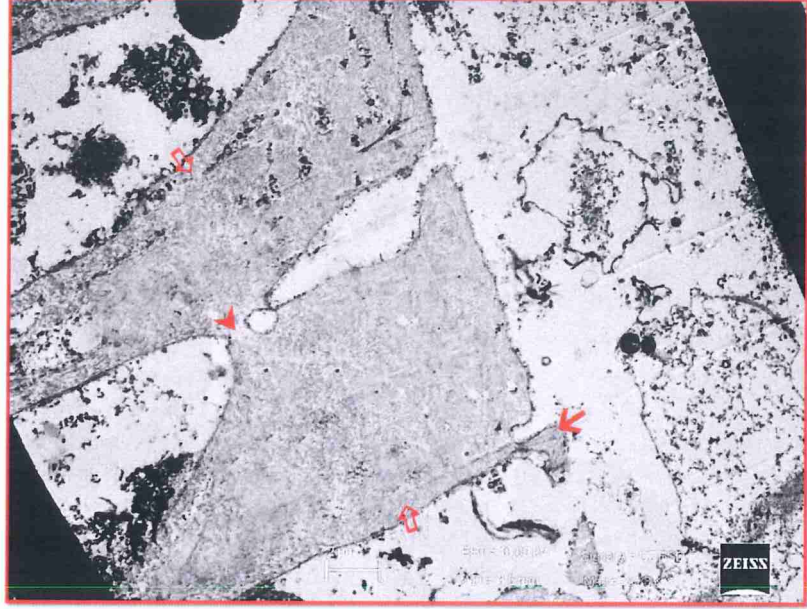
Şekil 4.26: Kontrol grubuna ait elektron mikroskopik incelemelerde n: nekrotik hücre, ↓:ışıtme sinirine ait sonlanmalar ve ⇒: İç tüy hücresi izleniyor (Uranil astetat-Kurşun sitrat x3.78K).

B12 uygulanan grupta yapılan elektron mikroskopik incelemelerde kontrol grubuna kıyasla daha az dejeneratif bulgu tespit edilirken, bazı aksonların miyelinlerinde ayrılmalara, bazı Schwann hücrelerinin çekirdek yapıları, perinükleer kromatinleri ile normal yapıda olduğu izlendi. Birçok Schwann hücresi ise lipid damlacıkları ile dolu dejeneratif sitoplazmaları ile aksonlar arasında belirgindi. Bazı aksoplazma yapılarında miyelin oluşumları saptanırken, en dejeneratif bulgunun aksoplazmadaki hücre iskelet elemanlarındaki kayıp olduğu belirlendi (Şekil 4.27).



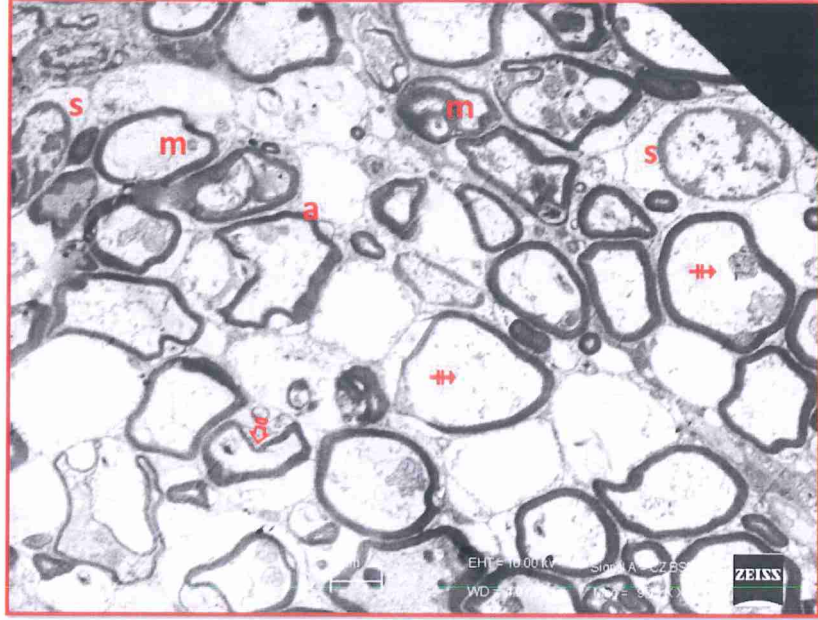
Şekil 4.27: B12 vitamini uygulanan gruba ait elektron mikroskopik incelemelerde a: akson, m: miyelin figür, f: aktin filamanlarında kayıp, s: Schwann hücresi, L: miyelinde ayrılma ve L: Schwann hücresinde lipid damlacıkları izleniyor (Uranil astetat-Kurşun sitrat x7.49K).

Bu gruba ait iç tüy hücresi üzerinde yapılan elektron mikroskopik değerlendirmelerde, hücrelerin sitoplazmik sınırlarının daha net ayırt edildiği, hücre yan yüz bağlantılarının korunduğu ancak hücrelerin apikal hücre zarlarına bakıldığında stereosilyaların tamamen ortadan kalktığı, kinosilyaların ise sadece bazal bölgelerinin varlığını koruduğu görüldü. Hücre zarındaki polarizasyon ve depolarizasyon yapılarının tamamen ortadan kalkması nedeni kontrol grubunda olduğu gibi bu grubun da ciddi işitme kaybına sebep olacak bir grup olduğu tespit edildi (Şekil 4.28).



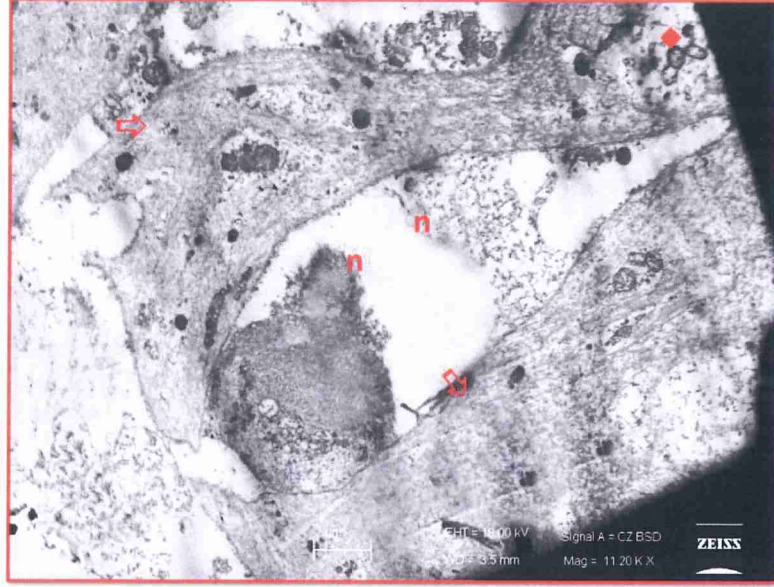
Şekil 4.28: B12 vitamini uygulanan gruba ait elektron mikroskopik incelemelerde ➤: yan yüz bağlantı birimleri, ➡: kinosilya bazal bölgesi ve ⇨: İç tüy hücresi izleniyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat x9.88K).

SAMC uygulanan gruptaki akson kaybının diğer iki gruba oranla daha az olduğu, bununla birlikte bu grupta miyelin kaybının diğer iki gruba kıyasla daha az olduğu tespit edildi. Ancak diğer gruplarda görülen diğer dejeneratif bulguların bu grupta da varlığını koruduğu belirgindi (Şekil 4.29).



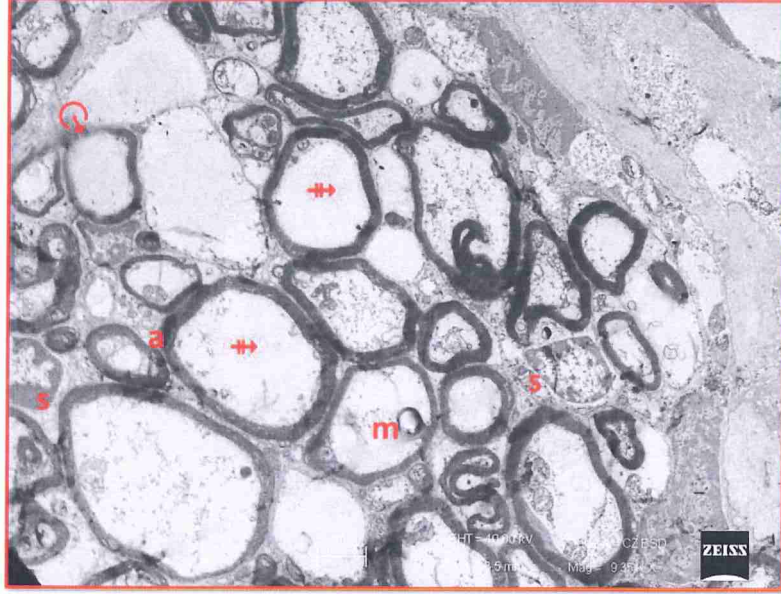
Şekil 4.29: SAMC uygulanan gruba ait elektron mikroskopik resimlerde a: akson, m: miyelin figür, s: miyelin kaybı, ++: aktin filamanlarında kayıp ve s: Schwann hücresi görülüyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat x9.43K).

Bu gruba ait iç tüy hücresinde yapılan incelemelerde hücrelerin sitoplazması, hücre iskelet yapısı ve özellikle mitokondrilerinin ayırt edilebildiği, bununla birlikte birçok mitokondride krista kaybı ve sitoplazmalarında nekrotik alanların varlığı izlendi. Kontrol grubu ve B12 vitamini uygulanan grup ile karşılaştırıldığında, hücresel yapıların korunması açısından bu grubun diğer iki gruba kıyasla daha etkili olduğu tespit edildi. Ancak diğer gruplarda olduğu gibi stereosilya ve kinosilya yapıları bu grupta da tamamen ortadan kalkmıştı (Şekil 4.30).



Şekil 4.30: SAMC uygulanan gruba ait elektron mikroskopik incelemelerde n: nekrotik hücre, ◆: mitokondri ve ⇒: İç tüy hücresi görülüyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat x11.20K).

DADS uygulanan grupta ince yapı düzeyindeki bulguların, SAMC uygulanan gruptaki bulgulara çok benzer olduğu görüldü ancak bazı iç tüy hücrelerinde nekroz varlığı saptandı (Şekil 4.31, 4.32).



Şekil 4.31: DADS uygulanan gruba ait elektron mikroskopik incelemelerde a: akson, m: miyelin figür, †: aktin filamanlarında kayıp, s: Schwann hücresi ve ⊕: miyelinde ayrılma izleniyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat x9.35K).



Şekil 4.32: DADS uygulanan gruba ait elektron mikroskopik incelemede n: nekrotik hücre, →: kinosilya bazal bölgesi ve ⇒: İç tüy hücresi izleniyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat x9.09K).

Tüm gruplar elektron mikroskopik düzeyde birbirleri ile kıyaslandıklarında, yarı ince kesit boyamalarında elde edilen bulgulara benzer şekilde *SAMC* uygulamasının en iyi histolojik bulgu sergilediği kanısına varıldı.

5. TARTIŞMA

Tartışmada sırası ile gürültüye bağlı işitme kaybının (GBİK) tanımı, koruyucu önlemler, patofizyoloji, antioksidan moleküller, literatürde bulunan hayvan çalışmaları ve bizim çalışmada elde ettiğimiz sonuçların bu literatür verileri ile karşılaştırılmasına yer verildi.

Gürültüye bağlı işitme kaybı (GBİK), işitmeye zarar verebilecek sesin, şiddet ve zaman eğrisine göre, akustik travma, geçici veya kalıcı eşik kayması şeklinde sınıflandırılan, tedavisi mümkün olmayan, fakat önlenmesi mümkün olan, bireysel olduğu kadar toplumsal bir sağlık sorunudur. Özellikle sanayi ve teknolojinin hızla gelişmesi neticesinde, sanayileşmenin yoğun olduğu ülkelerde GBİK önemli bir sağlık sorunu haline gelmiş bulunmaktadır.

Gürültüye bağlı işitme kaybında başarısı ispatlanmış bir klinik tedavi bulunmamaktadır. Bu açıdan koruyucu önlemlerin alınması büyük önem arz etmektedir.

İdeal bir koruyucu program bazı içeriklere sahip olmalıdır. Bunlar; gürültü hasarının tespiti, mühendislik ilişkileri, kişisel işitmeyi koruma yöntemleri, monitörizasyon, kayıtların korunması, sağlık eğitimi, yaptırımlar ve programların değerlendirilmesi gibi koruyucu önlem basamaklarıdır (181). USA National Institute of Occupational Safety&Health'e göre, zararlı olabilecek gürültü seviyesi, en az 8 saat süre ile, 85 dB ve üzeri şiddetteki sese maruz kalmak olarak tanımlanmıştır (70).

Özellikle iş yaşamında gürültüye bağlı işitme kaybından korunmanın en etkin yolu, mevcut gürültü kaynağı ile kişinin temas aralığı ve süresini en aza indirmektir. Temas aralığını en aza indiren etkin yollar; ya gürültü kaynağını yalıtarak izole etmek ya da kişiye izole kabinlerde çalışma imkânı sunabilmektir. Kişinin gürültüye maruz kaldığı sürenin de azaltılması için 90 dBA'nın üzerindeki her 5 dBA için çalışma süresinin yarıya indirilmesi uluslararası kabul görmüş olan yaklaşımdır. Amerika Birleşik Devletlerinde işyerlerinde sesin 90 dB için 8 saati, 95 dB için 4 saati, 100 dB için 2 saati, 105 dB için 1 saati ve 130 dB için 2 dakikayı geçmemesi için yasal önlemlerin alınması zorunludur. İşyerlerinde, çalışanların 140 dB'den daha fazla olan gürültüye maruz bırakılması kesinlikle yasaktır (182).

Ayrıca alınacak kişisel önlemler de çok önemli olup, bunları kullanıma yönelik verilen eğitimler, teşvikler, kontroller ve yaptırımlar, işitme kaybı oluşumunu en aza indirmeyi hedeflemektedir. Kişisel ekipmanlardan özellikle de kulaklıklar çok önemli olup, kişilerin uyumu mutlaka denetlenmelidir. Kulaklık ve benzeri cihazlar yaklaşık 15-30 dB'lik bir koruma sağlamaktadırlar (20). Tüm bu önlemlere rağmen işitme taraması, gürültüden korunmanın ayrılmaz bir parçasıdır. Bu tip işyerlerinde (ülkemizde 85 dB'i geçen gürültü ortamlarının bulunduğu işyerleri) çalışanların yıllık odyolojik takiplerinin yapılması gerekmektedir. Bir işçinin işitmeyi koruma programına alınması için 3–6 kHz arası herhangi bir frekansta en az 10 dB'lik fark olması gerekmektedir (182).

ABD verilerine göre, erişkinlerde görülen en önemli işitme kaybı nedeni GBİK olarak gösterilmiştir (183). Fakat burada önemli bir husus, kişideki işitme

kaybının gürültü neticesinde mi yoksa gürültü dışı nedenlerle mi oluştuğunu ayırt etmek her zaman mümkün olmamaktadır (183-184).

Erkeklerde, günlük hayatta ve çalışma alanlarında gürültüye daha fazla maruz kaldıklarından ötürü, GBİK daha sık görülmektedir. Yapılmış bir çalışmada erkeklerin 82 dBA gürültüye kadınlardan 1,5 kat, 88 dBA gürültüye ise kadınlardan 5 kat daha fazla maruz kaldığı gösterilmiştir (185). Sıklıkla yaşlılarda görülmesine rağmen özellikle artan teknoloji nedeniyle çocukluk çağında da GBİK insidansı artmaktadır. Özellikle bireysel müzik dinleme cihazları gençlerde görülen GBİK’da en çok suçlanan öğelerin başında gelmektedir. Bu cihazlar ortalama 80-100 dBA civarında ses üretmektedir. Bu cihazla yaklaşık 15 dakika müzik dinlemek (ortalama 100 dBA), USA National Institute of Occupational Safety&Health’e göre zararlı olabilecek gürültü seviyesine (en az 8 saat süre, 85 dB ve üzeri şiddetteki sese maruz kalmak) maruz kalmak ile eşdeğerdir (186).

Eğer patlayıcı tarzdaki yüksek seviyeli gürültüye maruz kalınır ise buna akustik travma denir. Fakat yıllar içerisinde belirli bir seviyedeki gürültüye sürekli veya aralıklı olarak maruz kalınır ise buna GBİK denir. Bir de gürültünün maske etkisi vardır ki bu GBİK tanımı dışındadır. Gürültü belirli bir seviye üzerine çıktığında anlamayı güçleştirir. Eğer gürültü konuşma seviyesinin 5-6 dBA kadar üzerine çıkıyor ise sağlıklı kişilerde bile anlamayı güçleştirebilir. Bu tanım GBİK tanımı altına girmese de, kişilerin toplumsal anlamda ciddi sosyal ve davranışsal problemler ile karşılaşmasına neden olduğundan mutlaka incelenmesi gerekmektedir (185). Bu durum çevrenin insan davranışı üzerine olan etkisi açısından çok önemlidir. Gürültü sadece işitme sistemini olumsuz etkilemez.

GBİK, bir dizi psikolojik hastalıkların (anksiyete, depresyon vb.) oluşmasına da neden olmaktadır. Bunların dışında aşırı otonom sinir sistemi aktivitesine bağlı olarak, tansiyon hastalıkları, bazı otoimmün hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar gibi organik hastalıklar da görülür. Hatta düşük doğum ağırlığı, erken doğum riski de GBİK ile ilişkilendirilmiştir (187-190).

Genellikle çok yüksek şiddette olmayan (70-80 dB civarı) seslere maruz kalındığında ortaya çıkan hasar onarılabılır olduğundan, kliniğe geçici eşik kayması (TTS) dediğimiz, işitsel yorgunluk tablosu çıkmaktadır. TTS’de ortaya çıkan işitme kaybı yaklaşık 30 dB kadardır. TTS’de uyarı kanallarının kapanması sonucu korti organının mekanik duyarlılığının azalması ya da aşırı uyarılma sonucu ortaya çıkan nörotransmitterlerin salınımıyla kohlear kan akımında azalma, DTH’lerin sterosilyalarının boyunda kısalma, sertleşme ve destek hücrelerinde kayıp oluşmaktadır. TTS’de kişi bazen işitme kaybı hissetmeyebilir, yalnızca tinnitus hissedebilir (191-193). Saçlı hücrelerdeki aktin ve filaman çekirdeklerinin, hasar görmeseler de kendilerini her 48 saatte bir yeniledikleri gösterilmiştir. Bu nedenle TTS halinde 48 saat sonra iyileşme başlayacaktır. Ayrıca santral işitme sisteminin özellikle olivokohlear çekirdeklerin de hasardan korunmaya yardımcı oldukları gösterilmiştir (194).

Maruz kalınan gürültünün şiddeti ve süresi daha da artar ise hem mekanik hem de metabolik yollar ile geri dönüşümü mümkün olmayan hasar oluşabilir ve buna kalıcı eşik kayması (PTS) denir. 115 dBA ve üzeri sese bir kere dahi maruz kalınırsa PTS oluşabilir. 120 dB üzerinde ise akustik travma gelişebilir ve saçlı hücrelerin sterosilyalarında hasar, hatta hücre kaybı ve ardından aksonal

dejenerasyon gelişebilir (1). Kaybedilen saçlı hücrelerin yeri fibrozis ile onarılır ki bunun endolenf ve perilenfin karışmasını engellediği düşünülmektedir (195). Akustik travmada koruyucu olan akustik refleks de devreye girememektedir. Dolayısıyla hem iç kulakta kalıcı sinirsel hasar hem de patlama etkisiyle kulak zarı ve orta kulak düzeyinde anatomik bütünlüğü bozan hasarlar oluşur (191,196). Bu hasarların oluşumundaki tek etken sadece gürültünün şiddeti değildir. Gürültünün süresi ve tarzı (devamlı, aralıklı...vb) da önemlidir. Yani şiddet, süre ve gürültünün tarzı iç kulakta oluşan hasarın derecesini belirler. İç kulak için en zararlı gürültü modalitesi ise ani patlar ve basınçlı tarzda yüksek şiddetteki gürültülerdir (197,198).

Tabii ki aynı gürültüye maruz kalmış insanlarda aynı miktar işitme kaybı görülmeyebilir. Bireysel faktörlerin de işitme kaybı açısından gösterilmiş etkileri söz konusudur (1). Örneğin bireyin zaten hali hazırda kulak hastalığının olması veya işitme kaybı yaratan bir ilaç kullanıyor olması tablonun daha farklı olmasına neden olmaktadır. Ayrıca kişinin kronik hastalıklarının olması (diyabet, hipertansiyon, kardiyak ve vasküler hastalıklar, otoimmün hastalıklar vb.) gürültünün yaratacağı hasarın daha tahmin edilemez seviyelerde olmasına neden olmaktadır. Bir diğer önemli problem de kişide mevcut işitme kaybının olmasıdır. Bu durum özellikle işyerlerinde çalışan orta yaşlı bireylerde, yaşa bağlı gelişen işitme kaybının da olması ve zamanla oluşabilecek olan GBİK'ya eklenmesi, durumu daha da karmaşık hale getirmektedir. Bu durumu engellemek için yasal anlamda alınmış iş güvenliği önlemleri söz konusudur (181). Ayrıca bireysel anlamda egzersiz ve beslenme bozuklukları da gürültüye olan hassasiyeti

değiştirmektedir. Düzenli spor yapmayanlarda, antioksidanlardan fakir beslenenler ve sigara kullananlarda gürültü hassasiyetinin daha fazla olduğu gösterilmiştir (94,199,200). Ayrıca O ve Rh pozitif kan grubundan olmak, kısa boylu olmak, beyaz ırktan olmamak gibi bazı genetik duyarlılıkların da olabileceği gösterilmiştir (201-203). Fakat bu bulguların sınırlı çalışmalar ile tüm evrene genellenmesinin çok doğru olmayacağını savunan yazarlar da mevcuttur (204).

Gürültüye bağlı oluşan hasar sadece tüylü hücrelerde oluşan mekanik hasar değildir. Günümüzde özellikle gürültü maruziyetinde açığa çıkan serbest oksijen radikallerinin (SOR) oluşturduğu hasar ve bunu engellemeye yönelik çalışmalar üzerinde sıkça durulmaktadır (205). Burada hasarın oluşmasındaki temel mekanizma, gürültü sonrası serbest oksijen radikallerinin seviyesindeki artış nedeniyle oksidan-antioksidan oranının bozulması sonucu SOR'nin yarattığı hasar olarak yorumlanabilir (206). SOR vücutta birçok fizyolojik ya da patolojik tepkimeler sonrası oluşur. Her biri eşleşmemiş bir elektrona sahip pozitif, negatif veya yüksüz reaktif moleküllerdir. Gürültü hasarı sonrası iç kulakta subsellüler düzeyde serbest kalan bu moleküller, oksijene bağlanarak reaktif oksijen ve azot moleküllerini oluştururlar (207). Bu oksijen ve azot metabolitleri, taşıdıkları serbest elektron sayesinde, vücutta birçok dokuda (protein, DNA, enzim sistemleri vb) zincirleme reaksiyonlar başlatarak bu dokulara ve çevre dokulara zarar vermektedirler. GBİK oluşumunda tanımlanmış oksijen radikalleri; süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksit, azot türevleri ise nitrojen oksit ve peroksinitrittir (208). Antioksidanlar ise bu oksidatif ajanların yarattığı hasarı engelleme

mekanizmalarından sorumlulardır. Bu nedenle vücutta bulunan antioksidan seviyesi çok önemlidir. Olası bir hasar halinde antioksidan seviyesi yetersiz ise, hücre düzeyinde oksidatif hasar başlamaktadır. Antioksidanların, SOR'yi etkisiz hale getirme sürecinde gösterilmiş farklı mekanizmaları bulunmaktadır. SOR'yi bağlayarak, onlara bir hidrojen atomu aktararak veya bağlandıkları radikallerin zincirlerini kırarak onları etkisiz hale getirebilirler. Ayrıca SOR'nin dokuda oluşturduğu hasarları da onararak, onarıcı etki de gösterirler (208).

Antioksidanlar endojen ve eksojen olmak üzere iki alt grupta incelenirler. Endojen olanlar da enzimatik olanlar ve olmayanlar diye ayrılırlar. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon transferaz (GST), katalaz (CAT), mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, hidroperoksidaz enzim olan endojen antioksidanlardır (208). Melatonin, seruloplazmin, transferrin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, bilirubin, glutatyon, sistein, metiyonin, laktoferrin, albümin enzim olmayan endojen antioksidanlardır (208). Eksojen antioksidanlar; vitaminler, ilaçlar, gıda maddeleri gibi dışarıdan alınan antioksidanlardır. GBİK'dan koruyucu etkilerinin araştırılması amacıyla, birçok antioksidan molekül ile yapılmış çalışmalar olsa da, henüz kabul görmüş ve yerleşmiş bir tedavi modalitesi oluşmamıştır (208).

Bir diğer önemli mekanizma da, GBİK'da kohlear kan akımının azalmasıdır. Bunun iki türlü etkisi söz konusudur. Hem kohleanın beslanması bozulmakta, hem de gürültü neticesinde artan oksidatif radikallerin toplanması ve uzaklaştırılması zorlaşmış olacaktır. Tüm bunlar neticesinde kohleadaki hasar daha da katlanacaktır, iskemi gelişmesine neden olacaktır (195). İskemi sonrası mevcut

ATP'lerin kullanımı neticesinde oluşan metabolitler oksijen olmadığı için SOR oluşum yolağına kayarak oksidatif hasarın başlamasına neden olacaklardır (208).

İşitme sistemindeki afferent liflerin nörotransmitteri glutamattır. Glutamat Na^+ ve Ca^{++} iyonları sayesinde reseptörüne bağlanır (209). Gürültü ile birlikte ekstrasellüler alanda aşırı glutamat artışı olur. NMDA, AMPA ve kainat reseptörlerinde aşırı aktivasyon olur ve iyon engelleri bozulur. Hücre içerisine aşırı bir Na^+ girişi olur ve ödem gelişir. Ayrıca Ca^{++} da lipid ve proteinlerde bozunma reaksiyonlarını başlatarak hücrede nekroz gelişimini başlatır (195). Stres faktörünün derecesine göre direk kaspaz sistemi aktif hale gelerek apoptozis de başlayabilir. Gürültü sonrası hücre ölümünde bu iki temel mekanizma sorumludur. Gürültünün şiddeti ve morfolojisine göre, farklı ölüm mekanizmalarının devreye girdiğini gösteren yayınlar vardır (210,211).

Gürültüye bağlı işitme kaybı odyolojik prezantasyonunda, yüksek frekanslarda sensörinöral kayıp izlenmektedir. Bu kayıp en belirgin 4 kHz seviyesinde izlenmektedir ve buna da 4 kHz çentiği denilmektedir. Bu çentiğin, dış kulak yolunun rezonans etkisi nedeni ile oluştuğu düşünülmektedir. Gürültünün şiddetinin ve süresinin uzaması halinde bu kayıp diğer frekanslara da yayılmaktadır (183,184). Kayıp, alçak frekanslarda 40 dB, yüksek frekanslarda da 70 dB'den daha fazla olmamaktadır (212,213).

Biz, çalışmamızda antioksidan özellikleri üzerine çok sayıda çalışmalar yapılmış ve güçlü antioksidan özellikleri gösterilmiş ayrıca nöronal iyileşme ve doku beslenmesini olumlu yönde etkileyen ajanlar olan B12 vitamini, S-

allylmercaptocysteine ve D-allyl dsulfide kullandık. Koruyucu etkilerini gösterbilmek için de işitsel uyarılmış beyinsapı potansiyelleri (ABR) ve histolojik incelemeleri değerlendirdik.

B12 vitamini, vücutta DNA sentezi gibi birçok önemli olayda ko-enzim veya ko-faktör olarak görev almaktadır. Eksikliğinde folik asit metabolizması da etkilenecek vücutta homosistein artışına neden olmaktadır (214). Hiperhomosisteinemi, ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörüdür (215). Organ perfüzyonunun bozulması ve tromboz riskini artırmaktadır, bu da özellikle kohlea gibi end-arteriyal sistem ile beslenen dokularda ciddi risk oluşturmaktadır (216). Hiperhomosisteineminin periferik vasküler hastalıklar ve kardiyovasküler hastalıklar ile yakından ilişkisi de gösterilmiştir (217,218). Hiperhomosisteinemide dokularda oksidan-antioksidan dengesi de bozulmakta ve artan oksidatif hasara neden olmaktadır (219). B12'nin ayrıca miyelinizasyon ve sinir rejenerasyonunda da önemli etkileri bilinmektedir. Eksikliğinde birçok nörolojik hasar meydana gelmektedir (220). Hem insanlarda, hem de yapılan hayvan çalışmalarında B12 eksikliğinin yarattığı nöropati gösterilmiştir (221). Ayrıca yüksek doz B12 verilerek kan seviyesi supra-fizyolojik düzeye getirildiğinde nöral rejenerasyon etkisinin daha belirgin olduğunu gösteren yayınlar bulunmaktadır (14). B12 ve GBİK üzerine yapılmış çalışmalar genellikle retrospektif özellikte olup, GBİK olan hastalar ve kontrol gruplarından alınan kan örneklerinde B12, folik asit ve homosistein seviyeleri çalışılmıştır (11). GBİK'lı hastalarda homosistein seviyeleri yüksek bulunurken, B12 seviyeleri düşük izlenmiştir. Bunların sonucunda B12 vitaminin GBİK'da

koruyucu olabileceği düşünülmüştür. 2004 yılında GBİK'lı insanlarda yapılan çalışmada, B12 seviyesi supra-fizyolojik düzeye getirildikten sonra yapılan ölçümlerde kontrol grubuna göre iyileşmeler bulunmuş, gürültüden koruduğu düşünülmüştür (13). B12'nin gürültüden koruduğuna dair yapılmış, prospektif, hayvan modeli çalışması literatürde izlenmemiştir. Yapılan çalışmalar genellikle, gürültüye bağlı işitme kaybı oluşmuş kişilerin kandaki değerlerine bakarak yorumlanmıştır.

Bu nedenle biz gruplarımızdan bir tanesine 1mg/kg B12 vitaminini 4 hafta süreyle vererek, serum B12 seviyesini supra-fizyolojik düzeye getirmeyi planladık. 2. hafta sonunda gürültüye maruz bıraktık, tekrarlayan ölçümler ile sonuçlarımızı değerlendirdik.

Sarımsak özütleri, özel ortamlarda bekletilmiş, antioksidan etkiden sorumlu farklı organosülfür içeriklerine sahip moleküllerdir. Biz çalışmamızda antioksidan özellikleri gösterilmiş aktif komponentler olan SAMC ve DADS moleküllerini kullandık. Kullandığımız dozları da gentamisin nefrotoksitesisi üzerine yapılan çalışmalardan belirledik (130,131).

SAMC, DADS ve diğer sarımsak özütlerini kullanılarak yapılan çok sayıda çalışma mevcuttur. Fakat Türkçe ve İngilizce yayınlar incelendiğinde, ototoksitesite üzerine yapılmış sadece bir çalışma izlenmiştir, bu çalışmada da gentamisin ototoksitesisi üzerinde koruyucu etkinliğe bakılmıştır (167). Fakat bu moleküllerin kullandığı gürültü ototoksitesisi çalışması bulunmamaktadır.

Uzun L. ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada SAC, SAMC ve DADS moleküllerinin gentamisin ototoksitesisi üzerinde koruyucu etkinliği araştırılmıştır. Çalışmada 30 adet Wistar cinsi ratlar kullanılmış. Gruplarda 6'şar hayvan kullanılmış ve toplam 5 grup oluşturulmuş. Bir gruba gentamisin+SAMC, diğer gruba gentamisin+DADS, üçüncü gruba gentamisin+SAC ve dördüncü grup kontrol grubu olarak belirlenmiş ve sadece gentamisin verilmiş. Tüm gruplara günlük 120mg/kg gentamisin intraperitoneal yolla, ilk gruba aynı zamanda 100mg/kg SAMC intragastrik yolla, ikinci gruba gentamisin yanında 50 mg/kg DADS intragastrik yoldan, üçüncü gruba 250 mg/kg SAC gentamisin ile birlikte intraperitoneal yolla 25 gün süre ile verilmiş. 25 günün sonunda ABR testleri yapılmış. SAC, DADS ve SAMC verilen gruplarda, işitmenin istatistiksel olarak anlamlı şekilde korunduğu gözlenmiş, fakat ilaçların kendi içlerinde istatistiksel olarak üstünlükleri gözlenmemiş (167). Çalışmamızda aynı dozlarda SAMC ve DADS moleküllerini kullandık. Biz gürültünün etkilerinden koruyucu etkinliği araştırdık ve bu çalışmada ototoksitesite üzerine koruyucu etkinliği gösterilmiş moleküllerin, gürültü üzerindeki koruyucu etkinliğinin de olduğu sonucuna vardık.

Yapılmış birçok çalışmada sarımsak özütlerinin güçlü antioksidan özellikleri gösterilmiştir. Bu özelliklerini enzimatik ve non enzimatik antioksidan seviyelerini artırarak, Nrf2 faktörü aktifleştirerek ve ksantin oksidaz, siklooksijenaz, NADPH oksidaz gibi peroksidaz enzimleri inhibe ederek gösterirler (138).

Güçlü antioksidan etkilerinin dışında gösterilmiş başlıca etkileri, nöroprotektif etki (139-141), iskemik beyin hasarlarını azaltması (142,143), antiaging etkisidir (144,145). Yapılmış birçok çalışmada; Alzheimer, Huntington, Parkinson gibi kronik nöro-dejeneratif hastalıklarda, nöron koruyucu, kanlanmayı artırıcı ve anti-oksidan özellikleri nedeniyle koruyucu etkileri gösterilmiştir (146-154).

Kanlanmayı artırıcı etkileri özellikle sigara içenlerde görülen damar hastalıklarında, aterosklerotik hastalarda ve orak hücreli anemisi olan hastalarda araştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı sonuçlara varılmış. Sigara içenlerde oksidan etkilerden sorumlu olan F2 izoproston seviyesini azalttığı gösterilmiş. Orak hücreli anemilerde, hücre malformasyonuna neden olan Heinz body oluşumunu azalttıkları gösterilmiş. Aterosklerotik hastalarda ise lipid peroksidasyonunu ve LDL oksidasyonunu azalttıkları gösterilmiş (155-158).

Sarımsak özütleri ile yapılmış çok sayıda kanser önleyici etkisinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur. AGE karsinogenezin erken ve geç evrelerini inhibe ederek kolon, meme, cilt, mide ve özefagus gibi pek çok dokuda tümör büyümesini inhibe etmektedir (159-165).

Bizim çalışmamızda B12, SAMC ve DADS gibi ajanları kullanmamızın nedeni, bu moleküllerin gürültüye bağlı işitme kaybı ile ilgili deneysel çalışmalarda daha önceden kullanılmamış olmasıdır. Ayrıca bu moleküller ile yapılan çalışmalar incelendiğinde antioksidan, nöroprotektif ve kanlanmayı artırıcı özellikleri üzerinde olumlu etkilerinin gösterilmesi ve bu mekanizmaların

gürültüden korunma mekanizmalarıyla bire bir örtüşmesi nedeniyle de bu ilaçları tercih ettik.

Gürültüye bağlı işitme kaybının moleküler düzeyde mekanizmalarını ortaya koymak ve gürültünün yarattığı hasardan korumak veya hasar oluşumunu engellemek amacıyla literatürde çok sayıda araştırma bulunmasına rağmen etkinliği kabul görmüş ortak bir tedavi edici veya koruyucu yöntem bulunmamaktadır. Fakat yapılan tüm araştırmalarda her ne kadar ajan seçimi, uygulama şekli, dozu, etki ettiği moleküler mekanizmalar farklılık gösterse de, GBİK'dan korunma ve tedavi çalışmalarında ortak özellik, antioksidan ajan kullanılmasıdır.

Bu kısımda GBİK ile ilgili yapılmış hayvan çalışmaları ve bu çalışmalardan elde edilen sonuçların bizim çalışmamızın sonuçları ile karşılaştırmalarından bahsedilecektir.

Yamashita ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada gürültünün ortaya çıkardığı oksidatif hasarın, gürültü maruziyetinden 1 hafta sonra da devam ettiğini ortaya koymuşlardır. Bu süreçte kullanılan antioksidan ajanların kohlear hasarı azalttığını belirtmişlerdir (99). Biz de çalışmamızda gürültü sonrası 2 hafta süre ile tedaviye devam ettik. Gürültü sonrası ilaç kullanmanın kohlear hasarı azalttığını hem elektrofizyolojik hem de histolojik testler neticesinde gözlemledik.

Heinrich ve arkadaşlarının (7) yapmış olduğu bir çalışmada, askorbik asidin gürültü etkisinden koruyuculuğu test edilmiş. 24 adet guinea pig bulunan bir gruba 25 mg/kg, diğer 24 adet hayvanın bulunduğu başka bir gruba da 50 mg/kg

yüksek doz askorbik asit, 7 gün süre ile verilmiş. 6 hayvandan oluşan kontrol grubuna da salin verilmiş. 7 günün sonunda hayvanlar 90 dB SPL 1 saat gürültüye maruz bırakılmış. Gruplar ABR testleri ve kohlear nitrit oksit seviyeleri çalışılmak üzere rastlantısal olarak ayrılmış. Sonuçta, yüksek doz askorbik asit verilen grubun işitme değerlendirilmesinde, düşük doz verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde işitmeyi koruduğu gözlenmiş. Ayrıca bakılan NO seviyelerinin de, yüksek doz verilen grupta anlamlı düzeyde düşük olduğu gözlenmiş. Bu çalışmada biyokimyasal tesler ile oksidan seviyeleri ölçülmüştür. Biz histolojik testler kullanarak bu oksidan ajanların kohlea üzerinde yarattıkları hasar miktarlarını gözlemledik. Benzer şekilde, kullandığımız antioksidan moleküllerin işitmeyi ve kohleanın anatomik bütünlüğünü daha iyi koruduğu sonucuna vardık.

Royce E. ve arkadaşlarının (222) yapmış olduğu bir hayvan çalışmasında gruplara sırasıyla 12.5 mg /kg D-methionine (DMET), 12,5 mg/kg N-acetyl-L cysteine (NAC), 12,5 mg/kg DMET ve NAC karışımı, kontrol grubuna da aynı miktarda salin verilmiş. 4 doz gürültü öncesi, 6 doz gürültü sonrası günde iki defa verilecek şekilde tüm hayvanlara uygulanmış. Gürültü 4 kHz'de 105 dB SPL olacak şekilde 6 saat uygulanmış. Gürültüden hemen sonra, 1. hafta, 2. hafta, 3. hafta 2 kHz, 4 kHz, 6kHz ve 8 kHz de işitme eşiklerine bakılmış. Sonuçta, sadece NAC verilen grup etkisiz bulunmuş. Sadece DMET verilen grup ise orta frekanslarda etkili bulunmuş. DMET ve NAC birlikte verilen grupta kontrol ile karşılaştırıldığında birçok frekansta anlamlı düzeyde işitmeyi koruduğu gözlenmiş. Bu çalışmada oluşturulan gürültü modeli frekansa özgü olarak tasarlanmış. Biz çalışmamızda geniş band gürültü oluşturarak kohleanın birçok

bölgesinde hasar oluşmasını ve kullandığımız antioksidan moleküllerinin bu alanlarda gösterdiği etkiyi gözlemledik. ABR sonuçlarında benzer şekilde, ilaç gruplarımızda orta ve yüksek frekansların korunduğunu gözlemledik. Düşük frekanslar gürültüden çok etkilenmediği için ilaçların bu frekanslardaki etkileri net anlaşılamamıştır.

Yamasoba ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada (223) glutatyonun gürültü hasarından koruyucu etkinliği araştırılmış. Çalışmada 3 grup oluşturulmuş. Tedavi gruplarından ilkinde glutatyon aktivatör özelliği olan buthionine sulfoxime (BSO), ikinci gruba glutatyon inhibitör özelliği olan oxothiazolidine carboxylate (OTC) verilmiş. Kontrol grubuna da aynı dozlarda salin verilmiş. Tüm gruplar, 102 dBA 3 s/gün 5 gün boyunca gürültüye maruz bırakılmış. Gürültü maruziyetinden 2 ve 3 hafta sonralarında yapılan ABR testlerinde, OTC verilen grubun hem BSO, hem de salin verilen gruba göre işitme eşikleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek izlenmiş. BSO verilen grubun da hem salin hem de OTC verilen gruba göre işitme eşikleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük izlenmiş. Ayrıca yapılan histolojik incelemelerde, BSO verilen grupta kohlea bazal turundaki hücrelerin çok daha iyi durumda olduğu gözlenmiş. Sonuç olarak glutatyonun, GBİK'da koruyucu olabileceği gösterilmiş. Bu çalışmada histolojik olarak kohlear bazal turdaki dış saçlı hücrelerin hasarı incelenmiştir. Çalışmada TTS hedeflendiği için en çok kayıp DTH'lerde olacağından ve kohleanın diğer alanlarında fazla hasar olmayacağından sadece saçlı hücre kaybı üzerinden karşılaştırmalar yapılmış. Biz geniş band ve yüksek miktarda gürültü verdiğimiz için kohleanın birçok bölgesinde hasar oluştuğundan hem ışık hem de elektron

mikroskopi kullanarak iç ve dış saçlı hücreler, bazal membran, destek hücreleri, sitriya vaskülaris ve sinir miyelin kaybı miktarlarını inceledik. Bizim kontrol grubumuzda saçlı hücrelerde neredeyse tama yakın hasar gözlemledik. Tedavi gruplarından SAMC ve DADS gruplarında saçlı hücre bütünlüğünde anlamlı bir korunma gözlemledik.

Fetoni ve arkadaşları yapmış olduğu çalışmada (9), guine pigler üzerinde koenzim Q10 (Q10) ve suda çözünürlüğü, biyo-yararlanımı daha yüksek olan koenzim Q10 (Q- Ter) moleküllerinin gürültüden koruyuculuğunu araştırmış. 6 kHz'de 120 dB 1 saat gürültü modeli oluşturulmuş. İlaçlar gürültüden 1 saat önce ve gürültü sonrası 3 gün süreyle uygulanmış. ABR, immün histokimyasal ve elektron mikroskopik testler uygulanmış. Yapılan tüm testler sonrasında her iki molekülün, özellikle de Q-Ter molekülünün, gürültüye bağlı oksidatif hasardan önemli ölçüde koruduğu gösterilmiş. Bu çalışmada yüksek frekans odyometri kullanıldığı için, modellenen gürültü yüksek frekansta (6 kHz) ve kısa süreli tutularak özellikle bazal turdaki DTH'lerde hasar oluşturulmuş. Bu nedenle de SEM (scanning elecrtion microscopy) kullanılarak DTH'lerin sayısı, morfolojisi ve kohlear apeksten uzaklıkları değerlendirilmiş. Biz çalışmamızda yüksek miktarda gürültü modeli oluşturarak kohleanın birçok farklı alanında hasar oluşturarak sadece saçlı hücreleri değil farklı kohlear bölgeleri incelemek için TEM (transmisyon elektron mikroskopi) kullandık. SEM'de kohleaya daha yüzeysel bakarken, TEM'de hücresel düzeydeki hasarlar, aksonal dejenerasyonlar, sinir miyelin kayıpları, hücre düzeyinde nekroz, hücre bağlantılarını değerlendirdik. Benzer şekilde biz de saçlı hücrelerde gürültünün yarattığı hasarı

gözlemledik ayrıca kohleayı tümüyle hücrel ve organeller düzeyinde inceledik ve gürültünün diğer destek hücreler, hücrel bağlantılar ve sinir hücreleri düzeyindeki hasarlarını da gözlemledik. Yine benzer şekilde kullandığımız antioksidanların bu hasarı azalttıklarını gözlemledik.

Mohammed K. (224) ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada 20 adet guine pig iki gruba ayrılmış. Çalışma grubuna 100 mg/kg silymarin 6 gün süre ile verilmiş. Kontrol grubuna da aynı gün ve dozda salin verilmiş. 6 günün sonunda 4 kHz'de 120 dB gürültü 6 saat boyunca uygulanmış. Gürültü hemen sonrası, 3, 10 ve 15. günlerde 2,4,6,8,12,16,20 kHz frekanslardaki eşiklere bakılmış. Sonuç olarak 3, 10 ve 15. günlerde tüm frekanslarda çalışma grubunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde işitmeyi koruduğu gösterilmiş.

McFadden (225) ve arkadaşlarının yaptığı bir başka hayvan çalışmasında da C vitamininin gürültüden koruyuculuğu test edilmiş. Çalışmada Guine pig cinsi hayvanlar kullanılmış. Gruplara normal diyet, vitamin C'den güçlendirilmiş diyet ve vitamin C'den fakir diyetler 35 gün süre ile uygulanmış ve ardından 4 kHz'de 115 dB 6 saat gürültü uygulanmış ve gürültüden 21 gün sonra ABR ve elektron mikroskopik değerlendirmeler yapılmış. Vitamin C'den zengin olan grup 4,8,12 ve 16 kHz frekanslardaki ölçülen eşik değerlerinde, hem normal diyet hem de fakir diyete göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde koruma sağlamış. Yapılan elektron mikroskopide ise istatistiksel farklılık izlenmemiş. Sonuç olarak yüksek doz vitamin C'nin gürültüye bağlı işitme kaybında koruyucu olduğu söylenmiş. Biz de çalışmamızda benzer şekilde hem gürültü öncesi hem de gürültü sonrası tedavilere devam ettik. Her ne kadar farklı gürültü modelleri kurgulamış olsak da, ABR

sonuçlarında yüksek frekanslarda benzer bulgular gözlemledik. Bizim çalışmamızda ışık mikroskopi incelemesinde, SAMC ve DADS moleküllerinin kohleayı hem b12 vitamini hem de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde koruduğu görüldü. Elektron mikroskopi incelemesinde ise bazı kohlealardan istenilen görüntüler alınamadı ve denek sayısında eksilme oldu. Bu nedenle istatistiksel karşılaştırma yapılamadı. Fakat yapılan incelemelerde ışık mikroskopi ile benzer bulgular görüldü.

Jahani L. ve arkadaşlarının (226) yapmış olduğu bir çalışmada 40 adet Wistar rat 5 gruba ayrılmış. Gruplardan dördüne sırasıyla 5mg/kg, 25 mg/kg ve 50 mg/kg atorvastatin ve salin 14 gün süre ile verilmiş. Diğer bir grup da kontrol grubunu oluşturmuş. 2 hafta sonunda 125 dB geniş band gürültü 2 saat süreyle uygulanmış. İlaç öncesi, gürültü sonrası 2. saat ve 14. günlerde otoakustik emisyonları ve ABR testleri yapılmış. Sadece 5 mg/kg atorvastatin verilen grupta, 48. saat eşiklerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır.

Loukzadeh Z. ve arkadaşlarının (227) ratlar üzerinde yapmış olduğu çalışmada gruplara sırasıyla 50, 250 ve 1250 mg/kg/gün dozlarda askorbik asit 14 süreyle verilmiş ve sonunda 105 dB 2 saat süreyle gürültüye maruz bırakılmış. Gürültüden 1 saat sonra yapılan OAE ile ilaç öncesi OAE testleri karşılaştırılmış. 250 ve 1250 mg/kg dozlarda askorbik asit verilen gruplardaki işitme düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde korumuş izlenmiş. Biz çalışmamızda OAE kullanmadık. Çünkü gürültü miktarımızın ve dolayısıyla işitme kaybımızın yüksek olması sonucu emisyonların alınamayacağını öngördük. Ayrıca OAE'nin

standardizasyonunun zorluğu ve kohlea dışında oluşan hasarlarda bilgi vermemesi nedeniyle bizim çalışma kurgumuza uymadığını düşündük (208).

Arslan HH ve arkadaşlarının (228) yapmış olduğu çalışmada ratlarda gürültü sonrası uygulanan 3.saat, 24.saat hiperbarik oksijen (HBO) tedavisi ve erken dönem deksametazon tedavilerinin etkinliği araştırılmış. 5 rat kontrol grubu, 4 rat sadece gürültü verilen grup, 5 rat erken dönem (3.saat) hiperbarik oksijen verilen, 6 rat geç dönem (24.saat) hiperbarik oksijen verilen, 6 rat deksametazon verilen grubu oluşturmuş. Gürültü öncesi, gürültü sonrası ve hayvanlar sakrifiye edilmeden önce ABR ölçümleri yapılmış. Ayrıca elisa yöntemiyle de kohlear sitokin değerleri karşılaştırılmış. 24. saat HBO tedavisi ve deksametazon verilen grupta, işitme eşiklerinin kontrol ve 3. saat HBO verilen gruplara göre anlamlı düzeyde korunduğu izlenmiş. 3. saat HBO tedavisi verilen grubun koklear İL-6 ve İL-1 β seviyelerinin 24. saat HBO, deksametazon ve kontrol gruplarına göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiş, fakat bu üç grup arasında anlamlı bir fark izlenmemiş. TNF- α seviyelerinde ise, 3 tedavi grubu, kontrol grubu ve sadece gürültü verilen gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmemiş. Sonuç olarak deksametazon verilen grubun en etkili tedaviyi sağladığı gösterilmiş. 3.saat HBO tedavisinin zararlı olabileceği, fakat 24 saat sonra verilmesinin faydalı etkiler gösterebileceği söylenmiş. Bu çalışmada ABR ölçümleri dışında kohlear sitokin seviyeleri ölçülmüş. Gürültü verilen grupta kohlear sitokin seviyelerinin yükseldiğini gösterilmiş ve ABR testlerinde ilaç verilen grupta işitmenin korunduğu ve sitokin seviyelerinin düştüğü gösterilmiş. Biz de çalışmamızda antioksidan moleküller kullanarak gürültü kaynaklı bu biyokimyasal hasarı

azaltıp, hem ABR hem de histolojik olarak kohleanın korunabildiğini gözlemledik.

Yapılan değerlendirmelerde hem B12, hem S-allylmercaptocysteine, hem de D-allyl disulfide verilen grupların, gürültünün özellikle etkisinin beklendiği yüksek frekanslarda (6-8 kHz) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olan koruyucu etkileri gösterildi. Bu etkinin özellikle 14. günde ortaya çıkması nedeniyle ilaçların özellikle PTS oluşumunu önlemede daha etkili olduğu sonucuna varabiliriz. Ayrıca gürültü sonrası hemen (0. saat) yapılan ABR testinde sadece DADS molekülünün kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde eşiklerinin düşük olması, DADS molekülünün TTS oluşumunda da koruyucu olabileceği sonucuna varabiliriz. SAMC molekülü hem 48. saat hem de 14. günde kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde koruma gösteren tek grup olmuştur. Bu durumda gürültü sonrası tedavi aşamasında en etkin grubun SAMC olduğu sonucuna varılabilir.

Çalışmamızda, gürültünün kalıcı etkilerini, ilaçların koruyucu etkilerini gösterebilmek adına ayrıca hem ışık hem de elektron mikroskopik çalışmalar yaptık. Histolojik incelemeler sonrasında kontrol grubu ve tüm tedavi gruplarında gürültünün kohleanın farklı alanlarında yarattığı mikroskopik hasarlar gösterildi, ilaçların bu anatomik bütünlükleri koruyup korumadığı ve koruyor ise ne kadar korunduğu incelendi.

6. SONUÇ

Gürültüye bağılı işitme kaybı, toplumda en sık görülen işitme kaybı nedenlerindendir. Oluşması halinde geri dönüşümü mümkün olmayan, dolayısıyla koruyucu önlemlerin ön planda tutulması gerekli olan toplumsal bir sağlık sorunudur. GBİK'da ortaya konulan mekanizmalar içerisinde günümüzde en çok kabul gören oksidan-antioksidan dengesinin bozulmasıdır. Birçok antioksidan ajanın gürültü üzerindeki koruyucu etkinliği test edilmiştir. Faydalı olduğu gösterilmiş moleküller olmasına rağmen kabul görmüş bir tedavi modeli bulunmamaktadır.

Çalışmamızda ratlara 110 dB 8 saat süre ile geniş band gürültü vererek birkaç frekansı etkileyen yüksek bir gürültü modeli oluşturduk. Emisyonların alınamayacağını öngörerek OAE yapmaktan vazgeçtik. Hayvanların herbirine gürültü öncesi ve sonrası toplam 4 defa ABR (click, 4, 6 ve 8 kHz) testlerini yaptık. Hem kontrol hem de ilaç grupları incelendiğinde farklı frekanslarda miktarı farklı boyutlarda değişen gürültü kaybı oluşturduğumuzu gördük. Bu çerçevede, vermiş olduğumuz ilaçların koruyuculuğunu test etmiş olduk.

Çalışmamızda, daha önce yapılan hayvan çalışmaları incelendiğinde, gürültüden koruyuculuğu test edilmemiş olan B12, SAMC ve DADS molekülleri kulladık. Bu molekülleri tercih etmemizin diğer önemli nedeni de bu moleküllerin gösterilmiş antioksidan, nöroprotektif ve doku kanlanmasını artırıcı özelliklerinin, GBİK patofizyolojisi ile örtüşüyor olmasıdır.

Çalışma sonunda elde ettiğimiz bulgular neticesinde, bu 3 molekülün de yapılan ABR testleri sonucunda, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde

gürültüden koruduğu gösterilmiştir. Yapılan histolojik değerlendirmeler neticesinde ise SAMC ve DADS gruplarının hem B12 hem de kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde koruyuculuğu gösterilmiştir.

Yaptığımız bu deneysel çalışmanın bulguları ışığında, B12, SAMC ve DADS moleküllerinin her ne kadar gürültüye karşı koruyucu etkileri gösterilmiş olsa da, bu moleküllerin GBİK'da kullanılması için klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. ÖZET

“S-allylmercaptocysteine, Diallyl disulfide ve yüksek doz B12 vitamininin ratlarda oluşturulan gürültüye bağlı işitme kaybında koruyucu etkinliği”

Bu çalışma S-allylmercaptocysteine, Diallyl disulfide ve yüksek doz B12 vitamininin ratlarda oluşturulan gürültüye bağlı işitme kaybında koruyucu etkinliğini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

Ratlar rastlantısal olarak 6'şarlı 4 gruba ayrıldı. Tüm ratların ilaç verilmeden önce sağ kulaklarındaki işitme eşikleri “Auditory Brain Responce” (ABR) testi ile belirlendi. İlk gruba 100 mg/kg serum fizyolojik intragastrik, ikinci gruba 1 mg/kg dozda B12 vitamini intraperitoneal, üçüncü gruba 100 mg/kg S-allylmercaptocysteine (SAMC) intragastrik, dördüncü gruba da 50 mg/kg Diallyl disulfide (DADS) intragastrik olarak 2 hafta süre ile verildi. 2 haftanın sonunda tüm gruplar 8 saat süreyle 110 dB geniş band gürültüye (White noise) maruz bırakıldı. Gürültü sonrasında gruplara, ilaçlar aynı doz ve şekillerde 2 hafta daha verilmeye devam edildi. Gürültü sonrası hemen (0. saat), 48. saat ve 2. haftada ABR testi ile işitme eşikleri tekrar değerlendirildi. Son ABR ölçümlerinin ardından derin anestezi altında intrakardiyak kan alımını takiben ratların sağ (ölçüm yapılan) temporal kemikleri çıkarıldı. Kohleaları ışık ve transmisyon elektron mikroskopik incelemeler için ayrıldı.

ABR testlerinde, tüm ilaç gruplarının, 14. gün 8 kHz'deki işitme eşiklerinin, kontrol grubuna göre anlamlı olarak korunduğu gözlemlendi. Ayrıca SAMC verilen

grupta, yine 8 kHz'de 48.saat eşiklerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak korunduğu gözlemlendi. DADS verilen grupta da 6 kHz'de 14. gün eşiklerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak korunduğu gözlemlendi. Işık mikroskopisinde kohleanın 7 farklı alanı incelenerek dejenerasyon kriterleri oluşturuldu. SAMC ve DADS verilen grupların hem kontrol hem de B12 verilen gruba göre kohlea bütünlüğünü anlamlı düzeyde daha iyi koruduğu gözlemlendi. B12 ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. SAMC ve DADS kendi aralarında değerlendirildiğinde, SAMC'nin daha iyi koruduğu gözlemlendi. Elektron mikroskopide de ışık mikroskopisine benzer bulgular elde edildi. B12 ve kontrol gruplarındaki hasar benzer izlendi. SAMC ve DADS moleküllerinin kontrol ve B12 gruplarına göre daha iyi korunduğu gözlemlendi. En iyi korumanın SAMC grubunda olduğu izlendi.

Sonuç olarak B12, SAMC ve DADS moleküllerinin ABR testlerinde gürültüden koruyucu etkinliği gösterildi. SAMC ve DADS moleküllerinin koruyucu etkinliği ışık ve elektron mikroskopi ile de desteklendi. Hem ABR hem de histolojik değerlendirmeler neticesinde, tüm gruplar içerisinde en iyi koruyucu molekülün SAMC olduğu gözlemlendi.

8. ABSTRACT

“The protective role of S-allylmercaptocysteine, Diallyl disulfide and high dose of vitamin B12 on noise induced hearing loss”

The aim of this study was to demonstrate the protective effect of S-allylmercaptocysteine, Diallyl disulfide and high dose of vitamin B12 in rats exposed to noise.

Rats were divided randomly into four groups. Auditory brainstem response (ABR) thresholds of all subjects were detected (right ear) before any drug administration. Drugs were applied to each group once a day for four weeks. First group (group A, n=6) was chosen as the control group and subjects in this group received 100 mg/kg of saline intragastrically. The second group (group B, n=6) were treated with intraperitoneal injection of 1mg/kg vitamin B12. The third group (group C, n=6) were treated with intragastric application of 100 mg/kg SAMC. The fourth group (group D, n=6) received 50 mg/kg of intragastric DADS. After the end of the second week of application, each group was exposed to white noise at 110 dB, for 8 hours. First measurement was performed immediately after noise exposure. The second measurement was performed 48 hours after exposure, and the third measurement was assessed two weeks after exposure. Following the last assesment of ABR thresholds, intracardiac blood was collected under deep anesthesia, and right temporal bones of the rats were sacrificed. Cochleas were spared for transmission and electromicroscopic investigation.

In conclusion, statistically significant lower ABR thresholds were observed in the treatment groups with vitamin B12, SAMC and DADS on the tone burst 8 kHz stimuli at the 14th day of noise exposure. Cochleas were histologically examined, in groups C and D cochleas were found to be better preserved than the cochleas of groups A and B.

9. KAYNAKLAR

1. Daniel E, Noise and hearing loss: a review. *J Sch Health* 2007;77:225-31.
2. Akyıldız N., Kulak hastalıkları ve mikro cerrahisi, Bilimsel Tıp Yayınevi (Ankara), 2002,Cilt 2, 57-66.
3. Cummings CW, Flint PW, Harker LA, Haughey BH, Richardson MA, Robbins KT, Schuller DE, Thomas JR. Çeviri ed. Koç C. Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi. Marytin BLL, Martin GK. Çeviri ed. Akçam TM, Yetişer S. Gürültüye bağlı işitme kaybı. Güneş Tıp Kitapevi. 4 Baskı. Cilt 4.2007;10 (128);2906-2925.
4. Hawkins JE, Schacht J, Sketches of otohistory. Part 10: Noise-induced hearing loss, *Audiol Neurotol*, 2005.
5. Mori T, Fujimura K, Yoshida M, et al. Effects of glucocorticoid receptor antagonist on CAPs threshold shift due to short-term sound exposure in guinea pigs, *Auris Nasus Larynx*, 2004; 31:395-9.
6. Wu HP, Hsu CJ, Cheng TJ, Guo YL, N-acetylcysteine attenuates noise-induced permanent hearing loss in diabetic rats. *Hear Res*, 2010; 267(1-2):71-7.
7. Heinrich UR, Fischer I, Brieger J, et al. Ascorbic acid reduces noise-induced nitric oxide production in guinea pig ear. *Laryngoscope* 2008;118:837-42.
8. Seidman M, Babu S, Tang W, et al. Effects of resveratrol on acoustic trauma, *Otolaringol Head Neck Surg*, 2003;129:463-70.
9. Fetoni AR, Piacentini R, Fiorita A, et al. Water-soluble Co-enzyme Q10 formulation (Q-ter) promotes outer hair cell survival in a guinea pig model of noise induced hearing loss, *Brain Res*, 2009;1257:108-16.
10. Shemesh Z, Attias J, Ornan M, Shapira N, Shahar A. Vitamin B12 deficiency in patients with chronic-tinnitus and noiseinduced hearing loss *Am J Otolaryngol*. 1993;14(2):94-9.
11. Gok U, Halifeoglu I, Canatan H, Yildiz M, Gursu MF, Gur B. Comparative analysis of serum homocysteine, folic acid and Vitamin B12 levels in patients with noise-induced hearing loss *Auris Nasus Larynx*. 2004; 19-22.
12. Gok U, Halifeoglu I, Yildiz M. The levels of vitamins A, E, B12 and folic acid in noise-induced hearing loss, *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg*. 2004;12(3-4):60-4.
13. Quaranta A, Scaringi A, Bartoli R, Margarito MA, Quaranta N. The effects of 'supra-physiological' vitamin B12 administration on temporary threshold shift. *Int J Audiol*. 2004; Mar;43(3):162-5.
14. Hobbenaghi R, Javanbakht J, Hosseini E, Mohammadi S, Rajabian M, Moayeri P et al. Neuropathological and neuroprotective features of vitamin B12 on the dorsal spinal ganglion of rats after the experimental crush of sciatic nerve: an experimental study.
15. Knowles LM, Milner JA. Depressed p34 cdc2 kinase activity and G2/M phase arrest induced by diallyl disulfide in HCT-15 cells. *Nutr Cancer*, 1998;30:169-74.
16. Milner JA. Preclinical perspectives on garlic and cancer. *J Nutr*, 2006;136:827S-31S.

17. Nakagawa H, Tsuta K, Kiuchi K, Senzaki H, Tanaka K, Hioki K, et al., Growth inhibitory effects of diallyl disulfide on human breast cancer cell lines, *Carcinogenesis*, 2001;22:891–7.
18. Wu XJ, Kassie F. Mersch-Sundermann V. The role of reactive oxygen species (ROS) production on diallyl disulfide (DADS) induced apoptosis and cell cycle arrest in human A549 lung carcinoma cells, *Mutat Res* 2005;579:115–24.
19. Lee JW. Shim BS., Chung JW., The effect of ginkgo biloba on hearing in mice with noise-induced temporary threshold shift., *Korean J Audiol.* 2013; Sep;17(2):74-7.
20. Akyıldız N. Kulak hastalıkları ve mikro cerrahisi, Bilimsel Tıp Yayınevi (Ankara), 2002,Cilt 2, 57-66.
21. Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi Vol 2. İstanbul: Nobel Tıp Yayınevleri; 2009.
22. Tonndorf J, Jahn HF. Santos-Sacchi J, *Physiology of the ear*, Raven Press (New York), 1988;4-20.
23. Dallos P. *The Auditory periphery: Biophysics and physiology*, Academic press (New York),1973.
24. Belgin E. Odyolojik Değerlendirme (21. Bölüm) Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi Kitabı, Editör: Prof. Dr. Muharrem Gerçekler, Akademisyen Tıp Kitabevi, 2014.
25. Moller M. *Hearing its physiology and Pathophysiology*, Academic press, (California), 2000;74-75.
26. Hall JW. Overview of Auditory neurophysiology: Past, are sent and future. *New Handbook of Auditory Evoked Responses*. 1st ed, Boston Pearson Education, 2007.
27. Lee KJ. *Essential Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, Audiology*, 10th Edition, McGraw-Hill Companies, 2012;24-65.
28. Pickles, J.O. *An Introduction to the physiology of Hearing*, Academic Press,(New York), 1982.
29. Cumming JW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Schüller DE. *Anatomy of the Skull Base, Temporal Bone, External Ear and Middle Ear*. St. Louise: Mosby Year Book; 1998; 3th ed. Vol 4.
30. Erixon E. Högstorp H. Wadin K. Rask Anderson H. Variotional anatomy of the human cocchlea: İmplications for cochlear implantation *Otol Neurotol* 2009; 30: 14-22.
31. Stjernholm C. Muren C. Dimensions of the cochlear nerve canal: a radioanatomic investigation, *Acta Otolaryngol*, 2002; 122: 43-48.
32. Lim DJ, *Histochemical localization of carbonic anhydrase in the inner ear*,1983; 4: 33.
33. Schulte BA, Adams JC, *Distribution of immunoreactive Na⁺, K⁺- ATP ase in gerbil cochlea*. *J Histochem*, 1989; 37: 127.
34. Scheider ME, *Immunoytochemical and quantative studies of Na⁺, K⁺- ATP ase distribution in the developing chick cochlea*, 1987; 31: 39.
35. Roland, PS, Rutka JA. *Ototoxicity*. Hamilton, London: BC Denker Inc; 2004
36. Smith CA. *Ultrastructure of the organ of Corti*, 1968; 24: 419–33.

37. Duvall AJ. Sutherland CR. Cochlear transport of horseradish peroxidase, *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1972; 81: 2.
38. Hafız G. Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi, Nobel Tıp Kitabevleri (İstanbul), 2000;838-857.
39. Donaldson JA. Duckert LG. Lempert PM., Rubel EW., Anson- Donaldson *Surgical Anatomy of the Temporal Bone* (4th ed.), Rawen Press (New York), 1992; 144-157.
40. Ross MD. Autonomic components of the VIIIth nerv. *Adv Otol Rhinol Laryngol*, 1973; 20: 316.
41. Spoendlin H. Neural anatomy of the inner ear. In Jahn AF, Santos- Sacchi J, editors: *Physiology of the ear*. New York: Raven Press; 1988.
42. Fisch U. Transtemporal surgery of the internal auditory canal: report of 92 cases, technique, indications and results, *Adv Otol Rhinol Laryngol* 1970; 17: 203.
43. House WF. Surgical exposure of the internal auditory canal and its contents through the middle cranial fossa, *Laryngoscope*, 1961; 71: 1363.
44. Arnesen AR. Osen KK. Fiber population of the vestibulocochlear anastomosis in the cat. *Acta Otolaryngol* (Stockh) 1984; 98: 255.
45. Guinan JJ. Single auditory units in the superior olivary complex. II. Locations of unit categories and tonotopic organization, 1972; 4: 147.
46. Slepeckly N. The consistent occurrence of a striated organelle (Friedmann body) in the inner hair cells of the normal chinchilla. *Acta Otolaryngol* (Stockh), 1981; 91: 189.
47. Moore JK, Osen KK. The cochlear nuclei in man, *Am J Anat* 1979; 154: 393.
48. Brawer JR, The neuronal architectures of the cochlear nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 1974; 155: 251.
49. Luxon LM. The anatomy and pathology of the central auditory pathways. *Br J Audiol* 1981; 15: 31.
50. Scheibel ME. Scheibel AB. Neuophil organization in the superior olive of the cat, 1974; 43: 339.
51. Warr WB. Parallel ascending pathways from the cochlear nucleus: neuroanatomical evidence of functional specialization, Academic Press (New York), 1982.
52. Glendenning KK, Ascending auditory afferents to the nuclei of the lateral lemniscus, *J Comp Neurol* 1981; 197: 673.
53. Rasmussen GL. The olivary peduncle and fiber connections of the superior olivary complex, *J Comp Neurol*, 1946; 84: 141.
54. Rasmussen GL. Anatomic relationship of the ascending and descending auditory system, Springfield, Illinois; 1964.
55. FitzPatrick KA. Cellular architecture and topographic organization of the inferior colliculus of the squirrel monkey. *J Comp Neurol* 1975; 165:185.
56. Moore RY, Goldberg JM. Projections of the inferior colliculus in the monkey. *Exp Neurol* 1966; 14: 429.

57. Anderson RA, The efferent projections of the central nucleus and pericentral nucleus of the inferior colliculus in the cat. *J Comp Neurol* 1980; 194: 649.
58. Akyıldız, N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi Vol 1. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998.
59. Bekesy GV. Experiments in hearing. New York: McGraw-Hill; 1960.
60. Raphael Y, Altschuler RA. Structure and innervation of the cochlea. *Brain Res Bull* 2003; 60: 397-422.
61. Sewell WF. Neurotransmitters and synaptic transmission In The cochlea. New York: Springer-Verlag; 1996.
62. Pickles JO. An introduction to the Physiology of Hearing (4th. Ed.), Bingley; UK; Emerald Group Publishing Limited. P:211,215-217, 238, 2012.
63. Liberman MC. The olivocochlear efferent bundle and susceptibility of the inner ear to acoustic injury. *J Neurophysiol* 1991; 65: 123-132.
64. Özbayır S. 0-9 Yaş Çocuklarında Normal ABR Bulgularının Standardizasyonu. Doktora tezi, 1995.
65. Chiappa K. Evoked Potentials in Clinical Medicine. Raven Press, New York, 1994.
66. Katz J. Handbook of Clinical Audiology. Williams & Wilkins, Baltimore, 317-386, 1994.
67. Moller AR, Jannetta PJ. Neural generators of the auditory brainstem response. The Auditory Brainstem Response, San Diego, CA: Collage Hill, 1985; 13-31.
69. Proctor TB, Velde T. M, Dayal VS, Bhattacharyya TK, Artwohl J, Towle VL. Auditory Brain Stem Response in Young and Old Guinea Pigs. *The American Journal of Otology* 1998; 19: 226-229
70. Rabinowith PM. The public health significance of noise-induced hearing loss. In: Le Prell CG, Henderson D, Fay RR, Pooper AN, eds. Noise-Induced Hearing Loss Scientific Advances. New York: Springer; 2012. p.13-25.
71. Centers for Disease Control and Prevention/NIOSH. Criteria for a Recommended Standard: Occupational Noise Exposure Revised Criteria. Cincinnati, Ohio: US Department of Health and Human Services; 1998.
72. Serra M, Biassoni E, Richter U, et al. Recreational noise exposure and its effects on the hearing of adolescents. *Int J Audiol*. 2005;44(2):65-73.
73. Web site for hear Us of the National Campaign for Hearing Health Available at <http://www.hearinghealth.net>.
74. Sulkowski WJ. (Noise-induced hearing loss in children and youth: causes and prevention). *Med Pr*. 2009;60(6):513-7.
75. Lusk SL. Preventing noise-induced hearing loss. *Nurs Clin North Am*. 2002;37(2):257-62.
76. Occupational noise-induced hearing loss. ACOM Noise and Hearing Conservation Committee. *J Occup Med* 1989, 31:996.
77. Cummings CW, Flint PW, Harker LA, Haughey BH, Richardson MA, Robbins KT, Schuller DE, Thomas JR. Çeviri ed. Koç C. Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi. Marytin BLL, Martin GK. Çeviri ed.

Akçam TM, Yetişer S. Gürültüye bağlı işitme kaybı. Güneş Tıp Kitapevi. 4 Baskı. Cilt 4.2007:10 (128);2906-2925.

78. Koç C. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. Güneş Kitapevi. Ankara 2004:4(10);279-300. Gürsel B, Kılıç R. Sensörinöral işitme kayıpları. Güneş Kitapevi. Ankara 2004:4(10);279-300.

79. Lonsbury-Martin BL, Martin GK. Noise induced hearing loss. Cummings CW (editors). Cummings Otolaryngology Head and Neck Surgery. 4. Baskı, Philadelphia: Elsevier Mosby, 2005; 2906- 2925.

80. Melnick W. Human temporary threshold shift (TTS) and damage risk. J Acoust Soc Am. 1991 Jul;90(1):147-54. Review. PubMed PMID: 1880282.

81. Macrae JH. Temporary and permanent threshold shift caused by hearing aid use. J Speech Hear Res. 1995 Aug;38(4):949-59. PubMed PMID: 7474985.

82. Schneider M.E. Belyantseva I.A., Azevedo R.B., Kachar B. Rapid renewal of auditory hair bundles. Nature 2002; 418:837-838.

83. Jimenez AM, Stagner BB, Martin GK, Lonsbury-Martin BL. Susceptibility of DPOAEs to sound overexposure in inbred mice with AHL. J Assoc Res Otolaryngol 2001; 2: 233-245.

84. Nordmann AS, Bohne BA, Harding GW. Histopathological differences between temporary and permanent threshold shift. Hear Res 2000; 139: 13-30.

85. Caizzo AJ, Tonndorf J: Ear canal resonance and temporary threshold shift Otolaryngology 1978; 86:820.

86. Sataloff RT, Sataloff J. Hearing loss. Fourth ed. New York- London: Taylor& Francis group; 1998; 403- 437.

87. Henderson D, Bielefeld EC, Harris KC, Hu BH. The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss. Ear Hear 2006; 27(1): 1-19.

88. Zhang M, Zwislocki JJ. OHC response recruitment and its correlation with loudness recruitment. Hear. Res. 1995; 85:1-10.

89. Linss V. Emmerich E. Richter F. Linss W. Is there a close relationship between changes in amplitudes of distortion product otoacoustic emissions and hair cell damage after exposure to realistic industrial noise in guinea pigs Eur. Arch. Otorhinolaryngol 2005; 262:488-495.

90. Patuzzi R. Non-linear aspects of outer hair cell transduction and the temporary threshold shifts after acoustic trauma. Audiol. Neurotol 2002; 7:17-20.

91. Cheng AG, Cunningham LL, Rubel EW. Mechanisms of hair cell death and protection. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg 2005; 13: 343-8. Wang Y, Hirose K, Liberman MC. Dynamics of noise-induced cellular injury and repair in the mouse cochlea. J Assoc Res Otolaryngol 2002; 3: 248-268.

92. Hirose K, Liberman MC. Lateral wall histopathology and endocochlear potential in the noise-damaged mouse cochlea. J Assoc Res Otolaryngol. 2003;4(3):339-52.

93. Liberman MC, Dodds LW. Acute ultrastructural changes in acoustic trauma: serial section reconstruction of stereocilia and cuticular plates. Hear Res 1987; 26: 45-64.

94. Kaygusuz I, Ozturk A, Ustundag B, Yalcin S: Role of free oxygen radicals in noise-related hearing impairment. Hear Res 2001, 162:43-7.

95. Kopke RD, Coleman JK, Liu J, Campbell KC, Riffenburgh RH. Candidate's thesis: enhancing intrinsic cochlear stress defenses to reduce noise-induced hearing loss. *Laryngoscope* 2002;112: 1515-32.
96. Prasher D: New strategies for the prevention and treatment of noise-induced hearing loss. *Lancet* 1998, 352:1240-2.
97. Liu -Z. Experimental study on the mechanism of free radical in blast trauma induced hearing loss. *Chung-Hua-Erh-Yen-Hou-Ko-Tsa-Chih* 1992;27:24-6.
98. Shi X, Nuttall AL. Upregulated iNOS and oxidative damage to the cochlear stria vascularis due to noise stress. *Brain Res* 2003;967:1-10.
99. Yamashita D, Jiang HY, Schacht J, et al. Delayed production of free radicals following noise exposure. *Brain Res* 2004;1019:201-9.
100. Bailey, Byron J. Johnson, Jonas T. Newlands, Shawn D. Head & Neck Surgery - Otolaryngology, Lippincott Williams & Wilkins, Volume Two, IX - Otolaryngology, 147 - Noise-Induced Hearing Loss, 4th Edition 2006:2189-2199.
101. Saunders JC, Dear SP, Schneider ME. The anatomical consequences of acoustic injury: a review and tutorial. *J Acoust Soc Am* 1985;78:833-860.
102. Ward WD: Endogenous factors related to susceptibility to damage from noise. *Occup Med* 1995; 10:561-75.
103. Ward W.D. Noise-Induced Hearing Damage. *Otolaryngology*. Third Ed. Vol. 2. (Otolaryngology and Neuro-Otolaryngology). (Eds) Paparella, M.M. Shumrick, DA. Gluckman, J.L. Meyerhoff, W.L. Philadelphia, W.B. Saunders Co. 1991, 1639-1652.
104. Pouryaghoub G, Mehrdad R, Mohammadi S. Interaction of smoking and occupational noise exposure on hearing loss: a cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2007; 7(1): 137. 111.
105. Bergstrom B, Nystrom B. Development of hearing loss during long-term exposure to occupational noise. A 20-year follow-up study. *Scand Audiol*. 1986; 15(4): 227-34.
106. Dieroff. H.G. Zur Geschlechtsunterschiedlichen LSrmfestigkeit. *Arch. Ohr. Nas. Kehlkopfheilk.* 1961; 177:282-289.
107. Flodgren E. Kylin B. Sex Differences in Hearing in Relation to Noise Exposure. *Acta Otolaryngol.* 1960; 52:358-366.
108. Coleman J.W. Age Dependant Changes and Acoustic Trauma in the Spiral Organ of the Guinea Pig. *Scand. Audiol*. 1976; 5:63-68.
109. Danto J. Caiazzo A.J. Auditory Effects of Noise on Infant and Adult Guinea Pigs. *J. Am. Audiol*. 1977; 3:99-101.
110. Howel R.W. A Seven-Year Review of Measured Hearing Levels in Male Manual Steel workers with High Initial Thresholds. *Br. J. Ing. Med.* 1978; 35:27-31.
111. Chung D.Y. The Effect of Middle Ear Disorders on Noise-Induced Hearing Loss. *J. Am. Auditory Soc.* 1978; 4: 77-80.
112. Schuknecht H.F. Sensorineural Hearing Loss Following Stapedectomy. *Acta Otolaryngol.* 1962; 54:336-348.

113. Wilson G.N. Chung D.Y. Gannong R.P. Roberts M. Mason K. Is a Healthier Person Less Susceptible to Noise-Induced Hearing Loss J. Occup. Med. 1979; 21:627-630.
114. Maralcan, M. Ellidokuz, E. B12 vitamini Eksikliği, Güncel Gastroenterol, 2004; 8/3: 199-204.
115. Bhavagan, N.V. Vitamin metabolism, Medical Biochemistry, 4th ed. Hartcourt Academic Press (Florida), 2002, 901-28.
116. Wintrobe, M.M. Clinical Hematology, Lea.& Febiger, Philadelphia, 8th ed. 1981;137-590.
117. Watkins, D. Whiteheat, V.M. Rosenblatt DS. Megaloblastic Anemia. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood, 7th edition (Philadelphia) W.B. 2009; 467-520.
118. Wickramasinghe, S.N. Fida, S. Bone marrow cells from B12 vitamin and folate deficient patients misincorporate uracil into DNA,1994.
119. Snow, C.F. Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency, Arch Intern Med. 1999; 159:1289-1298.
120. Monsen, A.L.B. Refsum, H. Markestad, T. Ueland, P.M. Homocysteine and methylmalonic acid in diagnosis and risk assessment from infancy to adolescence, Am J Clin Nutr. 2003; 78:7-21.
121. Antony, A.C. Megaloblastic anemias. In Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, et al (editors) Hematology: Basis Principles and Practice, Philadelphia: Churchill-Livingstone, 2000; 446-485.
122. McCully KS. Homocysteine and vascular disease. Nat Med. 1996;2:386-9.
123. Kang SS, Wong PVK, Malinow R. Hyperhomocyst(e)inemia as a risk faktor for occlusive vascular disease. Annu Rev Nut 1992;12:279-98.
124. Jean -Louis G, Maatem CF, Shyuefang B: Molecular and cellular effects of vitamin B12 in brain, myocardium and liver through its role as co-factor of methionine synthase. Biochimie 2013, 95(5):1033-1040.
125. G. Hahn, History, folk medicine, and legendary uses of garlic, 1-24, Williams & Wilkins, Baltimore, 1996.
126. E. Block, The chemistry of garlic and onions, Scientific American, 1985; 114-119.
127. Reuter H. D. Koch H. P. Lawson L. D. Therapeutic effects of garlic and its preparations, in Williams & Wilkins, London, UK, 1996; 113-162.
128. Lawson L. D. Gardner C. D. Composition, stability, and bioavailability of garlic products used in a clinical trial, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 53, no. 16, 2005; 6254-6261.
129. Maldonado PD, Barrera D, Medina-Campos ON, Hernandez-Pando R, Ibarra-Rubio ME, Pedraza-Chaverri J. Aged garlic extract attenuates gentamicin induced renal damage and oxidative stress in rats. Life Sci. 2003;2543-56.
130. Pedraza-Chaverri J, Maldonado PD, Medina-Campos ON, OlivaresCorichi IM, Granados-Silvestre MA, Hernandez-Pando R, et al. Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity: relation to antioxidant enzymes. Free Radic Biol Med. 2000;602-11.

131. Pedraza-Chaverri J, Gonzalez-Orozco AE, Maldonado PD, Barrera D, Medina-Campos ON, Hernandez-Pando R. Diallyl disulfide ameliorates gentamicin-induced oxidative stress and nephropathy in rats. *Eur J Pharmacol.* 2003;71–8.
132. Maldonado PD, Barrera D, Rivero I, Mata R, Medina-Campos ON, Hernandez-Pando R, et al. Antioxidant S-allylcysteine prevents gentamicin-induced oxidative stress and renal damage. *Free Radic Biol Med.* 2003;317–24.
133. Amagase, H. Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. In: *Antioxidants and Disease*, 6th Congress on Clinical Nutrition. Banff, Alberta, Canada, 1997.
134. Horie T, Awazu S, Itakura Y. Identified diallyl polysulfides from an aged garlic extract which protects the membranes from lipid peroxidation. 1992; 468–469.
135. I. de, N. Lau, B.H.S. Garlic compounds protect vascular endothelial cells from oxidized low density lipoprotein-induced injury. *J. Pharm. Pharmacol.* 1997, 908–911.
136. Wei, Z. Lau, B.H.S. Garlic inhibits free radical generation and augments antioxidant enzyme activity in vascular endothelial cells. *Nutr. Res.* 1998 61–70.
137. Yamasaki, T. Teel, R. W. Lau, B.H.S. Effect of allixin, a phytoalexin produced by garlic, on mutagenesis, DNA-binding and metabolism of aflatoxin B1. *Cancer Lett.* 1991;59: 89–94.
138. Freeman, F. Kodera, Y. Garlic chemistry: stability of S-(2-propenyl) 2-propene-1-sulfinothioate (allicin) in blood, solvents and simulated hysiological fluids. *J. Agric. Food Chem.* 1995; 43: 2332–2338.
139. Moriguchi, N. Nishiyama, H. Katsuki H. Trophic effects of aged garlic extract (AGE) and its fractions on primary cultured hippocampal neurons from fetal rat brain, *Phytotherapy Research*, 1996; 468–472.
140. Sumi S. Tsuneyoshi T. Matsuo H. Yoshimatsu T. Isolation and characterization of the genes up-regulated in isolated neurons by aged garlic extract (AGE), *Journal of Nutrition*, vol. 131, supplement, 2001.
141. C. Cray, “Acute phase proteins in animals,” *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 2012; vol. 105,113–150.
142. Y. Numagami, S. Sato, and S. T. Ohnishi, “Attenuation of rat ischemic brain damage by aged garlic extracts: a possible protecting mechanism as antioxidants,” *Neurochemistry International*, 1996, vol. 29, no. 2, pp. 135–143.
143. P. Aguilera, M. E. Ch’anez-C’ardenas, A. Ortiz-Plata et al. “Aged garlic extract delays the appearance of infarct area in a cerebral ischemia model, an effect likely conditioned by the cellular antioxidant systems,” *Phytomedicine*, 2010, vol. 17, no. 3-4, 241–247.
144. T. Moriguchi, K. Takashina, P. J. Chu, H. Saito, and N. Nishiyama, “Prolongation of life span and improved learning in the senescence accelerated mouse produced by aged garlic extract,” *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 1994, vol. 17, no. 12, pp. 1589–1594.
145. N. Nishiyama, T. Moriguchi, and H. Saito, “Beneficial effects of aged garlic extract on learning and memory impairment in the senescence-accelerated mouse,” *Experimental Gerontology*, vol. 32, no. 1-2, pp. 149–160, 1997.

146. W. R. Markesbery, "Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 23, no. 1, pp. 134–147, 1997.
147. Q. Peng, A. R. Buz'Zard, and B. H. Lau, "Neuroprotective effect of garlic compounds in amyloid- β peptide-induced apoptosis in vitro," *Medical Science Monitor*, vol. 8, no. 8, pp. BR328–BR337, 2002.
148. Y. Ito, Y. Kosuge, T. Sakikubo et al. "Protective effect of S-allyl-L-cysteine, a garlic compound, on amyloid β -protein-induced cell death in nerve growth factor-differentiated PC12 cells," *Neuroscience Research*, vol. 46, no. 1, pp. 119–125, 2003.
149. Y. Ito, M. Ito, N. Takagi, H. Saito, and K. Ishige, "Neurotoxicity induced by amyloid β -peptide and ibotenic acid in organotypic hippocampal cultures: protection by S-allyl-L-cysteine, a garlic compound," *Brain Research*, vol. 985, no. 1, pp. 98–107, 2003.
150. V. P. D. La Cruz, C. Gonz'alez-Cort'es, J. Pedraza-Chaverr'ı, P. D. Maldonado, L. Andr'es-Mart'inez, and A. Santamar'ia, "Protective effect of S-allylcysteine on 3-nitropropionic acid-induced lipid peroxidation and mitochondrial dysfunction in rat brain synaptosomes," *Brain Research Bulletin*, vol. 68, no. 5, pp. 379–383, 2006.
151. D. Elinos-Calder'ın, Y. Robledo-Arratia, V. P. D. La Cruz et al. "Antioxidant strategy to rescue synaptosomes from oxidative damage and energy failure in neurotoxic models in rats: protective role of S-allylcysteine," *Journal of Neural Transmission*, vol. 117, no. 1, pp. 35–44, 2010.
152. V. P. D. La Cruz, M. Konigsberg, J. Pedraza-Chaverri et al. "Cytoplasmic calcium mediates oxidative damage in an excitotoxic/energetic deficit synergic model in rats," *European Journal of Neuroscience*, vol. 27, no. 5, pp. 1075–1085, 2008.
153. P. Rojas, N. Serrano-Garc'ia, O. N. Medina-Campos, J. Pedraza-Chaverri, P. D. Maldonado, and E. Ruiz-S'anchez, "S-Allylcysteine, a garlic compound, protects against oxidative stress in 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced parkinsonism in mice," *The Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 22 no. 10, pp. 937–944, 2011.
154. E. Garcia, D. Limon, V. P. D. La Cruz et al. "Lipid peroxidation, mitochondrial dysfunction and neurochemical and behavioural deficits in different neurotoxic models: protective role of S-allylcysteine," *Free Radical Research*, vol. 42, no. 10, pp. 892–902, 2008.
155. J. S. Munday, K. A. James, L. M. Fray, S. W. Kirkwood, and K. G. Thompson, "Daily supplementation with aged garlic extract, but not raw garlic, protects low density lipoprotein against in vitro oxidation," *Atherosclerosis*, vol. 143, no. 2, pp. 399–404, 1999.
156. C. Rice-Evans, S. C. Omorphos, and E. Baysal, "Sickle cell membranes and oxidative damage," *Biochemical Journal*, vol. 237, no. 1, pp. 265–269, 1986.
157. J. Takasu, R. Uykimfang, M. Sunga, H. Amagase, and Y. Niihara, "Aged garlic extract therapy for sickle cell anemia patients," *BMC Blood Disorders*, vol. 2, article 3, 2002.
158. S. A. Dillon, G. M. Lowe, D. Billington, and K. Rahman, "Dietary supplementation with aged garlic extract reduces plasma and urine concentrations

of 8-iso-prostaglandin F2 α in smoking and nonsmoking men and women,” *Journal of Nutrition*, vol. 132, no. 2, pp. 168–171, 2002.

159. Amagase, H. & Milner, J. A. (1993) Impact of various sources of garlic and their constituents on 7,12-DMBA binding to mammary cell DNA. *Carcinogenesis* 14: 1627–1631.

160. Milner, J. A. ,Garlic: its anticarcinogenic and antimutagenic properties. *Nutr. Rev.* 54: S82–S86, 1996.

161. Nishino, H. Nishino, A. Takayasu, A. Iwashima, Y. Itakura, Y. Koder, et al. Antitumor promoting activity of allixin, a stress compound produced by garlic. *Cancer J.* 3: 20–21, 1990.

162. Steinmetz K. A. Kushi L. H. Bostick R. M. Folsom A. R. Vegetables, fruit and colon cancer in the Iowa Woman’s Study. *J. Epidemiol.* 139: 1–5, 1994.

163. Neil, H. & Sigali, C. Garlic, its cardioprotective properties. *Curr. Top. Lipidol.* 5: 6–10, 1994.

164. Imai, J. Ide, N. Nagae, S. Moriguchi, T. Matsuura, H. & Itakura, Y. Antioxidants and free radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. *Planta Med.* 60: 417–420, 1994.

165. Amagase, H. Schaffer, E. M. & Milner J. Dietary components modify the ability of garlic to suppress 7,12,-dimethyl(a)anthracene induced DNA adducts. *J. Nutr.* 126: 817–824, 1996.

166. Iqbal M, Athar M. Attenuation of iron-nitritotriacetate (Fe-NTA)-mediated enal oxidative stress, toxicity and hyperproliferative response by the prophylactic treatment of rats with garlic oil. *Food Chem Toxicol.* 1998, 485–9.

167. Uzun L. Kokten N. Halit O. Kalcioğlu M.T. Ugur M.B. Tekin M, et al. The Effect of Garlic Derivatives (S-Allylmercaptocysteine, Diallyl Disulfide, and S-Allylcysteine) on Gentamicin Induced Ototoxicity: An Experimental Study, *Clinical and Experimental Otorhinolaryngology*, 2016.

168. http://www.wistar.org/about_wistar/history.html Erişim Tarihi: 17.01.2013

169. Judkins RF, Li H. (1997). Surgical anatomy of the rat middle ear. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 117. 438–47.

170. Zimmer WM, Deborah FR, Saunders JC. (1994). Middle-ear development VI: Structural maturation of the rat conducting apparatus. *Anat Rec.* 239. 475–84.

171. Daniel HJ, Fulghum RS, Brinn JE, Barrett KA. (1982). Comparative anatomy of eustachian tube and middle ear cavity in animal models for otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 91. 82–89.

172. Albiin N, Hellström S, Stenfors L-E, Cerne A. (1986). Middle ear mucosa in rats and humans. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 126 Suppl. 2–15.

173. Hebel R, Stromberg MW. (1976). *Anatomy of the laboratory rat.* Baltimore. Williams & Wilkins Co.

174. <http://www.jcam.com.tr/files/KATD-559.pdf> Erişim Tarihi: 17.01.2013

175. http://psychology.utoledo.edu/images/users/74/21.JAALAS_Revised.pdf Erişim Tarihi: 17.01.2013

176. Ingham N J, Thornton S K, Comis S D, Withington D J. The Auditory Brainstem Response of Aged Guinea Pigs. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1998; 118: 673–680

177. Genç A, Belgin E. Temel Odyoloji. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. Ed: Can Koç. Güneş Kitabevi Ltd Şti, Ankara. 2004: 83-85
178. Wada S, Starr A. Anatomical bases of binaural interaction in auditory brain-stem responses from guinea pig. *Electroencephalography and clinical Neurophysiology*, 1989; 72: 535–544
179. Wada S, Starr A. Generation of Auditory Brain Stem Responses (ABRs). II. Effects of Surgical Section of the Trapezoid Body on the ABR in Guinea Pigs and Cat. *Electroencephalography and clinical Neurophysiology*. 1983; 56: 340–351
180. Proctor TB, Velde T. M, Dayal VS, Bhattacharyya TK, Artwohl J, Towle VL. Auditory Brain Stem Response in Young and Old Guinea Pigs. *The American Journal of Otology* 1998; 19: 226-229.
181. Ed. Ballenger JJ, Snow JB. Çeviri ed. Şenocak D. Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi. Alberti PW. Çeviri Ed. Saatçi M. Mesleki İhtime Kaybı. Nobel Tıp Kitapevleri. İstanbul. 15. Baskı Cilt II. 1996;5(53);1087-1101.
182. Dobie RA. Noise İnduced Hearing Loss. In. Bailey BJ, ed *Head&Neck Surgery-Otolaryngology*. Philadelphia: Jb. Lippincott, 1993:1803.
183. Nelson DI, Nelson RY, Concha-Barrientos M, Fingerhut M. The global burden of occupational noise-induced hearing loss. *Am J IndustnMed* 2005;48 (6):446-58
184. Concha-Barrientos M, Campbell-Lendrum D, Steenland K. Occupational noise: assessing the burden of disease from work-related hearing impairment at national and local levels. Geneva, World Health Organization, 2004.(WHO Environmental Burden of Disease Series, No. 9
185. Flamme GA, Stephenson MR, Deiters K, Tatro A, VanGessel D, Geda K, et al. Typical noise exposure in daily life. *Int J Audiol* 2012;51 Suppl 1:S3-11
186. Kageyama T. Loudness in listening to music with portable headphone stereos. *Percept Mot Skills* 1999; 88 (2):423
187. Snow DJ. Noise hazards: the issues, the remedies and the trends in regulation. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part A: J Power & Energy* 1999;213 (6):447-63.
188. Passchier-Vermeer W, Passchier WF. Noise Exposure and Public Health. *Environ Health Perspect* 2000;108(suppl 1):123-31.
189. Babisch W. Stress hormones in the research on cardiovascular effects of noise. *Noise Health* 2003; 5 (18):1-11.
190. Smith A. The concept of noise sensitivity: Implications for noise control. *Noise Health* 2003;5 (18):57-9.
191. Fligor B, Chasin M, Neitzel R. In: Katz J, Editor. Noise exposure. *Handbook of Clinical Audiology*. Seventh edition, China: Wolters Kluwer Health, 2015;595-615.
192. Gelfand, S. *Essentials of Audiology*. (2nd ed.). 2001. New York: Thieme.
193. Syka J. Plastic changes in the central auditory system after hearing loss, restoration of function, and during learning. *Physiol Rev* 2002;82: 601–636.
194. Raphael Y. Cochlear pathology, sensory cell death and regeneration, *British Medical Bulletin* 2002;63: 25–38.

195. Le Prell, Colleen G, Daisuke Y, Shujiro B, Tatsuya Y, Miller JM. Mechanisms of noise-induced hearing loss indicate multiple methods of prevention, *Hearing Research* 226 (2007) 22–43.
196. Mawry, Rosenau, Last, Public Health and Preventive Medicine 14. Edition Appleton Lange-1998.
197. Hu B. Noise-induced structural damage to the cochlea. In: Le Prell CG, Henderson D, Fay RR, Pooper AN, eds. *Noise-Induced Hearing Loss Scientific Advances*. New York: Springer; 2012. p.57-86.
198. Henderson D, Hamernik RP. The use of Kurtosis measurement in the assessment of potential noise trauma. In: Le Prell CG, Henderson D, Fay RR, Pooper AN, eds. *Noise Induced Hearing Loss Scientific Advances*. New York: Springer; 2012. p.41-55
199. Mizoue T, Miyamoto R, Shimizu T. Combined effect of smoking and occupational exposure to noise on hearing loss in steel factory workers. *J Occup Environ Med* 2003;60 (10):56-9.
200. Kolkhorst FW, Smaldino JJ, Wolf SC, Battani LR, Plakke BL, Huddleston S, et al. Influence of fitness on susceptibility to noise-induced temporary threshold shift. *Med Sci Sports Exerc* 1998;30 (2):289-93.
201. Dogru H, Tuz M, Uygur K. Correlation between blood group and noise-induced hearing loss. *Acta Otolaryngol* 2003;123 (8): 941-2.
202. Ayçiçek A, Sargın R, Kenar F, Dereköy FS. Can Rh antigens be a risk factor in noise-induced hearing loss? *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2009; 266 (3):363-6.
203. Barrenas M, Bratthall A, Dahlgren J. The association between short stature and sensorineural hearing loss. *Hearing Res* 2005;205(2):123-30.
204. Kemalöglü Y, Tutar H. Noise Induced Hearing Loss and Acoustic Trauma. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları AD, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara Türkiye Klinikleri J E.N.T.-Special Topics 2013;6(1):44-54
205. Lim DJ, Melnick W. Acoustic damage of the cochlea. A scanning and transmission electron microscopic observation. (1971) *Arch. Otolaryngol.* 94, 294
206. Yuan H, Wang X, Hill K, Chen J, Lemasters J, Yang SM, Sha SH. Autophagy attenuates noise-induced hearing loss by reducing oxidative stress. *Antioxid Redox Signal.* 2015;22(15):1308-24.
207. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, 1995.
208. Svere A, Vedul T. Diffusion-Based Model for Noise-Induced Hearing Loss. Norwegian University of Science and Technology Department of Electronics and Telecommunications, Master of Science in Electronics, 2007.
209. Çelebi H. Genç İskemik İnmelede Risk Faktörleri ve Etiyolojik Nedenlerle Arter Alanları ve Prognoz İlişkisi, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Servisi, 2005.
210. Coşkun G, Özgür H. Apoptoz ve nekrozun moleküler mekanizması. *Arşiv*, 2011;20:145-158.
211. Op de Beeck K, Schacht J, Camp GV. Apoptosis in acquired and genetic hearing impairment: The programmed death of the hair cell. *Hearing Research* 2011;281: 18-27.

212. Lusk SL, Ronis DL, Kerr MJ. Predictors of hearing protection use among workers: implications for training programs. *Human Factors* 1995;37(3):635–40.
213. El Dib RP, Mathew JL, Martins RHG. Interventions to promote the wearing of hearing protection. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2012, Issue 4. Art. No: CD005234.DOI: 10.1002/14651858.CD005234.pub5. Available in <http://www.thecochranelibrary.com> (15 Aralık 2012)
214. Brattstrom L. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta analysis of randomized trials. *Br Med J* 1998;316:894–8.
215. Wilcken DE, Wilcken B. The natural history of vascular disease in homocystinuria and the effects of treatment. *J Inher Metab Dis* 1997;2:295–300.
216. Donaldson JA, Ducker LG. Anatomy of the ear. In: Paperella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL, editors. *Otolaryngology*. London: Saunders; 1991. p. 23–59.
217. Genest J, Malinow MR. Homocysteine and coronary artery disease. *Curr Opin Lipidol* 1992;3:295–9.
218. Mattson MP, Kruman II, Duan W. Folic acid and homocysteine in age-related disease. *Ageing Res Rev* 2002;1:95–111.
219. Moat SJ, Bonham JR, Cragg RA, Powers HJ. Elevated plasma homocysteine elicits an increase in antioxidant enzyme activity. *Free Radic Res* 2000;32:171–9.
220. Hall CA. Function of Vitamin B12 in the central nervous system as revealed by congenital defects. *Am J Hematol* 1990;34:121–7.
221. Scalabrino G, Corsi MM, Veber D: Cobalamin (vitamin B(12)) positively regulates interleukin-6 levels in rat cerebrospinal fluid. *J Neuroimmunol* 2002, 127(1–2):37–43. Scalabrino G, Corsi MM, Veber D: Cobalamin (vitamin B(12)) positively regulates interleukin-6 levels in rat cerebrospinal fluid. *J Neuroimmunol* 2002, 127(1–2):37–43.
222. Clifford RE, Coleman JK, Balough BJ, Liu J, Kopke RD, Jackson RL. Low-dose D-methionine and N-acetyl-L-cysteine for protection from permanent noise-induced hearing loss in chinchillas. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2011 Dec;145(6):999-1006. doi: 10.1177/0194599811414496. Epub 2011 Jul 12.
223. Yamasoba T, Nuttall AL, Harris C, Raphael Y, Miller JM. Role of glutathione in protection against noise-induced hearing loss. *Brain Res*. 1998 Feb 16;784(1-2):82-90.
224. Mohammadkhani G, Pourbakht A, Khanavi M, Faghihzadeh S. Protective effect of silymarin on noise-induced hearing loss in Guinea pigs. *Iran Red Crescent Med J*. 2013 Nov;15(11):e8890. doi: 10.5812/ircmj.8890. Epub 2013 Nov 5.
225. McFadden SL, Woo JM, Michalak N, Ding D. Dietary vitamin C supplementation reduces noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Hear Res*. 2005 Apr;202(1-2):200-8.
226. Jahani L, Mehrparvar AH, Esmailidehaj M, Rezvani ME, Moghbelolhossein B, Razmjooei Z. The Effect of Atorvastatin on Preventing Noise-Induced Hearing Loss: An Experimental Study. *Int J Occup Environ Med*. 2016 Jan;7(1):15-21.
227. Loukazadeh Z, Hakimi A, Esmailidehaj M, Mehrparvar AH. Effect of Ascorbic Acid on Noise Induced Hearing Loss in Rats. *Iran J Otorhinolaryngol*. 2015 Jul;27(81):267-72.

228. Arslan HH, Satar B, Serdar MA, Ozler M, Yilmaz E. Effects of hyperbaric oxygen and dexamethasone on proinflammatory cytokines of rat cochlea in noise-induced hearing loss. *Otol Neurotol*. 2012 Dec;33(9):1672-8. doi: 10.1097/MAO.0b013e31826bf3f6.