

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ETANERCEPT VE DEKSAMETAZONUN AKUSTİK TRAVMA
PROFLAKSİSİNDEKİ ETKİNLİĞİ
(HAYVAN MODELİ)**

Dr. Mustafa DOĞAN

**UZMANLIK TEZİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa TÜZ**

ISPARTA - 2012

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ETANERCEPT VE DEKSAMETAZONUN AKUSTİK TRAVMA
PROFLAKSİSİNDEKİ ETKİNLİĞİ
(HAYVAN MODELİ)**

Dr. Mustafa DOĞAN

**UZMANLIK TEZİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa TÜZ**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi araştırma projeleri yönetim birimi
tarafından 3029-TU-11 proje numarası ile desteklenmiştir.**

ISPARTA - 2012

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, alçak gönüllülüğü gönlümde tez hazırlığı süresi boyunca sabrını, bilgisini ve emeğini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mustafa TÜZ'e;

Mesleki bilgisini, deneyimini ve sabrını esirgemeyen, hocam Prof. Dr. Murat YARIKTAŞ'a, Prof. Dr. Ali ALTUNTAŞ'a, Doç. Dr. Hasan YASAN'a, Yard. Doç. Dr. Giray AYNALI'ye

Birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma, KBB hemşire ve sekreterlerine, personellerimize;

Sevgili eşim Nurcan'a, sonsuz teşekkürler.

Dr. Mustafa DOĞAN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
GRAFİKLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İç Kulak Embriyolojisi	3
2.2. İç Kulak Anatomisi	4
2.3. İç Kulak Histolojisi	6
2.4. İşitme Fizyolojisi.....	7
2.5. İşitmenin Değerlendirilmesi	12
2.5.1. Empedans Odyometri (Timpanometri).....	12
2.5.2. Elektrokokleografi	12
2.5.3. BERA (Brainstem Evoked Response Audiometry) İşitsel Beyin sapı Cevabı.....	12
2.5.4. Otoakustik Emisyonlar	13
2.5.4.1. Spontan Otoakustik Emisyonlar	13
2.5.4.2. Uyarılmış (Evoked) Otoakustik Emisyon	14
2.5.5. Otoakustik Emisyon Ölçümünün Yararları	16
2.5.6. Otoakustik Emisyon Kullanım Alanları	16
2.5.7. Otoakustik Emisyon Ölçüm Tekniği	16
2.6. Apoptozis.....	17
2.6.1. TNF –Reseptör Aracılı Apoptozis.....	17
2.7. Etanercept Yapısı ve Özellikleri	18
2.8. Deksametazon Yapısı ve Özellikleri.....	18
3. MATERYAL METOD	20
3.1. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyonlar	21

4. BULGULAR.....	23
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	27
ÖZET	35
SUMMARY.....	36
KAYNAKLAR.....	37

KISALTMALAR DİZİNİ

AT	: Akustik travma
dB	: Desibel
DXM	: Deksametazon
DPOAE	: Distorsiyon product otoacoustic emission
DTH	: Dış tüylü hücreler
EOAE	: Uyarılmış (evoked) otoakustik emisyon
ETZ	: Elektron transport zinciri
GBİK	: Gürültüye bağlı işitme kaybı
GEK	: Geçici eşik kayması
Hz	: Hertz
i.p	: İntraperitoneal
İOA	: İstatistiksel olarak anlamlı
İTH	: İç tüylü hücreler
KEK	: Kalıcı eşik kayması
kHz	: Kilohertz
OAE	: Otoakustik emisyon
OH	: Hidroksil
SNİK	: Sensörinöral işitme kaybı
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
SPL	: Sound pressure level
TEOAE	: Geçici (Transient) uyarılmış otoakustik emisyon
TNF α	: Tümör Nekrozis Faktör Alfa
TNFR1	: Tümör Nekrozis Faktör Reseptör 1

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Gruplara ait test tablosu	21
Tablo 2. Kontrol grubunun günlere göre ortalama SNR değerleri	23
Tablo 3. Etanercept grubunun günlere göre ortalama SNR değerleri	23
Tablo 4. Deksametazon grubu günlere göre ortalama SNR değerleri	24
Tablo 5. Kontrol – Etanercept gruplarının istatistiksel olarak karşılaştırmaları	25
Tablo 6. Kontrol – Deksametazon gruplarının istatistiksel olarak karşılaştırmaları ..	25
Tablo 7. Etanercept – Deksametazon gruplarının istatistiksel olarak karşılaştırmaları	26

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Korti organı	7
Şekil 2. İlerleyen dalga modeli.....	10
Şekil 3. Apoptozis kaskadı.....	18
Şekil 4. Apoptozis yolağı.....	30

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Kontrol grubunun günlere göre SNR değeri grafiği	23
Grafik 2. Etanercept grubunun günlere göre SNR değeri grafiği.....	24
Grafik 3. Deksametazon grubunun günlere göre SNR değeri grafiği	24

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Ratlarda OAE uygulaması.....	22
--	----

1. GİRİŞ

Akustik travma kısa süreli yüksek şiddette sese maruz kalma sonucu ortaya çıkan geçici veya kalıcı işitme kaybı ile sonuçlanabilen bir durum olup gelişmiş ülkelerde işitme kayıplarının ana nedenlerindendir (1). Bugün bu konuda birçok tedavi ve profilaksi yöntemleri-ajanları denenmiş olsa da; etkili bir tedavi modalitesi bulunamamıştır (2). Bu nedenle akustik travmaya bağlı kalıcı kayıpların önlenmesine ve tedavisine yönelik çalışmalar sürmektedir.

Akut akustik travmanın patogeneğinde mekanik travma ve biyokimyasal hasar olduğu kabul edilmektedir. Gürültüye maruz kalmış kokleada histolojik olarak iki major morfolojik değişiklik olabileceği ortaya konmuştur. Bunlardan biri hücre ölümü ve diğeri stereocilia yaralanmasıdır ve bu hasarlar akustik travma sonucu ortaya çıkan sensörinöral işitme kaybından sorumludur (3-6). Kohlea akustik travmaya uğradığında hücre ölümünün apoptozis ve nekrozis ile olduğu gösterilmiştir (7-14). Ancak ölüm yolunda asıl primer sorumlunun apoptozis olduğu ortaya konulmuştur (15,16). Hasarlanan hücreden salınan proinflamatuvar sitokinler apoptozisi tetikler. Proinflamatuvar sitokinler sadece organların hasarından sonra değil, enfeksiyon, iskemi, travma, kriyo ablasyon ve yanık gibi durumlarda da çeşitli hücrelerden salınır. Diğer travmatize organlarda olduğu gibi, gürültüye bağlı kohlea hasarında da bu sitokinlerin arttığı gösterilmiştir (17).

Deneysel iç kulak immün cevabında TNF α (Tümör Nekrozis Faktör Alfa) en erken salınan sitokindir ve spesifik olarak TNF α 'nın iç kulağın yüksek sese maruziyeti sonrası arttığı gösterilmiştir (15,18).

TNF α kohlea spiral ligamentinde lateral duvar fibrositlerinden salınan apoptozisle ilişkili proinflamatuvar bir sitokindir. TNF α vibrasyon ve gürültüye bağlı işitme kaybı gibi, ayrıca bakteriyel menenjit, otoimmün sensörinöral işitme kaybı, cisplatin ototoksitesinde de salınır (19,20).

Dinh ve arkadaşlarının 2008'deki çalışmasında çıkarılmış kohleaya ototoksik düzeyde TNF α uygulanması sonrasında tüylü hücre ölümü ve bax ve TNFR1 gibi apoptozis ile ilişkili genlerin arttığı görülmüştür. Yapılan bir çalışmada ratlara cisplatin ototoksitesisi sonrası TNF α reseptör antikoru olan etanercept ip olarak

uygulanmış ve enflamatuvar sitokinlerin serum ve kohleadaki konsantrasyonlarının azaldığı görülmüştür (21,23).

İç kulaktaki hücrelerin apoptozise uğramaları apoptozisi inhibe eden yeni terapötik ajanların geliştirilmesi ile popüler bir hale gelmiştir (22). Enflamasyonun azaltılmasında TNF α nın blokajı en kritik rolü oynamaktadır. TNF α apoptozisin ekstrensek yolağında, TNFR1 artışını indükler. Kohleadaki TNF α reseptörüne bağlı olarak epitelyumda ya da diğer hücrelerdeki apoptozisi indükleyebilir. TNF α 'nın hasarın oluşacağı bölgedeki dokuda lökosit arttırma etkisi, otoimmün iç kulak hasarı dahil olmak üzere bir çok enflamatuvar durumun tedavisinde TNF α blokajının şaşırtıcı etkin bir yöntem haline gelmesini sağlamıştır (23-25).

Etanercept TNF α reseptör blokörü olup, işitme kaybında etanercept ile TNF α blokajı iç kulakta enflamasyonu azaltmaktadır. İmmün mediatör salınımlı iç kulak hastalıklarında da etanercept ile tedavi edilen hastaların semptomlarında % 50 düzelme görülmüştür (26).

Deksametazon (DXM) ise sentetik bir glukortikoid reseptör agonisti olup TNF α 'nın indüklediği apoptozisi inhibe etmektedir. TNF α ile ilişkili işitsel tüylü hücrelerdeki apoptozisde deksametazonun koruyucu etkisi TNFR1 aktivasyonu ile olmaktadır. Yapılan invitro çalışmada tüylü hücrelerde TNF α kaynaklı hücre ölümünün DXM ile engellendiği gösterilmiştir (27,28).

Biz de bu deneysel çalışmada etanercept ve deksametazonun akustik travma proflaksisindeki etkinliğini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İç Kulak Embriyolojisi

Kulağın üç parçasından en önce gelişimini tamamlayan iç kulak, rhombensephalon'un her iki yanındaki ektodermden gelişir. 3. haftanın sonunda, embriyo 2-4 mm büyüklüğüne ulaştığında, yüzeyel ektodermin kalınlaşması ile lamina otica ortaya çıkar. Lamina oticadaki derin hücrelerin gelişmesi ile bu yapı kısa bir sürede içe doğru çöker. Bu şekilde nöral oluk ve iki tarafında akustiko-fasyal tümsek ortaya çıkar. Bunların birleşmesi ile iç kulak taslağı yüzey epitelden ayrılır ve bir vezikül haline gelir (29). Otik vezikül oluşurken bundan ayrılan bir hücre grubu vezikül ile rhombencephalon arasında statoakustik ganglionu yapar. 4. ve 5. haftalarda statoakustik ganglion üst ve alt olarak ikiye bölünür ve spiral ve vestibüler ganglionları yapar. Bir taraf işitme duyusu için Corti organına diğer taraf ise denge duyusu için utrikulus ve duktus semisirkülarisin içine doğru ilerler. Embriyo 8 mm olduğunda vestibüler ve koklear taslaklar birbirinden ayrılır. Ventralde yer alan kısımdan korti organı ve koklea gelişir. Dorsalde kalan kısımdan ise utrikulus, kanalis semisirkularis, duktus endolenfatikus ve duktus utrikulosakkularis gelişir. Koklear kanal 6. haftada gelişmeye başlar. 7. haftada kokleanın birinci turu oluşmuştur ve 8. haftanın sonunda 2+1/2 tur tamamlanmış olur. Bu sırada koklea ile sakkulusun geri kalan kısmı arasındaki bağlantı *ductus reuniens* halini alır. Daha sonra duktus koklearisin skala vestibüliye bakan tarafında membrana vestibularis (*Reissner membranı*), skala timpaniye bakan tarafı ise membrana basillaris oluşturur (29).

Corti organının gelişmesi bazal turdan apekse doğru olur. Corti organı koklear kanalın duvarındaki hücrelerden gelişir. 22. hafta iç tüylü hücreler, dış tüylü hücreler, destek hücreleri ve hensen hücreleri meydana çıkar. Akustikofasiyal ganglion üst ve alt diye ikiye ayrılır. Üstte bulunandan n.vestibularisin superior dalı, altta bulunandan ise inferior dalı doğar. VIII. kranial sinirin alt kısmı kalınlaşır ve koklear siniri meydana getirir (29).

6. haftada otik vezikülün ventral kısmından koklear kanal gelişirken, aynı anda dorsal kısmından iç kulağın denge fonksiyonundan sorumlu kısımları gelişmeye

başlar. Bu devrede otokistin iç yüzeyinde endolenfatik duktus ortaya çıkar. 14 mm büyüklüğündeki bir embriyoda (6. haftada) vestibüler parçada poslar görülmeye başlar ve bunların periferik parçalarından yarım daire kanalları meydana gelir. 20 mm büyüklüğündeki embriyoda (7. haftada) vestibüler parça 8 utrikül ve sakküle bölünür ve 30 mm çapındaki bir embriyoda (8. haftada) erişkin iç kulak çaplarına erişilir. 9. haftada vestibüler sistemdeki tüylü hücreler iyice şekillenir ve sinir uçları ile sinapslar yaparlar. Yarım daire kanalları 6. haftada oluşmaya başlar. 7. haftada kanalların ampullalarında zar labirentteki epitelden crista ampullaris meydana gelir. 11. haftada maküladaki duysal epitel ve destek hücreleri ayrılır ve otolitler oluşur. 22. haftada gelişme tam olarak tamamlanır. Makülalar 14. ile 16. haftalar arasında genişler. Önce otik vezikülün iç yanı kalınlaşır ve ortak maküla oluşur. Daha sonra maküla ikiye bölünür. Üstte bulunandan utrikulus ve üst ve horizontal kanalların makülaları ve altta bulunandan sakkülus ve posterior yarım daire kanalları meydana gelir. Membranöz labirentin geliştiği otik vezikülün etrafı başlangıçta mezenşim ile sarıdır. Mezenşim zamanla değişerek önce kıkırdak, daha sonra da kemik labirenti (otik kapsül) yapar. Kemik labirent ile zar labirent arasında perilenfatik aralık oluşur. Membranöz otik kapsül gelişmesini tamamladıktan sonra, otik kapsül kemikleşmeye başlar. Ondört kemikleşme noktası ile kemikleşir. Bu kemikleşme noktaları aynı zamanda meydana çıkmaz. Otik kapsülün kemikleşmesi altıncı ayın sonunda tamamlanır. Modiolusun gelişmesi otik kapsülden bağımsızdır. Kıkırdak modiolus koklear kanalın iç ucu çevresindeki mezenşimden gelişir ve çevrede oluşan otik kapsül kıkırdağı ile birleşir. Kemik spiral lamina ise bazal turdan 23. haftada gelişmeye başlar (29).

2.2. İç Kulak Anatomisi

İç kulak; temporal kemiğin petroz parçası içinde yer alır. İşitme ve denge duyusu ile ilgili spesifik duyu hücrelerini içerir. Yuvarlak ve oval pencereler yoluyla orta kulak, kohlear ve vestibüler aquaduktuslar yolu ile de kafa içi ile bağlantılıdır (29).

Kemik (osseöz) ve zar (membranöz) labirent olmak üzere morfolojik olarak ikiye ayrılır. Kemik labirenti otik kapsül adı verilen sert kompakt kemik dokusu oluşturur, içinde zar labirent bulunur. İçinde perilenf olarak isimlendirilen sıvı

bulunur. Kemik labirent 3 kısımdan oluşur; vestibül, yarım daire kanalları ve kohlea. Vestibül orta kulak medial duvarı ile internal akustik kanalın fundusu arasında yerleşir. Boyu yaklaşık 6 mm, çapı 3 mm civarındadır. Vestibülün medial duvarının posterior kısmında bir delik vardır burası vestibüler akuaduktusun başlangıcıdır. Vestibüler akuaduktus aracılığı ile kafa içiyle bağlantılıdır. Vestibül lateral duvarında oval pencere bulunur. Oval pencerenin üzeri stapes tabanı ve anuler ligamentle örtülmüştür. Yarım daire kanalları (semisirküler kanallar) süperior, posterior ve lateral olmak üzere üç tanedir ve birbirleri ile 100 derecelik açı yaparlar. Süperior semisirküler kanal petröz kemik uzun aksına transvers olarak bulunur ve internal akustik kanal ile 60 derecelik açı yapar. Posterior semisirküler kanal petröz kemiğin posterior yüzüne paralel planda yerleşim gösterir. Lateral semisirküler kanal attığın medial duvarında, aditus ad antrumda bir çıkıntı şeklinde kendini belli eder. Kemik kohlea vestibülün anteriorunda yerleşim gösterir. İnternal karotis arterin dirseğinden yaklaşık 2 mm uzaklıktadır. İnsanda 2.5 dönüşlük bir sarmal yapar. Modiolus denilen spongioz kemikten yapılmış bir eksen etrafında yerleşmiştir. Tabanına bazis kohlea, tepesine kupula kohlea denir. Kohlea içindeki spiral kanal içinde lamina spiralis ossea denen yarım kemik bölme vardır. Membranöz labirent endolenfatik sıvı içerir. Bu intrasellüler sıvı içeriğine benzer özelliktedir, yani K^+ konsantrasyonu yüksek, Na^+ konsantrasyonu düşüktür. Membranöz labirent üç yapı içerir: utrikulus ve sakkulus, membranöz semisirküler kanallar, kohlea. Utrikulus üzerinde semisirküler kanallarla açılan deliklerle, sakkulusa bağlayan duktus utrikulosakkülerise ait delik bulunur. Utrikulusun duvarında horizontal planda, sakkulus duvarında ise vertikal planda denge duyusunu alan spesifik hücreler bulunur. Sakkulus üzerinde utrikulusa bağlayan duktus utrikulosakkülerise ait bir delik ile duktus kohlearise bağlayan duktus reuniense ait delik bulunur. Membranöz semisirküler kanallar süperior, posterior ve lateral olmak üzere 3 tanedir ve her biri utrikulustan başlar ve utrikulusa döner. Şişkin olan kısımlarına ampulla denir. Bu bölgede krista ampullaris denen yerde rotatuar denge duyusunu algılayacak özel hücreler bulunur (29-31).

Kohlea; iki ucu kapalı üç yüzlü bir boru şeklinde olan duktus kohlearisin tepesinde bulunan kör ucuna çekum kupulare, taban kısmındaki kör ucuna ise çekum vestibulare denir. Çekum vestibulareye yakın bölümünden çıkan duktus reuniens aracılığıyla sakkulusa bağlanır. Duktus kohlearis üçgen biçimindedir. Üçgenin

duvarlarını Reissner membranı, baziler membran ve kemik spiral lamina yapar. Duktus kohlearis osseoz spiral laminadan kohlear kanalın dış yüzüne diagonal olarak tek katlı hücrelerden oluşan Reisner membranı uzanır. Yine spiral laminadan kohlear kanalın dış yüzüne baziler membran denen yapı uzanır. İşitmenin duyusal ve destek hücreleri bu membran üzerindedir. Bu iki membran arasında kalan kısma skala media denir. Skala media helikotremada kör olarak sonlanır ve içinde endolenf bulunur. Reisner membranının üzerinde kalan kısma skala vestibüli denir. Baziler membranın altında kalan kısma ise skala timpani denir. Skala timpani oval pencere ile, skala vestibuli yuvarlak pencere ile ilişkidir. Her ikisinde perilenf içerir. Duktus kohlearisin dış yan duvarını bağ dokusu oluşturur. Vasküler bakımdan zengindir ve bu alana stria vaskularis denir. Üzerinde Na-K ATP'ase pompası bulunur ve endolenfin içeriğinin kontrolünde rol oynar. Skala medianın lateral duvarında belirgin kabarıklık yaptığı yere prominensia strialis denir. İşitme fonksiyonunda en önemli yapı olan korti organı bazal membran üzerinde bulunur. Perilenfteki mekanik titreşimleri sinir liflerini uyaran elektriki akımlara dönüştürür. Korti organında Claudius, Hensen, Deiters, pillar hücreleri, İTH, DTH ve tektoryal membran gibi yapılar bulunur (29-31).

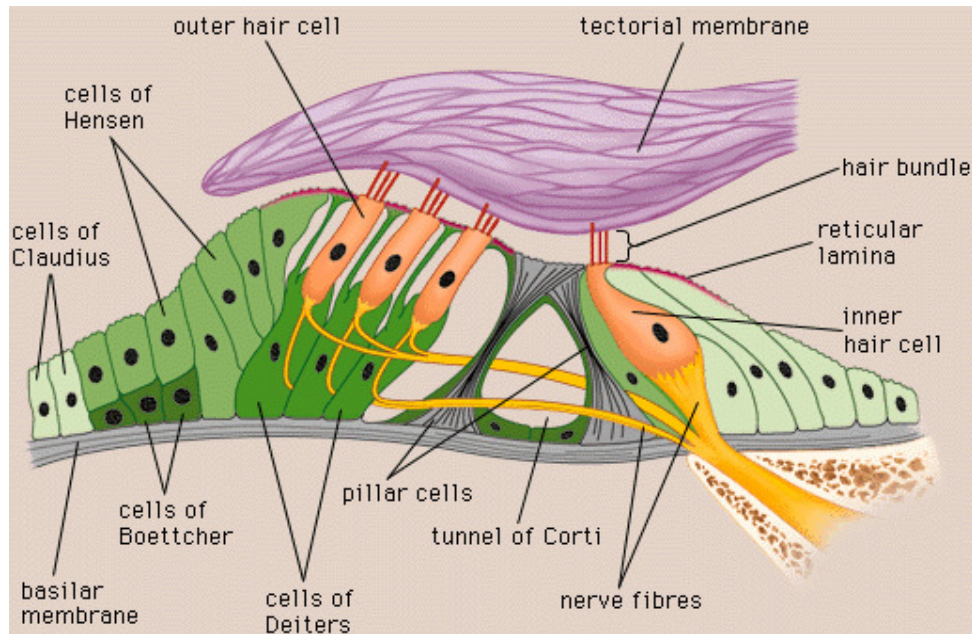
2.3. İç Kulak Histolojisi

Kohleanın en önemli ve duyusal reseptör hücrelerinin lokalize olduğu yer olan duktus kohlearis Reisner membranı, lateral duvar ve baziler membran olmak 3 bölüme ayrılır. Reissner membranı, skala vestibuli ve skala mediayı birbirinden ayıran birer sıra hücre arasına yerleşmiş ince bir zardır. Endolenfe bakan hücreler küboid yapıda olup apikal mikrovilluslar içerirler. Perilenfe bakan hücreler ise gevşek biçimde birbirlerine bağlı skuamoz yapıya sahiptir (29).

Lateral duvar, duktus kohlearisin yan ve dış duvarını yapar. En dışta çoğunluğu tip 1 fibroblast benzeri hücrelerden oluşmuş spiral ligament bulunur. Spiral ligamentin iç tarafında ise çok katlı yassı epitelden oluşan stria vaskularis bulunur. Stria vaskularis endolenfteki yüksek potasyum, düşük sodyum iyon potansiyelini sağlayan marjinal hücreler, fagositoz yeteneği olan intermediate hücreler, epitel ve endotelin bazal membranının birleşmesinden oluşan ve molekül geçişine izin vermeyen bazal hücrelerden oluşur. Stria vaskularis ile bazal membran

arasında iyon ileten enzimler içeren çok sayıdaki tip 2 fibroblast hücrelerinden oluşmuş spiral prominens bulunur (29).

Baziler membran, kemik spiral laminanın lateral kenarından baziler kreste doğru uzanır. Ortalama 31.5 mm uzunluğundadır. Baziler membran ve kemik spiral lamina Claudius hücrelerini, Boettcher hücrelerini, Hensen hücrelerini, Deiters hücrelerini, Pillar hücrelerini, iç sınır hücrelerini, iç ve dış tüylü hücreleri içerir. İç sınır hücreleri korti organının en medial kenarını yaparlar ve tektorial membran hücreleri ile devam ederler. İç falangeal hücreler, dış tarafta DTH'leri birbirinden ayırırken iç tarafta İTH iç sulkus hücrelerinin arasına yerleşir. Tabanda iç falangeal hücreler, İTH'lerle birlikte myelinsiz sinir liflerini çevrelerler (31).



Şekil 1. Korti organı

2.4. İşitme Fizyolojisi

Ses Dalgası ve Özellikleri

Ses enerjisi bir titreşimdir. Yayıldığı ortam moleküllerinin ardışık olarak sıkışmasına ve gevşemesine neden olur. Ses dalgalarının hızı, yayıldığı ortamın yapısına göre değişir. Katı ortamlarda en hızlı, gaz ortamlarda ise en düşük hızla yayılır. Sıvı ortamlarda yayılma hızı ise ikisinin ortasındadır. Deniz seviyesinde 20°C derecelik sıcaklıktaki hava tabakasında sesin hızı 344 m/sn olarak bulunmuştur. Sıvı

ortamlarda ise havaya göre 4 kat hızlı olarak yayılır (1437 m/sn). Kemikte ise yayılma hızı 3013 m/sn olarak bulunmuştur.

Sesin saniyedeki titreşim sayısına sesin frekansı, tonu ya da perdesi denir. Sesin frekansı saniyedeki titreşim sayısı, Hertz (Hz) ile ifade edilir. İnsan kulağı 16–20000 Hz aralarında sesleri duyar. Sesin şiddet birimi desibeldir (dB) ve insan kulağı tarafından duyulan en küçük ses şiddeti 20 dB olarak tanımlanır. Bir ortamın ses dalgalarının yayılmasına gösterdiği dirence akustik direnç ya da empedans denmektedir. Empedans, ortam moleküllerinin yoğunluğu ve esnekliği ile orantılıdır. Ses dalgaları ortam değiştirirken her iki ortamın empedansı birbirine ne kadar yakın ise yeni ortama geçen enerji miktarı da o kadar fazla olur (32).

İşitme

Atmosferde meydana gelen ses dalgalarının kulağımız tarafından toplanmasından beyindeki merkezlerde karakter ve anlam olarak algılanmasına kadar olan süreç işitme olarak adlandırılır ve işitme sistemi denen geniş bir bölgeyi ilgilendirir. Dış, orta ve iç kulak ile merkezi işitme yolları ve işitme merkezi bu sistemin parçalarıdır. İşitme birbirini izleyen bir kaç fazda gerçekleşir.

A) İletim (conduction) fazı: İşitmenin olabilmesi için ilk olarak ses dalgalarının atmosferden dış ve orta kulak aracılığı ile korti organına iletilmesi gereklidir. Bu mekanik olay sesin bizzat kendi enerjisi ile sağlanır. Aurikula ses dalgalarının toplanmasında, dış kulak yolu da bu dalgaların timpanik membrana iletilmesinde rol oynar (33).

Sesin atmosferden korti organına iletilmesi sürecinde başın ve vücudun engelleyici, kulak kepçesi, dış kulak yolu ve orta kulağın yönlendirici ve/veya şiddetlendirici etkileri vardır. Ses dalgaları başa çarpınca yansır ya da az miktarda da olsa kırılır. Sesin geliş yönüne göre, ses dalgalarının çarptığı kulak tarafında ses dalgalarının basıncı artar aksi taraftaki kulak bölgesinde basınç düşer. Bu sesin iki kulağa ulaşması arasında 0,6 m/sn bir fark oluşturur ki sesin geliş yönünü bu şekilde ayırt edebiliriz.

Orta kulak, timpanik membrana ulaşan ses dalgalarının iç kulaktaki sıvı ortama geçmesini sağlar. Ses dalgaları orta kulaktan iç kulağa geçerken yani direnci düşük olan gaz ortamdan direnci daha yüksek olan sıvı ortama geçerken ortalama 30

dB civarında bir enerji kaybına uğrar. Orta kulak, bu ses dalgalarındaki enerji azalmasını önlemek amacı ile empedans (direnç) denkleştirme görevi üstlenir (34,35).

Orta kulağın ses yükseltici etkisi üç mekanizmayla olmaktadır.

1. Kulak zarının işitmede rol oynayan pars tensa kısmı, hem kemik anulus içine sıkıca yerleşmiştir hem de manubrium malleiye sıkı bir şekilde yapışıktır. Kulak zarı kemiğe sıkı bir şekilde yapıştığı için anulusta titreşemez, ince olan orta kısımda titreşir ve titreşim enerjisi yarı sabit manubrium mallei'de yoğunlaşır. Bu şekilde ses enerjisi iki katına çıkar.

2. Kemikçikler bir kaldıraç gibi etki eder. Bu kaldıraçta, manubrium mallei ve inkusun uzun kolu kaldıracın kollarını, malleus başı da destek noktasını oluşturur.

Ses dalgası ile inkudo-malleolar kompleks tek bir ünite gibi hareket eder. Bu şekilde kulak zarını titreştiren ve manubrium üzerinde yoğunlaşan ses enerjisi inkudo-malleolar kompleks aracılığıyla stapesin başına 1.3 kat güçlenerek ulaşmış olur.

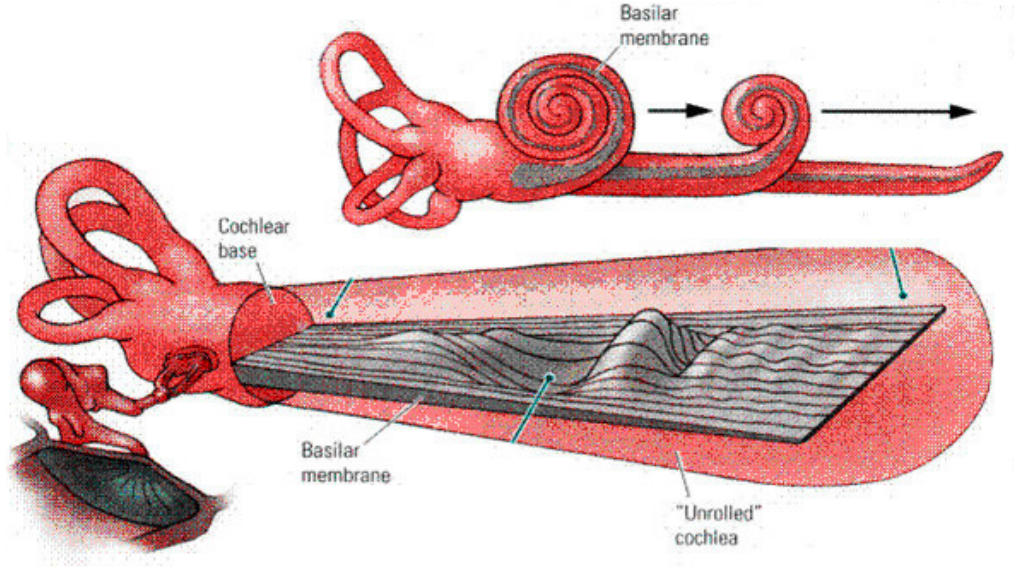
3. Kulak zarı ve stapes tabanındaki titreşim alanları arasındaki oran yaklaşık olarak 18/1'dir. Kulak zarının en periferik bölgelerinin titreşmediği düşünülürse efektif oran 14/1'dir. Ses, kulak zarı ile stapes tabanının birbirine oranı ile orantılı olarak 14 kat güçlenerek iç kulağa geçer (32,34-36).

B) Dönüşüm (transduction) fazı: İç kulakta frekansların periferik analizi yapılır ve corti organında ses enerjisi biyokimyasal olaylarla sinir enerjisi haline dönüştürülür (35).

Ses dalgalarının perilenfe iletilmesi: 1960 yılında Bekesy kobaylarda stroboskopik aydınlatma ile ses dalgalarının baziller membranda meydana getirdiği değişiklikleri araştırdı.

Ses dalgalarının perilenfe geçmesi ile perilenf hareketlenir ve baziller membranda titreşimler meydana gelir. Bu titreşimler bazal turdan başlayarak apikal tura kadar uzanır. Bekesy bu harekete ilerleyen dalga "travelling wave" adını vermiştir. Bazal membran bazal turda dar (0.12 mm), apikal turda daha geniştir (0,5 mm). Bazal turda baziller membran gergindir ve baziller membran genişliği arttıkça

gerginlik giderek azalır. Bu fark nedeni ile ses dalgası, bazal turdan apikal tura kadar gezinen dalga ile götürülmüş olur. Bekesy'nin ortaya koyduğu diğer bir nokta da baziller membran amplitüdlerinin her yerde aynı olmadığıdır. Baziller membran amplitüdü sesin frekansına göre değişiklik gösterir. Genellikle yüksek frekanslı seslerde bazal membran amplitüdüleri bazal turda en yüksektir. Buna karşılık alçak frekanslarda bazal membran amplitüdüleri apikal turda en yüksek seviyeye ulaşır.



Şekil 2. İlerleyen dalga modeli

Kokleada yaklaşık 3500 iç tüylü hücre (İTH) ve 13000 dış tüylü hücre (DTH) bulunmaktadır. Bu hücreler ses enerjisinin, yani mekanik enerjinin, sinir enerjisine dönüşümünde rol alırlar. En uzun dış tüylü hücre stereosiliası tektorial membranın alt yüzüne bağlanır. Daha kısa silialar ve iç tüylü hücre stereosiliası tektorial membranın alt yüzüne bağlı olmadığı düşünülmektedir. Bazal membrandaki yer değişimi, tektorial membran ve retiküler lamina arasındaki DTH'lerini bükerek hareketlendirir. Tektorial membran ve retiküler lamina arasındaki sıvı kayma hareketi İTH'leri hareketlendirir. Böylece İTH hız, DTH yer değiştirme algılayıcısı olarak görev görür. Her tüylü hücrenin titreşim amplitüdünün en yüksek olduğu bir frekans vardır. Bu durum baziller membran amplitütleri için de geçerlidir (34,35,37).

Kokleada 3 tür elektrik potansiyeli vardır.

1. Endokoklear potansiyel: Stria vaskularis tarafından oluşturulur. Anoksiye ve oksidatif metabolizmayı bozan kimyasal ajanlara aşırı duyarlı olduğu için, varlığı stria vaskularisin aktif iyon pompalama sürecine bağlıdır.

2. Koklear mikrofonik: Büyük ölçüde DTH ve bunların meydana getirdiği K iyonu akımına bağlıdır. Baziller membran hareketleri ve ses uyaranları ile direk ilişkilidir. DTH harabiyetinde kaybolur.

3. Sumasyon potansiyeli: İTH içindeki elektriksel potansiyelin yönlendirdiği bir akımdır. Ses uyarısına, frekansına ve şiddetine göre değişir (32,35).

C) Sinir şifresi (neural coding) fazı: İç ve dış tüylü hücrelerde meydana gelen elektriksek akım, kendisi ile ilişkili sinir liflerini uyarır. Bu şekilde sinir enerjisi frekans ve şiddetine göre corti organında kodlanmış olur (32,35).

İnsanlarda işitme siniri 30000 liften yapılmıştır. Bu liflerin % 90-95'i miyelinli, bipolar ve İTH'nde sonlanan tip I nöron şeklindedir. Buna karşılık % 5-10'u miyelinsiz, unipolar ve DTH'nde sonlanan tip II nöron şeklindedir. Tıpkı tüylü hücrelerde olduğu gibi her sinir lifinin duyarlı olduğu bir frekans vardır (33,37).

D) Algı (cognition) – birleştirme (association) fazı: Tek tek gelen bu sinir iletimleri, işitme merkezinde birleştirilir ve çözülür. Böylece sesin karakteri ve anlamı anlaşılır hale getirilir (38).

Spiral gangliondaki sinir hücrelerinin aksonları n. koklearis adını alarak ponstaki koklear nukleuslara ulaşırlar. Koklear nukleuslar, ventral ve dorsal olmak üzere iki gruptur. Düşük frekanslı seslerle oluşan uyarı ventral nukleusta, yüksek frekanslı seslerle oluşan uyarı dorsal nukleusta sonlanır. Bu liflerin çoğu beyin sapının karşı tarafına geçerek superior olivar komplekse katılırlar. Lifler buradan lateral lemniskus ve inferior kollikulus'a giderler. Inferior kollikulustan çıkan lifler medial genikulat nukleus aracılığı ile temporal loptaki Sylvian fissürüne yerleşmiş işitme merkezine gelirler (33,35).

2.5. İşitmenin Değerlendirilmesi

İşitme objektif testler ve subjektif testler olmak üzere iki yöntemle test edilir. Biz burada objektif testlere değineceğiz.

2.5.1. Empedans Odyometri (Timpanometri)

Empedans, bir sistemin kendisini harekete geçirmeye çalışan enerjiye gösterdiği direnç olarak tanımlanır. Orta kulak yapılarının (kulak zarı, kemikçikler) ses enerjisine gösterdikleri dirence akustik impedans denir. İmpedans odyometrisi ile kulak zarının durumu, kemikçik sistemi, orta kulak hava basıncı, orta kulakta efüzyon olup olmadığı ve stapes kası refleksi incelenir. Bu bilgiler objektiftir, hasta hekim işbirliğini gerektirmez (30,39,40).

2.5.2. Elektrokokleografi

Kohleada gerçekleşen elektriksel aktivitenin ölçülmesi yöntemidir. Aktif elektrot dış kulak yoluna ya da transtimpanik olarak yuvarlak pencere nişinin önünde promontoryum üzerine yerleştirilerek ölçüm yapılır. Maske gerektirmeyen, anesteziden etkilenmeyen objektif bir yöntemdir. Elektrokokleografi anestezi gerekliliği ve transtimpanik yöntemin invazivliği nedeniyle fazla kullanım alanı bulamamıştır (30,39,40).

2.5.3. BERA (Brainstem Evoked Response Audiometry) İşitsel Beyin sapı Cevabı

Tüylü hücreler tarafından meydana getirilen elektriksel aktivite sinir lifleri ile beyin sapı ve kortikal işitme merkezlerine kadar taşınır. Bu elektriksel aktivitenin saptanması ve kaydedilmesi işitsel uyarılmış beyin sapı potansiyellerinin temelini oluşturur. İşitsel beyin sapı cevabı (İBC) işitme yolunun distal bölge aktivitesinin yüzey kaydıyla elde edilen ortalamasını gösteren objektif bir testtir. Yenidoğanlar dahil olmak üzere herkeste ölçüm yapılabilir. İBC ölçümü anestezi ya da sedasyon gibi hastaya ait faktörlerden etkilenmeyen objektif bir testtir (30,39,40).

2.5.4. Otoakustik Emisyonlar

İç kulağın mekanik olarak aktif bir sistem olduğunu ilk ileri süren 1948 yılında Gold olmuştur. Ancak iç kulağın aktif bir sistem olduğunun gösterilmesi uyarılmış otoakustik emisyonların (OAE) Kemp tarafından bulunması ile mümkün olmuştur. Kemp 1976 yılında dış kulak yoluna koyduğu bir hoparlör aracılığı ile bir "click" sinyali göndermiş, 5-15 milisaniye sonra daha düşük intansiteli ancak aynı frekansta bir sesi dış kulak yolundan kayıt etmiştir. 1979 yılında Kemp kulağa herhangi bir ses uyarını göndermeksizin iç kulağın spontan olarak ürettiği ses dalgalarını kayıt ederek spontan OAE'ların varlığını göstermiştir. Kemp aynı yıl, iç kulağa iki ayrı frekansta ses gönderip farklı frekansta bir ses kayıt ederek distortion product otoakustik emisyonları (DPOAE) tarif etmiştir (41).

Otoakustik Emisyon, insanların ve hayvanların dış kulak yolundan tespit edilebilen, kohlear kaynaklı, hafif şiddette akustik enerji yayılımlarıdır (42). Bazal membran titreşimleri, uyarı şiddetindeki artışa paralel olarak orta kulaktaki lineer artışa karşın, non-lineer özellikler gösterir. Buna göre orta veya yüksek şiddette olan uyarılar, OAE amplitüdlerinde çok kısıtlı miktarda (non-lineer tarzda) artışa yol açar. OAE amplitüd gelişimi, çoğu kulakta düşük amplitüdlü uyarılar için artan uyarı amplitüdü ile lineer artış gösterir. Ancak uyarı amplitüdü arttıkça, OAE oluşumu da non lineer olur. Bu da OAE'ların kohlear orjinli olduğunu destekler (32-34). OAE oluşumunda, DTH'lerin önemli rolleri mevcuttur. OAE'ler kohleada yer alan DTH'lerin baziler membranla hareketi ile uyarılması sonucu ortaya çıkan ve DTH bağımlı potansiyellerdir. Bu nedenle DTH'lerin her tür etkilenmelerine karşı oldukça hassastır. Kohlear kaynaklı herhangi bir sesin dış kulak yolundan alınarak kaydedilmesi sonucu OAE cevapları ortaya çıkar. OAE'lar iki grupta tanımlanmaktadır (40,42-44).

1- Spontan otoakustik emisyonlar

2- Uyarılmış otoakustik emisyonlar

2.5.4.1. Spontan Otoakustik Emisyonlar

Spontan otoakustik emisyonlar (SOAE), dışarıda akustik uyarı olmadan kendiliğinden oluşan kohlear kaynaklı, tonal, düşük seviyedeki dar band

sinyalleridir. SOAE'lar normal işiten kulakların % 40-50'sinde saptanabilen saf tonlardır (29,36). En yüksek 1-2 kHz arasında alınmasına karşın diğer OAE'lar daha yüksek frekanslarda saptanabilmektedir (45). SOAE'nun varlığı, emisyonun görüldüğü frekans bölgesinde işitmenin normal sınırlarda olduğunu destekler. Ancak sağlıklı bir popülasyonda, kulakların sadece bir kısmında spontan emisyon alındığı için klinik uygulamalarda fazla kullanılmamaktadır (46).

SOAE'lar diüurnal ritim gösterir. Sabahtan akşama kadar ortalama frekans azalması 3 Hz'i bulur. Bu diüurnal ritim, vücut ısısının sabah en düşük olması ve akşama doğru 1°C artması ile vücuttaki hormonal değişikliklere bağlanabilir. SOAE frekansı menstruasyondan önce en az iken, ovulasyon sonrasında en fazla hale gelirler. BOS basıncının yüksek olduğu yatar pozisyonda SOAE frekansının, dik oturur pozisyondakine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Beyin omurilik sıvısı basıncı, kohlear akuadukt yoluyla kohleadaki perilenfatik basıncı etkiler. Bu basınç değişikliği, SOAE'ların frekansını etkileyen önemli bir faktördür (42).

2.5.4.2. Uyarılmış (Evoked) Otoakustik Emisyon

Uyarılmış (evoked) otoakustik emisyonların (EOAE) 2 tipi vardır (40).

- a) Geçici uyarılmış OAE (TEOAE)
- b) Distorsiyon ürünü OAE (DPOAE)

Geçici (Transient) Uyarılmış Otoakustik Emisyon

Kohleada yer alan DTH'lerin baziler membran hareketi ile uyarılması sonucu ortaya çıkan ve DTH'lere bağlı potansiyellerdir. TEOAE, kısa "klik" gibi akustik uyarılarla elde edilir (47). Uyarının özelliği ise geçici olmasıdır. Ölçüm için genellikle 80 dB şiddetinde bir ses kaynağı ve 260 adet uyarı kullanılır. TEOAE'ların zayıf olması (30 dB'in altında) ve uyarı şiddetindeki artışla non-lineer olarak gelişmesi nedeniyle, sinyallerin incelenmesinde non-lineer metod için yazılımlar kullanılır. Oluşan cevaplar uyarılara göre gecikerek ortaya çıktığı için, 20 milisaniyelik kayıt aralığının ilk 2 milisaniyesi sıfırlanarak çizdirilir. TEOAE'lar tüm kohleayı uyaran ve geniş band sinyal olan klik şeklindeki uyarıya cevap olarak meydana geldikleri için, frekanslar hakkında DPOAE'lar kadar spesifik bilgi verememektedir. TEOAE'lar işitmesi normal olan vakaların % 98-100'ünde vardır.

İşitme kaybı 25-30 dB'i geçerse saptanamaz (31,36,38). Yaşlanma ve kişilerin işitme düzeyine bağlı olarak TEOAE cevabı istatistiksel olarak anlamlı oranda düşmektedir. TEOAE, 60 yaşın üzerinde olan olguların yaklaşık % 35'inde saptanabilir (42,46,48).

Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon

İç kulağın iki ayrı frekansta ses tonu ile uyarılması, iç kulakta yayılan bu iki dalganın birbirleri ile etkileşmesine ve iki dalganın birbirleri ile girişim gösterdiği ses tonlarında, daha düşük amplitüdlü bir cevabın oluşmasına neden olur. Dış kulak yoluna kadar akseden ve hassas mikrofonlar aracılığı ile kayıt edilebilen bu sesler, gönderilen seslerin girişim ürünleridir ve Distortion Product (Bozuk Ürünler) olarak bilinirler. f_1 ve f_2 frekanslarına primer frekanslar denir. Diğer bir kombinasyon tonu düşük şiddette gönderilen frekansların algılanabildiği $2f_1-f_2$ ile gösterilen kübik distorsiyon tonlarıdır. $2f_1-f_2$ 'nin işitme sisteminde gönderilen sesin kübü ile orantılı bir ses komponentini içeren yansıma yarattığı kabul edilmektedir. İç kulağa f_1 ve f_2 olarak gösterilen iki ayrı frekanstaki seslerin arasındaki oranın 1.22 olduğu takdirde en yüksek amplitüdlü emisyon alınacağı gösterilmiştir (41,46,49). Bu emisyonlar pek çok frekansta ortaya çıkmakla beraber en belirgin emisyon $2f_1-f_2$ frekansı, DPOAE'ların bazal membranda oluşma yerinden kaynaklanmaktadır (44,49-51). Oluşan DPOAE'nun amplitüdü, stimülasyonda kullanılan tonların şiddetleri ile yakın ilişki gösterir (30). DPOAE'nun teknik prosedürleri TEOAE'den çok daha komplekstir. Kulak yoluna iki ayrı frekansta ses vermek için iki minyatür hoparlör ve bir minyatür mikrofon konması gerekir (50). Uyaranların frekans ve şiddet oranları ölçümlerin sonuçlarını etkilemektedir. Tüm bu zorluklara rağmen DPOAE'lar periferik işitme sistemi ile ilgili çok ayrıntılı bilgiler verebilir. 1 kHz üzerindeki frekanslarda, saf ses odyogramla, DPOAE arasında frekansa spesifik bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Stimülatör tonların f_2 şiddetleri düşürülerek DPOAE amplitüdündeki değişiklikler kaydedilir. Bu durum bize cevapların non-lineer olduğunu yani kohleadan kaynaklandığını, enstrumantasyon artefaktı olmadığını kanıtlar (44,50). 1 kHz altındaki frekanslarda kohleanın cevaplarını kaydetmede TEOAE daha başarılıdır. DPOAE sinyal çıkarma özelliği 4-5 kHz üzerindeki frekanslarda, TEOAE'dan daha üstündür ve konuşma frekansı üzerinde işitme kaybı için belirleme yaparken önemlidir. DPOAE'ların yüksek hassasiyeti ve iyi frekans özelliği normal duyma fonksiyonu olanları, DTH'nin ciddi lezyonu olan olgulardan ayırmaya imkân

verir. DTH lezyonu ciddi olduğunda, özellikle düşük frekanslar için DPOAE, 50 dB üzerinde duyma seviyesi değişimi olanları ayırmaya izin verir (52). Kemirgenlerde iki tonla uyaran verilmesi sırasında yüksek seviyeli distorsiyon oluşur (49).

2.5.5. Otoakustik Emisyon Ölçümünün Yararları

1. Non-invaziv: Anestezi gerektirmeyen ağrısız yöntem olması
2. Pasif kooperasyon gereksinimi: Çocuk ve mental retarde hastalarda kolaylıkla kullanılması
3. Duyarlı bir test olması
4. Kohlea için spesifik: DTH'leri değerlendirmesi
5. Kısa test zamanı: Geniş hasta grubu taranması (29,44,51,53,54).

2.5.6. Otoakustik Emisyon Kullanım Alanları

1. İşitme kaybının belirlenmesi için:
 - Yenidoğan, süt çocuğu ve çocuklar (tarama amacı ile)
 - Davranış odyometresinde zor karar verilen olgularda, psikojenik işitme kayıplarında
 - Erişkinlerde
2. Kohlea fonksiyonunun monitörizasyonunda:
 - Ototoksisite: Aminoglikozidler, Cisplatin, diüretikler vs.
 - GBİK, presbiakuzide erken tanı
 - Ani işitme kaybı
3. Odyolojik ayırıcı tanı: Kohlear lezyonların ayırıcı tanısında (29).

2.5.7. OAE Ölçüm Tekniği

OAE'ların elde edilmesi için dış kulak yolu, orta kulak ve kohleanın normal olması gerekmektedir. OAE'ların objektif ve non-invaziv olmasının yanı sıra kısa sürede yapılabilmesi odyolojide kullanımını arttırmıştır. Ölçüm sırasında sadece

pasif kooperasyona ihtiyaç vardır. OAE ölçümü için, öncelikle otoskopik muayene yapılarak dış kulak yolu ve kulak zarının normal olup olmadığına bakılmalıdır. Dış kulak yolunu tıkalı lezyonlar ve orta kulak patolojilerine bağlı olarak gelişen orta kulaktaki basınç değişiklikleri, OAE cevabını büyük ölçüde etkilemektedir (51).

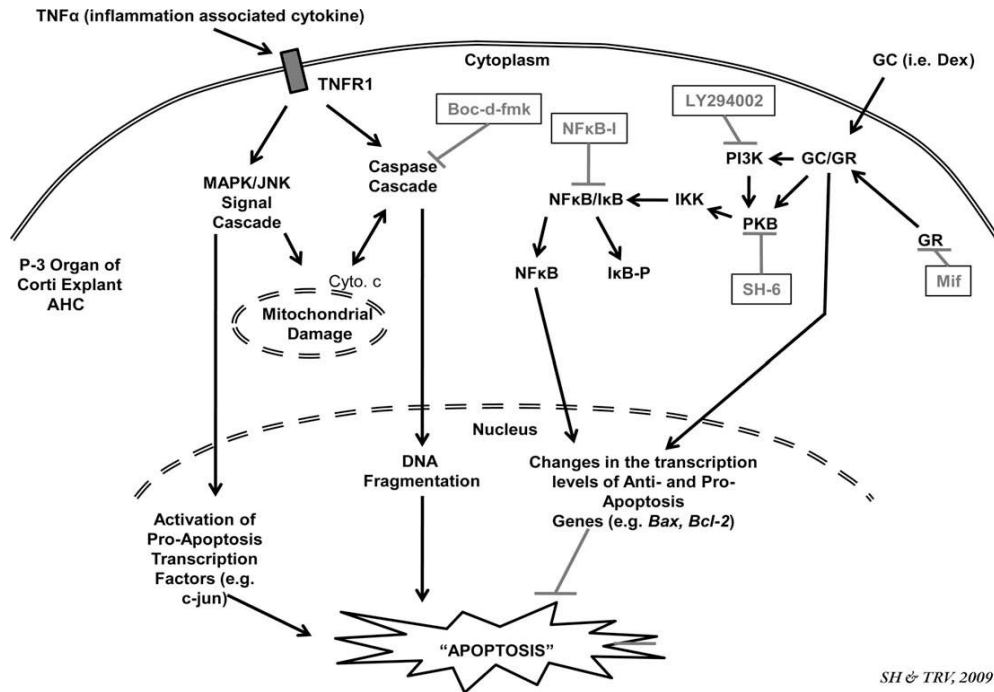
2.6. Apoptozis

Vücudumuzun gelişiminde hücre ölümü, önemli bir temel hücresel cevaptır ve istenmeyen hücreleri elimine ederek doku homeostazisini regüle eder. Hücre ölümünün üç majör morfolojisi tanımlanmıştır. Tip 1 apoptozis, tip 2 otofaji, tip 3 nekrozis (56).

Apoptozis ölen hücrelerde spesifik morfolojik değişiklikler içerir: stoplazma ve nükleer kromatin kondansasyonu, takiben membranda apoptotik cisimciklerin oluşması, çeşitli sitoplazmik organeller ve nükleer fragmanlar içeren membrana bağlanan apoptotik cisimciklerin yıkılmasıyla devam eder. Böylece komşu hücreler ve makrofajlar tarafından ortadan kaldırılır (57,58). Memeli hücrelerinde apoptotik cevap hücre ölümüne dayanan ve neredeyse her zaman caspase'lara meydana gelen intrinsek veya ekstrinsek yollarla düzenlenir. Hücre ölümünde caspase ve diğer proteazların önemi Schrader ve arkadaşları tarafından tartışılmıştır.

2.6.1. TNF –Reseptör Aracılı Apoptozis

TNF reseptör ailesi kendi reseptörlerine bağlanan sistinden zengin ekstrasellüler domainler ve intrasellüler ölüm domainleri ve TRAF (TNF-reseptör – associated factor)-bağlama domaini gibi haberleşme motifleriyle karakterize bir süper ailedir (59). Genel olarak bu reseptörler sinyal, transkripsiyon faktör aktivasyon ve/veya hücre ölümüne neden olabilen kaskadlarla ilişki kurabilir (60). TNF reseptör süper ailesi her biri sitoplazmik ölüm domaini olan TNFR-1, Fas, TRAIL-R1 ve R2, TRAMP, DR6, EDAR ve P75NTR olarak isimlendirilen hücre ölüm reseptörlerini içerir (61,62). Bunlardan TNFR-1 in uyarılması bir dizi hücre içi olay sonrası hücre ölümüne neden olur.



S.M. Haake et al. / Hearing Research 255 (2009) 22–32

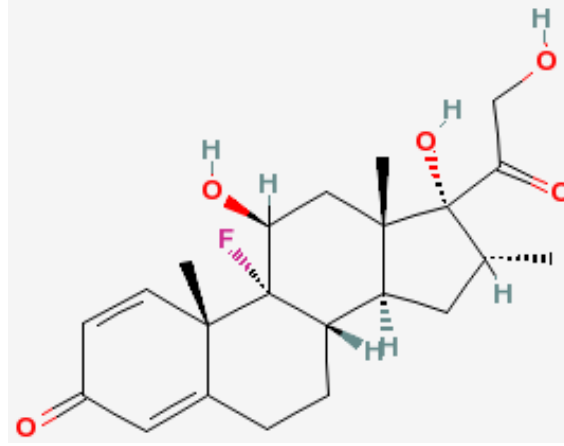
Şekil 3. Apoptozis kaskadı

2.7. Etanercept Yapısı ve Özellikleri

Etanercept, TNF α aktivitesini bloke edecek şekilde geliştirilmiş, human p75 TNF reseptörüne bağlanan, human IgG1'in fc parçasının ekstrasellüler parçasını içeren dimerik bir füzyon proteinidir ve lökosit migrasyonu, lökosit migrasyonuna neden olan adezyon molekülü ekspresyonunda dahil olmak üzere TNF α ile regüle olan biyolojik cevapları da düzenler. Ayrıca TNF α 'nın kompetitif inhibitörü olarak hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanmasını engelleyerek biyolojik aktivitesini önler. Etanercept vücuttan yavaş yavaş itrah edilir ve yarılanma ömrü, yaklaşık 70 saat gibi uzun bir süredir.

2.8. Deksametazon Yapısı ve Özellikleri

Antienflamatuvar aktivitesi yuksek bir glukokortikoid olup kimyasal formulu 9- α -fluoro-16- α -metil prednisolondur. Antienflamatuvar, antiromatizmal ve antialerjik tesiri, bilinen kortikosteroidlerden daha üstün olmasına rağmen elektrolit dengesi üzerindeki tesiri ihmal edilebilecek derecede azdır. Deksametazon maddesinin ağırlığı 392.461063 [g/mol], formülü ise C₂₂H₂₉FO₅ dir.



Deksametazon kimyasal yapısı

3. MATERYAL METOD

Bu çalışmada ağırlıkları 200-230 gram arasında değişen 30 adet Wistar Albino cinsi dişi ratlar kullanıldı. Ratların dış kulak yolları, timpanik membranları ve orta kulaklarının sağlıklı oldukları otomikroskopik muayene ve timpanometri ile teyid edildi. Tüm hayvanlar standart laboratuvar koşullarında takip edildi. Bu çalışma **SDÜ Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı Üretim Biriminde** Deneysel Etik Komitesinden izin alınarak gerçekleştirildi. Deney hayvanları deney süresince 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 21 santigrat derece sıcaklıkta, serbest yemek su alabildikleri ve arka plan gürültü seviyesinin 50 dB'in altında olduğu bir ortamda barındırıldı. Çalışma öncesi deney hayvanlarına (n=30) intraperitoneal (i.p) olarak 90 mg/kg ketamin (Ketalar®) ve 10 mg/kg ksilazin (Alsazin®) anestezisi verilerek ratların distorsiyon ürünü otoakustik emisyonları (DPOAE) Neuro-Audio marka cihazla (Neurosoft Ltd, Rusya) yenidoğan probu kullanılarak ölçüldü. Kobay hayvanının kafası yere yatay pozisyona getirildikten sonra dış kulak kanalları dar olduğundan probun yerleştirilmesinde herhangi bir artefakta yol açmadığı ispatlanmış plastik adaptör kullanıldı (63) Resim 1). Çalışmaya dahil edilen 30 rat üç eşit gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol grubu, ikinci grup etanercept grubu, üçüncü grup deksametazon grubu olarak belirlendi. Birinci gruba 1 ml serum fizyolojik ip, ikinci gruba 2,5 mg etanercept (Enbrel®) ip, üçüncü gruba 1 mg/kg deksametazon (Decort®) ip uygulandı. Otoakustik emisyon ölçümleri yapılan tüm ratlar ses geçirmez kabin içerisinde AC 40 model odyometri cihazı (Interacoustics Co. Assens, Danimarka) kullanılarak 40 dakika süre ile 4 kHz frekansında 120 dB saf ton sese maruz bırakıldı. Deney hayvanlarının 24. saatte, 3. günde ve 7. günde distorsiyon ürünü otoakustik emisyonları (DPOAE) ölçüldü.

Test 1k, akustik travma öncesi DPOAE ölçümü ve akustik travma uygulaması

Test 2k, akustik travmadan 1 gün sonra DPOAE ölçümü

Test 3k, akustik travmanın 3. günü DPOAE ölçümü

Test 4k, akustik travmanın 7. günü DPOAE ölçümü (Tablo 2)

Kontrol grubuna ait testler ve değerler Tablo 2 ve Grafik 1 de gösterilmiştir.

Test 1e, akustik travma öncesi DPOAE ölçümü ve akustik travma uygulaması

Test 2e, akustik travmadan 1 gün sonra DPOAE ölçümü

Test 3e, akustik travmanın 3. günü DPOAE ölçümü

Test 4e, akustik travmanın 7. günü DPOAE ölçümü (Tablo 3)

Etanercept grubuna ait testler ve değerler Tablo 3 ve Grafik 2 de gösterilmiştir.

Test 1d, akustik travma öncesi DPOAE ölçümü ve akustik travma uygulaması

Test 2d, akustik travmadan 1 gün sonra DPOAE ölçümü

Test 3d, akustik travmanın 3. günü DPOAE ölçümü

Test 4d, akustik travmanın 7. günü DPOAE ölçümü (Tablo 4)

Deksametazon grubuna ait testler ve değerler Tablo 4 ve Grafik 3 de gösterilmiştir.

Tablo 1. Gruplara ait test tablosu (AT: Akustik Travma)

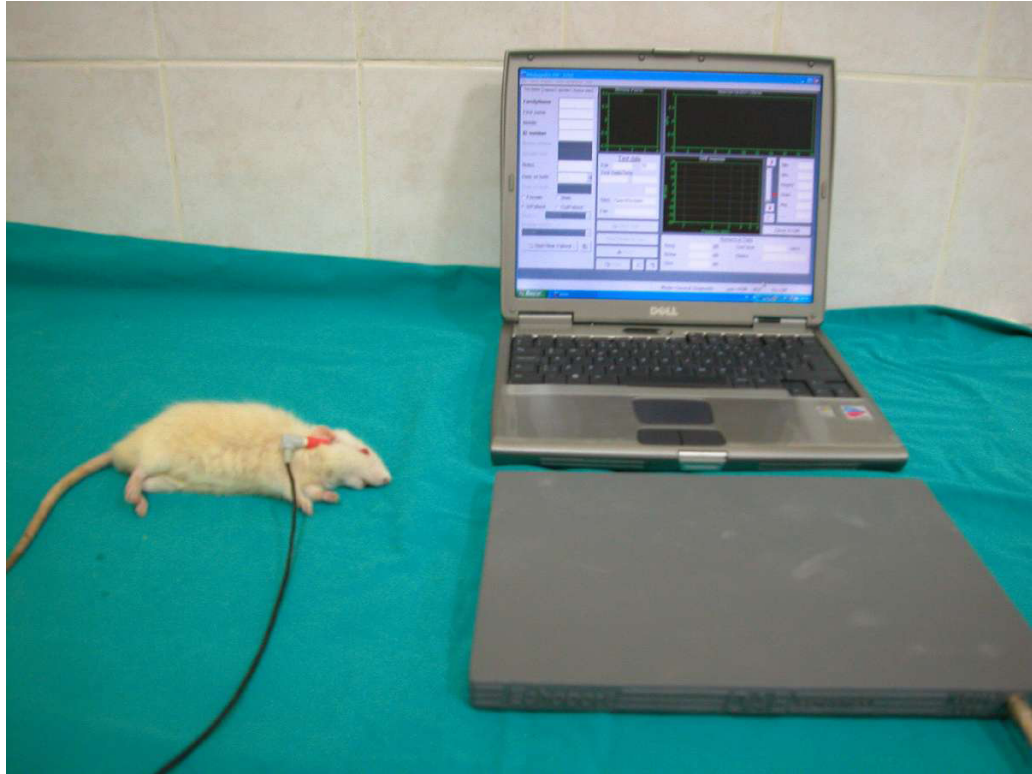
Başlangıç	Etanercept, deksametazon, SF uygulaması ve sonrasında AT uygulaması	AT sonrası 1. Gün	AT sonrası 3. Gün	AT sonrası 7. Gün
Test 1k	AT	Test 2k	Test 3k	Test 4k
Test 1e	AT	Test 2e	Test 3e	Test 4e
Test 1d	AT	Test 2d	Test 3d	Test 4d

3.1. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyonlar

Distorsiyon ürünü otoakustik emisyonlar (2f1-f2 kübik distorsiyon ürünü bileşenleri) İLOv6 (Otodynamics Ltd) cihazı kullanılarak General Diagnostic modunda ölçüldü.

f2 ve f1 frekansları arasındaki oran ($f2/f1$) 1.22 olacak şekilde tutuldu. Uyarın şiddeti f1 frekansı için L1 ve f2 frekansı için L2 olarak alındı ve L1-L2 10 dB SPL (L1=65, L2=55) düzeyinde tutuldu. Sonuçlar birincil tonların (f1 ve f2) geometrik ortalamasında gösterildi. Otoakustik emisyonlar dış kulak kanalındaki iki adet uyarın (f1 ve f2) için iki farklı hoparlör kullanılarak uyarıldı. DPOAE'ler dış

kulak kanalındaki mikrofon ile 2f1-f2 frekansında ölçüldü ve f1 ve f2'nin geometrik ortalamalarında 1001, 1501, 2002, 3003, 4004, 6006 ve 7996 frekanslarında kaydedildi. Test süresi yaklaşık 30 sn idi. DPOAE amplitüdlerinin gürültü eşiğinin 3 dB üstündeki değerleri anlamlı kabul edildi (87,88). Ölçümler gürültü düzeyinin 50 dB'i geçmediği bir odada yapıldı. İstatistiksel değerlendirme "Mann-Whitney U non-parametrik Test" ve "ki kare testi" ile yapıldı. P değerleri 0,05'den küçük olanlar anlamlı olarak kabul edildi. DPOAE sonuçlarının değerlendirilmesinde; elde edilen 2f1-f2 kübik distorsiyon ürünleri f1 ve f2'nin geometrik ortalamasında yani 1001, 1501, 2002, 3003, 4004, 6006 ve 7996 Hz frekans bantlarında oluşan "*signal to noise*" oranı esas alındı. "*Signal to Noise*" oranı DPOAE cevaplarını değerlendirmek için DPOAE amplitüdlere göre daha güvenilirdir (64). Çalışmamızda bu "*signal to noise*" oranlarının her kobay için ayrı ayrı ortalamaları alındı ve istatistiksel analizi yapıldı.



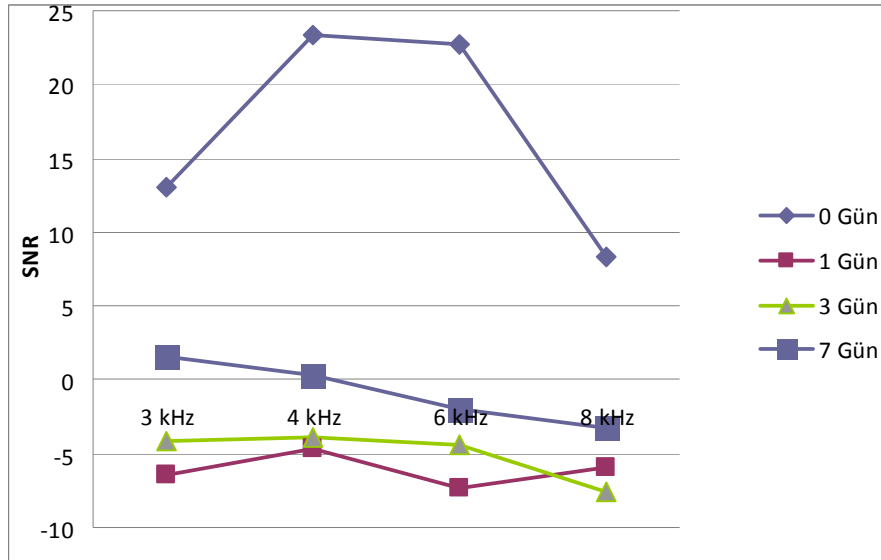
Resim 1. Ratlarda OAE uygulaması

4. BULGULAR

Birinci, 3. ve 7. günlerde kontrol grubundaki bütün ratlarda 3, 4, 6, 8 kHz frekanslarda akustik travma geliştiği görüldü (Tablo 2, Grafik 1). Etanercept ve Deksametazon gruplarında akustik travma gelişmediği görüldü (Tablo 3 ve 4, Grafik 2 ve 3).

Tablo 2. Kontrol grubunun günlere göre SNR değerleri

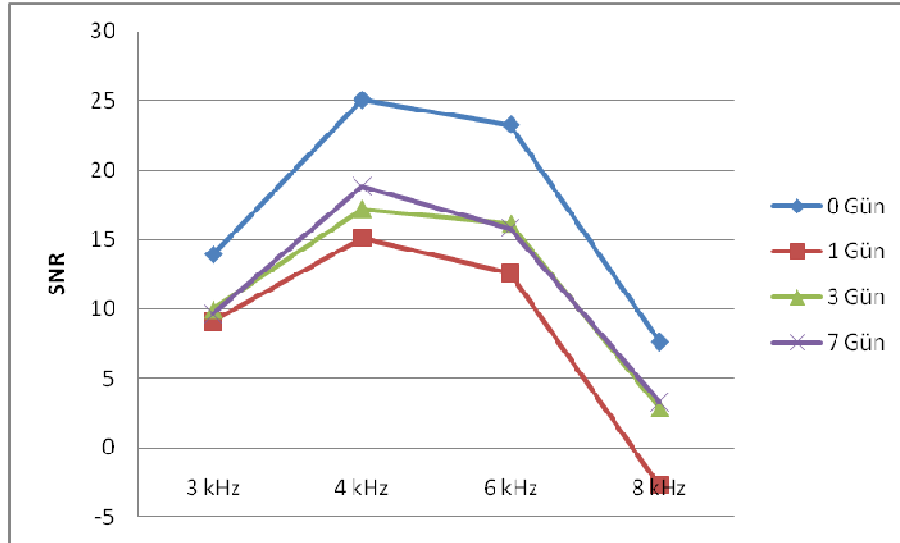
	3 kHz	4 kHz	6 kHz	8 kHz
0 Gün	13.08	23.37	22.74	8.30
1 Gün	-6.38	-4.61	-7.27	-5.96
3 Gün	-4.15	-3.84	-4.45	-7.62
7 Gün	1.58	0.37	-1.95	-3.20



Grafik 1. Kontrol grubunun günlere göre SNR değeri grafiği

Tablo 3. Etanercept grubunun günlere göre SNR değerleri

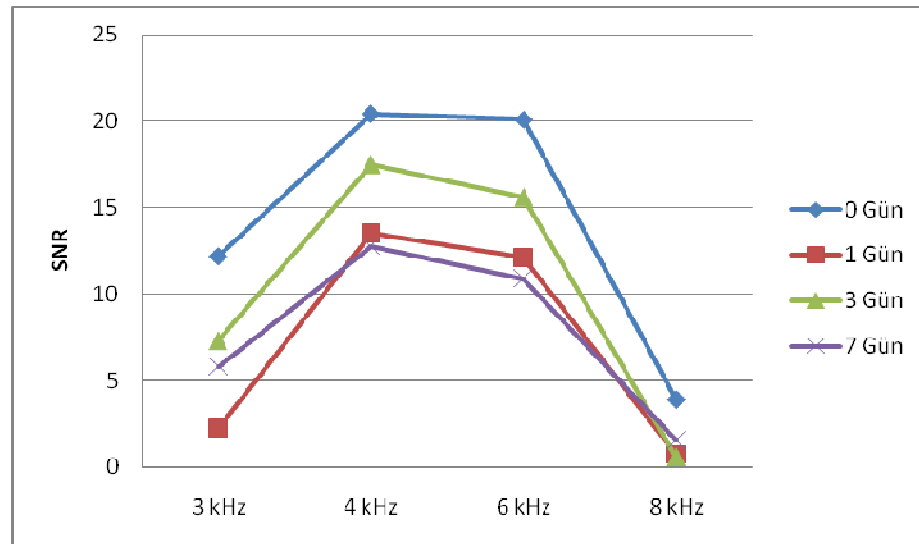
	3 kHz	4 kHz	6 kHz	8 kHz
0 Gün	13.93	25.05	23.25	7.65
1 Gün	9.10	15.13	12.60	-2.72
3 Gün	9.96	17.19	16.10	2.90
7 Gün	9.62	18.85	15.83	3.33



Grafik 2. Etanercept grubunun günlere göre SNR değeri grafiği

Tablo 4. Dekstametazon grubu günlere göre ortalama SNR değerleri

	3 kHz	4 kHz	6 kHz	8 kHz
0 Gün	12.22	20.45	20.11	3.94
1 Gün	2.23	13.53	12.15	0.74
3 Gün	7.30	17.51	15.62	0.56
7 Gün	5.83	12.78	10.91	1.54



Grafik 3. Dekstametazon grubunun günlere göre SNR değeri grafiği

Etanercept grubu, kontrol grubuna göre;

1. günde 3,4,6 kHz de istatistiksel olarak olumlu yönde anlamlı, 8 kHz de anlamsız olduğu görüldü.

3. günde 3,4,6,8 kHz de istatistiksel olarak olumlu yönde anlamlı olduğu görüldü.

7. günde 4,6,8 kHz de istatistiksel olarak olumlu yönde anlamlı, 3 kHz de anlamsız olduğu görüldü (Tablo 5).

Tablo 5. Kontrol – Etanercept gruplarının istatistiksel olarak karşılaştırmaları (* p<0,05 anlamlı)

	3 kHz	4 kHz	6 kHz	8 kHz
1 Gün	0.003*	0.001*	0.005*	0.474
3 Gün	0.003*	0.023*	0**	0.033*
7 Gün	0.179	0.005*	0.005*	0.033*

Deksametazon grubu kontrol grubuna göre;

1. günde 4,6 kHz de istatistiksel olarak olumlu yönde anlamlı, 3 ve 8 kHz de anlamsız olduğu görüldü.

3. günde 3,4,6,8 kHz de istatistiksel olarak olumlu yönde anlamlı olduğu görüldü.

7. günde 4,6 kHz de istatistiksel olarak olumlu yönde anlamlı, 3 ve 8 kHz de anlamsız olduğu görüldü (Tablo 6).

Tablo 6. Kontrol – Deksametazon gruplarının istatistiksel olarak karşılaştırmaları (* p<0,05 anlamlı)

	3 kHz	4 kHz	6 kHz	8 kHz
1 Gün	0.087	0.003*	0.005*	0.087
3 Gün	0.003*	0.023*	0**	0.033*
7 Gün	0.65	0.023*	0.023*	0.211

Etanercept grubu ile deksametazon grubu arasında tüm günlerde ve bütün frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 7).

Tablo 7. Etanercept – Deksametazon gruplarının istatistiksel olarak karşılaştırmaları
(* p<0,05 anlamlı)

	3 kHz	4 kHz	6 kHz	8 kHz
1 Gün	0.37	1	1	0.628
3 Gün	1	1	1	1
7 Gün	0.65	1	1	0.65

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Akustik travma sonrasında oluşan işitme kaybının ve diğer semptomların önlenmesinde veya tedavisinde henüz etkinliği ispatlanmış bir ajan-yöntem bulunamamıştır. Bunun en önemli nedeni oluşum mekanizmasının tam aydınlatılamamış olmasıdır. Öte yandan mevcut bilinen mekanizmaların ışığında akustik travmada işitme kaybına neden olan mekanik ya da biyokimyasal olaylar zincirinin bir yerinden kırılması tedavi-proflaksi konusunda yeni ufuklar açacaktır.

Yapılan hayvan çalışmalarında oluşturulan akustik travma modellerinde çoğu zaman kullanılan terminoloji akustik travma ya da GBİK (Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı) tanımına uymamaktadır. Ayrıca “akustik travma hayvan modeli” oluşturma konusunda görüş birliği yoktur. Benzer metodlar içeren çalışmalarda “akustik travma”, “GBİK”, “akut akustik travma” ya da “impuls noise trauma” gibi farklı isimler benzer çalışmalarda kullanılmıştır (65-69). Bir araştırmacı bile aynı metod için iki çalışmada farklı tanımlar kullanmıştır. Örneğin Fetoni ve ark. yaptıkları bir çalışmada 6 kHz frekans, 120 dB şiddetindeki saf sesi 40 dakika uygulamışlar ve bunu “akustik travma” olarak tanımlamışlar (65), 1 yıl sonra yaptıkları başka bir çalışmada 6 kHz frekans, 120 dB saf sesi 30 dakika uygulamışlar ve bu uygulamayı “GBİK” olarak belirtmişlerdir (67). Kuokkanen ve ark. tüfek kullanarak 162 dB şiddetinde ses oluşturdukları başka bir çalışmalarında ise “akut akustik travma” ismini kullanmışlardır. Abamrane ve ark benzer şekilde tüfek ile oluşturdukları 170 dB şiddetinde ses kullanarak yaptıkları çalışmalarında “akustik travma” terimini kullanmışlardır (69,70). Bunun aksine, Choi ve ark. 105 dB şiddetindeki, 4 kHz saf sesi 6 saat uygulayarak oluşturdukları işitme kaybını “akut akustik travma” olarak belirtmişlerdir (66). Duan ve ark. ise 160 dB şiddetindeki saf sesi her biri milisaniyeler süren 50 impuls şeklinde uygulamış ve bunu “impuls noise trauma” olarak tanımlamıştır (68). Bu çalışmalardan anlaşılacağı üzere ses maruziyeti sonrası gelişen işitme kayıplarının hayvan modeli çalışmalarında gerek uygulanacak ses şiddeti ve frekansı gerekse sese maruziyet süresi üzerinde değişik görüşler mevcuttur. Bu görüşler ışığında çalışmamızda 4 kHz frekansda saf ton ses kullanıldı. Uygulanacak ses şiddeti ve süresi hususunda literatürde görüş birliği olmaması nedeniyle çalışmamızda, kolay uygulanabilir, daha az travmatik ve tekrar edilebilir

olma özelliğindeki 120 dB şiddetinde ses 40 dakika uygulandı. Çalışmamızda akustik travma öncesi emisyon ölçümleri ile akustik travmadan 24 saat sonraki emisyon ölçümleri karşılaştırıldığında kontrol grubunda akustik travma olduğu görüldü. Bu durum kullandığımız akustik travma oluşturma metodunun etkili olduğunu göstermektedir.

Kohlea sesin işlenmesi ve işitsel algılama için birlikte çalışan farklı yapılar içeren kompleks hidro-elektro-mekanik bir sistemdir. Bu yapılar iç tüylü hücreler, dış tüylü hücreler, destek hücreler ve ses iletimi için endokohlear potansiyel sağlayan potasyumdan zengin endolenfi içerir. Tüm bu hücre tipleri ses sinyallerinin işlenmesi için hayati bir öneme sahiptir. Kohleada ki her hücre bir frekanstaki sesi işitmeye özelleşmiştir.

Akustik travmada işitme kayıpları en iyi işitilen frekanslarda; 3-6 kHz aralığında ortaya çıkar ve en belirgin olarak etkilenen frekans 3.8 kHz dir. Bu durum akustik travma dış kulak yolunu rezonatör etkisi, stapes refleksinin 2000 Hz frekansa kadar olan sesler için geçerli olması, iç kulak bazal turunun mekanik travmaya daha kolay maruz kalması, orta kulağın alçak frekanslarda lineer özellik gösterdiği yüksek frekanslarda lineer özelliğin kaybolması gibi nedenlere bağlı olabilir (28). Bohne ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada; chinchilla kohleasına uyguladıkları 4 kHz şiddetindeki gürültü sonrası en çok kohlear apeksin 3-8 kHz 'e duyarlı bölgesindeki dış tüylü hücrelerde ölüm yollarının aktive olduğunu ve maksimum etkilenmenin bu bölgede meydana geldiğini göstermişlerdir. Bizde çalışmamızda bu veriler ışığında otoakustik emisyon ölçümlerini 3-8 kHz arasında yapmayı uygun gördük.

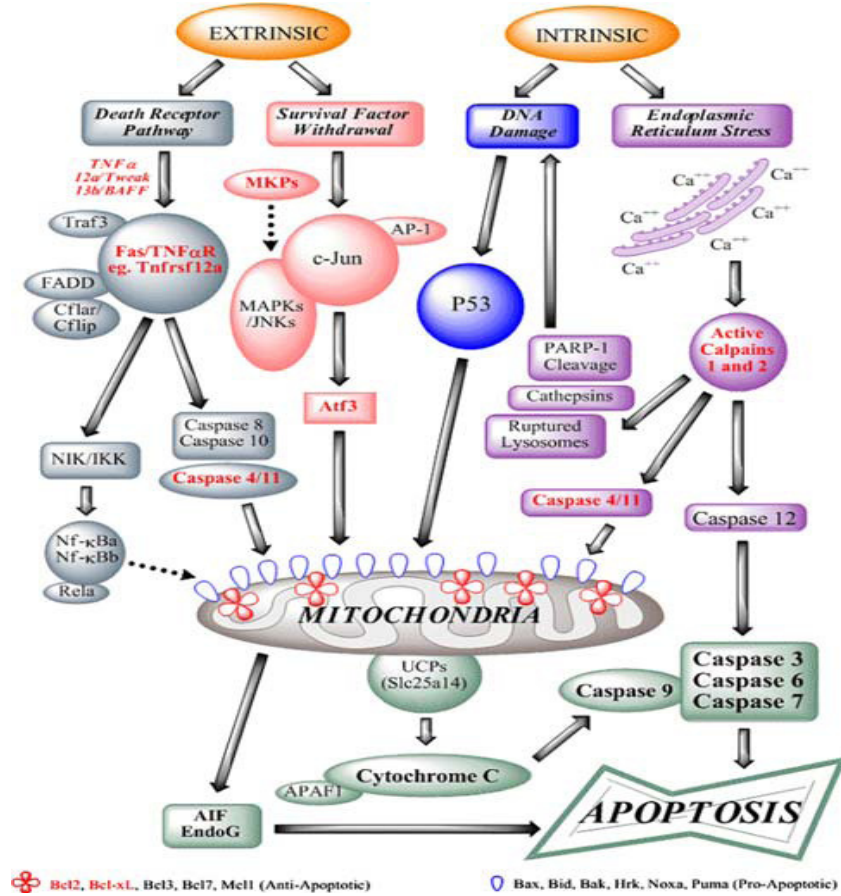
Akustik travmada işitme kaybı 2 ana mekanizma ile olmaktadır. Ya mekanik, ya da metabolik veya biyokimyasaldır. Mekanik olarak DTH ve İTH hasar görmesidir. Metabolik hasar için de birbiri ile iç içe geçmiş 3 mekanizmadan söz edilmektedir. Birincisi serbest radikal hasarı, ikincisi lipid peroksidasyonu ve üçüncüsü kohlear iskemidir (71).

Mekanik hasarda en çok dış tüylü (DTH) ve iç tüylü hücreler (İTH) etkilenir. İşitme kaybının sebebi stereosilyaların kaybı, birbirleriyle yapışmaları, kırılmaları, tektorial membrandan ayrılmalarıdır. Her ne kadar primer olarak DTH'ler etkilense de yüksek ses İTH'lerde de hasara yol açar. İTH yüksek sese maruziyet sırasında

oldukça aktiftirler ve yüksek ses 8. sinir ile yaptıkları sinaptik aralığa yoğun glutamat salınımına neden olur. Glutamat İTH ve 8. sinirin oluşturduğu sinapsta eksitator nörotransmitter olarak görev yapar. Yüksek ses glutamat eksotoksitesine yol açabildiği gibi 8. sinir aferent fibrillerinde şişme ve yırtılmaya da neden olabilir. Ayrıca Pillar hücrelerde meydana gelen hasar yüksek seviyeli ve sürekli seste görülür. Pillar hücre kaybı neticede DTH kaybına katkıda bulunmaktadır (71-77).

Bunların dışında, kohleada mekanik yol ile meydana gelen hücre ölümünün apoptozis ve nekrozis vasıtasıyla olduğu gösterilmiştir (7-14). Ancak ölüm yolunda asıl primer sorumlunun apoptozis olduğu ortaya konulmuştur (15,16).

Apoptozis organogenezin düzenlenmesinde ve erişkin organizmanın embriyonik gelişimindeki normal hücre homeostazisinin sağlanması gibi birçok önemli hayati olaylarda rol oynar. Apoptozisin az ya da çok fazla olması onkogeneze dahil olmak üzere pek çok hastalığa neden olabildiği gösterilmiştir (78,79). Apoptozis hücre tipine ve yol açan patolojik duruma bağlı olarak bir çok yolak içerir. Bu yolaklar temel olarak ekstrensek ve intrinsek olarak 2 ye ayrılır. Ekstrensek yolağın başlangıcı, TNF α ve fas gibi membran reseptörlerinin uyarılmasıyla aktive olur (Şekil 4). Sonrasında reaktif oksijen molekülleri, enflamatuvar sitokinler, radyasyon, eksotoksitesite gibi uyarılarla c-jun ve JNK aktive olarak olaya dahil olur. Her iki yolakta da hücre ölümüne neden olan, etkilerini mitokondri membran stabilitesine etki edecek çeşitli kaskatlar (bid, bax, bcl ve bcl-x ailesi) oluşur ve caspase aktivasyonu ile sitokrom c salınır, sonuçta hücre ölümü meydana gelebilir. Ayrıca apoptozisin mitokondriden endo G ve AIF faktörleri salınımı gibi caspase aktivasyonu gerektirmeyen istisnaları da vardır. Bu faktörler caspase aktivasyonunu by-pass edip hücre hasarı ve apoptozisine neden olabilir (80-82).



Şekil 4. Apoptozis yolağı

Apoptozisin, dış tüylü hücrelerde gürültüye maruz kalma sonrası ilk gün hücre ölümüne neden olan en etkili yol olduğunun gösterilmesi de (15) bu ölen hücreleri canlandırmak, başka bir deyişle tedavisi mümkün değilse bile akustik travmadan korunmanın daha öncelikli olduğunu düşündürdü. Akustik travma sonrası meydana gelen mekanik kohlear hasardan korunmanın apoptozisin başlangıç aşamasında bloke edilmesiyle sağlanabileceği düşüncesiyle çalışmamızı şekillendirdik ve bu durumda bizim apoptozisin baş rol aktörü olan TNF α üzerine yoğunlaşmamızı sağladı.

TNF α Tümör Nekrozis Faktör ailesine ait proenflamatuar bir sitokindir ve enflamasyonda, yara iyileşmesinde ve doku onarımında da görev alır. TNF α apoptozisi uyaran reseptörleri aktive ederek apoptozisin gerçekleşmesine katkıda bulunur. Kohleada da spiral ligament lateral duvar fibrositlerinden salınır, apoptozisi indüklediği ve yüksek sese maruziyet sonrası TNF α 'nın kohleada arttığı

gösterilmiştir (18-20). Ayrıca TNF α deneysel iç kulak immün cevabında en erken salınan sitokin olup kohleadaki tüylü hücrelerde TNFR1 e bağlanarak apoptozisi indükler ve aynı zamanda TNF alfa apoptozisin ekstrensek yolağında, kendi reseptörü olan TNFR1 artışını da indükleyerek apoptozisin daha da artmasına neden olur (23-25). TNF α 'nın hem direkt kendisinin hem de kendi reseptörünün apoptozisi indüklemesi akustik travma sonrası oluşan işitme kaybının önlemesi konusunda bize ilham verdi. Bu tür hastalarda TNF α reseptörünü bloke etmenin işitme kaybını önleyebileceği düşüncesini uyandırdı.

İç kulaktaki apoptozis gelişimi ve hücrelerin nasıl hayatta kaldığı konusu sensörinöral reseptör epitelde apoptozisi önleyen yeni ilaçlar bulundukça popüler bir konu haline almıştır (22). Biz de çalışmamızda TNF α 'nın apoptotik etkinliğini önleyeceğini düşündüğümüz TNF α reseptör blokörü olan etanercept'i ve ayrıca akustik travmada etkili olduğu düşünülen ve bu amaçla kullanılan sentetik bir steroid analogu olan deksametazonu akustik travma profilaksisindeki etkinliğini belirlemek amacıyla kullanmayı planladık. Etanercept lökosit migrasyonu, lökosit migrasyonuna neden olan adezyon molekülü ekspresyonunda dahil olmak üzere TNF α ile regüle olan biyolojik cevapları da düzenler. Etanercept günümüzde romatoid artrit, psoriatik artrit, ankilozan spondilit gibi hastalıkların tedavisi için kullanılmaktadır (83,84). Ancak Etanercept'in iç kulaktaki etkinliği ile ilgili çalışmalar çok sınırlıdır ve çoğunluğu otoimmün iç kulak hastalıklarıdır. Etanerceptin akustik travma üzerine etkinliğini araştıran bir çalışma yoktur. Travma sonrası enflamasyon ilk dakikalarda başladığı için ve özellikle TNF α 'nın 3. saatte pik yaptığı (18) düşünüldüğünde hücre ölümünü önleyebilmek için kullanılacak ajanların akustik travmadan önce uygulanması planlanmıştır. Bu sayede etanercept ve deksametazonun akustik travmadan koruyucu etkinliği çalışılmıştır. Bizim çalışmamızda etanercept ve deksametazon tedavisi sonrasında 1. 3. ve 7. günlerde yapılan DPOAE ölçümleri kontrol grubu ve kendi aralarında karşılaştırıldı.

Sitokin sinyal yollarını etkileyebilen yeni bir farmakolojik ajan olan Etanercept, TNF α aktivitesini bloke edecek şekilde geliştirilmiş, human p75 TNF reseptörüne bağlanan, human IgG1'in fc parçasının ekstrasellüler parçasını içeren dimerik bir füzyon proteindir (85). Yapılan bir çalışmada ratlara cisplatin ototoksitesisi sonrası TNF α reseptör antikoru olan etanercept İP olarak uygulanmış

ve enflamatuvar sitokinlerin serum ve kohleadaki konsantrasyonlarının azaldığı gösterilmiştir (21). Çalışmamızda etanercept grubu kontrol grubuna göre 1. günde 3, 4, 6 kHz de istatistiksel olarak akustik travmadan anlamlı koruyucu iken, 8 kHz de korumamıştır. Bu durum 3. gün yapılan emisyon kontrollerinde bütün frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı koruyuculukta çıkmıştır. Yedinci gün kontrollerimizde 4, 6, 8 kHz de istatistiksel olarak anlamlı koruyuculuğu devam ederken, 3 kHz de koruyucu bulunmamıştır. Bu durum etanerceptin koruyucu etkisinin daha çok 4-6 kHz arasında olduğu veya 3 ile 8 kHz frekanslarının 4 kHz'lik akustik travmaya daha hassas olduğu şeklinde yorumlanabilir, ya da 3 kHz frekansının üçüncü günden sonra posttravmatik etkilenebilirlik şeklinde düşünülebilir ve tekrarlayan doz gereksinimleri olabilir. Ayrıca 3 kHz de ilk gün ölçümleri ile diğer ölçümler arasındaki fark, 3 kHz frekansının apoptotik mekanizmadan çok diğer mekanizmalarla etkilendiği şeklinde düşünülebilir. 8 kHz frekansı için ise birinci günden sonra apoptozise ilerlemeye göre tekrar yaşamsal faktörlerini geri kazanma durumu daha fazla olduğu için otoakustik emisyon ölçümlerinde anlamlı bir düzelme şeklinde görülmüştür.

Deksametazon ise; sentetik bir steroid analogu olup uzun zamandır hekimler tarafından kohlear işitme eşiği hasarını önlemek ya da sınırlandırmak için terapötik bir ajan olarak kullanılmaktadır. TNF α ile indüklenmiş apoptozis üzerine kortikosteroidlerin etkisi birçok hücre tipinde de çalışılmıştır (86,87). Bu durumda; iç kulağın travmaya uğraması kohleadaki lateral duvar fibrositlerinden TNF α salınımına yol açarak işitsel tüylü hücrelere sitotoksik bir etki meydana getirir. TNF α , bax ekspresyonunu arttırarak ve bax/bcl-2 oranını değiştirerek apoptozisi arttırabilir. Aynı zamanda bu sitokin kendi reseptörünü de arttırarak kendi apoptotik etkisini pozitif regüle edebilmektedir. Bu şekilde TNF α 'nın işitsel tüylü hücrelerin patern ve morfolojisinde tam bir ayrılma yaptığı gösterilmiş ve bununla birlikte çıkartılmış korti organlarındaki TNF α artışının deksametazonla tedavisi ile TNF α proapoptotik etkisi geri çevrilmiş ve bunuda TNFR up regülasyonunu ve bax/bcl-2 oranını düşürerek sağladığı görülmüştür. Ayrıca deksametazon tedavisi antiapoptotik olan bcl-2, bcl-x gen ekspresyonunu up regüle etmektedir. TNF α 'nın ototoksitesindeki deksametazonun antiapoptotik etkisi ayrıca çıkarılan corti organlarındaki normal tüylü hücre morfolojisi ve paternini koruyarak yaptığı

gösterilmiştir (88). Biz de çalışmamızda deksametazonun bu özelliğinden faydalanarak akustik travmadan iç kulağı korumayı amaçladık.

Çalışmamızda, Deksametazon grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; 1. günde 4 ve 6 kHz de istatistiksel olarak akustik travmadan anlamlı olarak korur iken, 3 ve 8 kHz de korumamıştır. Bu durum 3. gün yapılan emisyon kontrollerinde bütün frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı koruyuculukta çıkmıştır. Yedinci gün kontrollerimizde 4 ve 6 kHz de istatistiksel olarak anlamlı koruyuculuğu devam ederken, 3 ve 8 kHz de koruyucu bulunmamıştır. Bu durum deksametazonun 4 ve 6 kHz de daha etkin bir koruma sağladığı veya rat kohleasının 4 kHz lik bir akustik travmada daha çok 3 ve 8 kHz frekanslarında etkilendiğini ve ilk günden sonra apoptozise ilerlemeye göre tekrar yaşamsal faktörlerini geri kazanma durumunun daha etkin olduğu ancak bu durumun üçüncü günden sonra akustik travma sonrası diğer kohlear hasar mekanizmalarına bağlı olarak tersine döndüğü ve üçüncü günden sonra tekrarlayan ilaç gereksiniminin olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Etanercept ve deksametazon grupları karşılaştırıldığında ise bütün günlerde ve bütün frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Etanercept ve deksametazon aynı kaskadın farklı aşamalarından etki etmekle beraber, akustik travmadan koruyucu özellikleri büyük benzerlik göstermektedir. Her ikisi de en etkin koruyucu özelliklerini en çok etkilenen işitme aralığında 4-6 kHz de göstermektedir. Literatürde deksametazonun özellikle lokal kullanımının iç kulağı akustik travmadan koruduğu ile ilgili çalışmalar olmama karşın Etanerceptin lokal veya sistemik uygulanması yoluyla koruyucu etkisini gösteren bir çalışma yoktur.

Deksametazonun yarı ömrü 6-8 saat olmasına karşın Etanerceptin yarı ömrünün 80 saat olması akustik travma riski bulunan kişilerde tatbikata çıkan askerler, avcılar, patlayıcılarla uğraşanlarda profilaktik amaçlı yararlanım konusunda gelecek vaat etmektedir. Bu endikasyonla kullanım için çalışmamız daha kapsamlı klinik çalışmalara yol gösterici olacaktır.

Etanerceptin iç kulakta kullanımı ile ilgili çok sınırlı sayıda çalışma olması ve çalışmamızda akustik travmadaki koruyucu etkisinin gösterilmesi bu konudaki çalışmaların artmasına katkıda bulunacağını umudumuzu güçlendirmektedir.

Sonuçlar

1. Dört kHz frekansında 120 dB sesin 40 dakika uygulanması ile akustik travma oluşmaktadır.
2. Etanercept ile deksametazon akustik travma profilaksisinde 4-6 Hz de etkili koruma sağlamaktadır. 3 ve 8kHz de daha az etkin koruma sağlamaktadır.
3. Etanercept ile deksametazon en yüksek koruyucu özelliğini 3. günde göstermektedir.

ÖZET

Etanercept ve Deksametazonun Akustik Travma Profleksisindeki Etkinliği (Hayvan Modeli)

Akustik travma kısa süreli yüksek şiddette sese maruz kalma sonucu ortaya çıkan geçici veya kalıcı işitme kaybı ile sonuçlanabilen bir durum olup gelişmiş ülkelerde işitme kayıplarının ana nedenlerindendir. Bugün bu konuda birçok tedavi ve profilaksi yöntemleri-ajanları denenmiş olsa da; etkili bir tedavi modalitesi bulunamamıştır. Bu nedenle akustik travmaya bağlı kalıcı kayıpların önlenmesine ve tedavisine yönelik çalışmalar sürmektedir.

Çalışmamızda TNF alfa reseptör blokörü olan etanercept ve deksametazonun akustik travmaya bağlı işitme kayıplarındaki profilaktik etkisi araştırıldı. Çalışmaya dahil edilen 30 rat üç eşit gruba ayrıldı. Öncelikle kontrol otoakustik emisyonları yapılarak ratların kohlear fonksiyonlarının normal olduğu teyid edildi. Birinci grup kontrol grubu, ikinci grup etanercept grubu, üçüncü grup deksametazon grubu olarak belirlendi. Birinci gruba 1 ml serum fizyolojik ip, ikinci gruba 2,5 mg etanercept (Enbrel®) ip., üçüncü gruba 1 mg/kg deksametazon (Dekort®) ip. uygulandı. Otoakustik emisyon ölçümleri yapılan tüm ratlar ses geçirmez kabin içerisinde AC 40 model odyometri cihazı (Interacoustics Co. Assens, Danimarka) kullanılarak 40 dakika süre ile, 4 kHz frekansında 120 dB saf ton sese maruz bırakıldı. Deney hayvanlarının 24. saatte, 3. günde ve 7. günde distorsiyon ürünü otoakustik emisyonları (DPOAE) ölçüldü. Çalışmamızda etanercept grubu kontrol grubuna göre 1. günde 3,4,6 kHz de istatistiksel olarak akustik travmadan anlamlı koruyucu iken, 8 kHz de korumamıştır. Bu durum 3. gün yapılan emisyon kontrollerinde bütün frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı koruyuculukta çıkmıştır. Yedinci gün kontrollerimizde 4,6,8 kHz de istatistiksel olarak anlamlı koruyuculuğu devam ederken, 3 kHz de koruyucu bulunmamıştır. Deksametazon grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; 1. günde 4 ve 6 kHz de istatistiksel olarak akustik travmadan anlamlı olarak korur iken, 3 ve 8 kHz de korumamıştır. Bu durum 3. gün yapılan emisyon kontrollerinde bütün frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı koruyuculukta çıkmıştır. Yedinci gün kontrollerimizde 4 ve 6 kHz de istatistiksel olarak anlamlı koruyuculuğu devam ederken, 3 ve 8 kHz de koruyucu bulunmamıştır. Etanercept ve deksametazon grupları karşılaştırıldığında ise bütün günlerde ve bütün frekanslarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Etanercept ve deksametazon aynı kaskadın farklı aşamalarından etki etmekle beraber, akustik travmadan koruyucu özellikleri büyük benzerlik göstermektedir. Her ikisi de en etkin koruyucu özelliklerini en çok etkilenen işitme aralığında 4-6 kHz de göstermektedir. Etanerceptin iç kulakta kullanımı ile ilgili çok sınırlı sayıda çalışma olması ve çalışmamızda akustik travmada ki koruyucu etkisinin gösterilmesi bu konudaki çalışmaların artmasına katkıda bulunacağını umudumuzu güçlendirmektedir.

Anahtar kelimeler: Akustik travma, etanercept, deksametazon

SUMMARY

The Effectiveness of Etanercept and Dexamethasone for the Prophylaxis of Acoustic Trauma (Experimental Model)

Acoustic trauma is a situation resulting from short term high intensity sound exposure and may results in either temporary or permanent hearing loss. It is also one of the main causes of hearing losses in the developed countries. Though many treatments and prevention methods-agents on this topic are now a days tried, an effective treatment modality couldn't be found. Therefore, studies for the prevention and treatment based on the permanent losses due to acoustic trauma are heging on. The prophylactic effects of etanercept, that is a TNF alpha receptor bloker, and dexamethasone on the acoustic trauma were investigated. Thirty rats included in this study were equally divided into three groups. Initially, cochlear functions of the rats were proved to be normal by measuring otoacoustic emmissions. The first, second and third groups were determined as control, etanercept and dexamethasone groups respectively. The first, second and third groups were intraperitoneally administered 1 mL isotonik saline, 2,5 mg etanercept (Enbrel®) and 1 mg/kg dexamethasone (Dekort®), respectively. All the rats with normal otoacoustic measurement results were exposed to pure tone sound with the 4 kHz frequency and 120 dB intensity by an audiometry device of AC 40 model (Interacoustics Co. Assens, Denmark) within a sound proof cabin. Distortion product otoacoustic emissions (DPOAE) of experimental animals were measured at 24th hour, 3rd and 7th days. In our study, etanercept group was found to be protected from acoustic trauma in 3, 4, 6 kHz frequencies but not from in 8 kHz frequency at 1st day measurement. However, third day emission measurement resulted in statistically significant protectivity in all frequencies. Our seventh day inspections demonstrated statistically significant protectivity of etanercept at 4, 6, 8 kHz frequencies, while not protective at 3 kHz. When the dexamethasone group was compared to control group, dexamethasone was found to have statistically significant protective function against acoustic trauma in first day, at 4 and 6 kHz, but not at 3 and 8 kHz frequencies. Statistically significant protectivity was obtained in third day emissions at all frequencies. In our seventh day of inspection, statistically significant protection was continous at 4 and 6 khz, but not at 3 and 8 kHz frequencies. When etanercept and dexamethasone groups were compared to each other, statistically significant difference was determined at all frequencies in all days. Although etanercept and dexamethasone have effects on different levels of the same cascade, their protective properties against the acoustic trauma have great similarities. Both of them demonstrate their protective effects at range of 4-6 kHz frequencies, which are the most effected hearing range. Limited number of studies related with the use of etanercept in the inner ear and the experience of protective effect of it on the acoustic trauma strengthens our hope for the increase in the number of studies about this issue.

Key Words: Acoustic trauma, etanercept, dexamethasone.

KAYNAKLAR

1. Ahn JH, Kang HH, Kim YJ, Chung JW. Anti-apoptotic role of retinoic acid in the inner ear of noise-exposed mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;335(2):485-90.
2. Lynch ED, Kil J. Compounds for the prevention and treatment of noise-induced hearing loss. *Drug Discov Today* 2005;10(19):1291-8.
3. Sato H, Takahashi H, Honjo I. Transtympanic iontophoresis of dexamethasone and fosfomycin. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1988;114(5):531-3.
4. Kopke RD, Hoffer ME, Wester D, O'Leary MJ, Jackson RL. Target topical steroid therapy in sudden sensorineural hearing loss. *Otol Neurotol*. 2001;22(4):475-9.
5. Sennaroglu L, Dini FM, Sennaroglu G, Gursel B, Ozkan S. Transtympanic dexamethasone application in Meniere's disease: an alternative treatment for intractable vertigo. *J Laryngol Otol* 1999;113(3):217-21.
6. Ohlemiller KK, Wright JS, Dugan LL. Early elevation of cochlear reactive oxygen species following noise exposure. *Audiol Neurotol*. 1999; 4(5), 229–36.
7. Hu BH, Guo W, Wang PY, Henderson D, Jiang SC. Intense noise-induced apoptosis in hair cells of guinea pig cochleae. *Acta Otolaryngol*. 2000; 120 (1):19–24.
8. Nicotera TM, Henderson D, Hu, BH, Zheng XY. Noise exposure and mechanisms of hair cell death. In: Henderson, D., Prasher, D., Kopke, R., Salvi, R.J., Hamernik, R.P., (Eds.), *Noise Induced Hearing Loss: Basic Mechanisms, Prevention and Control*, 1st ed. London. Noise Res. Network Publications. 2001; 99-117.
9. Wang J, Dib M, Lenoir M, Vago P, Eybalin M, Hameg A, Pujol R, Puel J. Riluzole rescues cochlear sensory cells from acoustic trauma in the guinea-pig. *Neuroscience* 2002; 111(3):635–48.
10. Ylikoski J, Xing-Qun L, Virkkala J, Pirvola U. Blockade of c-Jun N-terminal kinase pathway attenuates gentamicin-induced cochlear and vestibular hair cell death. *Hear Res*. 2002;166 (1-2):33–43.
11. Niu X, Shao R, Canlon B. Suppression of apoptosis occurs in the cochlea by sound conditioning. *Neuroreport*. 2003; 14(7):1025–29.
12. Shibuya H, Kato Y, Saito M, Isobe T, Tsuboi R, Koga M, Toyota H, Mizuguchi J. Induction of apoptosis and/or necrosis following exposure to antitumour agents in a melanoma cell line, probably through modulation of Bcl-2 family proteins. *Melanoma Res*. 2003; 13(5):457–64.
13. Han W, Shi X, Nuttall AL. AIF and endoG translocation in noise exposure induced hair cell death. *Hear Res*. 2006; 211(1-2):85–95.
14. Bohne BA, Harding GW, Lee SC. Death pathways in noisedamaged outer hair cells. *Hear Res*. 2007; 223(1-2):61–70.
15. Hu BH, Henderson D, Nicotera TM. Involvement of apoptosis in progression of cochlear lesion following exposure to intense noise. *Hear Res*. 2002;166(1-2):62–71
16. Yang WP, Henderson D, Hu BH, Nicotera TM. Quantitative analysis of apoptotic and necrotic outer hair cells after exposure to different levels of continuous noise. *Hear Res*. 2004;196(1-2):69–76.
17. Hirose K, Discolo CM, Keasler JR, Ransohoff R. Mononuclear phagocytes migrate into the murine cochlea after acoustic trauma. *J Comp Neurol*. 2005;489(2):180–94.

18. Fujioka, M, Kansaki, S, Okano, HJ, Masuda, M, Ogawa, K, Okano, H. Proinflammatory cytokines expression in noise-induced damaged cochlea. *J Neurosci. Res.* 2006;83(4):575–83.
19. Aminpour S, Tinling SP, Brodie HA. Role of tumor necrosis factor- α in sensorineural hearing loss after bacterial meningitis. *Otol Neurotol* 2005;26(4):602–9.
20. Zou J, Pyykkö I, Sutinen P, Toppila E. Vibration induced hearing loss in guinea pig cochlea: expression of TNF α and VEGF. *Hear Res.* 2005;202(1–2):13–20.
21. So H, Kim HJ, Lee JH, et al. R. Cisplatin cytotoxicity of auditory cells requires secretions of proinflammatory cytokines via activation of ERK and NF κ B. *ARO.* 2007;8(3):338–55.
22. Wang J, Ruel J, Ladrech S, Bonny C, Van De Water TR, Puel JL. Inhibition of the c-Jun-N-terminal kinase-mediated mitochondrial cell death pathway restores auditory function in soundexposed animals. *Mol Pharmacol.* 2007;71(3):654–66.
23. Van Wijk F, Staecker H, Keithley E, Lefebvre PP. Local perfusion of the tumor necrosis factor α blocker infliximab to the inner ear improves autoimmune neurosensory hearing loss. *Audiol Neurotol* 2006;11(6):357–65.
24. Cohen S, Shoup A, Weisman MH, Harris J. Etanercept treatment for autoimmune inner ear disease: results of a pilot placebocontrolled study. *Otol Neurotol.* 2005;26(5):903–7.
25. Matteson EL, Choi HK, Poe DS, et al. Etanercept therapy for immune-mediated cochleovestibular disorders: a multi-center, open-label, pilot study. *Arthritis Rheum.* 2005;53(3):337–42.
26. Rahman MU, Poe DS, Choi HK. Etanercept therapy for immunemediated cochleovestibular disorders: preliminary results in a pilot study. *Otol Neurotol* 2001;22(5):619–24
27. Dinh CT, S. Haake, S. Chen, K. Hoang, E. Nong, A. A. Eshraghi, T. J. Balkany. Dexamethasone protects organ of corti explants against tumor necrosis factor- α -induced loss of Auditory hair cells and alters the expression levels of apoptosis-related genes. *Neuroscience.* 2008;157(2):405–13.
28. Udo, KM, Pereda-Fernandez, C, Manderscheid, M, Pfeilschifter, J. Dexamethasone inhibits TNF- α -induced apoptosis and IAP protein down regulation in MCF-7 cells. *Br J Pharmacol.* 2001;133(4):467–76.
29. Akyıldız AN. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 1, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998; 3–21.
30. Aslan A. Kulak Anatomisi. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları. Koç C. Ankara: Güneş Kitabevi, 2004; 45–62.
31. Peter AS, Patrizia M. Kohlear Anatomi ve Santral İşitme Yolları. Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi. Cummings CW. Cilt 4, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2007;3373–98.
32. Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Cilt 1. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi. 2002, 1–87.
33. Abbas PJ, Miller CA, Physiology of the auditory system. In Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE, editors. *Otolaryngology Head & Neck Surgery.* 3rd ed. St. Louis: Mosby-Year Book; 1998; 2831–74.

34. Bluestone CD. Physiology of the middle ear and eustachian tube. In: Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhpff WL, editors. Otolaryngology. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1991;163–97.
35. Brenda L, Lonsbury-Martin, Martin GK, Luebke AE. İşitme ve vestibüler sistemlerin fizyolojisi. In Ballenger JJ, Snow JB, editors. Senocak D, çev. ed. Otolaringoloji Baş Boyun cerrahisi. 15. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1996;879–929.
36. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. 12th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2011; 633-9.
37. Lee KJ. Anatomy of the ear. Essential Otolaryngology. Connecticut: Appleton&Lange Company; 1999;1-24.
38. Judkins RF, Li H. Surgical anatomy of the rat middle ear. Otolaryngol Head Neck Surg 1997;117(5):438–47.
39. Çelik O, Şerbetçioğlu B. Otoloji ve nörootolojide öykü, muayene ve değerlendirme. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş boyun Cerrahisi. Çelik O. Cilt 2, 2. Baskı, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2007; 1-35.
40. Aydan G, Belgin E. Temel Odyoloji. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları. Koç C. Ankara: Güneş Kitabevi, 2004; 73-88.
41. Dağlı AŞ. Distortion product otoakustik emisyonlar (Uyarı/cevap eğrileri). K.B.B. ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi. 1996; 4 (2):140-2.
42. Özturan O, Lew H, Jerger J. Otoakustik emisyonlar ve klinik uygulamaları. KBB İhtisas Dergisi. 1994; 2(2):194-205.
43. Hatzopoulos S, Petruccelli J, Laurell G, Finesso M, Martini A. Evaluation of anesthesia effects in a rat animal model using otoacoustic emission protocols. Hear Res. 2002;170(1-2):12-21.
44. Lonsbory-Martin BL, Martin G. A review of otoacoustic emissions. J Acoust Soc Am. 1991; 89(5):2027-67.
45. Oysu Ç, Külekçi M, Kavak L. Kontralateral akustik uyarının spontan otoakustik emisyonlar üzerine etkileri. Türk Otolarengoloji Arsivi. 2001;39(2):96-101.
46. Martin GK, Probst R, Lonsbury-Martin BL. Otoacoustic emissions in human ears: Normative Findings. Ear Hear. 1990;11(2):106-20.
47. Ferber-Viart C, Preckel MP, Dubreuil C, Bannissillon V, Duclaux R. Effect of anesthesia on transient evoked otoacoustic emissions in humans: a comparison between propofol and isoflurane. Hear Res. 1998;121(1-2):53-61.
48. Gates GA, Mills D, Nam BH, D'Agostino R, Rubel EW. Effects of age on the distortion product otoacoustic emission growth functions. Hear Res 2002;163(1-2):53-60.
49. Kemp DT, Brown MB. Ear canal acoustic and round window electrical correlates of $2f_1$ - f_2 distortion generated in the cochlea. Hear Res 1984; 13(1):39-46 .
50. Lonsbory-Martin BL, Harris FB, Stagner BB, Hawkins MD; Martin GK. Distortion product otoacoustic emissions in human. II. relations to acoustic immittance and stimulus frequency and spontaneous emissions in normally hearing subjects. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1990;147:15–29.
51. Neely ST, Johnson TA, Kopun J, Dierking DM, Gorga MP. Distortion-product otoacoustic emission input/output characteristics in normal-hearing and hearing-impaired human ears. J Acoust Soc Am. 2009;126(2):728-38.

52. Bonfils P, Avan P, Francois M, Trotoux J, Narcy P. Distortion-product otoacoustic emissions in neonates: normative data. *Acta Otolaryngol.* 1992;112(5):739-44.
53. Apaydın F, Ege Y, Günhan Ö, Bilgen V. Otoakustik emisyonlarda ilk uygulamalarımız. *Türk Otolarengoloji Arşivi.* 1995; 33: 267-72.
54. Fabiani M. Evoked otoacoustic emissions in the study of adult sensorineural hearing loss. *Br J Audiol.* 1993;27(2):131-7.
55. Erdem T, Apaydın F, Miman MC, Aydın GK. Effüzyonlu otitis media takibinde otoakustik emisyonlar. *K.B.B. ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi.* 1998; 6 (2): 47-50.
56. Clarke PG. Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms. *Anat Embryol (Berl).* 1990;181(3):195-213.
57. Kerr JF. Shrinkage necrosis: a distinct mode of cellular death. *J Pathol.* 1971; 105(1):13-20.
58. Schweichel JU, Merker HJ. The morphology of various types of cell death in prenatal tissues. *Teratology.* 1973;7(3):253-66.
59. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell.* 2001;104(4):487-501.
60. Balkwill F. Tumour necrosis factor and cancer. *Nat Rev Cancer* 2009; 9(5):361-71.
61. Wilson NS, Dixit V, Ashkenazi A. Death receptor signal transducers: nodes of coordination in immune signaling networks. *Nat Immunol.* 2009;10(4):348-55.
62. Johnstone RW, Frew AJ, Smyth MJ. The TRAIL apoptotic pathway in cancer onset, progression and therapy. *Nat Rev Cancer.* 2008;8(10):782-98.
63. Khvoles R, Freeman S, Sohmer H. Transient evoked otoacoustic emissions in laboratory animals. *Audiology.* 1999;38(3): 121-6.
64. Hatzopoulos S, Stefano DM, Campbell KCM, Falgione D, Ricci D, Rosignoli M. Cisplatin ototoxicity in the sprague dawley rat evaluated by distortion product otoacoustic emissions. *Audiology.* 2001; 40(5): 253-64.
65. Fetoni AR, Ferraresi A, Greca CL, Rizzo D, Sergi B, Tringali G, et al. Antioxidant protection against acoustic trauma by coadministration of idebenone and vitamin E. *Neuroreport.* 2008;19(3):277-81.
66. Choi CH, Chen K, Vasquez-Weldon A, Jackson RL, Floyd RA, Kopke RD. Effectiveness of 4-hydroxy phenyl N-tert-butyl nitrone (4-OHPBN) alone and in combination with other antioxidant drugs in the treatment of acute acoustic trauma in chinchilla. *Free Radic Biol Med.* 2008;44(9):1772-84.
67. Fetoni AR, M Ralli, B Sergi, C Parrilla, D Troiani, G Paludetti. Protective effects of N-acetylcysteine on noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Acta Otorhinolaryngol.* 2009; 29(2): 70-5.
68. Duan M, Qiu J, Laurell G, Olofsson A, Counter SA, Borg E. Dose and time-dependent protection of the antioxidant N-L-acetylcysteine against impulse noise trauma. *Hear Res.* 2004;192(1-2):1-9.
69. Abaamrane L, Raffina F, Galb M, Avanc P, Sendowskia I. Long-term administration of magnesium after acoustic trauma caused by gunshot noise in guinea pigs. *Hear Res.* 2008; 247 (2):137-45.

70. Kuokkanen J, Aarnisolo AA, Ylikoski J. Efficiency of hyperbaric oxygen therapy in experimental acute acoustic trauma from firearms. *Acta Otolaryngol Suppl.* 2000;543:132-4.
71. 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.
72. Yamane H, Nakai Y, Takayama M, Konishi K, Iguchi H, Nakagawa T, et al. The emergence of free radicals after acoustic trauma and strial blood flow. *Acta Otolaryngol Suppl.* 1995;519, 87-92.
73. Ohinata Y, Miller J. M, Altschuler R. A, Schacht J. Intense noise induces formation of vasoactive lipid peroxidation products in the cochlea. *Brain Res.* 2000; 878(1-2):163-73.
74. Ohinata Y, Yamasoba T, Schacht J, Miller J. M. Glutathione limits noise-induced hearing loss. *Hear Res.* 2000; 146(1-2):28-34.
75. Ohinata Y, Miller JM, Schacht J. Protection from noise-induced lipid peroxidation and hair cell loss in the cochlea. *Brain Res.* 2003;966(2):265-73.
76. Le Prell CG, Hughes LF, Miller JM. Free radical scavengers vitamins A, C, and E plus magnesium reduce noise trauma. *Free Radic Biol Med.* 2007;42(9):1454-63.
77. Nuttal AL. Sound-induced cochlear ischemia/hypoxia as a mechanism of hearing loss. *Noise Health.* 1999; 2(5):17-31.
78. Fischer U, Schulze-Osthoff K. Apoptosis-based therapies and drug targets. *Cell Death Differ.* 2005;12(1):942-61.
79. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol.* 2007; 35(4):495-516.
80. Yasuhara S, Asai A, Sahani N, Martyn JAJ. Mitochondria, endoplasmic reticulum, and alternative pathways of cell death in critical illness. *Crit Care Med.* 2007;35(9):488-95.
81. Hail N Jr, Carter BZ, Konopleva M, Andreeff M. Apoptosis effector mechanisms: a requiem performed in different keys. *Apoptosis.* 2006;11(6):889-904.
82. Falschlehner C, Emmerich CH, Gerlach B, Walczak H. TRAIL signaling: decisions between life and death. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(7-8):1462-75.
83. Wooley PH, Dutcher J, Widmer MB, Gillis S. Influence of a recombinant human soluble tumor necrosis factor receptor Fc fusion protein on type II collagen-induced arthritis in mice. *J Immunol.* 1993;151(11):6602-7.
84. Brennan FM, Chantry D, Jackson A, Maini R, Feldmann M. Inhibitory effect of TNF alpha antibodies on synovial cell interleukin-1 production in rheumatoid arthritis. *Lancet.* 1989;2(8657):244-7.
85. Mohler KM, Torrance DS, Smith CA, Goodwin RG, Stremmler KE, Fung VP, et al. Soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors are effective therapeutic agents in lethal endotoxemia and function simultaneously as both TNF carriers and TNF antagonists. *J Immunol.* 1993;151(3):1548-61.
86. Zhang HH, Kumar S, Barnett AH, Eggo MC. Dexamethasone inhibits tumor necrosis factor alpha induced apoptosis and interleukin- β release in human subcutaneous adipocytes and preadipocytes. *Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86(6):2817-25.
87. Melcangi RC, Cavarretta I, Magnaghi V, Ciusani E, Salmaggi A. Corticosteroids protect oligodendrocytes from cytokine-induced cell death. *Neuroreport.* 2000;11(18):3969-72.

88. Eshraghi AA, Adil E, He J, Graves R, Balkany TJ, Van De Water TR. Local dexamethasone therapy conserves hearing in an animal model of electrode insertion trauma-induced hearing loss. *Otol Neurotol*. 2007;28(6):842–9.