

T.C.
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı

**HESPERİDİNİN AKUSTİK TRAVMAYA
BAĞLI İŞİTME KAYBINDA RATLARIN
KOKLEASI ÜZERİNE OLAN OLASI
ETKİNLİĞİNİN ELEKTROFİZYOLOJİK VE
HİSTOPATOLOJİK OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Atahan AĞRILI

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Korhan KILIÇ

ERZURUM-2019

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

TIPTA UZMANLIK TEZ SAVUNMA TUTANAĞI

İLGİ: 03.01.2019 tarih ve 1900001807 sayılı yazınız.

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı tıpta uzmanlık öğrencisi Arş. Gör. Dr. Atahan AĞRILI'nın **"Hesperidinin Akustik Travmaya Bağlı İşitme Kaybında Ratların Kohleası Üzerine Olan Olası Etkinliğinin Elektrofizyolojik ve Histopatolojik Olarak Araştırılması"** konulu tezini incelemek üzere tez jürisi 08.01.2019 tarihinde toplanmış ve ilgili tez öğrencisinin tez savunmasını almıştır.

Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunmasının tamamlanması sonucunda adı geçen tezi jüri üyelerince oy birliği ile kabul edilmiştir.

Bilgilerinize arz ederiz.08.01.2019

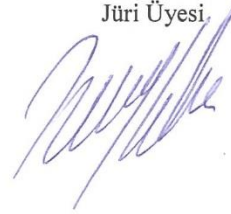


Prof. Dr. Bülent AKTAN
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları Öğr. Üyesi
Jüri Başkanı

Dr. Öğr. Üyesi Ertuğrul ERHAN
Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları Öğr. Üyesi
Jüri Üyesi



Dr. Öğr. Üyesi Korhan KILIÇ
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kulak, Burun ve Boğaz Hastalıkları Öğr. Üyesi
Jüri Üyesi



İÇİNDEKİLER

TABLolar DİZİNİ	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	IV
KISATMALAR DİZİNİ	V
TEŞEKKÜR	VII
ÖZET.....	VIII
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kulak Anatomisi	3
2.1.1. Dış Kulak	3
2.1.2. Orta Kulak.....	3
2.1.3. İç Kulak.....	3
2.2. İşitme.....	5
2.2.1. Ses Dalgası.....	5
2.2.2. Hava Yolu ile İşitme	5
2.2.3. Kemik Yolu ile İşitme.....	5
2.2.4. Koklea Fizyolojisi	5
2.2.5. İşitme Fizyolojisi.....	6
2.3. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı	7
2.4. Otoakustik Emisyon	8
2.4.1. Spontan Otoakustik Emisyonlar (SOAE).....	9
2.4.2. Geçici Olarak Uyarılan Otoakustik Emisyonlar (TEOAE).....	9
2.4.3. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyonlar (DPOAE).....	10
2.5. Hesperidin	10
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	12
3.1. Çalışma Grupları	13
3.2. Ratlarda Anestezi Uygulama Protokolü.....	14
3.3. İlaç Uygulama Protokolü	15
3.4. Gürültü Protokolü	15
3.5. DPOAE Testi	16

3.6. Ratların Bilateral Koklealarının Eksizyonu	18
3.7. Histopatolojik İnceleme	19
3.8. İstatiksel Analiz.....	19
4. BULGULAR.....	20
4.1. DPOAE Bulguları	20
4.2. Histopatolojik Bulgular	26
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	42
7. KAYNAKLAR	43



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Çalışmamızda oluşturduğumuz gruplar	13
Tablo 2. Koklea dokularında histopatolojik bulgular.....	26



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Hesperidinin moleküler yapısı.....	10
Şekil 2. Genel anestezi altında otoakustik emisyon ölçümü.....	13
Şekil 3. Kullanılan hesperidin.....	14
Şekil 4. Orogastrik gavaj yoluyla ilaç uygulama.....	15
Şekil 5. Ratlara gürültü izolasyonu sağlanan kabinde 12 saat boyunca beyaz gürültü verilmesi.....	16
Şekil 6. Madsen Capella 2 (GN Otometrics, Danimarka) OAE ölçüm cihazı ve yenidoğan probu.....	17
Şekil 7. DPOAE ölçümünün bilgisayar ortamına aktarılması	18
Şekil 8. Ratların baş kısmının eksizyonu.....	18
Şekil 9. 2002 Hz frekansta DPOAE değerleri	21
Şekil 10. 2383 Hz frekansta DPOAE değerleri	21
Şekil 11. 2832 Hz frekansta DPOAE değerleri	22
Şekil 12. 3359 Hz frekansta DPOAE değerleri	22
Şekil 13. 4004 Hz frekansta DPOAE değerleri	23
Şekil 14. 4756 Hz frekansta DPOAE değerleri	23
Şekil 15. 5654 Hz frekansta DPOAE değerleri	24
Şekil 16. 6729 Hz frekansta DPOAE değerleri	24
Şekil 17. 7998 Hz frekansta DPOAE değerleri	25
Şekil 18. 9558 Hz frekansta DPOAE değerleri	25
Şekil 19. Kontrol grubunun histopatolojisi.....	27
Şekil 20. Hesperidin grubunun histopatolojisi.....	27
Şekil 21. Akustik travma grubunun histopatolojisi	28
Şekil 22. Akustik travma + hesperidin grubunun histopatolojisi.....	28

KISATMALAR DİZİNİ

ABR	: <i>Auditory Brainstem Response</i> (İşitsel Beyinsapı Davranımı)
ACAT	: Açıl-CoA Kolesterol Açıl Transferaz
ADP	: Adenozin Difosfat
ALA	: Alfa-Lipoik Asit
AT	: Akustik Travma
ATRA	: All-Trans Retinoik Asid
BDNF	: <i>Brain Derived Neurotrophic Factor</i> (Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör)
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CoQ10	: Koenzim Q10
COX	: Siklooksijenaz
dB	: Desibel
DEN	: Dietilnitrozamin
DKY	: Dış Kulak Yolu
DMBA	: 7,12-Dimetilbenz(a)antrasen
DPOAE	: <i>Distortion Product Otoacoustic Emission</i> (Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyon)
EOAE	: <i>Evoked Otoacoustic Emission</i> (Uyarılmış Otoakustik Emisyon)
Fe-NTA	: Demir-Nitritotriasetat
GBİK	: Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı
GDNF	: <i>Glial cell line Derived Neurotrophic Factor</i> (Glial Hücre Soyundan Türetilmiş Nörotrofik Faktör)
GSH	: Glutasyon
HADYEK	: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HE	: Hematoksilen-Eozin
HMGCoA	: 3-Hidroksi-3-Metil-Glutaril-CoA
Hz	: Hertz
İ.p.	: İntraperitoneal

JNK	: Jun-N-terminal kinaz
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
mRNA	: Mesajcı Ribo Nükleik Asit
NAC	: N-Asetil Sistein
NADPH	: Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fostat
NNK	: 4-(Metilnitrozamino)-1-(3-Piridil)-1-Bütanon
NO	: Nitrik Oksit
NQO	: Nitrokinolin 1-Oksit
NT-3	: Nörotrofik Faktör-3
OAE	: Otoakustik Emisyon
OH-BBN	: N-Bütil-N-(4-Hidroksibütil)-Nitrozamin
PGE2	: Prostaglandin E2
PGF2a	: Prostaglandin F2a
PPAR-γ	: Peroksizom Proliferatör-Aktive Reseptör-Gamma
PTS	: <i>Permenant Threshold Shift</i> (Kalıcı Eşik Kayması)
Q ter	: Koenzim Q10-terclatrate
RAS	: Renin Anjiotensin Sistemi
SNİK	: Sensörinöral İşitme Kaybı
SNR	: <i>Signal to Noise Ratio</i> (Sinyal Gürültü Oranı)
SOAE	: <i>Spontaneus Otoacoustic Emissions</i> (Spontan Otoakustik Emisyonlar)
SOK	: Süperior Olivar Kompleks
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
SPL	: Sound Pressure Level
TEOAE	: <i>Transient Evoked Otoacoustic Emission</i> (Geçici Olarak Uyarılan Otoakustik Emisyon)
TTS	: <i>Temporary Treshold Shift</i> (Geçici Eşik Kayması)
TXA2	: Tromboksan A2

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve becerilerini aktaran ve yetişmemizde büyük katkıları olan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Bülent AKTAN'a, Prof. Dr. Harun ÜÇÜNCÜ'ye, Prof. Dr. Özgür YÖRÜK'e, Doç. Dr. Arzu TATAR'a, Dr. Öğr. Üyesi Vahit MUTLU'ya, Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Sıtkı GÖZELER'e ve Dr. Öğr. Üyesi Zülküf KAYA'ya,

Tez konumun ortaya çıkışında ve gerçekleştirilmesinde büyük katkısı olan, desteğini esirgemeyen çok değerli tez hocam Dr. Öğr. Üyesi Korhan KILIÇ'a,

Tezimin her aşamasında yardımını esirgemeyen ve tezimde emeği olan çok değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi M. Sedat SAKAT'a,

Tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Serkan YILDIRIM'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Asistanlığım boyunca çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, kliniğimizin değerli hemşire, sekreter, odyometrist ve personellerine şükranlarımı sunarım.

Hayatımın her anında yanımda hissettiğim ve bu günüme gelmemde sonsuz emeği olan sevgili anne ve babam Ayşegül-Atilla AĞRILI'ya ve beni her zaman destekleyen kardeşlerim Refia Anıl-Atacan AĞRILI'ya

Bana her zaman gösterdiği anlayış ve sabırla desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşim Dt. Cansu Şeyma AĞRILI'ya

Ve tezimin fikir aşamasından bitişine kadar tüm aşamalarını annesinin karnında takip eden ve tezimi bitirmemle dünyaya gelerek yaşamımıza anlam katan biricik kızım Defne AĞRILI'ya sonsuz teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

Dr. Atahan AĞRILI

ÖZET

Hesperidinin Akustik Travmaya Bağlı İşitme Kaybında Ratların Kokleası Üzerine Olan Olası Etkinliğinin Elektrofizyolojik Ve Histopatolojik Olarak Araştırılması

Amaç: Gürültüye bağlı işitme kaybı (GBİK), sanayinin gelişmesi ve nüfusun artmasına bağlı olarak birçok insanın gürültülüye maruz kalması sonucu dünya çapında oldukça sık görülen ve görülme sıklığı giderek artan meslek hastalıklarından biri haline gelmiştir. Hastalık yaşam kalitesini önemli derecede azalttığından ve gürültüden korunma her zaman mümkün olmadığından, koruyucu ve tedavi edici birçok farmakolojik ajan üzerinde çalışma yapılmıştır. Tedavi maliyetleri minimal, uygulaması kolay ve olası yan etkileri az olan uygun bir farmakolojik ajanın bulunabilmesi için klinik öncesi ve sonrası çalışmalar devam etmektedir. Biz de çalışmamızda, akustik travmaya (AT) maruz bıraktığımız ratlarda görülen işitme kaybına karşı hesperidinin koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık.

Yöntem: Çalışmamızda 28 adet dişi, sprague dawley cinsi rat kullanıldı. Çalışma öncesi tüm ratlara distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE) ölçümleri uygulandı. DPOAE ölçümleri normal saptanan ratlar randomize olarak her grupta yedişer rat olacak şekilde dört gruba ayrıldı. Grup 1 kontrol grubu olarak değerlendirildi. Grup 2 sadece hesperidin alan grup, grup 3 sadece akustik travma alan grup, grup 4 ise akustik travma ve hesperidin alan grup olarak değerlendirildi. Grup 3 ve 4, ses izolasyonu sağlanan kabinde 4 kHz 110 dB Sound Pressure Level (SPL) şiddetinde serbest ortamda 12 saat boyunca beyaz gürültüye maruz bırakılarak akustik travma modeli oluşturuldu. Grup 4'e AT'den önce üç doz ve AT'den sonra iki doz olacak şekilde; grup 2 ve grup 4'e toplam beş gün boyunca oral gavaj yolu ile günde tek sefer 100 mg/kg dozunda hesperidin verildi. Çalışmanın altıncı gününde, genel anestezi altında DPOAE ölçümleri yapılan 28 rat kurbanı edilip baş kısımları çıkarılarak kokleaları histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular: Grup 1 ve 2'deki ratların histopatolojik ve fizyolojik bulguları arasında herhangi bir farklılık izlenmedi. Bu durum hesperidinin ratlar tarafından iyi tolere edildiğini göstermektedir. Grup 3'teki ratların DPOAE bulgularında çalışılan

tüm frekanslarda SNR (*Signal to Noise Ratio*) değerlerinde anlamlı düşme olduğu, histopatolojik olarak da dış tüy hücrelerinde şiddetli düzeyde azalma ile birlikte dejeneratif ve nekrotik hasarlar tespit edildi. Bu durum akustik travmanın oluştuğunu göstermektedir. Grup 4'teki ratlarda ise SNR değerlerinin tüm frekanslarda Grup 3'tekilere göre anlamlı derecede yüksek olduğu, histopatolojik olarak da dış tüy hücrelerinde orta derecede azalma ve spiral ganglion hücrelerinde hafif düzeyde dejenerasyon olduğu izlendi. Bu durum hesperidin uygulamasının akustik travmanın fizyolojik ve histopatolojik etkilerine karşı koruyucu etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Sonuç: Hesperidin, AT'ye bağlı işitme kaybı olan ratlar üzerinde elektrofizyolojik ve histopatolojik olarak belirgin düzelme sağlamıştır. Bu etkileri ile hesperidin, AT'ye bağlı işitme kaybı profilaksisi ve tedavisi için yararlı olabilecek bir antioksidan ajandır.

Anahtar kelimeler: Hesperidin, Akustik travma, İşitme kaybı

ABSTRACT

Electrophysiological and Histopathological Investigation of the Possible Effect of Hesperidine on the Cochlea of Rats in Acoustic Trauma-Induced Hearing Loss

Objective: Noise-induced hearing loss (NIHL) has become one of the most common occupational diseases worldwide due to the increase in noise exposure of people caused by the development of the industry and the increase in population. As the disease significantly affects quality of life and protection against noise is not always possible, many protective and therapeutic pharmacological agents have been studied. To find out the most appropriate agent with minimal treatment cost, easy to apply and lesser side effects, pre- and post-clinical studies continue. In our study, we aimed to investigate the protective effect of hesperidine against hearing loss in rats exposed to acoustic trauma (AT).

Methods: Twenty-eight female, sprague dawley rats were used for our study. All rats underwent Distorsion product otoacoustic emission test before the study. The rats with normal DPOAE test were randomly divided into 4 group with 7 rats each. Group 1 was considered as Control Group. Group 2 was considered as Hesperidin Group, Group 3 was Acoustic Trauma Group and Group 4 was Acoustic Trauma+Hesperidin Group. Acoustic trauma model was established to rats in group 3 and 4 with 12 hours exposure to 4 kHz, 120 dB SPL white noise in a sound protected room. Hesperidin was administered to rats in group 4, started 3 days before the noise exposure and continued for 5 days. Group 2 also received hesperidine for five consecutive days at a dose of 100 mg/kg/day by oral gavage route. At the sixth day of the study, DPOAE test was repeated and all rats were sacrificed, the cochleas were removed for histopathological examination.

Results: There was no significant difference between Group 1 and 2 in terms of DPOAE results and histopathologic findings. This shows that, hesperidine was well tolerated by rats. A significant decrease was observed in SNR (Signal to Noise Ratio) values in all studied frequencies in the DPOAE results of rats from Group 3. Also a severe decrease in number of outer hair cells together with degeneration and

necrosis were observed at histopathologic evaluation. This shows, acoustic trauma model was formed. The SNR values of Group 4 was significantly higher than those of Group 3 at all studied frequencies. Also there were moderate decrease in number of outer hair cells and mild degeneration in spiral ganglia cells. These findings mean that, hesperidine showed a protection against acoustic trauma in terms of physiological and histopathological findings.

Conclusion: Hesperidine provided a significant physiological and histopathological protection against acoustic trauma induced hearing loss in rats. With this effects, hesperidine is an antioxidant agent which can be beneficial for protection and treatment of noise induced hearing loss.

Keywords: Hesperidine, Acoustic trauma, Hearing loss

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya nüfusu ve sanayileşmenin gittikçe artmasına bağlı olarak bireyler gürültülü ortamda çalışmakta ve yüksek sese maruz kalmaktadır. Bu bireylerde gürültüye bağlı işitme kaybı (GBİK) meydana gelmekte ve GBİK dünya genelinde işitme kayıplarının önemli bir kısmını oluşturmaktadır.

Son 40 yıl içerisinde iş yerlerinde aşırı gürültüyü azaltmak için ciddi çabalar başlatılmış ve birçok hükümet tarafından düzenlemeler getirilmiştir (1). Her ne kadar koruyucu önlemler alınsa da bunlar yeterli olmamakta ve gürültüye maruziyet sonucu iç kulakta hasar görülmektedir.

Akustik travma (AT) sonucu koklear duktusun dış duvarındaki stria vaskulariste kan akımının büyük ölçüde azaldığı ve serbest oksijen radikallerinin (SOR) ortaya çıktığı görülmüştür (2). AT sonrası bir an evvel SOR'un ortamdan uzaklaştırılması ve bozulan dolaşımın düzeltilmesi gerekmektedir. Böylelikle koklear hücrelerdeki hasarlanma en aza indirilmiş ve onarımları için erkenden gerekli destek verilmiş olacaktır. Bu nedenle AT sonrası meydana gelen işitme kayıpları tedavisi için vazodilatör ve antioksidan etkilere sahip birçok ürün araştırılmaktadır.

AT sonrası gelişen işitme kaybının tedavisinde curcumin, N-asetilsistein, magnezyum, A, C, E vitaminleri, resveratrol, ginkgo biloba, steroid ve hiperbarik oksijen tedavisinin etkinliği araştırılmıştır (3-9). Literatürde, AT sonrası gelişen işitme kaybı tedavisinde antioksidan bir madde olan hesperidin ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Hesperidini de içine alan flavonoid grubu; ikincil metabolitler olarak bitkilerde yaygın olarak dağılmış, doğal olarak oluşan, düşük moleküler ağırlıklı, antioksidan etkili polifenolik bileşiklerdir. Hesperidin ise özellikle turunçgillerde bulunan farmakolojik olarak aktif bir bioflavanoiddir (10). Hesperidinin bu özellikleri göz önüne alınarak, sisplatinin ratlarda yaptığı ototoksik etki üzerine çalışma yapılmış ve bu yan etkiye karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (11).

Çalışmamızda; AT'ye bağlı işitme kaybında antioksidan etkisi olan hesperidinin ratlardaki koruyucu etkinliği, histopatolojik olarak ve distorsiyon ürünü otoakustik emisyon (DPOAE) testi ile değerlendirildi.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kulak Anatomisi

Kulak, anatomik olarak üç kısımda incelenir.

2.1.1. Dış Kulak

Dış kulak; kulak kepçesi (aurikula) ve dış kulak yolundan meydana gelen ve kulak zarına (timpanik membran) kadar olan anatomik alandır. Kulak kepçesi, çoğunlukla kıkırdak bir yapıdan oluşur. Genel olarak dış yüzeyi konkav olup topladığı ses dalgalarını orta kulağa iletir. Dış kulak yolu, kulak zarına doğru öne ve aşağı yöne hafif S şeklinde seyreder (12, 13). Dış 1/3'lük kısmı kıl folikülleri ile serümen üreten bezleri içeren kıkırdak yapıda, iç 2/3'lük kısmı ise kemik yapıdadır (14, 15).

2.1.2. Orta Kulak

Orta kulak; iç kulak ile timpanik membran arasında bulunan bölümdür ve ses dalgalarının iç kulağa iletilmesinde rol alan malleus, inkus ve stapes isimli üç adet kemikçikten oluşur. Ayrıca östaki tüpü aracılığıyla nazofarinksle, aditus ad antrum yoluyla mastoid hücrelerle bağlantılıdır. Orta kulak, oval ve yuvarlak pencereler aracılığıyla iç kulak ile bağlantılıdır (16-18).

2.1.3. İç Kulak

İç kulak; koklea ve labirenter sistemden meydana gelmiştir. Labirenter sistem ise kemik ve membranöz labirent olarak incelenir.

Kemik labirent; anterior, posterior ve lateral olmak üzere üç kemik semisirküler kanal, koklea ve vestibulum'dan oluşmaktadır.

Vestibülün medial duvarının posterior kısmında bulunan küçük delik vestibüler akuaduktusun başlangıcıdır. Bu kanal petröz kemiğin posterior yüzüne doğru uzanarak dura altında endolenfatik kese olarak sonlanır. Akuaduktus koklea ve

vestibülü aracılığıyla kafa içi ile bağlantılıdır. Vestibül, lateral duvarında bulunan oval pencere aracılığıyla orta kulak ile ilişkidir. Buraya stapesin tabanı oturmuştur.

Kemik koklea, vestibülün önünde yerleşim gösterir. Erişkin bir insanda yaklaşık olarak 2,5 dönüşlük bir sarmal yapar. Spongiöz kemikten oluşan modiolus denilen yapının etrafında yerleşmiştir. Bu yapı kokleanın eksenini oluşturur. Tabanı ve tepesine sırasıyla basis ve kupula koklea adı verilir. Koklea içindeki spiral kanal içinde lamina spiralis ossea denen yarım bir kemik bölme vardır (12). Basiller membran adı verilen tabaka ile devam ederek karşı duvara ulaşır. Bu tabaka tarafından kanalis spiralis koklea ikiye bölünür. Üstte kalan ve vestibulumu açılan parçaya skala vestibuli, altta kalan ve fenestra koklea ile kavum timpaniye açılan parçaya skala timpani denir. Kokleanın tepesinde iki skala helikotrema deliği ile birleşir (19). Koklear sinir dalları, modiolus içerisindeki koklear siniri kanallarından geçerler.

Kemik labirent içindeki sıvıya perilenf denir. Membranöz labirent bu sıvı içerisinde bulunur. Perilenfin Na^+ konsantrasyonu yüksek, K^+ konsantrasyonu düşük olması nedeniyle içeriği ekstraselüler sıvıya benzemektedir.

Membranöz labirent ise endolenfatik sıvı içerir. Na^+ konsantrasyonu düşük, K^+ konsantrasyonu yüksek olması nedeniyle içeriği intraselüler sıvıya benzemektedir.

Membranöz labirent; utrikulus, sakkulus ve membranöz semisirküler kanallar olmak üzere üç yapıyı içerir.

Utrikulus üzerinde, semisirküler kanallara açılan delikler ile sakkulusa bağlayan duktus utrikulosakkularis bulunur. Horizontal planda denge duyusunu almayı sağlayan spesifik hücreler utrikulusun duvarında bulunur ve maküla utrikuli olarak adlandırılırken, vertikal planda denge duyusunu almayı sağlayan spesifik hücreler sakkulusun duvarında bulunur ve maküla sakkuli olarak adlandırılırlar. Sakkulus üzerinde duktus utrikulosakkularise ait delikler ile duktus koklearise bağlayan duktus reuniense ait delikler bulunur.

Membranöz semisirküler kanallar anterior, posterior ve lateral olmak üzere üç adettir ve birbirleri ile dik açı yapacak şekilde yerleşmişlerdir. Bu kanallar utrikulusun posterioruna açılırlar. Endolenfatik duktus, vestibüler akuaduktusun içinde bulunur ve utrikulus ile sakkulusa açılacak şekilde ikiye ayrılır (12, 20).

2.2. İşitme

2.2.1. Ses Dalgası

Ses; katı, sıvı ve gaz ortamlarda moleküllerin sıkışıp gevşemesi sonucu dalgalar halinde yayılan titreşim enerjisidir. Her titreşimde pozitif ve negatif iki faz meydana gelir. Frekans, saniyedeki titreşim sayısıdır ve hertz (Hz) ile ifade edilir. Amplitüd, sesin şiddetidir ve birimi desibel (dB)'dir. İnsan kulağı 20-20.000 Hz frekansındaki ve 0-120 dB şiddetindeki sesleri işitebilmektedir. En rahat dinlenen ve konuşma ses şiddeti olan 50-70 dB'dir. 120 dB üzerindeki sesler insan kulağına zararlıdır.

2.2.2. Hava Yolu ile İşitme

Dış ortamdan gelen ses dalgaları, kulak kepçesiyle toplanıp dış kulak yolunda şiddeti artırılarak kulak zarında titreşime yol açar. Kulak zarı bu titreşimleri kemikçik zincir aracılığıyla oval pencereye iletirken, yuvarlak pencereye ulaşmasını engeller. Östaki tüpü ise dış ve orta kulakta eşit düzeyde atmosfer basıncı olmasını ayarlar (21, 22).

2.2.3. Kemik Yolu ile İşitme

Kafatası kemikleri titreşince hem koklear kapsülü hem de orta kulak kemikçiklerini titreştirir. Bu yol sensörinöral işitmenin bir ölçüsüdür (21).

2.2.4. Koklea Fizyolojisi

Hem hava yolu hem de kemik yolu ile gelen ses enerjisinin kokleayı uyarma şekli ortak olup; koklear sıvıda dalgalanma yaparak basiller membranı titreştirmektir.

Kemikçik zincir aracılığıyla oval pencereye iletilen titreşimler skala vestibülü içindeki perilenfayı harekete geçirir. Kokleada bu titreşimler, korti organındaki tüy hücrelerine iletilir. Burada akustik enerji, elektrokimyasal enerjiye dönüşerek işitme sinirine iletilir (21, 23).

Kokleadaki ses dalgalarının iletilmesi konusunda birçok teori vardır. Bunlardan en geçerli olanı Bekeys'in ilerleyen dalga teorisidir. Dalga, basiller membranın bazal ucundan apikale doğru yayılır. Basiller membran apekse doğru gittikçe genişler ve gerginliği azalır. Bazal uçta yüksek frekanslı düşük amplitüdlü dalgalar görülürken kokleanın tepesine doğru dalgaların frekansı düşer ve amplitüdü yükselir (24). Böylece basiller membran en çok kokleanın uç kısmında titreşir. Basiller membranda her frekansa karşılık gelen maksimum titreşim bölgesi ayrıdır (21, 25).

2.2.5. İşitme Fizyolojisi

Korti organında biri iç, üçü dış tüylü hücrelerden meydana gelen dörtlü gruplar halinde dizilmiş olan tüy hücrelerine, bunların yaklaşık iki katı kadar sayıda sinir lifleri temas etmektedir. Bu sinir lifleri kokleada bulunan spiral gangliyon hücrelerinin kısa periferik uzantıları olup tüy hücrelerindeki elektrokimyasal uyarıları spiral gangliyona taşımaktadır. Spiral gangliyon hücresi, uzun sinir lifleri ile beyin sapındaki koklear nukleuslara santral uzantılar göndermektedir. Bu santral uzantılar, traktus foraminözustan geçtikten sonra birleşerek işitme sinirini oluştururlar (21).

İşitme siniri ponsa girdikten sonra koklear nukleuslarda sinaps yapar. Koklear nukleuslardan çıkan ikinci nöronların bir kısmı aynı taraftaki süperior olivar komplekse (SOK) gelirken, büyük çoğunluğu orta hattan karşıya geçerek karşı taraf SOK'a gelir. Her iki kulaktan gelen bilgiler ilk kez SOK'ta birleşir. Üçüncü nöronlar lateral lemniskusta ilerleyerek mezensefalonda bulunan inferior kollikulusa ulaşır (26, 27). Inferior kollikulus; kraniyal, spinal ve göz kaslarının motor lifleriyle bağlantılı olduğu için işitsel refleks hareketleri ile ilişkilidir (21). Frekans analizinin ve konuşmayı ayırt etmenin bu seviyede olduğunu savunan birçok araştırmacı vardır (28). Talamusta bulunan medial genikulat cisim, inferior kollikulustaki liflerin temporal lobtaki primer işitme alanına (Heschel Gyrisu) ulaşmasına aracılık eder.

2.3. Gürültüye Bağlı İşitme Kaybı

1900'lü yıllardan sonra gittikçe büyüyen endüstriyel toplumlarda yaşayan insanların, gürültülü ortamlarda uzun süren çalışma saatlerinin bir sonucu olarak GBİK, toplumda sık görülen ve önem arz eden bir sorun haline gelmiştir. Dünya Sağlık Örgütü, yetişkinlerde işitme kaybının %16'sının mesleki gürültüye maruz kalmaya bağlı olduğunu bildirmiştir (29). Bu da GBİK'nın en sık görülen meslek hastalıkları arasında olduğunu bir göstergesidir.

GBİK, yüksek sesli patlamalar veya sürekli yükselen gürültü seviyeleri ile ortaya çıkabilir (30). Bu tür maruziyetler koklear tüylü hücre hasarına, çevresindeki destekleyici hücrelerin de hasar görmesine ve sonuçta ilişkili işitsel sinir liflerinin dejenerasyonuna yol açar. İç kulak hasarı ve ilişkili işitme kaybının seviyesi, gürültü maruziyetinin yoğunluğu ve süresi ile ilişkilidir (29).

Ölümcul düzeyin altındaki gürültü hasarı klinik olarak geçici eşik kaymalarına (*temporary threshold shift* - TTS) yol açabilir ve bu kişi genellikle 24-48 saat içinde iyileşen sensörinöral işitme kaybı (SNİK) yaşayabilir. Daha ciddi hasar, işitme eşiklerinde geri dönüşümsüz bir azalma yaparak klinik olarak ortaya çıkan kalıcı bir eşik kaymasına (*permenant threshold shift* - PTS) yol açar.

Belirtilen bir gürültü maruziyeti sonucunda işitme kaybı miktarı, bir birey için değişken ve spesifiktir. Birçok hastalık gibi GBİK'nın patofizyolojisi, genetik ve çevresel faktörler arasında karmaşık bir etkileşimi temsil eder (31). Gürültünün sıklığı, şiddeti ve maruz kalma tipi (sabit, ara sıra, ani veya patlayıcı) işitme kaybının derecesini, etkilenen frekansları ve kaybın geçici mi yoksa kalıcı mı olduğunu belirler (32). Bazı yazarlar, gürültü maruziyetinden dolayı işitme kaybındaki bireysel değişikliklerin % 50'sinin kalıtsal faktörlere bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir (33). Ek olarak; yaş, önceden var olan SNİK, hipertansiyon, diabetes mellitus, sigara içme öyküsü ve ototoksik ilaç kullanımı gibi hastayla ilişkili diğer faktörler, gürültünün bir sonucu olarak iç kulağa verilen hasar miktarını değiştirebilir (34).

Gürültü kaynaklı işitme kaybının ana mekanizmaları; korti organında fiziksel hasar, iç kulağın hipoksisine neden olan azalmış kan akımı, reaktif oksijen türlerinin oksidatif stresi ve koklear sinir liflerinin ve spiral ganglion hücrelerinin sinaptik terminallerindeki nöral dejenerasyondur. Yakın zamandaki çalışmalar, nöral

dejenerasyonun TTS’de de görüldüğünü ve kümülatif hasarın sonunda kalıcı işitme kaybına yol açacağını ortaya koymuştur (35).

Çeşitli çalışmalar, akustik travmanın neden olduğu oksidatif stresi, koklear hasarın ve nörodejeneratif hastalıkların önde giden yolu olarak tanımlamıştır. Gürültü maruziyetini takiben oksidatif stresle ilgili olarak, fazla uyarım daha büyük miktarlarda reaktif oksijen türlerinin üretilmesine yol açan mitokondriyal aerobik solunumun artmasına neden olur. SOR biriktikçe kokleanın intrinsik antioksidan savunmaları, koklear yapılarda serbest radikalleri ve lipoperoksidatif hasarı nötralize etmeye yetemez. Bu, sonunda korti organına zarar verir ve apoptoz veya nekroz ile tüylü hücrelerin ölümüne yol açar. Böylece, SOR’un ilerleyen artışı ve daha sonraki lipoperoksidatif hasar, antioksidan savunmaların dengesizliği ile bağlantılı olarak, gürültüye bağlı işitme kaybında önemli bir rol oynar (36).

Yoğun gürültüye (85 dB üzerindeki ses seviyesi) kronik maruziyet, başlangıçta yüksek frekanslı seslerden (3-6 kHz aralığı) sorumlu olan dış tüylü hücrelere zarar verir.

GBİK'da odyometrik patern genellikle iki taraflı ve simetriktir. Bazen çalışma sırasında başın pozisyonuna bağlı olarak tek taraflı olarak da görülebilir (29).

Gürültü maruziyeti tipik olarak kokleanın bazal dönüşüne yakın tüylü hücreleri etkiler ve 3-6 kHz arasında işitme eşiklerinde karakteristik bir azalmaya neden olur. Bu işitme kaybı paterni, genellikle “gürültü çentiği” olarak adlandırılan, saf ton odyometrisinde 4 kHz'de belirgin bir düşüşe neden olur (31).

Akut ve kronik GBİK olan kişilerde beraberinde yüksek oranda tinnitus da görülür (37, 38). Mesleki GBİK için tazminat talep eden 3466 davacı üzerinde yapılan retrospektif bir çalışmada; işitme kaybı miktarı ne olursa olsun, 4 kHz'de işitme kaybının bir fonksiyonu olarak tinnitus bildirenlerin prevalansı % 41,7-56,5 arasında değişmiştir (39). Bu da yüksek oranda yaşam kalitesini düşürmektedir.

2.4. Otoakustik Emisyonlar

Kemp 1978 yılında, kulağın sesi algılayabildiği gibi üretebildiğini de bildirmiştir. Kokleanın ürettiği bu seslere otoakustik emisyon (OAE) denir (40). Kokleanın ürettiği ses, dış tüy hücre hareketine bağlı olarak oluşur. Bu ses oval

pencere aracılığıyla kemikçiklere ve timpanik membrana, daha sonra da dış kulak yoluna iletilir. Dış kulak yoluna (DKY) konulan mikrofon ile ölçülebilir (41, 42).

40-50 dB üzeri işitme kaybı olan kişilerde OAE elde edilemez. Ayrıca hipoksi, gürültü ve ototoksik ilaç kullanımında dış tüy hücreleri etkilendiği için kulağın etkilenip etkilenmediğini göstermede OAE ölçümü önemli bir yere sahiptir. Ayrıca yenidoğan işitme taramasında hızlı, objektif, ucuz ve noninvaziv olduğu için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (40).

OAE uyarana bağlı olarak sınıflandırılırlar. DKY'ya konulan mikrofon aracılığıyla, koklea istirahat halindeyken hiçbir uyaran olmaksızın kayıt edilen emisyonlara *spontaneus* (spontan) OAE (SOAE), akustik uyaran verilerek kayıt edilen emisyonlara *evoked* (uyarılmış) OAE (EOAE) denir. EOAE ise *Transient Evoked* (geçici olarak uyarılan) OAE (TEOAE) ve *Distortion Products* (distorsiyon ürünü) OAE (DPOAE) olarak ikiye ayrılırlar (43).

2.4.1. Spontan Otoakustik Emisyonlar (SOAE)

Spontan Otoakustik Emisyonlar, herhangi bir akustik uyaran olmadan DKY'da ölçülen, işitmesi normal insanların %50'sinde görülen dar bant sinyallerdir. SOAE, hangi frekansta kaydedilmişse, o frekansta koklear işitmenin normal olduğunu gösterir (40, 44). SOAE'in kaydedilmesi dış tüy hücrelerin sağlam olduğunu düşündürür. Fakat SOAE'in ölçülememesi klinik kullanımda anlam ifade etmez ve hastanın kesin duymadığını göstermez. Çünkü popülasyonun yarısında zaten SOAE kaydedilemez (45).

2.4.2. Geçici Olarak Uyarılan Otoakustik Emisyonlar (TEOAE)

Dış kulak yoluna konulan probdan üretilip iç kulağa giden tone burst veya klik gibi geçici uyaranlara karşı kokleada oluşan cevaptır. Dış, orta ve iç kulak yapıları normal olan kişilerde cevap alınır. TEOAE, 30 dB altındaki zayıf uyaranlardan oluştuğu için işitme kaybı 30 dB'yi geçen kişilerde ölçülemez. Bu yüzden işitsel nöropatili hastaları tespit etmede, yenidoğan işitme taramasında,

fonksiyonel işitme kayıplı hastaların ayırımında ve koopere olamayan hastalarda kullanılır (40, 44, 46).

2.4.3. Distorsiyon Ürünü Otoakustik Emisyonlar (DPOAE)

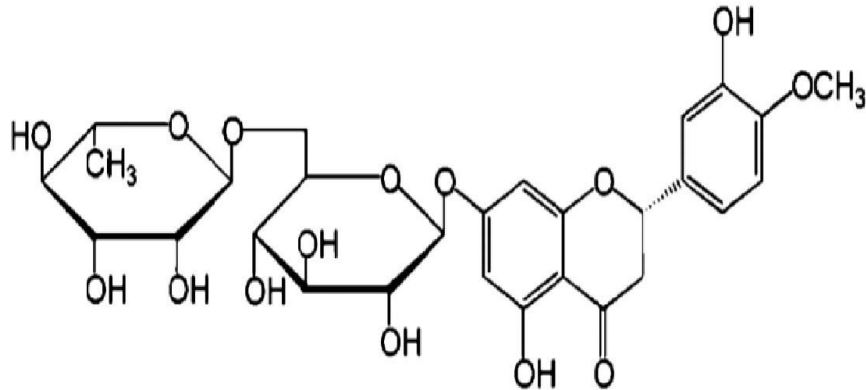
Dış kulak yoluna konulan probun, aynı anda iki ayrı frekansta (f1 ve f2) akustik uyaran üreterek kokleada oluşturduğu cevaptır. Kokleanın bazı bölgelerinden teste cevap alındığından, tüm frekans aralıklarını belirlemek için ölçümler yapılmalıdır. TEOAE ile karşılaştırıldığında, 30 dB'den fazla işitme kaybı olanları tespit etmesi avantajdır. Kokleadan daha spesifik cevap alındığı için koklea erken dönem hasarlarının tespitinde kullanılır (40, 47).

2.5. Hesperidin

Hesperidin, flavanon grubu bir biyoflavonoiddir. Flavonoidler; meyve, sebze, kabuklu yemiş, tohum, yaprak, çiçek ve kabuk gibi bitkilerin hemen hemen tüm kısımlarında görülür.

Hesperidin (5, 7, 3'-trihidroxy-4'-methoxy-flavanone-7-rhamno glucoside) bir flavanon glikozitidir (Şekil 1) (48). Moleküler formülü $C_{28}H_{34}O_{15}$ 'tir.

Hesperidin, tatlı portakal (*citrus sinensis*) ve limondaki (*citrus limonum*) başlıca flavonoiddir. Genç olgunlaşmamış portakallarda, meyvenin taze ağırlığının %14'üne kadar bulunabilirler. Turunçgiller (*citrus*) dışında *Papilionaceae*, *Fabaceae* (baklagiller), *Betulaceae* (huşgiller) ve *Lamiaceae* (ballıbabagiller) gibi birçok bitki cinsinde de olduğu bildirilmiştir (10).



Şekil 1. Hesperidin molekül yapısı

Hesperidin gibi bazı flavonoidler, fosfolipaz A2, lipoksijenaz ve siklooksijenaz (COX) enzimlerini inhibe ederek lökosit aktivasyonu, migrasyonu ve adhezyon inhibitörleri olan prostaglandin E2 (PGE2), prostaglandin F2a (PGF2a) ve tromboksan A2 (TXA2)'nin sentezini azaltarak antiinflamatuvar ve analjezik etki gösterirler (10, 49, 50).

Hesperidin, biyolojik aktivitelerin çeşitliliği nedeniyle biyoflavonoid olarak adlandırılmaktadır. Yapılan çalışmalarda kılcal kan damarlarında geçirgenliği azalttığı gösterilmiş olan hesperidin, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antihiperlipidemik, antikarsinojenik, antialerjik, antiülser, antiagregan ve antioksidan gibi birçok biyolojik etkinliğe sahiptir. Ayrıca C vitamini tutucu özelliğinden dolayı C vitamini eksikliğine bağlı oluşan belirtileri azaltabildiği de gösterilmiştir (10, 49). Hesperidinin, geri dönüşümlü elektron transfer maddesi olarak kapasitesi nedeniyle doğada askorbik asit sentezinde rol oynadığı gösterilmiştir (51).

Hayvan çalışmalarında, 13 ve 26 hafta boyunca hesperidinin terapötik dozunun 35 katı kullanılarak tekrarlanan oral uygulamalardan sonra hiçbir toksik etkisi görülmemiştir. Mutajenik bir etkisi veya üreme fonksiyonları üzerinde anlamlı bir yan etkisi olmadığı kabul edilmektedir. Transplasental ve anne sütüne geçişi minimaldir (52).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (HADYEK) 28.06.2018 tarih ve 7 sayılı oturumunda 134 nolu kararı ile verdiği etik onayın ardından başlatıldı. Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (ATADEM) temin edilen 200-250 gram ağırlığındaki sağlıklı erişkin 28 adet dişi, sprague dawley cinsi rat üzerinde ATADEM laboratuvarında ve Erzurum Bölge Eğitim Araştırma Hastahanesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Odyoloji Birimi'nde yapıldı.

Ratlar tüm çalışma boyunca 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ışık periyodunda, 22 ± 2 °C sıcaklık ve 40 ± 10 nisbi nem sağlanmış, arka plan gürültüsünün 50 dB'in altında olduğu, serbest su ve yemek alabildikleri çelik kafesler içinde barındırıldı. Çalışmamızda uluslararası Helsinki deklarasyonunda bildirilen hayvan bakım ve kullanımı ile ilgili kurallara itina ile uyuldu.

Tüm ratların genel anestezi altında otoskopik muayeneleri yapıp, dış kulak yolundaki buşonlar temizlendi ve timpanik membranların net görülmesi sağlandı.

Genel anestezi altında otoakustik emisyon ölçümü yapıp işitmesi normal saptanan toplam 28 rat (Şekil 2); randomize olarak, her grupta yedişer rat olacak şekilde dört gruba ayrıldı. Gruplar Tablo 1'de özetlenmiştir.



Şekil 2. Genel anestezi altında otoakustik emisyon ölçümü

3.1. Çalışma Grupları

Tablo 1. Çalışmamızda oluşturduğumuz gruplar

1.grup	Kontrol grubu (K)	7 adet rat
2.grup	Sadece hesperidin verilecek grup (H)	7 adet rat
3.grup	Sadece akustik travma verilecek grup (AT)	7 adet rat
4.grup	Akustik travma + Hesperidin verilecek grup (AT+H)	7 adet rat

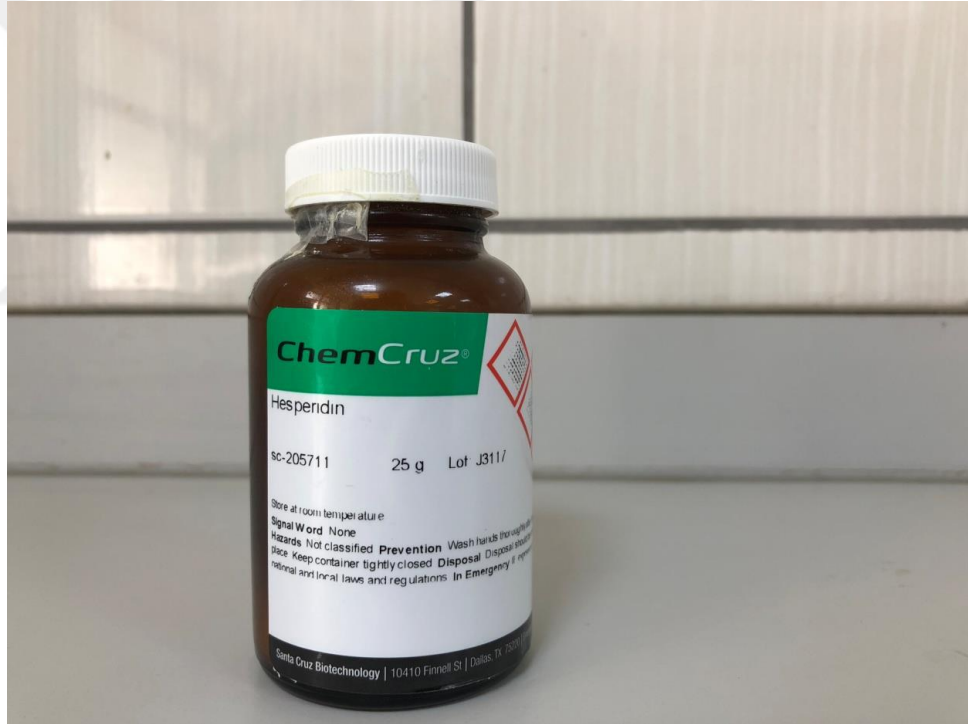
Grup 1 (Kontrol grubu) (K): Bu gruptaki 7 rata 5 gün boyunca her gün aynı saatte günde bir kez orogastrik gavaj yoluyla 8 ml/kg serum fizyolojik verildi.

Grup 2 (Sadece hesperidin verilecek grup) (H): Bu gruptaki 7 rata 5 gün boyunca her gün aynı saatte günde bir kez 100 mg/kg dozunda hesperidin (*Santa*

Cruz Biotechnology, Inc. 10410 Finnell Street Dallas, Texas 75220 U.S.A.) (Şekil 3) orogastrik gavaj yoluyla verildi.

Grup 3 (Sadece akustik travma verilecek grup) (AT): Bu gruptaki 7 rat çalışmanın 3. gününde 110 dB Sound Pressure Level (SPL) şiddetinde beyaz gürültüye 12 saat boyunca maruz bırakıldı.

Grup 4 (Akustik travma + Hesperidin verilecek grup) (AT+H): Bu gruptaki 7 rata 5 gün boyunca her gün aynı saatte günde bir kez 100 mg/kg dozunda hesperidin orogastrik gavaj yoluyla verildi. Ratlar 3. dozdan 1 saat sonra 110 dB SPL şiddetinde beyaz gürültüye 12 saat boyunca maruz bırakıldı.



Şekil 3. Kullanılan Hesperidin

3.2. Ratlara Anestezi Uygulama Protokolü

Genel anestezi, ketamine hidroklorür (Ketalar flakon, Pfizer, İstanbul) 40 mg/kg + xylazine hidroklorür (Rompun flakon, Bayer, İstanbul) 10 mg/kg dozunda intraperitoneal (i.p.) verilerek sağlandı.

3.3. İlaç Uygulama Protokolü

Herhangi bir işlem görmemiş sağlıklı 28 rat teslim alındı. Ratlara literatürde kullanılan dozda 100 mg/kg hesperidin uygulamaya karar verildi. Hesaplanan hesperidin %0,5'lik (0,5 mg/kg) karboksimetilselüloz içerisinde homojen olarak çözdürüldü. Grup 2 (H) ve Grup 4'deki (AT+H) 14 rata 2 cc içerisinde 100 mg/kg hesperidin olacak şekilde hazırlanan solüsyonlar 5 gün boyunca her gün aynı saate tek doz olarak oral gavaj ile mideye verildi (Şekil 4).



Şekil 4. Orogastrik gavaj yoluyla ilaç uygulama

3.4. Gürültü Protokolü

Grup 3 (AT) ve grup 4'teki (AT+H) 14 rat, 60 dB gürültü izolasyonu sağlanan kabinde GSI Audiostar Pro odyometri cihazı (Grason-Stadler, Eden Prairie, Minnesota, USA) kullanılarak 4 kHz 110 dB SPL şiddetinde, 2 adet hoparlöre eşit mesafede olacak şekilde serbest ortamda 12 saat boyunca Erzurum Bölge Eğitim Araştırma Hastahanesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Odyoloji Birimi'nde beyaz gürültüye maruz bırakıldı (Şekil 5).

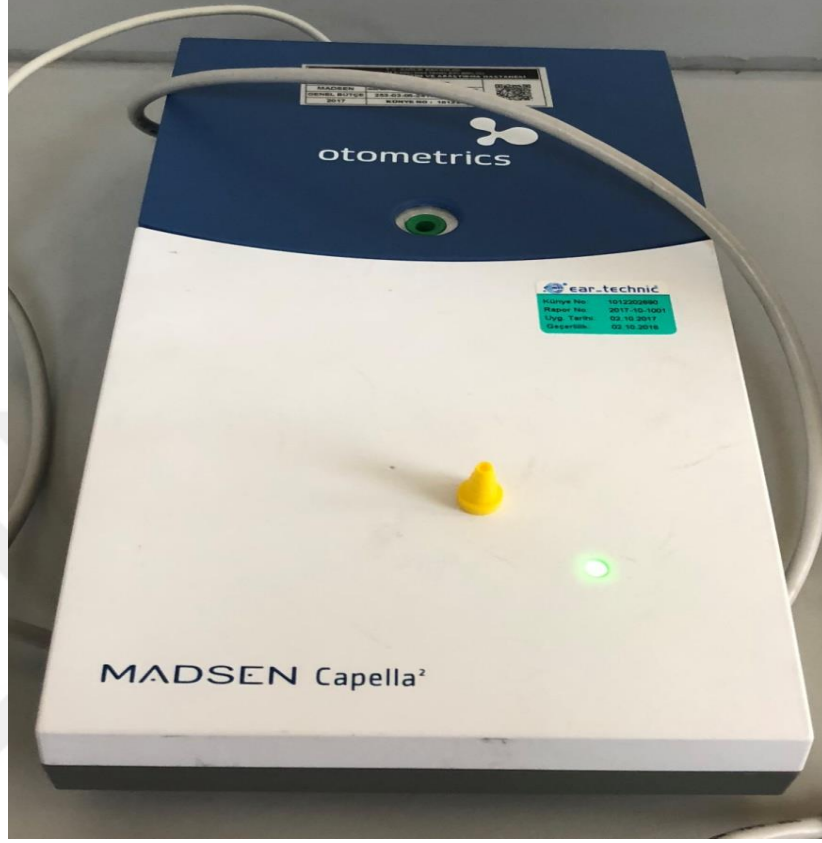


Şekil 5. Ratlara gürültü izolasyonu sağlanan kabinde 12 saat boyunca beyaz gürültü verilmesi

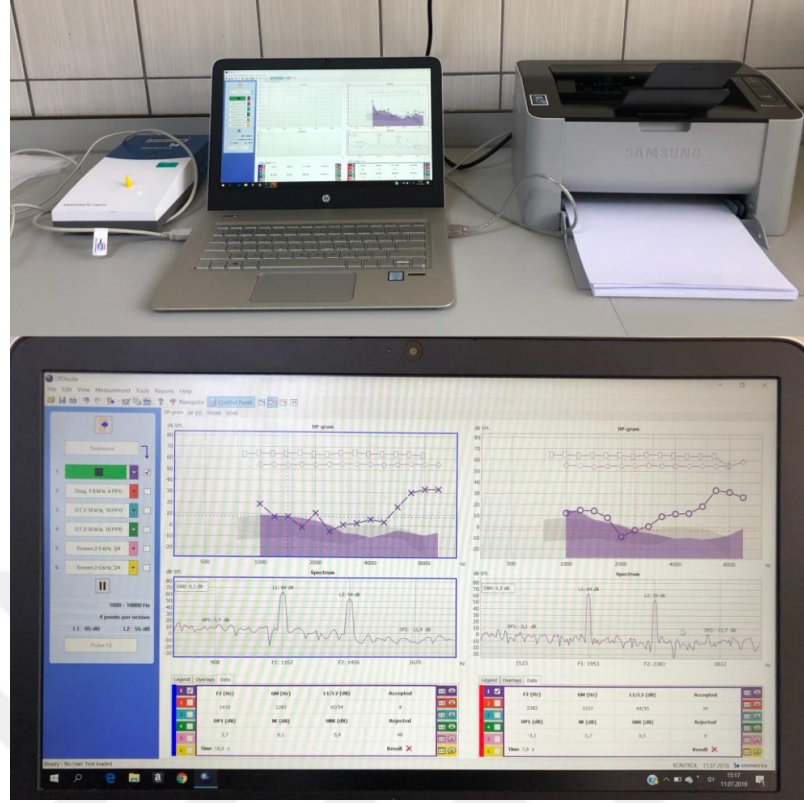
3.5. DPOAE Testi

Çalışmamızın 1. ve 6. günlerinde tüm deney hayvanlarına genel anestezi altında DPOAE ölçümleri yapıldı. Test, ratların otoskopik incelemesinden sonra *Madsen Capella 2 (GN Otometrics, Danimarka)* OAE ölçüm cihazı ve yenidoğan probu kullanılarak yapıldı (Şekil 6). Her testten önce, prob otomatik bir sistemle kalibre edildi ve sessiz bir odada DPOAE ölçümleri gerçekleştirmek için ratların her iki dış kulak yoluna yerleştirildi. Ölçümler DPgram şeklinde yapıldı. Primer uyarı şiddeti $L1 = 65 \text{ dB}$ ve $L2 = 55 \text{ dB}$ olarak kullanıldı. En güçlü yanıt sağlamak için iki frekans, $f1 / f2 = 1.22$ olacak şekilde ayarlandı. DPgram ölçümleri 2002 ve 10.000

Hz arasında sekiz frekansta gerçekleştirildi. Sinyal gürültü oranının (SNR) 3 dB'den daha büyük değerleri pozitif olarak kabul edildi (şekil 7).



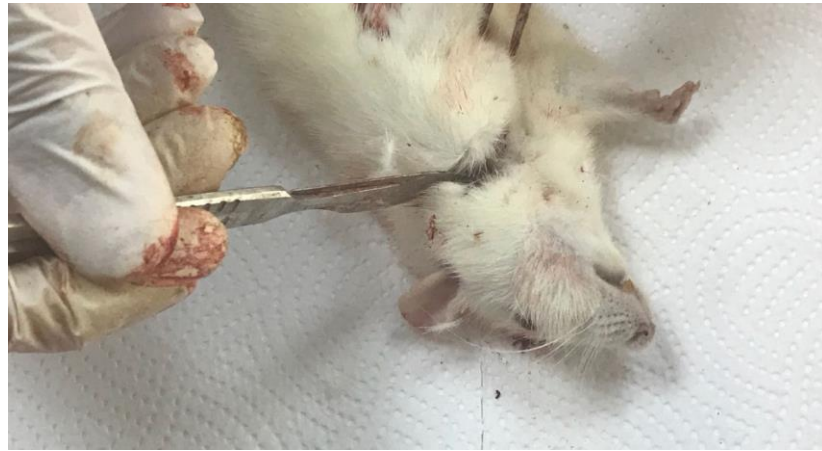
şekil 6. Madsen Capella 2 (GN Otometrics, Danimarka) OAE ölçüm cihazı ve yenidoğan probu



Şekil 7. DPOAE ölçümünün bilgisayar ortamına aktarılması

3.6. Ratların Bilateral Kokleolarının Eksizyonu

Çalışmanın 6. Gününde genel anestezi altında tüm ratların DPOAE ölçümleri yapıldıktan sonra ratlar sakrifiye edildi. Daha sonra ratların baş kısmı ayrılarak (Şekil 8) bilateral kokleaları eksize edildi.



Şekil 8. Ratların baş kısmının eksizyonu

3.7. Histopatolojik İnceleme

Yapılan nekropsi sonucu histopatolojik değerlendirme amacıyla alınan koklea doku örnekleri %10'luk formalin solüsyonunda 48 saat tespit edildi. Dokular dekalsifiye edildi. Rutin kemik doku takip işlemleri sonucu parafin bloklara gömüldü. Her bloktan 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar hematoksilin-eozin (HE) ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi. Lezyonlar histopatolojik bulgulara göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi.

3.8. İstatiksel Analiz

İstatistik analizleri için SPSS 17,0 paket programı kullanıldı. Verileri dağılımı Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Dağılım normal olduğu verilerde analiz için One-Way ANOVA ve post-hoc Tukey testleri kullanıldı. Histopatolojik incelemede semikantitatif olarak elde edilen verilerin gruplar arasındaki farklılıkların analizi için nonparametrik testlerden Kruskal-Wallis testi, ikili grupların mukayesesi için Mann Whitney U testi kullanıldı. Tüm analizler için $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

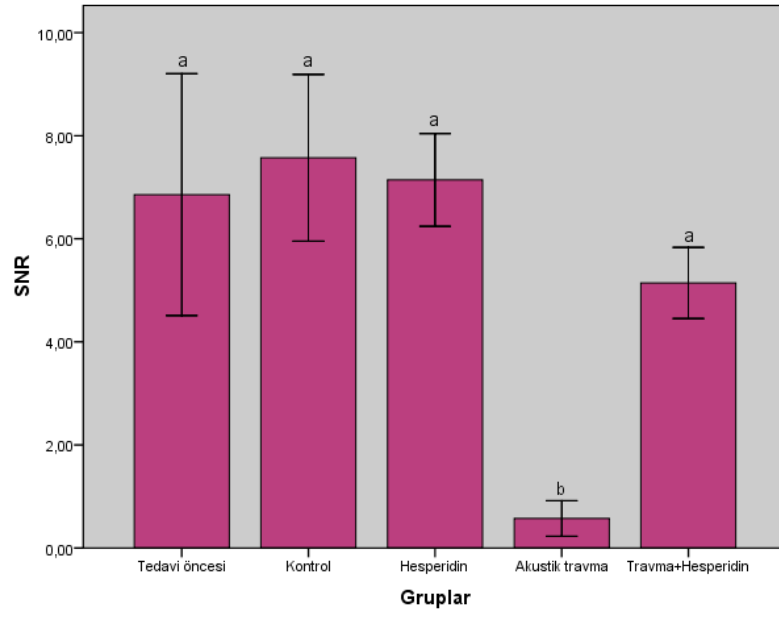
4. BULGULAR

4.1. DPOAE Bulguları

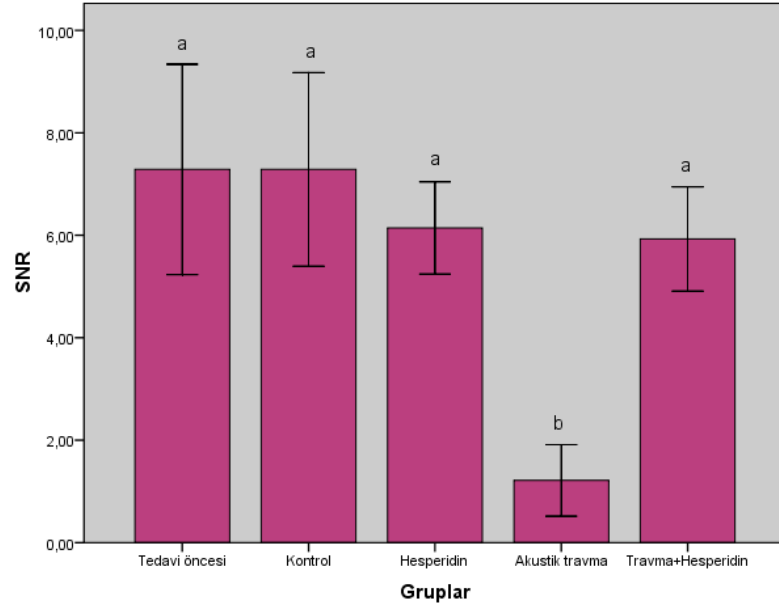
Çalışmamız sonucunda kontrol grubu olarak tanımlanan grup 1 ve sadece hesperidin uygulanan grup 2'deki ratların SNR değerleri ile tedavi öncesi SNR değerleri arasında anlamlı farklılık olmadığı görüldü ($p>0.05$). Bu durum hesperidinin kokleada herhangi bir hasara sebep olmadığını, ratlar tarafından iyi tolere edildiğini göstermektedir.

Tedavi öncesi SNR değerleri ile çalışmanın altıncı günü elde edilen SNR değerleri karşılaştırıldığında; grup 1 ve grup 2'de SNR değerleri ile tedavi öncesi SNR değerleri arasında anlamlı farklılık izlenmezken, akustik travma verilen grup 3'deki ratların SNR değerleri çalışılan tüm frekanslarda ilk gün değerlerinden anlamlı derecede düşük olarak bulundu. Ayrıca; grup 3'deki ratların SNR değerleri kontrol grubundan ve travma ile birlikte hesperidin uygulanan grup 4'teki ratların SNR değerlerinden de anlamlı derecede düşük idi. Bu durum akustik travmanın kokleada hasara yol açarak işitmeyi etkilediğini göstermektedir.

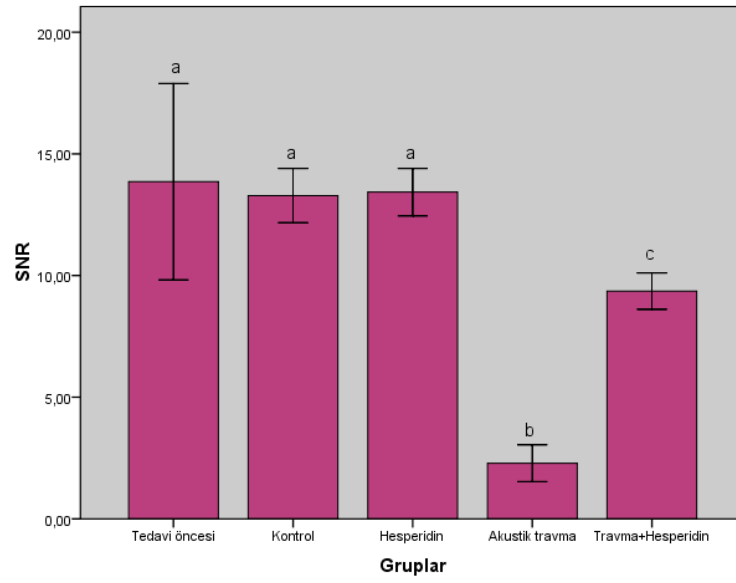
Akustik travma ile birlikte hesperidin ile tedavi edilen grup 4'teki ratlarda ise, çalışılan tüm frekanslarda SNR değerlerinin sadece akustik travma verilen ratlara oranla anlamlı derecede yüksek olduğu izlendi. Ayrıca, 2002 ve 2300 Hz frekanslarında grup 4'teki ratların SNR değerleri ile tedavi öncesi SNR değerleri ve kontrol grubunun SNR değerleri arasında anlamlı farklılık izlenmediği görüldü. 2800 Hz ve daha yüksek frekanslarda ise grup 4'teki ratların SNR değerleri, tedavi öncesi SNR değerleri ve kontrol grubunun SNR değerlerinden anlamlı derecede düşük olarak tespit edildi. Bu durum hesperidinin akustik travmaya karşı anlamlı derecede koruyucu etki gösterdiğini; bu etkinin düşük frekanslarda kokleayı travmanın etkisinden tam olarak korurken, yüksek frekanslarda travmanın kokleada meydana getirdiği hasarı tam olarak ortadan kaldıramadığını göstermektedir. DPOAE test sonuçları Şekil 9-18'de özetlenmiştir.



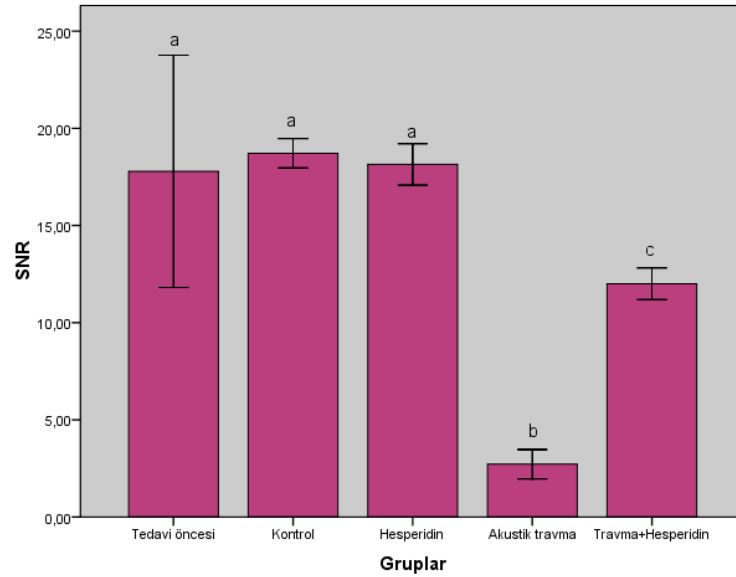
Şekil 9. 2002 Hz frekansta DPOAE değerleri. Veriler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Her barın üzerindeki çizgi standart sapmayı göstermektedir. Ayrıca barların üzerindeki harfler istatistiksel analiz sonuçlarını göstermektedir. Farklı harfler $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak fark olduğunu gösterirken, aynı olan harfler herhangi bir farklılık olmadığını belirtmektedir.



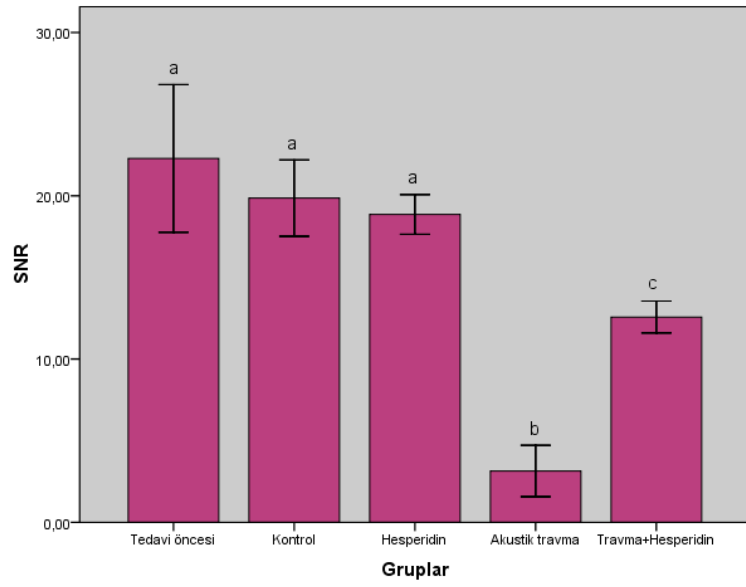
Şekil 10. 2383 Hz frekansta DPOAE değerleri. Veriler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Her barın üzerindeki çizgi standart sapmayı göstermektedir. Ayrıca barların üzerindeki harfler istatistiksel analiz sonuçlarını göstermektedir. Farklı harfler $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak fark olduğunu gösterirken, aynı olan harfler herhangi bir farklılık olmadığını belirtmektedir.



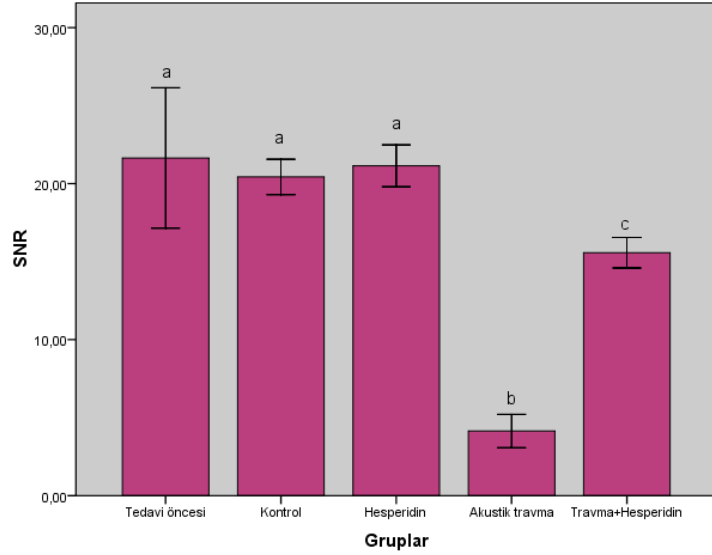
Şekil 11. 2832 Hz DPOAE Değerleri. Veriler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Her barın üzerindeki çizgi standart sapmayı göstermektedir. Ayrıca barların üzerindeki harfler istatistiksel analiz sonuçlarını göstermektedir. Farklı harfler $p<0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak fark olduğunu gösterirken, aynı olan harfler herhangi bir farklılık olmadığını belirtmektedir.



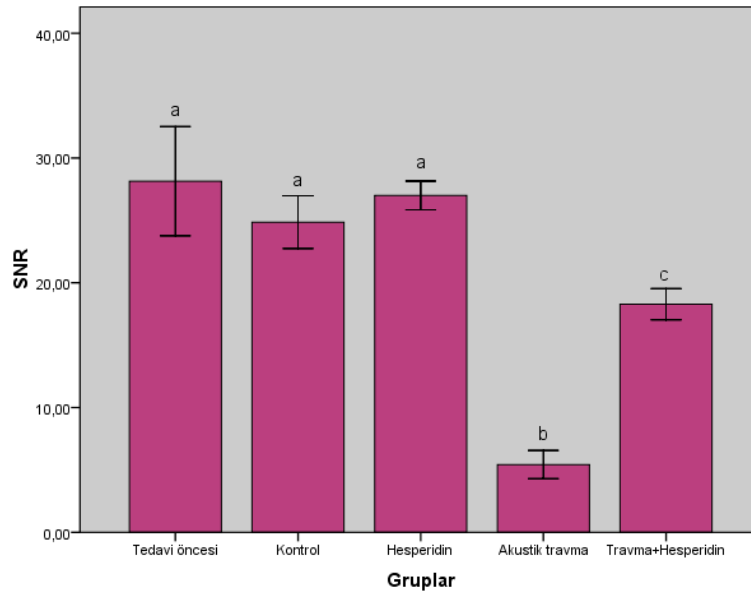
Şekil 12. 3359 Hz DPOAE Değerleri. Veriler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Her barın üzerindeki çizgi standart sapmayı göstermektedir. Ayrıca barların üzerindeki harfler istatistiksel analiz sonuçlarını göstermektedir. Farklı harfler $p<0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak fark olduğunu gösterirken, aynı olan harfler herhangi bir farklılık olmadığını belirtmektedir.



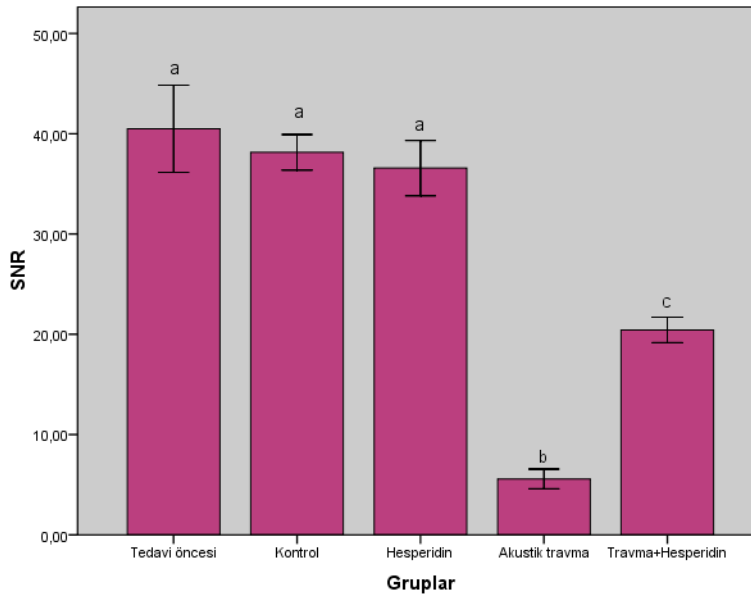
Şekil 13. 4004 Hz DPOAE Değerleri. Veriler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Her barın üzerindeki çizgi standart sapmayı göstermektedir. Ayrıca barların üzerindeki harfler istatistiksel analiz sonuçlarını göstermektedir. Farklı harfler $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak fark olduğunu gösterirken, aynı olan harfler herhangi bir farklılık olmadığını belirtmektedir.



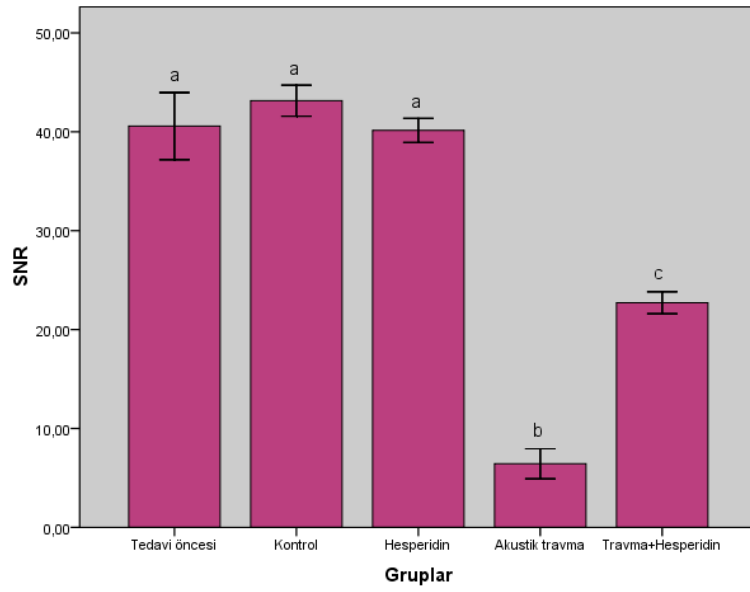
Şekil 14. 4756 Hz DPOAE Değerleri. Veriler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Her barın üzerindeki çizgi standart sapmayı göstermektedir. Ayrıca barların üzerindeki harfler istatistiksel analiz sonuçlarını göstermektedir. Farklı harfler $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak fark olduğunu gösterirken, aynı olan harfler herhangi bir farklılık olmadığını belirtmektedir.



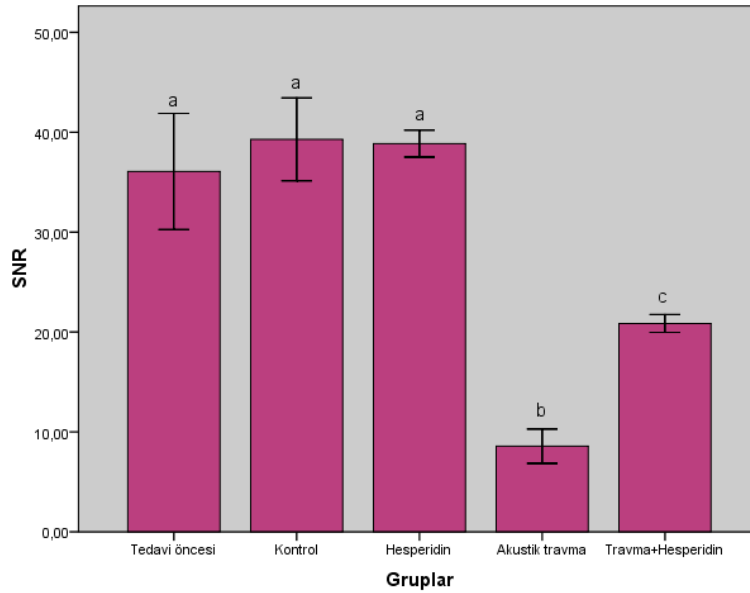
Şekil 15. 5654 Hz DPOAE Değerleri. Veriler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Her barın üzerindeki çizgi standart sapmayı göstermektedir. Ayrıca barların üzerindeki harfler istatistiksel analiz sonuçlarını göstermektedir. Farklı harfler $p<0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak fark olduğunu gösterirken, aynı olan harfler herhangi bir farklılık olmadığını belirtmektedir.



Şekil 16. 6729 Hz DPOAE Değerleri. Veriler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Her barın üzerindeki çizgi standart sapmayı göstermektedir. Ayrıca barların üzerindeki harfler istatistiksel analiz sonuçlarını göstermektedir. Farklı harfler $p<0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak fark olduğunu gösterirken, aynı olan harfler herhangi bir farklılık olmadığını belirtmektedir.



Şekil 17. 7998 Hz DPOAE Değerleri. Veriler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Her barın üzerindeki çizgi standart sapmayı göstermektedir. Ayrıca barların üzerindeki harfler istatistiksel analiz sonuçlarını göstermektedir. Farklı harfler $p<0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak fark olduğunu gösterirken, aynı olan harfler herhangi bir farklılık olmadığını belirtmektedir.



Şekil 18. 9558 Hz DPOAE Değerleri. Veriler ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. Her barın üzerindeki çizgi standart sapmayı göstermektedir. Ayrıca barların üzerindeki harfler istatistiksel analiz sonuçlarını göstermektedir. Farklı harfler $p<0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak fark olduğunu gösterirken, aynı olan harfler herhangi bir farklılık olmadığını belirtmektedir.

4.2. Histopatolojik Bulgular

1.Grup (Kontrol): Bu grupta bulunan ratların kokleaları incelendiğinde, normal histolojik yapıda olduğu belirlendi (Şekil 19).

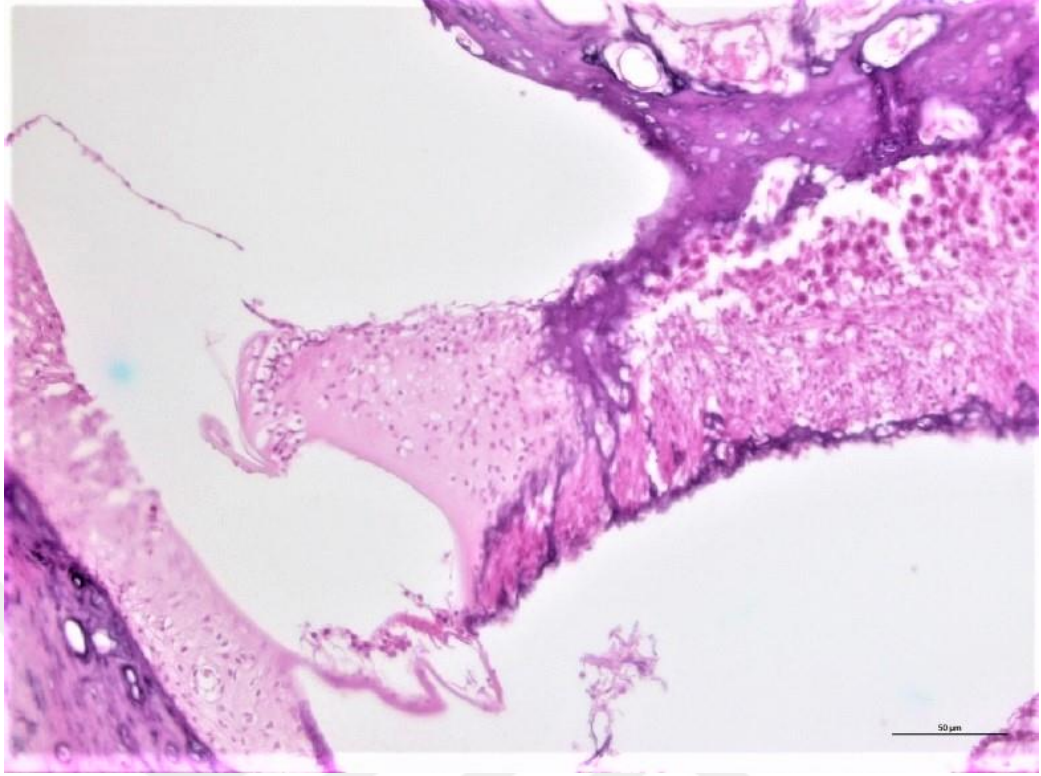
2.Grup (Hesperidin): Bu grupta bulunan ratların koklea dokuları incelendiğinde, normal histolojik görünümde olduğu tespit edildi (Şekil 20).

3.Grup (Akustik Travma): Ratlara ait koklealar incelendiğinde, dış tüy hücrelerinde şiddetli düzeyde azalma ve dejeneratif ve nekrotik hasarlar tespit edildi. Spiral ganglion hücrelerinde şiddetli düzeyde dejenerasyonlar belirlendi (Şekil 21).

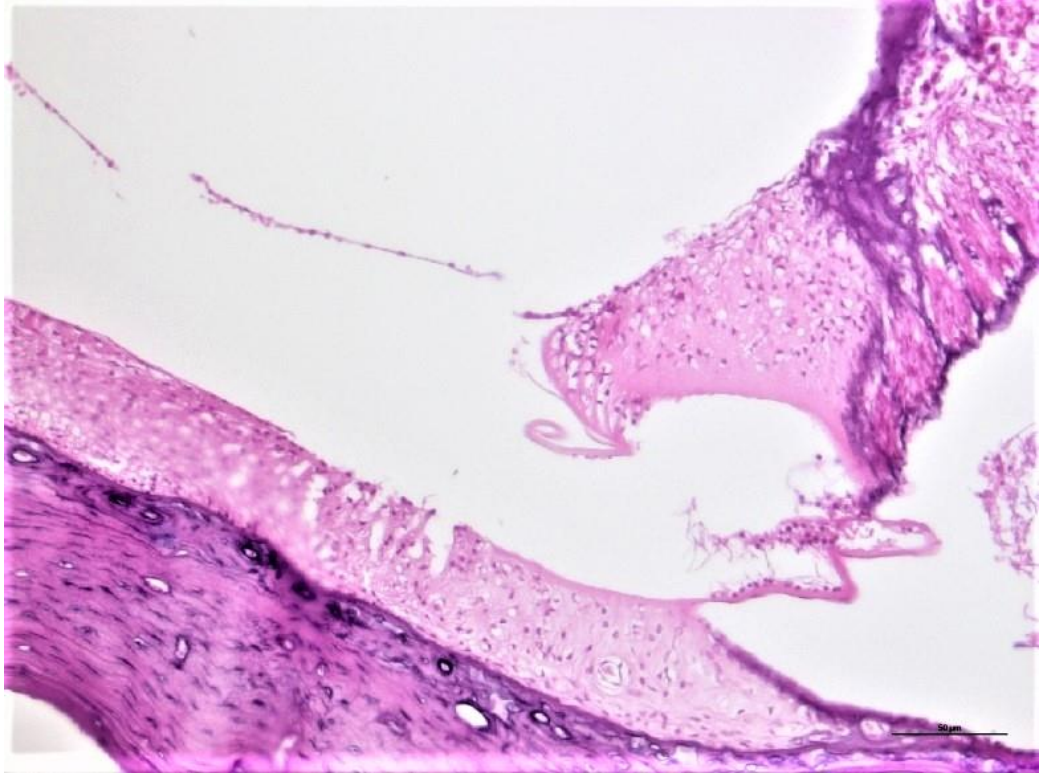
4.Grup (Akustik Travma + Hesperidin): Bu grupta bulunan ratların koklea dokuları incelendiğinde, dış tüy hücrelerinde orta derecede azalma tespit edilirken spiral ganglion hücrelerinde hafif düzeyde dejenerasyon izlendi (Şekil 22). Histopatolojik bulgular tablo 2’de özetlendi.

Tablo 2. Koklea dokularında histopatolojik bulgular

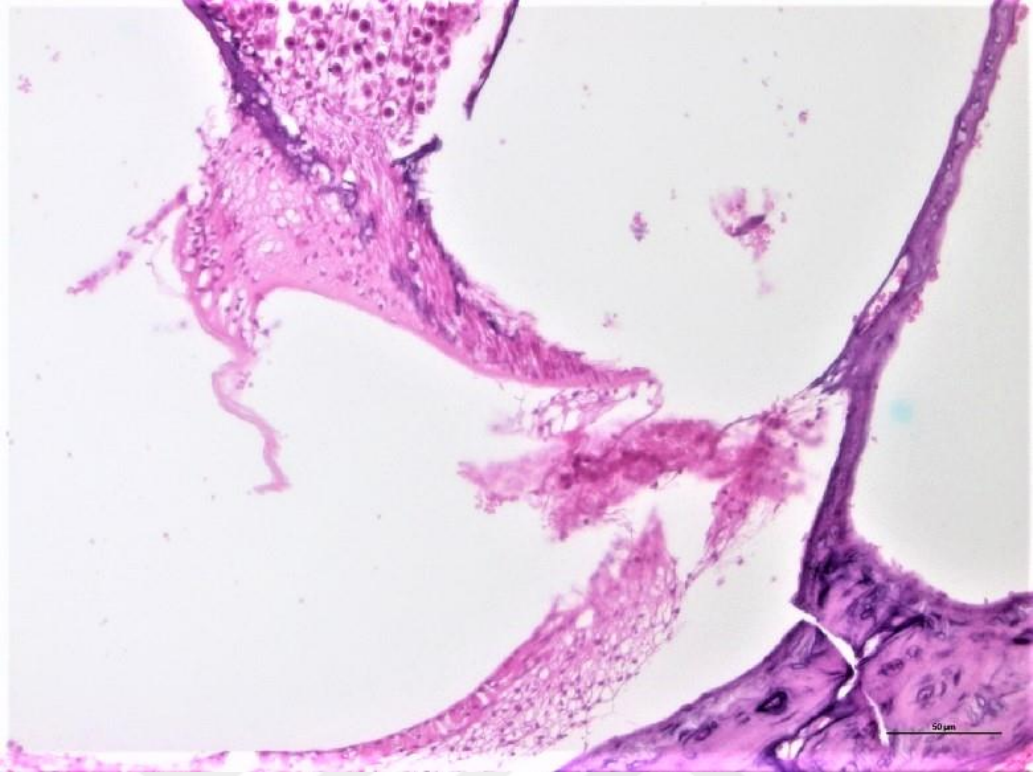
	Kontrol	Hesperidin	Akustik Travma	Akustik Travma + Hesperidin
Dış tüy hücrelerinde azalma	-	-	+++	++
Spiral ganglion hücrelerinde hafif düzeyde dejenerasyon	-	-	+++	+



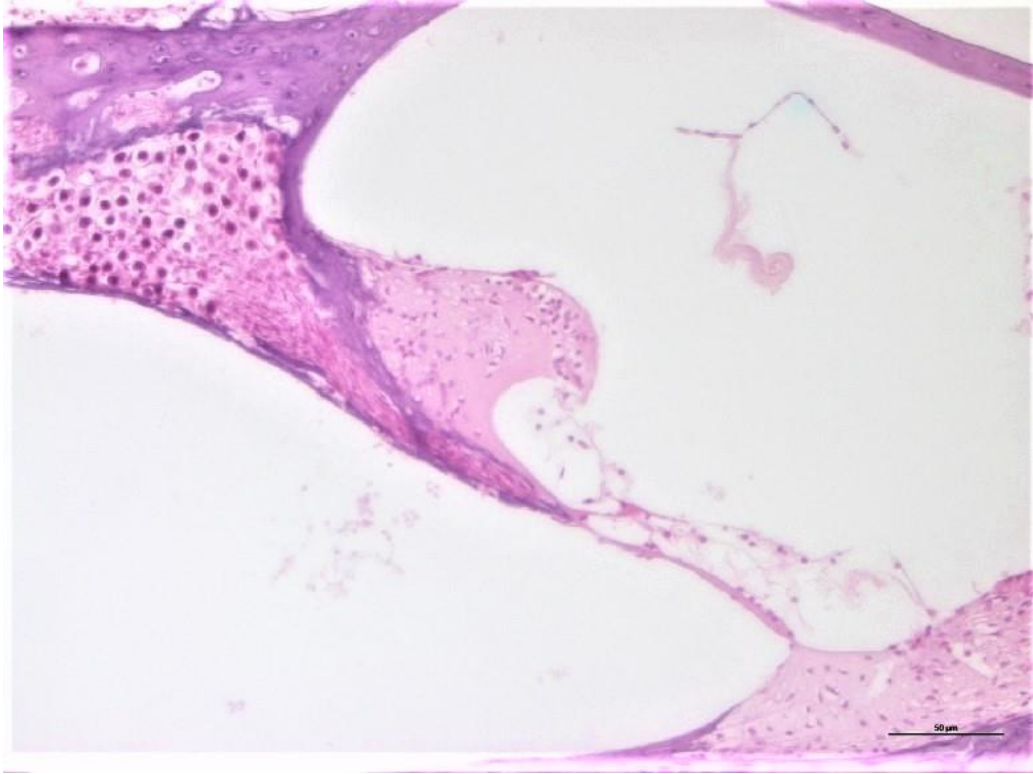
Şekil 19. Kontrol grubu, koklea dokuları normal histolojik görünümde, H&E, Bar: 50µm.



Şekil 20. Hesperidin grubu, koklea dokuları normal histolojik görünümde, H&E, Bar: 50µm.



Şekil 21. AT grubu, koklea dokuları, dış tüy hücrelerinde şiddetli düzeyde azalma, spiral ganglion hücrelerinde şiddetli dejenerasyon, H&E, Bar: 50µm.



Şekil 22. AT+H grubu, koklea dokuları, dış tüy hücrelerinde orta düzeyde azalma, spiral ganglion hücrelerinde hafif düzeyde dejenerasyon, H&E, Bar: 50µm.

5. TARTIŞMA

Gürültü, işitme kaybının tanımlanmış etyolojileri arasında en büyük nedendir. Gürültü; işitsel, psikolojik ve fizyolojik etkilere neden olan bir stres faktörüdür. Ayrıca hücrel immünitinin bozulmasına, uyku bozukluğuna ve stres hormonlarında artışa neden olabilir (53). Gürültü ile ilişkili olarak ortaya çıkan koklear yaralanma; özellikle dış tüylü hücrelerin olmak üzere tüm tüylü hücrelerin, destekleyici hücrelerin ve afferent sinir liflerinin dejenerasyonunu içerir. Birincil hasarı önlemenin en iyi yolu, gürültüye karşı korunmaktır (54). Bu koruma çeşitli nedenlerle her zaman mümkün olmadığından, GBİK'yı önlemek veya tedavi etmek için farmakolojik ajanların kullanımı da göz önünde bulundurulmalıdır.

GBİK için henüz spesifik bir tedavi olmadığından, kulaklık gibi yüksek gürültüye karşı koruma sağlayan materyallerin kullanımı hala birincil stratejiyi temsil etmektedir. Bu materyallerin etkisi ise düzenli ve etkili kullanıma bağlıdır. Epidemiyolojik bir çalışmada, Mrena ve arkadaşları (55), askeri personel arasında kulak koruyucu kullanımından yarar sağladıklarını ancak bunun tam bir koruma sağlamadığını ortaya koymuştur. Bunun nedeni olarak; yetersiz kulak koruyucu kullanımı ve kulak koruyucunun alan koşullarında laboratuvar koşullarından daha düşük etki gösterdiğini öne sürmüşlerdir. Ayrıca kulağı kaplamak çevre bilincini ve iletişimi de engeller. Gürültü, birçok aktivitede çevrenin bir parçası olarak kabul edilir ve ortadan kaldırılması zordur. Dolayısıyla, GBİK'ya karşı koruma ve tedavi için farmakolojik ajanların geliştirilmesi çok önemlidir.

Amerikan Ulusal Sağlık ve İletişim Bozuklukları Enstitüsü'ne, Amerikan Konuşma, Dil ve İşitme Derneği'ne ve İş Sağlığı ve Güvenliği İdaresi'ne göre 30–40 milyon Amerikalı düzenli bir şekilde tehlikeli ses veya gürültü seviyesine maruz kalmaktadır. GBİK, ABD'de tüm yaş gruplarından yaklaşık olarak 10-15 milyon kişiyi etkilemektedir (56, 57).

GBİK; önde gelen meslek hastalıklarından biridir, önemli bir özürlülük sebebidir ve topluma önemli bir maliyettir. Yaşa bağlı işitme kaybının nedenleri arasında önemli bir yerdedir. Sanayileşmeyle insidansı gittikçe artan GBİK'nın önlenmesi ve tedavisi için klinik öncesi birçok farmakolojik araştırma yapılmıştır. GBİK'yı etkili bir şekilde önleyen ve tedavi eden ilaçlar; tıbbi maliyetler, maluliyet

tazminatı ve yaşam kalitesini etkileyen çeşitli konular üzerinde şüphesiz ki önemli bir etkiye sahip olacaktır (58).

GBİK üzerine yapılan çalışmaların bir kısmında glukokortikoidlerin etkileri incelenmiştir. Bu amaçla, Wang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 115 dB SPL beyaz bant gürültüsüne maruz kalan kobaylarda beş ardışık gün boyunca 1 mg/kg deksametazonun i.p. enjeksiyonu, muhtemelen bir glukokortikoid reseptör bağımlı mekanizma yoluyla koklear Hes1 ekspresyonunu baskılayarak GBİK'ya karşı koruma sağlamıştır (59).

Başka bir çalışmada; deksametazon uygulamasının dördüncü gününde 120 dB SPL oktav bant gürültüsüne maruz kalan gineapiglerin skala timpanisine 1, 10, 100 ve 1000 ng/ml dozlarda doğrudan uygulanan deksametazonun GBİK'ya karşı korunmada etkili olduğu bildirilmiştir (60).

Arslan ve arkadaşları, 26 ratta GBİK tedavisinde deksametazonun etkisini araştırmışlardır. Ratlar 10 gün boyunca günde üç saat 115 dB SPL beyaz gürültüye maruz bırakılmış ve gürültüye maruz kaldıktan sonraki ilk saatte deksametazon yedi gün boyunca 2 mg/kg'dan enjekte edilmiştir. Son işitme eşiği; tedavi edilen grupta normal işitme seviyesi olan 5 dB, tedavi edilmemiş grupta ise 22,5 dB olarak bulunmuştur. Sonuçlar, deksametazon tedavisinin erken başlanması GBİK'nın tedavisinde etkili olduğunu göstermiştir (61).

GBİK tedavisinde metilprednizolonun transtimpanik uygulaması da etkilidir. Özdoğan ve arkadaşları, 16 sıçanda gürültü maruziyetinden sonra intratimpanik metilprednizolon uygulamış ve kokleanın dış tüylü hücrelerindeki apoptotik hücrelerin sayısında bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Akustik travma sonrası intratimpanik metilprednizolon enjeksiyonunun dış tüylü hücre kaybını azalttığı sonucuna varmışlardır (62).

Zhou ve arkadaşlarının yaptığı klinik bir çalışmada tedavisi gecikmiş GBİK olan 53 hasta iki gruba ayrılarak; kontrol grubuna geleneksel steroid tedavisi (metilprednizolon), çalışma grubuna da geleneksel steroid tedavisine ek olarak transtimpanik steroid enjeksiyonu yapılmış ve iki grup arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı çıkmıştır. Ek transtimpanik steroid enjeksiyonun, sistemik steroid tedavisinin etkisini artırdığı sonucuna varılmıştır (63).

Hastalığın patogeneğinde SOR ve oksidatif stresin etkisi önemli olduğundan, antioksidanların tedavide etkili olabileceği düşüncesi ortaya çıkmıştır. Kokleada serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri ortadan kaldırılabilir ise dejenerasyon önlenir. Vücuttaki en önemli antioksidanlardan biri, doğrudan oksidanlarla reaksiyona giren ve moleküllerin oksidasyonunu engelleyen glutatyon (GSH). GSH, GBİK'da önemli bir rol oynar (64). Yamasoba ve arkadaşları GBİK'da GSH'nin etkisini incelemiş ve sekiz guineapig, beş gün boyunca günde üç saat 102 dB SPL'ye maruz bırakılırken, günlük bir GSH sentez inhibitörü veya bir sistein ön ilacı enjeksiyonu yapılmıştır. GSH'nin inhibisyonunun kokleayı gürültüye bağlı hasara daha duyarlı hale getirdiğini ve GSH'nin restorasyonunun gürültü kaynaklı koklear hasarı hafiflettiğini bulmuşlardır (65). Benzer şekilde, Ohinata ve arkadaşları GSH'ı akustik hasarda koklear hasarın kısıtlanmasında önemli bir faktör olarak tanımlamışlardır (66).

N-asetil sistein (NAC), karaciğer veya lokal dokudaki sisteini deasetile eder ve gürültünün etkisini birkaç mekanizma yoluyla nötralize eder. NAC hücre ölüm yollarını inhibe eder, kokleada GSH sentezi için bir substrat sağlar ve serbest radikal toplayıcısı olarak işlev görür (67, 68). Bu etkiler nedeniyle, birçok çalışma GBİK'nın tedavisi ve önlenmesi açısından NAC'ı araştırmıştır. NAC, PTS'ye karşı TTS'den daha etkili bulunmuştur. Bu fark, NAC'ın etki mekanizmasına dayanmaktadır. NAC, GSH tükenmesi ve oksidatif stresin neden olduğu tüy hücresi ve nöron kaybı gibi PTS'nin nedenlerine karşı daha etkilidir (67).

Kashani ve arkadaşları, tavşanlarda GBİK'ya karşı NAC'nin etkinliğini araştırmışlardır. 24 tavşanı kontrol grubu, gürültü ve salin grubu, gürültü ve NAC grubu ve sadece NAC grubu olarak dörde ayırmışlar. NAC, gürültü maruziyetinden üç gün önce ve üç gün sonra i.p. enjeksiyon ile uygulanmıştır. ABR (*Auditory Brainstem Response* – İşitsel Beyinsapı Davranımı) testi, gürültüden bir saat ve 14 gün sonra yapılmıştır. Gürültü ve salin grubu tavşanlarda daha yüksek desibellerde geçici ve kalıcı işitme eşikleri görülmesine karşın, NAC alan grupta daha düşük desibellerde geçici ve kalıcı eşik kayması gözlenmiştir. Sonuç olarak, NAC uygulaması, incelenen tüm frekanslarda GBİK'ya karşı yeterli koruma sağlamıştır (69).

NAC'ın GBİK üzerindeki etkisi klinik çalışmalarda da araştırılmıştır. Ge ve arkadaşlarının 363 gönüllü üzerinde yaptığı çalışmada, 223 gönüllü gürültüye maruz kalmadan önce NAC'ı oral yoldan almıştır. Rutin odyometrik değerlendirme ve ABR testi yapılan hastalarda NAC'ın oral uygulamasının GBİK'ya karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır (70).

Aynı şekilde Doosti ve arkadaşları NAC'ın erkek tekstil işçilerinde GBİK'yı önlemedeki etkisini incelemiş ve NAC, 14 gün boyunca 1200 mg/gün dozundan 16 deneğe oral yoldan uygulanmıştır. Maruziyet sonrası eşik değişim aralığı karşılaştırıldığında, NAC uygulanan grup ve kontrol grubu arasında anlamlı bir değişim gösterdiği görülmüştür. Yazarlar, NAC'ın mesleki gürültüye maruz kalan işçilerde gürültüye bağlı TTS'yi azaltabileceği sonucuna varmışlardır (68). Benzer sonuçlar Lin ve arkadaşlarının çelik imalat şirketinde çalışan erkek işçiler üzerinde yaptığı çalışmada da görülmüştür (71).

Magnezyumun, reaktif oksijen türlerini azaltmada nöroprotektif ve vazodilatatör etkilerine bağlı olarak akustik travmaya karşı koruyucu etkisi olduğu düşünülmekte ve düşük maliyetli, daha az yan etkili olması sayesinde rahatlıkla kullanılabileceği diğer hastalıkların tedavisinde de gösterilmiştir (72). Magnezyum hücrelere kalsiyum akışını azaltarak tüylü hücrelerde apoptozu önler. Ayrıca, koklear arteriollerde vazodilatasyona neden olarak iskemiye azaltır (64). Xiong ve arkadaşlarının, GBİK ile kokleadaki magnezyum konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi araştırmak için, gürültüye maruz bıraktıkları 90 guineapigın kokleasındaki magnezyum seviyesini enerji dağılımlı X-ışını analizi yardımıyla ölçtükleri deneysel çalışmada; koklea magnezyum içeriği ile işitme kaybı arasında negatif bir korelasyon gözlemlemişlerdir (73). Aynı şekilde Yıldırım ve arkadaşlarının 39 guineapig üzerinde yaptıkları çalışmada; deneklere 15 gün oral magnezyum verildikten sonra 10 gün boyunca günde 16 saat gürültüye maruz bırakılmış ve sonucunda oral magnezyum tedavisinin GBİK'ya bağlı koklear hasarın önlenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (74).

Attias ve arkadaşlarının, iki ay boyunca temel askeri eğitimi alan 300 sağlıklı kişide ve gürültüye maruz kalmış 20 insan denekte yaptığı iki ayrı klinik çalışmada, magnezyum aspartatın oral yoldan verilmesinin insanlarda sırasıyla hem PTS'ye hem de TTS'ye karşı önemli bir koruma sağladığı gösterilmiştir (75, 76).

Uemaetomari ve arkadaşları, kokleanın akustik hasarında kalsiyum kanal blokerlerinin koruyucu olabileceğini düşünüp, fareleri dört saat boyunca 128 dB SPL'ye maruz bırakmış ve gürültüden hemen önce L-tipi veya T-tipi kalsiyum kanalı blokörleri uygulamışlardır. Diltiazem, verapamil, nikardipin ve nimodipin gibi L-tipi kalsiyum kanal blokerlerinin, gürültü travmasına karşı tüylü hücreler üzerinde koruyucu bir etki gösterdikleri bulunmuştur (77). Heinrich ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da, akustik maruziyet sonrası dış tüylü hücreleri korumada diltiazemin etkili olabileceği gösterilmiştir (78).

Antioksidan A, C ve E vitaminlerinin, magnezyum ile sinerjik bir etki yaratarak gürültü bağlı travmaya karşı iç kulağı koruyabileceği bildirilmiştir (5). McFadden ve arkadaşları, altı saat boyunca 114 dB SPL oktav bant gürültüsüne maruz kalmadan önce kobayları 35 gün boyunca normal, takviye edilmiş veya eksik seviyelerde askorbat ile beslemişlerdir. En yüksek seviyede askorbat alan hayvanlarda en düşük PTS seviyesi gözlenmiş ve yüksek düzeyde alınan C vitamininin GBİK'ya karşı duyarlılığı azalttığını öne sürmüşlerdir (79). Fischer ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir çalışmada 48 guineapig, yedi gün boyunca düşük veya yüksek dozda askorbik asitle beslenmiş ve sonucunda yüksek dozda askorbik asit verilmesinin işitme bozukluğunu azalttığı ve kokleayı ses travmasına karşı koruduğu bildirilmiştir (80).

Kapoor ve arkadaşlarının bir askeri üstte 40 erkek işçi üzerinde yaptığı klinik çalışmada, gönüllü olanlara kahvaltıdan sonra 400 mg/gün E vitamini takviyesi verilmiş ve yoğun gürültünün 250, 500 ve 1000 Hz frekanslarında işitme üzerindeki etkisinin kontrol edilmesine yardımcı olduğu bildirilmiştir. E vitaminin çalışmadan haftalar önce başlatılması halinde, gürültüye maruz kalmanın yol açtığı oksidatif stresi azalttığı ve dolayısıyla GBİK'na karşı koruma sağladığı gözlenmiştir. (81).

Gök ve arkadaşları, yerel bir hidroelektrik santralinde çalışan ve GBİK'dan muzdarip kişilerde vitamin A, E, B12 ve folik asit düzeylerini araştırmış ve vitamin B12 düzeyleri; vitamin A, E ve folik asit düzeylerine göre daha düşük bulunmuştur (82).

Nörotrofinler, nöronların hayatta kalma, gelişme ve işlevlerinin birkaç yönünü kontrol eden proteinlerdir. Bunlar ayrıca GBİK'ya karşı başka bir koruyucu ajan olarak kullanılmıştır. Aarnisalo ve arkadaşları, intraskalar glial hücre soyundan

türetilmiş nörotrofik faktör (GDNF) tedavisinin spiral ganglion nöronlarında ve beyin sapında apoptozu azalttığını ileri sürmüşlerdir. GDNF'nin yerel kullanımının, gürültü travmasından sonra koklear nöronların dejenerasyonuna karşı korunmasında yararlı olduğu bildirilmiştir (83). Shoji ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kobaylar 115 dB SPL'ye maruz bırakılmış ve 1 veya 10 ug/ml'lik dozlarda scala timpaniden nörotrofik faktör 3 (NT-3) veya beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) verilmiştir. NT-3 alan hayvanlar, dış tüylü hücre sağkalımında belirgin bir artış ve ABR eşik kaymasında bir azalma sergilerken; BDNF ile tedavi edilen hayvanlar fonksiyonel veya histolojik koruma sağlamamıştır (84).

Koenzim Q10 (CoQ10), lipid peroksidasyonunu inhibe eden, ATP üretimini artıran ve reaktif oksijen türlerini ortadan kaldıran ve böylece oksidatif strese bağlı apoptozu karşı koruyan mitokondriyal solunum zincirinin bir üyesidir. Çok bileşenli CoQ10-terclatrate (Q ter); Koenzim Q10'un suda çözünabilir formülasyonu olup daha iyi biyoyararlanım sağladığı için GBİK'da daha etkili olduğu gösterilmiştir (85).

Hirose ve arkadaşları, üç saat boyunca 130 dB SPL'ye maruz kalan kobaylara gürültü maruziyetinden iki saat önce i.p. olarak suda çözünür CoQ-10 uygulamışlardır. Kaybolan dış tüylü hücrelerin ve ABR eşik kaymalarının sayısının CoQ-10 verilmiş hayvanlarda önemli ölçüde daha düşük olduğunu gözlemlemişlerdir (86).

Staffa ve arkadaşlarının yaptığı klinik çalışmada 30 gönüllü, 10 dakika boyunca 90 dB SPL dar bant gürültüsüne maruz bırakılıp her kişi için iyileşme süresi kaydedilmiştir. 18 kişiye ise Q-ter oral verilip, ardından ikinci bir test uygulanmış ve Q-ter grubunda ortalama geri kazanım süresi kontrol deneklerine göre anlamlı derecede daha küçük çıkmıştır. Oral olarak 160 mg Q-ter uygulaması, gürültüye maruz kaldıktan sonra daha hızlı iyileşmeye neden olduğu bildirilmiştir (87).

Ahn ve arkadaşları, gürültüye maruz kalan farelerde işitmenin korunmasında A vitamininin aktif bir metaboliti olan all-trans retinoik asidin (ATRA) rolünü araştırmak için fareleri ardı ardına üç gün boyunca günde üç saat 122 dB SPL'ye maruz bırakmışlardır. Denekleri, gürültüden iki gün önce ve gürültüye maruz kaldıkları üç gün boyunca 1 mg/kg ATRA ile beslemişler ve çalışma sonunda

ATRA'nın JNK (Jun-N-terminal kinaz) yolunun (apoptotik kaskat) inhibisyonuyla GBİK'ya karşı fareleri koruyabildiği sonucuna varmışlardır (88).

Claussen ve arkadaşları, gürültü maruziyetinden önce ve sonra D-metionin uygulamasının GBİK'ya karşı koruyucu etkisini araştırmış ve gürültüye bağlı ABR eşik kaymasına ve dış tüylü hücre kaybına karşı önemli ölçüde koruduğu belirtilmiştir (89). Ge ve arkadaşları, benzer klinik çalışmayı 203 gönüllüden 113'üne gürültü öncesi D-metionin tabletlerini oral vererek yapmış ve D-metionin tabletlerinin GBİK'ya karşı korumada etkili olduğunu öne sürmüşlerdir (90).

Kansu ve arkadaşları, aşırı akustik maruziyet sonrası vazodilatatör bir ilaç olan pentoksifilin koklea üzerindeki koruyucu etkisini araştırmış ve 18 adet fareye 150 mg/kg tek doz pentoksifilini i.p. olarak uygulamışlardır. Pentoksifilin ile tedavi edilen hayvanlarda histolojik bulgular ve ABR kayıtları normale yakın gelmesi üzerine; yazarlar, pentoksifilin gürültüye karşı güçlü bir koruyucu etkiye sahip olduğunu öne sürmüşlerdir (91).

Ginkgo biloba ekstresi kan dolaşımını artırır, serbest radikalleri temizler ve trombosit aktive edici faktöre karşı antagonistik etki gösterir. Lee ve arkadaşları, ginkgo biloba'nın GBİK üzerindeki etkisini araştırmış ve fareler bir saat boyunca 110 dB SPL'ye maruz bırakılmıştır. Deney grubundaki fareler, gürültüye maruz kalmadan yedi gün önce 3, 6 veya 12 mg/kg ginkgo biloba ile beslenmiş ve tüm dozlarda, 16 kHz'de ginkgo biloba ile beslenen farelerde ABR'de daha hızlı bir iyileşme gözlenmiştir. Diğer frekanslardaki işitme kaybının iyileşmesinde anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Yazarlar, ginkgo biloba'nın gürültüden sonra geçici işitme eşiği kayması üzerinde kısmi bir etkiye sahip olduğu sonucuna varmışlardır (92).

Alfa-lipoik asit (ALA) mitokondriyal enzimler için gerekli bir kofaktördür. Aynı zamanda antioksidan etkiler sergiler ve güçlü bir serbest radikal süpürücü olarak hareket eder. ALA'nın GBİK üzerindeki etkisi Quaranta ve arkadaşları tarafından değerlendirilmiştir. Tek doz 600 mg ALA'nın TTS'yi indüklediğini, 10 gün boyunca ALA uygulamasının özellikle 6 kHz'de önemli bir koruma sağladığını bildirmişlerdir. Ayrıca, bu grupta gürültü maruziyetinden sonra TEOAE genlik değişiminin daha düşük olduğu görülmüştür. Kısa bir ALA uygulamasının insanlarda TTS'ye karşı koruyucu bir etkiye sahip olabileceği sonucuna varmışlardır (93).

Bir başka çalışmada, devedikeni otunun ekstresinden elde edilen bir antioksidan flavonoid kompleksi olan silimarinin etkisi araştırılmıştır. Silimarin altı gün boyunca kobaylara i.p. olarak enjekte edilmiş ve hayvanlar altı saat 120 dB SPL'ye maruz bırakılmıştır. Tedavi edilen hayvanların eşik kayması önemli ölçüde azalmıştır. Yazarlar silimarinin hem geçici hem de kalıcı GBİK'ya karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğunu öne sürmüşlerdir (94).

Biz de bir başka flavonoid grubu hesperidinin, akustik travmaya karşı etkinliğini araştırdık. 28 adet rat ile yaptığımız deneysel hayvan çalışmamızda; 4 kHz 110 dB SPL ile 12 saat boyunca beyaz gürültüye maruz bırakmak suretiyle bir akustik travma modeli oluşturduk. Bunu da hemen öncesinde ve sonrasında yaptığımız DPOAE ölçümüyle göstermiş olduk. Literatüre baktığımız zaman antiinflamatuvar, antioksidan, antihiperlipidemik, antikarsinojenik, antialerjik, antiagregan gibi birçok özelliği bulunan hesperidinin GBİK'ya karşı etkinliğinin çalışıldığı bir araştırma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamız özgün bir araştırma niteliği taşımaktadır.

Hesperidin, genel olarak turuncgillerde bulunan flavanon grubu bir biyoflavonoiddir. Yutulduğunda aglikon olan hesperetin açığa çıkarır. Biyolojik aktivitelerinin çeşitliliği nedeniyle, literatürde hesperidinin etkilerini araştıran çok sayıda çalışma vardır.

Kara ve arkadaşları sisplatin ile indüledikleri ototoksisite sıçan modelinde, hesperetinin hem histopatolojik hem de immünohistokimyasal olarak koklear apoptoz üzerindeki etkisini araştırmışlardır. İ.p. olarak 12 mg/kg cisplatin ve 20 mg/kg hesperetin verilmiştir. Hesperetinin, antioksidan enzimler ve azaltılmış oksidan parametreleri ile ototoksisiteyi önleyebileceği ve koklear hücrelerin proliferasyonundan kaynaklanan apoptoza karşı koruyabileceği bildirilmiştir (11).

Hesperidin, hyaluronik asidin parçalanmasını sağlayan ve böylece doku geçirgenliğini arttıran hiyalüronidaz enzimini inhibe ederek kılcal damarların geçirgenliğini ve kırılgenliğini azalttığı için kronik venöz yetmezlik ve buna bağlı venöz ülserler, hemoroid ve hemorajik purpura gibi hastalıklarda kullanıldığında faydalı olduğu bildirilmiştir. Hesperidin, kılcal geçirgenliği azalttığı ve kısmen lökosit aktivasyonunu, migrasyonunu ve yapışmasını inhibe ederek kılcal damar direncini arttırdığı düşünülmüştür (10, 95). Guilhou ve arkadaşlarının yaptığı

randomize bir çalışmada, 10 cm çapa kadar ciddi ülserlerde iyileşme sürecinin hızlandırılmasında elastik kompresyona ek olarak, oral olarak günlük iki tablet 500 mg Daflon (450 mg diosmin + 50 mg hesperidin) ile 60 günlük tedavi etkili olmuştur (96).

Giannini ve arkadaşlarının ameliyat edilen akut hemoroidal krizi olan 134 hasta üzerinde yaptığı çalışmada, 66 hastaya diosmin, troxerutin ve hesperidin karışımı, geri kalan kontrol grubuna ise plasebo verilmiştir. Flavonoidlerin karışımının, hemoroidal krizin ana semptomları üzerinde, anal ağrı ve kanamasında plaseboya kıyasla anlamlı ve hızlı bir düşüşe neden olduğunu bildirilmiştir. Ayrıca, ödem ve trombozu objektif klinik olarak değerlendirilerek, her iki grupta da zaman içinde önemli ölçüde azaldığını, ancak denek grubundaki hastalarda iyileşmenin daha hızlı ve daha tutarlı olduğunu göstermişlerdir (97). Benzer şekilde, Corsale ve arkadaşlarının hemoroidal hastalığı olan 154 hastada yaptığı çalışmada; flavonoidlerin karışımının (diosmin, troxerutin, rutin, hesperidin, quercetin), hemoroidal hastalıklardaki kanamaları yönetmede güvenli ve etkili bir ilaç olduğunu bildirmişlerdir (98).

Hesperidin, 3-hidroksi-3-metil-glutaril-CoA (HMGCoA) redüktaz ve açıl-CoA kolesterol açıl transferazın (ACAT) plazma ve karaciğer aktivitelerini azaltarak hipokolesterolemik etki göstermiştir (10). Wang ve arkadaşlarının 60 adet sıçan üzerinde yaptığı çalışmada, standart diyetle % 2 kolesterol ve % 0,5 kolik asit eklenerek oluşturulan yüksek kolesterol diyetiyle 12 hafta beslenerek sıçanlarda hiperkolesterolemi ve yağlı karaciğer oluşturulmuş ve diyetle % 0,08 oranında hesperidin eklenerek koruyucuğu araştırılmıştır. Hesperidinin, hem kolesterol sentezini ve emilimini inhibe ederek hem de mesajcı ribonükleik asit (mRNA) ekspresyonuna düzenleyerek hiperkolesterolemi ve yağlı karaciğeri iyileştirebildiği gösterilmiştir (99).

Sıçanlarda yapılan çalışmalarda düşük dansiteli lipoprotein (LDL), total lipit ve trigliserit düzeylerini anlamlı derecede düşürdüğü ve yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeylerini ise yükselttiği gösterilmiştir (10). Kim ve arkadaşlarının hamsterler üzerinde yüksek yağlı diyet vererek yaptığı çalışmada 12 hafta boyunca hesperidin alan deneklerde, kontrol grubuna kıyasla plazma total kolesterol, HDL hariç diğer lipoprotein kolesterol, apolipoprotein B, hepatik lipidler ve kolesterol

düzenleyici enzimlerin seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur. HDL/total kolesterol oranını arttırırken, aterosklerotik indeks değerlerini azaltmada etkili olduğu bildirilmiştir (100). Rizza ve arkadaşları, oral hesperidin uygulamasının (üç hafta boyunca günde bir kez 500 mg) metabolik sendromu olan kişilerde olumlu yönde lipit profillerini değiştirdiğini ve hesperidin endotel hücrelerde nitrik oksit (NO) üretimini uyarıp, endotel fonksiyonunu iyileştirerek ve inflamatuvar belirleyicileri azaltarak vasküloprotektif etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir (101). Kurowska ve arkadaşları, hiperkolesterolemili bireylerde yaptığı çalışmada, 4-6 hafta boyunca portakal suyu tüketiminin HDL'yi arttırdığını ve trigliseridleri düşürdüğünü söylemişlerdir (102). Ohtsuki ve arkadaşlarının, kendiliğinden hipertansif sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada, hayvanlar 25 hafta hesperidin içeren bir diyetle beslenmiştir. Çalışmanın sonucunda uzun süreli hesperidin uygulanmasının, serum kolesterol düzeyini iyileştirdiğini ve vasküler hipertrofiyi inhibe ederek antihipertansif etki oluşturduğunu biyokimyasal ve histopatolojik olarak göstermişlerdir (103). Hesperidin, vasküler tonusun modülasyonuna bağlı gen ekspresyonunu düzenleyerek hipertansiyonu önlediğini gösteren çalışmalar da vardır (104).

Ikemura ve arkadaşlarının, hesperidin kan basıncı ve serebral tromboz üzerindeki etkilerini araştırmak için inme eğilimli spontan hipertansif sıçanlar kullanılarak yaptıkları çalışmada; hesperidin güçlü antioksidan özelliklerinin NO inaktivasyonunu düzenleyebildiğini ve endotel fonksiyonunun reaktif oksijen türlerinden korunabileceğini göstermişlerdir. Bu şekilde NO'nun biyoyararlanımını arttırarak hipertansiyon ve tromboz mekanizmaları üzerinde faydalı etkiler sağlayabileceği söylenmiştir (105).

McGregor ve arkadaşlarının, İndiyum ile işaretlenmiş trombositler kullanarak fareler üzerindeki yaptığı çalışmada; hesperidin ratlarda adenosin difosfat (ADP), kollajen, arşidonik asit ve trombin kaynaklı trombosit agregasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (106). Yu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuş ve hesperidin antitrombotik etkisi nedeniyle yüksek kardiyovasküler hastalık riski taşıyan bireyler için faydalı olabileceği düşünülmüştür (107).

Serbest radikaller tümörün gelişimini indükler. Flavonoidler gibi doğal polifenoller, serbest radikalleri temizledikleri için antioksidan özelliklere

sahiptirler (108). Leelavinothan ve arkadaşlarının, çevremizde yaygın bulunan ve zararlı bir element olduğu için birçok hastalığa neden olan kadmiyum üzerinde yaptığı çalışmada, farelere 21 gün boyunca deri altından günlük 83 mg/kg kadmiyum ve oral yoldan günlük 840 mg/kg hesperetin vermişlerdir. Kadmiyum kaynaklı biyokimyasal değişiklikler hesperidinin serbest radikal süpürücü ve antioksidan potansiyeline bağlı engellenmiştir (109).

Hesperidinin, antioksidan özelliği sayesinde SOR'u temizleyerek antitümöral etki gösterdiği tespit edilmiştir (110). Yapılan çalışmalarda hesperidinin akciğer kanseri, mesane kanseri, kolon kanseri, oral kanserler, meme kanseri, hepatoselüler karsinom ve metastazları üzerine önleyici etkisi gösterilmiştir.

Kohno ve arkadaşları, i.p. 4-(metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-bütanon (NNK) enjeksiyonu ile indüklenerek akciğer karsinogenez modeli oluşturulan farelere, bir hafta sonrasında 21 boyunca hesperidin vermişler ve immünohistokimyasal olarak incelediklerinde, hesperidinin akciğer kanserini önlemede etkili olabileceğini göstermişlerdir (111). Benzer şekilde; Yang ve arkadaşları N-bütıl-N-(4-hidroksibütıl)-nitrozamin (OH-BBN) ile indüklenen mesane karsinogenezine (112), Tanaka ve arkadaşları azoxymetan ile indüklenen kolon karsinogenezine (113) ve 4-nitrokinolin 1-okisit (4-NQO) ile indüklenen oral karsinogenezine (114), Nandakumar ve arkadaşları 7,12-dimetilbenz(a)antrasen (DMBA) ile indüklenen meme karsinogenezine (115), Yeh ve arkadaşları (116) asetaldehit ile indüklenen hepatik karsinogenezine ve metastazına karşı hesperidin verilmesinin tümör oluşumunu önlemede etkili olabileceğini düşünmüşlerdir.

Yapılan iki ayrı çalışmada trikloretilen ve sisplatin nefrotoksitesine karşı verilen hesperidinin; lipit peroksidasyonunu azaltıp, antioksidan enzim seviyesini arttırarak kan üre ve kreatin düzeylerini düşürdüğü ve nefroprotektif ajan olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (117, 118). Siddiqi ve arkadaşları, dietilnitrozamin (DEN) ile başlatılmış ve Fe-NTA (demir-Nitritotriasetat) ile arttırılan ve temel mekanizması oksidatif stres olan renal hücreli karsinom modeli oluşturmuş ve 16 hafta boyunca 100 ile 200 mg/kg hesperidin verilmiştir. Çalışma sonucunda, hesperidinin oksidatif stresi hafifletme ve COX-2/PGE2 yolunu inhibe etme özelliğinden dolayı böbrek kanserinin önlenmesinde umut verici bir modülatör olabileceği sonucuna varılmıştır (119, 120). Bu antioksidan özelliği sayesinde sadece

nefroprotektif bir ajan olmayıp aynı zamanda hepatoprotektif özelliğinin de olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (121-123).

Khedr ve arkadaşları, tek doz i.p. 150 mg/kg siklofosfamid verilerek dişi farelerin overlerinde oksidatif hasara bağlı toksisite oluşturmuş ve infertilite modeli oluşturmuşlardır. Farelere 100 mg/kg dozundan hesperidin oral olarak sekiz gün verilmiş ve fare overleri çıkarılarak histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelenmiştir. Hesperidin, antioksidan etkisine bağlı olarak siklofosfamidin meydana getirdiği toksik etkiyi tersine çevirerek fertilitiyi koruyucu etki göstermiştir (124). Benzer bir çalışma Vijaya ve arkadaşları tarafından yapılmış, erkek farelerin testislerinde vanadyum kaynaklı toksisite oluşturularak hesperidinin etkinliği test edilmiştir. Hesperidin, fare testislerinde vanadyumun neden olduğu oksidatif hasara karşı koruyucu etki göstererek fertilitiyi üzerine koruyucu etki göstermiştir (125).

Knekt ve arkadaşlarının 10.054 hasta üzerinde yaptığı çalışmada hesperidin içeren flavonoid karışımından oluşan diyetin düzenli alımının; astım, tip 2 diyabet ve iskemik kalp hastalığı gibi kronik hastalıkların insidansında azalma oluşturduğu gösterilmiştir (126). Ito ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise diyabetik sıçanlarda iskemik kalp hastalığı modelinde hesperidinin etki yolağını araştırmış ve hesperidinin, pioglitazon gibi çeşitli PPAR- γ (peroksizom proliferatör-aktive reseptör-gamma) agonistlerinin sıçan ve tavşanlarda yaptığı bölgesel miyokardiyal iskemi ve reperfüzyonuna karşı etkili olduğu ve bunu inflamasyonu ve miyokardiyal hasarı azaltarak yaptığı gösterilmiştir. (127). Buna binayen diyabetik ratlar üzerinde yapılan çalışmada; 14 gün boyunca; bir gruba sadece 100 mg/kg dozundan hesperidin, bir gruba sadece PPAR- γ antagonisti, diğer gruba da aynı dozdan hesperidin+PPAR- γ verilip sonrasında 45 dakika boyunca sol ön inen koroner arter tıkanıklığına ve ardından bir saatlik reperfüzyona tabi tutularak iskemik kalp hastalığı modeli oluşturulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde PPAR- γ antagonisti ters etki üreterek hesperidinin etkisini azaltmıştır. Hesperidinin, diyabetik sıçanlarda iskemik kalp hastalığı modelinde PPAR- γ yolu ile kardiyoprotektif aktivite ürettiği bildirilmiştir (128). Başka bir çalışmada, tip 2 diyabette hesperidinin, kan basıncı ve inflamatuvar belirteçler üzerindeki etkilerini incelenmiş; sistolik ve diastolik kan basıncında, serum total antioksidan kapasitesinde, inflamatuvar belirteçlerinde (tümör nekroz faktör-alfa, interlökin-6, yüksek hassasiyetli C-reaktif protein) kontrol

grubuna göre anlamlı bir fark mevcut olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre hesperidinin tip 2 diyabette antihipertansif ve antiinflamatuvar etkileri olabileceğini düşünülmüştür (129).

Selmi ve arkadaşları tarafından hesperidinin, etanol ile indüklenen oksidatif strese karşı peptik ülserdeki gastroprotektif etkileri araştırılmış; histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelendiğinde hesperidinin sıçanlarda etanol uygulamasının neden olduğu tüm mide hasarlarına karşı önemli ölçüde koruma sağladığı belirtilmiştir (130).

Yapılan birçok çalışmada, ultraviyole A ve B'ye bağlı ciltte oluşan inflamasyon ve oksidatif strese karşı hesperidin, topikal ve sistemik olarak uygulanmış ve deride meydana gelen hasara karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (131-133).

Bizim çalışmamızda AT'ye bağlı işitme kaybı olan ve hesperidin verdiğimiz gruptaki ratların DPOAE ölçümlerinde belirgin şekilde düzelme tespit ettik. Histopatolojik değerlendirmede ise hesperidinin koklea üzerindeki etkisini doku kesitlerinde H&E boyama ile tespit ettik. AT'ye bağlı işitme kaybı oluşan ratların kokleasındaki dış tüy hücrelerinde şiddetli düzeyde azalma, spiral ganglion hücrelerinde şiddetli dejenerasyon gibi bulguların hesperidin verilen grupta belirgin derecede iyileşme gösterdiğini tespit ettik.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada, literatürde ilk defa ratlarda AT'ye bağlı işitme kaybında hesperidinin koruyucu etkilerini elektrofizyolojik ve histopatolojik olarak araştırdık. Hesperidinin AT'ye bağlı işitme kaybına karşı koruma sağladığını, yapılan DPOAE ölçümlerinde ve histopatolojik incelemelerinde belirgin derecede düzelme meydana getirdiğini tespit ederek gösterdik. Çalışmamızdaki bulgular sonucunda hesperidinin AT'ye bağlı işitme kaybı profilaksisi ve tedavisinde yararlı olabilecek bir ajan olduğunu düşünmekteyiz.



7. KAYNAKLAR

1. Thurston FE. The worker's ear: a history of noise-induced hearing loss. *Am J Ind Med.* 2013 Mar;56(3):367-77.
2. Yamane H, Nakai Y, Takayama M, et al. The emergence of free radicals after acoustic trauma and strial blood flow. *Acta Otolaryngol Suppl.* 1995;519: 87-92.
3. Soyaliç H, Gevrek F, Karaman S. Curcumin protects against acoustic trauma in the rat cochlea. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2017 Aug;99: 100-106.
4. Gilles A, Ihtijarevic B, Wouters K, Van de Heyning P. Using prophylactic antioxidants to prevent noise-induced hearing damage in young adults: a protocol for a double-blind, randomized controlled trial. *Trials.* 2014 Apr 5;15: 110.
5. 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 May 1;42(9): 1454-63.
6. Xiong H, Ou Y, Xu Y, et al. Resveratrol Promotes Recovery of Hearing following Intense Noise Exposure by Enhancing Cochlear SIRT1 Activity. *Audiol Neurotol.* 2017;22(4-5): 303-310.
7. Tziridis K, Korn S, Ahlf S, Schulze H. Protective effects of Ginkgo biloba extract EGb 761 against noise trauma-induced hearing loss and tinnitus development. *Neural Plast.* 2014;2014: 427298.
8. Chang YS, Bang K, Choi N, et al. Factors Associated With the Benefits of Concurrent Administration of Intratympanic Steroid Injection With Oral Steroids in Patients With Acute Acoustic Trauma. *Otol Neurotol.* 2018 Apr 11.
9. Colombari GC, Rossato M, Feres O, Hyppolito MA. Effects of hyperbaric oxygen treatment on auditory hair cells after acute noise damage. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2011 Jan;268(1): 49-56.
10. Garg A, Garg S, Zaneveld LJ, Singla AK. Chemistry and pharmacology of the Citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytother Res.* 2001 Dec;15(8): 655-69.

11. Kara M, Türkön H, Karaca T, et al. Evaluation of the protective effects of hesperetin against cisplatin-induced ototoxicity in a rat animal model. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2016 Jun;85: 12-8.
12. Koç C. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi. 2. Baskı. Ankara. Güneş Tıp Kitabevleri; 2013. s47-64.
13. Szymanski A, Bhimji SS. Anatomy, Head, Ear. 2017 Nov 5. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2018 Jan.
14. Bailey JB, Johnson JT. Baş ve Boyun Cerrahisi-Otolarengoloji. 4. Baskı, 2. Cilt. Lippincott Williams and Wilkins; 2011. s1883.
15. ONeill OJ, Frank AJ. Diving, Ear Barotrauma. 2018 May 13. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2018 Jan.
16. Akyıldız NA. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi Vol 1. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi;1998. pp.3- 73.
17. Devranoğlu İ. Dış ve Orta Kulak Cerrahisi. 1. Baskı. 2011. s2-13.
18. Szymanski A, Whitten RA. Anatomy, Head, Ear, Eustachian Tube. 2018 Feb 23. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2018 Jan.
19. Arıncı K, Elhan A. Kulak, işitme ve denge organları anatomisi. 2. Baskı. Ankara. Güneş Kitapevi; 1997. s466-490.
20. Møller A. Hearing Anatomy, Physiology, and Disorders of the Auditory System. 3rd Ed. San Diego: Plural Publishing; 2013. p1-21.
21. Koç C. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi. 2. Baskı. Ankara. Güneş Tıp Kitabevleri; 2013. S65-72.
22. Thomson S, Madani G. The windows of the inner ear. *Clin Radiol*. 2014 Mar;69(3):e146-52.
23. Lee KJ. Essential otolaryngology, head and neck surgery. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2003.
24. Duckert LG. Anatomy of skull base, temporal bone, external ear and middle ear. In Cummings CW, (Fredrickson JM, Schuller DE, et al, ed). *Otolaryngology Head & Neck Surgery*. 3rd ed. St Louis: Mosby- year Book. 2533-46, 1998.
25. Møller A. Hearing Anatomy, Physiology, and Disorders of the Auditory System. 3rd Ed. San Diego: Plural Publishing; 2013. p49-68.

26. Bailey JB, Johnson JT. Baş ve Boyun Cerrahisi-Otolarengoloji. 4. Baskı, 2. Cilt. Lippincott Williams and Wilkins; 2011. s1897-1901.
27. Møller A. Hearing Anatomy, Physiology, and Disorders of the Auditory System. 3rd Ed. San Diego: Plural Publishing; 2013: 91-113.
28. Wever E.G., Lawrance, M., 1966 Physiological Acoustics. Princeton. University Press, Princeton-New Jersey.
29. Hong O, Kerr MJ, Poling GL, Dhar S. Understanding and preventing noise-induced hearing loss. Dis Mon. 2013 Apr;59(4): 110-118.
30. Basner M, Babisch W, Davis A, et al. Auditory and nonauditory effects of noise on health. Lancet 2014; 383: 1325–1332.
31. Stucken EZ, Hong RS. Noise-induced hearing loss: an occupational medicine perspective. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2014 Oct;22(5): 388-93.
32. Bayazıt YA (2013) Yüksek ses enerjisine bağlı işitme kayıpları. In: Çelik O (ed) Otoloji ve Nöro-otoloji. Elit offset, İstanbul, pp 723–732.
33. Sliwinska-Kowalska M, Pawelczyk M. Contribution of genetic factors to noise-induced hearing loss: a human studies review. Mutat Res. 2013 Jan-Mar;752(1): 61-5.
34. National Institutes of Health. Consensus Development Conference Statement: Noise and Hearing Loss. Bethesda, MD; U.S. Department of Health & Human Services; 1990.
35. Yang CJ, Chung JW. Pathophysiology of Noise Induced Hearing Loss. Korean Academy of Audiology / Audiol Speech Res 2016;12 Suppl 1: S14-S16.
36. Fetoni AR, Paciello F, Rolesi R, et al. Rosmarinic acid up-regulates the noise-activated Nrf2/HO-1 pathway and protects against noise-induced injury in rat cochlea. Free Radic Biol Med. 2015 Aug;85: 269-81.
37. Griest S.E., Bishop P.M. Tinnitus as an early indicator of permanent hearing loss. A 15 year longitudinal study of noise exposed workers AAOHN J., 46 (1998), pp. 325-329.
38. Phoon W.H., et al. Tinnitus in noise-exposed workers Occup. Med. (Lond), 43 (1993), pp. 35-38.
39. McShane D.P., et al. Tinnitus prevalence in industrial hearing compensation claimants Clin Otolaryngol., 13 (1988), pp. 323-330.

40. Koç C. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi. 2. Baskı. Ankara. Güneş Tıp Kitabevleri; 2013. S73-86.
41. Hall JW 3rd, Baer JE, Chase PA, et al. Clinical application of otoacoustic emissions: what do we know about factors influencing measurement and analysis? *Otolaryngol Head Neck Surg* 1994; 110: 22- 8.
42. Nozza RJ, Sabo DL, Mandel EM. A role for otoacoustic emissions in screening for hearing impairment and middle ear disorders in school-age children. *Ear Hear*. 1997; 18: 227- 39.
43. Hall JW, Lewis MS. Diagnostic Audiology, Hearing Aids and Habilitation Options. In: James B. Snow Jr, John Jacob Ballenger, ed. *Ballenger's Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*. Sixteenth Edition. BC Decker Inc 2003. pp. 134- 160.
44. Penner MJ, Glotzbach L, Huang T. Spontaneous otoacoustic emissions: measurement and data. *Hear Res* 1993; 68: 229-37.
45. Brown CJ. Electrophysiologic Assessment of Hearing. Cummings CW (editors). *Cummings Otolaryngology Head and Neck Surgery*. 4. Baskı, Philadelphia: Elsevier Mosby, 2005: 3466-3482.
46. Attias J, Horovitz G, El-Hatib N, Nageris B. Detection and Clinical Diagnosis of Noise-Induced Hearing Loss by Otoacoustic Emissions. *Noise Health* 2001; 3: 19-31.
47. Decker TN. General recording considerations and elinical instrument options. "Otoacoustic Emissions: Clinical Applications" (Ed. Robinette M.S., Glatcke TJ) Thieme New York. (1997).
48. Natarajan N, Thamaraiselvan R, Lingaiah H, et al. Effect of flavonone hesperidin on the apoptosis of human mammary carcinoma cell line MCF-7 *Biomedicine & Preventive Nutrition* Volume 1, Issue 3, July–September 2011: 207–215.
49. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*. 2001 Oct;74(4): 418-25.
50. Manthey JA. Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. *Microcirculation*. 2000;7(6 Pt 2): S29-34.

51. Baykut F, Benlioglu G, Baykut G (1986) Photocatalytic production of ascorbic acid. A secondary photosynthesis in plants. In: Pelizzetti E, Serpone ND (eds) Homogenous and heterogeneous photocatalysis. Reidel Publishing, New York, pp 161–173.
52. Meyer OC. Safety and security of Daflon 500 mg in venous insufficiency and in hemorrhoidal disease. *Angiology* 1994; 45(6 Pt 2): 579-584.
53. Prasher D (2009) Is there evidence that environmental noise is immunotoxic. *Noise Health* 11: 151–155.
54. Belgin E, Çalışkan M (2004) Çalışma yaşamında gürültü ve işitmenin korunması, 1st ed. TTB yayınları, Ankara.
55. Mrena R, Ylikoski J, Kiukaanniemi H, et al (2008) The effect of improved hearing protection regulations in the prevention of military noise-induced hearing loss. *Acta Otolaryngol* 128: 997–1003.
56. Niskar A.S., et al. Prevalence of hearing loss among children 6 to 19 years of age: the Third National Health and Nutrition Examination Survey *J. Am. Med. Assoc.*, 279 (1998), pp. 1071-1075.
57. Niskar A.S., et al. Estimated prevalence of noise-induced hearing threshold shifts among children 6 to 19 years of age: the third national health and nutrition examination survey, 1988 1994, *United States Pediatrics*, 108 (2001), pp. 40-43.
58. Lynch ED, Kil J. Compounds for the prevention and treatment of noise-induced hearing loss. *Drug Discov Today*. 2005 Oct 1;10(19): 1291-8.
59. Wang B, Liu Y, Chi F, et al (2013) Dexamethasone suppresses cochlear Hes1 expression after noise exposure. *Acta Otolaryngol* 133: 233–238.
60. Takemura K, Komeda M, Yagi M, et al (2004) Direct inner ear infusion of dexamethasone attenuates noise-induced trauma in guinea pig. *Hear Res* 196: 58–68.
61. Arslan HH, Satar B, Serdar MA, et al (2012) Effects of hyperbaric oxygen and dexamethasone on proinflammatory cytokines of rat cochlea in noise-induced hearing loss. *Otol Neurotol* 33: 1672–1678.

62. Ozdogan F, Ensari S, Cakir O, et al (2012) Investigation of the cochlear effects of intratympanic steroids administered following acoustic trauma. *Laryngoscope* 122: 877–882.
63. Zhou Y, Zheng G, Zheng H, et al (2013) Primary observation of early transtympanic steroid injection in patients with delayed treatment of noise-induced hearing loss. *Audiol Neurotol* 18: 89–94.
64. Sakat MS, Kilic K, Bercin S. Pharmacological agents used for treatment and prevention in noise-induced hearing loss. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016 Dec;273(12): 4089-4101.
65. Yamasoba T, Nuttall AL, Harris C, et al (1998) Role of glutathione in protection against noise-induced hearing loss. *Brain Res* 784: 82–90.
66. Ohinata Y, Yamasoba T, Schacht J, Miller JM (2000) Glutathione limits noise-induced hearing loss. *Hear Res* 146: 28–34.
67. Kopke RD, Jackson RL, Coleman JK, et al (2007) NAC for noise: from the bench top to the clinic. *Hear Res* 226: 114–125.
68. Doosti A, Lotfi Y, Moossavi A, et al (2014) Comparison of the effects of N-acetyl-cysteine and ginseng in prevention of noise induced hearing loss in male textile workers. *Noise Health* 16: 223–227.
69. Kashani MM, Saberi H, Hannani M (2013) Prevention of acoustic trauma-induced hearing loss by-N-acetylcysteine administration in rabbits. *Arch Trauma Res* 1: 145–150.
70. Ge Z, Ma S, Jia X, Song L (2011) Study of protective effects on noise-induced hearing loss using N-acetyl-cysteine. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* 25: 1040–1041.
71. Lin CY, Wu JL, Shih TS, et al (2010) N-Acetyl-cysteine against noise-induced temporary threshold shift in male workers. *Hear Res* 269: 42–47.
72. Sendowski I (2006) Magnesium therapy in acoustic trauma. *Magn Res* 19: 244–254.
73. Xiong M, Wang J, Yang C, Lai H (2013) The cochlea magnesium content is negatively correlated with hearing loss induced by impulse noise. *Am J Otolaryngol* 34: 209–215.

74. Yildirim C, Yagiz R, Uzun C, et al (2006) The protective effect of oral magnesium supplement on noise-induced hearing loss. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg* 16: 29–36.
75. Attias J, Weisz G, Almog S, et al (1994) Oral magnesium intake reduces permanent hearing loss induced by noise exposure. *Am J Otolaryngol* 15: 26–32.
76. Attias J, Sapir S, Bresloff I, et al (2004) Reduction in noise-induced temporary threshold shift in humans following oral magnesium intake. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 29: 635–641.
77. Uemaetomari I, Tabuchi K, Nakamagoe M, et al (2009) L-type voltage-gated calcium channel is involved in the pathogenesis of acoustic injury in the cochlea. *Tohoku J Exp Med* 218: 41–47.
78. Heinrich UR, Maurer J, Mann W (1999) Ultrastructural evidence for protection of the outer hair cells of the inner ear during intense noise exposure by application of the organic calcium channel blocker diltiazem. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 61: 321–327.
79. McFadden SL, Woo JM, Michalak N, Ding D (2005) Dietary vitamin C supplementation reduces noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Hear Res* 202: 200–208.
80. Fischer I, Heinrich UR, Brieger J, et al (2009) Protection of the cochlea by ascorbic acid in noise trauma. *HNO* 57: 339–344.
81. Kapoor N, Mani KV, Shyam R, et al (2011) Effect of vitamin E supplementation on carbogen-induced amelioration of noise induced hearing loss in man. *Noise Health* 13: 452–458.
82. Gök U, Halifeoglu I, Yildiz M (2004) The levels of vitamins A, E, B12 and folic acid in noise-induced hearing loss. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg* 12: 60–64.
83. Aarnisalo AA, Pirvola U, Liang XQ, et al (2000) Apoptosis in auditory brainstem neurons after a severe noise trauma of the organ of Corti: intracochlear GDNF treatment reduces the number of apoptotic cells. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 62: 330–334.

84. Shoji F, Miller AL, Mitchell A, et al (2000) Differential protective effects of neurotrophins in the attenuation of noise-induced hair cell loss. *Hear Res* 146: 134–142.
85. Fetoni AR, Piacentini R, Fiorita A, et al (2009) Water-soluble Coenzyme Q10 formulation (Q-ter) promotes outer hair cell survival in a guinea pig model of noise induced hearing loss (NIHL). *Brain Res* 1257: 108–116.
86. Hirose Y, Sugahara K, Mikuriya T, et al (2008) Effect of water-soluble coenzyme Q10 on noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Acta Otolaryngol* 128: 1071–1076.
87. Staffa P, Cambi J, Mezzedimi C, et al (2014) Activity of coenzyme Q 10 (Q Termulticomposite) on recovery time in noise-induced hearing loss. *Noise Health* 16: 265–269.
88. Ahn JH, Kang HH, Kim YJ, Chung JW (2005) Anti-apoptotic role of retinoic acid in the inner ear of noise exposed mice. *Biochem Biophys Res Commun* 335: 485–490.
89. Claussen AD, Fox DJ, Yu XC, et al (2013) D-methionine pre-loading reduces both noise-induced permanent threshold shift and outer hair cell loss in the chinchilla. *Int J Audiol* 52(12): 801–807.
90. Ge Z, Ma S, Jia X, et al (2014) Study of protective effects on noise-induced hearing impairment by D-methionine tablets pre-loading. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* 28: 1232–1234.
91. Kansu L, Ozkarakas H, Efendi H, Okar I (2011) Protective effects of pentoxifylline and nimodipine on acoustic trauma in Guinea pig cochlea. *Otol Neurotol* 32: 919–925.
92. Lee JW, Shim BS, Chung JW (2013) The effect of ginkgo biloba on hearing in mice with noise-induced temporary threshold shift. *Korean J Audiol* 17: 74–77.
93. Quaranta N, Dicorato A, Matera V, et al (2012) The effect of alpha-lipoic acid on temporary threshold shift in humans: a preliminary study. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 32: 380–385.
94. Mohammadkhani G, Pourbakht A, Khanavi M, Faghihzadeh S (2013) Protective effect of silymarin on noise-induced hearing loss in Guinea pigs. *Iran Red Crescent Med J* 15: 11.

95. Ramelet AA. Pharmacologic aspects of a phlebotropic drug in CVI-associated edema. *Angiology*. 2000 Jan;51(1): 19-23.
96. Guilhou JJ, Dereure O, Marzin L, et al. Efficacy of Daflon 500 mg in venous leg ulcer healing: a double-blind, randomized, controlled versus placebo trial in 107 patients. *Angiology*. 1997 Jan;48(1): 77-85.
97. Giannini I, Amato A, Basso L, et al. Flavonoids mixture (diosmin, troxerutin, hesperidin) in the treatment of acute hemorrhoidal disease: a prospective, randomized, triple-blind, controlled trial. *Tech Coloproctol*. 2015 Jun;19(6): 339-45.
98. Corsale I, Carrieri P, Martellucci J, et al. Flavonoid mixture (diosmin, troxerutin, rutin, hesperidin, quercetin) in the treatment of I-III degree hemorrhoidal disease: a double-blind multicenter prospective comparative study. *Int J Colorectal Dis*. 2018 Jun 22.
99. Wang X, Hasegawa J, Kitamura Y, et al. Effects of hesperidin on the progression of hypercholesterolemia and fatty liver induced by high-cholesterol diet in rats. *J Pharmacol Sci*. 2011;117(3): 129-38.
100. Kim HJ, Jeon SM, Lee MK, et al. Comparison of hesperetin and its metabolites for cholesterol-lowering and antioxidative efficacy in hypercholesterolemic hamsters. *J Med Food*. 2010 Aug;13(4): 808-14.
101. Rizza S, Muniyappa R, Lantorno M, et al. Citrus polyphenol hesperidin stimulates production of nitric oxide in endothelial cells while improving endothelial function and reducing inflammatory markers in patients with metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96: 782–792.
102. Kurowska EM, Spence JD, Jordan J, et al. HDL cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr*. 2000;72: 1095–1100.
103. Ohtsuki K, Abe A, Mitsuzumi H, et al. Glucosyl hesperidin improves serum cholesterol composition and inhibits hypertrophy in vasculature. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2003 Dec;49(6): 447-50.
104. Yamamoto M, Jokura H, Suzuki A, et al. Effects of continuous ingestion of hesperidin and glucosyl hesperidin on vascular gene expression in

- spontaneously hypertensive rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2013;59(5): 470-3.
105. Ikemura M, Sasaki Y, Giddings JC, Yamamoto J. Preventive effects of hesperidin, glucosyl hesperidin and naringin on hypertension and cerebral thrombosis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Phytother Res*. 2012 Sep;26(9): 1272-7.
 106. McGregor L, Bellangeon M, Chignier E, et al. Effect of a micronized purified flavonoid fraction on in vivo platelet functions in the rat. *Thromb Res*. 1999 May 15;94(4): 235-40.
 107. Yu HY, Park SW, Chung IM, Jung YS. Anti-platelet effects of yuzu extract and its component. *Food Chem Toxicol* 2011 Dec; 49(12): 3018-3024.
 108. Etcheverry SB, Ferrer EG, Naso L, et al. Antioxidant effects of the VO(IV) hesperidin complex and its role in cancer chemoprevention. *J Biol Inorg Chem* 2008; 13(3): 435-47.
 109. Leelavinothan P, Kalist S. Beneficial effect of hesperetin on cadmium induced oxidative stress in rats: an in vivo and in vitro study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2011 Sep;15(9): 992-1002.
 110. Roohbakhsh A, Parhiz H, Soltani F, et al. Molecular mechanisms behind the biological effects of hesperidin and hesperetin for the prevention of cancer and cardiovascular diseases. *Life Sci*. 2015 Mar 1;124: 64-74.
 111. Kohno H, Taima M, Sumida T, et al. Inhibitory effect of mandarin juice rich in beta-cryptoxanthin and hesperidin on 4-(methylnitrosamino)-1 (3-pyridyl)-1-butanone-induced pulmonary tumorigenesis in mice. *Cancer Lett* 2001 Dec 28; 174(2): 141-150.
 112. Yang M, Tanaka T, Hirose Y, et al. Chemopreventive effects of diosmin and hesperidin on N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-induced urinary-bladder carcinogenesis in male ICR mice. *Int J Cancer* 1997; 73(5): 719-724.
 113. Tanaka T, Makita H, Kawabata K, et al. Chemoprevention of azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis by the naturally occurring flavonoids, diosmin and hesperidin. *Carcinogenesis* 1997; 18(5): 957-965.
 114. Tanaka T, Makita H, Ohnishi M, et al. Chemoprevention of 4-nitroquinoline 1-oxide-induced oral carcinogenesis by dietary curcumin and hesperidin:

- comparison with the protective effect of beta carotene. *Cancer Res* 1994; 54(17): 4653-4659.
115. Nandakumar N, Rengarajan T, Balamurugan A, Balasubramanian MP. Modulating effects of hesperidin on key carbohydrate-metabolizing enzymes, lipid profile, and membrane-bound adenosine triphosphatases against 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced breast carcinogenesis. *Hum Exp Toxicol*. 2014 May;33(5): 504-16.
 116. Yeh MH, Kao ST, Hung CM, et al. Hesperidin inhibited acetaldehyde-induced matrix metalloproteinase-9 gene expression in human hepatocellular carcinoma cells. *Xicol Lett* 2009; 184(3): 204-210.
 117. Siddiqi A, Nafees S, Rashid S, et al. Hesperidin ameliorates trichloroethylene-induced nephrotoxicity by abrogation of oxidative stress and apoptosis in wistar rats. *Mol Cell Biochem*. 2015 Aug;406(1-2): 9-20.
 118. Kumar M, Dahiya V, Kasala ER, et al. The renoprotective activity of hesperetin in cisplatin induced nephrotoxicity in rats: Molecular and biochemical evidence. *Biomed Pharmacother*. 2017 May;89: 1207-1215.
 119. Siddiqi A, Saidullah B, Sultana S. Anti-carcinogenic effect of hesperidin against renal cell carcinoma by targeting COX-2/PGE2 pathway in Wistar rats. *Environ Toxicol*. 2018 Oct;33(10): 1069-1077.
 120. Vasco CF, Watanabe M, Fonseca CDD, Vattimo MFF. Sepsis-induced acute kidney injury: kidney protection effects by antioxidants. *Rev Bras Enferm*. 2018 Jul-Aug;71(4): 1921-1927.
 121. Pari L, Karthikeyan A, Karthika P, Rathinam A. Protective effects of hesperidin on oxidative stress, dyslipidaemia and histological changes in iron-induced hepatic and renal toxicity in rats. *Toxicol Rep*. 2014 Nov 7;2: 46-55.
 122. Chen M, Gu H, Ye Y, et al. Protective effects of hesperidin against oxidative stress of tert-butyl hydroperoxide in human hepatocytes. *Food Chem Toxicol*. 2010 Oct;48(10): 2980-7.
 123. Turk E, Kandemir FM, Yildirim S, et al. Protective Effect of Hesperidin on Sodium Arsenite-Induced Nephrotoxicity and Hepatotoxicity in Rats. *Biol Trace Elem Res*. 2018 Jul 31.

124. Khedr NF. Protective effect of mirtazapine and hesperidin on cyclophosphamide-induced oxidative damage and infertility in rat ovaries. *Exp Biol Med* (Maywood). 2015 Dec;240(12): 1682-9.
125. Vijaya Bharathi B, Jaya Prakash G, Krishna KM, et al. Protective effect of alpha glucosyl hesperidin (G-hesperidin) on chronic vanadium induced testicular toxicity and sperm nuclear DNA damage in male Sprague Dawley rats. *Andrologia*. 2015 Jun;47(5): 568-78.
126. Knekt P, Kumpulainen J, Järvinen R, et al. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr* 2002; 76(3): 560-568.
127. Ito H, Nakano A, Kinoshita M, Matsumori A (2003) Pioglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in a rat model. *Lab Invest* 83: 1715–1721.
128. Agrawal YO, Sharma PK, Shrivastava B, et al. Hesperidin produces cardioprotective activity via PPAR- γ pathway in ischemic heart disease model in diabetic rats. *PLoS One*. 2014 Nov 4;9(11): e111212.
129. Homayouni F, Haidari F, Hedayati M, et al. Blood pressure lowering and anti-inflammatory effects of hesperidin in type 2 diabetes; a randomized double-blind controlled clinical trial. *Phytother Res*. 2018 Jun;32(6): 1073-1079.
130. Selmi S, Rtibi K, Grami D, et al. Protective effects of orange (*Citrus sinensis* L.) peel aqueous extract and hesperidin on oxidative stress and peptic ulcer induced by alcohol in rat. *Lipids Health Dis*. 2017 Aug 14;16(1): 152.
131. Petrova A, Davids LM, Rautenbach F, Marnewick JL. Photoprotection by honeybush extracts, hesperidin and mangiferin against UVB-induced skin damage in SKH-1 mice. *J Photochem Photobiol B* 2011 May 3; 103(2): 126-139.
132. Martinez RM, Pinho-Ribeiro FA, Steffen VS, et al. Hesperidin methyl chalcone inhibits oxidative stress and inflammation in a mouse model of ultraviolet B irradiation-induced skin damage. *J Photochem Photobiol B*. 2015 Jul;148: 145-153.

133. Li M, Lin XF, Lu J, et al. Hesperidin ameliorates UV radiation-induced skin damage by abrogation of oxidative stress and inflammatory in HaCaT cells. *J Photochem Photobiol B*. 2016 Dec;165: 240-245.

