



**T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**TRAVMATİK TİMPANİK MEMBRAN PERFORASYONLARINDA ALFA
LİPOİK ASİT UYGULAMASI SONRASI PERFORASYON KAPANMA
ORANLARI VE TİMPANİK MEMBRANDAKİ HİSTOPATOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ: DENEYSEL BİR ÇALIŞMA**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sait ÇOLAK

KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Gül SOYLU ÖZLER

HATAY-2016

**T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**TRAVMATİK TİMPANİK MEMBRAN PERFORASYONLARINDA ALFA
LİPOİK ASİT UYGULAMASI SONRASI PERFORASYON KAPANMA
ORANLARI VE TİMPANİK MEMBRANDAKİ HİSTOPATOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ: DENEYSEL BİR ÇALIŞMA**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sait ÇOLAK

KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Gül SOYLU ÖZLER**

**Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
14377 proje numarası ile desteklenmiştir.**

TEZ ONAY SAYFASI

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

TRAVMATİK TİMPANİK MEMBRAN PERFORASYONLARINDA ALFA LİPOİK ASİT UYGULAMASI SONRASI PERFORASYON KAPANMA ORANLARI VE TİMPANİK MEMBRANDAKİ HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ: DENEYSEL BİR ÇALIŞMA

Dr. Sait ÇOLAK

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof. Dr. Yusuf ÖNLEN
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Şemsettin OKUYUCU
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Doç. Dr. Gül SOYLU ÖZLER
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ

1. Prof. Dr. Şemsettin OKUYUCU
2. Doç. Dr. Gül SOYLU ÖZLER.....
3. Doç. Dr. Gökçe ŞİMŞEK.....

İÇİNDEKİLER

RESİM LİSTESİ	ii
TABLO LİSTESİ	iii
KISALTMALAR	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kulak Anatomisi	4
2.2. İnsan ve Rat Timpanik Membranı Arasındaki Farklar	6
2.3. Timpanik Membran Histolojik Yapısı	7
2.4. Timpanik Membran Perforasyonlarında İyileşme Mekanizması	8
2.5. Timpanik Membran Arterleri	10
2.6. Timpanik Membran İnnervasyonu	10
2.7. Timpanik Membran Perforasyon Nedenleri	10
2.8. Timpanik Membran Perforasyon Tedavisi	12
2.9. Alfa Lipoik Asit	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM	16
3.1. Miringotomi	17
3.2. Çalışma Grupları	18
3.3. Histopatolojik İnceleme	19
3.4. İstatistiksel Analiz	20
4. BULGULAR	21
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇLAR	34
7. KAYNAKLAR	35
8. ÖZGEÇMİŞ	42

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Kulak anatomisi	4
Resim 2. Timpanik membranın lateralden görünümü	5
Resim 3. İnsan ve rat timpanik membran farkları	6
Resim 4. Miringotomi öncesi rat timpanik membran görüntüsü	17
Resim 5. 14 gün topikal alfa lipoik asit uygulanmış timpanik membran görünümü.....	22
Resim 6. 14 gün intraperitoneal alfa lipoik asit uygulanmış rat timpanik membran görünümü.....	24
Resim 7. 14 gün topikal etil alkol uygulanmış timpanik membran görünümü.....	26
Resim 8. Kontrol grubu 14. gün fibroblastik aktivite görünümü.....	28
Resim 9. İntraperitoneal ALA uygulanmış timpanik membran görünümü	30

TABLULAR

Tablo 1.14. gün perforasyon kapanma durumu	21
Tablo 2.14. gün sonunda rat timpanik membran kalınlıkları	23
Tablo 3.14. gün sonunda timpanik membran epitel katı kalınlıkları	25
Tablo 4.14 gün sonunda lamina propria fibroblastik aktivite tablosu	27
Tablo 5.14 gün sonunda 4 grubun neovaskülarizasyon tablosu	29



KISALTMALAR

- TM : Timpanik membran
DKY : Dış kulak yolu
ALA : Alfa lipoik asit
M : Miringotomi
TE : Topikal etanol
TALA : Topikal alfa lipoik asit
İALA : İntraperitoneal alfa lipoik asit
LP : Lamina propria

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitim süresince bana ve diğer tüm asistan arkadaşlarıma hekimliğin önemini ve hekimlikte nasıl rol modeli olunduğunu gösteren, bilgi ve birikimini esirgemeyen değerli hocam Anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Şemsettin OKUYUCU ve değerli hocam Prof. Dr. Ertap AKOĞLU başta olmak üzere hekimlik dışında gerektiğinde ağabeylik ve arkadaşlıklarını gösteren Doç. Dr. Cengiz ÇEVİK, Yrd. Dr. Cengiz ARLI, Yrd. Doç. Dr. Şerif Şamil KAHRAMAN'a ayrıca tez döneminde yardımlarını eksik etmeyen Doç. Dr. Gül Soylu ÖZLER hocalarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmalarında hayvan çalışmalarında katkılarında dolayı Doç. Dr. Recep DOKUYUCU, histopatolojik incelemede katılarından dolayı Doç. Dr. Tümay ÖZGÜR ve Dr. Zeynel ABİDİN'e ve istatistiksel analizlerini gerçekleştiren Dr. Gökhan DEMİRKIRAN'a teşekkür ederim.

Asistanlığım süresince beraber çalışma imkanı bulduğum tüm asistan arkadaşlarım, klinik ve ameliyathane hemşireleri ve personel arkadaşlarıma ayrı ayrı teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, beni bugünlere getiren kıymetli annem ve babam başta olmak üzere tüm aileme teşekkür ederim.

Dr. Sait ÇOLAK

HATAY-2016

ÖZET

TRAVMATİK TİMPANİK MEMBRAN PERFORASYONLARINDA ALFA LİPOİK ASİT UYGULAMASI SONRASI PERFORASYON KAPANMA ORANLARI VE TİMPANİK MEMBRANDAKİ HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ: DENEYSEL BİR ÇALIŞMA

Amaç: Travmatik timpanik membran perforasyonlarının %90'ı spontan kapanır. Kapanmayan perforasyonlarda cerrahi tedavi ile onarım uygulanabilir. Son zamanlarda alternatif tedavi yöntemleri arayışına gidilmiştir. Bu çalışmada, travmatik timpanik membran perforasyon modelinde Alfa Lipoik asit'in lokal ve intraperitoneal uygulamalarının, mikroskopik bakıda perforasyon kapanma oranı ve histopatolojik düzeyde timpanik membran kalınlığı, neovaskülarizasyon, epitel kalınlığı ve fibroblastik aktivite üzerine etkilerini gözlemeyi amaçladık.

Metod: Çalışmada 300-400 gr ağırlığında 32 adet Wistar Albino rat kullanıldı. Ratlar her bir grupta 8'er tane olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Çalışma gruplarındaki ratlara (Grup I-II-III-IV) anesteziyi takiben akkor hale getirilmiş pik ucu ile bilateral TM arka üst kadrana 1 mm'lik perforasyon oluşturuldu. 1. Grup kontrol grubu idi. 14 gün boyunca 2. gruba topikal etil alkol, 3. gruba topikal ALA, 4. gruba intraperitoneal ALA uygulaması yapıldı. Tüm kobaylar 14. gün sakrifiye edildi. 14. günün sonunda tüm ratların her iki kulağı mikroskopik olarak perforasyonu durumu açısından değerlendirildi. Histopatolojik olarak da timpanik membran kalınlığı, epitelyum katı kalınlığı, neovaskülarizasyon ve fibroblastik aktivite değerlendirildi.

Bulgular: İkili gruplar halinde ayrı ayrı karşılaştırıldığında kulağa yapılan topikal ALA grubunun kontrol grubuna göre perforasyon kapanma oranında anlamlı fark izlendi. Tüm gruplar karşılaştırıldığında aralarında TM epitel katı kalınlığı, TM kalınlığı, neovaskülarizasyon ve fibroblastik aktivite ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamasına rağmen topikal ALA uygulanan çalışma grubunda perforasyon kapanma oranının yüksek olduğu görüldü.

Sonuç: Bu bulgular bize topikal olarak uygulanan alfa lipoik asidin kontrol grubuna göre etkili olduğunu ancak farklı doz ve sürelerde çalışılması gerektiğini düşündürdü.

Anahtar kelimeler: Travmatik timpanik membran perforasyonu, alfa lipoik asit,

ABSTRACT

After Alpha Lipoic Acid Application, Tympanic Membrane Closing Rate and Evaluation of Histopathological Changes of Tympanic Membrane in Traumatic Tympanic Membrane Perforation; an Experimental Study

Background and aim: %90 of traumatic tympanic membrane perforations closes spontaneously. Surgical treatment can be applied in perforations which cant close spontaneously. Recently, it has entered into seeking alternative treatments. In this study we aimed to observe that, the effect of local and intraperitoneal administration of alpha lipoic acid in perforation closing rate on microscopical examination and tympanic membrane thickness, neovascularization, epithelial thickness and fibroblastic activity histopathologically, in traumatic tympanic membrane perforation model.

Methods: In this study, 42 Wistar Albino rats weighs 300-400 g were used. Rats were divided into 4 groups, each group including 8 rats. Following anesthetic administration, 1 mm perforation created by the cast iron to the TM rear upper quadrant bilaterally to the rats in study group (Group I-II-III-IV). Group I was control group. We administered ethyl alcohol topically to Group II, ALA topically to Group III, ALA intraperitoneal to Group IV for 14 days. All rats sacrificed in 14.th day. At the end of 14.th day all rats' each ear examined microscopically for perforation status. Tympanic membrane thickness, epithelial thickness, neovascularization and fibroblastic activity examined histopathologically also.

Results: There were significant difference between topically ALA administered group and control group's perforation closing rate when compared in pairs separately. Although there was no statistically significant difference between all groups including tympanic membrane thickness, epithelial thickness, neovascularization and fibroblastic activity, in the study group it showed a high rate of perforation closure.

Conclusion: These findings suggest that alpha lipoic acid is an effective drug, but to determine the exact doses and time intervals and duration of the therapy.

Key words: Traumatic tympanic membrane perforation, alpha lipoic acid

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsanlarda timpanik membran (TM) perforasyonu çok sık rastlanılan bir sağlık problemi olmasına karşın gerçek insidansı konusunda fikir birliği sağlanamamıştır. TM perforasyonun tüm dünyada ön görülen insidansı %1'in altında olarak bildirilse de bu oran düşünülenin altında bir orandır (1).

Akut TM perforasyonu etyolojileri arasında en sık neden infeksiyon, ardından travmalar gelmektedir. TM'a olan travmalar ise çarpmalar, delici travmalar, barotravmalar, akustik travmalar ve iatrojenik travmalar (timpanik membrana uygulanan parasentez, ventilasyon tüpü takılması, dış kulak kanalından buşon temizlenmesi ve hiperbarik oksijen tedavisi) olarak sayılabilir. TM'da travma sonrası oluşan perforasyonlar genellikle spontan olarak iyileşir. Fakat farklı nedenlerle TM perforasyonu ya açık kalabilir ya da perforasyon kapansa dahi ince bir membran şeklinde iyileşebilir. Bununla birlikte birçok neden TM iyileşmesini geciktirerek ya da perforasyonun kapanmasını önleyerek kronik TM perforasyonuna sebep olabilir. Buna benzer durumlarda TM'ın rejenerasyonla iyileşmesi mümkün olmamaktadır (3).

Kronik TM perforasyonunun histolojik görüntüsünde skuamoz epitel tabakasının, orta kulak tarafına bakan mukozal tabakaya doğru yöneldiği ve bu tabakayla birleştiği şeklinde görünüm mevcuttur. TM perforasyon kenarlarının bu şekilde epitelizasyonu teorik olarak spontan iyileşmeyi durdurmaktadır. TM'da çeşitli sebeplerle ortaya çıkan akut perforasyonların önemli bir kısmı, TM'daki epitel dokusunun proliferasyon ve migrasyon aktivitesine bağlı olarak spontan iyileşmektedir (2). Travmatik TM perforasyonu sonrası yeni oluşan TM oluşum süreci epitel proliferasyonu, epitel göçü, fibroblast proliferasyonu, neo-anjiogenez ve dokunun yeniden şekillenmesini içeren biyolojik süreçlerden geçer (4,5). Akut TM perforasyonlarının iyileşmesi ile vücuttaki diğer dokuların iyileşmesi arasında iki önemli farklılık bulunmaktadır. Bunlardan ilki TM'ın dıştaki skuamoz epitel

tabakasının TM merkezinden anulusa ve dış kulak yoluna (DKY) sürekli bir migrasyon halinde olması, ikincisi ise TM perforasyonu alanında rejenere olan epitelin altında destek olabilecek reperatif hücrelerin ve besinlere geçiş sağlayacak önceden oluşmuş bir matriksin olmamasıdır (4, 6, 7).

Akut TM perforasyonunun ardından artmış proliferasyon ve keratinosit öncü hücreleri, umbo, anulus bölgesi ve malleus boyunca başlayarak perforasyon sınırına doğru migrasyona başlar. Yeni oluşan ince epitelyal tabaka bazal lamina için iskelet görevini görmektedir (8). TM perforasyonunun ardından TM'ın fibröz tabakasındaki ödem, epitel katındaki nekroz ve perforasyon kenarlarında oluşan eksuda sayesinde TM perforasyon kenarları korunarak dehidratasyon önlenmiş olur (9). TM perforasyonunun sonrasındaki ilk iki gün içerisinde, bakiye kalan TM'ın dıştaki epitel katında yoğun bir proliferasyon başlamaktadır (10). Perforasyon bölgesinin periferinde bulunan ve proliferasyon alanına bulunan keratinin kılavuzluğunda perforasyonun merkezine doğru ilerleyerek perforasyon alanını kapatırlar. Orta kulağa bakan TM mukozal katı yavaş proliferasyon olduğu için perforasyon kapanmasında çok az öneme sahiptir (2, 4, 11).

Uzun zamandır TM perforasyonlarında yapılabilecek tedavi yöntemleri hakkında araştırmalar yapılmaktadır. Kapanmayan TM perforasyonlarında dıştaki epitel katı mediale dönerek içteki mukozal kat ile birleşmektedir. Yapılan çalışmalarda perforasyon kenarlarında kapanmaya engel olan bu epitelin ortadan kaldırılması ve fibröz tabakada fibroblastik aktivitenin tetiklenmesi amacıyla perforasyon kenarlarının %10'luk triklor asetik asit ile koterizasyonu neticesinde, pars tensada %65'ten az yer kaplayan TM perforasyonlarında %80'lere varan kapanma oranları bildirilmiştir (12). TM perforasyonlarında iyileşmeyi hızlandırmak amacıyla hyaluronan (13), heparin (14), epidermal büyüme faktörü (15) ve fibroblast büyüme faktörü (16) gibi değişik moleküller kullanılmıştır. Kullanılan bu moleküllerin birçoğunda başarı sağlanmasına karşın bulunma zorluğu ve maliyetinin yüksek olması bu moleküllerin kullanımını kısıtlamaktadır.

Travma sonrası meydana gelen TM perforasyonlarının %90'ı spontan olarak iyileşmektedir. Kapanmayan perforasyonlarda cerrahi tedavi yöntemleri denenmektedir. Akut TM perforasyonu sonrasında perforasyon kenarlarını

birleştirmek ve epitel tabakasının mukozal tabakaya dönmesini engelleyerek iyileşmesini sağlamak amacıyla vektör materyal uygulaması kullanılmaktadır. Kronik TM perforasyonlarında ise timpanoplasti teknikleri uygulanmaktadır. Son yıllarda cerrahi tedavi dışında alternatif tedavi yöntemlerine başvurulmaktadır (2).

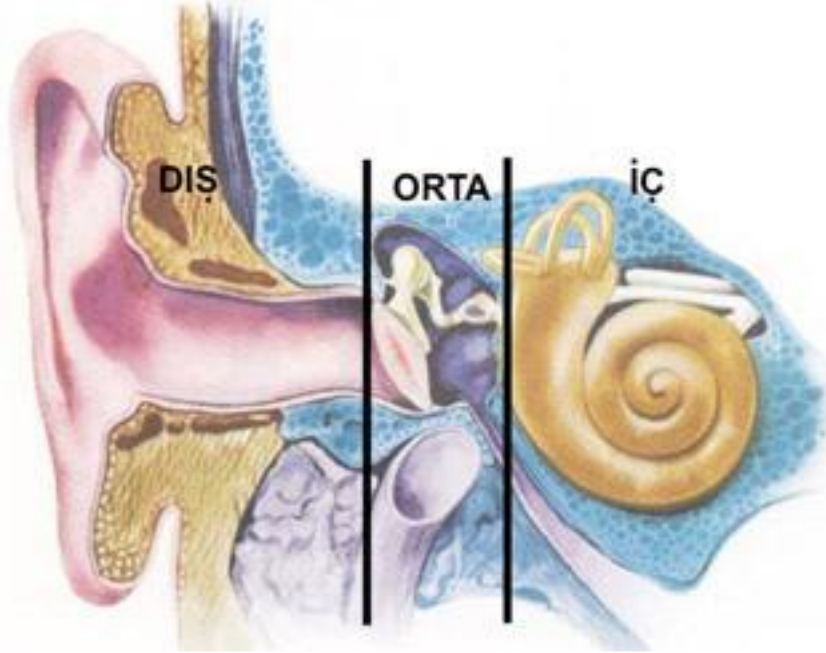
Bu çalışmada travmatik TM perforasyonu kapanmasını artırıcı etki göstermesi beklenen alfa lipoik asit'in (ALA) lokal ve intraperitoneal uygulamalarının, travmatik TM perforasyon modelinde kapanma oranı ve histopatolojik düzeyde TM kalınlığı, neovaskülarizasyon, epitel kalınlığı ve fibroblastik aktivite üzerindeki etkilerinin araştırılması planlanmaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kulak Anatomisi

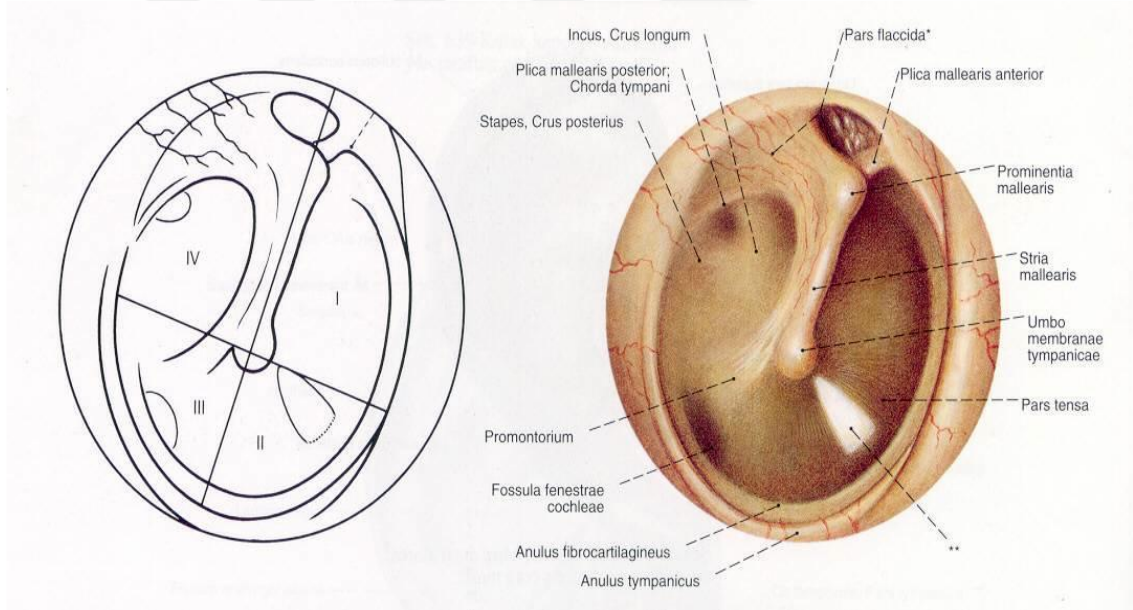
Kulak, dengenin ve işitmenin periferik organı olup, temporal kemik içerisinde yerleşmiştir. Kulak, görevleri ve yapısı itibarıyla üç farklı bölgeden oluşur. Bu bölgeler; aurikula ve dış kulak yolunu içeren “**dış kulak**”, TM, kemikçikler (malleus, inkus, stapes), mastoid hücreleri ve östaki tüpünü içeren “**orta kulak**”, vestibüler sistem, kohleayı ve internal akustik kanalı içeren “**iç kulak**” bölümlerinden oluşmaktadır (Resim 1).



Resim 1: Kulak anatomisi (17)

TM, DKY ve orta kulağı birbirinden ayırır. Erişkin bir insanda TM ortalama kalınlığı 0,1 mm, vertikal çapı 10-11 mm ve horizontal çapı ise 8-9 mm dolayındadır (18).

TM, timpanik kemiğin sulkus timpanikus denilen oluğuna oturur. Bu bölge ring yani timpanik halka olarak bilinir. Timpanik kemik öne ve arkaya olmak üzere iki uzantı gönderir. Bu uzantılar sulkus timpanikusu oluşturur. Bu uzantılar birbirleriyle birleşmez. Böylelikle sulkus timpanikusun üst ucu açıkta kalır. Sulkus timpanikusun açık kalan ucu skuamoz kemiğin skutum adı verilen yapısı ile kapanır. Skutumun doldurduğu timpanik kemiğin iki uzantısının neden olduğu açıklığa “**Rivinius çentiği**” denir. TM, anulus fibrozis denilen yapı aracılığı ile sulkus timpanikusa tutunur. Timpanik kemiğin iki uzantısının bitim noktalarından malleus kemikçğine uzanan iki adet plika uzanır. Plika malleus anterior ve plika malleus posterior olarak adlandırılan bu yapılar TM’ı malleusa bağlar (18).



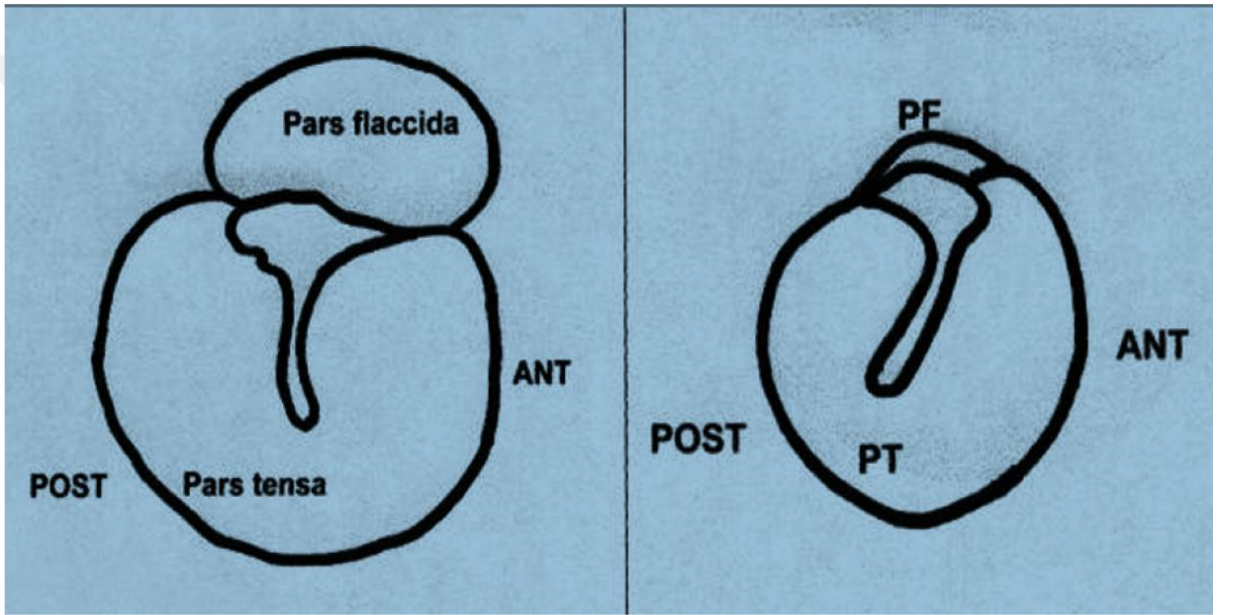
Resim 2 : TM'nin lateralden görünümü (19)

TM'nin timpanik kemik içerisinde kalan bölümüne pars tensa denir. Pars tensa yapı olarak gergindir ve TM'nin ses dalgaları ile titreşen bölümü burasıdır. TM'nin geriye kalan ve rivinius çentiğini dolduran kısmına pars flaksida (Shrapnell membranı) adı verilir ve bu bölge gevşek yapıdadır. TM'nin orta kulağa doğru çökmüş en derin bölgesine umbo adı verilir. Bu bölge malleusun TM'a tutunduğu

yerdir. Pars tensanın anterior-inferior kadranında umbodan başlayarak TM kenarına kadar uzanan üçgen şeklinde aydınlık bir alan görülür ve bu alana Politzer üçgeni adı verilir. Manibrium malleinin eksenine dik olarak TM'a çizgi çizildiğinde pars tensa 4 parçaya bölünmüş olur. Bunlar; Ön-alt, ön-üst, arka-alt, arka-üst kadranlardır (18).

2.2. İnsan ve Rat Timpanik Membranı Arasındaki Farklar

İnsan ve rat TM özellikleri birbirlerine benzemekle beraber bazı farklılıkları vardır. Bu farklılıklar Resim-3' te gösterilmiştir (20).



Rat TM görünümü

İnsan TM görünümü

Resim-3. Rat ve insan kulak zarının karşılaştırmalı şekli (PF: Pars flaksida, PT: Pars tensa, ANT: Anterior, POST: Posterior) (20).

- 1- İnsanlarda TM'nın pars flaksida bölümü pars tensa bölümünün %3-6 kadarını oluştururken, rat TM'ında bu oran %25-29 civarındadır.
- 2- Rat TM'ında malleusun kısa kolu posterior kısmı gösterirken, insanlarda malleus kısa kolu anterioru göstermektedir.
- 3- İnsanlarda TM anterior-posterior ortalama çapı 9-10,2 mm civarında iken, rat TM'ında 2,2-2,4 mm civarındadır.

- 4- İnsanlarda malleus posterior duvara doğru yönelirken, ratlarda malleus inferior duvara doğru hafifçe eğilmektedir.

2.3. Timpanik Membran Histolojik Yapısı

TM'nin pars tensa bölümü üç tabakadan oluşmaktadır. Bu üç tabaka dıştan içe doğru; DKY epitelinin devamı olan epitel tabaka, lamina propria ve orta kulak mukozasının devamı olan mukozal tabaka olarak sıralanmaktadır (21). Dış kulak tarafındaki epitel tabakası umbodan periferine doğru epitel migrasyonu ile klirensi sağlar. TM'nin lamina propria tabakası (fibröz tabaka) ise fibroblastlar, endotel hücreleri, vasküler yapılar, sinirler ve gevşek bağ dokusunu içerir. Lamina propria dışta radyal, içte sirküler kollajen lifler içerir (22). Buradaki ana kollajen tip 2 kollajendir. Sirküler kollajen lifler parabolik, semisirküler ve transfer yapıda lifler içerir. Dıştaki radyal lifler malleus boynundan başlayıp anuler halkaya yapışır. İç taraftaki sirküler lifler malleus kısa prosesinden, malleusun boynundan ve anterior-posterior malleolar ligamentlerden kaynak alırlar. Fibröz tabaka temel olarak radyal ve sirküler kollajen liflerden oluşmasına rağmen ince retiküler liflerde bulunmaktadır. TM'nin orta kulak tarafına bakan mukozal yüzeyinin ana görevi, lamina propriayı orta kulaktaki bakterilere, zararlı maddelere ve toksinlere karşı korumaktır (23). Pars tensanın lamina propria tabakası periferine doğru gidildikçe kalınlaşarak anulus fibrokartilajinöz adı verilen halkayı oluşturur (24, 25).

Pars tensa ve pars flaksidadaki epidermis katı histolojik olarak birbirlerine yakın bir yapıya sahiptir. TM'nin pars flaksida kısmının fibröz tabakası ise herhangi bir düzen yapısından yoksun, gevşek bir şekilde yerleşmiş olan kollajen ve elastik liflerden oluşmuştur. Pars flaksidanın lamina propriası, pars tensadan daha kalın ve daha az organize olmasıyla ayrılır. Pars flaksidanın ortalama kalınlığı 0,03 ile 0,23 mm arasında değişirken, pars tensa daha incedir ve ortalama kalınlığı 0,03 ile 0,09 mm arasında değişir. Pars tensanın lamina propria tabakası daha ince bir yapıya sahip olmasına karşın daha sert, elastik ve dayanıklı bir yapısı mevcuttur. Pars flaksidada zengin bir kapiller ağ ve sinirler bulunur (18, 26).

Mast hücreleri, pars tensada bulunmazken pars flaksidada bulunur. Sinir liflerinin tamamına yakını TM'nin subepidermal ve submukozal tabakalarına ilerlese de bazı türlerin skuamoz epitel tabakasında serbest sinir uçları bulunmaktadır. TM'nin pars tensa ve pars flaksida bölümlerinin mukozal yüzeyleri aynıdır. Mukozal yüzeyde, hem pars tensa bölümünde hem de pars flaksida bölümünde temel olarak belirgin mikrovilli kısa kübik hücreler ve aralarında stratifiye kolumnar epitel bulunur. TM'nin orta kulak mukozasına yapışma yerinin yakınlarında mukozal yüzeyde yer yer goblet hücreleri bulunmaktadır (3)

Yapılan çalışmalarda rat ve insan TM'nin histolojik olarak benzer yapıları sahip oldukları izlenmiştir (26, 27). Lamina propria tabakasındaki radyal ve sirküler lifleri dizilim şeklindeki benzerlik dikkat çekmektedir. Bu nedenle TM ile ilgili yapılan çalışmalarda genellikle ratlar tercih edilmektedir.

2.4. Timpanik Membran Perforasyonlarında İyileşme Mekanizması

TM'nin çeşitli sebeplerle meydana gelen perforasyonlarında oluşan defekt TM'daki epitel dokusunun proliferasyon ve migrasyon özelliği sayesinde sıklıkla spontan olarak kapanmaktadır (2). Akut TM perforasyon iyileşmesi epitelyal çoğalma, epitelyal migrasyon, fibroblastik aktivite artışı, anjiogenezis ve doku remodeling evrelerinden oluşmaktadır (28). TM'daki doku iyileşmesi iki önemli özellikten dolayı diğer doku iyileşmelerinden farklıdır. Bu farklılıkların ilki, dış epitel tabakasının TM merkezinden perifer ve dış kulak yoluna sürekli olan bir migrasyon halinde olmasıdır. İkinci farklılık ise perforasyon alanında rejenerasyon gösteren epitele alttan destek görevi gören, reperatif hücrelere ve besinlere geçiş sağlayabilecek bir matriksin olmamasıdır (4, 6, 7). Akut TM perforasyonunun ardından artmış epitelyal proliferasyon ve keratinosit öncü hücrelerin migrasyonu umbo, anulus bölgesi ve malleus boyunca perforasyon sınırına doğrudur. Perforasyon sonrası epitelyal tabakanın akvivasyonu bazal laminanın genişlemesi için iskelet görevini üstlenmektedir (8). TM perforasyonu sonrası membranın fibröz tabakasında oluşan ödem, epitelde nekroz ve perforasyon kenarlarında eksuda oluşması nedeniyle perforasyon kenarları korunarak dehidratasyon önlenmiş olur (9). TM perforasyonu sonrasındaki ilk 48 saat içerisinde epitelizasyon süreci başlamaktadır. Epitelyal çoğalma TM'nin malleus, anulus ve DKY kanalı gibi daha fazla kanlanan

bölgelerinde daha fazladır. Bu epitelyal çoğalma perforasyon merkezine doğrudur ve perforasyon üzerinde ekstraselüler matriks yerine köprü oluşturmaktadır (9). Rat TM'ında yapılan bir araştırmaya göre akut TM perforasyonu sonrası epitelyal proliferasyonun perforasyon alanının kenarlarında değilde perforasyon alanından uzak olan anulus ve manibrium mallei bölgelerinden başladığı gösterilmiştir (11). TM'da oluşan akut perforasyon sonrasında membran epitel tabakasındaki proliferasyon olan hücreler, perforasyon alanında biriken keratin kılavuzluğunda perforasyon santraline doğru ilerleyerek perforasyonu kapatırlar. Orta kulak tarafına bakan mukoza tabakası ise daha yavaş proliferasyon olduğu için perforasyonun kapanma sürecinde minimal öneme sahiptir (2, 4, 11). Perforasyon alanının kapanmasıyla birlikte oluşan fibröz tabakanın yeniden şekillenmesi sonucunda perforasyon bölgesinde daha ince bir zar yapısı oluşurken perforasyon alanından uzakta olan sağlam membran bölgeleri ise normalden daha kalın hale gelmektedir. TM'daki perforasyon alanı dışında kalan membran bölgelerinin kalınlığının artmasının sebebi artmış inflamasyon sonucu fibroblastik aktivitenin ve kollajen sentezinin artmış olmasıdır (29, 30). Kalınlaşmış olan pars tensanın lamina propria tabakası içinde normalde olan tip 2 kollajen yerine tip 1 ve tip 3 kollajen fibriller birikimi olur (26, 31). Son zamanlarda yapılan araştırmalara göre topikal uygulanan epidermal büyüme faktörü veya bazik fibroblast büyüme faktörü gibi ajanların TM perforasyonlarında iyileşme sürecini kısalttığı bildirilmiştir (2, 5, 6).

Kısacası akut TM perforasyonlarında yara iyileşmesi diğer dokulardaki yara iyileşmelerine göre inflamasyon ve hemostaz açısından benzerlik gösterirken, epitel proliferasyon ve migrasyon aşamaları farklıdır (32). Fibröz tabaka perforasyon iyileşme sürecinde alana en son gelen tabaka olmasına karşın bazen bu kat hiç oluşmayabilir. Oluşan membran epitel, mukoza ve arasındaki ince bir fibröz tabakadan meydana gelmektedir (33, 34).

2.5. Timpanik Membran Arterleri

TM'in beslenmesi; lamina propria tabakası ile bağlantısı olan epidermal ve mukozal yüzeylerden gelen arterler ile sağlanmaktadır. Membranın DKY kanalı tarafına bakan kısmının kanlanması internal maksiller arterin bir dalı olan derin auriküler arter ile orta kulak tarafına bakan kısmının kanlanması ise posterior auriküler arter ve timpanik arter ile sağlanmış olur. Membranın venöz dönüşü ise arterlere eşlik eder (18, 35, 36).

2.6. Timpanik Membran İnnervasyonu

TM'in innervasyonu, n.vagus'un auriküler dalı, n.fasialis'in aurikuler dalı, n.trigeminus'un n.mandibularis dalına ait aurikulotemporal dal ve n.glossofaringeus'un timpanik dalı tarafından sağlanır (18, 35, 36).

2.7. Timpanik Membran Perforasyon Nedenleri

Travma

TM perforasyonlarının ana sebeplerinden biri travmalardır. Bunlar çarpmalar, delici travmalar, barotravmalar ve akustik travmalar olarak sıralandırılabilir.

Çarpma ile oluşan travmalarda, özelliklede longitudinal temporal kemik kırıklarına neden olan künt kraniyal travmalarda genellikle TM yırtılmasına neden olur. Künt travmaların başka bir şekilde barometrik değişiklikler sonucu gelişen travmalardır. Buna örnek olarak kulağa darbe sonrası DKY'da hava sıkışması sonucu TM'da gelişen yırtılmalarıdır. Yapılan araştırmalar sonucunda 0,5 atmosfer basıncının TM çökmesi için yeterli olduğu, 2 atmosfer basıncının ise malleolar pleksusta konjesyona sebep olduğunu gösterilmiştir (3). Barotravma sonucu oluşan TM perforasyonlar, membranın orta kulağa hareketi sırasında oluşur. Membran parçalarının orta kulağa dönerek yapışması durumu ilerde kolesteatom için zemin hazırlar.

Penetran travmalar sonucu TM perforasyonuna yol açan en sık neden, pamuklu çubuklarla DKY'dan buşon temizliğidir.

İatrojenik

Bu grubu miringotomi, ventilasyon tüpü uygulaması, DKY'dan serumen temizliği ve hiperbarik oksijen tedavisi oluşturur.

İnfeksiyon

TM perforasyonlarının en sık sebebi infeksiyonlardır. Komplikasyonsuz olan akut otitis media infeksiyonlarında perforasyon genellikle küçüktür ve infeksiyon ortadan kalktığında sıklıkla perforasyon spontan kapanır. Kronik TM perforasyonları, perforasyon kapanma sürecini olumsuz etkileyen kalıcı infeksiyonlardan kaynaklanır. Bunun dışında TM'da böbrek tarzında büyük perforasyonlar beta hemolitik streptokoklar gibi nekrotizan özelikte infeksiyonlar sonucunda gelişir ve bu durum perforasyon kapanmasını olumsuz etkiler.

Kronik Süpüratif Otitis Media

Kronik süpüratif otitis media, TM perforasyonu veya ventilasyon tüpü takılması sonrası bütünlüğü bozulmuş TM nedeniyle uzun süreli akıntı oluşması ile karakterize bir durumdur (37). Kronik süpüratif otitis mediada, otitis eksterna, intrakranial veya infratemporal komplikasyon ya da malignensi gibi ağrıya neden olan durumlar olmadıkça genellikle ağrı olmaz. Kronik süpüratif otitis media vakalarında en sık Pseudomonas aeruginosa ve Staphylococcus aureus izole edilir.

Ventilasyon Tüpüne Bağlı Kalıcı Perforasyon

Yapılan çalışmalarda ventilasyon tüpü uygulaması sonrası kalıcı perforasyon gelişme ihtimali kısa süreli tüpler için %1-4, uzun süreli tüpler için ise %12-25 olarak belirlenmiştir (38). Ventilasyon tüpü uygulaması sonrası oluşan perforasyon için kalıcı denilebilmesi için perforasyonun t p atıldıktan 6 ay-1 yıla kadar kapanmamış olması gerekmektedir (39). Eğer ventilasyon tüpü 36 ay içinde atılmazsa TM perforasyonunun kalıcı hale gelme riski artar (40).

Ventilasyon tüpünün çıkarılmasının ardından hemen kağıt yama uygulaması sıklıkla önerilen bir yöntemdir. Yalnız yapılan retrospektif bir çalışmaya göre kağıt yama uygulamasının perforasyonun kapanmasına yönelik klinik gidişi değiştirmediği

bildirilmiştir. Aynı çalışmada daha önce 3 veya daha fazla ventilasyon tüpü uygulanmış hastalarda bu işlemin perforasyon kapanmasını iyi yönde etkilediği bildirilmiştir (41).

2.8. Timpanik Membran Perforasyon Tedavisi

TM perforasyonlarının iyileşmesinde araştırmalar iki önemli mekanizmaya yönelmiştir. Bunlardan ilki rejenere olan epitel dokusuna yol gösterici olabilecek stromal destek sağlamaktır. İkinci önemli mekanizma ise hücrel proliferasyon ve migrasyonu hızlandırabilecek etki göstermektir.

TM perforasyonlarının tedavisi ile ilgili ilk araştırmalar 17. yy'da yapılmıştır. 1640 yılında Marcus Banzer TM perforasyonlarının kapatılmasında greft olarak domuz mesanesi kullanmıştır. 1841 yılında Yearsley gliserinle nemlendirilmiş yün kullanmıştır. Sonrasında 1853 yılında Toynbee kauçuk benzeri bir maddeyi perforasyon kapatılmasında kullanmıştır. 1878 yılında Berthold ilk defa cerrahi olarak otogreft kullanarak perforasyonu tamir etmeye çalışmış ve bu işleme "miringoplasti" adı verilmiştir. Berthold ön koldan full-thickness deri greftini kullanmış yalnız geç sonuçları tahminleri yerine getirememiş ve kendi döneminde otogreft uygulamasını kabul ettirememiştir. (42). TM perforasyon kapatılmasına yönelik çalışmalar 20. yüzyılın ortalarına kadar bırakılmıştır. 1950 yılında Wullstein ve Zollner'in yaptıkları çalışmalar ile tekrar gündeme gelmiştir (43). Başlangıçta greft olarak split-thickness ya da full-thickness kullanılmış, ancak aşırı deskuamasyon nedeniyle greft olarak başka alternatiflere düşünülmüştür. Wullstein ve Zollner'in öncülüğünde sonradan çok farklı greft materyalleri kullanılmıştır. TM perforasyonlarında greft olarak otogreft, homogreft, heterogreft denemeleri sonucunda değişik oranlarda başarı sağlanmıştır (44, 45).

Yakın zamanda akut TM perforasyon kapanmasında hyalunorik asit (ekstraselüler yüksek molekül ağırlıklı polisakkarit) uygulaması araştırılmış. Tavşanlarda deneysel olarak oluşturulan TM perforasyonlarında hyalunorik asitin ototoksite etkisi göstermeksizin iyileşme hızını arttırdığı izlenmiştir (46). Bunun dışında, hastanın kendi kanı fibrin yapıştırıcı olarak(47), gelfilm(48), pentoksifilin(49) ve biyolojik olarak parçalanabilen materyallerden örnek olarak

poli(B-benzil-L-aspartat-L-Losin) 50/50 (50) gibi materyaller hayvan deneylerinde ve klinik çalışmalarda kullanılmıştır.

Cerrahi ve optik sistemlerdeki gelişmeler ve antibiyoterapi uygulamaları geliştirilmesi greftlerin yaşama şansını artırarak miringoplasti ameliyatlarını daha güvenilir hale getirmiştir. Günümüzde temporal kas fasya grefti kullanımı en çok kullanılan greft uygulama metodudur. Tecrübeli hekimlerce başarı oranı %88-97 olarak bildirilmiştir (51, 52).

Somers ve ark. kronik TM perforasyonu operasyonunda kullanılan parçalanmış veya kültürdeki keratinositlerin epitelyal iyileşmeyi hızlandırdığı yönünde çalışmaları bildirilmiştir. Bu durum, perforasyon kenarındaki keratinositlerin farklı hücre gruplarını aktive eden birçok büyüme faktörünü ihtiva ettiğini düşündürmektedir (32)

Akut TM perforasyon tamirinde kağıt yama uygulaması poliklinik koşullarında uygulanabilen kolay bir işlemdir. Diğer perforasyon kapama yöntemlerine (timpanoplasti teknikleri) göre daha hızlı olabilmesi, hastanın yatışına gereksinim göstermemesi, iş gücü kaybına yol açmaması, kolay uygulanabilirliği ve ucuz bir yöntem olması normal timpanoplasti ameliyatlarına üstünlükleri olarak sayılabilir (43).

Avishay ve ark. yaptıkları bir araştırmada kağıt yama uygulamasının normal timpanoplasti operasyonlarının alternatifi olabileceği yönünde çalışmalar yapmışlardır. Sonuç olarak kağıt yama uygulamasının 5 mm daha küçük kuru perforasyonlarda timpanoplasti ameliyatından önce denenmesinin ucuz, hızlı ve etkili bir yöntem olabileceğini bildirilmişlerdir (43).

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada insan cildinden elde edilen hücresiz dermal doku, çinçillalardaki TM perforasyon onarımı için uygulanmış ancak yapılan çalışmada sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (51).

Kartush TM perforasyonlarında, perforasyonun kapatılması için kapalı ventilasyon tüpüne benzeyen ince, elastik silikondan yapılmış bir maddeyi kullanmıştır (53).

TM perforasyonlarında uygulanan timpanoplasti tekniklerinin, perforasyon kapatılmasında %88-97 oranında başarılı olduğu bilinmektedir. Yalnız bu yöntemlerin maliyet, yatış gerekliliği, yetersiz teknik donanım gibi olumsuz yönleri bulunmaktadır. Bu olumsuzluklar, perforasyon tamirinde modern tıbbi ucuz ve basit olan yöntemlere itmektedir. Bu görüş 1990' larda perforasyon tamiri ile ilgili moleküler biyoloji ve rekombinant DNA teknolojisinin ilerlemesine yol açmıştır. Rekombinant DNA teknolojisinin ilerlemesiyle birlikte perforasyon sahasında polipeptid büyüme faktörleri, mesajcı gibi davranarak hem migrasyonu hem de doku tamiriyle ilgili hücrelerin proliferasyonunu sağlayarak perforasyonun kapanmasına yardımcı olurlar (54, 55).

2.9. Alfa Lipoik Asit

Doğal bir bileşik olan ALA bitkiler, hayvanlar ve insanlar tarafından üretilir. ALA, oksitlemiş ve indirgenmiş iki adet sülfür molekülü ihtiva etmektedir. Bu çeşitlilik ALA'nın birçok enzime kofaktör olabilmesini sağlamaktadır. Bunun yanında ALA'nın hem yağda hem de suda çözünebilir güçlü antioksidan özelliği mevcuttur. ALA'nın antioksidan özelliği hem okside formunda hem de indirgenmiş formunda mevcuttur. DHLA (dihidro lipoik asit), dihidroaskorbik asiti, askorbik asite çevirebilir, bu şekilde direkt olarak C vitaminin ve indirekt olarak E vitamininin yeniden oluşumunu sağlayabilir. Yapılan araştırmalarda ALA'nın hücreler arasındaki glutatyon ve koenzim Q-10 seviyelerini artırdığı saptanmıştır.

ALA'nın bazı metallerle şelat yapabilme özelliği mevcuttur. Bakır, manganez ve çinko ile stabil kompleksler oluşturabilmektedir. Arsenik zehirlenmelerinde ALA'nın kullanılabilceği yapılan hayvan araştırmalarında gösterilmiştir. ALA'nın hem in vitro çalışmalarda hem de in vivo hayvan çalışmalarda kadmiyuma bağlı hepatotoksiteyi azalttığı da gösterilmiştir. Bununla birlikte böbreklerde civayı şelat edebildiği yapılan in vitro çalışmalarda kanıtlanmıştır (56).

Bu çalışmada travmatik TM perforasyonu gibi oksidatif stresin arttığı bir durumda TM perforasyonunun kapanmasını artırıcı etki göstermesi beklenen ALA topikal ve intraperitoneal uygulamalarının, travmatik TM perforasyon modelinde

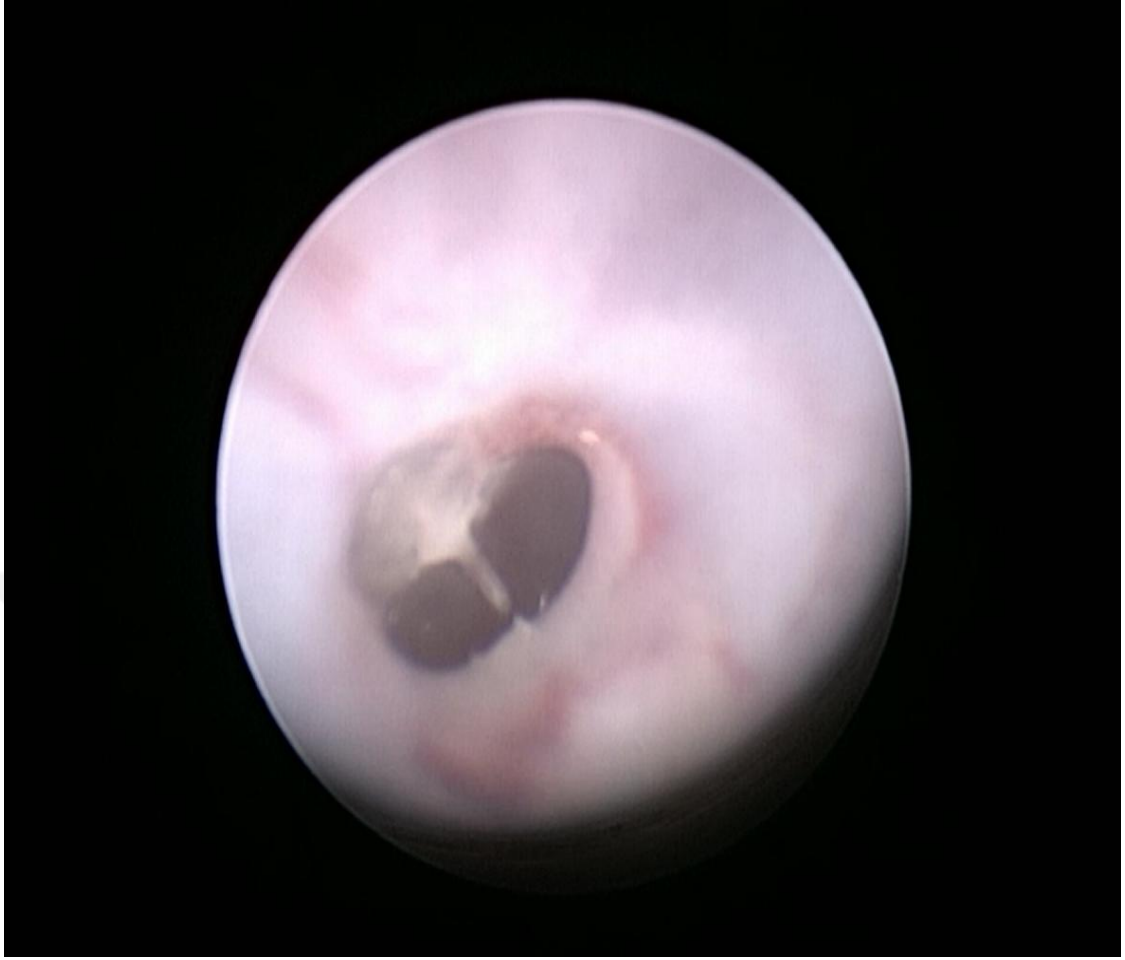
perforasyon kapanma oranı ve histopatolojik düzeyde TM kalınlığı, neovaskülarizasyon, epitel kalınlığı ve fibroblastik aktivite üzerine etkilerini değerlendirmek amaçlandı.



3- GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı tarafından, Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Veterinerlik Fakültesi ve Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalının katkılarıyla yapılmıştır. Cerrahi girişimler, takip süreci ve ötenazi işlemleri Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 26.03.2015 tarihli 22279 sayılı ve HADYEK 2015-3-1 nolu kararı ile Mustafa Kemal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde uygulandı. Çalışma sırasında Helsinki Nihai Senedi'nde deneysel çalışmalarla ilgili maddelerin tümüne uyuldu. Bütün hayvanlar Mustafa Kemal Üniversitesi Deneysel Araştırma Hayvan Laboratuvarından temin edilip, aynı yerde sıradan kafeslerde standart koşullarda barındırıldı ve beslendi.

Bu çalışmaya, otomikroskopik bakı ile her iki DKY, TM ve orta kulakları sağlıklı, Wistar albino cinsi 300-400 mg ağırlığında, 12-16 haftalık toplam 32 rat dahil edildi (Resim 4).



Resim 4: Miringotomi öncesi rat TM görüntüsü

3.1. Miringotomi

İntraperitoneal 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar®, Pfizer Warner Lambert, ABD) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid (Ksilazol, Provet Veteriner Ürünleri Sanayi İstanbul, Türkiye) enjeksiyonuyla sağlanan anestezi sonrası yapılan otomikroskopik bakıda bilateral normal TM'a sahip olduğu görülen 32 adet rat çalışmaya dahil edildi. Otomikroskopik görüş altında, kulak spekulumu ve ucu parlayacak kadar ısıtılan pik kullanılarak her iki TM'ın arka üst kadranına 1 mm çapında standart miringotomi yapılan ratlar, her grupta sekiz hayvan olacak şekilde dört gruba ayrıldı.

3.2. Çalışma grupları

3.2.1. Birinci Grup = Miringotomi (M):

Hayvanlar anestezi altına alındıktan sonra bilateral TM'lerinin arka üst kadranlarında otomikroskop altında pik ile perforasyon oluşturulup herhangi bir tedavi verilmeyerek 14 gün takip edildi.

3.2.2. İkinci Grup= Miringotomi + Topikal Etanol(TE) (M+TE) :

Sıçanların bilateral TM'lerinin arka üst kadranlarında otomikroskop altında pik ile perforasyon oluşturulup 14 gün boyunca her iki kulağa topikal olarak günde bir kez 0,1 ml Etanol verildi.

3.2.3. Üçüncü Grup= Miringotomi + Topikal Alfa Lipoik Asit (M+TALA):

Sıçanların bilateral TM'lerinin arka üst kadranlarına otomikroskop altında pik yardımıyla perforasyon oluşturulup 14 gün boyunca topikal olarak günde bir defa her iki kulağa 50 mg/ml'den 0,1 cc ALA verildi.

3.2.4. Dördüncü Grup= Miringotomi + İntraperitoneal Alfa Lipoik Asit (M+İALA):

Sıçanların bilateral TM'lerinin arka üst kadranlarına otomikroskop altında pik yardımıyla perforasyon oluşturulup 14 gün boyunca intraperitoneal olarak günde bir defa 100 mg/ml'den 0,1 cc ALA verildi.

Çalışma gruplarındaki ratlara (Grup I-II-III-IV) anesteziyi takiben akkor hale getirilmiş pik ucu ile bilateral TM arka üst kadrana 1 mm'lik perforasyon oluşturuldu.

Tüm gruplardaki ratlar (Grup I-II-III-IV) son immunizasyondan 24 saat sonra Ksilazin (10 mg/kg) ve Ketamin Hidroklorür (90 mg/kg) anestezisi (intraperitoneal) altında kalpten kan alma yöntemiyle sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen hayvanların bilateral temporal bullaları histopatolojik incelemeler için alındı.

Miringotomi işleminden sonra tüm gruplar 14. gün sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen tüm gruplardaki ratların sağ ve sol kulaklarındaki TM perforasyon kapanma durumu mikroskop ile anestezi sonrası değerlendirilerek kaydedildi.

3.3. Histopatolojik İnceleme :

Çalışmamızın histopatolojik inceleme aşaması Mustafa Kemal Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı biriminde gerçekleştirildi. Tedavinin tamamlanmasını takiben intraperitoneal Ketamin (Ketalar®) ve Ksilazine (Rompun®) anestezisi verildi. Kalpten kan alma yöntemi ile ötenazi uygulandı. Sakrifikasyondan sonra tüm ratların her iki DKY, TM ve temporal kemikleri beraber eksize edilip, % 10'luk tamponlu formaldehit solüsyonuna konuldu. Örnekler 24 saatlik fiksasyondan sonra dekalsifikasyon solüsyonunda (Formic acid 98-100%, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) 5 gün dekalsifiye edildi. Spesmenler manubrium mallei'ye dik doğrultuda perforasyon alanından geçecek şekilde ikiye bölündü. Sonrasında her iki parça kesit yüzü üzerine yatırılarak dereceli alkol banyolarında dehidrate edilip parafine gömüldü. 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Tüm kesitler Hematoksilin – Eozin ve Masson Trikrom boyaları ile boyandı. Kesitler ışık mikroskobunda (Olympus BX53) bir objektifine okülometre yerleştirildikten sonra spesmenler patolog tarafından incelendi. TM'nin kalınlığı (perforasyon alanı ve perforasyon olmayan alan) mikroskobun oküler kısmına yerleştirilen okülometre ile değerlendirildi. Kesitler ışık mikroskobu altında tek bir uzman patolog tarafından incelendi. Yapılan incelemede epitelyal ve mukozal tabaka sayısı değerlendirildi. Emin Karaman ve ark. tarafından yapılan deneysel travmatik TM perforasyonları ile ilgili çalışmada neovaskülarizasyon üç gruba ayrılarak yapılmış. Çalışmamızda LP (lamina propria) neovaskülarizasyonu +/+/+++ (+ = 40'luk büyütmede alana giren vasküler yapı sayısı 0-3 arası , ++ = 40'luk büyütmede alana giren vasküler yapı sayısı 3-6 arası, +++ = 40'luk büyütmede alana giren vasküler yapı sayısı 6 ve üzeri) olarak sınıflandırıldı. Daha önce Enis Alpin Güneri ve ark. tarafından yapılan akut travmatik timpanik perforasyon ile ilgili bir çalışmada fibroblastik aktivite üç gruba ayrılarak yapılmış. Bizde çalışmamızda LP'nin fibroblastik aktivitesi +/+/+++ (+ = hafif fibroblastik aktivite , ++ = orta fibroblastik aktivite , +++ = şiddetli

fibroblastik aktivite) olarak değerlendirildi. Ayrıca TM total kalınlığı ve epitel kalınlığı mikroskopla ölçölüp mikron cinsinden hesaplandı.

3.4. İstatistiksel Analiz

Otomikroskopik olarak değerlendirilen perforasyon kapanma oranları ve histopatolojik olarak değerlendirilen LP'daki neovaskülarizasyon ve fibroblastik aktivite sonuçları, semikantitatif skorlamaya dayalı veriler olduğu için çalışmanın istatistiksel analizi için çapraz tablolar oluşturularak özellikler arası ilişkiler Pearson Ki-Kare testi ve beklenen değerlerin 5'den küçük olduğu durumlarda Fisher'in kesin olasılık testi ile kontrol edildi.

TM ortalama kalınlık değerleri ve epitel kalınlıkları ise ikili gruplar arasında Mann-Whitney U testi kullanılarak test edildi. Kullanılan tüm analizlerde $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Perforasyon kapanma oranları :

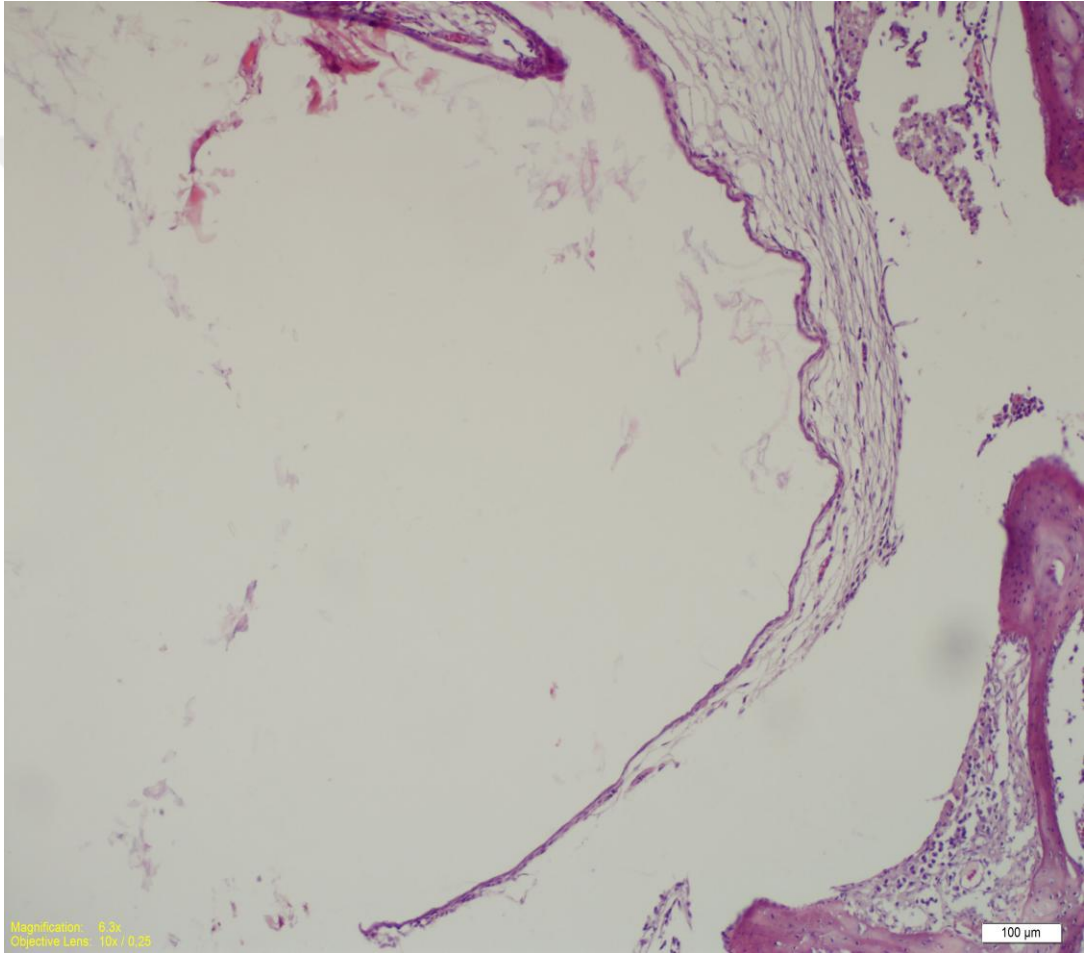
Tablo 1: Perforasyon kapanma tablosu (+=kapanmış, -=kapanmamış)

	Kontrol	Kulak EA	Kulak ALA	Periton ALA
1R	+	+	+	+
1L	+	-	+	+
2R	+	+	+	+
2L	-	+	+	+
3R	+	+	+	-
3L	-	-	+	+
4R	+	+	+	+
4L	+	+	+	+
5R	+	-	+	+
5L	-	+	+	+
6R	+	+	+	+
6L	-	+	+	+
7R	+	-	+	+
7L	-	-	+	+
8R	+	+	+	+
8L	+	+	+	+

(EA : Etil alkol , ALA : Alfa lipoik asit)

Elde edilen bulgular Tablo 1’de sunulmuştur. TM perforasyon kapanma oranları açısından gruplar arasındaki farklılığı test etmek için dört gruptan elde edilen veriler Ki-kare testi ile karşılaştırıldı. İkili gruplar halinde ayrı ayrı karşılaştırıldığında kulağa topikal ALA uygulanan grup ile kontrol grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p=0,015$). Peritona uygulanan ALA grubunun kontrol grubu ile yapılan istatistiksel karşılaştırma sonucu anlamlı bulunmadı ($p=0,070$). Periton ALA uygulanan grup ile topikal etanol uygulanan

grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,070$). Kulağa topikal ALA uygulanan grup ile Peritona ALA uygulanan grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p=0,310$). Kulağa topikal uygulanan ALA grubu ile kontrol grubunun karşılaştırılması sonucu istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı ($p=1,000$). Bunun dışında kalan tüm ikili grupların karşılaştırmaları istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).



Resim 5: 14 gün topikal ALA uygulanmış rat TM görünümü (100 büyütme)

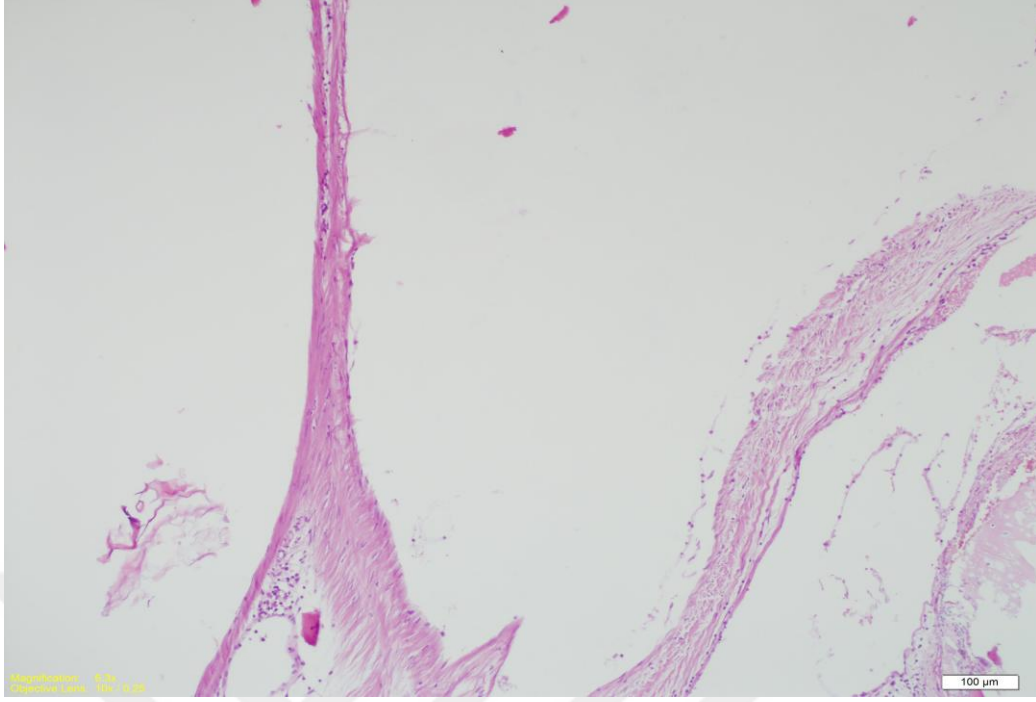
4.2. Timpanik membran kalınlığı (mikrometre)

Tablo 2: 14. gün sonunda tüm gruplardaki rat TM kalınlıkları

	Kontrol	Kulak EA	Kulak ALA	Periton ALA
1R	15	15	16	10
1L	15	12	15	14
2R	10	10	16	13
2L	15	12	15	10
3R	10	10	17	12
3L	12	10	10	15
4R	17	15	16	17
4L	15	10	10	12
5R	13	15	15	12
5L	10	15	16	15
6R	16	15	10	10
6L	15	15	10	10
7R	15	15	13	18
7L	15	17	15	10
8R	12	10	10	10
8L	15	15	14	15
Ortalama	13,75±2	13,19±2	13,63±2	12,69±

Çalışma grubundaki ratların TM kalınlığı ölçümlerinin ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 2’de verilmiştir. Kullanılan büyütmeye göre kalibre edilerek mikrometre cinsinden 5 alanda yapılan ölçümlerin ortalamaları TM kalınlığı olarak kabul edildi.

Öncelikle dört grubun TM kalınlıkları arasındaki farklılığı incelemek için Kruskal-Wallis testi uygulandı ve gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=0,540$). İkili gruplar arasındaki TM kalınlığı ortalamalarının farklılığını incelemek için Mann-Whitney U testi kullanıldı. İkili gruplar arasında TM kalınlık ortalamaları arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p>0,05$).



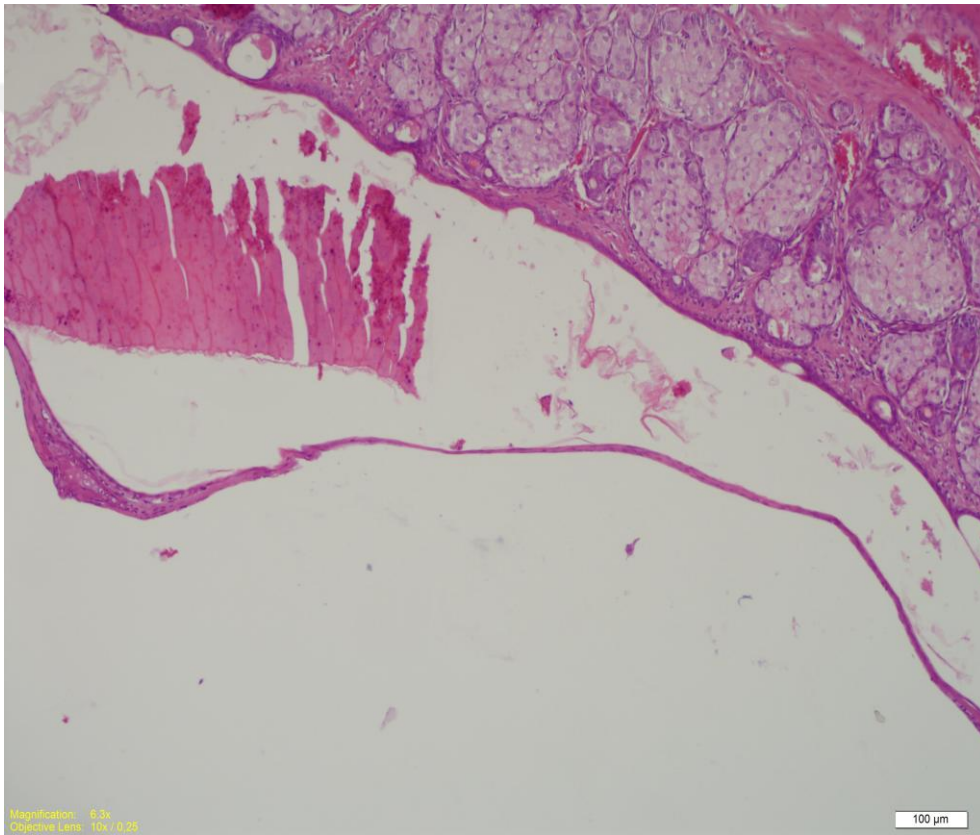
Resim 6: 14 gün intraperitoneal ALA uygulanmış rat TM' ı

4.3. Epitel Katı Kalınlığı

Tablo 3: 14. gün sonunda tüm gruplardaki TM epitel katı kalınlıkları

	Kontrol	Kulak EA	Kulak ALA	Periton ALA
1R	3	4	4	3
1L	5	3	3	3
2R	2	3	3	4
2L	4	3	4	3
3R	3	5	4	5
3L	3	3	4	3
4R	3	4	4	4
4L	4	4	5	4
5R	3	3	3	3
5L	3	3	3	4
6R	4	4	4	3
6L	4	3	4	3
7R	3	4	3	4
7L	4	4	3	3
8R	3	3	4	4
8L	4	2	3	4
Ortalama	3,44±0,7	3,44±0,7	3,63±0,6	3,56±0,6

Gruplardaki TM epitel katı kalınlığı ölçümlerinin ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 3’de verilmistir. Öncelikle dört grubun TM epitel katı kalınlıkları arasındaki farklılığı incelemek için Kruskal-Wallis testi uygulandı ve gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=0,827$). İkili gruplar arasındaki TM epitel katı kalınlığı ortalamalarının farklılığını incelemek için Mann-Whitney U testi kullanıldı. İkili gruplar arasında TM epitel katı kalınlık ortalamaları arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p>0,05$).



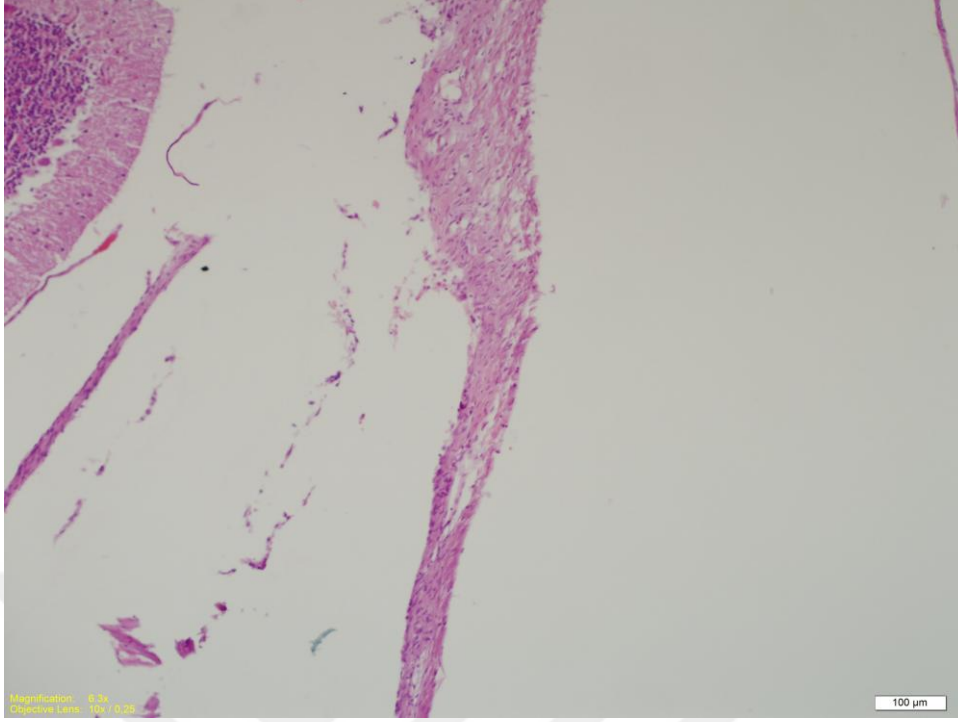
Resim 7: 14 gün topikal EA uygulanmış TM görünümü (100 büyütme)

4.4. Fibroblastik aktivite

Tablo 4: 14 gün sonunda TM'n lamina propria tabakasındaki fibroblastik aktivite tablosu

	Kontrol	Kulak EA	Kulak ALA	Periton ALA
1R	++	++	+	++
1L	+	+	+	+
2R	+	+	++	++
2L	+++	+	++	+
3R	++	+	++	+
3L	+	+	+	+
4R	++	++	+	++
4L	++	+	+	++
5R	++	++	+	++
5L	+	++	++	+
6R	++	++	+++	++
6L	++	++	+	+
7R	++	++	++	++
7L	+	++	++	+
8R	++	+	++	++
8L	++	+	+	+

Elde edilen bulgular Tablo 4’de sunulmuştur. TM perforasyon bölgesindeki fibroblastik aktivite açısından farklılığı test etmek için dört gruptan elde edilen veriler Ki-kare testi ile karşılaştırıldı. İkili gruplar halinde ayrı ayrı karşılaştırıldığında gruplar arasında fibroblastik aktivite açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$).



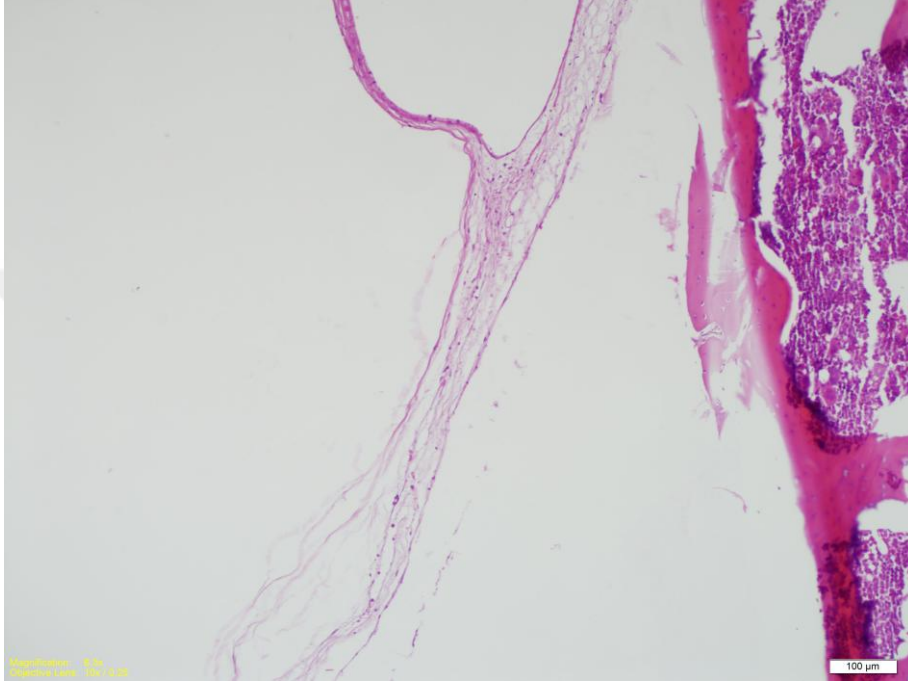
Resim 8: Kontrol grubu 14. gün 40 büyütmede fibroblastik aktivite görünümü

4.5. Neovaskülarizasyon

Tablo 5: 14 gün sonunda tüm grupların neovaskülarizasyon tablosu

	Kontrol	Kulak EA	Kulak ALA	Periton ALA
1R	++	++	++	+
1L	++	+	+	++
2R	+	+	++	+
2L	++	+	++	++
3R	++	+	++	+
3L	+	+	+	++
4R	++	++	+	+
4L	++	+	+++	++
5R	++	++	+	+
5L	+	+++	++	+++
6R	++	+	++	+
6L	++	+++	+	+
7R	+	+	+	++
7L	+	++	++	+++
8R	++	++	++	+
8L	++	++	++	++

Elde edilen bulgular Tablo 5’te sunulmuştur. TM perforasyon kenarındaki neovaskülarizasyon açısından gruplar arasındaki farklılığı test etmek için dört gruptan elde edilen veriler Ki-kare testi ile karşılaştırıldı. İkili gruplar halinde ayrı ayrı karşılaştırıldığında gruplar arasında neovaskülarizasyon açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$).



Resim 9: 14 gün boyunca intraperitoneal ALA uygulanmış rat TM görünümü

5. TARTIŞMA

TM, DKY kanalı ile orta kulağı birbirinden ayıran zardır. TM'nin ortalama vertikal çapı 10-11 mm, anterior-posterior çapı ise 8-9 mm dolayındadır. Ratlarda bu 2.2-2.4 civarındadır. Daha önce yapılan araştırmalarda insan TM ortalama kalınlığı 60-90 µm iken ratlarda bu kalınlık 5-6 µm dolayında olduğu bildirilmiştir (57).

TM, dış kulak kanalı cildinin devamı olan epitel katı, ortada fibröz tabaka ve iç tarafta mukozal kat olmak üzere üç tabakadan oluşur. Dış kulak kanalı cildinin devamı olan dış taraftaki epitel tabakası çok katlı skuamoz epitel ile döşeli iken iç taraftaki mukozal kat orta kulak mukozasının devamı olup tek katlı küboidal epitel olarak devam eder. TM'nin pars tensa bölümünde fibröz tabaka esas olarak radyal ve sirküler kollajen lif yapılarından oluşurken, pars flaksida bölümünde fibröz tabakada herhangi bir düzenleme olmayan elastik ve kollajen yapıdaki liflerden oluşmuştur. (9, 34).

TM perforasyonu insanlarda çok sık görülen bir sağlık problemi olup gerçek insidansı hakkında kesin bir bilgi yoktur. Tüm dünyada ön görülen insidans %1'in altında olarak bildirilse de asıl oran bunun altındadır (1).

TM perforasyonlarına yol açan sebepler arasında ilk olarak infeksiyon, ardından TM travmaları (çarpmalar, delici travmalar, barotravmalar, akustik travmalar), iatrojenik travmalar (parasentez, ventilasyon tüpü uygulaması, dış kulak kanalından serumen temizliği, hiperbarik oksijen tedavisi) sayılabilir.

TM'nin kendi kendini tamir edebilme mekanizması mevcuttur. Farklı sebeplerle meydana gelen TM perforasyonlarının yaklaşık %90'ı spontan olarak iyileşmektedir. TM perforasyon iyileşmesinde başlangıçtaki hemostatik ve inflamatuvar evreleri diğer dokular ile aynı iken, proliferasyon ve migrasyon safhalarındaki aşamaları diğer dokuların yara iyileşmelerine göre farklılıklar içerir. TM'nin iyileşmesini, diğer dokuların iyileşmelerinden ayıran iki önemli özellik vardır. Bunlardan birincisi; TM'nin çok katlı skuamoz epitel katının, membran periferine ve dış kulak kanalı epiteline sürekli migrasyon halinde olmasıdır. İkinci önemli özellik ise TM perforasyonlarında yeni oluşan epitel katının altında ona destek olabilecek ve

besinlerin geçişini sağlayabilecek bir matriksin olmamasıdır. Diğer dokuların yara iyileşmesi sürecinde fibröz dokunun epitelizasyon önce yara yerini doldurduğu görülür, epitelizasyon ise sonradan gelişir. TM'da ise bu tam tersi durumundadır. Önce epitelizasyon oluşur, sonradan fibröz tabaka oluşur (4, 6, 7).

TM perforasyonu sonrasında gelişen epitel katının yara iyileşmesindeki primer rolü ve fibröz tabakanın ise sekonder rolü yapılan araştırmalar sonucunda geniş ölçüde açıklanmıştır (58, 59).

Yapılan çeşitli çalışmalarda akut TM perforasyonlarının iyileşme mekanizmaları anlatılmıştır. Travmanın hemen ardından TM perforasyon kenarlarında başlangıçta eksuda ve membranın fibröz tabakasında bir ödem meydana gelir. Hem dış kulak kanalına bakan epitelde hemde orta kulak tarafına bakan epitelde nekroz gelişir ve fibröz tabakadaki oluşan eksuda dehidratasyona engel olur. Birkaç gün içerisinde perforasyon dışında kalan TM bölgesinde yoğun bir proliferasyon ve perforasyon kenarında ise keratin birikimi izlenir. Oluşan bu proliferasyon membranın vasküler beslenmesinin en iyi olduğu yerlerde daha belirgindir. Bunlar; anulus, manibrium mallei ve malleolar kıvrımların olduğu bölgelerdir. Prolifere olan membranın epitel katı hücreleri, perforasyon santraline olan migrasyonu ile perforasyon kenarında biriken keratini iter ve perforasyon alanını kapatır. Böylelikle perforasyon alanı ilk olarak keratinle dolar. Ardından epitel tabakası üzerini kapatır. Üçüncü günden sonra LP tabakasında kapiller tomurcuklanmalar ve fibroblastlar meydana gelir. Perforasyonun genişliğine göre sıklıkla 7-21 gün içerisinde perforasyon kapanır. Sonraki 4-8 haftalık süreçte normalde fibröz tabakada olan radyal ve sirküler kollajen lif düzeninden farklı kollajenöz bir tabaka oluşur. Sonradan oluşan bu membran yapısının şeffaf ve ince görüntüsü membranın epitel ve mukoza katından ibaret olduğunu düşündürse de yapılan araştırmalar sonucunda arasında bu iki tabakanın arasında ince bir fibröz tabakanın olduğu bilinmektedir (9, 34).

Yapılan çalışmalarda plasebo ile tedavi edilen akut TM perforasyonlarında, fibröz tabakanın proliferere olan epitel katının iyileşmesine göre geç kaldığı izlenmiştir. Fibröz tabakadaki bu gecikmenin proliferere olan epitelin fibröz tabakaya doğru yönelmesine neden olmaktadır. Böylelikle TM' da oluşan perforasyon

merkezinine gidemeyen epitel nedeniyle perforasyonun kapanmama riski ortaya çıkmaktadır (60).

Uzun zamandır TM perforasyonlarında uygulanılacak tedavi yöntemleri hakkında çalışmalar yapılmaktadır. Günümüzde TM perforasyonlarında çeşitli timpanoplasti teknikleri ve akut TM perforasyonlarında kağıt yama uygulaması gibi yöntemler kullanılmaktadır. TM perforasyonlarında infeksiyon veya epitelyal kıvrılmaya yol açabilecek kadar geniş TM perforasyonun olduğu perforasyonun kapanmasına engel teşkil eden durumlarda hastanede yatış süresini kısaltmak ve tedavi maliyetini düşürmek amacıyla mikrocerrahi dışında farklı alternatif tedavi metodu arayışlarına gidilmiştir. Bu düşünülerek hyalunorik asit ve epidermal büyüme faktörü gibi birçok madde bu amaçla araştırılmıştır (2, 15, 33, 61-63).

TM'da meydana gelen travmatik perforasyonların büyük bir kısmı kendiliğinden iyileşmektedir. Fakat daha öncede bahsedildiği gibi infeksiyon ve epitelyal köprüleşmeye engel olacak kadar büyük perforasyonlarda perfore alan ya kapanmayabilir ya da TM perforasyonu kapansa dahi oluşan TM bölümü ince bir membran şeklinde olabilir. İnsanlarda TM perforasyonu sonrası oluşan yeni membranın histolojik olarak incelenmesi sonucunda, membranın fibröz tabakasının fibroblastlardan yoksun, belli bir düzeni olmayan kollajen liflerden oluştuğu izlenmiştir (9, 21). Burada önemli olan yeni oluşan TM'nin perforasyon öncesindeki membran kalınlığında ve histolojik yapısında sahip membran oluşmasıdır. Çalışmamızda amaçlanan, travmatik TM perforasyonlarında ALA'nın verilmesiyle TM iyileşme sürecinde oluşan epitelizeasyon, TM kalınlığı, fibroblastik aktivite ve neovaskülarizasyon üzerinde farklı bir etki oluşturup oluşturmadığını göstermek ve bunun yanında perforasyon kapanma oranına etkisini izlemek amaçlanmıştır.

ALA, insanlar, hayvanlar ve bitkiler tarafından sentezlenebilen doğal bir bileşiktir. ALA içerik olarak oksitlenmiş veya indirgenmiş iki sülfür molekülünü barındırır. Bu farklılıktan dolayı ALA birçok önemli enzimin kofaktörü olarak görev yapabilmektedir. Bunun dışında ALA, hem suda hem de yağda çözünebilen güçlü bir antioksidan yapısında bir maddedir. ALA'nın antioksidan özelliği hem okside hem de indirgenmiş formu ile olur.

ALA, DHLA, dihidroaskorbik asiti tekrar asorbik asite çevirebilir. Böylelikle direkt olarak C vitamininin, dolaylı olarak E vitamininin yeniden sentezlenmesi sağlayabilir. ALA hücreler arasında bulunan glutatyon ve koenzim Q-10 seviyesinde artmaya yol açar. Bunun dışında ALA'nın bazı metallerle şelat yapabilme özelliği bulunmaktadır. Bakır, manganez ve çinko gibi metallerle stabil kompleksler oluşturabilir. ALA'nın yapılan araştırmalarda arsenik zehirlenmesi olan hayvanlarda kullanılabileceği gösterilmiştir. Bunun dışında yapılan çalışmalarda hem in-vitro deneylerde hem de hayvan deneylerinde kadmiyuma bağlı hepatotoksik etkiyi azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca böbreklerde civa ile şelat oluşturabildiği çalışmalarda gösterilmiştir (56).

ALA'nın mitokondriyal esansiyel bir kofaktör olmasının yanında biyolojik antioksidan olması ve serbest radikal oluşumunu engelleme özelliği vardır (64). ALA tedavisinin diabet ve komplikasyonları, iskemi, reperfüzyon hasarı ve diğer birçok klinik endikasyon üzerine yararlı etkileri gösterilmişken, akut TM perforasyonu gibi oksidatif hasarın olduğu bir durumda perforasyon kapanması üzerine etkisini inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır (65, 66). Çalışmamızda ALA maddesi etanol içerisinde çözünerek uygulandı. Etanolün etkinliğinin de izlenebilmesi için ayrı grup olarak topikal etanol grubu oluşturuldu.

Çalışmamızda toplam 32 kobayın 64 TM'ına miringotomi uygulandı. Kobaylar 4 gruba ayrıldı. İlk gruba herhangi bir tedavi verilmeyerek takip edildi. İkinci gruba 14 gün boyunca her iki kulağına etil alkol 0,1 cc topikal olarak verildi. Üçüncü gruba topikal olarak her iki kulağına 50 mg/ml 0,1 cc ALA verildi. Dördüncü gruba intraperitoneal olarak 100 mg/ml 0,1 cc ALA verildi. ALA'nın topikal ve sistemik olarak etkinliğinin de karşılaştırılması planlandı. Kobaylar 14. gün sakrifiye edildi. Gruplar arasında 14. gün sonunda perforasyon kapanması, TM neovaskülarizasyon, fibroblastik aktivite, TM ve epitel katı kalınlığı arasında ikili gruplar şeklinde karşılaştırıldı. İkili gruplar halinde ayrı ayrı karşılaştırıldığında kulağa yapılan topikal ALA grubunun kontrol grubuna göre perforasyon kapanma oranında anlamlı fark izlendi ($p=0.015$).

Topikal ALA uygulamasının kontrol grubu arasında perforasyon kapanma oranlarında istatistiksel anlamlı bir fark izlenmesi rağmen sistemik olarak uygulanan

ALA'nın istatistiksel olarak anlamlı olmaması TM'da yeterli etkin doza ulaşamaması düşündürmektedir. Sistemik uygulamalarda ALA'nın farklı doz ve sürelerde kullanılması ile topikal uygulama ile aynı sonuçlara ulaşılması muhtemeldir.

Tüm gruplar karşılaştırıldığında aralarında TM epitel katı kalınlığı, TM kalınlığı, neovaskülarizasyon ve fibroblastik aktivite ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamasına rağmen çalışma grubunda perforasyon kapanma oranının yüksek olması bize alfa lipoik asidin etkili olduğunu ancak farklı doz ve sürelerde çalışılması gerekliliğini düşündürdü.



6. SONUÇ

Çalışmamızda toplam 32 kobayın 64 TM'ına miringotomi uygulandı. Kobaylar 4 gruba ayrıldı. 14 gün boyunca 1. grup kontrol, 2. grup topikal etil alkol, 3. gruba topikal ALA, 4. gruba intraperitoneal ALA uygulaması yapıldı. Tüm kobaylar 14. gün sakrifiye edildi. Değerlendirme sonunda aşağıdaki sonuçlar ortaya çıktı;

1. ALA kolay ulaşılabilir ve maliyeti ucuz bir maddedir. Topikal ve sistemik kullanımda herhangi bir yan etki izlenmedi.
2. Çalışmaya dahil olan gruplar arasında TM kalınlığı, TM epitel katı kalınlığı, neovaskülarizasyon ve fibroblastik aktivite açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir.
3. Topikal ALA uygulamasının kontrol grubuna göre TM perforasyon kapanma oranında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Cohen D, Tamir D. The prevalence of middle ear pathologies in Jerusalem school children. *Otology & Neurotology*. 1989;10(6):456-9.
2. Güneri EA, Tekin S, Yilmaz O, Özkara E, Erdag TK, Ikiz AÖ, et al. The effects of hyaluronic acid, epidermal growth factor, and mitomycin in an experimental model of acute traumatic tympanic membrane perforation. *Otology & Neurotology*. 2003;24(3):371-6.
3. Eken M, Ates G, Sanlı A, Evren C, Bozkurt S. The effect of topical insulin application on the healing of acute tympanic membrane perforations: a histopathologic study. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2007;264(9):999-1002.
4. Johnson A, Smallman LA, Kent S. The mechanism of healing of tympanic membrane perforations. *Acta oto-laryngologica*. 1990;109(5-6):406-15.
5. Özkaptan Y, Gerek M, Şimşek Ş, Deveci S. Effects of fibroblast growth factor on the healing process of tympanic membrane perforations in an animal model. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 1997;254(1):S2-S5.
6. Johnson A, Hawke M. The function of migratory epidermis in the healing of tympanic membrane perforations in guinea-pig: a photographic study. *Acta oto-laryngologica*. 1987;103(1-2):81-6.
7. Kent SE, Rhys-Evans PH. Thermal myringotomy in guinea pigs. *J Laryngol Otol*. 1987:103-15.
8. von Unge M, Hultcrantz M. The early events in the healing of laser-produced tympanic membrane perforation. *Acta oto-laryngologica*. 2011;131(5):480-7.
9. Govaerts P, Jacob W, Marquet J. Histological study of the thin replacement membrane of human tympanic membrane perforations. *Acta oto-laryngologica*. 1988;105(3-4):297-302.
10. Oktay MF, Cureoglu S, Schachern PA, Paparella MM, Kariya S, Fukushima H. Tympanic membrane changes in central tympanic membrane perforations. *American journal of otolaryngology*. 2005;26(6):393-7.

11. Wang W-q, Wang Z-m, Chi F-l. Spontaneous healing of various tympanic membrane perforations in the rat. *Acta oto-laryngologica*. 2004;124(10):1141-4.
12. Glasscock III M, Shambough G. Closure of tympanic membrane perforation. *Surgery of the ear*, WB Saunders, Philadelphia. 1990:335-49.
13. Laurent C, Hellström S, Fellenius E. Hyaluronan improves the healing of experimental tympanic membrane perforations: a comparison of preparations with different rheologic properties. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 1988;114(12):1435-41.
14. Spandow O, Hellström S. [Healing of tympanic membrane perforation-a complex process influenced by a variety of factors]. *Acta oto-laryngologica Supplementum*. 1991;492:90-3.
15. Amoils CP, Jackler RK, Lustig LR. Repair of chronic tympanic membrane perforations using epidermal growth factor. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery*. 1992;107(5):669-83.
16. Dere H, Ünal A, Özcan İ, Yardımcı S, Ergül G, Titiz A, et al. Travmatik timpan membran perforasyon iyileşmesinde basic fibroblast growth faktörün etkisinin histolojik incelenmesi. *Türk Arh ORL*,. 1997;35:3-7.
17. Ozkul Y, Songu M, Basoglu MS, Ozturkcan S, H. K. Evaluation of the protective effect of α -lipoic acid on cisplatin ototoxicity using distortion-product otoacoustic emission measurements. *İzmir: J Craniofac Surg*; 2014.
18. N. A. Temporal kemik ve isitme organının anatomisi. N. A, editor. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 1998.
19. Putz R, P.R. Sobotta İnsan Anatomisi Atlası. ed., editor. München: R. Oldenburg.; 1993.
20. Castagno LA, Lavinsky L. Tympanic membrane healing in myringotomies performed with argon laser or microknife: an experimental study in rats. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*. 2006;72(6):794-9.

21. Yamashita T. Histology of the tympanic perforation and the replacement membrane. *Acta oto-laryngologica*. 1985;100(1-2):66-71.
22. Yeo SW, Kim S-W, Suh B-D, Cho S-H. Effects of platelet-derived growth factor-AA on the healing process of tympanic membrane perforation. *American journal of otolaryngology*. 2000;21(3):153-60.
23. Heine PA. Anatomy of the ear. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 2004;34(2):379-95.
24. Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci*. 2004;9(1):283-9.
25. Jackson R, Chlebicki C, Krasieva T, Puria S, editors. Multiphoton microscopy imaging of collagen fiber layers and orientation in the tympanic membrane. *Biomedical Optics (BiOS) 2008*; 2008: International Society for Optics and Photonics.
26. Stenfeldt K, Johansson C, Hellström S. The collagen structure of the tympanic membrane: collagen types I, II, and III in the healthy tympanic membrane, during healing of a perforation, and during infection. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 2006;132(3):293-8.
27. Schmidt S-H, Hellström S. Tympanic-Membrane Structure–New Views. *ORL*. 1991;53(1):32-6.
28. Johnson A, Hawke M. Cell shape in the migratory epidermis of the external auditory canal. *The Journal of otolaryngology*. 1985;14(5):273-81.
29. Mondain M, Ryan A. Histological study of the healing of traumatic tympanic membrane perforation after basic fibroblast growth factor application. *The Laryngoscope*. 1993;103(3):312-8.
30. Spratley J, Hellström S, Eriksson P-O, Pais-Clemente M. Early structural tympanic membrane reactions to myringotomy: a study in an acute otitis media model. *Acta oto-laryngologica*. 2002;122(5):479-87.

31. Knutsson J, Bagger-Sjöbäck D, von Unge M. Distribution of different collagen types in the rat's tympanic membrane and its suspending structures. *Otology & Neurotology*. 2007;28(4):486-91.
32. Somers T, Goovaerts G, Schelfhout L, Peeters S, Govaerts PJ, Offeciers E. Growth factors in tympanic membrane perforations. *Otology & Neurotology*. 1998;19(4):428-34.
33. Hellström S, Laurent C. Hyaluronan and healing of tympanic membrane perforations. An experimental study. *Acta otolaryngologica*. 1987;104(sup442):54-61.
34. Johnson A, M. H. An ultrastructural study of skin of the tympanic membrane external ear canal of the guinea pigs. *J Otolaryngol*. 1985:357-64.
35. Duckert L. Anatomy of the skull base, temporal bone, external ear, and middle ear. *Otolaryngology Head and Neck Surgery* 3rd ed St Louis: Mosby. 1998:2533-46.
36. Odar İV. *Anatomi*. ed., editor. Ankara: Elif Matbacılık; 1978.
37. Lee K. *Essential Otolaryngology* (Çev: Metin Önerci) 8. Baskı Kitabevi, İstanbul. 2004:477-84.
38. G. I. Tympanoplasty in children. *Otolaryngol Clin North Am*. 1994:593-605.
39. Hüseyin D, Özcan İ, Şemi Ö. Kronik efüzyonlu otitis media tedavisinde modifiye Goode T tüp ile Paprella tip 1 tüpün karşılaştırılması. *KBB Baş Boyun Cerrahisi Dergisi*. 1997;4:201-5.
40. Nichols PT, Ramadan HH, Wax MK, Santrock RD. Relationship between tympanic membrane perforations and retained ventilation tubes. *Archives of Otolaryngology—Head & Neck Surgery*. 1998;124(4):417-9.
41. Pribitkin EA, Handler SD, Tom LW, Potsic WP, Wetmore RF. Ventilation tube removal: indications for paper patch myringoplasty. *Archives of Otolaryngology—Head & Neck Surgery*. 1992;118(5):495.

42. Shambaugh GE Jr, ME G. Surgery of the ear. ed. r, editor. Philadelphia: WB Saunders; 1980. 408-23 p.
43. Golz A, Goldenberg D, Netzer A, Fradis M, Westerman ST, Westerman LM, et al. Paper patching for chronic tympanic membrane perforations. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery*. 2003;128(4):565-70.
44. Callanan VP, Curran AJ, Gormley PK. Xenograft versus autograft in tympanoplasty. *The Journal of Laryngology & Otology*. 1993;107(10):892-4.
45. Sertaç Y, Tosun F, Bülent S. Revision myringoplasty with solvent-dehydrated human dura mater (Tutoplast). *Otolaryngology--Head and Neck Surgery*. 2001;124(5):518-21.
46. Chauvin K, Bratton C, Parkins C. Healing large tympanic membrane perforations using hyaluronic acid, basic fibroblast growth factor, and epidermal growth factor. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 1999;121(1):43-7.
47. Siedentop KH, Harris DM, Ham K, Sanchez B. Extended experimental and preliminary surgical findings with autologous fibrin tissue adhesive made from patient's own blood. *The Laryngoscope*. 1986;96(10):1062-4.
48. Baldwin RL, Loftin L. How i do it: Otology and neurotology: Gelfilm myringoplasty: A technique for residual perforations. *The Laryngoscope*. 1992;102(3):340-2.
49. Lim AAT, Washington AP, Greinwald JH, Lassen LF, Holtel MR. Effect of pentoxifylline on the healing of guinea pig tympanic membrane. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*. 2000;109(3):262-6.
50. Kohn F, Feijen J, Feenstra L. New perspectives in myringoplasty. *The International journal of artificial organs*. 1984;7(3):151-62.
51. Laidlaw DW, Costantino PD, Govindaraj S, Hiltzik DH, Catalano PJ. Tympanic membrane repair with a dermal allograft. *The Laryngoscope*. 2001;111(4):702-7.

52. Quraishi M, Jones N. Day case myringoplasty using tragal perichondrium. *Clinical Otolaryngology & Allied Sciences*. 1995;20(1):12-4.
53. Kartush JM. Tympanic membrane patcher: a new device to close tympanic membrane perforations in an office setting. *Otology & Neurotology*. 2000;21(5):615-20.
54. MH. M. Peptide growth factors and wound healing. *Clin Plast Surg*. 1990:421-32.
55. Hom DB, Maisel RH. Angiogenic growth factors: their effects and potential in soft tissue wound healing. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*. 1992;101(4):349-54.
56. El-Nakib GA, Mostafa TM, Abbas TM, El-Shishtawy MM, Mabrouk MM, Sobh MA. Role of alpha-lipoic acid in the management of anemia in patients with chronic renal failure undergoing hemodialysis. *International journal of nephrology and renovascular disease*. 2013;6:161.
57. Yorulmaz İ, Demireller A, G. D. Travmatik zar perforasyonlarında hyaluronik asit.: *Ankara Tıp Mecmuası*; 1992. 161-8 p.
58. Taylor M, McMinn R. Cytology of repair in experimental perforation of the tympanic membrane and its relationship to chronic perforations in man. *Ophthalmology*. 1967;71(5):802-12.
59. McMinn R, Taylor M. The cytology of repair in experimental perforations of the tympanic membrane. *British Journal of Surgery*. 1966;53(3):222-32.
60. Fina M, Bresnick S, Bairp A, Ryan A. Improved healing of tympanic membrane perforations with basic fibroblast growth factor. *Growth Factors*. 1991;5(4):265-72.
61. Mondain M, Ryan A. Epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor are induced in guinea-pig tympanic membrane following traumatic perforation. *Acta oto-laryngologica*. 1995;115(1):50-4.
62. Stenfors L-E, Berghem L, Bloom GD, Hellstrom S, Soderberg O. Exogenous hyaluronic acid (Healon®) accelerates the healing of experimental myringotomies. *Auris Nasus Larynx*. 1985;12:S214-S5.

63. O'Daniel TG, Petitjean M, Jones S, Zogg J, Martinez S, Nolph M, et al. Epidermal growth factor binding and action on tympanic membranes. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*. 1990;99(1):80-4.
64. Gorąca A, Huk-Kolega H, Piechota A, Kleniewska P, Ciejka E, Skibska B. Lipoic acid–biological activity and therapeutic potential. *Pharmacological Reports*. 2011;63(4):849-58.
65. Golbidi S, Alireza Ebadi S, Laher I. Antioxidants in the treatment of diabetes. *Current diabetes reviews*. 2011;7(2):106-25.
66. Poh Z, Goh K. A current update on the use of alpha lipoic acid in the management of type 2 diabetes mellitus. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*. 2009;9(4):392-8.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Diyarbakır'da doğdum. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimimi Diyarbakır'da tamamladım. 2011 yılında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. Diyarbakır Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi'nde (2011-2012) görev yaptım. 21.09.2012 tarihinde Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım. Halen aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

