

T.C.KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TOPIKAL DEKSPANTENOL UYGULAMASININ RATLARDAKİ
TRAVMATİK TİMPANİK MEMBRAN PERFORASYONUNDA
İYİLEŞMEYE ETKİSİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Sinem DEMİRDELEN

Trabzon - 2015

T.C.KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TOPIKAL DEKSPANTENOL UYGULAMASININ RATLARDAKİ
TRAVMATİK TİMPANİK MEMBRAN PERFORASYONUNDA
İYİLEŞMEYE ETKİSİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Sinem DEMİRDELEN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet İMAMOĞLU

Trabzon - 2015

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince yaptıkları katkılardan dolayı değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet İmamoğlu, Prof. Dr. Abdölcemal Işık, Prof. Dr. Osman Bahadır, Prof. Dr. Ahmet Ural ve Yrd. Doç. Dr. Selçuk Arslan'a, eğitimim sürecinde beraber çalıştığımız, emeği geçen tüm asistan arkadaşlarıma, yardımcı personel ve hemşirelerimize, her zaman yanımda olan ve benden desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen eşime, oğluma ve aileme içtenlikle teşekkür ederim.

Dr. Sinem DEMİRDELEN

İÇİNDEKİLER

| | |
|---------------------------------------------------|----------|
| ÖNSÖZ..... | II |
| İÇİNDEKİLER..... | III |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | VI |
| RESİMLER DİZİNİ..... | VII |
| TABLOLAR DİZİNİ..... | VIII |
| SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ..... | IX |
| 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..... | 4 |
| 2.1.3. İç Kulak..... | 6 |
| 2.1.3.1. Kemik (Osseöz) Labirent..... | 7 |
| 2.1.3.2. Zar (Membranöz) Labirent..... | 8 |
| 2.1.3.3. İç Kulak Damarları..... | 9 |
| 2.1.3.4. İç Kulak Sinirleri..... | 10 |
| 2.2. Kulak Embriyolojisi..... | 11 |
| 2.2.1. Dış Kulak Yolu Ve Aurikula Gelişimi..... | 11 |
| 2.2.2. Orta Kulak Gelişimi | 11 |
| 2.2.2.1. Orta Kulak Kemikçiklerinin Gelişimi..... | 11 |
| 2.2.2.2. Orta Kulak Kaslarının Gelişimi | 11 |
| 2.2.3. İç Kulak Gelişimi | 12 |
| 2.2.4. Temporal Kemik Gelişimi | 12 |
| 2.3. Timpanik Membran Anatomisi | 13 |

| | | |
|-----------|----------------------------------------------------------|-----------|
| 2.3.1. | Timpanik Membranın Beslenmesi | 15 |
| 2.3.2. | Timpanik Membranın İnnervasyonu..... | 15 |
| 2.4. | Timpanik Membranın Histolojik Yapısı | 15 |
| 2.5. | Ratlar | 16 |
| 2.5.1. | Sprague-Dawley Kolonisi | 16 |
| 2.5.2. | Rat Dış Kulak Yolu Ve Timpanik Membran Anatomisi | 17 |
| 2.5.2.1. | Auriküla | 17 |
| 2.5.2.2. | Dış Kulak Yolu | 17 |
| 2.5.2.3. | Timpanik Anulus | 18 |
| 2.5.2.4. | Rat Timpanik Membranı | 18 |
| 2.6. | Timpanik Membran Perforasyonu | 18 |
| 2.6.1. | Timpanik Membran Perforasyonu Etiyolojisi..... | 19 |
| 2.7. | Timpanik Membran Yara İyileşmesi | 21 |
| 2.7.1. | Timpanik Membranın İyileşmesini Etkileyen Faktörler..... | 22 |
| 2.7.2. | Ratta Timpanik Membran Perforasyon İyileşmesi | 23 |
| 2.8. | Timpanik Membran Perforasyon Tedavisi | 24 |
| 2.9. | Dekspantenol | 25 |
| 2.9.1. | Vitamin B5(Pantotenik Asit) | 25 |
| 2.9.1.1. | Tarihçesi..... | 25 |
| 2.9.1.2. | Kimyasal Yapısı..... | 25 |
| 2.9.1.3. | Eksikliği | 26 |
| 2.9.2. | Dekspantenol'ün Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri | 26 |
| 3. | MATERYAL ve METOD | 28 |
| 4. | BULGULAR..... | 32 |
| 5. | TARTIŞMA | 37 |
| 6. | SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 50 |

| | | |
|----|------------------------|----|
| 7. | ÖZET | 51 |
| 8. | ABSTRACT | 52 |
| 9. | KAYNAKLAR | 53 |



ŞEKİLLER DİZİNİ

| | | |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1: | Kulak yapıları(koronal kesit)..... | 3 |
| Şekil 2: | Kemik ve membranöz labirent. | 7 |
| Şekil 3: | Koklea..... | 8 |
| Şekil 4: | Kulağın embriyolojik gelişimi..... | 13 |
| Şekil 5: | Pantotenik asidin kimyasal yapısı..... | 25 |
| Şekil 6: | Çalışma ve kontrol grubunun kapanma günlerinin karşılaştırılması | 32 |
| Şekil 7: | Lamina propria bulguları açısından çalışma ve kontrol gruplarının karşılaştırılması..... | 35 |

TABLolar DİZİNİ

| | | |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1: | Dekspantenol uygulanan çalışma grubu ile uygulanmayan kontrol grubundaki timpanik membran perforasyonlarının kapanma günlerine göre dağılımı | 32 |
| Tablo 2: | Kapanma günleri açısından kontrol ve çalışma gruplarının istatistiksel verilerinin karşılaştırılması..... | 33 |
| Tablo 3: | 3.ve 5.günlerde kapanma ile 7.günde kapanma oranları açısından kontrol ve çalışma gruplarının karşılaştırılması | 33 |
| Tablo 4: | Lamina propria bulguları açısından kontrol ve çalışma gruplarının karşılaştırılması | 35 |



RESİMLER DİZİNİ

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Resim 1: İnsan timpanik membranı (sağ)..... | 14 |
| Resim 2: Spraque Dawley..... | 16 |
| Resim 3: Ratların timpanik membran muayenesi | 28 |
| Resim 4: Rat timpanik membranı | 29 |
| Resim 5: Rat timpanik membranında oluşturulan travmatik perforasyon (sağ)..... | 29 |
| Resim 6: Rat timpanik membranında kapanmış perforasyon..... | 30 |
| Resim 7: Normal rat timpanik membranı (H&E, X40 büyütme) | 31 |
| Resim 8: Çalışma grubunda artmış kolajenizasyon (H&E, X40 büyütme)..... | 34 |
| Resim 9: Kontrol grubundaki neovaskularizasyon ve inflamatuvar hücre artışı (H&E, X40 büyütme)..... | 34 |
| Resim 10: Çalışma grubundaki fibroblastik aktivite artışı (H&E, X40 büyütme)..... | 34 |

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------|
| TM: | Timpanik membran |
| AOM: | Akut otitis media |
| DKY: | Dış kulak yolu |
| EGF: | Epitelyal Büyüme Faktörü (Epithelyal Growth Factor) |
| FGF: | Fibroblast Büyüme Faktörü (Fibroblast Growth Factor) |
| KGF: | Keratinosit Büyüme Faktörü (Keratinosit Growth Factor) |
| KSOM: | Kronik süpuratif otitis media |
| LP: | Lamina propria |
| PDGF: | Platelet Serbestleştirici Büyüme faktörü (Platelet Derived Growth Factor) |
| BOS: | Beyin Omurilik Sıvısı |
| TMP: | Timpanik Membran Perforasyonu |
| PA: | Pantotenik Asit |
| ATP: | Adenozin-5'-Trifosfat |
| TCA: | Trikloroasetik Asit |
| TGF: | Transforming Büyüme Faktörü (Transforming Growth Factor) |
| MDA: | Malondialdehit |

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Timpanik membran (TM) perforasyonu insanlarda sık görülen bir durum olmasına rağmen gerçek insidansı bilinmemektedir. Tüm dünyada tahmin edilen insidans %1'in altında bildirilse de bu oran tahminlerin altında bir orandır (1).

Perforasyona sebep olan nedenler arasında öncelikle infeksiyon, ardından travmalar gelmektedir. Travmalar; çarpmalar, delici travmalar, barotravmalar, akustik travmalar ve iatrojenik travmalar (miringotomi, ventilasyon tüpü takılması, buşon temizlenmesi ve hiperbarik oksijen tedavisi) olarak ayrılabilir. Gerek infeksiyona ve gerekse travmaya bağlı perforasyonların büyük çoğunluğu spontan kapanabilmektedir. Ancak az bir kısmı cerrahi tedaviye gereksinim duymaktadır (2)

Travmatik perforasyonların spontan kapanması sırasında bir takım kompleks biyolojik süreçler meydana gelmektedir. Bunlar; epitelyal proliferasyon, epitelyal migrasyon, fibroblast proliferasyonu, anjiogenez ve doku yeniden şekillenmesi (remodelling) olarak sayılabilir (3). Bu biyolojik süreci hızlandırmak ve perforasyonun kapanmasına yardımcı olmak amacıyla bazı yöntemler kullanılmaktadır. Özellikle kimyasal ajanlarla koterizasyon, küçük perforasyonlarda tercih edilmektedir (4). Ayrıca timpanik membran tamirini hızlandırmak için hyalüronan , heparin , epidermal growth faktor ve fibroblast growth faktor gibi farklı moleküller kullanılmıştır (5-8). Bir çoğunda etkili sonuçlar alınmasına karşın maliyetlerinin yüksek oluşu ve bulunma zorluğu kullanılabilirliklerini kısıtlamaktadır.

Dekspantenolün topikal formu dokulara kolay geçebilmesi nedeniyle sıkça kullanılan bir preparattır. Dekspantenol, koenzim A komponentlerinden olan pantotenik asidin (vitamin B5) alkolik analogudur. En belirgin etkisi epitelizasyonu ve granülasyonu uyarmasıdır. Bu nedenle dekspantenol yara iyileştirici olarak kullanılmaktadır (9).

Bu çalışmanın amacı, yara iyileştirici olarak sıkça kullanılan dekspantenol'ün timpanik membran perforasyonunun kapanması üzerine etkilerini araştırmaktır. Dekspantenol'ün epitelizasyonu artırıcı etkisiyle perforasyonun kapanmasına katkı sağlayabileceği öngörülmektedir. Hayvan modellerinde ortaya konulması muhtemel bu

etki sayesinde, dekspantenolün insanlardaki travmatik küçük timpanik membran perforasyonlarının kapatılmasında gelecekte diğer tedavi modellerine bir alternatif olabileceği düşünölmektedir.

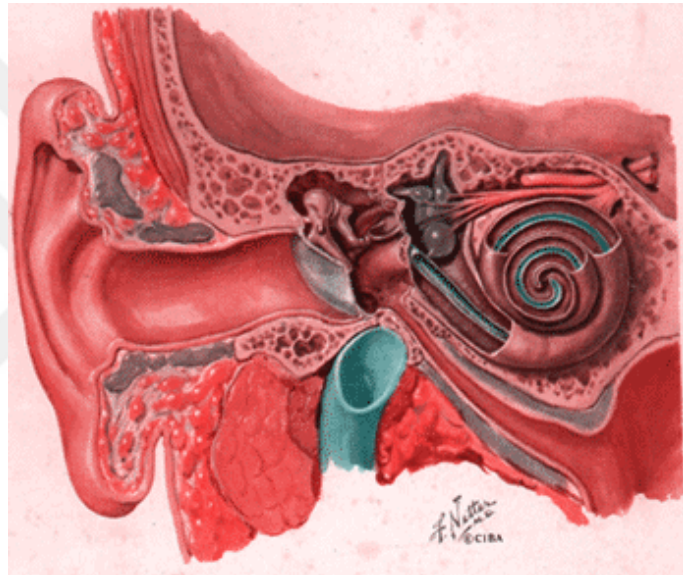


2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kulak Anatomisi

Kulak, işitme ve denge fonksiyonlarının periferik organı olup, temporal kemik içine yerleşmiştir. Görevleri ve yapıları bakımından birbirinden farklı üç parçadan oluşur.

a- Dış kulak, b- Orta kulak, c- İç kulak (10).(Şekil 1).



Şekil 1: Kulak yapıları (koronal kesit) (www.hearingcarecenter.com)

2.1.1. Dış kulak (Auris externa)

Dış kulak üç kısma ayrılarak incelenir; Kulak kepçesi (auriküla), dış kulak yolu (meatus acusticus externus) ve kulak zarı (timpanik membran-TM) (11).

Auriküla, perikondrium ve deri ile örtülmüş ince elastik kartilajdan oluşan bir yapıdır. Aurikulanın beslenmesi, a. temporalis superficialis ve a. auricularis posterior tarafından sağlanır. Venler ise arterlere eşlik ederek, v. jugularise dökülürler. Lenfatik akımı preauriküler, retroauriküler ve infraauriküler lenf düğümlerine olur. Aurikulanın ön yüzünün duyarlılığını, V. kranial sinirin n. auriculatemporalis dalı sağlar. Diğer bölgeleri VII. kranial sinir ve 2.-3. servikal sinirler innerve eder (11,12).

Dış kulak yolunun (DKY) uzunluğu, kulak zarının oblik yerleşmesi nedeniyle, arka duvarda 25mm, ön alt duvarda 31 mm'dir. Dış kulak yolu, kıkırdak ve kemik olmak üzere iki parçadan oluşur. Dış kulak yolunun 1/3 dış kısmı kıkırdak, 2/3 iç kısmını kemik yapı oluşturur (13,14). DKY'nin beslenmesi eksternal karotid arterin a. auricularis posterior dalı ve a. temporalis superficialis dalı tarafından sağlanır. Venöz drenajı; v. maxillaris ve v. jugularis externa aracılığı ile plexus pterygoideus'a olur. Lenfatikleri; anterior, posterior ve inferior auriküler lenf nodlarıdır. İnnervasyonunu V. kranial sinir sağlar (11,14,15).

Timpanik membran, DKY'nin sonunda yer alan ve orta kulak boşluğunu DKY'dan ayıran bir perdedir. Vertikal uzunluğu 9–10 mm, horizontal uzunluğu 8-9 mm ve ortalama kalınlığı ise 0,074 mm'dir. Dış yüzde DKY derisinin devamı olan kutanöz tabaka, iç yüzde orta kulak mukozasının devamı olan mukozal tabaka ve arada fibröz tabakadan oluşur. Timpanik membran sulcus timpanicus içine 'Gerlach halkası' denen anulus fibrosus ile tesbit edilmiştir. Anulus üstte tam değildir. Anterior ve posteror malleolar ligamanlarla devam eder. Timpanik membranın bu ligamanların üstünde kalan gevşek kısmına pars flaccida (Schrapnell zarı), alttaki gergin kısmına da pars tensa adı verilir. Pars tensa timpanik membranın büyük kısmını oluşturur ve ses dalgaları ile titreşen kısım burasıdır. Pars tensa'da bulunan fibröz tabaka, pars flaccidada yoktur. Pars tensa, kan damarları bakımından fakirdir. Bu yüzden dış etkilere olan dayanıklılığı daha azdır. Pars flaccidada sinirler ve zengin bir kapiller ağ bulunur. Pars tensa'nın medial yüzde orta kulak boşluğu ile komşuluğu olup, buna karşılık pars flaccida'nın attik bölgesi ile komşuluğu vardır. Pars tensa'nın orta kısmında, yukarıdan aşağı doğru uzanan malleusun manibrium mallei parçası bulunur. Timpanik membranın en çukur noktasına umbo denir (11,12,16). Timpanik membran a. maxillaris interna'nın dalı olan a. auricularis profundus ile beslenir. Membranın dış kısmı V. IX. ve X. kranial sinirler tarafından, iç kısmı ise VII. ve IX. kranial sinirler tarafından innerve olur.

2.1.2. Orta kulak (Auris Media)

Orta kulak, timpanik membran ile kemik labirent arasında bulunan, östaki borusu aracılığı ile dış ortamla, aditus yolu ile mastoidin havalı boşlukları ile bağlantısı olan, muköz membranlarla örtülü bir alandır. Ortalama hacmi 0,5 cm³ kadardır.

Orta kulak boşluğunun 6 duvarı vardır (12,13).

1. Üst duvar (Tegmen timpani): Epiteimpanumun tavanını oluşturur ve orta kranial fossa ile komşudur.
2. Alt duvar: Hipotimpanumun tabanını oluşturur. Juguler bulbus ve juguler ven ile komşudur. Ayrıca arka kısmında stiloid çıkıntı ile komşuluğu vardır.
3. Arka duvar: Mastoid ile ilişkilidir. Arka kısımda bulunan stapes kası ve stapes tendonunun yapıştığı eminentia pyramidalis, facial sinirin ikinci parçası ile çok yakın komşuluk gösterir ve hemen lateralinden chorda tympani siniri orta kulak boşluğuna girer.
4. Ön duvar: Karotis internanın yaptığı çıkıntı ile östaki borusu ve tensör timpani kası bulunur.
5. İç duvar: Promontoryumun yaptığı çıkıntı aracılığı ile iç kulakla komşuluk gösterir.
6. Dış duvar: Yukarıdan aşağı doğru skutum, kulak zarı ve hipotimpanum olmak üzere üç kısma ayrılır.

Orta kulak boşluğunda üç tane hareketli kemikçik vardır. Bunlar, malleus, inkus ve stapes'tir. Kemikçikler orta kulak boşluğunun üst ve arka kısmına yerleşmişlerdir ve bu boşluğa bağlarla tutunurlar (12). Kemikçiklerin en büyüğü malleus adını alır. Malleus; baş, boyun ve üç çıkıntidan (manubrium mallei, anterior ve lateral çıkıntılar) oluşur. Manibrium mallei parçası ile timpanik membrana yapışır. Malleusun anterior malleolar, lateral malleolar ve süperior malleolar ligament olmak üzere 3 adet asıcı ligamenti bulunur. İnkus, bir gövde ve iki koldan oluşur. İnkusun gövde kısmı malleus ile, uzun kolu ise stapes ile eklem yapar. Medial ve lateral inkudomalleolar ligamanlar inkus gövdesini malleus başına bağlar. Vücudun en küçük kemiği olan stapes: baş, boyun, taban ve iki bacadan oluşur. Stapes tabanı ligamentum annulare ile oval pencereye sıkıca yapışır. Kemikçiklere yapışan kaslar ise tensör timpani kası ve stapes kasıdır. Tensör timpani kası kasıldığı zaman manibriumu içe ve arkaya çekerek timpanik membranı tesbit eder. Stapes kasının tendonu, eminentia pyramidalis'den çıkar ve stapesin boynuna ya da başına yapışır.

Stapes kası fasial sinir tarafından innerve edilir ve kasıldığında yüksek şiddetteki seslerin iç kulağa geçişini engelleyerek koruyucu mekanizmaya yardımcı olur (11).

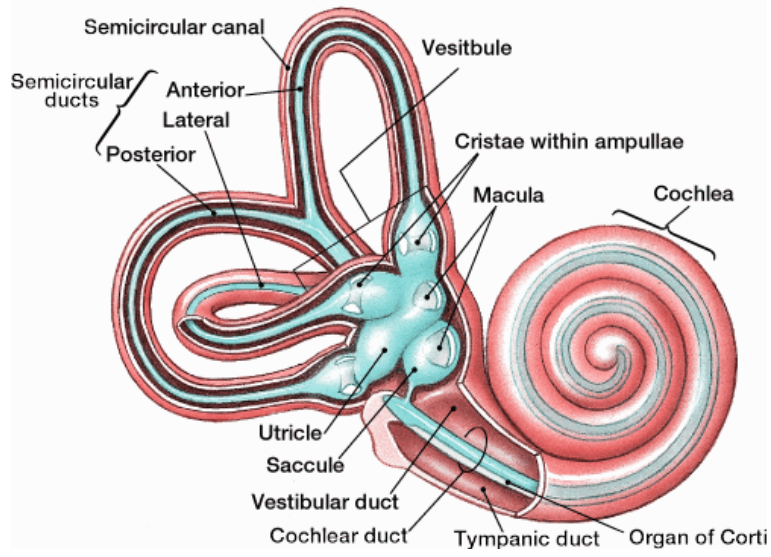
Östaki tüpü, orta kulak boşluğu ile nazofarenksi birbirine bağlayan ve nazofarenkse doğru anteroinferolateral seyir gösteren, huni şeklinde bir yapıdır. Çocuklarda daha kısa ve düz bir seyir gösterir. Orta kulak tarafında kalan posterolateral 1/3 kısmı kemik, nazofarenks tarafındaki 2/3 anteromedial kısmı ise kıkırdaktan oluşur. Östaki tüpünün açılıp kapanmasından m. tensör veli palatini, m. levator veli palatini ve m. salpingopharyngeus sorumludur (11). Orta kulağın kanlanması hem internal hem eksternal karotid arterden sağlanır. Venöz drenajı; sinüs lateralis, bulbus jugulare, sinus petrosus superior, plexus pterygoideus ve v. meningea media ile sağlanır. Sempatik ve duyu sinirleri; n. glossofaringeus'un dalı n. tympanicus (Jacobson siniri) ve n. caroticotympanicus'tur. Lenfatik damarları, retrofarengeal lenf nodları ve parotis içindeki lenf nodlarıdır (15,16).

2.1.3. İç Kulak (Auris interna)

İç kulak, işitme ve denge ile ilgili reseptörlerin bulunduğu kısımdır ve temporal kemiğin petröz bölümünde yerleşmiştir (12,17). İşitme ve denge organlarını barındırır. Yuvarlak ve oval pencereler yolu ile orta kulak ile; koklear ve vestibüler akuaduktuslar yolu ile kafa içi ile bağlantılıdır. Kemik (osseöz) ve zar (membranöz) labirent olmak üzere iki kısımdan oluşur (12,13).(şekil 2).

Kemik (osseöz) labirent: Kemik labirenti otik kapsül adı verilen sert kompakt kemik dokusu oluşturur. Zar labirent bunun içinde yer almaktadır. Aralarında perilenf adı verilen sıvı bulunur. Kemik labirent; vestibulum, kemik semisirküler kanallar, koklea, aquaduktus vestibuli ve aquaduktus koklea'dan oluşmaktadır (14,18).

Zar (membranöz) labirent: Zar labirent kemik labirentin içinde aynı şekli alır. Zar labirent kemik labirenti tamamen doldurmaz. Onun ancak 1/3 kısmını doldurur. Zar labirenti oluşturan yapılar; utrikulus, sakkulus, duktus semisirkülaris, duktus endolenfatikus, duktus perilenfatikus, duktus koklearis, korti organı olarak sayılabilir (14,18).



Şekil 2: Kemik ve membranöz labirent (www.ohsu.edu)

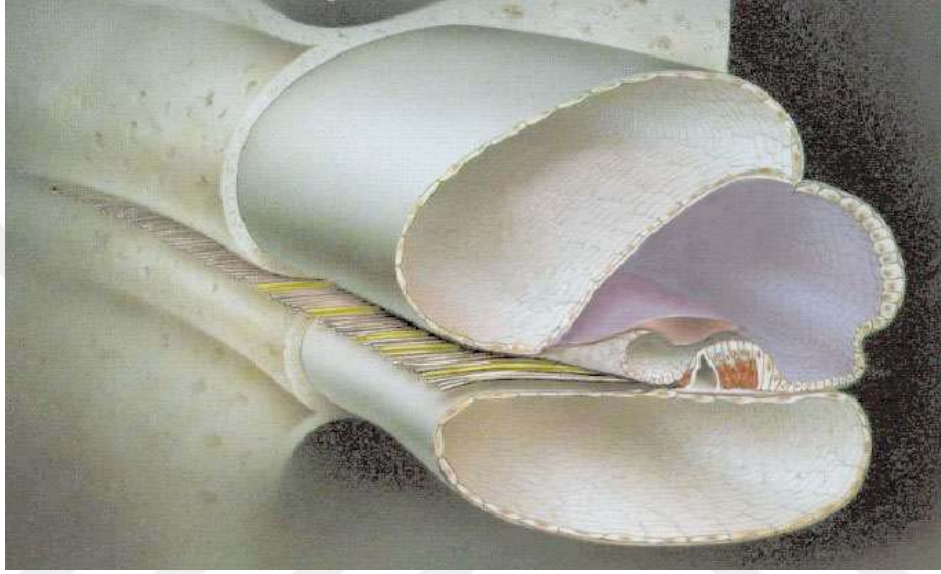
2.1.3.1. Kemik (osseöz) labirent

Vestibulum: Yaklaşık 4 mm çapında düzensiz ovoid bir kavitedir. Dış yan duvarı yuvarlak ve oval pencere aracılığıyla timpanik kaviteye; ön duvar kokleaya komşudur. Üst ve arka duvarda semisirküler kanallarla birleşir. İç yan duvarda ise ön altta sakkulus'un yerleştiği sferikal resess, arka üstte ise utrikulusun yerleştiği eliptikal resess bulunur (14,19).

Kemik semisirküler kanallar: Superior, posterior ve lateral olmak üzere üç adet semisirküler kanal uzayın üç ayrı düzlemine yerleşmiştir. Her biri yaklaşık olarak bir dairenin 2/3'ü kadar olan bu kanallar vestibulumuna açılır (14,19).

Koklea: İç kulağın ön kısmında bulunan ve şekli salyangoza benzeyen kemik bir tüptür. Modiolus, kanalis spiralis koklea ve lamina spiralis osseadan oluşur. Modiolus, kokleanın eksenini oluşturur. Modiolus içindeki ince kanallardan koklear damarlar ve VIII. kranial sinirin lifleri geçer. Bu kanalcıkların hepsi modiulusun spiral bir şekilde olmasından dolayı modiulusun spiral kanalı adı da verilen Rosenthall kanalına açılırlar. Bu kanalın içinde ganglion spirale de denilen 'Korti Ganglionu' bulunur. Kanalis spiralis koklea, modiulusun çevresini iki buçuk defa spiral olarak dolanan kemik bir yoldur. Bu yol, vestibulun ön alt kısmından başlar ve kupula adı verilen kapalı bir uçla sonlanır. Lamina spiralis ossea, modiulustan uzanan kemik bir laminadır. Baziler membran adı

verilen fibröz bir tabaka ile devam eder ve karşı duvara ulaşarak kanalis spiralis kokleayı ikiye böler. Vestibulumu açılan üst parçaya skala vestibuli, fenestra koklea aracılığıyla kavum timpaniye açılan alt parçaya skala timpani denir. İki skala; kokleanın tepesinde helikotrema denilen yapıda birleşir. Lamina spiralis ossea'nın serbest kenarı ile kanalis spiralis koklea'nın dış yan duvarı arasındaki baziller membranının üzerinde, korti organı (organum spirale) adı verilen işitme organı bulunur (14,19) (Şekil 3).



Şekil 3: Koklea (www.ci-centrum.de)

Aquaduktus vestibuli: Vestibulumun iç yan duvarından başlayıp petröz kemiğin fossa subarkuata denilen çukurunda sonlanır. Bu kanalın içinde zar labirente ait duktus endolenfatikus ve onun ucunda sakkus endolenfatikus vardır (14,19,20).

Aquaduktus koklea: Skala timpani'den başlayıp petröz kemik alt yüzünde subaraknoidal boşluğa açılan kemik kanaldır. Bu kanal içinde duktus perilenfatikus ve v. kanalikuli koklea vardır (14,19,20).

2.1.3.2. Zar (membranöz) labirent

Utrikulus: Vestibulumun iç yan duvarındaki eliptikal reseste bulunur. İç yan duvarında makula utrikuli adı verilen kısmında denge hücreleri bulunur ve buradan n.

utrikularis başlar. Utrikulusta duktus semisirkularislerin açıldığı beş ve duktus utrikulosakkularisin açıldığı bir adet delik bulunur (12,17).

Sakkulus: Vestibulumun iç yan duvarındaki sferikal resseste bulunur. Bunun da iç yan duvarında makula sakkuli adı verilen kısımda denge hücreleri vardır ve buradan n. sakkularis başlar. Sakkulusta bir tane duktus utrikulosakkularis'e ait, bir tane de sakkulusu duktus koklearis'e bağlayan duktus reuniense ait iki delik vardır (12,17).

Duktus semisirkularis: Kemik semisirkuler kanalların içerisinde bulunurlar. Ancak kemik kanalların 1/5 kalınlığındadır. Diğer 4/5'lik kısmı perilenf ile doludur. Membranöz kanalların ampullaları içerisinde krista ampullaris adı verilen kabarık bölgelerde duyu epiteli mevcuttur. Buralardan n. ampullaris anterior, n. ampullaris posterior ve n. ampullaris lateralis başlar. Her üç n. ampullaris daha sonra n. utrikularis ve n. sakkularis ile birleşerek n. vestibularis'i oluşturur (12,17).

Duktus endolenfatikus: Duktus utrikulosakkularis adlı borucuktan doğar. Aquaduktus vestibuli adlı kemik kanal içinde ilerler. Fossa subarkuata'daki sakkus endolenfatikus adlı şişlikte dura mater altında sonlanır (12,17).

Duktus perilenfatikus: Aquaduktus koklea içerisinde bulunur ve skala timpani ile subaraknoid boşluğu birleştirir. İçinde perilenf bulunur (12,17).

Duktus koklearis: İki ucu kapalı üç yüzlü bir boru şeklinde olan duktus koklearisin tepesinde bulunan kör ucuna çekum kupulare, taban kısmındaki kör ucuna ise çekum vestibulare denir. Çekum vestibulareye yakın bölümünden çıkan duktus reuniens aracılığıyla sakkulusa bağlanır. Duktus koklearis, koklear kesitlerde üç duvarlı bir yapı olarak görülür: Reissner membranı (membrana vestibularis), ligamentum spirale koklea, korti organı (organum spirale)(12,17).

2.1.3.3. İç Kulak Damarları

Labirentin arter, çoğunlukla a. cerebelli anterior inferior'dan ayrılır ve labirenti besler. Labirentin arter, basiller arterden hatta doğrudan vertebral arterden de çıkabilir. İç kulak kanalına VIII. kranial sinirle birlikte girer ve iki ana dala ayrılır: a. vestibularis anterior ve a. cochlearis communis. Bu dallardan, vestibülü ve kokleayı besleyecek olan. a. vestibulocochlearis ve a. cochlearis adlı dalcıklar çıkar (18,21,22).

Vestibulokoklear ve koklear arter, koklear kanalın lateral duvarında stria vaskularis ve spiral laminada kapiller ağ oluşturarak sonlanır. Koklear arter apekse doğru ilerlerken spiral modiolar arter adını alır. Bu arter bir end arterdir ve obstrüksiyonları sağırılığa yol açabilmesinden dolayı önemlidir (21). Spiral modiolar arterden arterioller ayrılarak kapiller dallar verirler ve koklear beslenmeyi sağlarlar.

İç kulağın venöz dönüşü arterlerle birlikte seyreden venlerin birleşmesi yolu ile oluşan v. labirentika ile olur. Bu da sinüs petrosus superior ve inferior, sinüs transversus ve v. jugularis internaya dökülür. Lenfatik sistem endolenf ve perilenf olarak kabul edilir. Bunlar da beyin omurilik sıvısına (BOS) dökülürler (19,23).

2.1.3.4. İç kulak sinirleri

Bipolar afferent sinirlerin hücre gövdeleri Rosenthal kanalındaki spiral ganglionu oluşturur. 2 tip nöron vardır. Tip 1 nöronlar myelinlidir, tüm popülasyonun %95'ini oluşturur ve iç saçlı hücelere dağılırlar. Tip 2 nöronlar myelinsizdir, toplamın %5'ini oluştururlar ve dış saçlı hücelere dağılırlar. Lifler kendi myelin tabakalarını kayb ettikleri yer olan habenula perforata yoluyla kemik spiral laminadan corti organına geçerler. Dış saç hüceleri için olan lifler, Deiters hüceleri arasındaki üç grup içerisinde olan spiral ve baziller membran boyunca korti'nin tüneline girerler. Terminal dallar spiral liflerden kaynaklanırlar ve çok sayıda dış saç hücelerini inerve ederler. Bunun tersine her bir iç saç hücresi çok sayıda tip1 lifler ile inerve edilirler. Tüm sinir sonlanmaları kadeh şeklinde ve vezikülsüzdür. Granülsüz sonları ile birlikte bu afferent liflere ilaveten granüle olmuş birçok sonlanımlar hem dış saç hüceleri ile hem de afferent liflerin terminal sonlanımları ile kontakt yapacak şekilde gözlenmiştir. Bu granüle olmuş sonlar Rasmussen'nin olivokoklear demetindeki beyin kökünden kaynaklanan efferent liflerdir. Hücre gövdeleri süperior olivary kompleks içerisinde yerleşmiştir. Lifler inferior vestibuler sinir ile birlikte ilk olarak beyin kökünde ilerler fakat vestibulokoklear anastamoz şeklinde kokleaya girerler. İntraganglionik spiral demetlerde lifler, internal spinal demetler ile iç saç hücelerini inerve eden afferent liflere dağılırlar. Alternatif olarak lifler korti tüneline ortasından geçerler ve iç saç hücelerinin gövdelerine dağılırlar. Bu liflerin baskılayıcı olduğu sanılır (17).

2.2. Kulak Embriyolojisi

Embriyolojik olarak tüm kulak yapıları üç germ yaprağından gelişir.(Şekil 4)

2.2.1.Dış Kulak Yolu ve Aurikula

Aurikula ilk üç tanesi birinci brankial arktan geri kalan üç tanesi ise ikinci brankial arktan kaynaklanan altı tane kıkırdak noktadan gelişerek oluşur. Birinci brankial arktan kaynaklanan kıkırdak noktalardan tragus, heliks kökü ve heliks üst kısmı gelişirken ikinci brankial arktan kaynaklanan kıkırdak noktalardan ise antitragus, antiheliks ve lobül gelişir. Embriyolojik hayatın ilk dönemlerinde dış kulak yolunu oluşturan birinci farengeal yarık daha sonraki dönemlerde ektodermal hücreler tarafından doldurulur ve bu dönemi takip eden fetal evre boyunca ise bu hücreler rezorbe olur ve medial uç timpanik membranın dış tabakasını oluşturur. Birinci farengeal yarık dış kulak yolunun kıkırdak parçasına karşılık gelirken geçici epitelyal nüve kemik parçasına karşılık gelir (24).

2.2.2. Orta Kulak Gelişimi

Birinci endodermal cebin dışarıya doğru şekillenmesiyle timpanik boşluk oluşur ve östaki borusu şekillendikten sonra dört primer kese oluşur (sakkus antikus, medius, süperior, postikus) bu keselerden orta kulak, mastoid ve petröz kemik havalı hücreleri gelişir. Sakkus superior ile medius arasındaki mukozal katlantılar ortan kalkmaz ise petröskuamöz lamina (körner septumu) oluşur (24).

2.2.2.1. Orta kulak kemikçiklerinin gelişimi

Malleus'un prosesus brevisi dışındaki kısmı ve inkus'un tamamı birinci brankial arktan (mandibular ark, Meckel kıkırdağı) gelişir. Malleus kısa kolu ise meckel kıkırdağından bağımsız olarak intramembranöz kemikleşme sonucunda oluşur. Stapes'in taban dışında kalan kısımları ikinci brankial arktan (Reichert kıkırdağı) tabanı ise otik kapsülden gelişir (24).

2.2.2.2. Orta kulak kaslarının gelişimi

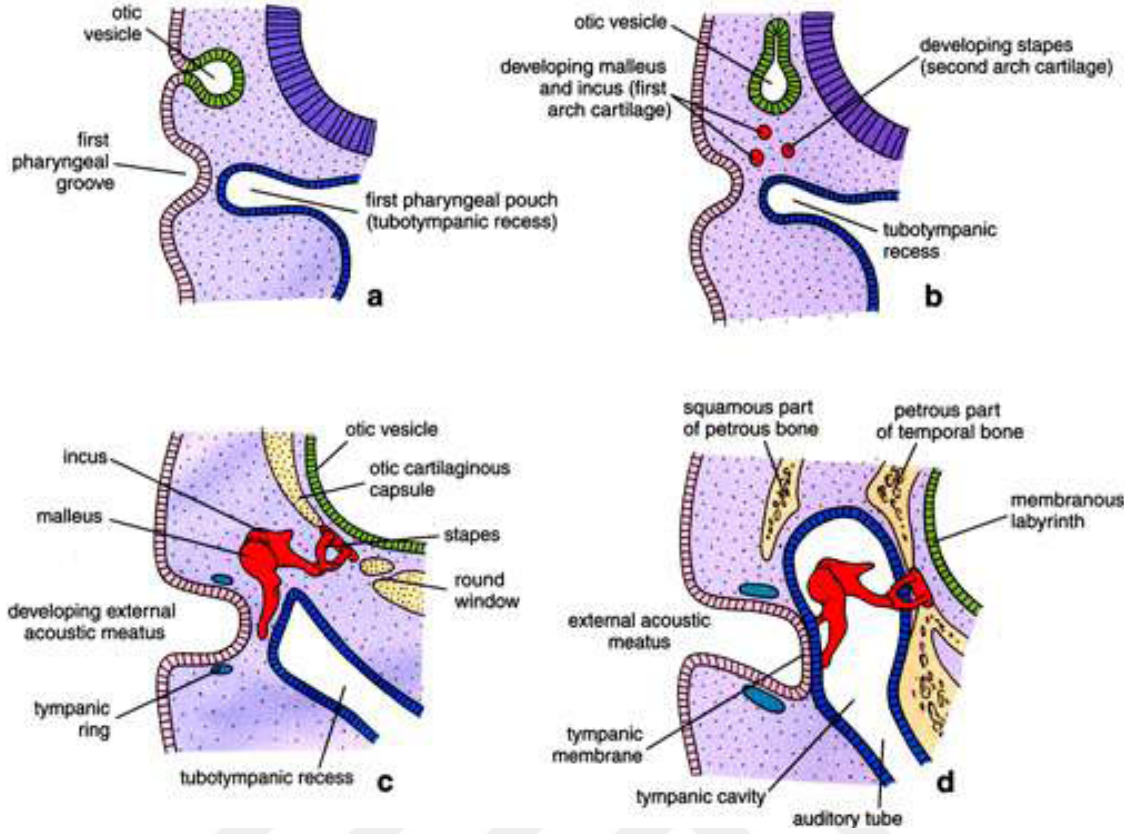
M.tensor timpani birinci farengeal arktan, M.stapedius ise ikinci farengeal arktan gelişir. Bundan dolayı m.tensor timpani m.mandibularisle, m.sapedius ise n.fasialis ile innerve olurlar (24).

2.2.3. İç Kulak Gelişimi

Üçüncü gestasyonel haftada ektoderm yüzeyinde lamina otika adı verilen bir alan olarak iç kulak gelişimi başlar. Bu alanın daha sonra çukurlaşması ile fossa otika oluşur ve beş haftada fossa otika'nın yüzey epiteli ile bağlantısı kesilir ve otik vezikül oluşur. Otik vezikül daha sonra ikiye ayrılarak ventral kısımdan duktus koklearis ve sakkulus, dorsal kısımdan da utriculus, semisirküler kanallar ve endolenfatik duktus gelişir. Dorsal kısımdan gelişen parçaya pars superior, ventral kısımdan gelişen parçaya ise pars inferior adı verilir. Fossa otika vezikül haline geçerken bir kısım epitel hücresi ayrılarak statoakustik ganglionu oluştururlar. Bu ganglion da ilerleyen dönemlerde ikiye ayrılarak ganglion vezikulare ve ganglion spiraleyi oluşturur. Bu ganglionlardan gelişen sinir lifleri makula, krista ve korti organlarına ulaşırlar. Ektodermden gelişen membranöz labirentin etrafını mezodermden gelişen kıkırdak yapı sarar. Bu daha sonra ossifiye olarak kemik labirenti oluşturur (24).

2.2.4. Temporal Kemik Gelişimi

Temporal kemik petromastoid, stiloid, skuamöz ve timpanik olarak dört parçadan oluşur. Petromastoid kısım otik kapsülden gelişir (enkondoral kemikleşme). Petröz kısımdan kaynaklanan kanat benzeri bir oluşum, timpanik boşluk üzerine doğru büyür ve tegmen timpaniyi oluşturur. Doğumdan sonra mastoid bölüm antero inferior yönde büyüyerek mastoid çıkıntısını oluşturur. Stiloid parça ikinci farengeal ark kıkırdağından gelişir. Proksimal parçası doğum öncesi, distal parçası ise postnatal dönemde kemikleşir. Petromastoid parça ile kaynaması postnatal birinci yılda gerçekleşir. Skuamöz kısım sekizinci haftada kalvariumun yan tarafından intramembranöz olarak kemikleşmeyle ortaya çıkar. Postnatal birinci yılda petromastoid parçayla kaynaşır. Timpanik parça sekizinci haftada intramembranöz olarak kemikleşir. Kemikçikler temporal kemik gelişimi ile birlikte gelişirler. Temporal kemikte petröz parça ve inkus malleus (processus brevis hariç), stapes (taban hariç) enkondoral kemikleşme gösterirler ve basınca dayanıklıdırlar. Timpan kemiğin geri kalan kısmı yani timpanik, mastoid, skuamöz parçalar ise desmal ya da intramembranöz kemikleşme gösterirler bunun özelliği ise kasların çekme kuvvetine göre şekillenmeleridir (24).



Şekil 4: Kulağın embriyolojik gelişimi (<http://anatomy.iupui.edu>)

2.3. Timpanik Membran Anatomisi

Timpanik membran (TM), dış kulak yolu ile orta kulak boşluğunu ayıran bir perdedir. Kalınlığı 0,1 mm, uzunluğu 10–11 mm ve genişliği 8–9 mm'dir. Timpanik bölümü sulkus timpanikus içine oturur. Buna timpanomeatal halka denir. Halkanın üst ucu açık kalır (Rivinus çentiği). Burayı skuamöz kemiğin aşağıya doğru giden skutum adı verilen uzantısı doldurur. Kulak zarı, sulkus timpanikus içine anulus fibrozus ile tespit edilmiştir.

Timpanik kemiğin her 2 uzantısının bitim noktalarından malleusun başına doğru iki plika uzanır ve bunlar kulak zarını malleusa bağlar. Bunlara plika malleolaris anterior ve posterior adı verilir (12).

Timpanik membran iki komponenten oluşmuştur. Pars tensa, anuler ligamentle etrafındaki timpanik kemiğe sıkıca tutunmuştur. Manibrium mallei pars tensa içine gömülmüştür. Rivinus çentiğini dolduran gevşek kısmına ise pars flaksida (Sharpnell zarı)

adı verilir. Pars tensa ve Pars flaksida arasındaki sınır anuler ligament tarafından oluşturulan anterior ve posterior malleolar ligament tarafından belirlenir (25).

Timpanik membranın konumu düz değildir. Eğimli bir yerleşim söz konusudur. Pars tensanın arka kenarı dışa daha yakın, ön kenarı ise daha uzaktır. Timpanik membranın pars tensa parçasında, ortada yukarıdan aşağıya doğru uzanan malleusun kulak zarı içerisindeki parçası olan manibrium mallei bulunur. Manibrium mallei yukarıdan aşağıya, önden arkaya doğru durmaktadır. Timpanik membran konkav şekildedir ve çukur yerinde umbo adı verilen manubrium malleinin ucu bulunur (12).



Resim 1: İnsan timpanik membranı (sağ)

2.3.1. Timpanik Membranın Beslenmesi

Arteriyal beslenme eksternal karotis arterin 3. dalından olmaktadır. Timpanik membran temel olarak internal maksiller arterin dalı olan derin aurikular arterin posterior dalından beslenmektedir. Bu arter pars flaksidada anterior ve posterior manibrial artere ayrılır. Bu dallar umboda tekrar birleşirler ve anulusa doğru radial dallar gönderirler(6). Timpanik membran deri tabakasının damarları, internal maksiler arterin aurikular dalı ile bağlantılıdır. Mukozal yüzün arteriyal beslenmesi ise hem internal maksiller arterden hem de posterior aurikular ve stilomastoid arterden gelir. Bunlar özellikle iç yüzde ışınal tarzda zarın derinliklerine doğru giderler. Plikaların içinde ve manibrium mallei boyunca damarlar daha kalındır (12).

Timpanik membranın venleri dış kulak yolu ve orta kulak boşluğunun venlerine dökülür. Timpanik membranın lenfatikleri damarlarını izler; mastoid apeks ve tragus önünde yerleşmiş servikal lenf nodlarına ya da üstaki tüpünün lenfatiklerine drene olurlar (12).

2.3.2. Timpanik Membranın İnnervasyonu

Timpanik membranın duyuşal inervasyonları esas olarak nervus trigeminus (V) ve nervus vagustan (Arnold's dalı) (X) gelir. Nervus fasialis (VII) arka kısma hissi dallar verir. İç yüzün hassasiyetini ise nervus glossofaringeus (IX) sağlamaktadır (12).

2.4. Timpanik Membranın Histolojik yapısı

Pars tensa ve pars flaksidadaki epidermis histolojik olarak birbirine benzer. Sadece pars flaksidada birkaç kat daha kalındır. Ve kalınlığı 0,03 ile 0,23 mm arasında değişir. Pars tensa ise daha incedir ve 0,03 ile 0,09 mm arasında değişir. Umbo ve posterosuperior kadranda pars tensa en kalındır.

Pars tensa histolojik olarak dışta dış kulak yolu derisi, iç yüzde orta kulak mukozası ve ikisinin arasında fibröz tabaka olmak üzere üç tabakadan oluşmuştur. Fibröz tabaka dışta stratum radiale ve içte stratum sirkulare denilen liflerden yapılmıştır (12). Sirküler tabakada parabolik, semisirküler ve transfer lifler vardır. Dıştaki radyal lifler malleus boynundan kaynaklanıp anuler halkaya yapışır. İçteki dairesel (sirküler) lifler malleus kısa proçes, boynu ve anterior-posterior malleolar ligamentlerden kaynaklanır. Radyal ve

dairesel lifler temel olarak kollajen fibrillerden oluşmakla birlikte ince retiküler lifler de karışmıştır. Pars tensadaki fibröz tabaka pars flaksidada yoktur. Pars flaksidada zengin bir kapiller ağı ve sinirler bulunur (12).

Pars flaksidanın lamina propriası pars tensadan daha kalın ve daha az organize olmasıyla ayrılır. Pars flaksidada kollajen ve elastik lifler zemin üzerinde gevşek dizilmiştir. Buna karşılık pars tensada kollajen lifler ve birkaç elastik lif daha düzenli dizilmiştir. Mast hücreleri pars flaksidada olmakla beraber pars tensada yoktur. Sinir liflerinin çoğu subepidermal ve submukozal tabakalara doğru ilerlerse de bazı türlerin skuamöz epitel tabakasında serbest sinir uçları bulunmaktadır. Timpanik membranın her 2 bölümündeki mukozal tabaka aynıdır. Bu tabakada temel olarak belirgin mikrovilli, kısa kübik hücreler ve aralarda stratifiye kolumnar hücreler bulunur. Orta kulak mukozası ile TM'nin geçiş bölgesine yakın bölgelerde dağılmış goblet hücreleri bulunur (12).

2.5. Ratlar

Ratlar 1877'lerden beri laboratuvarlarda yetiştirilmektedirler. Günümüzde 130'dan fazla rat soyu sayabilmeyiz. Bunların 50'den fazlası kısmen ya da tamamen Wistarlar'dan üretilmiştir. Çeşitli rat soyları; Wistar albino, Lewis, Sprague Dawley, Brown Norwegian ve Fisher 344 olarak sayılabilir (26).

2.5.1. Sprague-Dawley Kolonisi

Wistar albinolar gibi araştırmalarda çok sık kullanılan Sprague-Dawley kolonisi, Wisconsin Üniversitesinden Robert Dawley tarafından büyük olasılıkla Wistar Enstitüsünden sağlanan sıçanların ıslahı ile üretilmeye başlanmıştır. Bu koloni adını R.Dawley'in kendi soyadını eşinin kızlık soyadı ile birleştirmesinden almıştır.



Resim2: Sprague Dawley

Çoğu otolaringolojist çalışmalarında Guinea pig ve ratı deney modeli olarak tercih etmektedir. Bu çalışmalar için bu hayvanların kulak anatomisini bilmek çok önemlidir (26).

2.5.2. Rat Dış Kulak Yolu Ve Timpanik Membran Anatomisi

Dış kulak, kulağın timpanik membranının lateralinde kalan kısmıdır. Aurikula, dış kulak yolu, timpanik anulus ve timpanik membrandan oluşur.

2.5.2.1. Auriküla

Auriküla oldukça ince bir kıkırdak ve bunu çevreleyen deriden yapılmıştır. İnce bir kıkırdağı olması nedeniyle dinamik bir şekle sahip değildir. Deri yer yer pigmente olup kıl folikülleri içerir. Lobül oldukça incedir ve insandaki gibi belirgin yağ dokusu izlenmez (27).

2.5.2.2. Dış Kulak Yolu

Dış kulak yolu (DKY), eksternal akustik meatustan başlayarak timpanik membrana kadar olan kısımdır. Ortalama uzunluğu 7 mm olup zarın oblik konumundan dolayı inferiorda daha uzundur (8 mm). En geniş çapı 4 mm olup; burası eksternal akustik meatus girişidir. En dar yeri ise timpanik halkanın medial kemik halka ile birleştiği yerdir ve yaklaşık 3 mm'dir (27). Dış kulak yolu, hilal benzeri yapıda olan tabandaki üç adet kemik halka ve yukarıda aurikular kıkırdağın devamı olan bir adet kıkırdak halka tarafından oluşturulur. Rat dış kulak yolu bu yönüyle insandan oldukça farklıdır. Çapı 3 mm olan timpanik halka, bulla ile devamlılık gösterir ve bullaya sıkıca yapışıktır. Dış kulak yolunun en medial kısmını oluşturan bulla, inferiorda huni şeklinde genişler ve internal olarak yerleşen anulusa yataklık eder (27). Bulla, anulustan sonra genişlemeye devam eder. Bu anatomik özellik nedeniyle bulla ile timpanik halka arasında zarın tamamının görülmesini engelleyen ölü bir boşluk bulunur.

2.5.2.3. Timpanik Anulus

Timpanik membranın yerleştiği yapıdır. Kalınlığı 1 mm olan timpanik anulusun mediale doğru gidildikçe çapı biraz daha büyür ve en büyük çapına serbest kenarında ulaşır. Timpanik membran, anulusa bu serbest kenardan yapışır.

2.5.2.4. Rat Timpanik Membranı

Ratlarda timpanik membran sadece pars tensadan oluşur. Pars flaksida yerinde ise kemik bir lamel olan supratimpanik krest bulunur. Timpanik membran, orta kulak boşluğunu dış kulak yolundan ayıran bir perde özelliğindedir. Renk ve şekil olarak insan timpanik membranı ile benzer özelliklere sahiptir. Fakat daha ince olup oldukça şeffaftır. Zira lateralden bakıldığında orta kulaktaki majör oluşumlar rahatlıkla izlenir (27).

İnce bir yapısı olması nedeniyle diseksiyonlar esnasında kolayca yırtılabilir. Timpanik membran fibröz tabakadan yoksundur ve sadece anulusa yakın kısımlarda nadiren kollajen fibrillere rastlandığı bildirilmiştir (27). Bu bulgular rat timpanik membranının neden bu kadar şeffaf ve travmaya hassas olduğunu açıklar. Ortalama çapı vertikal düzlemde 5 mm, horizontal düzlemde 4 mm'dir. Fibröz anulusu bulunmayan timpanik membran kemik anulusun serbest kenarına sıkıca tutunur. Dış kulak yolundan zara doğru bakıldığında manibrium malleinin çok büyük olduğu ve vertikal düzlemde timpanik membran boyunca uzandığı izlenimi uyarır. Diseksiyonun ilerleyen aşamalarında (lateral yaklaşım sonrası) bu görüntünün yanıltıcı olduğu ortaya çıkar. Timpanik membranın inferolateralinde dış kısmı timpanik halka ve timpanik bulla ile çevrili gizli bir boşluk bulunur (28).

2.6. Timpanik Membran Perforasyonu

Timpanik membran perforasyonları otolaringolojide sık görülen durumlardan biridir. Tüm dünyada tahmin edilen insidans %1'in altında bildirilse de bu oran tahminlerin altındadır (1).

Perforasyona sebep olan nedenler arasında öncelikle infeksiyon, ardından travmalar gelmektedir. Travmalar; çarpmalar, delici travmalar, barotravmalar, akustik travmalar ve iatrojenik travmalar (miringotomi, ventilasyon tüpü takılması, buşon temizlenmesi ve hiperbarik oksijen tedavisi) olarak ayrılabilir (2). Timpanik membran perforasyonu; ani

şiddetli ağrıya, işitme kaybına, kulaktan kan gelmesine ve tinnitusa neden olabilmektedir. Ayrıca bazen kemikçik zincir dislokasyonuna, perilemf fistülüne ve fasiyal sinir yaralanmasına neden olabilmektedir (33). Gerek enfeksiyona ve gerekse travmaya bağlı perforasyonların büyük çoğunluğu spontan kapanabilmektedir. Ancak az bir kısmı cerrahi tedaviye gereksinim duymaktadır (2).

2.6.1. Timpanik Membran Perforasyonu Etiyoloji

1)Enfeksiyon: Timpanik membran (TM) ince bir zar olduğundan süpüratif enfeksiyonlarda yırtılması kolaydır. Timpanik membran perforasyonunun en sık nedeni enfeksiyondur. Komplikasyonsuz akut otitis media enfeksiyonlarında oluşan perforasyon, genellikle küçüktür ve enfeksiyon düzeldiğinde kendiliğinden iyileşir. Kalıcı perforasyon, iyileşme sürecini bozan kalıcı enfeksiyonlardan kaynaklanır (34).

2)İyatrojenik: İyatrojenik TM perforasyonu nedenleri; miringotomi, ventilasyon tüpü takılması, kulak kanalından serümenin temizlenmesi ve hiperbarik oksijen tedavisi olarak sayılabilir (34).

3)Travma: Timpanik membran perforasyonlarının ana nedenlerinden biri travmalardır. Bunlar; çarpmalar, delici travmalar, barotravmalar ve akustik travmalardır. Özellikle longitudinal temporal kemik kırıklarına neden olan künt kafa travmaları genellikle TM'nin perforasyonuna neden olmaktadır. Penetran travmalar ise en sık pamuklu çubuklarla serümenin temizlenmesi sırasında olmaktadır (34).

4)Kronik Süpüratif Otitis Media: Kronik süpüratif otitis media (KSOM) perforasyon veya ventilasyon tüpü nedeniyle bütünlüğü bozulmuş timpanik membrandan uzun süreli akıntı ile karakterizedir (35). Eksternal otit eklenmediği, belirgin intrakraniyal veya infratemporal komplikasyon oluşmadığı ya da malignansi olmadığı sürece kulak ağrısı görülmez. Perforasyon etrafında granülasyon dokusu oluşabilir. Kronik süpüratif otitis media olgularında etken olarak en sık *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* izole edilir. Bazı çalışmalarda anaerob bakterilere de rastlanmıştır (36).

Öncelikli tedavi, enfeksiyonun ortadan kaldırılmasıdır. Uzun süreli tedavi ise rekürren otere, işitme kaybı ve kolesteatomaya yöneliktir. Kronik süpüratif otitis media tedavisinde antibiyoterapi standarttır. Genelde kulağın aspire edilmesi ve topikal kulak

damlaları kronik otorenin tedavisi için yeterli olmaktadır. Çok çeşitli topikal kulak damlaları mevcuttur. Ancak sadece ofloksasin kulak damlası timpanik membran sağlam değilken kullanılmak üzere FDA (The Federal Food and Drug Administration) onayı almıştır. Kinolon sınıfı bu ajan geniş bir spektruma sahiptir ve KSOM'a sebep olan pek çok bakteriye etkilidir (37).

Kronik süpuratif otitis media'da yapılan cerrahi tedavi; kolesteatomanın ortaya konulması ve tedavisi, enfekte granülasyon dokularının temizlenmesi, orta kulak mastoid havalanması ve drenajının sağlanmasına yöneliktir. Bu durum çoğunlukla intakt kanal duvarı yaklaşımı ile mastoidektomi ve timpanoplasti işlemi gerektirmektedir (35).

Pediyatrik dönemde kronik timpanik membran perforasyonlarının kapatılması endikasyonlarında net bir fikir birliği yoktur. Küçük ve kuru perforasyonlarda çoğu kez işitme ya normaldir ya da çok az etkilenmiştir. İşitme kaybı; büyük perforasyonlar, timpanoskleroz veya kemikçik fiksasyonunun eşlik ettiği durumlarda belirgindir. Timpanik membran perforasyonu, uzun süren orta kulak hastalıklarına neden olabilir. Özellikle yüzmekten hoşlanan çocuklarda küçük perforasyonlar, tekrarlayan enfeksiyonların kaynağıdır ve sudan korunma rekürren otore insidansını azaltmaktadır. Ancak kulak tıpası kullanımı çoğu kez çocuklar tarafından tolere edilemeyen ve koopere olunamayan bir uygulamadır. Tek taraflı işitme azlığı da okul performansı ve dil gelişimini etkileyebilir. Hem kulağın sudan korunmasındaki zorluklar hem de işitme kaybının okul başarısını azaltması göz önüne alınarak gelişme çağlarında timpanik membran perforasyonları bazen erken müdahaleyi gerektirebilmektedir (38).

5) *Ventilasyon tüpüne bağlı kalıcı perforasyon:* En sık cerrahi müdahale gerektiren travmatik timpanik membran perforasyonları, timpanostomi tüpü yerleştirilmesine bağlı oluşan perforasyonlardır. Timpanostomi tüpü uygulamasını takiben gelişen kalıcı perforasyon oranı kısa süreli tüpler için %1-4, uzun süreli için ise %12-25 arasında bildirilmektedir (39). Perforasyonun kalıcı olarak kabul edilmesi için tüp atıldıktan sonra üzerinden 6 ay-1 yıl geçmesi gerekmektedir (40). Eğer tüp, 36 ay içinde spontan atılmazsa kalıcı perforasyon riski artar (41). Ayrıca tekrarlayan tüp takılması, timpanik membranın atrofik olması, tüpün modeli ve oluşan otore kalıcı perforasyon ile ilişkilidir (42). T tüp tatbiki sonrası kronik perforasyon oranı yaklaşık %11,5 olarak bulunmuştur(43,44). Perforasyonu önlemek için T tüp ve geniş kenarlı tüplerde, tüp çıkartıldıktan veya

atıldıktan sonra perforasyon kenarlarını debride etmek ve üzerine ince bir tabaka (kağıt, steristrip, sponge, jelatin) sermek uygun olabilir (45).

Sonuç olarak timpanik membran perforasyonları en sık kronik otitis media'dan veya travmadan kaynaklanır. Her ne kadar enfeksiyon sonrasındaki perforasyon oranları bilinmese de Lindeman ve ark. göre travmatik perforasyon oranı binde 8.6 olarak tahmin edilmektedir (46). Nedeni ne olursa olsun, oluşan timpanik membran perforasyonlarının akut ya da kronik dönemde tedavi edilmeleri, bunlara bağlı gelişebilecek komplikasyonları önleyecektir (47).

2.7. Timpanik Membran Yara İyileşmesi

Timpanik membran perforasyonlarının çoğu kendiliğinden iyileşmesine rağmen birçok faktör iyileşmesini geciktirerek veya önleyerek kronik perforasyon oluşmasına neden olabilir. Bu gibi durumlarda membranın rejenerasyonla iyileşme işlemi bozulur. Histolojik olarak kronik perforasyonlarda skuamöz epitel perforasyon kenarından membranın mukozal tabakasına doğru ilerler ve onunla birleşir. Teorik olarak yara kenarının bu şekilde epitelize olması spontan iyileşmeyi durdurmaktadır.

Timpanik membranın iyileşmesini perforasyonun büyüklüğü, çeşidi, hastanın yaşı, beslenme ve immünite durumu etkilemektedir (48). Yara iyileşmesinde görülen evreler; hemostaz, inflamasyon, proliferasyon, yeniden şekillenme (remodelling) ve kontraksiyon olarak sayılabilir.

İyileşme sürecinin başlangıcında trombositler yaranın içine göç ederler ve trombüs oluşur. Ardından vazokonstriksiyonla beraber hemostaz oluşur. Birkaç saat sonra vasküler geçirgenlik artar ve nötrofiller, makrofajlar, sitokinler yaranın içine doğru ilerlerler (48). Timpanik membranın yara iyileşmesi, vasküler dağılıma bağlı olarak başlangıçtaki hemostatik ve inflamatuvar evrelerde sıradan olmasına rağmen proliferasyon ve migrasyon safhalarında diğer dokulardan tamamen farklıdır. Birçok yara iyileşmesinde, üzerinde reepitelizasyonun olduğu bir platforma yatak gibi davranan granülasyon dokusu oluşur. Timpanik membranda skuamöz epitel tabakası başlangıçta yara üzerinde bir köprü oluştururken fibröz komponentin yeniden oluşması bunu takip eder (2). Oluşan yeni timpanik membranın incilmesi özellikle fibröz tabakanın yeniden şekillenmesiyle olur.

Çoğu yara iyileşmesinde ise tam tersine fibröz dokunun defekti doldurmasından sonra epitelizasyonun gerçekleşmesi görülmektedir (34).

Akut otitis media veya travmatik perforasyonlara bağlı oluşan timpanik membran perforasyonlarında iyileşme; epitelyal migrasyon, fibroblastik aktivitede artış ve vasküler proliferasyon sayesinde oluşur. Akut timpanik membran perforasyonlarının spontan iyileşmesinde skuamöz epitel, defekte farklı uzaklıklarda bulunan epitel üretim merkezlerinden aşırı şekilde çoğalmaktadır (48). Bu alanlar genellikle malleus boynu, anulus ve dış kulak yolu gibi iyi kanlanan alanlardır. Yara kenarlarından eksuda (intertisyal sıvı, lenf ve kan elemanları) açığa çıkar. Skuamöz epitel proliferer olur ve perforasyonun merkezine doğru migrasyon gösterir (2). Epitel, perforasyon kenarına doğru göç eder ve perforasyondaki açıklığı atlayarak defekti kapatır. Ardından bu proliferasyon düzenli kollajen tabakaya dönüşür ve yeniden şekillenir (48,49). Süreç, içteki mukozal alanların içeriye uzanması ile devam eder. Bazı timpanik membranların iyileşmemesinin nedeninin defektin çok büyük olması sonucu epitel proliferasyonlarıyla köprü oluşturulamamasına bağlı olduğu düşünülür. Bununla beraber yapısal eksiklikler perforasyonun devamında tek faktör olarak kabul edilmez (48). Kronik perforasyonlar ile tekrarlayan enfeksiyonların iyileşme sürecini bölmesi, epitelyal proliferasyonun gerilemesine ve perforasyon halkasının çevresinde matür epitel halka oluşmasına neden olur (48).

Özetle timpanik membran üç basamaklı bir süreçte iyileşir. Bu süreç diğer kutanöz iyileşme işlemlerinin başlangıçtaki hemostaz ve inflamasyon süreçleriyle benzerdir. Bu işlemdeki migrasyonda epitel tabaka kritik bir rol oynamaktadır ve bu işlem bazal proliferatif tabakanın kontrolündedir. Birçok kanıt yüzeysel keratin tabakanın başlangıçta yara üzerinde köprü oluşturduğunu desteklese de medial mukozal tabakanın da bu işlemde rol aldığı belirtilmiştir. Fibröz tabaka, perforasyonda göç eden en son tabakadır. Birçok vakada bu gerçekleşmez. Yeni membran sadece epitel ve mukoza tabakasından ayrıca bunların arasındaki düzensiz fibrillerden oluşur. Diğer dokularda olduğu gibi iyileşme biçimi ve hızı vasküler dağılımla ilgilidir.

2.7.1. Timpanik membranın iyileşmesini etkileyen faktörler

Birçok faktör iyileşmeyi geciktirerek ya da önleyerek timpanik membranda kronik perforasyon oluşmasına neden olabilmektedir. Bu gibi durumlarda membranın rejenerasyonla iyileşme işlemi bozulur. Kemotaksis ve sonuçta yaranın karşısında olacak

migrasyon durur. Histolojik olarak kronik perforasyonlarda skuamöz epitel, perforasyon kenarından TM'nin mukozal tabakasına doğru ilerler ve onunla birleşir. Teorik olarak yara kenarının bu epitelizasyonu spontan iyileşmeyi durdurmaktadır. Akut perforasyon iyileşmemesinin en sık nedeni enfeksiyon varlığıdır. Buna rağmen akut süperatif otitis medianın kronik perforasyonların iyileşmesini sekonder olarak stimüle ettiği bildirilmiştir. Belki de nedeni iyileşmeyi durdurucu epitelyal tabakanın kısmen nekrozudur (50).

Timpanik membranda nekroza neden olan bir travma veya enfeksiyon da kronik perforasyonuna yol açabilir. Timpanik membran (TM) nekrozunun en sık nedeni özellikle streptokok ve diğer virulan patojenlerin neden olduğu akut enfeksiyonlardır. Patlayıcı yaralanmalar, yanıklar ve koroziv kimyasalların neden olduğu travmatik yaralanmalar da TM'de yaygın nekroza neden olarak iyileşme işlemini durdurabilmektedir (50).

Müdahalesi zor olan membran nekrozlarının bir diğer nedeni kaynak işlemi sırasında sıcak bir metal parçasının dış kulak yolundan girişidir. Bazı araştırmacılar termokoagülasyonun timpanik membran (TM) vaskülaritesini bozarak iyileşme işleminin tamamlanmasını engellediğini savunmaktadırlar (50).

2.7.2. Ratta timpanik membran perforasyonu iyileşmesi

Ratlardaki timpanik membran perforasyonları ile ilgili yapılan çalışmalarda araştırmacılar, yaralanmanın epitel üretim merkezini, yeni skuamöz hücrelerin yapımı için uyardığını ve bunların da yara kenarlarından merkeze doğru göçü uyardığı savunmuşlardır. Ayrıca göç eden bu epitel hücreleri yara kenarına ulaştığında açıklık kapanmış olur. Sonuçta yoğun hücresel proliferasyon ve yara kenarında göçün olduğu kutanöz iyileşme ile karşılaştırıldığında TM'de başlangıçta yaraya uzak mitotik aktivasyonun yoğun olduğu bir alandan yaraya doğru bir göç mevcuttur. Yara kenarındaki mitotik aktivasyon daha azdır ve daha sonra oluşur. Rejenere olmuş (yeniden oluşmuş) TM'nin daha sonra incelenmesi özellikle fibröz tabakanın yeniden şekillenmesiyle olur.

Diğer hayvan ve laboratuvar çalışmaları başlangıçtaki skuamöz epitel hiperplazisini desteklemiştir. Uzak merkez ve migrasyon yara kenarında proliferatif fazda bulunan bazal hücrelerin bulunmamasıyla desteklenmiştir (51).

Epitel hiperplazisinin yara boyunca bir iskelet oluşturduğu genel olarak kabul edilen görüştür. Hiperplastik skuamöz tabaka üzerinde bir keratin çıkıntı üretilir. Keratin, perforasyonu primer olarak kapatır. Bunu fibröz tabakanın oluşması izler (52).

2.8.Timpanik Membran Perforasyonu Tedavisi

Timpanik membranın rejenerasyon ve spontan iyileşme yeteneği olmasına rağmen kronik perforasyonlar oluşabilmekte ve tamir ihtiyacı olabilmektedir (53). Tedavi yöntemlerinin amacı bu perforasyonları kapatarak işitmeyi düzeltmek ve orta kulak enfeksiyonu olasılığını ortadan kaldırmaktır.

Cerrahi ve optik sistemindeki ilerlemeler ile antibiyoterapinin gelişmesi, miringoplasti operasyonunu emniyetli hale getirmiş; greftin yaşama şansını arttırmıştır. Günümüzde otolog temporal kas fasyası grefti en çok kullanılan greft materyalidir. Deneyimli hekimlerce başarı oranı %88 ile %97 arasında bildirilmektedir (54,55). Ancak cerrahi girişim, zaman ve iş gücü kaybı ile maliyetinin yüksekliği nedeniyle ekonomik değildir. Bu nedenle, timpanik membran perforasyonunu hasta açısından daha kolay ve ucuz yöntemlerle kapatacak madde ve teknikler araştırılmaktadır.

Timpanik membran perforasyon tamirinde “Paper patch” yöntemi bir ofis işlemidir. Diğer ameliyat yöntemlerine göre hızlı olması, yatış gerektirmemesi, iş gücü kaybına yol açmaması ve zahmetsiz uygulanması nedeniyle maddi açıdan timpanoplastiye göre daha düşük maliyetlidir (56). Bu teknik, akut ve travmatik timpanik membran perforasyonlarında ya da ventilasyon tüpü çıkarılmasından sonra spontan iyileşme görülmesine rağmen sıkça kullanılmaktadır (57,58). Uzun süreli perforasyonlar için de bazı hayvan modellerinde paper patch miringoplasti bazı araştırmacılar tarafından çalışılmıştır (59,60). Ancak insanlarda yapılan çalışmaların çok az bir kısmında ve çok küçük perforasyonlarda bu yöntem başarılı bulunmuştur (61,62).

Küçük timpanik membran perforasyonlarında (TMP) kimyasal koterizasyon yöntemi de sıkça kullanılabilir. Bu işlemde kullanılan bazı ajanlar gümüş nitrat, trikloroasetik asit olarak sayılabilir (4).

Timpanik membran perforasyonunun kapanmasını hızlandırmak amaçlı topikal bazı maddeler kullanılmaktadır. Bunlar arasında hastanın kendi kanından elde edilmiş fibrin

yapıştırıcılar, hyalüronik asit ve jel filmler sayılabilir. Ancak, timpanik membranın, özellikle akut perforasyonlarının tedavisinde etkinliği tam olarak ortaya konmuş herhangi bir madde yoktur (63). Günümüzde, travmalar sonucu meydana gelen TMP'nin iyileşmesini hızlandıran ve tamamen kapanmasını hedefleyen tedaviler araştırılmaktadır.

Bu çalışmada travmatik TMP modeli oluşturularak dekspantenolün epitelizasyonu ve granülasyonu uyarıcı etkisiyle TMP'nin iyileşmesi üzerinde gösterebileceği etkiler araştırılmıştır.

2.9. Dekspantenol

Dekspantenol, (D-pantenol; (+)-2,4- dihidroksi- N- (3-hidroksipropil) -3,3 dimetilbütiramid) pantotenik asidin alkolik analogudur (9). Dokularda pantotenik aside (PA) oksitlenir. Pantotenik asit ve derivelerinin redükte glutasyonu, koenzim A'yı (özellikle mitokondriyal koenzim A'yı) ve adenozin-5'-trifosfat'ı (ATP) artırdığı belirlenmiştir (64,65). Tüm bunlar hücrel defansda, oksidatif stres ve inflamatuvar süreçlerdeki tamir sistemlerinde majör rol oynamaktadır (66,67).

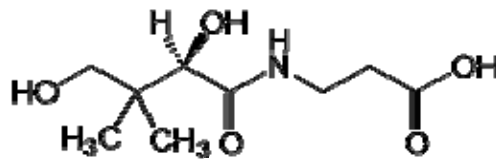
2.9.1. Vitamin B5(Pantotenik Asit)

2.9.1.1. Tarihçesi

Pantotenik asit, ilk defa Williams ve arkadaşları tarafından 1933 yılında mayalarda ve mikroorganizmalarda gelişim faktörü olarak gösterilmiştir. Bundan sonra 1940 yılında pantotenik asit izole edilmiş ve yapısı tarif edilmiştir (68).

2.9.1.2. Kimyasal yapısı

Pantotenik asit (C₉H₁₇O₅N) β-alanin türevinden meydana gelmiş peptid bağlı bir bileşiktir. Kimyasal yapısı α,γ-dihidroksi – β-dimetil bütiril – β-alanindir.



Şekil 5: Pantotenik asidin kimyasal yapısı

Pantotenik asit adını doğada çok yaygın bulunmasından almıştır. (pantothen: her yer). Bütirik asidin dimetil türevinin beta alanine bağlanmış şeklidir (68).

2.9.1.3. Eksikliği

Pantotenik asit bir gelişim faktörüdür. Eksikliğinde farelerde gelişme azalır. Kilo kaybı olur. Verim kapasitesi azalır. Karaciğerde yağlanma görülür. Korteks nekrozu sonucu kanamalar olur, adrenokortikal hipofonksiyon görülür. Kanda kolesterol ve yağ seviyeleri azalır. Cilt ve saçlarda kepekler görülür. Cilt bozulur. Saçlar dökülür. Sinir dokularında hasar ve gastrointestinal problemler görülür. Anemi oluşabilir, kıllar ağarır, adrenal bezlerde kanama ve nekrozlar olur. Sonuç olarak PA eksikliği ölümlle sonuçlanabilir (68).

2.9.2. Dekspantenol'ün yara iyileşmesi üzerine etkileri

Dekspantenolün yara iyileşmesi ve epitelizasyon üzerindeki pozitif etkisi uzun süredir bilinmektedir. Uzun zamandır yara iyileşmesi amacıyla kullanılmaktadır (69,70). Bu molekül; granülositlerden myeloperoksidaz salınımını azaltır, serbest oksijen radikallerinin oluşumunu inhibe eder ve mitotik aktiviteyi artırarak antiinflamatuvar etki gösterir (71). Otolaringolojide de dekspantenolün yara iyileştirici etkileri bazı çalışmalarda araştırılmıştır (69,70).

Pantotenik asit, epitel oluşumunu ve rejenerasyonunu uyararak yara iyileşmesini artıran bir provitamindir (72). Dekspantenolün topikal formu cilde kolaylıkla yüksek konsantrasyonlarda nüfuz ettiğinden yaygın olarak kullanılmaktadır. Dekspantenol içeren formülasyonların en önemli etkileri epitelizasyonun uyarılması, granülasyon oluşumu ve kaşıntıda azalmadır (9).

Dekspantenolün topikal dermatolojik formu yara iyileşme problemlerinde, dermatozlarda, skarlarda, geniş yanık yaralarında ya da deri transplantasyonlarında klinikte sıkça kullanılmaktadır (9,73-75). Ayrıca topikal dekspantenol antiinflamatuvar ve epitel koruyucu özelliğiyle burun ameliyatlarından sonraki yara iyileşmelerinde de rutin olarak tercih edilmektedir (76-79). Dekspantenolün lokal uygulamaları akut ve kronik rinitlerin tedavisinin de bir parçası olarak görülmektedir (79). Klinik deneyimlerde eksternal

dekspantenol uygulamasının iyi tolere edildiği, cilt irritasyonu veya duyarlılığı riskinin az olduğu gösterilmiştir (80).

Yaptığımız bu çalışmada dekspantenolün epitelizasyonu artırıcı etkisiyle timpanik membran perforasyonun kapanmasına katkı sağlayabileceği öngörülmektedir.



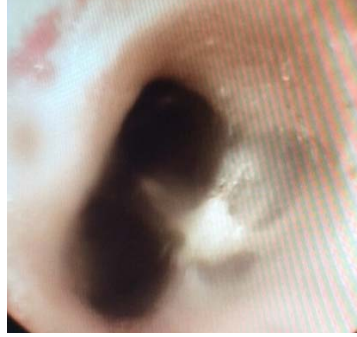
3. MATERYAL ve METOD

Çalışma 1- 31 Temmuz 2015 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuvarında toplam 20 rat üzerinde yapıldı. Çalışmamızın başlangıcında T.C. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulundan deneysel hayvan çalışması onayı alındı. 53488718-383 sayılı çalışmamızda ağırlıkları 250-300gr. arasında değişen toplam 20 tane sağlıklı yaklaşık 6 aylık Sprague Dawley cinsi ratlar kullanıldı. Hayvanlar 21 derece oda sıcaklığı olan, %50-60 nem oranına sahip, 12 saat ışık ve 12 saat karanlıkta olan ortamda barındırıldı. Deney öncesi yem bir gece önce kesildi fakat su verilmeye devam edildi. Çalışma sırasında Helsinki Nihai Senedi'nde deneysel çalışmalarla ilgili maddelerin tümüne uyuldu. Ratların timpanik membran muayenelerinde 'Deca 21 operasyon mikroskobu (5X,15X)' kullanıldı.(Resim 3). Ratlara işlemlerden önce intraperitoneal ketamin hidroklorür (50 mg/kg) ve xylazin (10 mg/kg) anestezisi verildi. Çalışmamız muayene aşaması ve histopatolojik inceleme olarak iki aşamalı gerçekleşti. Çalışmada kullanılan görüntüler Karl storz marka otoendoskop kullanılarak ünite ekranına yansıtıldı, ardından fotoğraflandı.



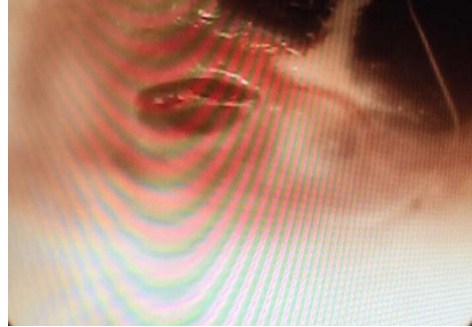
Resim3: Ratların timpanik membran muayenesi

İlk aşamada cerrahi mikroskop altında tüm ratların spekulum eşliğinde timpanik membran muayeneleri yapıldı. (Resim 4).



Resim 4: Rat timpanik membranı

Ratların timpanik membranları mikroskopik olarak inflamasyon ve travma açısından değerlendirildi. Yapılan tüm timpanik membran muayeneleri normal olarak değerlendirildi. Çalışmamızda toplam 20 ratın 40 timpanik membranına pars tensa kısımlarının posterosuperior kadranında malleus boynuna yakın bölgede “Storz” marka pik yardımıyla 2 mm çapında deneysel perforasyon oluşturuldu (Resim 5). Miringotomi sonrasında seröz otitis media tespit edilen 3 rat çalışma dışı bırakıldı.



Resim 5: Rat timpanik membranında oluşturulan travmatik perforasyon (sağ kulak)

Hayvanların sağ timpanik membranları perfore edildikten sonra dekspantenol emdirilmiş spongeller dış kulak yollarına yerleştirildi. Kontrol grubu olan sol kulaklarına ise her hangi bir madde uygulanmadı. Dekspantenol, çalışmanın ikinci günü aynı kulaklara ikişer damla daha uygulandı bu uygulamadan 2 saat sonra dış kulak yolunda ve kulak zarı üzerindeki gelfoam kalıntıları aspire edildi. Sonrasında timpanik membranları kapanana

kadar kulaklar değerlendirildi. Çalışma ve kontrol grubunun 3. 5. ve 7. günlerde ketamin ve xylazine anestezisi altında kontrolleri yapıldı. Timpanik membranlar görünümleri açısından kapanmama ya da tam kapanma açısından değerlendirildi. Tam kapanma durumları endoskopik olarak fotoğraflandı. (Resim 6) Enfeksiyon olup olmaması da kaydedildi.



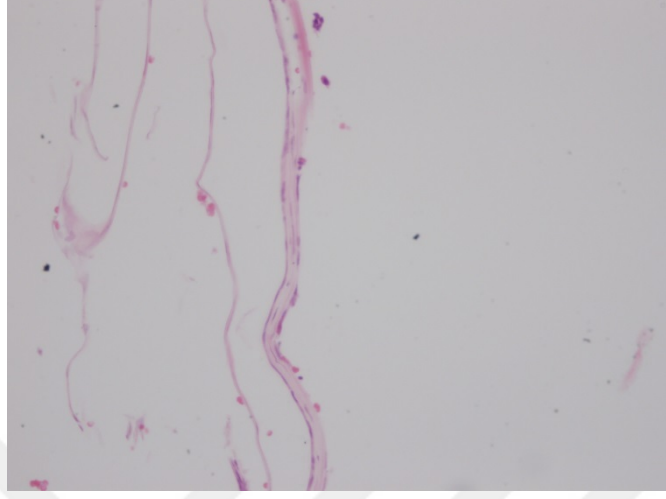
Resim 6: Timpanik membranda tam kapanmış perforasyon

Çalışmanın 14. gününde ratlar, ketamin ve xylazine anestezisi altında dekapitasyon işlemi uygulanarak sakrifiye edildi. Yapılan 3 ayrı muayenede travmatik perforasyonu bulunan timpanik membranların kapanmama ya da tam kapanma durumları ‘Mann-Whitney U’ testi kullanılarak karşılaştırıldı.

Çalışmamızın ikinci bölümü olan histopatolojik inceleme aşaması Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalında gerçekleştirildi. Histolojik alışma için ratların temporal kemikleri çıkartıldı ve %10’luk formaldehit solüsyonunda 24 saat bekletildi.

Ardından spesmenler timpanik membrana transvers kesi uygulanarak ikiye bölündü. Ve timpanik membrandan örnekler alındı. Tüm kesitler ‘Hematoksilen– Eozin’ ile boyandı. Kesitler ‘Olympus BX51’ marka ışık mikroskobu altında tek bir uzman patolog tarafından incelendi. Yapılan incelemede epitelyal ve mukozal tabaka değerlendirildi. Lamina propria (LP) neovaskülarizasyonu, LP fibroblastik aktivitesi, LP inflamatuvar hücre varlığı ve LP kollagenizasyon oranları normal rat timpanik membranı ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

(Resim 7) LP değişiklikleri normal rat membranına göre artmış ise ‘+’; artma yok ise ‘-’ olarak değerlendirildi.



Resim 7 : Normal rat timpanik membranı (H&E, X40 büyütme)

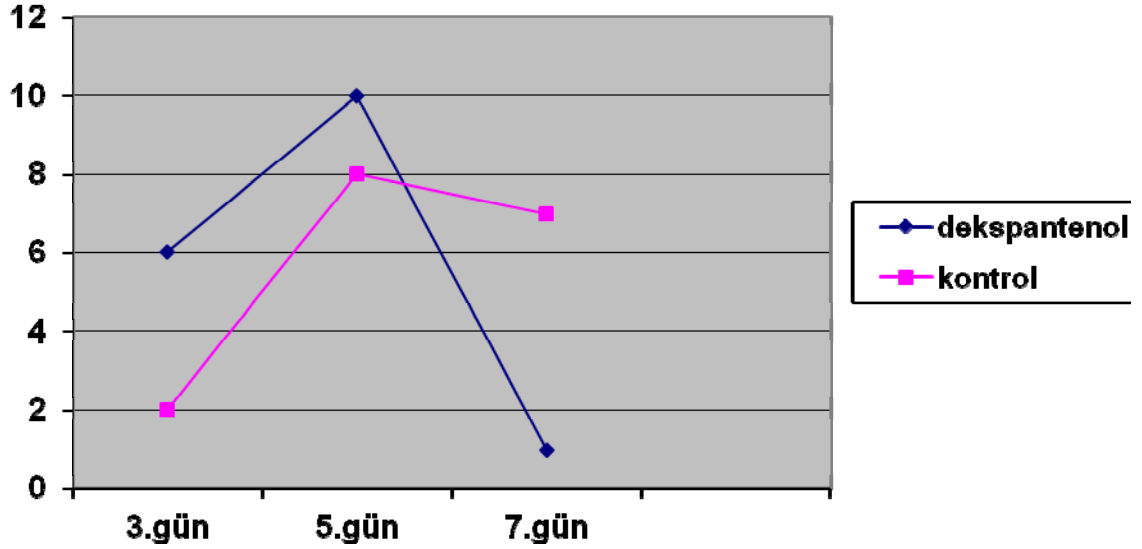
Çalışma ve kontrol grubundaki histopatolojik inceleme sonuçları istatistiksel olarak “ki kare” testiyle karşılaştırıldı. İstatistiksel anlamlılık seviyesi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma ve kontrol grubuna dahil ratlardaki perforasyonun kapanma günleri Tablo 1’de verilmiştir. Dekspantenol uygulanan grupların kapanma günleri ile kontrol grupları arasındaki ilişki Şekil 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1: Dekspantenol uygulanan çalışma grubu ve uygulanmayan kontrol grubundaki timpanik membran perforasyonlarının kapanma günlerine göre dağılımı

| GÜNLER | ÇALIŞMA GRUBU | KONTROL GRUBU | TOPLAM |
|---------------|---------------|---------------|--------|
| 3. | 6 | 2 | 8 |
| 5. | 10 | 8 | 18 |
| 7. | 1 | 7 | 8 |
| Toplam | 17 | 17 | 34 |



Şekil 6: Dekspantenol uygulanan grup ve kontrol grubunun kapanma günlerinin karşılaştırılması

Dekspantenol uygulanan kulaklarda uygulanmayanlara göre perforasyonlarda daha erken kapanma saptanmıştır. Ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). İlgili istatistikler Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2: Kapanma günleri açısından Kontrol-çalışma gruplarının istatistiksel verilerinin karşılaştırılması

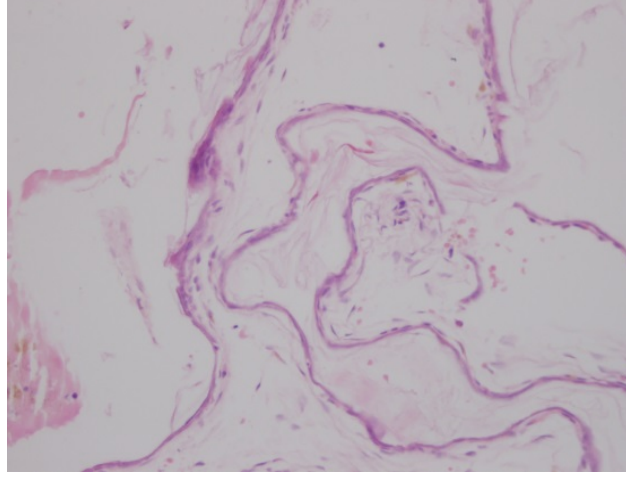
| | Kontrol grubu | | Çalışma grubu | | P |
|---------------------|---------------|------|---------------|------|-------|
| | ort | ss | ort | ss | |
| KAPANMA GÜNÜ | 5,59 | 1,37 | 4,41 | 1,17 | 0,014 |

Çalışmamızda bulunan sonuçlara göre timpanik membranlarda 5. güne kadar olan kapanma oranı 7.günde olan kapanma oranlarıyla karşılaştırıldığında çalışma grubunda anlamlı olarak yüksek bulundu. İlgili istatistikler Tablo 3’de gösterilmiştir.

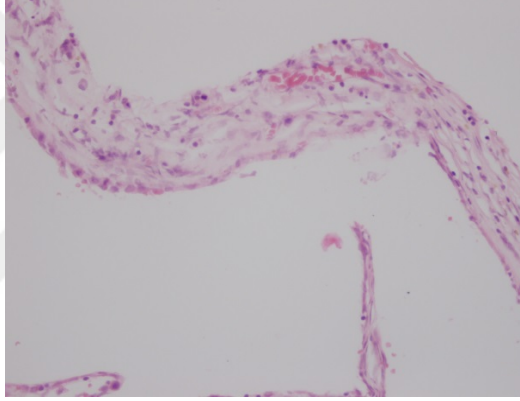
Tablo 3: 3.ve 5.günlerde kapanma ile 7.günde kapanma oranları açısından çalışma ve kontrol gruplarının karşılaştırılması

| | 3. ve 5. günlerde kapanma | | 7.günde kapanma | | P değeri |
|---------|---------------------------|------|-----------------|------|----------|
| | n | % | n | % | |
| kontrol | 10 | 58,8 | 7 | 41,2 | 0,039 |
| Deney | 16 | 94,1 | 1 | 5,9 | |

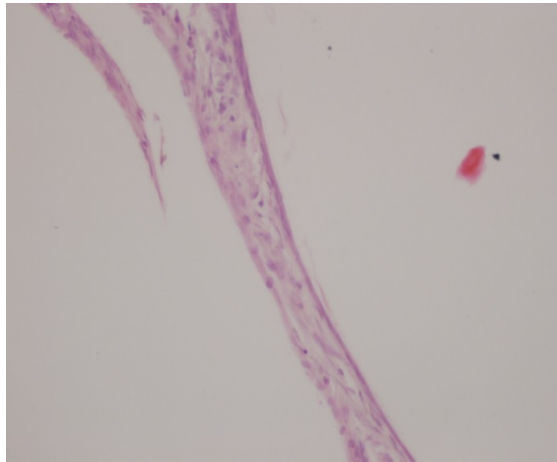
Çalışmamızın ikinci aşamasında perforasyon alanından alınan örnekler histopatolojik açıdan incelendi. Lamina propria (LP) neovaskülarizasyonu, fibroblastik aktivite pozitifliği, inflamatuvar hücre varlığı ve kolajenizasyon oranları değerlendirildi. Çalışma grubunda LP kolajenizasyon pozitifliği kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksektir ($p<0.05$) (Resim 8). LP neovaskülarizasyonu ve inflamatuvar hücre pozitifliği ise kontrol grubunda çalışma grubuna göre anlamlı derecede daha yüksektir($p<0.05$) (Resim 9). Çalışma grubunda LP fibroblastik aktivite pozitifliği daha fazla bulunmasına rağmen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).(Resim 10). LP değerleri açısından çalışma ve kontrol gruplarının karşılaştırılması Tablo 4’de gösterilmiştir.



Resim 8: Çalışma grubunda artmış kolajenizasyon (H&E,X40 büyütme)



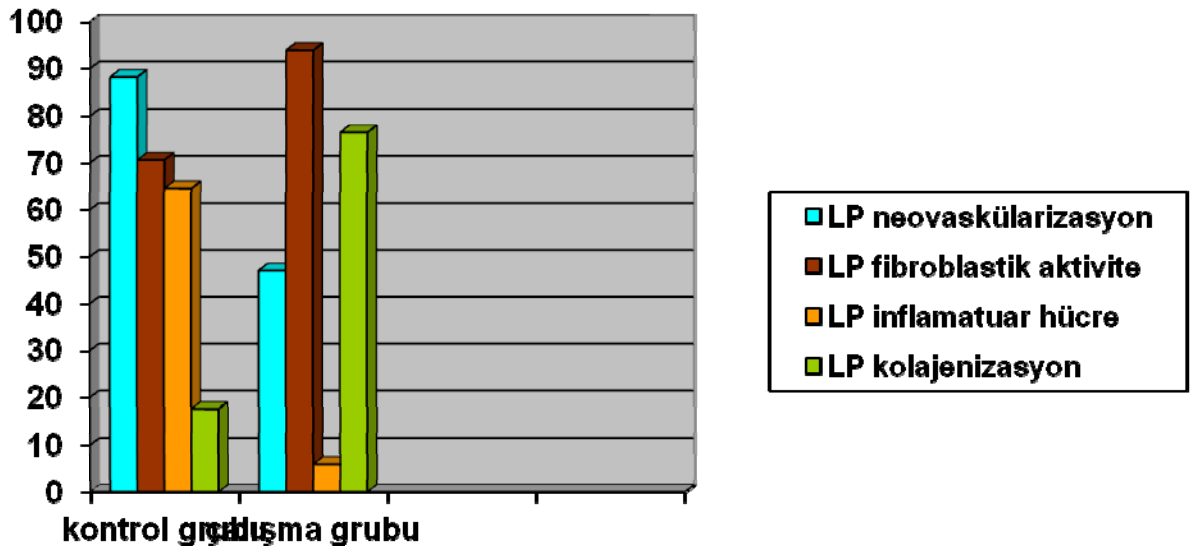
Resim 9: Kontrol grubundaki neovaskülarizasyon ve inflamatuvar hücre artışı(H&E,X40 büyütme)



Resim 10: Çalışma grubundaki fibroblastik aktivite artışı(H&E,X40 büyütme)

Tablo 4: LP bulguları açısından çalışma ve kontrol gruplarının karşılaştırılması

| | Kontrol grubu | Çalışma grubu | Ki kare | P değeri |
|---------------------------------|---------------|---------------|---------|----------|
| | n(%) | n(%) | | |
| LP Neovasülarizasyon | | | | |
| - | 2(11,8%) | 9(52,9%) | 4,838 | 0,028 |
| + | 15(88,2%) | 8(47,1%) | | |
| LP Fibroblastik aktivite | | | | |
| - | 5(29,4%) | 1(5,9%) | 1,821 | 0,177 |
| + | 12(70,6%) | 16(94,1%) | | |
| LP İnflamatuvar hücre | | | | |
| - | 6(35,3%) | 16(94,1%) | 10,432 | 0,001 |
| + | 11(64,7%) | 1(5,9%) | | |
| LP Kolajenizasyon | | | | |
| - | 14(82,4%) | 4(23,5%) | 9,563 | 0,002 |
| + | 3(17,6%) | 13(76,5%) | | |



Şekil 7: LP bulguları açısından çalışma ve kontrol gruplarının karşılaştırılması

Çalışmamızda komplikasyonlar değerlendirildiğinde hiçbir ratta enfeksiyona ve kalıcı perforasyona rastlanmamıştır.



5. TARTIŞMA

Timpanik membran (TM), dış kulak yolu ile orta kulak boşluğunu ayıran bir perdedir. Uzunluğu 10–11 mm, genişliği ise 8–9 mm'dir. Yapılan çalışmalarda timpanik membran kalınlığının insanda 60-90 µm, ratlarda ise 5-6 µm olduğu bildirilmiştir (12).

Ratlar otolojik çalışmalarda sıklıkla tercih edilen deney hayvanlarındanndır. Bunun nedeni timpanik membranının görünüm olarak insan timpanik membranıyla benzer olmasıdır. Temporal kemiğin vücuda oranı dikkate alındığında, rat temporal kemiğinin insandakine göre daha büyük boyutta olması çalışma açısından kolaylık sağlar (27,81).

Timpanik membran perforasyonlarının tüm dünyada tahmin edilen insidansı <math><1\%</math> olarak bildirilse de bu tahminlerin altında bir orandır (1). Perforasyona sebep olan nedenler arasında öncelikle enfeksiyon, ardından travmalar gelmektedir. Travmalar; çarpmalar, delici travmalar, barotravmalar, akustik travmalar ve iyatrojenik travmalar (miringotomi, ventilasyon tüpü takılması, buşon temizlenmesi ve hiperbarik oksijen tedavisi) olarak ayrılabilir (2). Olushola ve ark. (82) yaptıkları bir çalışmada travmatik timpanik membran perforasyonlarının etiolojik profilini araştırmışlardır. Travmatik TM perforasyonunun en sık nedeni olarak kulağa tokat atılması ikinci olarak da trafik kazaları olduğu belirtilmiş. Diğer nedenler olarak da sırasıyla yabancı cisimler, bir aletle yada kulağı temizlerken olan yaralanmalar, patlama ve düşme olarak gösterilmiştir.

Gerek enfeksiyona ve gerekse travmaya bağlı perforasyonların büyük çoğunluğu spontan kapanabilmektedir. Ancak az bir kısmı cerrahi tedaviye gereksinim duymaktadır (2). Kapanmayan perforasyonların komplikasyonları (enfeksiyon, işitme kaybı vb.) ve gerektiğinde uygulanacak cerrahinin maliyeti nedeniyle TM perforasyonlarını iyileştirmeye yardımcı pek çok ajan denenmektedir.

Timpanik membranın kendiliğinden iyileşme yeteneği oldukça güçlüdür. Bu özellik eskiden beri bilinmektedir. St. John Rooso 1873'te vücutta TM'nin rejeneratif gücüne sahip ikinci bir membran daha olmadığını belirtmiştir. Bu durum TM'nin epitelyal yapısına özellikle de migrasyon aktivitesine bağlanmıştır (34).

Timpanik membranın iyileşme mekanizmasını anlamak için TM'nin kendine has epitelyal üretim merkezi ve göç paternlerini iyi bilmek gereklidir. 19. yüzyıl sonlarına doğru Blake, TM yüzeyinde epitelyal migrasyon paterni olduğunu ilk kez göstermiştir. Malleus etrafına kağıt parçacıkları yerleştirerek posterosuperiora doğru olan hareketi tanımlamıştır (34).

1936'da Stinson hayvan modelinde mürekkep kullanmış ve epitelyal migrasyonu araştırmıştır. Epitelin kanal boyunca lateralden daha çok anteriordan posteriora doğru hareket ettiğini bulmuştur. Migrasyon hızı tüm membran boyunca aynı değildir. Posteroinferior kadranda daha hızlıdır (34).

Alberti 1964'te 62 insan timpanik membranında boya ve mürekkep kullanarak insanlarda rejenerasyon merkezinin daha çok umbo civarında olduğunu göstermiştir. Ayrıca migrasyon hızının 0,07 mm/gün olduğunu ve bunun tırnakla karşılaştırıldığında daha hızlı olduğunu belirtmiştir. Bu çalışma ayrıca TM ve dış kulak yolunun kendi kendine temizleme mekanizmasının da anlaşılmasına yardım etmiştir (34).

1968'te Litton, rat TM'sinde hem mürekkep hem de timidin işaretlemeyi kullanarak epidermal migrasyon mekanizmasını tanımlamıştır. Litton ayrıca ratlarda epidermal üretim merkezinin insanlardaki umboya analog olduğunu ve migrasyonun çevreden merkeze doğru olduğunu belirtmiştir (34).

Timpanik membranın yara iyileşmesi, vasküler dağılıma bağlı olarak başlangıçtaki hemostatik ve enflamatuar evrelerde sıradan olmasına rağmen proliferasyon ve migrasyon safhalarında diğer dokulardan tamamen farklıdır. Birçok yara iyileşmesinde, üzerinde reepitelizasyonun olduğu bir platforma yatak gibi davranan granülasyon dokusu oluşur. Timpanik membranda ise skuamöz epitel tabakası başlangıçta yara üzerinde bir köprü oluşturur ve fibröz komponentin yeniden oluşması bunu takip eder (2). Oluşan yeni timpanik membranın ince olması özellikle fibröz tabakanın yeniden şekillenmesi nedeniyle (34).

Marcos ve ark. (83) yaptıkları deneysel bir çalışmada ratlarda travmatik perforasyon sonrası timpanik membranın spontan iyileşmesini incelemiştir. 19 Wistar albino rat ile yapılan çalışmada pik ile perforasyon oluşturulmuş, timpanik membranların 7-10 gün içinde spontan kapandıkları ve iyileşme sürecinin 14 günde tamamlandığı

görülmüştür. Çalışmanın sonucunda TM'nin spontan iyileşme sürecinin TM dış epitelyal tabakasından başladığı ve sonrasında lamina propria ve mukozal tabakanın kapandığı görülmüş; timpanik membran dış epitelyal tabakasındaki proliferatif aktivitenin malleus kolu ve timpanik anulusa yakın olduğu izlenmiştir.

Travmatik timpanik membran perforasyonu sonrası timpanik membranın iyileşmesi epitelyal proliferasyon, epitelyal migrasyon, fibroblast proliferasyonu, yeni damar oluşumu ve dokunun yeniden şekillenmesinden (remodelling) oluşan kompleks bir olaydır (84,85).

Clawson ve Litton yaptıkları bir çalışmada ratların TM'lerinde oluşturdukları noktasal TM perforasyonunun iyileşmesini incelemişlerdir (86). 1. gün perforasyon kenarında lökositleri ve fibrin oluşumunu görmüşlerdir. Bunların yığılması kenarların ilerlemesiyle beraber 3. güne kadar devam etmiş ve perforasyon 5. ve 7. günler arasında kapanmıştır. İyileşen timpanik membran (TM) başlangıçta kalınken 2. haftaya kadar incelmıştır. Bu araştırmacılar yaralanmanın; epitel üretim merkezini, yeni skuamöz hücrelerin yapımı için uyardığını ve bunların da yara kenarlarından merkeze doğru göçü uyardığını savunmuşlardır. Ayrıca göç eden bu epitel hücreleri yara kenarına ulaştığında açıklık kapanmış olur. Sonuçta yoğun hücresele proliferasyon ve yara kenarında göçün olduğu kutanöz iyileşme ile karşılaştırıldığında TM'de başlangıçta yaraya uzak mitotik aktivasyonun yoğun olduğu bir alandan yaraya doğru bir göç mevcuttur. Yara kenarındaki mitotik aktivasyon daha azdır ve daha sonra oluşur. Yeni oluşmuş TM'nin daha sonraki incilmesi özellikle fibröz tabakanın yeniden şekillenmesiyle olur. Bizim çalışmamızda da perforasyonlar 7. güne kadar kapanmıştır. Ancak günlere göre histopatolojik inceleme yapılmadığından, belirli günlerdeki hücreler hakkında bilgi edinilememiştir.

Diğer hayvan ve laboratuvar çalışmaları başlangıçtaki skuamöz epitel hiperplazisini desteklemiştir. Uzak merkez ve migrasyon yara kenarında proliferatif fazda bulunan bazal hücrelerin bulunmamasıyla desteklenmiştir (51).

Epitel hiperplazisinin yara boyunca bir iskelet oluşturduğu genel olarak kabul edilen görüştür. Yapılan bir çalışmada bir hayvan modelinde bu teori şöyle desteklenmiştir: Hiperplastik skuamöz tabaka üzerinde bir keratin çıkıntı üretilir. Keratin, perforasyonu primer olarak kapatır. Bunu fibröz tabakanın oluşması izler (52).

Wang ve ark yaptıkları bir çalışmada soğuk bıçak tekniğiyle perforasyon oluşturdukları 50 ratta timpanik membranın yara iyileşmesini ışık ve elektron mikroskobu altında incelemiştirlerdir. Perforasyon sonrasında erken dönemde öncelikle anulus ve malleus boynunda epitelyal hücrelerde mitotik aktivitede artış tespit etmişlerdir. Mitotik aktivite pars tensada anulus ve malleus boynundaki epitelyal jenerasyon merkezlerinde bulunmuştur. Ancak perforasyon çevresindeki epitelyal tabakada ise herhangi bir mitotik aktivite tespit etmemişlerdir. Bizim çalışmamızda tek bir timpanik membran bölgesinden örnek alınabildiği için farklı bölgelerdeki iyileşme parametreleri karşılaştırılamamıştır. Wang ve ark. iyileşme zamanı ile perforasyon büyüklüğü arasında herhangi bir ilişki bulamamışlardır (87).

Yapılan bazı çalışmalarda TM perforasyonlarının normal iyileşme sürecinde ilerleyen epidermisin birinci derecedeki rolü ile subepidermal bağ dokusunun ikinci derecedeki rolü ayrıntılı olarak açıklanmıştır (88,89). Plasebo ile tedavi edilen TM perforasyonlarında, subepidermal bağ dokusunun iyileşmesinin, epitelyal tabakanın iyileşmesinden daha geç olduğu gözlenmiştir. Subepidermal tabakadaki bu geç iyileşme, perforasyon kenarında içe doğru epidermal bir kıvrılmaya yol açmakta ve epidermal tabakanın bu yöne ilerlemesine neden olmaktadır. Bu durum da epitelin merkeze doğru ilerlemesini engelleyerek perforasyon kapanmasını geciktirmektedir (90).

Yapılan başka bir çalışmada fibroblast growth faktör uygulanması sonucunda subepidermal bağ dokusunda hiperplastik reaksiyon oluşmasının, neovaskülarizasyon, zengin bir matriks ve fibroblast proliferasyonunun meydana gelmesinin perforasyon kenarlarının merkeze doğru ilerlemesine yardımcı olarak iyileşmeyi hızlandırdığı savunulmaktadır (90). Neovaskülarizasyon, epitelyal ve fibroz tabakaların gelişimi için gereklidir.

Timpanik membranda oluşan travmatik perforasyonlar genellikle spontan olarak iyileşeler de bazı durumlarda açık kalabilir veya sadece ince bir membranla kapanabilir. İnsanda oluşan bu yeni membranla ilgili yapılan bazı histolojik çalışmalarda fibroblastlardan yoksun ve lifleri belli bir yöne yönelmemiş atrofik bir lamina proprianın varlığı gösterilmiştir (91,92). Önemli olan nokta iyileşmekte olan TM'dan normal bir zarın kalınlığına benzer kalınlığın elde edilmesidir.

Uzun yıllardır timpanik membran perforasyonları ve perforasyonlarda uygulanacak tedavi yöntemleri araştırılmaktadır. Timpanik membran perforasyonlarını tedavi etmekle ilgili ilk denemeler 17. yüzyılda başlamıştır. Marcus Banzer, 1640 yılında TM perforasyonunu kapatmak için domuz mesanesini kullanmıştır. Yearsley 1841 yılında gliserinle nemlendirilmiş yün uygulamış; ardından Toynbee 1853 yılında kauçuk benzeri bir maddeyi TM perforasyonunu kapatmakta kullanmayı önermiştir. Berthold 1878 yılında ilk kez cerrahi olarak otogreft ile perforasyonu kapatmayı denemiş ve bu ameliyata “miringoplasti” adını vermiştir. Berthold ön koldan elde ettiği full-thickness deri greftini kullanmış fakat geç sonuçları beklenildiği gibi olmadığından diğer dönem araştırmacıları tarafından kabul edilememiştir (34).

Timpanik membran perforasyonlarını kapatılması ile ilgili çalışmalar 20. yüzyılın ortalarına kadar terk edilmiş; Wullstein ve Zollner’in 1950 yılında yaptıkları çalışmalarla tekrar başlamıştır (56). Başlangıçta greft olarak split-thickness veya full-thickness deri grefti kullanılmış ancak bu greft materyallerinde aşırı deskuamasyon dezavantajı olduğundan başka greft materyallerinin araştırılmasına yönelinmiştir. Greft olarak otogreft, homogreft, heterogreft denemeleri sonucunda değişik oranlarda başarılı sonuçlar elde edilmiştir (93,94).

Bu cerrahi müdahaleler başarılı olmasına rağmen; başarısızlık ihtimali, maliyetlerinin fazlalığı gibi nedenlere bağlı olarak özellikle küçük TM perforasyonlarında kapanmayı sağlamak veya hızlandırmak amaçlı alternatif yöntemler çalışılmıştır.

Tavşanlarda yapılan bir çalışmada perforasyon kapanmasında hyalüronik asit (extraselüler yüksek molekül ağırlıklı polisakkarit) denenmiş ve TM perforasyonu iyileşme hızını ototoksite yapmadan arttırdığı tespit edilmiştir (95).

Yapılan başka çalışmalarda hastanın kendi kanı fibrin yapıştırıcı olarak , gelfilm , pentoksifilin, biyolojik olarak parçalanabilen materyaller örneğin poli (B-benzil-L-aspartat-L-Losin) 50/50 gibi daha deneysel materyaller başarılı olarak kullanılmışlardır (96-99).

Somers ve ark. yaptıkları bir çalışmada parçalanmış veya kültürdeki keratinositlerin, kronik TM perforasyonlarında yapılan timpanoplastilerden sonra epitelyal iyileşmeyi hızlandırdığını göstermişlerdir (100).

Kartush TM perforasyonunu kapatmak için kapalı bir miringotomi tüpüne benzeyen ince esnek silikondan yapılmış bir timpanik membran yaması geliştirmiştir (101).

TM perforasyon kapanmasını hızlandırmak amaçlı pek çok çalışma yapılmıştır. Bu amaçla yapılan araştırmalar iki farklı mekanizmaya yönelmiştir. Bunlardan ilki rejenere olan dokuya yol göstermek için stromal destek sağlamaktır. K ağıtla yama yöntemi buna örnek bir uygulamadır ve küçük, enfekte olmayan perforasyonlarda uygundur. Perforasyon kenarlarının debride edilmesi veya trikloroasetik asit, gümüş nitrat gibi maddelerle koterizasyonu uzun yıllardır kullanılmaktadır. Ancak bunlardaki başarı da kısıtlıdır (102).

MooKyun ve ark. 87 hastada yaptıkları prospektif bir çalışmada steristrip ve kağıt yama uygulamasının geniş travmatik timpanik membran perforasyonlarındaki etkisini araştırmışlardır. Travma sonrası ilk 7 gündeki perforasyonları değerlendirmişler ve post op 3 ay hastaları takip etmişlerdir. Perforasyon kapanma oranları açısından 3 grup arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Ancak steristrip ve kağıt yama uygulanan gruplarda izlem yapılan gruba göre perforasyon kapanma zamanının daha kısa olduğu g r lm ştir (103).

T.Santhi ve ark. kronik timpanik membran perforasyonlarında kimyasal koterizasyon ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Perforasyon kenarlarına %50 gümüş nitrat ile koterizasyon uygulamışlar ve ardından üzerine antibiotikli steril alüminyum folyo parçaları sermişlerdir. 5 yıl boyunca hastalar izlenmiş ve en fazla 5 olmak üzere yöntem tekrar edilmiştir. Çalışmanın sonucunda işlemin başarı oranı %73,75 bulunmuştur (104).

Lee ve ark. yaptıkları deneysel bir çalışmada kronik perforasyonlarda bakiye timpanik membranda mekanik avivasyon yapmadan ve kağıt yama yerleştirmeden sadece büyük bir gelfoam tabakası yerleştirmiş ve gelfoam üzerinde gün aşırı toplam 3 doz epitelial growth faktör (EGF) uygulamışlardır. Çalışmanın sonucunda timpanik membrandaki tam kapanma oranını EGF ile tedavi edilen kulaklarda %80; kontrol grubunda ise %20 olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlar orjinal protokollerdekilere benzer olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise iki grubun tamamında tam kapanma sağlanmış ancak çalışma grubunda daha erken dönemde kapanma olduğu sonucuna varılmıştır (105).

Kuljit ve ark.(106) kimyasal koterizasyon ile timpanik membran perforasyonlarının kapanmasını inceledikleri bir çalışmada 50 hastaya trikloroasetik asit (TCA)

uygulamışlardır. Çalışmanın sonucunda perforasyon kapanma oranı % 78 olarak bulunmuş ve travmatik perforasyonlarda inflamatuvar olanlara kıyasla daha başarılı sonuçlar elde edildiği gösterilmiştir.

Timpanik membran perforasyonlarının kapanmasını hızlandırmak için araştırılan mekanizmalardan bir diğeri de hücrel rejenerasyona ve mobilizasyonuna neden olmaktadır (107). Büyüme faktörlerinin kullanımı bu amaçla araştırılan yöntemlerden biridir. Timpanik membran perforasyonlarının iyileşmesinde polipeptid büyüme faktörlerinin kullanılabilirliği bazı çalışmalarda gösterilmiştir .

Büyüme faktörlerinden biri olan fibroblast growth faktör (FGF), bir çok TM perforasyonu çalışmasında araştırılmıştır. Dere ve ark.(8) yaptıkları bir çalışmada 14 rat timpanik membranına parasentez bıçağıyla perforasyon uyguladıktan sonra değişik doz ve sürelerde topikal bFGF uygulamışlardır. Çalışmanın 7. gününde tüm ratlar sakrifiye edilip, TM'ları histolojik olarak incelenmiştir. Çalışma sonucunda bFGF uygulanan grupta TM kalınlığı kontrol grubuna göre yaklaşık iki kat fazla bulunmuştur. Çalışma gruplarında saptanan belirgin hiperplazik reaksiyonun özellikle subepidermal bağ dokusunda belirgin olduğu ve neovaskülarizasyon, fibroblastik proliferasyon ve matriks birikimi ile karakterize olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda timpanik membranlar total olarak çıkarılmadığından TM kalınlığı değerlendirilememiştir ancak çalışma grubunda lamina propria kollajenizasyonun ve fibroblastik aktivitenin daha fazla olduğunun görülmesi yeni oluşan membranın eski kalınlığına ulaşabildiği sonucunu düşündürebilir.

Mondain ve ark.(108) ratlarda yaptıkları bir akut perforasyon modelinde bFGF'nin tek doz uygulanmasıyla daha hızlı bir iyileşme olduğunu göstermişlerdir. Vrabc ve ark.(109) benzer bir model kullanarak bFGF'yi tekrarlayan dozlarda uyguladıklarında iyileşme hızının arttığını göstermişlerdir. Fina ve ark.(90) FGF'yi tekrarlayan dozlarla gelfoam kullanarak guinea piglerde kullanmışlar ve akut perforasyonda plaseboyla karşılaştırıldığında daha hızlı bir iyileşme oranı bulmuşlardır.

Ishibashi ve ark. (3) yaptıkları deneysel bir TM perforasyonu çalışmasında keratinosit growth faktörün (KGF) mRNA sentezinin 3. günde pik yapacak şekilde arttığını ve 3. günden sonra azaldığını bildirmişlerdir. Onların sonuçları KGF'nin TM tamirinde rol aldığını göstermektedir. Onlar aynı zamanda normal TM'da da KGF reseptörü ve mRNA ekspresyonunun iyileşen TM'daki gibi olduğunu bildirmişlerdir .

Bir başka çalışmada Ishibashi ve ark.(110) 21 ratın yara iyileşmesini sistemik steroid kullanarak azalttıktan sonra TM'yi perfore etmiş ve KGF, TGF- α ve bFGF'yi topikal olarak uygulamışlardır. Kontrol kulaklarında epidermal migrasyon belirgin şekilde inhibe olmuş ve perforasyon kenarlarında epitelyal hiperplazi görmemişlerdir. KGF uygulanan TM'larda perforasyon kenarında epitelyal tabakada hiperplazi görülürken bFGF ve TGF- α uygulanan kulaklarda malleus boynu ve annulusta epitelyal hiperplazi görülmüş ancak perforasyon çevresinde herhangi bir hiperplazi görmemişlerdir.

Soumekh ve ark. (111) kronik iyileşmeyen TM'larda PDGF'nin etkisini değerlendirmişlerdir. 12 haftalık süre sonunda perforasyon kapanması açısından her 2 kulak arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır.

Timpanik membran perforasyonlarının kapatılması amacıyla bazı antioksidant vitaminler de araştırılmıştır. Susaman ve ark. (112) yaptıkları deneysel bir çalışmada travmatik timpanik membran perforasyonlarında E vitamininin histopatolojik iyileşme ve lipid peroksidasyon düzeylerine etkisini incelemişlerdir. 40 adet guinea pig'in kullanıldığı çalışmanın sonucunda çalışma grubunda fibroblast proliferasyonunun, neovaskülarizasyonun ve epitel kalınlığının kontrol grubuna göre daha fazla artış gösterdiği saptanmış, oksidan bir madde olan malondialdehit (MDA) düzeyinin ise çalışma grubunda giderek azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak kolajenizasyon değerlendirilmemiştir. Yapılan çalışma sonucunda E vitamininin travmatik timpanik membran perforasyonlarında iyileşme sürecini hızlandırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmada antioksidan bir vitamin olan vitamin E'nin oksidan bir madde olan MDA düzeyini azaltarak iyileşmeyi hızlandırdığı savunulmuştur. Bizim çalışmamızda kullanılan dekspantenol (vitamin B5) antioksidan bir vitamin değildir ancak yara iyileşmesini farklı mekanizmalarla hızlandırmaktadır. Bu molekül; granüositlerden myeloperoksidaz salınımını azaltır, serbest oksijen radikallerinin oluşumunu inhibe eder ve mitotik aktiviteyi arttırarak antiinflamatuvar etki gösterir (71). Bizim çalışmamızda çalışma grubunda fibroblastik aktivitede artış görülmesine rağmen neovaskülarizasyon kontrol grubunda daha fazla görülmüştür. Bu sonuca bakılarak dekspantenolün neovaskülarizasyonu azalttığı düşünülebilir.

Güneş ve ark. (113) vitaminlerle ilgili yaptıkları bir çalışmada travmatik timpanik membran perforasyonlarında ve miringoskleroz gelişiminde sistemik ve lokal askorbik

asidin etkisini incelemişlerdir. 40 adet Wistar-Albino cinsi rat ile yapılan çalışmada LP değerleri açısından çalışma grubunda farklılık gözlenmezken timpanik membran kalınlığı kontrol grubuna göre anlamlı farklılık göstermiştir. Askorbik asit uygulanan gruplarda membran kalınlığı daha az bulunmuş ancak topikal ve sistemik formlar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Miringoskleroz gelişimi açısından da 5 grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır (miringosklerozu, TM'nin LP tabakasında kalsifikasyon ve kolajenik kısımdaki hyalinizasyonla karakterize etmişlerdir). Bu çalışmada miringoskleroz gelişimini askorbik asidin antioksidan etkisi ile azaltacağı öngörülmüş ancak sonuçlar anlamlı çıkmamıştır. Bizim çalışmamızda dekspantenolün miringoskleroz gelişimi üzerine etkisi çalışılmamıştır (114).

Bizim çalışmamızda ise yara iyileştirici etkisi olduğu bilinen bir vitamin olan vitamin B5'in provitamin formu olan dekspantenolün etkisi araştırılmıştır. Çalışmamızın amacı; travmatik timpanik membran perforasyonunun iyileşmesinde dekspantenolün TM iyileşme sürecinde oluşan lamina propria'daki fibroblastik aktivite, neovaskülarizasyon, kolajenizasyon ve inflamatuvar hücreler üzerinde etkisinin incelenmesi ve ayrıca perforasyonun kapanma hızına etkisinin belirlenmesidir.

Dekspantenolün yara iyileşmesi ve epitelizasyon üzerindeki pozitif etkisi uzun süredir bilinmektedir. Uzun zamandır yara iyileşmesi amacıyla pek çok alanda kullanılmaktadır (69,70).

Ciltte dekspantenol (provitamin B5), pantotenik asite (vitamin B5) metabolize olur. Bu molekül epitelyal rejenerasyonun erken döneminde (ilk 4 gün içinde) epitelyal hücrelerin normal fonksiyonu için gereklidir (73). Bu etkileri nedeniyle de yara iyileşmesi amacıyla kullanılmaktadır.

Yardımcı ve ark. (115) yaptıkları bir çalışmada deneysel oluşturulmuş üretral travma modelinde intra üretral dekspantenol uygulamasının iyileştirici etkisi incelenmiştir. Yirmi yedi rat ile yapılan çalışma sonucunda dekspantenol uygulanan gruplarda inflamasyon ve fibrozisin azaldığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da çalışma grubunda inflamatuvar hücreler anlamlı olarak az bulunmuştur.

Censabella ve ark. (72) yaptıkları retrospektif bir çalışmada meme kanserli hastalarda radyoterapiye bağlı oluşan ıslak deskuamasyon tablosunda hidroaktif kolloid jel

ve dekspantenolün etkisini karşılaştırmışlardır. İki grupta da ıslak desquamasyon sıklığı azalmasına rağmen dekspantenol ve hidroaktif jelin birlikte kullanıldığı vakalarda bu azalma daha belirgin bulunmuştur. Ancak tek başına dekspantenolün etkisi ile ilgili bir sonuç elde edilememiştir.

Ülger ve ark. (116) yaptıkları deneysel bir çalışmada nebivolol ve dekspantenolün yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini karşılaştırmışlardır. Otuz Wistar Albino cinsi rat kullanılan çalışmada Dekspantenol ve nebivolol verilen gruplarda kontrol grubuna göre iyileşme anlamlı olarak daha fazla bulunmuş ancak nebivolol ve dekspantenol karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark bulunmamıştır.

Otolaringolojide de dekspantenolün yara iyileştirici etkileri bazı çalışmalarda araştırılmıştır (69,70). Çeşitli çalışmalarda dekspantenolün koruyucu içermeyen merhem ya da sprey formlarının anterior rinitis sikka tedavisinde ve nazal ya da paranazal cerrahilerden sonra kullanımı bilimsel olarak doğrulanmıştır (76-79,117-119). Ayrıca bu ajan koruyucu içeren rinolojik preparatların tolerabilitesini de artırmaktadır. Dekspantenolün lokal formu akut ve kronik rinitlerde standart olarak kullanılmaktadır (79).

Ina ve ark. (120) 49 hastada yaptıkları prospektif bir çalışmada hyaluronik asit ve dekspantenol içeren spreyle nazal cerrahilerden (septoplasti, basit etmoid sinüs cerrahisi ve konka cerrahisi) sonraki klinik etkisini araştırmışlardır. Çalışmaya kronik rinosinüzit nedeniyle nazal kaviteyle ilgili cerrahi (septoplasti, basit etmoid cerrahi, konka cerrahisi, pansinüs cerrahisi ve maksiler sinüs cerrahisi) geçiren 49 hasta alınmıştır. Kontrol grubuna standart tedavi protokolleri uygulanırken çalışma grubuna sodyum hyalürinat ve dekspantenol içeren 'Pflagespray' (Ursopharm, Almanya) kullanılmıştır. Mukozal rejenerasyon rinoskopi toplam skoru ile, pre ve postoperatif mukozal sağlamlık anterior rinomanometri ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda denenen ürünün mukozal rejenerasyona katkı sağladığı bulunmuş ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonucun hasta sayısının azlığına bağlı olduğu düşünülmüştür.

Dekspantenolün timpanik membran perforasyonları üzerine etkisi ile ilgili pek fazla çalışma bulunmamaktadır. Genelde travmatik TM perforasyonları tedavisinde büyüme faktörleri araştırılmıştır.

Özel ve ark. (114) bizim çalışmamızdaki gibi dekspantenol kullandıkları bir çalışmada yara iyileştirici dekspantenol, oksidan H₂O₂ ve antioksidan erdosteinin timpanik membran perforasyonu kapanması ve miringoskleroz gelişimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışmanın sonucunda TM kapanma sürelerine göre karşılaştırma yapıldığında dekspantenol ve erdostein'in; kontrol, izotonik ve H₂O₂'ye göre istatistiki olarak anlamlı derecede faydalı olduğu (daha erken kapandığı) görülmüştür. Ayrıca otomikroskopik muayene bulgularına göre 14. günde yapılan değerlendirme sonucu miringoskleroz değerlendirmesinde; dekspantenol ve erdostein gruplarında kontrol, izotonik ve H₂O₂ gruplarına göre daha az miringoskleroz olduğu belirlenmiştir. Histopatolojik değerlendirmeye göre, 14. günde yapılan değerlendirme sonucu miringoskleroz değerlendirmesinde; dekspantenol ve erdostein gruplarında kontrol, izotonik ve H₂O₂ gruplarına göre daha az miringoskleroz olduğu görülmüştür. Çalışmanın sonucunda miringoskleroz gelişimi ile TM perforasyonu iyileşmesi arasında ters orantılı bir durum olduğu belirtilmiştir. Buna bağlı olarak da miringoskleroza sebep olan etkenlerin aynı zamanda TM perforasyonu iyileşmesini de geciktirdikleri öngörülmüştür. Bizim çalışmamızda miringoskleroz gelişimi incelenmemiştir. Ancak dekspantenolün yara iyileşme hızını artırdığı ve timpanik membran perforasyonunun kapanmasını kolaylaştırdığı sonucuna varılmıştır.

Çalışmamıza benzer bir araştırma O'Daniel ve ark. (121) tarafından kedilerde yapılmıştır. Çalışmada TM perforasyonu yaptıktan sonra topikal epidermal growth faktör(EGF) uygulamışlar ve miringotomiden 6 gün sonra perforasyonun kontrol gruplarına göre anlamlı olarak küçüldüğünü bildirmişlerdir. Ancak kontrol ve çalışma grubundaki kulaklar arasında kapanma hızı olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır. Bizim çalışmamızda dekspantenol uygulanan grupta kapanma hızının kontrol grubuna göre daha fazla olduğu bulunmuş ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Kaftan ve ark. (47) bizim çalışmamıza benzer olarak ratlarda yaptıkları bir çalışmada topikal transforming growth faktör-β1(TGF-β1) uygulamasının akut travmatik timpanik membran perforasyonlarına etkilerini araştırmışlardır. Yirmi rat ile yapılan çalışmada tekrarlayan dozlarda TGF-β1 uygulamasında perforasyonda daha hızlı kapanma olduğu gösterilmiştir. Histolojik olarak iki grupta timpanik membran kalınlıkları arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda timpanik membran kalınlıkları çalışılmamıştır çünkü çıkarılan spesmenler dekalsifiye edilememiştir. Dekalsifikasyon

denemesi deneyde kullanılmayan bir timpanik membranda yapılmış ancak membran zarar gördüğünden çalışmadaki diğer spesmenler dekalsifiye edilmemiştir. Bu nedenle timpanik membranlar total olarak çıkarılamamış ve timpanik membran kalınlıkları değerlendirilememiştir.

Erkilet ve ark. (122) deneysel bir çalışmada timpanik membran perforasyonlarının iyileşmesinde plateletten zengin plazmanın etkisini araştırmışlardır. Sprague Dawley cinsi ratın kullanıldığı çalışmada çalışma grubunda bizim çalışmamıza benzer olarak timpanik membran iyileşme zamanı daha erken bulunmuştur. Membranların ortalama kapanma zamanları çalışma grubunda 10.2±2.1 gün ve kontrol grubunda 13.0±2.9 gün olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise çalışma grubundaki perforasyonlar ortalama 4.41±1.17 gün, kontrol grubunda ise 5,59±1,37 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda daha erken kapanma nedeni olarak perforasyon boyutunun daha küçük olması ve rat sayısının daha az olması düşünülebilir. Erkilet ve ark. çalışmasındaki lamina propria değerleri arasında kontrol ve çalışma grupları arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda ise çalışma grubunda fibroblastik aktivite fazla bulunmasına rağmen neovaskülarizasyon kontrol grubunda daha fazla bulunmuştur. Bu çalışmada gruplar arasında timpanik membran kalınlığı açısından da anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Çalışmamıza benzer başka bir çalışma Eken ve ark. (123) tarafından yapılmıştır. Ratlarda yapılan bu çalışmada ratlarda yaptıkları akut timpanik membran perforasyonunda topikal insülinin iyileşmeye etkisini araştırmışlardır. Timpanik membranların kapanma sürelerini ve histopatolojik değişikliklerini incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda perforasyonun kapanma zamanı açısından çalışma ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Ancak çalışma grubunda LP fibroblastik aktivitesinde ve kolajenizasyonda anlamlı artış bulunması nedeniyle topikal insülinin timpanik membran perforasyon tedavisinde etkili olabileceğini öngörmüşlerdir. Bu çalışmayla benzer metod uyguladığımız bizim çalışmamızda ise kapanma hızının dekspantenol uygulanan grupta daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır. Kollajenizasyon ve fibroblastik aktivite çalışma grubumuzda daha fazla olmasına rağmen sadece kollajenizasyondaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak kontrol grubu olan kulaklara herhangi bir ajan uygulanmamıştır. Ayrıca yine farklı olarak bizim çalışmamızda kolajenin hematoksilin eozin (H&E) ile açık kırmızı renkte boyanabilme özelliği olduğu için masson trikrom yerine H&E kullanılmıştır.

Çalışmamızda toplam 17 ratın 34 timpanik membranına miringotomi uygulandı. Çalışma ve kontrol grupları arasında timpanik membranların kapanma günleri değerlendirildiğinde dekspantenol uygulanan grupta kapanma zamanının daha erken olduğu görüldü. Ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ($p=0.014$) Sonrasında yapılan histopatolojik incelemede lamina propria (LP) neovaskülarizasyonu, fibroblastik aktivite pozitifliği, inflamatuvar hücre varlığı ve kollajenizasyon oranları değerlendirildi. Çalışma grubunda LP kollajenizasyon pozitifliği kontrol grubuna göre daha fazlaydı ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ($p=0.002$). LP neovaskülarizasyonu ve inflamatuvar hücre pozitifliği ise kontrol grubunda çalışma grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu. ($p=0.028, p=0.001$). Çalışma grubunda LP fibroblastik aktivite pozitifliği daha fazla bulunmasına rağmen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildir. ($p=0.177$).

Çalışmamızda dekspantenol kullanmamızın nedeni araştırmalarda kullanılan diğer ajanlara kıyasla maliyetinin ucuz ve kolay temin edilebilir olmasıdır. Elde ettiğimiz sonuçlar neticesinde çalışma grubunda perforasyonun daha erken kapandığının, LP kollajenizasyonun ve fibroblastik aktivitenin daha fazla olduğunun görülmesi bize dekspantenolün timpanik membran perforasyonu kapanmasında etkili olduğunu ancak daha fazla sayıda vaka üzerinde çalışma yapılması gerektiğini düşündürmektedir. Bunun yanında bir perforasyon sekeli olan atrofik membran tedavisinde fibroblast ve kollajen artışına neden olan dekspantenolün yerinin olabileceğini düşünmekteyiz. Bu konuda yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Dekspantenol kullanılarak yapılan çalışmamızda aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. Dekspantenol, kolay temin edilen, maliyeti ucuz bir madde olup çalışmamızda sistemik veya lokal komplikasyona neden olmamıştır.
2. Çalışma ve kontrol grupları arasında kapanma günleri değerlendirildiğinde çalışma grubunda perfore timpanik membranlarda daha erken kapanma saptanmış ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.
3. Çalışma grubunda lamina propria kollajenizasyon pozitifliği kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($p=0.002$). Lamina propria neovaskülarizasyonu ve inflamatuvar hücre pozitifliği ise kontrol grubunda çalışma grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek saptanmıştır ($p=0.028$, $p=0.001$). Çalışma grubunda LP fibroblastik aktivite pozitifliği daha fazla bulunmasına rağmen sonuçlar istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır ($p=0.177$).
4. Çalışmamızda komplikasyon olarak hiçbir ratta enfeksiyona ve kalıcı TM perforasyonuna rastlanmamıştır.

Bu bulgular ışığında çalışma grubunda perforasyonun daha erken kapandığının, LP kollajenizasyonun ve fibroblastik aktivitenin daha fazla olduğunun görülmesi, dekspantenolün perforasyonun kapanmasında etkili bir ajan olabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuçların doğrulanması için daha büyük örnekleme gruplarıyla yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır. Bunun yanında bir perforasyon sekeli olan atrofik membran tedavisinde fibroblast ve kollajen artışına neden olan dekspantenolün etkin olabileceğini düşünmekteyiz.

7. ÖZET

TOPIKAL DEKSPANTENOL UYGULAMASININ RATLARDAKİ TRAVMATİK TİMPANİK MEMBRAN PERFORASYONLARINDA İYİLEŞMEYE ETKİSİ

Amaç: Bu çalışmanın amacı, yara iyileştirici olarak sıkça kullanılan dekspantenol'ün TM perforasyonu kapanması üzerine etkilerini perforasyonun iyileşme zamanı ve histopatolojik açıdan inceleyerek araştırmaktır.

Yöntem: Toplamda 17 erişkin rat sıçan kullanılmıştır. Her 2 TM pars tensa kısımlarına 2 mm çapında perforasyon oluşturulmuştur. Ratların sağ timpanik membranları perfore edildikten sonra 2 gün dekspantenol damlatılmış, kontrol grubu olan sol kulaklara ise herhangi bir ajan uygulanmamıştır. Timpanik membranlar 3. 5.ve 7. günlerde otomikroskopik olarak muayene edilmiştir. Kapanma günleri takip edilmiştir. 14.günde ratlar dekapite edilerek TM spesmenleri histopatolojik olarak incelenmiştir. Epitelial ve mukozal tabakalar incelenmiş, LP neovaskülarizasyonu, fibroblastik aktivitesi, kolajenizasyon oranları ve inflamatuvar hücre varlığı değerlendirilmiştir

Bulgular: Dekspantenol uygulanan timpanik membran perforasyonları daha erken kapanmıştır. Çalışmamızın ikinci aşamasında yapılan histopatolojik incelemede çalışma grubunda LP kollajenizasyon pozitifliği kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (p=0.002). Çalışma grubunda LP fibroblastik aktivite pozitifliği daha fazla bulunmasına rağmen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.177)

Sonuç: bulgularımıza göre dekspantenolün timpanik membran perforasyonlarında iyileşmeyi hızlandırdığı ve bir perforasyon sekeli olan atrofik membran tedavisinde de etkili olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Dekspantenol, rat, miringotomi, timpanik membran perforasyonu

8. ABSTRACT

THE EFFECT OF TOPICAL DEXPANTHENOL APPLICATION ON THE HEALING OF TRAUMATIC TYMPANIC MEMBRANE PERFORATIONS IN RATS

Purpose: The aim of this study is to investigate the effects of dexpanthenol on the healing of acute traumatic tympanic membrane (TM) perforations. The healing was evaluated clinically by the timing of perforation closure and histopatologic examination.

Methods: Totally 17 adult healthy rats were used. TM perforations, of 2 mm in diameter were made in the pars tensa of each TM. The perforations in the right ears of the rats (study group) were treated with topical dexpanthenol for 2 days. No topical agents were applied on to the left ears of the rats (control group). The animals were examined with otomicroscopy at first, third, and seventh days. TM specimens were obtained after the animals were decapitated under deep anesthesia 14 days after the procedure. Histologically, the epithelial and mucosal layers were examined. Neovascularization of LP, fibroblastic activity of LP, inflammatory cell profile in LP and collagenization ratios of LP were evaluated.

Results: Tympanic membrane perforations treated with dexpanthenol closed earlier in the study group; LP collagenization positivity was significantly higher than the control group ($P = 0.002$). Although LP fibroblastic reactions were higher than the control group, the result was not statistically significant ($p = 0.177$).

-Conclusion: These findings suggest that dexpanthenol is effective in accelerating tympanic membrane perforation healing, and topical dexpanthenol treatment may be more beneficial in the treatment of atrophic membrane, which may occur as a sequel of perforation.

Key words: Dexpanthenol, rat, myringotomy, tympanic membrane perforation

9. KAYNAKLAR

1. Cohen D, Tamir D. The prevalence of middle ear pathologies in Jerusalem school children. *Am J Otol.* 1989;10(6):456-9.
2. Hellstrom S, Laurent C. Hyaluronan and healing of tympanic membrane perforations. An experimental study. *Acta Otolaryngol Suppl.* 1987; 442:54-61
3. Ishibashi T, Shinogami M, Ishimoto SI, Yoshida K, Kaga K. Induction of KGF, basic FGF, and TGFalpha mRNA expression during healing of experimental TM perforations. *Acta Otolaryngol.* 1998;118(5):701-4.
4. Glascock III ME, Shambough Jr GE (1990) Closure of tympanic membrane perforations. In: *Surgery of the Ear*, 4th edn. WB Saunders, Philadelphia, pp 335-349
5. Laurent C, Hellstrom S, Fellenius E. Hyaluronan improves the healing of experimental tympanic membrane perforations. A comparison of preparations with different rheologic properties. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1988 ;114(12):1435-41.
6. Spandow O, Hellstrom S. Healing of tympanic membrane perforation-a complex process influenced by a variety of factors. *Acta Otolaryngol Suppl.* 1992;492:90-3.
7. Amoils CP, Jackler RK, Lustig LR. Repair of chronic tympanic membrane perforations using epidermal growth factor. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1992;107(5):669-83.
8. Dere H, Unal A, Ozcan İ, Yardımcı S, Ergul G, Titiz A, Aksoy F. Travmatik timpan membran perforasyon iyileşmesinde basic fibroblast growth faktorun etkisinin histolojik incelenmesi. *Turk Arh. ORL*, 1997;35:33-7.
9. Ebner F, Heller A, Rippke F, Tausch I. Topical use of dexpanthenol in skin disorders. *Am J Clin Dermatol* 2002;3:427-33.
10. R.T. Sataloff JS. The nature of hearing loss. In R.T. Sataloff JS (ed) *Occupational hearing loss*. New York: Taylor&Francis 2006; 19-28.
11. Aslan A, Belgin E. Kulak Anatomisi ve İşitme Fizyolojisi. In Koç C (ed) *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi*. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi 2004; 45-71.
12. Akyıldız NA. *Kulak Hastalıkları Ve Mikrocerrahisi*. Cilt 1, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 1998; 22-62
13. Karasalihoğlu A. *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi*. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi 2003.

14. Austin DF. Kulak anatomisi. In Ballanger JJ, Snow JB (eds): Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2000; 838–857.
15. Duckert LG. Anatomy of the skull base, temporal bone, external ear and middle ear. In Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA et al. (eds): Otolaryngology Head & Neck Surgery. St Louis: Mosby-year Book 1998; 2533-2546.
16. Janfaza P, Nadol JB. Temporal kemik. In Janfaza P, Nadol JB, Gala R et al. (eds): Bas Boyun Cerrahi Anatomisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2002; 420-479.
17. Donaldson JA, Duckert L. Anatomy of the Ear. In Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL (eds): Otolaryngology 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company 1991; 23-58.
18. Santi PA, Mancini P. Cochlear anatomy and central auditory pathways. In Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA et al. (eds): Otolaryngology Head & Neck Surgery. 3 rd ed. St. Louis: St. Louis: Mosby-Year Book 1998; 2803-2826.
19. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. cilt 1. Ankara: Günes Kitapevi 1997.
20. Ömür M, Dadaş B. Klinik Bas ve Boyun Anatomisi.1.cilt. İstanbul: Ulusal Tıp Kitapevi 1996.
21. Donaldson JA. The ear: adult anatomy. In Donaldson JA, Duckert LG, Lambert PM, Rubel EW (eds): Surgical Anatomy of the Temporal Bone. New York: Raven Pres 1992; 143-175.
22. Ickleys OJ. Physiology of the ear. In Wright D (ed) Scott-Brown's Otolaryngology. 5th ed. London: Butterworths – Heinemann 1998; 47-80.
23. Lee KJ. Anatomy of the ear. In Lee KJ (ed) Essential Otolaryngology. Connecticut: Appleton&Lange Company 1999.
24. Üstün M.B. Benign Paroksizmal Pozisyonel Vertigo Tedavisinde Epley Manevrasının Etkinliğinin Değerlendirilmesi (Prospektif Çalışma). Dr.Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi. KBB Uzmanlık Tezi, İstanbul 2005
25. Pearson AA. Development of anatomy of the ear. In: English GM, editor. Otolaryngology. Philadelphia: Harper and Row Publishers; 1984. 1-68.
26. Richard F, Judkins, Hongyan L_. Surgical anatomy of the rat middle ear. Otolaryngol Head Neck Surg 1997;117:438-447.
27. Richard F, Hongyan Li Surgical anatomy of the rat middle ear. Otolaryngol Head Neck Surg. 1997; 117: 438 – 9.
28. Mulder JS, Kuipers W, Peters T et al. Development of the tubotympanium in the rat. The Laryngoscop 1998; 108: 1846 – 6.

29. Göksu N, Hazıroğlu R, Kemaloğlu Y, Karademir N, Bayramoğlu I, Akyıldız N. Anatomy of the Guinea pig temporal bone. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1992; 101: 699-5.
30. Sütbeyaz Y, Karaşen M. Guinea pig temporal kemik anatomisi. *Kulak Burun Boğaz İhtisas Dergisi* 1998; 5(3): 173-7.
31. Kayhan FT, Algün Z. A histologic study on temporal bone of guinea pigs. *Kulak Burun Boğaz İhtisas Dergisi* 2003; 10(2): 51-6.
32. Wang RG, Bingham B, Hawke M, Kwok P, Li JR. Persistence of the foramen of Huschke in the adult: an osteological study. *J Otolaryngol* 1991; 20 (4): 251-3.
33. Kristensen S, Juul A, Gammelgaard NP, et al. Traumatic tympanic membrane perforations: complications and management. *Ear Nose Throat J*. 1989;68:503-516.
34. Ateş G, Kobay (guinea pig) timpan membranında regüler insülin'in insizyonel miringotomide kapanma sürelerine etkisi ve histopatolojik incelemesi, Dr. Lütfü Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, KBB uzmanlık tezi, İstanbul 2006.
35. Lee KJ. *Essential Otolaryngology* (Cev: Metin Onerci) 8.Baskı Kitabevi, İstanbul, 2004. s:474-485.
36. Bluestone CD, Klein JO: İnfratemporal complications and sequelae of otitis media. In: Bluestone CD, Stool SE, Kenna MA. eds, *Pediatric Otolaryngology*, 3rd ed.Philadelphia;Saunders,1996.
37. Kenna MA. Treatment of chronic suppurative otitis media. *Otolaryngol Clin North Am*. 1994;27(3):457-72.
38. Roberts E.S. etal. Otitis media in early childhood and cognitive, academic and classroom performance of the school-aged child, *Pediatrics*; 1989;4:477.
39. Isaacsan G. Tympanoplasty in children; *Otolaryngol. Clin. North. Am.*, 1994;27: 593-605.
40. Huseyin D, Ozcan İ, Şemi O. Kronik efuzyonlu otitis media tedavisinde modifiye Goode T tup ile Paprella tip 1 tupun karşılaştırılması. *KBB Baş Boyun Cerrahisi Dergisi* 1997; 4: 201-5.
41. Nichols PT, Ramadan HH, Wax MK, Santrock RD. Relationship between tympanic membrane perforations and retained ventilation tubes. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998; 124(4):417-9.
42. Celik O. *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi*. S: 116-143 1.Basım, Turgut Yayıncılık; İstanbul 2002.

43. Goode RL. Long-term middle ear ventilation with T tubes: the perforation problem. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1996; 115(6):500-1.
44. Prichard AJ, Marshall J, Skinner DW, Narula AA. Long-term results of Goode's tympanostomy tubes in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1992 ; 24(3):227-33
45. Morris MS. Tympanostomy tubes: types, indications, techniques, and complications. *Otolaryngol Clin North Am.* 1999; 32(3):385-90.
46. Lindeman P, Edstrom S, Granstrom G, Jacobsson S, von Sydow C, Westin T, Aberg B. Acute traumatic tympanic membrane perforations. Cover or observe? *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1987;113(12):1285-7.
47. Kaftan H, Herzog M, Mieke B, Hosemann W. Topical application of transforming growth factor-b1 in acute traumatic tympanic membrane perforations: an experimental study in rats. *Wound Rep Reg* 2006;14:453-456
48. Somers T, Goovaerts G, Schelfhout L, et al. Growth factors in tympanic membrane perforation. *Am J Otol* 1998; 19: 428-6.
49. Stenfors LE. Treatment of tympanic membrane perforations with hyaluronan in an open pilot study of unselected patients. *Acta Otolaryngol Suppl.* 1987; 442: 81-7.
50. Lukan N. Burn injuries of the middle ear. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 1991;53(3):140-2.
51. McIntire C, Benitez JT. Spontaneous repair of the tympanic membrane. Histopathological studies in the cat. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1970;79(6):1129-31.
52. Makino K, Amatsu M, Kinishi M, Mohri M. Epithelial migration in the healing process of tympanic membrane perforations. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1990;247(6):352-5.
53. Laidlaw DW, Costantino PD, Govindaraj S, et al. Tympanic membrane repair with dermal allograft. *Laryngoscope* 2001;111:702-7.
54. Laidlaw DW, Costantino PD, Govindaraj S, Hiltzik DH, Catalano PJ. Tympanic membrane repair with a dermal allograft. *Laryngoscope.* 2001;111(4):702-7.
55. Quraishi MS, Jones NS. Day case myringoplasty using tragal perichondrium. *Clin Otolaryngol* 1995;20:12-4.
56. Golz A, Goldenberg D, Netzer A, Fradis M, Westerman ST, Westerman LM, Joachims HZ. Paper patching for chronic tympanic membrane perforations. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003;128(4):565-70.

57. Merwin GE, Boies LR Jr. Paper patch repair of blast rupture of the tympanic membrane. *Laryngoscope* 1980; 90:863.
58. Pribitkin EA, Handler SD, Tom LW, et al. Ventilation tube removal. Indications for paper patch myringoplasty. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1992;118:495-7.
59. DiLeo MD, Amedee RG. Fibrin-glue-reinforced paper patch myringoplasty of large persistent tympanic membrane perforations in the guinea pig. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1996;58:27-31.
60. Imamoglu M, Isik AU, Acuner O, et al. Fat-plug and paper-patch myringoplasty in rats. *J Otolaryngol* 1998; 27:318-21.
61. Laurent C, Soderberg O, Anniko M, et al. Repair of chronic tympanic membrane perforations using application of hyaluronan or rice paper prosthesis. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1991;53:37-40.
62. Spandow O, Hellstrom S, Dahlstrom M, et al. Comparison of the repair of permanent tympanic membrane perforations by hydrocolloidal dressing and paper patch. *J Laryngol Otol* 1995;109:1041-7.
63. Gladstone HB, Jackler RK, Varav K. Tympanic membrane wound healing. An overview. *Otolaryngol Clin North Am* 1995;28:913-32.
64. Slyshenkov VS, Dymkowska D, Wojtczak L: Pantothenic acid and pantothenol increase biosynthesis of glutathione by boosting cell energetics. *FEBS Lett* 2004;569:169–172.
65. Slyshenkov VS, Omelyanchik SN, Moiseenok AG, Trebukhina RV, Wojtczak L: Pantothenol protects rats against some deleterious effects of gamma radiation. *Free Radic Biol Med* 1998;24:894–899.
66. Slyshenkov VS, Rakowska M, Moiseenok AG, Wojtczak L: Pantothenic acid and its derivatives protect Ehrlich ascites tumor cells against lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med* 1995;19:767–772.
67. Slyshenkov VS, Rakowska M, Wojtczak L: Protective effect of pantothenic acid and against permeabilization of Ehrlich ascites tumour cells by digitonin. *Acta Biochim Pol* 1996;43:407-410.
68. Tulum Y, B kompleks vitaminleri ve biyokimyası. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabim dalı, Diş Hekimliği Bitirme Tezi, İzmir 2007.
69. Mazdak H, Meshki I, Ghassami F. Effect of mitomycin C on anterior urethral stricture recurrence after internal urethrotomy. *Eur Urol.* 2007;51:1089-1092.
70. Santucci RA, Joyce GF, Wise M. Male urethral stricture disease. *J Urol.* 2007;177:1667-1674.

71. Bayrak O, Seckiner I, Solakhan M, et al. Effects of intravesical dexpanthenol use on lipid peroxidation and bladder histology in a chemical cystitis animal model. *Urology*. 2012;79:1023-1026.
72. Censabella S, Claes S, Orlandini M, Braekers R, Thijs H, Bulens P. Retrospective study of radiotherapy-induced skin reactions in breast cancer patients: Reduced incidence of moist desquamation with a hydroactive colloid gel versus dexpanthenol. *European Journal of Oncology Nursing* 18 (2014) 499-504
73. S. Presto, A. Wehmeyer, A. Filbry, F. Rippke, and S. Bielfeldt, Stimulation der epidermalen Regeneration durch 5% Dexpanthenol—Ergebnisse einer Placebo-kontrollierten Doppelblindstudie, *H&G*, 2001 ; 76(2): 114–115.
74. H. Eggensperger, *Multiaktive Wirkstoffe für Kosmetika*, 1995.
75. W. Gehring and M. Gloor, “Effect of topically applied dexpanthenol on epidermal barrier function and stratum corneum hydration. Results of a human in vivo study,” *Arzneimittel- Forschung*, 2000; 50(7): 659–663.
76. N. Klocker, T. Verse, and P. Rudolph, “Die schleimhautprotektive Wirkung von Dexpanthenol in Nasensprays. Erste Ergebnisse zytotoxischer und ziliotoxischer Versuche in vitro,” *Laryngo-Rhino-Otologie*, 2003; 82(3): 177–182.
77. S. Hauptmann, H. Schäfer, A. Fritz, and P. Hauptmann, “Untersuchung der wachstumsbeeinflussenden Wirkung von Wundsalben an der Zellkultur,” *Der Hautarzt*, 1992; 43: 432– 435.
78. W. Kehrl and U. Sonnemann, “Dexpanthenol-Nasenspray als wirksames Therapieprinzip zur Behandlung der Rhinitis sicca anterior,” *Laryngo-Rhino-Otologie*, 1998; 77(9): 506–512.
79. W. Kehrl and U. Sonnemann, “Verbesserung der Wundheilung nach Nasenoperationen durch kombinierte Anwendung von Xylometazolin und Dexpanthenol,” *Laryngo-Rhino-Otologie*, 2000; 79(3): 151–154.
80. C. Skudlik, A. Schnuch, W. Uter, and H. J. Schwanitz, “Berufsbedingtes Kontaktekzem nach Anwendung einer Dexpanthenolhaltigen Salbe und Überblick über die IVDK-Daten zu Dexpanthenol,” *Aktuelle Dermatologie*, 2002; 28(11): 398–401.
81. Öztürk R. *Guinea Pig Kulak Cerrahi Anatomisi*. Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi. KBB Uzmanlık Tezi, İstanbul 2003.
82. Olushola A Afolabi, Shuaib K Aremu, Biodun S Alabi, S Segun-Busari. Traumatic Tympanic Membrane perforation: An aetiological Profile. *BioMed Central*. November 2009; 2:232

83. Marcos Miranda de Araújo, Adriana Andrade Batista Murashima, Vani Maria Alves, Maria Celia Jamur, Miguel Angelo Hyppolito. Spontaneous healing of the tympanic membrane after traumatic perforation in rats. *Brazilian Journal of otorhinolaryngology*. 2014;80(4):330-338.
84. Johnson AP, Smallman LA, Kent SE. The mechanism of healing of tympanic membrane perforations. A two-dimensional histological study in guinea pigs. *Acta Otolaryngol*. 1990;109(5-6):406-15.
85. Stenfors LE, Carlsoo B, Salen B, Winblad B. Repair of experimental tympanic membrane perforations. *Acta Otolaryngol*. 1980;90(5-6):332-41.
86. Litton WB. Epidermal migration in the ear: the location and characteristics of the generation center revealed by utilizing a radioactive desoxyribose nucleic acid precursor. *Acta Otolaryngol*. 1968;Suppl 240:5.
87. Wang WQ, Wang ZM, Chi FL. Spontaneous healing of various tympanic membrane perforations in the rat. *Acta Otolaryngol*. 2004;124(10):1141-4.
88. Taylor M, McMinn RM. Cytology of repair in experimental perforation of the tympanic membrane and its relationship to chronic perforations in man. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol*. 1967;71(5):802-12.
89. McMinn RM, Taylor M. The cytology of repair in experimental perforations of the tympanic membrane. *Br J Surg*. 1966;53(3):222-32.
90. Fina M, Bresnick S, Baird A, Ryan A. Improved healing of tympanic membrane perforations with basic fibroblast growth factor. *Growth Factors*. 1991;5(4):265-72
91. Govaerts PJ, Jacob WA, Marquet J. Histological study of the thin replacement membrane of human tympanic membrane perforations. *Acta Otolaryngol*. 1988;105(3-4):297-302.
92. Yamashita T. Histology of the tympanic perforation and the replacement membrane. *Acta Otolaryngol*. 1985;100(1-2):66-71.
93. Callanan VP, Curran AJ, Gormley PK. Xenograft versus autograft in tympanoplasty. *J Laryngol Otol* 1993;107: 892-4.
94. Yetiser S, Tosun F, Satar B. Revision myringoplasty with solvent-dehydrated human dura mater (Tutoplast). *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;124:518-21.
95. Chauvin K, Bratton C, Parkins C. Healing large tympanic membrane perforations using hyaluronic acid, basic fibroblast growth factor, and epidermal growth factor. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1999;121(1):43-7.

96. Siedentop KH, Harris DM, Ham K, Sanchez B. Extended experimental and preliminary surgical findings with autologous fibrin tissue adhesive made from patients own blood. *Laryngoscope*. 1986;96(10):1062-4.
97. Baldwin RL, Loftin L. Gelfilm myringoplasty: a technique for residual perforations. *Laryngoscope*. 1992;102(3):340-2.
98. Lim AA, Washington AP, Greinwald JH, et al. Effect of pentoxifylline on the healing of guinea pig tympanic membrane. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2000;109:262-6.
99. Kohn FE, Feijen J, Feenstra L. New perspectives in myringoplasty. *Int J Artif Organs*. 1984;7(3):151-62.
100. Somers T, Verbeken G, Vanhalle S, Delaey B, Duinslaeger L, Govaerts P, Offeciers E. Lysates from cultured allogeneic keratinocytes stimulate wound healing after tympanoplasty. *Acta Otolaryngol*. 1996;116(4):589-93.
101. Kartush JM. Tympanic membrane Patcher: a new device to close tympanic membrane perforations in an office setting. *Am J Otol*. 2000;21(5):615-20
102. Gladstone HB, Jackler RK, Varav K. Tympanic membrane wound healing. An overview. *Otolaryngol Clin North Am*. 1995;28(5):913-32.
103. Park M.K, Kim K.H, Lee J.D, Lee B.D. Repair of Large Traumatic Tympanic Membrane Perforation with a Steri-Strips Patch. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*, 2011 145(4) 581– 585.
104. T. Santhi , K. V. Rajan. A Study of Closure of Tympanic Membrane Perforations by Chemical Cauterisation. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg* 2012; 64(4):389–392.
105. Lee AJ, Jackler RK, Kato BM, Scott NM. Repair of chronic tympanic membrane perforations using epidermal growth factor: progress toward clinical application. *Am J Otol*. 1994;15(1):10-8.
106. Kuljit S.U, Singh R, Singh J, Popli S.P. Closure of tympanic membrane perforations by chemical cautery. *IJO&HNS* 1997; 49:No.2
107. Hom DB. Growth factors and wound healing in otolaryngology. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1994;110(6):560-4.
108. Mondain M, Saffiedine S, Uziel A. Fibroblast growth factor improves the healing of experimental tympanic membrane perforations. *Acta Otolaryngol*. 1991;111(2):337-41.
109. Vrabc JT, Schwaber MK, Davidson JM, Clymer MA. Evaluation of basic fibroblast growth factor in tympanic membrane repair. *Laryngoscope*. 1994;104(9):1059-64.

110. Ishimoto S, Ishibashi T, Bottaro DP, Kaga K. Direct application of keratinocyte growth factor, basic fibroblast growth factor and transforming growth factor-alpha during healing of tympanic membrane perforation in glucocorticoid-treated rats. *Acta Otolaryngol.* 2002;122(5):468-73.
111. Soumekh B, Hom DB, Levine S, Juhn SK, Antonelli PJ. Treatment of chronic tympanic-membrane perforations with a platelet derived releasate. *Am J Otol.* 1996;17(4):506-11.
112. Susaman N, Yalçın Ş, İlhan N, Özercan İ.H, Kaygusuz İ, Karlıdağ T, Gök Ü. Travmatik timpanik membran perforasyonlarında E vitamininin histopatolojik iyileşme ve lipid peroksidasyon düzeyleri üzerine etkileri: Deneysel çalışma. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg* 2003;10(3):87-92.
113. Guneş A, Mutlu M, Akın İ, Koybaşıoğlu F, Guvey A, Karasu M.F, Albasan H, Cengiz H. The Impact of Systemic and Local Administration of Ascorbic Acid on Traumatic Perforation of Tympanic Membrane and Myringosclerosis. *Int Adv Otol* 2015; 11(1): 48-52.
114. Özel B.F, Yasan H, Çiriş M, Doğru H, Çandır Ö. Miringoskleroz Gelişimi Ve Kulak Zarı Perforasyonu İyileşmesi Üzerine Farklı Ajanların Etkileri. *KBB-Forum* 2005;4(3)
115. Yardimci I, Karakan T, Resorlu B, Doluoglu O.G, Ozcan S, Aydın A, Demirbas A, Unverdi H, Eroglu M. The Effect of Intraurethral Dexpanthenol on Healing and Fibrosis in Rats With Experimentally Induced Urethral Trauma. *J. Urology.*2014.09.038
116. Ulger B, Kapan M, Uslukaya O, Bozdag Z, Turkoglu A, Alabalık U , Onder. Comparing the effects of nebivolol and dexpanthenol on wound healing: an experimental study. *Int Wound J* 2014; doi: 10.1111/iwj.12314
117. Monographie des BfArM, "Dexpanthenol/Panthenol und Salze der Pantothen'säure zur topischen Anwendung," *Bundesanzeiger*, 1993; 24(5):S. 845.
118. W. Hosemann, U. Gode, F. Langer, and M. E. Wigand, "Experimentelle Untersuchungen zur Wundheilung in den Nasennebenhöhlen. II. Spontaner Wundschluss und medikamentöse Effekte im standardisierten Wundmodell," *HNO*, 1991; 39: 48– 54.
119. W. Kehrl, U. Sonnemann, and U. Dethlefsen, "Fortschritt in der Therapie der akuten Rhinitis," *Laryngo-Rhino-Otologie*, 2003; 82(4): 266–271.
120. Gouteva I, Shah-Hosseini K, Meiser P. Clinical Efficacy of a Spray Containing Hyaluronic Acid and Dexpanthenol after Surgery in the Nasal Cavity (Septoplasty, Simple Ethmoid Sinus Surgery, and Turbinate Surgery). *Hindawi Publishing Corporation Journal of Allergy* Volume 2014, Article ID 635490

121. O'Daniel TG, Petitjean M, Jones SC, Zogg J, Martinez SA, Nolph MB, Schultz GS. Epidermal growth factor binding and action on tympanic membranes. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1990;99(1):80-4.
122. Erkilet E, Koyuncu M, Atmaca S, Yarım M. Platelet-rich plasma improves healing of tympanic membrane perforations: experimental study. *The Journal of Laryngology & Otology* 2009 ;123:482–487.
123. Eken M, Ateş G, Şanlı A, Evren C, Bozkurt S. The effect of topical insulin application on the healing of acute tympanic membrane perforations: a histopathologic study. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007; 264:999–1002

