

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

**SIÇAN PERFORE TİMPANİK MEMBRANINDA TOPİKAL ALFA
TOKOFEROL ASETAT UYGULAMASININ MİRİNGOSKLEROZ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Uzmanlık Tezi

Dr.Gülden MARAL SARUHAN

TRABZON – 2003

TEŞEKKÜR

Tez konusunun seçiminde ve çalışmaların yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen, asistanlık hayatı boyunca eğitimimle ilgilenen Sayın Doç.Dr. Abdülcemal Ümit Işık'a, bilgi ve tecrübelerini bizlerle paylaşmaktan mutluluk duyan anabilim dalı başkanımız Sayın Prof.Dr. Mehmet İmamoğlu'na, hocam Sayın Prof.Dr. Hayrettin Muhtar'a; tez çalışmasında materyallerin histopatolojik değerlendirilmesinde çok yakın destek veren Sayın Yrd.Doç.Dr. Esin Yuluđ'a, Sayın Yrd.Doç.Dr.Ümit Çobanođlu'na, materyal ve metodun yürütülmesinde katkılarından dolayı Sayın Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim ve araştırma görevlilerine, sonuçların istatistiksel yorumlanmasında çok yardımcı olan Sayın Öğr.Gör.Dr. Murat Topbaş'a, materyalin oluşmasında katkısı olan Sayın Biyokimya Anabilim Dalı üyelerine, tüm tez çalışmalarım boyunca destek ve yardımcı olan eşim Sayın Araş.Gör. Dr. C.Sertaç Saruhan'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No :

1 .	GİRİŞ.....	1
2 .	GENEL BİLGİLER.....	3
	- Timpanik Membran.....	3
	- Miringoskleroz.....	5
	- Vitamin E.....	9
	- Serbest Radikaller.....	12
	- Antioksidan Savunma Sistemleri.....	16
	- Timpanik Membranda Yara İyileşmesi	17
3 .	MATERYAL VE METOD.....	19
4 .	BULGULAR.....	23
5 .	TARTIŞMA.....	33
6 .	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	39
7 .	ÖZET.....	40
8 .	İNGİLİZCE ÖZET.....	41
9 .	KAYNAKLAR.....	42

GİRİŞ

Miringoskleroz ; timpanik membranda beyaz yamalar şeklinde izlenen , mukoza altında kollajen tabakada hyalen ve kalsifiye birikimler toplanmasıyla karakterize, inaktif bir otit sekelidir (1). Effüzyonlu otitis media tedavisinde, miringotomi ve ventilasyon tüpü yerleştirilmesi işleminden sonra yaygın olarak izlenmektedir. Çoğunlukla işitme kaybına yol açmayan, timpanik zarda sınırlı sklerotik plaklar şeklinde görülür (2,3).

Etiolojisi hakkında henüz bir kesinlik sağlanamamıştır. Ancak miringoskleroz etiolojisinde rol oynadığı düşünülen serbest oksijen radikallerinin, travma sonucu oluşan perforasyonların iyileşmesini geciktirdiği ve kalıcı olmasına neden olduğu bilinmektedir. Timpanik membran perforasyonları sonrası serbest oksijen radikallerinin oluşumu, lipid peroksidasyon ürünleriyle bağlantılıdır.

Daha önce yapılmış hayvan deneyleri, miringotomi sonrası oluşan miringosklerozlarda, yara yerinde artmış oksijen konsantrasyonunun ve buna bağlı serbest oksijen radikallerinin etken olabileceğini desteklemektedir (4).

Serbest oksijen radikalleri lipid, protein ve nükleik asitler gibi biomoleküllerle reaksiyona girerek ya da timpanik membranda endojen enzimatik veya non-enzimatik antioksidanları azaltarak da harabiyete neden olabilir. Vitamin E (alfa-tokoferol), hayvanlarda ve insanlarda en önemli lipofilik non-enzimatik serbest radikal yakalayıcısıdır(5). Biomembranlardaki serbest radikalleri yakalayıp lipid peroksidasyonunun ve hücre membranındaki poliansatüre yağ asitlerinin, serbest radikal tehditinde ilk basamak savunma mekanizması olarak düşünülür.

Ratlarda yaptığımız deneysel çalışmada, miringoskleroz oluşturmak amacıyla timpanik membran perforasyonu meydana getirildi. Ortaya çıkan serbest oksijen radikallerine karşı antioksidan olarak, topikal vitamin E (alfa-tokoferol asetat) uygulaması denendi. Bu topikal maddenin, miringosklerozu önleyip önlemediğinin tespit edilmesi amaçlandı. Ayrıca yara yerinde meydana getirdiği değişiklikler (perforasyon iyileşme hızı, timpanik membran kalınlığı, epitelizasyon, fibroblastik aktivite, neovaskülarizasyon, polimorf nüveli lökosit varlığı) incelendi.

GENEL BİLGİLER

A – TİMPANİK MEMBRAN

Timpanik membran ; Dış kulak yolundan muayene edilebilen, dış kulak yolu ve orta kulağı birbirinden ayıran , orta kulak dış duvarınının büyük bir kısmını yapan koni şeklinde membranöz bir yapıdır (6).

İlk olarak 1832 yılında Henry Jones Shrapnell tarafından timpanik membranın pars flaksida bölümü tanımlanmıştır. Shrapnell'den sonra timpanik membran fonksiyon ve fizyolojik özelliklerine göre iki kısma ayrılmıştır. Timpanal kemik içinde kalan timpanik membranın major kısmı daha gergin olup “pars tensa”adını alır.Üst kısmı olan “pars flaksida” daha küçük ve gevşektir. Anterior ve posterior malleolar plikalar tarafından ayrılır. Bunlar anular bölgeden malleus kısa proçesine uzanırlar (7) .

A.1. Anatomi ve Fizyoloji

Timpanik Membran ; Dış kulak yolu sonunda yaklaşık 0.1 mm kalınlığında, 10-11mm uzunlukta, 8-9 mm genişliktedir. Timpanal kemik sulcus timpanikusunun içine oturan bir yapıdır. Sulcus timpanicusu timpanal halka da denilmektedir. Timpanal kemik öne ve arkaya iki uzantı göndererek sulcus timpanicusu yapar. Ama bu uzantılar birbirleriyle birleşemez ve halkanın üst ucu açık kalır. Açık kalan uzantıların arasını skuamoz kemiğin aşağıya doğru giden uzantısı doldurur. Skuamoz kemiğin bu parçasına “skutum” denilir. İncus ve malleusun gövdeleri skutum tarafından gizlenir. Skutumun doldurduğu timpanal kemiğin iki uzantısı arasındaki açıklığa “rivinus çentiği” adı verilmektedir.

Timpanik membran; sulcus timpanicus içine Gerlach halkası adı verilen “anulus fibrosus” ile tespit edilmiştir. Timpanal kemiğin her iki uzantısının bitim noktalarından malleusun başına doğru iki plika uzanır ve kulak zarını malleusa bağlar. Bunlar plika malleolaris anterior ve posteriordur. Timpanik membranın pars tensa parçasında ortada yukarıdan aşağıya doğru uzanan malleusun kulak zarı içerisinde yer alan parçası olan manubrium mallei yukarıdan aşağıya ve önden arkaya doğru durmaktadır. Bu nedenle manubriumun ucu arkayı gösterir.

Timpanik membran tamamen düz olmayıp konkavdır. En çukur noktası manubriumun orta kısmına karşılık gelir ve “umbo” adını alır. Manubrium eksenine tam ortadan dik çizilirse kulak zarının pars tensa kısmı dört sanal parçaya ayrılmış olur: ön-üst, ön-alt, arka-üst, arka-alt. Bu bölünmenin kulak zarındaki lezyonları ve bazı girişimleri belirlemek bakımından yararı vardır. Arka-üst bölge incusun uzun kolu, stapesle yaptığı eklem ve chorda timpaniyi içermesi bakımından tehlikeli kabul edilir. Arka-alt kadran kulak zarı ve orta kulak medial duvarı (promontoryum) arasındaki mesafenin en dar olduğu yerdir. Yuvarlak pencere burada yer alır. Ön-üst ve ön-alt kadranslar daha güvenilir bölgelerdir (6).

A.2. Histoloji

Timpanik membranın pars tensa ve pars flaksida kısmı gerginlik ve histolojik yapı bakımından birbirlerinden ayrılırlar.

Pars tensa üç tabakadan meydana gelmiştir : Dış yüzde dış kulak yolu derisi (epidermal tabaka), iç yüzde orta kulak mukozası ve bunlar arasında da fibröz tabaka vardır. Fibröz tabaka dışta stratum radiale, içte stratum sirkülare denilen liflerden oluşmuş, kapillerden fakir dış etkilerden kolayca etkilenen ve negatif basınca duyarlı kulak zarı bölgesidir. Sirküler tabakada parabolik, semisirküler ve transvers lifler vardır. Bu liflerin özellikleri ve işitmedeki rolleri kulak zarına sürekli bir gerginlik sağlayarak kolay titreşim yapmaktır (6). Radial ve içteki sirküler lifler lamina propriayı bir subepitelial ve bir submukozal tabakaya ayırır. Rat ve insan timpanik membranı benzer yapıya sahiptirler (8).

Pars flaksidanın ise fibröz tabakası olmayıp buna karşılık ortada ince konnektif bir doku tabakasının bulunduğu gösterilmiştir. Dış epitel tabaka pars tensanınki ile aynı olmakla beraber daha incedir. Konnektif doku tabakası daha zengin kapiller ağ ve sinirler içerir (6).

A.3.Damar ve Sinirler

Timpanik membran deri tabakasının damarları, iç maksiller arterin auriküler dalı ile bağlantılıdır. Mukozal yüzün arterial beslenmesi ise hem maxillar interna hem de

posterior auriküler ve a.stylomastoidea'dan olur. Kulak zarının venleri, dış kulak yolu ve orta kulak boşluğunun venlerine dökülür. Lenfatikleri damarları izler. Mastoid apeks ve tragus önünde yerleşmiş servikal lenf nodlarına ya da Eustachi borusunun lenfatiklerine drene olurlar.

Sinirleri esas olarak V. ve X. kraniyal sinirlerden gelir , VII. sinirin kulak zarının arka parçasına hissi dallar verdiği sanılmaktadır. İç yüzün hissiyetini ise IX. kraniyal sinir sağlamaktadır (6).

B - MİRİNGOSKLEROZ

Timpanoskleroz kronik otitis mediyaların iyileşme süreci sonunda ortaya çıkan, mukoza altında lamina propria'da fibroz ve elastik tabakalarda hyalen dejenerasyon ve kalsifiye birikimler toplanması ile karakterize bir sekeldir (6,9,10,11).

Timpanoskleroz tek başına klinik bir tablo olarak ortaya çıktığı gibi kolesteatomlu ve diğer kronik otitlerle de birlikte olabilir. Timpanoskleroz sıklığı üzerine yapılmış çalışmalarda en geniş vaka sayısına sahip Plester'e göre kabaca kronik otitlerin %10'da görülmektedir.

Timpanosklerozun sadece kulak zarına lokalize şekilleri vardır. Fakat kulak zarı ve orta kulak timpanosklerozunun birlikte olduğu; özellikle çift taraflı vakalarda önemli oranda işitme kayıpları meydana getirmeleri nedeniyle sosyal bakımından ciddi sorunlar ortaya çıkarırlar. Bu nedenle iki timpanoskleroz tipi ayrı olarak incelenmelidir (4). Aynı anda, her iki timpanik membran ve kavitede timpanoskleroz oluşumu farklı çalışmalarda %33 ile %49 oranında bulunmuştur (12).

Timpanoskleroz ilk olarak 1734'de Cassebohm tarafından timpanik membranda "tebeşirsi yamalar" şeklinde tanımlanmıştır. Bu terim İngiliz literatürüne Zollner tarafından tanıtılmıştır. Timpanik membranda, orta kulak boşluğunda ossiküler zincirde ve mastoid kemikteki anormal bir durumdur. Orta kulak mukozasındaki kronik otitler sonunda meydana gelen sklerotik değişiklikleri ise ilk tanımlayan Von Troeltsch olmuştur. Hastalığı bu günkü anlamda ilk tanımlayan ise Politzer olmuştur.

Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda hyalin dejenerasyon ile kollajen dokuda değişimler olduğu, hücrelerin azaldığı veya kaybolduğu gösterilmiştir. Hyalinden başka doku içinde kalker birikimleri olduğu da saptanmıştır. İlk olarak Zollner ve Chang 1969'da timpanosklerozun histopatolojisini elektron mikroskopla incelemiştir (6).

Timpanoskleroz eğer sadece timpanik membranı etkiliyorsa buna "miringoskleroz" denir. Miringosklerozun tek başına olması timpanosklerozdan daha yaygındır ve %24-51 oranında kronik otitis mediada izlenebilir .

Miringoskleroz her yaşta oluşabilir. Miller ; İki yaşındaki bir çocukta olgu bildirmiştir (9,13) . Çocuklardaki en yüksek insidens artışı bu yaşlardaki sekretuar otitis media ve beraberinde ventilasyon tüpü takılmasına bağlıdır (12). Tos ve arkadaşları 222 efüzyonlu otitli tedavi edilmemiş çocuklarda yaptıkları çalışmada %5.4 skleroz bulmuşlardır. Aynı serideki hastalarda 7 yaşına ulaşanlarda miringoskleroz %8.6 bulunmuştur (2). Tos ve Poulsen'in 527 kulakta yaptıkları çalışmada grommet tüp çıktıktan 6 ay ve 1 yıl sonra sklerozun %49'a çıktığı belirtilmiştir (3). Böylece miringosklerozun dinamik bir davranış gösterdiği belirtilmiştir. Moller bu dinamik davranışı miringosklerotik timpanik membranları elektron mikroskopta incelemiştir. Fibrosit gibi hücrelerin sklerotik alanları istila ettiğini bazı vakalarda fibril yaptığını gözlemlemiştir (12,14). Tüp yerleştirilmesinden sonra timpanik membrandaki sklerotik plaklara rastlama sıklığının %40-50'den fazla olduğunu bildiren pek çok çalışma yapılmıştır. Tüp takılmaksızın rekürren otitis media öyküsü olanlarda bu oran daha yüksek oranlarda da beklenebilir (6). Çocuklarda ventilasyon tüpü takılanlarda Wielinga ve Kerr %28-61 oranında bildirmişlerdir (9,12). Buna karşın Kinney 30 yaş üzerindeki erişkinlerin, 20 yılın üzerinde orta kulak hastalığı olanlarda miringosklerozun %90 gözlenebileceğini bildirmiştir (9,15).

Hastalığın etiolojisi ve patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Genellikle enflamasyon iyileşmesine veya rekürren otitis mediayı takiben skar dokusu oluşumuna bağlı izlenmektedir .

Mac Kinnon kulak zarındaki timpanosklerotik değişiklikler için “Hyalinosis” deyimini kullanmıştır (6,16) .

Hyalinosis ya da kulak zarı timpanoskleroza genellikle kulak zarı ön kadranında, bundan da daha az sıklıkla arka alt kadranda yerleşir. Bazı olgularda ise at nalı biçimindeki hyalinosislerde 5-7 yıl sonra azda olsa bir işitme kaybının ortaya çıktığı bildirilmiştir(6,10). Başlangıç aşamalarında sklerotik materyal peynir gibi kitlelerden oluşur ve daha sonraki aşamalarda sertleşir, ileri evrede kemiğe benzer materyal halini alır. Tek başına miringoskleroz asemptomatik veya işitme kaybı pek meydana getirmese de epitimpanik yerleşimli promontoryumda lokalize plaklar artan işitme kaybına yol açabilir. Geniş alan tutan plaklar veya kemik anulus yakınlarında malleus koluna bitişik zar hareketini büyük ölçüde azaltan durumlar da fark edilebilir. Tos ve Poulsen çocuklarda konuşma odyometrisi yapmışlardır ve daha önce efüzyonlu otitis media tedavisi için ventilasyon tüpü takılan ve sağlam pars tensalı kulaklar arasında konuşmayı alma eşiğinin aynı olduğunu bulmuşlardır (12,17). Yine Tos ve Stangerup normal ve miringosklerotik kulaklar arasında 250,1000 ve 4000 Hz frekanslarda ortalama maksimum 1 dB fark bulmuşlardır (3). Kronik otitis medialı kimselerde miringoskleroz oluşumu orta kulakta yaygın bir hastalığı gösterebilir (12). Hastalığın kesin küratif bir tedavisi yoktur. Cerrahi tedavi sonrasında rekkürrensler sık görülür. Ayrıca iatrojenik sensörinöral işitme kaybı gelişebileceği de unutulmamalıdır. Bu tip hastalara işitme cihazları en çok yardımcı olacak araçlardır(9,18).

Miringoskleroz patogenezi hakkında bazı teoriler ortaya atılmıştır:

1. Postinflamatuvar

Uzun süreli seröz veya pürülan orta kulak iltihabı sonrası oluşabilir. Pek çok otör üç aşamalı olarak teoriyi ileri sürmüşlerdir. Başlangıçta geri dönüşümlü aşamada inflamatuvar eksuda kollajen fibrillerin yapısını bozar ve eksuda orta kulakta organize olur (9,19) ya da granülasyon dokusu oluşumu rekürrens veya uzun süreli inflamasyona yol açabilir (9,20). Geri dönüşümsüz aşamada fibroblastların aktivitesinin artışı kollajen yapımına yol açar ve hyalin kitlelerin oluşmasına, invazyona neden olur. Son aşamada da kalsifikasyon veya ossifikasyon yer alır.

2. Efüzyonlu Otitis Media

Postinflamatuar faktörler, uzun süreli efüzyon, ödemle birlikte submukozal ve fibröz tabakada dejenerasyona yol açar (9,13). Bu hasarla bazı faktörler, lamina propria fibröz tabakada kollajen fibrillerin bozulmasına neden olurlar(21). İkinci neden de seröz sıvıda direkt hidrolitik enzimlerin aktivasyonu lamina propriada hasar yapabilir (9,22). Üçüncü bir faktör hem travmatik etki hem de uzun süreli bası etkisiyle kulak zarında retraksiyon oluşumudur (9,23). Efüzyonun viskozitesinin yüksek olması, parasentez sırasındaki travma, kulak zarı içerisine kanama, tüp yerleştirilmesi sonrasında da intraepitelial hemoraji fibroz olarak iyileşebilir (9,24) ve havalanmanın meydana getirdiği mekanik etki ile ventilasyon tüpünün kitlesi miringoskleroz gelişmesinde suçlanmışlardır (6).

Patolojik değişiklikler kulak zarının lamina propriasında meydana gelir; mikroskopik olarak lamina propriada kollajen fibriller ile iç içe geçmiş yoğun sklerotik ağ halinde düzensiz fibriller bulunur. Dejenerasyon fibril kaybıyla meydana gelir ve kalsiyum depositi amorf hyalin görünümü ile sonuçlanır. Elektron mikroskopisi kalsifikasyonu fibroblastların mitokondri ve lizozomlarında gösterir. Daha sonra ekstraselüler hale gelir ve konnektif dokuyu çevreleyen kalkosferik yapı oluştururlar. Bu kalkosferler genişleyerek amorf hyalin kitleleri oluştururlar ve klinik olarak tebeşirsi yamalar halinde görünürler (9) .

3. Otoimmün Faktörler

Miringoskleroz patogenezinde var sayılan bu teoriye göre de; Bir önceki inflamatuvar epizot tarafından sensitize olan bir kulakta otitis media sonrası immun kompleks reaksiyonuyla miringoskleroz oluşur. Enfeksiyon timpanik membran lamina propriasında otolitik enzim üretimine yol açarak ödem, gerginlik ve temel madde hasarı oluşturur. Bu bozuk ürünler dokularda öncesinde duyarlılık yapan antijenik stimulan olarak rol oynamaktadırlar (9,16,25,26). Sonraki enfeksiyonda immun yanıt olarak kompleman yer alacaktır. Ancak Miller ve Nilsen elektron mikroskopik çalışmalarda antikör yanıtları bulamamışlardır (9,12) .

Kolesteatoma ve miringoskleroz birlikteliği literatürde çok tartışılmıştır. İkisi arasında negatif birliktelik olduğu , bir hastalığın diğerinden daha fazla izlendiği çelişkili görülmektedir . Pek çok otör ise her iki hastalığın daha çok tesadüfen bir arada olduğuna inanmaktadırlar (9,27).

Sonuç olarak miringoskleroz; Orta kulak efüzyonların tedavisi için ventilasyon tüpü takılmasından sonra sıklıkla görülür. Ancak Moeller'e göre miringoskleroz dinamik bir süreçtir ve sadece ventilasyon tüpü takılması ile değil kronik infeksiyonlardan sonra da ortaya çıkabilir. Kulak zarında meydana gelen ince skar dokusu kulak zarında atrofi olarak ortaya çıkar. Kalın skarlar ise miringosklerotik odakları yapar. Miringosklerotik odak genellikle tek plak olarak ön kadranda yerleşmiştir. İki plak halinde ise ön ve arka kadrantlardadır. Daha sıklıkla açıklığı yukarı bakan at nalı biçiminde odaklara rastlanır. Odakların gelişmesinde tüpün bir kez veya birkaç kez takılması arasında farklılık bulunmamıştır. Uzun süre kalan ventilasyon tüplerinde miringoskleroza rastlanma sıklığı artar. Ventilasyon tüpü takılmasından sonra kulak akıntısı görülmesi miringoskleroz gelişme olasılığını artırır (9).

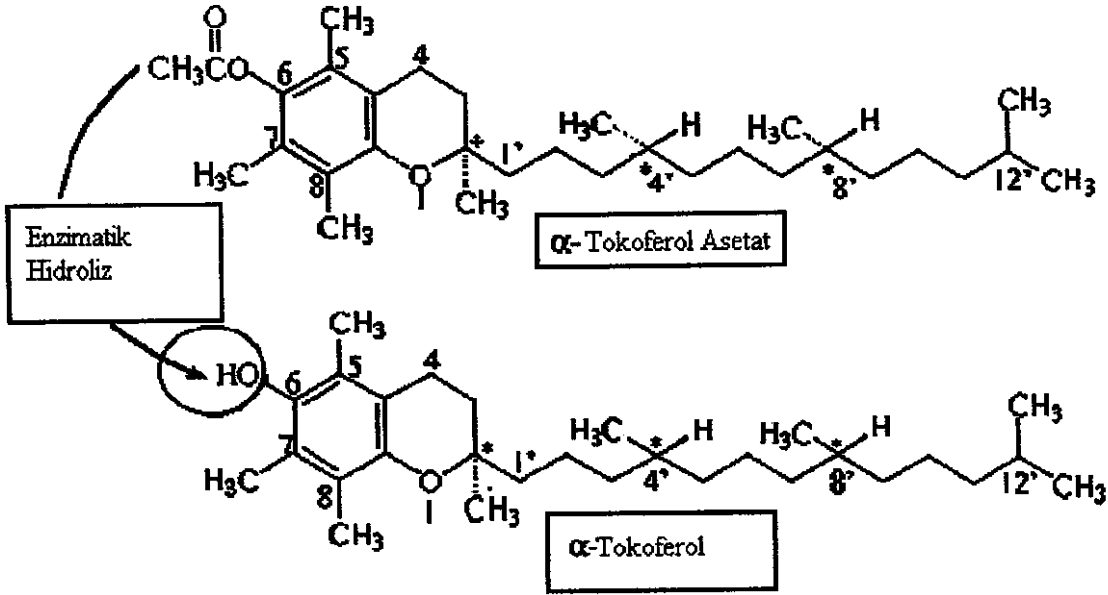
Miringosklerozda teşhis otoskopik muayene ile konulabilir. Kulak zarının mobilitesini etkileyen veya greftin iyileşmesini engelleyen durumlarda sklerotik plakların kaldırılması gerekir (9,12).

C - VİTAMİN E

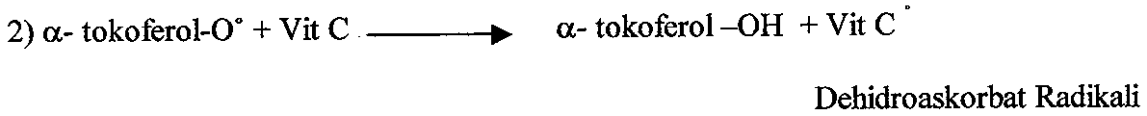
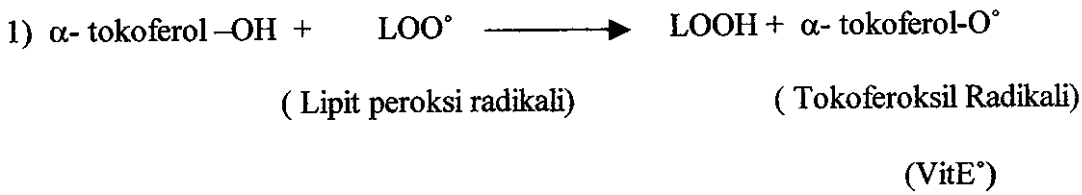
E vitamini tokoferol familyasının genel adıdır.

Membranlara bağlı en önemli antioksidan olan E vitamini , biyolojik sistemlerde lipit tabakalarda çözünmüş olarak bulunur. Özellikle bitkisel yağlar ve tohumlarda (yer fıstığı , badem , pamuk , keten gibi) bol miktarda bulunan tokoferoller diyetle alındıktan sonra lipoproteinlerin yapısında taşıyıcılar ve dokulara verilirler. En çok LDL'de bulunurlar ve onu oksidasyondan korur. Yapısal olarak birbiriyle bağlantılı bir grup bileşiği kapsar (Şekil 1). Fonksiyonel grup fenolik OH grubu ile kroman halkadır. Kroman halka sistemi antioksidan özelliği ve polariteyi sağlar. Yan zincir molekülün lipofilik özelliğinden sorumludur ve doğal α -tokoferollerin membranda kalmasını sağlar(28).

Şekil-1



E vitamini, membranlarda düşük konsantrasyonlarda bulunan çok güçlü bir antioksidandır. Bu etkisini yüksek pO₂ seviyelerinde daha fazla gösterir. Vitamin E zincir kırıcı etkisi ile antioksidan özelliğini gösterir. Yani oksidatif etki sonucu başlayan oksidasyon zincir reaksiyonunu belli bir noktastan keserek (kırarak) oksidan etkiyi bertaraf eder .



Tokoferoksil ve dehidroaskorbat radikalleri hem etkin bir radikal değildir hem de stabil olmadıkları için kolaylıkla nötrale edilebilirler.

Gıdalarda en çok α-tokoferol formu mevcuttur. Yağ sindirimi sırasında açığa çıkar ve emilir. Endojen ve eksojen antioksidan olarak hücrel ve subsellüler

membranların bütünlüğünün korunması α -tokoferol'un başlıca fonksiyonlarından biridir.

Vitamin E yanında derideki antioksidan savunma mekanizmaları arasında, ubikinon, vitamin C, glutatyon, katalaz , superoksit dismutaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz sayılabilir. Lipit peroksidasyonunu önleyen ve oluştuğunda nötralize eden zincir kırıcı en güçlü antioksidan E vitamindir. Hücre membranlarında vit E ve glutatyon peroksidaz birbirini tamamlayıcı etki gösterirler. Vitamin E lipid radikalini lipid peroksitlerine dönüştürürken glutatyon peroksidaz ise lipid peroksitini ve diğer organik peroksitleri ortadan kaldırarak oksidasyon zincir reaksiyonunun kesilmesini sağlar; böylece yeni radikallerin oluşmasını engeller. Ancak bu moleküllerin varlığı , stabilitesi ve etkinliği için vit C ,glutatyon ve selenyum gereklidir. E vitamini selenyum metabolizmasında da önemli rol oynar. Selenyumun organizmadan kaybını önleyerek onu aktif şekilde tutar ve ihtiyacını azaltır (28). Selenyum ise normal pankreas fonksiyonu, vitamin E , lipidlerin emilimi ve antioksidaz enzim aktiviteleri için (glutatyon peroksidaz) gereklidir.

α -tokoferol dokularda eksojen orijinli majör lipofilik antioksidandır ve antioksidan korumayı arttırmak için topikal kullanımı çok yaygındır. α -tokoferol asetat ise oksijen varlığında stabilizasyonu için sık kullanılan bir prodrugtur. Bir prodrug kullanıldıktan sonra dağılıp farmokolojik aktif moleküle biotransformasyona uğrayan kimyasal bileşiktir. Asetat formu antioksidan aktiviteye cevap vermeyen kimyasal ester olarak enzimatik hidrolizle hazırlanır. Bu yolla serbest α -tokoferol salınır. Terapötik etkinlikleri topikal kullanılan α -tokoferol esterlerin uygulama bölgesinin metabolizmasına bağlı olabilir. Keza cilde uygulanan piyasada yaygın form vitamin E , α -tokoferol asetatıdır (29). Fare derilerinde α -tokoferol asetatın kutanöz metabolizmayla α -tokoferole dönüştüğü gösterilmiştir (30).

Vitamin E, serbest radikallerin oluşumunda peroksitlerin sentezini engeller. Ayrıca bu vitaminin immun sistem fonksiyonlarını düzenlediği, hem humoral hem de hücrel immuniteyi güçlendirdiği bilinmektedir. Eritrositlerde membran stabilizasyonu için esansiyel olan Vitamin E hemolizi ve oksidatif hasarı önlediği, topikal veya

sistemik verilen E vitamininin yara iyileşmesini hızlandırdığı epitel rejenerasyonunu artırıp bağ doku oluşumunu önemli oranda azalttığı tespit edilmiştir (5).

D - SERBEST RADİKALLER

Bir veya birden çok çiftlenmemiş elektron taşıyan atom veya molekül “serbest radikal” olarak tanımlanır (31,32). Bu atom veya molekül çiftlenmemiş elektronunu başka bir moleküle vererek veya başka bir molekülden elektron alarak daha stabil hale gelme eğilimindedir. Bu nedenle oldukça reaktiftirler ve yarı ömürleri çok kısadır. Elektriksel olarak pozitif, negatif veya nötr olabilirler (A, A^-, A^+ gibi) .

Bütün canlılarda metabolik işlemler sırasında normal hücresel reaksiyonların yan ürünü olarak serbest radikaller üretilmektedir. Bunlar hücrenin farklı yerlerindeki metabolizma sonucu farklı derecede radikal oluşumuna katılmaktadır. Serbest oksijen radikalleri doğal biyolojik işlemler sırasında oluştukları gibi organizmada hastalık oluşturabilecek veya yabancı madde etkisi gösterebilecek maddeler alınca da çeşitli miktarlarda oluşabilirler.

Biyolojik sistemlerle ilgili serbest radikaller genellikle oksijen radikalleridir. Özellikle DNA, lipitler ve proteinler serbest oksijen radikalleri için hedef bölgelerdir. DNA’lardaki oksidasyon etkisiyle hücre ölümü veya mutasyonlar oluşabilir; Hücre membranındaki lipitlerin oksidasyonu ile lipit peroksidasyonu oluşur. Doymamış yağ asitlerinin kaybı gerçekleşerek biyolojik membranların geçirgenliği etkilenir, bütünlüğü bozulur. Proteinler ise agregasyona uğrayabilir, parçalanıp kırılabilirler. Böylece biyokimyasal fonksiyonları bozulabilir. Oksijen radikalleri toksik etkilerini daha çok doku travmaları ve ameliyat gibi doku zedelenmelerini izleyen dönemlerde gösterirler. Bu sırada hücrede serbest radikal üretimi çok yüksek ve antioksidan savunma sistemleri yetersiz olduğundan ciddi doku zedelenmesi görülebilir. Ayrıca kalsiyum dengesini Ca ATP az enzimini inaktive ederek bozabildikleri öne sürülmektedir. Hücre dışı komponentlerden en fazla etkilenenler ise kollajen ve hyalüronik asittir. Kollajen harabiyeti, depolimerizasyon oluşabilmektedir (31,32,33) .

Serbest radikaller kendileriyle reaksiyona giren molekülleri de serbest radikallere dönüştürerek hasar zincirinin yayılmasını sağlar ve böylece otokatalitik reaksiyonları başlatırlar.

Serbest Radikallerin Kaynakları

1. Endojen

- Fagositler
- Mitokondrial elektron taşıma sistemi
- Mikrozomal elektron taşıma sistemi
- Ksantin oksidaz
- Araşidonik asit metabolizması
- Endojen ve eksojen substratların otooksidasyonu
- Geçiş metalleri

2. Eksojen

- Radyasyon
- Hava kirliliği
- Sigara dumanı
- Hiperoksik çevre
- Farmakolojik etmenler (32)

Biyolojik sistemlerdeki başlıca serbest radikaller ; oksijenden türeyenlerdir ve serbest oksijen radikalleri ile reaktif oksijen türlerini içerirler. Aerobik metabolizma sırasında oksijenin eksik indirgenmesine bağlı veya elektronlarının farklı spinlerde yerleşmesine bağlı çeşitli oksijen radikalleri meydana gelmektedir :

a) Süperoksit anyon radikali(O_2^{\ominus})

Aerobik hücrelerde oksijenin 1 elektron alarak indirgenmesi sonucu, serbest süperoksit radikal anyonu meydana gelir.

Süperoksit anyon radikali sulu çözeltilerde askorbik asit ve tiyoller gibi molekülleri okside eder, sitokrom c ve Fe^{3+} -EDTA gibi demir komplekslerini ise

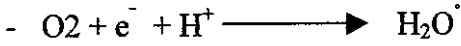
indirger. Ancak süperoksitin asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır.



Sulu çözeltilerde dismutasyon reaksiyonu ile hidrojen peroksit oluşturulur. Süperoksit anyon radikali H^+ alarak perhidroksi radikali (HO_2) hidrojen peroksit ile tepkimeye girerek hidroksi radikal ve singlet oksijen (O_2) oluşturabilir. Oluşan bu radikaller süperoksitin kendisinden çok daha reaktif ve toksiktir (34).

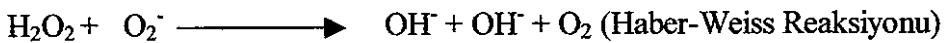
b) Hidroperoksil Radikali (HO_2^{\cdot})

Oksijenin eksik indirgenmiş ürünlerinden birisidir. Kuvvetli bir radikaldir ve süperoksit radikalinden daha güçlü redüktandır; ancak $\text{pH}=7.40$ 'da çok az miktarda bulunup stabilitesi düşüktür. Süperoksit radikaline dönüşür.



c) Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Süperoksit radikali üreten sistemler (ürat oksidaz, D-aminoasit oksidaz, glikoz oksidaz gibi) hidrojen peroksit üretirler. Süperoksit radikalinin spontan veya süperoksit dismutaz ile katalizlenen reaksiyonla veya moleküller oksijenden iki elektron alması ile meydana gelir. Membranlardan kolayca difüze olan H_2O_2 hem zayıf oksidan hem de zayıf redüktan gibi davranabilir. Yarı ömrü oldukça kısadır. Demir, bakır gibi geçiş metallerin varlığında süperoksit radikali ile reaksiyona girer ve bilinen en etkin oksidan ajan olan Hidroksil radikalini (HO^{\cdot}) oluşturur.

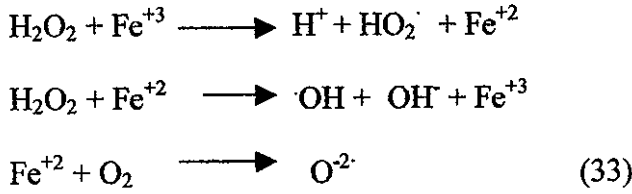


Haber-Weiss reaksiyonu lipid peroksidasyonunun başlamasında en önemli basamaktır (34).

d) Hidroksil Radikali (OH)

Son derece reaktif bir oksijen radikalidir ve çok kuvvetli bir oksidandır. Yarılanma ömrü oldukça kısadır. Hücrelerde poliansatüre yağ asitleri, proteinler, nükleik asitler ve karbohidratlar gibi moleküllerle reaksiyona girerek okside eder. Hem yeni birçok radikalın oluşmasına hem de hücrenin harabiyetine neden olur .

Hidroksil radikali “fenton reaksiyonu” diye tarif edilen hidrojen peroksinin geçiş metallere varlığında indirgenmesiyle meydana gelebilir:



e) Singlet Oksijen (O_2)

Oksijenin elektronlarından birinin yüksek enerji olarak kendi spinini ters yönde dönen başka orbitale yer değiştirmesi ile oluşmuştur. Diğer radikaller gibi çiftlenmemiş elektronları yoktur. Lipid peroksidasyonu ve serbest radikal zincir reaksiyonlarının tetikleyicisi olabilir veya bu reaksiyonlar sonunda meydana gelebilir(34).

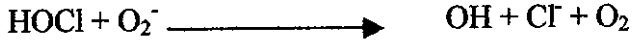
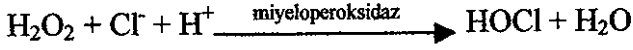
Serbest oksijen radikallerinin ve reaktif oksijen türlerinin lipid, protein, karbonhidrat ve nükleik asitler gibi organik moleküllere etkisi sonucu karbon merkezli radikaller ($\text{R}\cdot$), peroksi radikalleri ($\text{ROO}\cdot$), alkoksi radikalleri ($\text{RO}\cdot$), tiyol radikalleri ($\text{RS}\cdot$) oluşabilir (34).

f) Azot oksitleri

Nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$) ve azot dioksit ($\text{NO}_2\cdot$) çiftlenmemiş elektron taşırlar. azot dioksit kahverengi zehirli gaz diye bilinir ve kuvvetli bir oksidandır .

g) Hipokloröz asit

HOCl , kuvvetli bir oksidandır. Aktifleşmiş nötrofillerde oluşturulur. Fagosit sitoplazmasında aşağıdaki reaksiyon meydana gelir :



E - ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

1. Endojen

- Enzimatik Antioksidanlar

. Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi

. Süperoksit dismutaz, Katalaz, Glutasyon peroksidaz, Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz, Glutasyon -S- transferaz, Glutasyon reduktaz

-Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

(a) Lipit fazda olanlar

Tokoferol (Vitamin E), Karoten

(b) Sıvı fazda olanlar

α -Glutasyon, β -Askorbik Asit

(c) Diğer

Ürat, Sistein, Seruloplazmin, Transferin, Laktoferrin, Myoglobin

Hemoglobin, Ferritin, Metionin, Albumin, Bilirubin

2. Eksojen

- Besinlerdeki doğal antioksidanlar

Vitamin A, C, E ve Beta-karoten

- Besinlere eklenen antioksidanlar

BHT (Bütilat hidroksitoluen), BHT (Bütilat hidroksianisol)

Sodyum benzoat, Etoksikuin, Propil galat, Fe-süperoksit dismutaz

- Diğer antioksidanlar (Farmakolojik)

Beta-bloker, Kalsiyum kanal blokerleri, Desferioksamin

F – TİMPANİK MEMBRANDA YARA İYİLEŞMESİ

f.1. Primer Yara İyileşmesi

Temiz , doku kaybı olmayan dokularda yara iyileşmesi basamakları :

1. gün; Nötrofiller fibrin pıhtı içine göç eder . Epidermisin bazal hücrelerinin mitotik aktivitesi artar.
- 2 –3. gün; Nötrofiller yerini makrofaj ve granülasyon dokusuna bırakır . Yara kenarında kollajen lifler belirgindir , köprü yapabilir .
- 4–5. gün; Neovaskülarizasyon(onarım alanında bulunan damarların tomurcuklanması ile yeni damarların oluşumu) en üst düzeye çıkar .
2. hafta; Kollajen birikimi ve fibroblast proliferasyonu sürer. Lökosit infiltrasyonu, ödem , artan vaskülarite giderek azalır .
- 1 .ay ; Yara bölgesi normal epidermisle örtülür.

İyileşme ilerledikçe proliferatif fibroblastlar ve yeni damarların sayısı azalır. Kollajen yapımı yara alanının gücünün gelişiminde önemlidir. Fibroblastlar tarafından kollajen yapımı, yara iyileşmesinde 3-5.günde başlar (35).

f .2. Akut Perforasyonların İyileşmesi

Perforasyonu takiben doku bazı aşamalarla iyileşmeye başlar. Bunlar arka arkaya olan evrelerdir : Hemostaz, inflamasyon, proliferasyon, yeniden yapılanma ve kontraksiyon .

Başlangıçta trombositler yara bölgesine üşüşür ve hücrel debrisle temas ederler. Bir trombüs oluşur. Vazokonstrüksiyonla hemostaz meydana gelir. Bu ilk birkaç saat sonrası, vasküler permeabilite artar. Yara bölgesinde nötrofil, makrofaj ve sitokin infiltrasyonu olur. Takiben diğer plazma komponentleri bakteriyel kontaminasyonu önlemek için, yardım eder ve yara matriksi fibrinden glikozaminoglikanlara ve proteoglikanlara dönüşür.Bu, deride ve diğer dokularda kollajen ve fibroblast proliferasyon aşamasını başlatır. Deri dokularında, bu çapraz bağlı kollajen matriksi; epitelial örtünün halı gibi olmasını sağlar. Skuamoz epitel tabakası başlangıçta yara yerinde bir köprü oluşturur. Sonra bunu fibröz komponent

oluşumu takip eder. Başlangıçta timpanik membran kalın görünür ama 2. haftadan sonra inceler. Timpanik membranda epitelial migrasyon, periferdeki yoğun mitotik aktiviteli bölgeden yarıya doğru özellik gösterir. Mitotik aktivite, yara kenarı etrafında daha geç oluşur ve daha az yoğunlukta bulunur (36).

Epitelial hiperplazi yarayı çevreler, keratin çıkıntı hiperplastik skuamoz tabaka tarafından üretilir. Keratin de perforasyonu primer kapatır. Epitelial tabaka kalıntısıyla perforasyon kapatılır .

İyileşmeyi Etkileyen Faktörler

Çoğu timpanik membran perforasyonları spontan iyileşebilir. Bununla birlikte iyileşmeyi etkileyen faktörler :

- 1 – İnfeksiyon ; Nekroz epitelial tabakayı inhibe edebilir. Kronik perforasyona yol açabilir.
- 2 – Travma ; Su sporları gibi sürekli suya maruz kalma iyileşmeyi zorlar.Yanık, hava basıncı, künt travma gibi faktörler de sayılabilir.
- 3 – Perforasyon Büyüklüğü ; geniş ve santral, böbrek şeklinde perforasyonlar zor iyileşir.
- 4 – Yaş ; hücre yenilenmesi ilerleyen yaşla birlikte yavaşlar .
- 5 – Beslenme ve İmmun Sistem ; Vitamin C eksikliği, immün sistem bozuklukları iyileşmeyi geciktirir.
- 6 – Topikal Steroid Kullanımı ; Fibrozis oluşarak kötü yara direncine neden olur.
- 7 – Yabancı Cisimler (35,36).

MATERYAL VE METOD

A. Deney Hayvanları

Bu çalışma toplam 13 adet Sprague-Dawley cinsi, ortalama vücut ağırlıkları 220–320 gram olan 12 haftalık 7 erkek, 6 dişi rat üzerinde gerçekleştirildi. Ratlar Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nde 20-24°C ' de 12'şer saatlik ışık-karanlık siklusünde özel kafeslerde barındırıldı. Samsun Yem Fabrikası'ndan temin edilen rat yemleri ile beslendi. Su ihtiyaçlarında normal şehir suyu kullanıldı. Kafeslerin bakımı, temizliği haftada 3 defa yapıldı .

B. Deney Prosedürü

1. Anestezi

Çalışmada kullanılan ratlara vücut ağırlığına göre 50 mg/kg ketamin HCl (Ketalar, Eczacıbaşı/Türkiye) intramüsküler verilerek spontan solunum altında yaklaşık 30-40 dakikalık anestezi sağlandı.

2. Yapılan İşlem

Otomikroskopik inceleme amacıyla Zeiss OPMI 99 (Germany) cerrahi mikroskop kullanılarak ratların her birinin sırası ile önce sağ sonra sol kulaklarına 3 mm çaplı politzer kulak spekulumü yerleştirildi. Dış kulak yolları ve timpanik membranları muayene edildi.Dış kulak yollarındaki buşon ya da yabancı maddeler aspire edilerek kulak zarları ortaya kondu .

Timpanik membranları intakt olan ratlara steril şartlarda miringotomi bıçağı ile otomikroskop altında posterosuperior kadranlarında standart 2 mm'lik perforasyon oluşturuldu. Aynı işlem karşı kulaklara da yapıldı. Perforasyon oluşturulduktan sonra deney grubu olan 7 ratın her iki kulaklarına, kulak zarlarının yüzeylerini kaplayacak şekilde topikal alfa-tokoferol asetat (Abdi İbrahim, İstanbul/Türkiye) uygulandı. Kontrol grubu olan 6 ratın her iki kulak posterosuperior kadranlarına perforasyon yapılarak takibe alındı. Operasyon sonrası tüm ratlara proflaktik antibiyotik olarak 50 mg/kg /gün ampisilin- sulbaktam tek doz intramüsküler olarak 7 gün süre ile uygulandı.

3. Takip

Çalışmaya dahil edilen ratların timpanik membranları 1., 3., 5., 7., 9., 11., 13., 15., 18. ve 21. günlerde otomikroskopik olarak değerlendirildi. Kulak zarları perforasyonları ve üzerindeki değişiklikler gözlemlendi. Tüm ratların kulak zarı perforasyonları kapandıktan 1 hafta sonra hepsi eter anestezisini takiben dekapite edildi. Her iki temporal kemikleri diseksiyonla çıkarılarak histopatolojik incelemeye alındı .

C. Parametreler

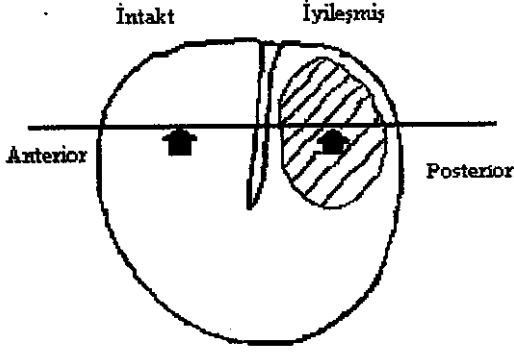
1. Otomikroskopik Değerlendirme Parametreleri

Otomikroskopik muayene sırasında kulak zarlarındaki perforasyonların kapanma süreleri ölçüldü. Kulak zarlarındaki sklerotik değişiklikler, enfeksiyon, otore varlığı araştırıldı .

2. Histopatolojik Değerlendirme Parametreleri

Histopatolojik inceleme için ; Postoperatif 21.günde sakrifiye edilen Sprague-Dawley ratların perfore edilen her iki timpanik membranları temporal kemiklerle birlikte Zeiss OPMI 99 mikroskop altında çıkarıldı. Temporal kemik ve timpanik membranlar %10'luk formaldehit solüsyonunda 24 saat fikse edildi . Ertesi gün tüm spesimenler % 5 formaldehit içeren %10'luk formik asitli dekalsifikasyon solüsyonuna konuldu ve 7 gün süre ile dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyon sonrası, operasyon mikroskobu altında timpanik membranlara zarar vermeksizin timpanik membranlar

kemik anulustan ayrıldılar . Timpanik membranlar manubrium malleiye dik doğrultuda perforasyon alanından geçecek şekilde bisturi ile ikiye bölündü . Şekil – 2’de uygulanan işlem yerleri gösterilmiştir:



Şekil - 2

Dokular rutin alkol- xylol takibinden sonra her iki parça kesit yüzeyi üzerine yatırılarak parafin bloklara gömüldü . Parafin bloklardan tam otomatik mikrotom (Leica RM 2155) ile 5µm. kalınlığında doku kesitleri alındı. Alınan kesitler hematoksil-eozin ve masson-trikrom ile boyandı. Masson-trikrom boya lamina propriadaki bağ dokusunu daha iyi göstermek amacıyla kullanıldı. Preparatlar Olympus marka (BX-50, Olympus Optical ,Japan) ışık mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekildi.

Her iki gruptaki ratlara ait timpanik membranların total kalınlığı ve epitel tabaka kalınlığı ölçüldü. Ölçümlerde oküler mikrometre kullanıldı. Tüm ölçümler 400X büyütmede yapıldı ve sonuçlar mikrometre (µm) cinsinden değerlendirildi. Timpanik membranlar ayrıca; Fibroblastik aktivite, polimorf nüveli lökosit (PNL) dağılımı, vasküler proliferasyon (neovaskülarizasyon) ve skleroz açısından değerlendirildiler. Bu parametrelerin her biri; Yok (-), Hafif (+), Orta (++), Şiddetli (+++), olarak değerlendirildi.

D . İstatistiksel Yöntem

Bu çalışmada ölçümle elde edilen verilerin karşılaştırılmasında gruplar arasında anlamlı farklılıklar Windows SPSS istatistik paketi kullanılarak Mann Whitney U testi ile , sayımla elde edilen verilerin karşılaştırılmasında ise kikare testi ile değerlendirildi. Gözlenen değer 5'in altında olduğunda ise Fisher kesin kikare testi kullanıldı. Ölçümle elde edilen veriler aritmetik ortalama \pm standart sapma ,sayımla elde edilen veriler ise sayı (%) olarak gösterildi. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı .

BULGULAR

1- Otomikroskopik Değerlendirme

Otomikroskopik değerlendirme ile topikal α -tokoferol asetat uygulanan grup ile kontrol grubunun kulak zarlarındaki perforasyon kapanma süreleri karşılaştırıldı. *Deney grubunda* 4 kulak zarının 6 günde, 1 kulak zarının 8 günde, 4 kulak zarının 10 günde, 3 kulak zarının 13 günde perforasyonlarının kapandığı gözlemlendi. *Kontrol grubunda* 1 kulak zarının 4 günde, 4 kulak zarının 13 günde, 1 kulak zarının 14 günde, 2 kulak zarının 15 günde, 1'er kulak zarında da 16,17,18,19 günde perforasyonların kapandığı izlendi. Ortalama perforasyon kapanma süreleri şöyle bulundu : Deney Grubu = 8.42 ± 3.09 gün (2 adet kulak zarı otomikroskopik takipten çıkarılmıştır.) Kontrol Grubu = 14.33 ± 3.89 gün P = 0.001. Deney ve Kontrol Grupları perforasyon kapanma süreleri arasındaki fark istatistiksel anlamlı idi.

Yaptığımız çalışmada 3 haftalık takip sonucunda otomikroskopik olarak kulak zarlarında deney ve kontrol gruplarında sklerotik alanlara rastlanmadı . Ayrıca deney ve kontrol gruplarının kulaklarında enfeksiyon bulgusu ve otoreye rastlanmazken; bazı deneklerde gözlenen kanama ve kurut aspirasyon ile temizlendi. Ancak deney grubuna ait 2 adet ratın birer kulakları perforasyon işlemlerinden sonra yapılan değerlendirmelerde, anatomik yapıların elverişsizliği nedeniyle otomikroskopik takipten çıkarıldı.

2- Histopatolojik Değerlendirme

Normal bir timpanik membranın histolojik ışık mikroskopik görüntüsü Resim-1' de gösterilmektedir.

2.1.Fibroblastik Aktivite

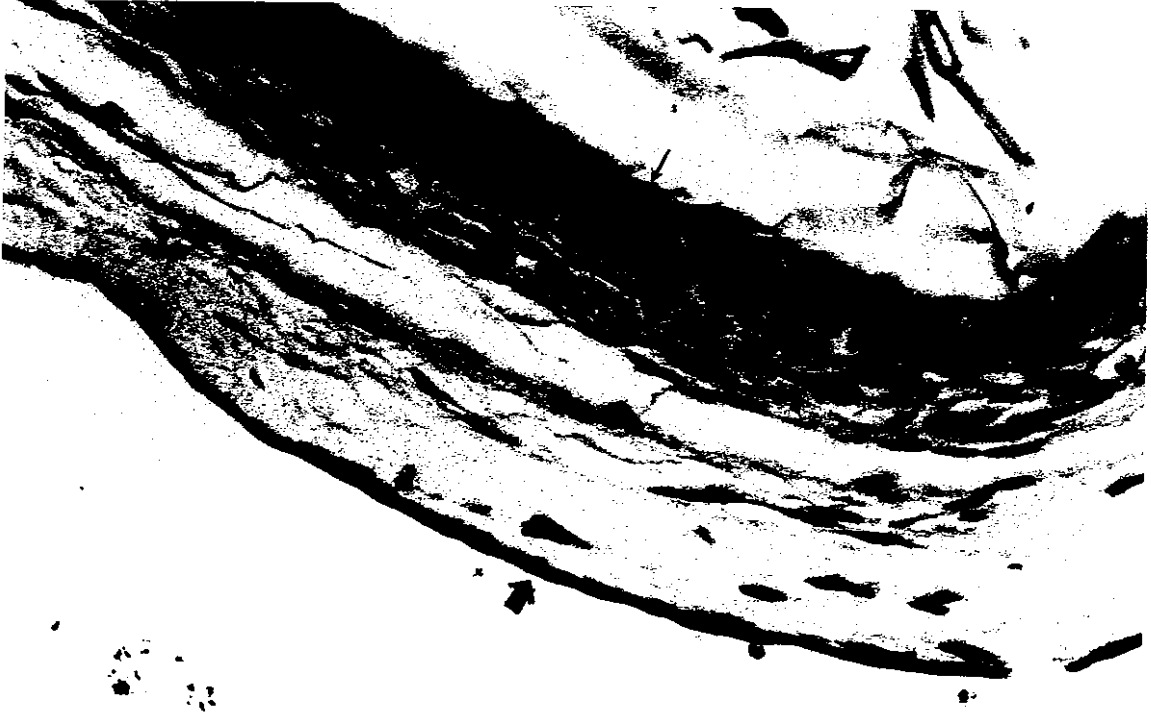
Histopatolojik olarak bütün ratlarda perforasyon bölgesinde lamina propria fibroblastik aktivite artışı vardı. Tablo 1'de deney ve kontrol grubu arasındaki fibroblastik aktivitenin derecesi karşılaştırıldı. Deney grubu Resim- 2'de gösterildi:

Tablo - 1

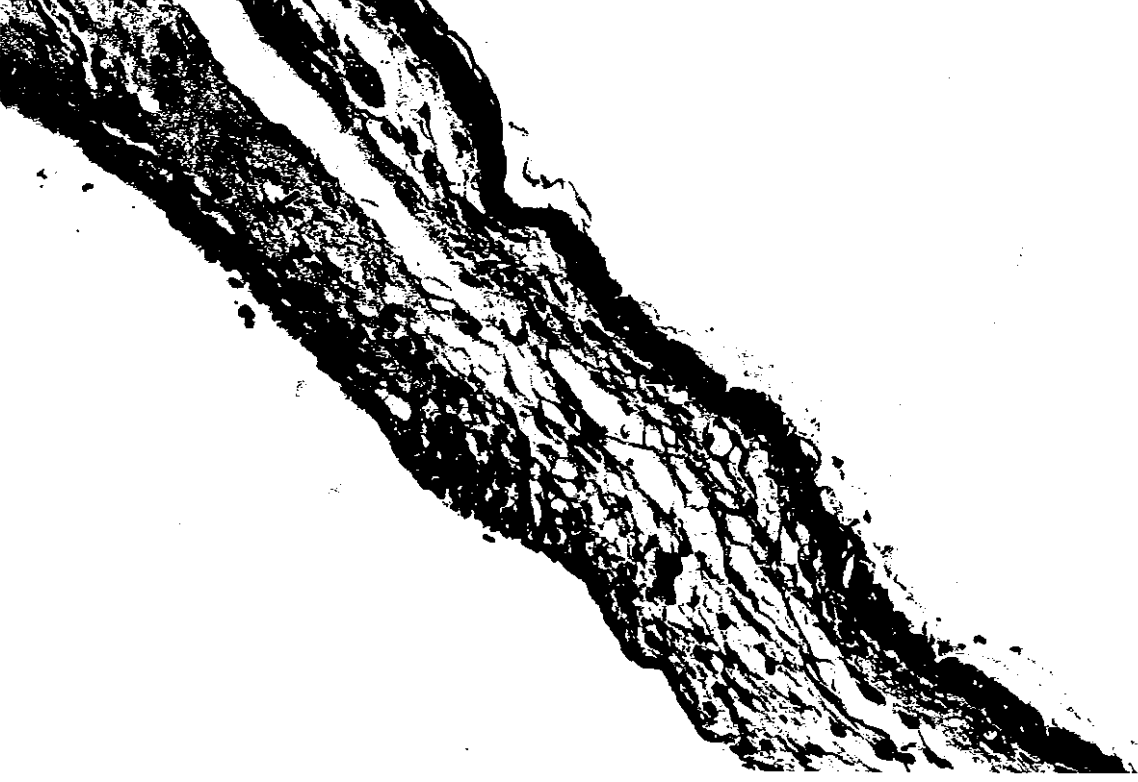
Fibroblastik Aktivite	Gruplar				Toplam	
	Deney		Kontrol		N	%
	N	%	n	%		
Orta	6	42.9	4	33.3	10	38.5
Şiddetli	8	57.1	8	66.7	16	61.5
Toplam	14	100	12	100	26	100

* $P= 0.701$

Deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı .



Resim 1:Normal timpanik membran . Keratinize çok katlı yassı epitel , lamina propria , içte tek katlı yassı epitel,hematoksilen-eozinle boyanmış izlenmektedir (X400)



Resim 2 : Deney grubu rat timpanik membranında , fibroblastik aktivitede artış izlenmektedir .Hematoksilen-eozin X 200



Resim 3:Deney grubu rat timpanik membranında ; Lamina propriada,bağ dokusunda hafif artış ve neovaskülarizasyonun belirgin artışı izlenmektedir . Hematoksilen-eozin X 200

2.2.Neovaskularizasyon

Histopatolojik olarak ratların timpanik membranlarında yara iyileşmesine bağlı neovaskularizasyon farklı derecelerde izlendi. Tablo-2’de deney ve kontrol grupları arasındaki neovaskularizasyon yüzdeleri gösterildi :

Tablo - 2

Neovaskularizasyon	Gruplar				Toplam	
	Deney		Kontrol		n	%
	n	%	n	%		
yok	1	7.1			1	3.8
hafif	9	64.3	5	41.7	14	53.8
orta	2	14.3	4	33.3	6	23.1
şiddetli	2	14.3	3	25	5	19.2
Toplam	14	100	12	100	26	100

*P= 1.00

Deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık bulunmadı. Resim-3’de ışık mikroskopik olarak deney grubundaki neovaskularizasyon gösterildi.

2.3. PNL (Polimorf Nüveli Lökosit)

Deney ve kontrol grupları arasında , polimorf nüveli lökositlerin varlığı yara iyileşmesini değerlendirmek amacıyla incelendi . Elde edilen veriler Tablo- 3’de gösterildi:

Tablo – 3

PNL	Gruplar				Toplam	
	Deney		Kontrol		n	%
	n	%	n	%		
Yok	11	78.6	5	41.7	16	61.5
Hafif	3	21.4	6	50.0	9	34.6
Orta			1	8.3	1	3.8
Toplam	14	100	12	100	26	100

* $P= 0.105$

İstatistiksel olarak deney ve kontrol grupları arasında PNL artışı açısından anlamlı farklılık tespit edilmedi.

2.4.Skleroz

Timpanik membranlar sklerotik değişiklik açısından değerlendirildiğinde, topikal alfa-tokoferol asetat uygulanan kulaklarda skleroza rastlanmadı. Tablo- 4’de kulak zarlarında sklerozun semikantitatif derecelendirilmesi belirtildi:

Tablo - 4

Skleroz	Gruplar				Toplam	
	Deney		Kontrol		n	%
	n	%	n	%		
Yok	14	100	3	25	17	65.4
Hafif			4	33.3	4	15.4
Orta			3	25.0	3	11.5
Şiddetli			2	16.7	2	7.7
Toplam	14	100	12	100	26	100

**P= 0.00*

Deney ve kontrol grupları aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Kontrol grubunda tespit edilen skleroz, timpanik zarların lamina propriasında fibröz tabakalarda bağ dokusunun belirgin artışı, Resim- 4'de hematoksilen-eozinle boyanarak gösterilmiştir. Resim- 5' te de masson-trikrom boyası ile bağ dokusundaki artış daha belirgin gösterilmiştir :



Resim 4: Kontrol grubu ; Lamina propriada bağ dokusunda belirgin artış izlenmektedir .Hematoksilen – eozin X 200



Resim 5: Kontrol grubu ; Lamina propriada bağ dokusunda belirgin artış izlenmektedir . Masson – trikrom X 200

2.5. Timpanik Membran Kalınlığı

Deney ve kontrol gruplarının timpanik membran kalınlıkları ölçümlerinin karşılaştırılması için yapılan Mann Whitney U testine göre aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. $P=0.164$ tespit edildi. Ortalama Timpanik Membran Kalınlıkları : Deney Grubu = $29.29 \pm 17.25 \mu\text{m}$, Kontrol Grubu = $37 \pm 17.46 \mu\text{m}$ olarak ölçüldü.

Epitel Kalınlığı

Deney ve kontrol gruplarına ait epitel kalınlıkları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi. $P=0.263$ tespit edildi. Ortalama Epitel Kalınlıkları : Deney Grubu = $2.96 \pm 0.97 \mu\text{m}$, Kontrol Grubu = $3.50 \pm 1.24 \mu\text{m}$ olarak ölçüldü.

Deney ve kontrol gruplarına ait veriler Tablo 5 ve Tablo' 6 da bir arada gösterildi :

Tablo -5

DENEY GRUBU HİSTOPATOLOJİK BULGULARI

Parametreler	Rat Numaraları													
	1		2		3		4		5		6		7	
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol
Fibroblastik Aktivite	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	++	++	+++	++	+++	++
Neovaskülarizasyon	+	+++	++	+++	+	++	+	+	+	+	+	-	+	+
PNL	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Skleroz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Epitel Kalınlığı (µm)	4	2.5	2	4	3	2	3	5	2	4	3	3	2	2
Kulak Zarı Kalınlığı (µm)	15	10	12	15	17	30	35	50	40	20	27	22	13	19

Tablo-6'da kontrol grubuna ait histopatolojik bulguların dökümü toplu olarak verilmiştir.

Tablo -6

KONTROL GRUBU HİSTOPATOLOJİK BULGULARI

Parametreler	Rat Numaraları												
	1		2		3		4		5		6		
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	Sağ	Sol	
Fibroblastik Aktivite	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
Neovaskülarizasyon	+++	++	+	++	+	+++	++	+	+++	+	++	+	
PNL	-	-	+	+	+	++	+	+	-	+	-	-	
Skleroz	++	+	-	+	-	+++	++	+++	-	++	+	+	
Epitel Kalınlığı (µm)	3	4	3	3	2	3	5	5	5	5	2	2	
Kulak Zarı Kalınlığı (µm)	35	25	50	64	3	17	60	32	50	40	35	33	

TARTIŞMA

Miringoskleroz; timpanik membranın kollajen tabakasında hyalinizasyon ve kalsifikasyon alanlarıyla karakterize; beyaz alanlar halinde izlenebilen; çeşitli nedenlerle bütünlüğü bozulmuş timpanik membranların iyileşmesi sonucu gelişen patolojik bir durumdur.

Yaygın bir otit sekeli olan miringoskleroz orijini hakkında pek çok hipotez ortaya atılmasına rağmen, gerçek etiolojisi ve patogenezi bilinmemektedir. Efüzyonlu otitis media tedavisinde, parasentez ve tüp tatbikinden sonra; kronik otitis medianın iyileşme periyodunda ya da timpanoplasti sonrası karşımıza çıkabilmektedir. Efüzyonlu otitis mediada tüp tatbikine mi veya hastalığın kendi inflamasyonuna mı bağlı olduğunu ayırt etmek güçtür. Bir hipoteze göre enfeksiyon, inflamasyon, travmaya karşı immünolojik hipersensivite reaksiyonudur.

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda serbest oksijen radikallerinin ve mekanik travmanın miringoskleroz oluşumunda ana sebepler olabileceği gösterilmiştir.

Biyolojik sistemlerdeki başlıca serbest radikaller, oksijenden türeyenlerdir. Serbest oksijen radikalleri artan sayıda hastalık ve inflamatuvar durumun patogenezinin sorumlu tutulmaktadır. Aerob ortamda oksijenin elektronlarının eksik indirgenmesiyle veya elektronların farklı yerleşmesine bağlı çeşitli serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır. Bunlar protein, karbonhidrat, nükleik asit ve lipidlerin kimyasal değişimiyle doku harabiyetine neden olabilir. Lipid peroksidasyonu, serbest oksijen radikallerinin hücre membranındaki poliansatüre yağ asitlerini etkilemesi sonucu meydana gelir. Böylece hücre membran permeabilitesi bozulur.

Serbest oksijen radikalleri, hem hiperoksik çevreden hem de inflamasyonda sklerotik agregatların etrafındaki inflamatuvar hücrelerden meydana gelir. Fagositoz ve araşidonik asit metabolizması boyunca süperoksit radikalleri artmış miktarlarda üretilir ve miringoskleroz yapımına katkıda bulunurlar (37).

Bu bilgilerin doğrultusunda miringoskleroz etiolojisinde serbest oksijen radikallerinin yeri, ortamın oksijeninin değişik konsantrasyonlarda olmasının miringoskleroza etkisi, sebebi oksidan ajanlar ise antioksidan kullanımının miringoskleroza etkisi gibi pek çok konunun araştırıldığı çalışmalar yapılmıştır.

Mattsson ve arkadaşları tarafından orta kulak kavitelerinde yüksek oksijen konsantrasyonu olmasının, kulak zarlarında miringoskleroza yol açabileceği öne sürülmüştür. Bu hipotezi destekleyen çalışmalarında hiperoksik ortamda artmış miringoskleroz oluşumu tespit etmişlerdir. İnsan orta kulağında, diğer hayvanlarda olduğu gibi normalde %5.5 ile %12.1 arasında değişen oranlarda oksijen bulunmaktadır. Ventilasyon tüpü tatbiki ile orta kulağa artan oksijen girişi buradaki oksijen konsantrasyonunun yükselmesine neden olmaktadır(yaklaşık %21). Mattsson ve arkadaşları ratlarda yaptığı çalışmada onları normal hava ortamı ile %10, %15, %40 oksijen konsantrasyonlu ortamlarda tutarak; sol kulak zarlarına perforasyon yapıp tüp yerleştirilmesi ile timpanik membranda miringoskleroz gelişimi provoke edilmiş; karşı kulaklara dokunulmamıştır. En yüksek oksijen konsantrasyonlu ortamda en şiddetli miringoskleroz gelişimi gözlenmiştir.Miringoskleroz mekanizmasının; dokularda artmış oksijenle serbest oksijen radikallerinin üretiminin provoke edilmesi, doku hasarı ve hyalin dejenerasyonun olabileceğini düşünmüşlerdir (7).

Mattsson ve arkadaşlarının miringoskleroz etyolojisinde serbest oksijen radikallerinin olduğunu düşünerek yaptıkları diğer çalışmalarında ratlar normooksik ve atmosferik oksijenin iki katı olduğu ortamlarda tutulmuşlar ve tedavide antioksidan ajan kullanılmıştır. Bunların her iki kulak zarları perfore edilerek iyileşmeye bırakılmışlardır. Gruplara ayrılarak ratlara günlük topikal bakır-çinko(CuZn) süperoksit dismutaz(süperoksit anyon radikalini parçalar) + katalaz(hidrojen peroksidi parçalar), desferoksamin(demir iyonlarını bağlayarak radikal oluşumunu önler), bakırsülfat +

demirklorür ve sodyum klorür uygulanmıştır. Bir haftalık otomikroskopik takiplerinde miringoskleroz oluşumu desferoksamin ve CuZn süperoksit dismutaz solüsyonu uygulananlarda daha az bulunmuştur. Diğer kulak zarları ise normal oksijen koşullarındakilere göre daha fazla sklerotik izlenmişler ve ışık mikroskopik olarak bu fark belirgin olarak ortaya konmuştur. Bu bulgulara göre miringoskleroz oluşumunda serbest oksijen radikallerinin etkisinin bulunduğu; yüksek oksijen konsantrasyonlarında miktarlarının arttığı düşünülmüştür(4).

Mattsson ve arkadaşlarının diğer bir çalışmasında oksadiazospirodekan sınıfından antiinflamatuvar bir ilaç olan fenspiride lokal uygulanarak miringoskleroz gelişimini inhibe ettiği ve hidrojen peroksit ile malondialdehit oluşumunu azalttığı gösterilmiştir. Ancak bu ilaç etkisini gerçek bir serbest radikal önleyicisi gibi göstermemektedir (16,38) .

Spratley ve arkadaşları kulak zarı perfore edilmiş ratlarda, hidrofilik antioksidan madde olan topikal askorbik asit kullanarak miringosklerozun azaldığını göstermişlerdir. Kulak zarı kalınlıkları ise topikal askorbik asit uygulanan grupta anlamlı şekilde artmıştır. Bunu askorbik asidin; fibroblastik aktivite ve kollajen doku artışına yol açmasına; oksijenli ortamda hidroksil radikallerden kollajeni korumasına bağlamışlardır. Ayrıca demir iyonlarının dokularda azalarak serbest radikal oluşumunu önlemesiyle , yara iyileşmesinin normal olabileceği belirtilmiştir (39) .

Bizim çalışmamızda topikal α -tokoferol asetat uygulanan deney grubu ile kontrol grubu arasında timpanik membran kalınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Ancak deney grubunda kulak zarı kalınlıklarının biraz daha fazla olduğu gözlemlendi. Bunun sebebinin α -tokoferol asetatın yara iyileşmesinde epitelizasyonu artırması ile ilgili olduğu düşünüldü (5,28).

Görür ve arkadaşları ratlarda yaptıkları bir çalışmada, miringotomi sonrası intraperitoneal selenyum uygulamışlardır. Otomikroskopik ve histolojik takiplerinde selenyum verilen grupta kulak zarı kalınlıklarının kontrol grubuna göre daha fazla olduğu; miringosklerozun ise kontrol grubunda daha sık olduğu tespit edilmiştir . Bunu

selenyumun biyolojik reaksiyonlarda antioksidan etkili olmasına ve glutatyon peroksidaz kofaktörü oluşuna, lipit peroksidasyonundan hücre membranlarını korumasına bağlamışlardır (1) .

α -tokoferol biyolojik membranlarda lipit peroksidasyonunu önleyen antioksidan olarak bilinir. α -tokoferol asetat ise piyasada yaygın olarak topikal uygulanan E vitamini formudur (30) .

Record ve arkadaşları 1991'de α - tokoferol asetatın topikal antioksidan etkisiyle ultraviole ile indüklenen lipit peroksidasyonunu azalttığını fareler üzerinde göstermişlerdir (29).

Krol ve arkadaşları farelerde α -tokoferolün fotoprotektif etkisinin α -tokoferol asetatın daha fazla olduğunu; α -tokoferol asetatın α -tokoferole dönüştüğünü bildirmişlerdir. Bunların cilt karsinogenetik cevapları ve fotoprotektif etkilerini araştıran pek çok çalışma yapmışlardır. Ultraviole ışınların yarattığı cilt hasarlarında; oluşan radikallerin ve diğer oksidize ürünlerin etken olduğu bilinmektedir. Bunlar özellikle ultraviole B radyasyonlu timin dimerlerini foto ürün olarak meydana getirebilirler. Bunların DNA mutasyonu, karakteristik P⁵³ tümör supresör gen mutasyonu yaptığı tespit edilmiştir. Böylece cilt kanserlerine neden oldukları açıklanmıştır. Vitamin E uygulamalarının antioksidan etkisiyle cilt kanserlerini önleyebildiğini göstermişlerdir (29).

Norkus ve Trevithick farelerde yaptıkları çalışmalarla topikal α -tokoferol asetatın ciltte α -tokoferole metabolize olduğunu yayınlamışlardır(40,41). Beijersbergen van Henegouwen ve arkadaşları α -tokoferol asetat ve α -tokoferolün epidermise geçişi ve horizontal migrasyonunun benzer davranışta olduğunu bulmuşlardır (30). Yaptığımız çalışmada da topikal α -tokoferol asetat kullanarak onun antioksidan etkinliğini izlemeyi uygun gördük .

İnsan ve domuz derisinin benzer yüzey lipidlerine sahip olması, kalınlığı ve morfolojisi domuz derisinin invitro çalışmalarda kullanımına yol açmıştır. Buna göre

Rangarajan yaptığı çalışmasında yaklaşık % 1.5 α -tokoferolün, %5 α -tokoferol asetat ile eşit konsantrasyonda emildiğini göstermiştir. Ancak topikal α -tokoferol solüsyonunun α -tokoferol asetatından daha çok aktif hale dönebilse de ürünün stabilite ve raf ömrü problemleri olabileceğini belirtmiştir (30).

Timpanik membran perforasyonlarının akut veya kronik dönemde tedavi edilmeleri sekonder olarak gelişebilecek komplikasyonları, sekelleri önleyecektir. Çalışmamızda ratlarda akut dönem kulak zarı perforasyon modeli meydana getirilerek kulak zarlarının iyileşmesini gözlemlendi. Daha önce kulak zarları üzerine topikal uygulaması denenmemiş olan α -tokoferol asetatın ratlarda antioksidan etkili olabileceğini düşünüldü. Bu süre zarfında miringoskleroz oluşumu topikal α -tokoferol asetat uygulanan deney grubunda ve hiçbir farmakolojik madde kullanılmayan kontrol grubunda tespit etmeye çalışıldı.

Yaptığımız çalışmada topikal α -tokoferol asetat uygulanan ratlarda otomikroskopik olarak miringoskleroz tespit edilmedi. Ancak daha önce yapılan bazı çalışmalarda en çok pars tensada, anulus kenarında ve malleus kolu boyunca miringoskleroz gösterilmiştir. Histolojik olarak miringosklerotik lezyonlar ve orta kulak mukozası insanlar ile ratlarda karşılaştırılmıştır. Sonuçlar arasında yapısal ve sklerotik alan lokalizasyon farklılığı bulunmamıştır (4,37,38). Bu çalışmada histolojik incelemede literatür bilgileriyle paralel olarak, timpanik membran pars tensa fibroz tabakası lamina propria, yoğun kollajen artışı, sklerotik alanlar tespit edildi .

Bizim çalışmamızda timpanik membranlardaki perforasyonların kapanma süreleri arasındaki fark, topikal α -tokoferol asetat uygulanan grupta anlamlı şekilde kısalmıştır. Normal iyileşme sürecine bırakılan kulak zarlarından daha kısa olmasının nedeni; vitamin E'nin, topikal veya sistemik uygulanmasıyla yara iyileşmesini hızlandırması, epitel rejenerasyonunu arttırması, hücrel ve humoral immüniteyi uyarması, istenmeyen skar oluşumunu önlemesidir (28). Igarashi ve arkadaşları da α -tokoferol asetat içeren diyetle beslenen ve beslenmeyen ratların ciltlerini karşılaştırmışlardır. Sonuçta vitamin E eksikliği olan grupta peroksit formasyonu

insolubl kollajen artışı tespit edilmiştir. Vitamin E'nin hücre membranı ve organel membranlarındaki lipid peroksidasyonunu önleyen ve oluştuğunda nötralize eden güçlü bir antioksidan olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuç E vitamininin lipid peroksidasyonunun sonlandırılmasında zincir kırıcı etkisine bağlanmıştır (42). Buna karşın Ehrlich; vitamin E'nin kollajen sentezini inhibe ettiğini öne süren çalışma yapmıştır. Parenteral α -tokoferol asetat uygulanan ratlarda yara iyileşmesinin geciktiğini göstermiştir (43).

Yaptığımız çalışmada topikal α -tokoferol asetat kullanımı yara iyileşme hızını arttırmış bulundu. Elde ettiğimiz diğer histopatolojik bulgularda; epitel kalınlığının artışı, fibroblastik aktivite, neovaskülarizasyon, polimorf nüveli lökosit artışı gibi yara iyileşmesi parametrelerinin, deney ve kontrol grupları arasındaki farkı istatistiksel olarak anlamlı biçimde ortaya konamamıştır ($p>0.05$).

Bizim yaptığımız çalışmada topikal α -tokoferol asetat uygulamasıyla skleroz oluşumunun önlendiği tespit edildi . Bu sonuç diğer antioksidanlarla yapılan çalışmalara benzer şekilde α -tokoferol asetatın miringosklerozu inhibe edebileceği hipotezini doğrulamıştır .

Perfore timpanik membranlarda özellikle akut dönemde topikal α -tokoferol asetat uygulamasının miringosklerozu önlemede etkili olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca bu madde, perforasyonların daha hızlı bir şekilde, sekelsiz, düzgün iyileşebilmesi için alternatif bioaktif ajan olarak uygulanabilir. Ancak daha çok deney hayvanında ve daha uzun süreli topikal α - tokoferol asetat uygulanmasının sonuçların aydınlatılmasına ışık tutacağına inanmaktayız .

SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1. Histopatolojik incelemede timpanik membranların lamina propriasında fibroblastik aktivite, neovaskülarizasyon, polimorf nüveli lökosit artışı değerlendirildiğinde; Deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

2. Otomikroskopik incelemelerde deney ve kontrol gruplarında miringoskleroza rastlanılmadı. Ancak ışık mikroskopik incelemelerde kontrol grubu ratların kulak zarlarında sklerotik alanlar tespit edildi. Deney grubunda ise skleroz izlenmedi. Bu sonuç akut dönem perforasyonlarda topikal α -tokoferol asetat uygulamasının miringoskleroza önlemek için yararlı olduğunu düşündürdü .

3. Ratlarda topikal α -tokoferol asetat uygulanan deney grubunda miringotomi sonrası, herhangi bir madde kullanılmayan kontrol grubundaki ratlara göre perforasyon kapanma sürelerinin daha kısa olduğu tespit edildi. Aralarında ki fark istatistiksel olarak anlamlı idi.

4. Topikal α -tokoferol asetatın miringoskleroza önlemedeki etkinliğinin araştırılması amacıyla çalışmanın daha fazla deney hayvanında, daha uzun süreli ve farklı dozlarda yapılmasının gerektiğine inanmaktayız.

5 . Perfore edilen timpanik membranlarda otore, koku, hiperemi gibi enfeksiyon bulgularına rastlanmaması ratlara uygulanan ampisilin/sulbaktam profilaksisinin etkin olduğu şeklinde yorumlandı.

ÖZET

Timpanik membran fibroz tabakasında artmış kollajen fibrilleri, hyalin dejenerasyon ve ekstrasellüler kalsiyum depozitasyonu ile karakterize beyaz plakların görülmesine “ miringoskleroz ” denir. En sık kulak zarına parasentez veya ventilasyon tüpü tatbikinden sonra rastlanılmaktadır .

Yaptığımız çalışmada 13 ratın her iki kulak zarı posterosuperior kadranı 2 mm çapta miringotomize edildi. 7 tanesi deney grubu olarak alındı ve kulaklarına topikal α -tokoferol asetat uygulandı. 6 tanesi kontrol grubu olarak takip edildi bunlara topikal herhangi bir ilaç uygulanmadı. Günaşırı takip edilen ratların perforasyonları kapandıktan 3 hafta sonra hepsi dekapite edildi. Histopatolojik olarak kulak zarları temporal kemikten ayrıldıktan sonra masson-trikrom ve hematoksilin-eozinle boyanarak incelendi .

İstatistiksel olarak topikal α -tokoferol asetat uygulanan kulak zarlarında anlamlı şekilde sklerozun olmadığı izlendi. Kontrol grubunda ise pars tensada perforasyon iyileşme yerinde veya anteriorunda yer yer sklerotik alanlara rastlandı. Aynı zamanda deney grubunda perforasyonların daha hızlı kapandıkları belirlendi.

Miringoskleroz etiolojisinde rol oynayan serbest oksijen radikallerini engellemek amacıyla perforasyon sahasına topikal α -tokoferol asetat uygulandı. Sonuçta bu maddenin tedavide antioksidan etkinliğinin olduğu gösterildi. Bir sekel olarak kabul edilen miringoskleroz oluşmasını önlemek ve daha hızlı yara iyileşmesi sağlamak için perfore kulak zarlarına bioaktif madde olarak topikal α -tokoferol asetat uygulanabileceği vurgulandı .

SUMMARY

“Myringosclerosis” is the pathologic situation characterized by increased collagen fibrils, hyaline degeneration and extracellular calcium deposition on fibrous layer of tympanic membrane. It is observed as whitish plaques especially after parasyntesis and substitution of ventilation tube.

In our study, we myringotomized bilaterally the posterosuperior part of tympanic membranes of 13 rats. Seven of the rats were included in the study group and topical α -tocopheryl acetate was applied. Rests were chosen as the control group and nothing was applied. Perforations on the tympanic membrane were followed up on alternating days and they were decapitated on the 3rd week after closure. Tympanic membranes were examined histopathologically by Masson trichrome and hematoxylen-eosine dyes after separation from temporal bulla.

Sclerosis was not observed in α -tocopheryl acetate applied membranes and this was statistically significant. Sclerotic areas were observed whether on the healing place of perforation or on its anterior in the tympanic membranes of the control group. In addition perforations of the study group were closed earlier than control group.

Topical α -tocopheryl acetate was applied due to avoid the free oxygen radicals which take role in the pathogenesis of myringosclerosis. As a result, the antioxidant effect of topical α -tocopheryl acetate is shown. We think topical α -tocopheryl acetate can be used as a bioactive agent to avoid the myringosclerosis which is accepted as a sequel and to maintain the healing of perforations of tympanic membranes.

KAYNAKLAR

- 1 - Görür K , Ozcan C , Polat A ,Unal M , Tamer L ,Cinel I : The anti-oxidant and anti-apoptotic activities of selenium in the prevention of myringosclerosis in rats. J Laryngol Otol. 116: 426-429, 2002 .
- 2 - Tos M, Bonding P, Poulsen G : Tympanosclerosis of the drum in secretory otitis after insertion of grommets. J Laryngol Otol. 97;116: 489-496, 1983.
- 3 - Tos M and Stangerup SE : Hearing loss in tympanosclerosis caused by grommets.Arch Otolaryngol Head Neck Surg .115: 931-935,1989 .
- 4 – Mattson C, Marklund SL, Hellström S : Application of oxygen free radical scavengers to diminish the occurrence of myringosclerosis. Ann Otol Rhinol Laryngol.106:513-8 ,1997
- 5 - Susaman N, Yalçın Ş, İlhan N, Özercan İH, Kaygusuz İ, Karlıdağ T, Gök Ü: Travmatik timpanik membran perforasyonlarında E vitamininin histopatolojik iyileşme ve lipid peroksidasyonları üzerine etkileri:Deneysel çalışma.KBB İhtisas Dergisi.10(3) :87-92 , 2003 .
- 6 – Akyıldız N : Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi . Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara, 1998 .
- 7 – Mattson C, Magnuson K, Hellström : Myringosclerosis caused by increased oxygen concentration in traumatized tympanic membranes. Ann Otol Rhinol Laryngol .104:625-631,1995.
- 8 – Mondain M and Ryan A : Histological study of the healing of traumatic tympanic membrane perforation after basic fibroblast growth factor application.Laryngoscope.103(March):312-318,1993 .
- 9 – Asiri S, Hasham A, Al Anazi F, Zakzouk S, Banjar A: Tympanosclerosis :review of literature and incidence among patiens with middle- ear infection. J Laryngol Otol.113:1076-1080 ,1999 .
- 10 – Bhaya MH, Schachern PA, Morizono T, Paparella MM: Pathogenesis of tympanosclerosis.Otolaryngol.Head Neck Surg.109:413-420 ,1993 .
- 11 – Albin N, Hellström S, Salen B, Stenfors LE, Wirell S: The vascular supply of the rat tympanic membrane.Anat. Record.212:17-22 ,1985 .

- 12 – Wielinga EWJ and Kerr AG: Tympanosclerosis. *Clin Otolaryngol.* 18:341-349, 1993 .
- 13 – Miller P: Tympanosclerosis of the ear drum in secretory otitis media. *Acta Otolaryngologica. Suppl. (Stoch).* 414: 171-177 , 1984.
- 14 – Moller P: Tympanosclerosis of the ear drum. A scanning electronmicroscopic study. *Acta Otolaryngol.* 91: 215-221 , 1981.
- 15 – Kinney S.E: Postinflammatory ossicular fixation in tympanoplasty . *Laryngoscope.* 88 : 821-838 , 1978 .
- 16 – MacKinnon D.M: The sequel to myringotomy for exudative otitis media . *J Laryngol Otol.* 85 :773-793 , 1971 .
- 17 – Tos M and Poulsen G: Changes in pars tensa in secretory otitis. *ORL.* 41:313-328, 1979 .
- 18 – Flodin MF and Hultcrantz M: Possible inflammatory mediators in tympanosclerosis development. *Int J Ped Otorhinolaryngol.* 63:149-154, 2002.
- 19 – Ferlito A: Histopatogenesis of tympanosclerosis. *J Laryngol Otol.* 93:28-37, 1979.
- 20 – Igarashi M, Konishis S, Alford BR, Guilford FR: The pathology of tympanosclerosis. *Laryngoscope.* 80:233-243 , 1970 .
- 21 - Russel J.D. and Giles J.J: Tympanosclerosis in the rat tympanic membrane: An experimental study. *Laryngoscope.* 112 : 1663-1666 , 2002 .
- 22 – Wielinga EWJ, Kuijpers W, Tonnaer ELGM, Jap PHK: An experimental model for tympanosclerosis: A preliminary report. *Acta Otolaryngol (Stoch).* 105:537-543 , 1988 .
- 23 – Lesser THJ, Williams KR, Skinner DW: Tympanosclerosis, grommets and shear stresses. *Clin Otolaryngol.* 13:375-380 , 1988
- 24 – Parker AJ and Maco AR: Intratympanic membrane bleeding after grommet insertion and tympanosclerosis. *Clin Otolaryngol.* 15:203-7 , 1990 .
- 25 – Schiff M, Catanzaro A, Ryan A. Tympanosclerosis: A theory of pathogenesis. *Ann Otol Rhinol Laryngol. (Suppl 70).* 89:1-16 , 1980 .
- 26 – Schiff M and Yoo IJ: Immunologic aspects of otologic disease. An overview. *Laryngoscope.* 95:256-69 , 1985 .
- 27 – Plester D: Tympanosclerosis. *Aust J Otolaryngol.* 3:325-326 , 1972 .

- 28** – Gündüz K: Dermatolojide E Vitamini .Türk Derm ; 31 : 151-154 , 1997 .
- 29** – Krol ES, Kramer-Stickland KA, Liebler DC: Photoprotective actions of topically applied vitamin E. Drug Metab Rew . 32(3&4):413-420 , 2000 .
- 30** – Rangarajan M and Zatz J L: Kinetics of permeation and metabolism of α - tocopherol and α - tocopheryl acetate in micro-Yucatan pig skin .J Cosmet Sci. Jan/Feb 52 : 35-50 , 2001 .
- 31** - Erden M : Serbest radikaller .T Klin Tıp Bilimleri . 12: 201-207 , 1992
- 32** – Aybey B, Tufan H, Ergenokon G : Serbest radikaller . Türk Derm. 30:116-122, 1996 .
- 33** – Erenel G, Erbas D, Arıcıoğlu A : Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. Gazi Medical J .3: 243-250, 1992.
- 34** – Kılınç K : Oksijen radikalleri :Üretilmeleri ,fonksiyonları ve toksik etkileri. Biyokimya Dergisi .10 : 60-89 , 1985 .
- 35** – Kumar , Cotran , Robbins : Temel Patoloji (Basic Pathology) .Nobel Tıp Kitabevleri. Ankara , 2000.
- 36** – Gladstone BH,Jackler RK,Varav K: Tympanic membran wound healing. Otolaryngol Clin.North Am. 28:913-932, 1995.
- 37** – Ozcan C, Görür K, Cinel L, Tavas DU, Unal M, Cinel I: The inhibitory effect of topical N-Acetylcysteine application on myringosclerosis in perforated rat tympanic membran. Int J Ped Otorhinolaryngol. 63: 179-184 , 2002.
- 38**– Ozcan C,Polat G ,Görür K,Talas D U ,Bagdatoglu O ,Cinel I : The effect of local administration of N-acetylcysteine in perforated rat tympanic membrane : An experimental study in myringosclerosis. Pharmacological Research . 45 : 5-9, 2002.
- 39** – Spratley J E ,Hellström S O ,Mattson C K , Pais-Clemente M: Topical ascorbic acid reduces myringosclerosis in perforated tympanic membranes . Ann Otol Rhinol Laryngol .110 : 585-591, 2001.
- 40** – Trevithick JR, Mitton KP: Topical application and uptake of vitamine E acetate by the skin and conversion to free vitamine E .Biochem Mol Biol Int. 31(5): 869-878, 1993.

- 41 – Norcus EP, Bryce GF, Bhagavan HN: Uptake and bioconversion of α – tocopheryl acetate to α – tocopherol in skin of hairless mice. *Photochem Photobiol.* 57(4): 613-615, 1993.
- 42 – Igarashi A, Uzuka M, Nakajima K: The effects of vitamin E deficiency on rat skin. *B J Dermatol.* 121: 43-49, 1989.
- 43 – Ehrlich P. H, Tarver H, Hunt T.K: Inhibitory effects of vitamin E on collagen synthesis and wound repair. *Ann Surg.* 175: 235-240, 1972.