



**T.C.**

**GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
KULAK BURUN BOĞAZ BAŞ VE BOYUN CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN ORTA KULAK HASARI  
SONRASINDA, E VİTAMİNİ, KARNİTİN, KAFEİK ASİT FENİL ESTER VE N-  
ASETİL SİSTEN'İN TİMPANOSKLEROZ GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Dr. HATİCE ASAN**

**UZMANLIK TEZİ**

**TOKAT**

**2011**

**T.C.**  
**GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**KULAK BURUN BOĞAZ BAŞ VE BOYUN CERRAHİSİ**  
**ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN ORTA KULAK HASARI  
SONRASINDA, E VİTAMİNİ, KARNİTİN, KAFEİK ASİT FENİL ESTER VE N-  
ASETİL SİSTEN'İN TİMPANOSKLEROZ GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Dr. HATİCE ASAN**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. İBRAHİM ALADAĞ**

**TOKAT**

**2011**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca akademik bilgilerini ve deneyimlerini benimle paylaşarak bu günlere getiren ve asistanı olarak çalışmaktan onur duyduğum; Ana Bilim Dalı Başkanımız ve tez danışmanım Sn. Doç. Dr. İbrahim Aladağ'a,

Asistanlık hayatımda her zaman bilgi ve mesleki deneyimlerinden faydalandığım, olumlu yönlendirmeleri ile bugüne gelmemde büyük pay sahibi olan ve kliniğe aile duygusunu yaşatan değerli hocam Sn. Yrd. Doç. Dr. Ahmet Eyibilen'e,

Eğitimim süresince her zaman bilgi ve beceri yönünden yanımda olmakla beraber bana yeni ufuklar açan, farklı bakış açıları kazandıran ve cesaret veren değerli hocam, abim Sn. Yrd. Doç. Dr. Kürşat Yelken'e,

Eğitimim süresince kendilerinden çok şey öğrendiğim, çalışma yöntemlerini kendime örnek kabul ettiğim ve desteğini her zaman hissettiğim değerli hocam Sn. Yrd. Doç. Dr. Sema Koç'a,

Eğitimim süresince bilgi ve becerilerini esirgemeyerek yolumuza ışık tutan ve tez çalışmamda emeği büyük olan değerli hocam Sn. Yrd. Doç. Dr. Levent Gürbüzler'e,

Sınırlı bir süre de olsa asistanı olarak çalışabilmekten dolayı kendimi şanslı hissettiğim, eğitimim süresince kendisinden çok şey öğrendiğim değerli hocam Sn. Doç. Dr. Mehmet Güven'e,

Sadece tez çalışmam süresince değil, tüm asistanlık dönemimde benden yardımlarını esirgemeyen ve bana daima destek olan, birlikte çalışmaktan mutluluk ve onur duyduğum Sn. Dr. Servet Akyüz'e,

Tezime yardım ve katkılarından dolayı başta Histoloji Anabilim Dalı Başkanı Sn. Doç. Dr. Hüseyin Aslan olmak üzere tüm histoloji çalışanlarına,

Hayatımın en önemli dönemlerinden birini paylaştığım sevgili asistan arkadaşlarıma, servisimizin ve ameliyathanemizin değerli hemşire ve personellerine,

Ve doğduğum günden bu yana hep yanımda olan sevgili annem, babam, ağabeyim, kardeşim ve ailemize yeni katılan Yasemin'e,

Sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Hatice ASAN

## ÖZET

Timpanoskleroz; timpanikmembran ve orta kulak submukozasındahiyalin ve kalsifiedepozit birikimi ile karakterize patolojik bir süreçtir. Klinik olaraktimpanoskleroz; orta kulak timpanosklerozu vetimpanikmembrantimpanosklerozu (miringoskleroz) olmak üzere iki başlık altında incelenmektedir. Miringoskleroz, timpanikmembran üzerinde kresent veya at nalışeklinde plaklar halinde gözlenir.Orta kulak timpanosklerozu, lokalize kalabileceği gibi, tüm timpanikkaviteyi dolduracak kadar yaygın olabilir. Yerleşim yeri ister timpanikkavite ister timpanikmembran olsun klinikte, değişen derecelerde ileti tipi işitme kaybı, tinnitus ve bazen sensörinöral tip işitme kaybı gibi bulgularla karşımıza çıkar.

Timpanoskleroz oluşumunu tetiklediği düşünülen,submukozal seviyedeki doku hasarı nedeni olarak, akut veya kronik enfeksiyonlar, cerrahi travmalar başta olmak üzere tüm orta kulak travmaları gösterilmektedir. Hastalığın etyopatogenezindegenetik veotoimmün bozuklukların da rol aldığı düşünülmektedir. Etyopatogenezden sorumlu olduğu düşünülen tüm bu faktörlerin,doku hasarını serbest oksijen radikallerinin (SOR) üzerinden yapıyor olması araştırmacılar arasında kabul edilen baskın görüştür. Artmış SOR, fibrozis ve hiyalinizasyonla seyreden doku hasarını geliştirir. Normal şartlar altında, antioksidan enzim sistemleri organizmayı bu hasardan korur. Ancak timpanosklerozlu olgularda bu patolojik sürecin neden devam ettiği henüz araştırma aşamasındadır.

Çalışmamızda antioksidan özelliği olduğu bilinen E vitamini, N-asetilsistein, kafeik asit fenil ester ve L-karnitin gibi maddelerin timpanoskleroz oluşum sürecindeki etkilerini araştırdık. Otomikroskopik muayeneleri normal olarak değerlendirilen 50 adet Wistar albino sıçan çalışmaya dahil edildi. Sıçanların sol orta kulak kavitesine 0,5 McFarlan'a ayarlanmış 0,05 ml *StreptococcusPneumoniae*inoküle edildi. Rastgele oluşturulan onarlı gruplarda, N-asetilsistein, karnitin, kafeik asit ve E vitamini intraperitoneal olarak uygulandı. Hiçbir medikasyonun yapılmadığı on sıçan kontrol grubu olarak belirlendi. Akut otit geliştiği tesbit edilen 47 sıçan çalışmanın 15. gününde sakrifiye edildi. Temporal kemikleri total olarak dışarı alındı. Alınan kesitler Masson'sTrikrom boyama yöntemi ile boyandı. Işık mikroskopu ile orta kulak laminapropriasındaenflamatuar hücre yoğunluğu ve laminapropriakalınlığı değerlendirilerek, gruplar timpanoskleroz oluşumu açısından karşılaştırıldı.

Çalışmamızın sonucunda N-asetilsistein ve E vitamini kullanılan gruplarda kontrol ve diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı sonuçlar edilmesine karşın, N-asetilsistein ve E

vitamini kendi arasında değerlendirildiğinde anlamlı farklılık olmadığı görüldü. Diğer gruplarda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmedi.

**Anahtar kelimeler:** Timpanoskleroz, Oksidatif stres, Antioksidan

## ABSTRACT

Tympanosclerosis is a pathological course characterized with hyaline and calcific deposits in the tympanic membrane and middle ear submucosa. Clinically tympanosclerosis is assessed under two categories; middle ear tympanosclerosis, and tympanic membrane tympanosclerosis (myringosclerosis). Myringosclerosis is crescent-shaped or horseshoe-shaped plaques on the tympanic membrane. Middle ear tympanosclerosis can stay localized, as well as spreading to an extent that fills the entire tympanic cavity. Whether it is located in the tympanic cavity or the tympanic membrane, we are faced with results such as conductive hearing loss, tinnitus, and sensorineural hearing loss, at various levels, at the clinic.

The reason behind tissue damage at submucosal level, which is thought to be the cause for formation of tympanosclerosis, is said to be acute or chronic infections, and all middle ear traumas, in particular, surgical traumas. It is thought that genetics and autoimmune disorders play a role in the etiopathogenesis of the illness. The dominant view among researchers is that all these said factors, thought to be responsible for etiopathogenesis, cause tissue damage to free oxygen radicals. Increased free oxygen radicals cause tissue damage, which progresses with fibrosis and hyalinization. Under normal conditions, antioxidant enzyme systems protect the organism from this damage. However; studies are still ongoing in order to identify why this pathological course continues in cases with tympanosclerosis.

In our study we investigated the effects of elements such as vitamin E, L-carnitine, caffeic acid phenyl ester, and N-acetylcysteine (all known to have antioxidant properties) have on the development process of tympanosclerosis. 50 Wistar albino rats, with normal otomicroscopic examinations, were included in the study. The left middle ear cavity of the rats was set at 0.5 McFarland, and inoculated with 0.05 ml of *Streptococcus Pneumoniae*. N-acetylcysteine, carnitine, caffeic acid, and Vitamin E were intraperitoneally administered to randomly chosen groups of ten. The ten rats that received no medication were defined as the control group. The 47 rats that developed acute otitis were sacrificed on Day 15 of the study. The entire temporal bones were left out. Cross section taken were stained using Masson's Trichrome Staining method. Groups were compared in terms of tympanosclerosis formation by analyzing the concentration of inflammatory cells in

the laminapropria of the middle ear and the thickness of the laminapropria using an optical microscope.

Results of our study concluded that while significant results were obtained for groups in which N-acetylcysteine and Vitamin E were used in comparison to the control group and other groups, there was no significant difference between the N-acetylcysteine group and the Vitamin E group. No statistically significant results were obtained from the other groups.

**Keyword:** Tympanosclerosis, Oxidative Stress, Antioxidant

## İÇİNDEKİLER

1. TEŞEKKÜR.....	ii
2. ÖZET.....	iii
3. İNGİLİZCE ÖZET.....	v
4. KISALTMALAR.....	viii
5. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1-2
6. GENEL BİLGİLER.....	3-47
7. GEREÇ VE YÖNTEM.....	48-53
8. BULGULAR.....	54-72
9. TARTIŞMA.....	73-83
10. SONUÇ.....	84
11. KAYNAKLAR.....	85-93



## KISALTMALAR

1. TS: Timpanoskleroz
2. MS: Miringoskleroz
3. EOM: Efüzyonlu Otitis Media
4. AOM: Akut Otitis Media
5. KOM: Kronik Otitis Media
6. SOR: Serbest Oksijen Radikalleri
7. TM: Timpanik Membran
8. PT: Pars Tensa
9. PF: Pars Flaksida
10. VT: Ventilasyon Tüpü
11. MMP: Matriks Metalloproteinazlar
12. NO: nitrik Oksit
13. iNos: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
14. AST: Aspartat Aminotransferaz
15. ALT: Alanin Aminotransferaz
16. CAPE: Kafeik Asit Fenil Ester
17. MDA: Malondialdehit
18. COX: Siklooksijenaz
19. VLDL: Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
20. LDL: Düşük Dansiteli Lipoprotein
21. 5-FU: 5-Flourourasil
22. IP: Intraperitoneal



## GİRİS VE AMAÇ

Timpanoskleroz (TS); timpanik membran ve orta kulak submukozasında hyalin ve kalsifiye depozit birikimi ile karakterize bir süreçtir. Hasar sonrası kollajen dokudaki iyileşme sürecinin sonucu olarak karşımıza çıkar. Timpanoskleroz klinik olarak; orta kulak timpanosklerozu ve timpanik membran timpanosklerozu (miringoskleroz) olmak üzere iki başlık altında incelenmektedir (1). Miringoskleroz (MS); timpanik membran üzerinde kresent veya at nalı şeklinde plaklar halinde gözlenir. Orta kulak timpanosklerozu, sıklıkla efüzyonlu otitis media (EOM), akut otitis media (AOM) veya kronik otitis medianın (KOM) gibi enflamatuvar süreçler sırasında, orta kulak mukozasının lamina propriasında kalsifiye birikimler ve dejenerasyonlarla ortaya çıkmaktadır (2).

Timpanoskleroz ve miringoskleroz etyopatogenezinde, inflamasyon, mekanik travma, otoimmünite, genetik faktörlerin rolü olduğu düşünülmektedir (1,2).

TS oluşum sürecinde ortaya çıkan submukozal değişikliklerin, ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri (SOR) yoluyla geliştiği düşünülmektedir (3). Serbest oksijen radikalleri en sık bağ dokularındaki makrofajlarca üretildiğinden oluşabilecek hasar en sık bu bölgelerde meydana gelir (3).

Orta kulakta herhangi bir nedenle ortaya çıkan enfeksiyon sürecinde iyileşme döneminde yapılan çalışmalarda biyokimyasal olarak makrofajlardan osteoklasta dönüşüm, interlökinler gibi immün hücre ve mediatör salınımında artış, histolojik olarak lamina propriada kalınlaşma ve fibrozis gösterilmiştir (4-6).

Travmatik tüp yerleştirilmesi, hemoraji ve orta kulaktaki mayinin aşırı aspirasyonunu takiben MS gelişme ihtimalinin arttığını öne süren çalışmalar vardır (7). Kanama sonunda kulak zarı tabakaları arasında ortaya çıkan serbest hemoglobinin timpanosklerotik süreci başlattığı düşünülmektedir (4).

Miringotomi sonrası ortaya çıkan timpanoskleroz gelişimi direkt travmatik etki veya işlem sonrası orta kulakta oluşan hiperoksit durumla açıklanabilir. Orta kulak kavitesinin oksijen konsantrasyon seviyesi yaklaşık %5-10 arasında

değişmektedir. Orta kulak gaz seviyeleri kan gazı aracılığı ile düzenlenmektedir. Miringotomi uygulaması sonrası, orta kulağa fazla miktarda hava geçişi ve göreceli olarak hiperoksit durum gerçekleşmektedir. Orta kulaktaki bu hiperoksik ortamın SOR oluşumuna neden olduğu, böylece inflamatuvar sürecin hızlanarak doku hasarına neden olduğu düşünülmektedir (8).

Serbest oksijen radikal oluşumunun engellenmesi veya azaltılması ile timpanoskleroz gelişiminin azaltılabileceği düşünülmektedir. Literatürde bu hipotezi destekleyecek şekilde, selenyum, ginko biloba, karnitin, E vitamini, N-asetil sistein gibi değişik antioksidan maddelerle yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur (7,9-11).

Çalışmamız, deneysel olarak oluşturulan orta kulak enfeksiyonuna sekonder dokuda artış gösteren serbest reaktif oksijen ürünlerinin, antioksidan özellikleri bilinen N-asetilsistein, karnitin, kafeik asit fenil ester ve E vitamini kullanılarak kontrol altına alınabileceği, dolayısıyla doku hasarının ve timpanoskleroz gelişimin önlenilebileceği hipotezi üzerine kurulmuştur.

Timpanoskleroz, orta kulak fonksiyonlarını bozarak, başta işitme kaybı olmak üzere değişik morbiditelere yol açan bir hastalıktır. Toplumda sık görülmektedir ancak küratif tedavisi henüz geliştirilememiştir. Muhtemel etyopatogenetik faktörler göz önüne alınarak oluşturulacak koruyucu tedavi protokolleriyle, hastalığın morbiditesinin engellenmesi veya azaltılması, son dönemde yapılan benzer çalışmalar gibi bizim çalışmamızın da amacını oluşturmaktadır.

## GENEL BİLGİLER

### İNSAN TİMPANİK MEMBRAN VE ORTA KULAKANATOMİK YAPISI

Orta kulak boşluğunu dış kulak yolundan ayıran ve orta kulağın dış duvarının büyük bölümünü oluşturan timpanik membran(TM), yaklaşık olarak 0.1 mm kalınlığa, 10-11 mm uzunluğave 8-9 mm genişliğe sahiptir(1,2). Timpanik membran, timpanik kemiğin sulkus timpanikusu içine oturur veyerleştiği bu sulkus timpanik halka adını alır. Timpanik kemik ön ve arkaya doğru uzantılar vermektedir. Timpanik kemiğin verdiği bu uzantılara sulkus timpanikus adı verilir. Sulkus timpanikusun üst ucu açıkta kalır. Skutum ise bu açıklığıdolduran skuamoz kemiğe verilen addır. Skutum tarafından doldurulan bu iki kemiğin uzantısı arasındaki açıklığa ise rivinus çentiği adı verilmektedir (2).

Timpanik membran, sulkus timpanikus içine gerlach halkası adı verilen anulus fibrosis ile tesbit edilmiştir. Timpanik kemiğin her iki uzantısının bitim noktalarından malleus başına doğru iki plika uzanır. Plika malleolaris anterior ve posterior adı verilen bu plikalar malleusu timpanik membrana bağlamaktadırlar (2).

Timpanik membran, pars tensa (PT) ve pars flaksida (PF) olmak üzere iki bölüme ayrılır. Pars tensa, timpanik membranın gergin ve esas titreşen kısmıdır. Pars flaksida ise timpanik membranın rivinus çentiğini dolduran kısmıdır. Konkav şekilli timpanik membran üzerindeki manibrium malleinin uç kısmının oturduğu çukurluk umbo adını almaktadır (2).

Orta kulak, sesin iç kulağa iletilmesinde görev alır ve timpanik membran ile iç kulak arasına yerleşmiştir. Orta kulak, östaki borusu ile dış ortamla bağlantı kurarken, aditus ad antrum aracılığıyla mastoid hücrelere bağlanır. Orta kulak hacmi insanda 0.5 cm<sup>3</sup> olarak kabul edilmektedir. Orta kulak boşluğu, düzensiz biçimlidir ve her bölgede aynı genişliğe sahip değildir. Orta kulağın yüksekliği; önde östaki

ağzında 7mm, arkada aditus seviyesinde 15 mm, yukarıda tegmen hizasında 7mm ve umbo seviyesinde yaklaşık 1.5-2 mm dir (2). Orta kulak boşluğunun altı duvarı vardır:

1. Tavan: Tegmen timpani adını alan ince bir kemik yapıya sahiptir ve orta kranialfossa ile komşudur.
2. Taban: Orta kulak tabanda bulbus vena jugularis ile komşudur. Ayrıca arka kısımda stiloidçukıntı ile komşuluğu vardır.
3. Arka duvar: Orta kulak arkada mastoid kavite ile ilişkilidir. Burada stapedial kas vetendonunun içinde yerleştiği piramidal eminens bulunur.
4. Ön duvar: İnternal karotid arterin yaptığı çıkıntı, östaki borusu ve tensor timpani kası ön duvar komşuluklarını oluşturmaktadır.
5. İç duvar: İç duvarda kohlea bazal turunun yapmış olduğu kabartıya ait promontorium mevcuttur. Ayrıca iç duvar, iç kulak ve fasial sinir kanalı ile komşuluk gösterir.
6. Dış duvar: Yukarıdan aşağıya doğru skutum, kulak zarı ve hipotimpanium olmak üzere üç kısma ayrılır (2,12).

Orta kulak, dış kulak yolunun horizontal planda alt ve üst seviyesi baz alınarak üç bölüme ayrılır;

1. Hipotimpanium: Kulak zarının altında kalan orta kulak bölümüdür. Oldukça dar olan bölüm bazen derin olabilir ve resesus hipotimpanikum adını alır. Tabanında juguler bulb ve internal karotid arterin asendan kısmı yer almaktadır.
2. Epiteimpanium: Çatısını tegmen timpani oluşturmaktadır ve orta kranial fossa ile sınır oluşturur. Alt sınırını prosesuskohleiformis ve musculus tensor timpani yapar. İç sınırını ise lateral yarım daire kanalı ve 7. kranial sinir oluşturur. Fossa inkudis epiteimpanumun arka, iç ve alt sınırını teşkil etmektedir. Skutum ise dış sınırını oluşturmaktadır.

3. Mezoimpanium: Kulak zarı hizasına karşılık gelen orta kulak boşluğudur. Bölgenin önemli noktası eminensiya piramidarumdur (1,2).

Kemik zincir, timpanik membranın iç yüzünde yerleşir. En dışta baş, boyun, manibrium ve umbodan oluşan malleus bulunur. İnkus, malleus ve stapes arasında yer alır. Gövde, uzun-kısa kol ve lateral proçesten oluşur. En içte ise stapes yerleşmiştir. Stapes oval pencere üzerine oturmuştur. Baş, iki bacak ve tabandan oluşmaktadır (1,12). Kemikcikler arasında inkudomalleolar ve inkudostapedial olmak üzere iki eklem vardır. Birbirleriyle az oynar eklem yaparlar ve bir zincir meydana getirirler. Kulak zarı ve iç kulak arasında ses titreşimlerinin iletilmesinde bu zincir rol alır(2).

Östaki borusu; nazofarenks ve orta kulak arasında bağlantı sağlayan, ön iç kısmı kıkırdak, arka dış kısmı ise kemikten oluşan yapıdır. Kıkırdak kısım yaklaşık 24 mm, kemik kısım ise yaklaşık 11 mm uzunluğundadır(2). Kıkırdak parça nazofarenkste adenoidlerin yan kısmına açılırken, kemik parça epitimpaniuma açılmaktadır. Kemik ve kıkırdak parçanın birleşim noktası olan istmus, östaki borusunun en dar kısmını oluşturmaktadır. Açısı yaşla beraber değişkenlik gösteren östaki borusu, doğumda daha horizontal yapı göstermekle beraber, erişkinde yaklaşık 45 derecelik bir açıya sahip olur. Uzunluğu doğumda 17-18 mm olan östaki borusu, erişkin yaşlarda 35-36 mm'ye ulaşmaktadır (13,14). Östaki borusunun nazofarengal orifisi sert damak düzleminin yaklaşık 20 mm üzerindedir ve torus tubarius denilen dar kabarıklıkla posterolateral duvarda sonlanır. Östaki borusunun timpanik açıklığı 2x5 mm, nazofarengal açıklığı ise 2x1 mm boyutundadır.

Östaki borusunu tensor veli palatini ve levatör veli palatini kasları sarmaktadır. Östaki borusunun açılmasında aktif olarak rol oynayan tek kas, tensor veli palatini kasıdır(2,13). Kasın yaklaşık %60'ını kuvvetli ve çabuk kasılan beyaz lifler, kalan kısmını ise kırmızı renkli, yavaş ve uzun süreli kasılan lifler oluşturmaktadır. Levator veli palatini kasının östakiborusunun açılmasında direkt etkisi yoktur. Çünkü kas, östaki borusundan önemli sayılabilecek derecede uzaktadır. Levator veli palatini kasında beyaz ve kırmızı lifler eşit oranda yer almaktadır(2).

Östaki borusunun üç önemli fonksiyonu vardır:

1. Ventilasyon:Östaki borusunun en önemli fonksiyonudur. Orta kulak basıncını atmosferle eşitleyerek optimal işitmeyi sağlar(13). Östaki borusu normal şartlarda kapalıdır. Fakat aralıklı aktif açılma ile orta kulak basıncını çevre basıncı ile eşitlemeye çalışır. Aktif açılma yetersiz kaldığı durumlarda orta kulakta negatif basınç oluşmaktadır. Yutkunma, esneme, hapşırma hareketleri sonucunda açılarak orta kulağa hava giriş ve çıkışı sağlanır. Yutkunma, erişkinde dakikada 1 kez, çocuklarda ise dakikada 5 kez meydana gelir(2,15).

Sağlıklı insanda hava akımı temin etmek için 200-300 mm H<sub>2</sub>O basınca ihtiyaç vardır. Orta kulaktaki havayı dışarı atmak daha zordur. Orta kulakta basınç 400 mm H<sub>2</sub>O'yu aşarsa kısa sürede transuda meydana gelir. Şayet basınçta artış devam edecek olursa östaki kasları fonksiyon gösteremeyecektir. Orta kulak basıncı 1300 mm H<sub>2</sub>O'yu aşarsa timpanik membranda perforasyon gözlenebilir. Östakinin aktif açılış mekanizmasındaki bozuklukların organik nedenlerden çok fonksiyonel bir patoloji olduğu düşünülmektedir. Tuba östakinin aktif açılma mekanizmasında rol alan kaslar beyin sapından yönetilmektedir. Dolayısı ile östakinin açılması, açılma derecesi ve açılma sıklığı santral sistemler tarafından kontrol edilmektedir(2,15).

2. Klirens: Orta kulakta yer alan sekresyonların nazofarenkse iletilmesidir. Östaki borusunda nazosilier aktivite nazofarenkse doğrudur. Bu akımı östakinin fonksiyonel durumu, mukosilier aktivitesi, atılacak maddenin büyüklüğü ve orta kulak hava basıncı etkilemektedir. Orta kulakta negatif basınç olduğunda östaki borusundan drenaj bozulacaktır. Bazen orta kulaktaki negatif basınç drenajın fizyolojik yönünün değişmesine ve sekresyonların nazofarenkstenorta kulağa geçmesine neden olacaktır(2,15).

3. Koruma:Östaki borusu nazofarenkstekki materyalin orta kulağa geçmesini önler. Ayrıcalümenin kapalı tutulmasını sağlayan elastin, mukozal yerleşen lenfoid dokular veOstmann'in yağ dokusu da nazofarenksten orta kulağa reflü olmasını engeller. İstmusun, patent tuba östaki gibi aşırı geniş olduğu durumlarda nazofarenksten hem sıvı hemde hava orta kulağa kolaylıkla geçmektedir. Nazofarenkstekki sıvıların orta kulağa geçmesine 'reflux otitis media' adı verilmektedir (15). Çocuklarda östaki borusunun daha kısa olması, nazofarenksten orta kulağa aspirasyonun daha kolay olmasına neden olmaktadır(2).



Otitis media gelişiminde anormal östaki tüpü fonksiyonu önem arz etmektedir. Östaki tüp disfonksiyonuna sekonder gelişen olaylar arasında reflü, aspirasyon veya nazofarengeal bakterilerin orta kulağa geçişi sayılabilir(16).

Timpanik membran dış yüzde internal maksiller arterin aurikuler dalından beslenirken, mukozal yüzde internal maksiller arter, posterior aurikuler arter ve stilomastoid arterden beslenmektedir. Mukozal yüzeyde bu damarlar ışınal tarzda yerleşim gösterirler. Plikaların içinde ve manibrium mallei boyunca damarların daha kalın olduğu görülmektedir.

Timpanik membranın venöz drenajı, dış kulak yolu ve orta kulak boşluğunun venleri aracılığıylaadır.

Timpanik membranın lenfatik drenajı vasküler yapıları izler; mastoid apeks ve tragus önünde yerleşmiş servikal lenf nodlarına ya da östaki tüpünün lenfatiklerine drene olurlar.

Timpanik membranın duyusal sinirleri esas olarak Nervus Trigemini (V) ve Nervus Vagustan (X) gelir. Nervus Fasialis (VII) arka kısma duyusal dallar verir. İç yüzün duyusunu ise Nervus Glossofaringeus (IX) almaktadır(2).

## **İNSAN TİMPANİK MEMBRAN VE ORTA KULAK HİSTOLOJİSİ**

Timpanik membran, histolojik açıdan üç tabakadan oluşmaktadır: dış epidermal tabaka, lamina propria ve iç mukozal tabaka. Epidermal tabaka, cilt epidermisine benzer ve keratinize epitel içerir. Cilt epitelinden farklı olarak daha ince bir yapıya sahiptir. Epitel, folikül ve glandlardan yoksundur. İçyüzde mukozal tabakada ise tek katlı kuboidal epitel mevcuttur(17,2).Orta tabaka olan lamina propria, fibrositler, kollajen lifler ve kapiller damarlardan oluşur(2). Lamina propria, timpanik membranın PT ve PF kısımlarında farklı yapısal histolojik özellikler göstermektedir. Pars tensada iki epitel arasında kollajen lifler belirli bir düzen içerisinde yerleşmiştir. Dış tabakada lifler, radial tarzda sıralanırken, içte sirküler tarzda yerleşim gösterir. Pars flaksida, pars tensa ile karşılaştırıldığında elastik liflerden zengin, kollajen liflerden fakirdir. Kollajen lifler, pars flaksidada daha düzensiz yerleşim göstermektedir (2,17).Pars tensa lamina propriası PF ile

karşılaştırıldığında daha incedir, fakat daha sert, elastik ve dayanıklı bir özellik gösterir(18).

Tip 1 kollajen lifleri, güce karşı dokuya direnç sağlarken, tip 2 kollajen lifleri deformasyona karşı dayanıklılık ve şekil vermektedir. Tip 3 kollajen ise yapıya elastikiyet kazandırmaktadır. Kollajen tip 4 ise bariyer görevini üstlenmektedir(17).

Knutson ve ark. (17) yaptıkları çalışmada pars tensada tip 2 ve 4 kollajenin çoğunlukta olduğunu göstermişlerdir. Pars flaksida da hâkim olan kollajen ise kollajen tip 1 'dir(18).

Lamina propria, orta kulakta attik, hipotimpanium ve östaki ağzında daha kalındır. Diğer orta kulak kısımlarında ise daha ince yerleşim gösterir(18).

İnsan orta kulak mukozası, mastoid ve östaki tüp içerisinde beş tip hücre mevcuttur. Bunlar;(I) sekretuar granülleri olmayan silyasız hücreler, (II) sekretuar granülleri olan silyasız hücreler (goblet hücresi içeren), (III) silyalı hücreler, (IV) intermediate hücreler, (V) bazal hücreler. Mastoid kavitede basit squamoz veya küboidal epitel baskındır. Bazı spesmenlerde silyalı hücreler de görülebilmektedir. Mezoimpanium ve epimpaniumda genellikle daha uzun ve silyalı epitel gözlenir. Promontoryumda sekretuar ve nonsekretuar kolumnar epitel bulunur. Nadiren goblet hücre ve glandları bulunur. Orta kulak mukozası, modifiye solunum yolu epiteli ile döşelidir(12).

### **ORTA KULAK ve TİMPANİK MEMBRAN EMBRİYOLOJİSİ**

Timpanik membran, birinci ve ikinci brankial poşlardan ve birinci brankial arktan gelişmektedir. Birinci brankial arkın ektoderminden dış yüzey epiteli oluşturmaktadır. Birinci brankial poşun endoderminden iç yüzey epiteli gelişir. Birinci ve ikinci brankial poşların mesoderminden ise; iç ve dış yüzey epiteli arasında kalan konnektif doku tabakası gelişmektedir(19).

Orta kulak, östaki tüpü ile birlikte tubotimpanik resesten gelişmektedir. Gestasyonun 3. haftasında 3. ark genişlerken, ikinci ark ve farenks (birinci poş) arasındaki boşluk baskılanır ve böylece östaki tüpü oluşur(14). Tubotimpanik

resesin lateral bölümü orta kulağı oluşturmaktadır. 1. eksternal farengeal yarığın üst ucunda ektoderm kalınlaşmasıyla dış kulak yolu oluşmaktadır. Tubotimpanik resesde endodermal ve ektodermal yüzeyler arasındaki birleşmeden ise timpanik membran gelişmektedir. Timpanik halka, TM'nin etrafında meatal tıkaç ve tubotimpanik resesin birleşme yerinde membran olarak şekillenir ve doğumdan sonra intramembranöz ossifikasyonla uzar. Birinci brankial ark kartilajı (Meckel kartilajı) tubotimpanik resesin önünde, ikinci ark kartilajı(Reichert's kartilajı) tubotimpanik boşluğun arkasında uzanır(2). Meckel's kartilajı ve Reichert's kartilajı fibröz doku ile birbirine bağlanır. Embriyonik hayatın 6. haftasında inkus ve malleus tek bir kitle halinde karşımıza çıkar. 8. haftada ayrılma gerçekleşir ve malleoinkudal nokta gelişir. Malleus baş ve boynu, inkus gövdesi ve kısa proçesi Meckel's kartilajdan (mesoderm, birinci ark), uzun proçes ve manibrium Reichert's kartilajdan (ikincil ark mesoderm) gelişir(14). Reichert's kartilajının üst ucunun yoğunlaşmasından ise stapesin geliştiği düşünülmektedir(2). 1-2 ve 3. brankial arkların yakınlığı nedeni ile beş, yedi ve dokuzuncu sinirler orta kulakta görülürler. Onuncu hafta ile birlikte pnömatizasyon başlar, antrum yirmi üçüncü haftada açığa çıkar. Orta kulak boşluğu doğuma kadar mukoid konnektif doku ile doludur. Yirmisekizinci haftada ise timpanik membran görünür hale gelir. Timpanik membran, her üç dokudan da derive olmuştur;ektodermden skuamoz tabaka, mezodermden fibröz tabaka ve endodermden mukozal tabaka gelişmektedir. 12-28. haftalar arası dört primer mukozal kese orta kulakta özellikli anatomik bölge oluşturur; sakkus antikusdan anterior von Troeltsch poşu, sakkus mediusdan epitimpanium ve petröz bölge, sakkus süperiordan posterior von Troeltsch poşu, mastoid, inkudal boşluk gelişirken sakkus posteriordan oval ve yuvarlak pencere nişi ve sinüs timpani gelişir. Doğumla beraber embriyonik subepitelyal rezorbe olur, pnömatizasyon orta kulak antrumu ve mastoide doğru uzanır. Son olarak temporal kemik petröz parçası pnomatize olur ve bu pnömatizasyon puberteye kadar devam eder (2,14).

## SIÇAN ORTA KULAK ANATOMİSİ

Fizyolojik deneyler için canlı hayvan kullanımının gerekli olduğunu Bernard, 1865 yılında dile getirmiştir. 1877 yılından itibaren deneysel amaçlı sıçanlar yetiştirilmektedir. Takiben sıçanlarda standardizasyon amaçlanmış ve ilk albino sıçan 1906 yılında bulunmuştur(20).1978 yılında sıçan orta kulak morfolojisi, Fleischer tarafından mikrotip organizasyon ortaya konularak tanımlanmıştır(21). Günümüzde 130'dan fazla sıçan soyu bilinmektedir. Bunların 50'den fazlası kısmen ya da tamamen Wistarlardan üretilmiştir. Çeşitli sıçan soyları;

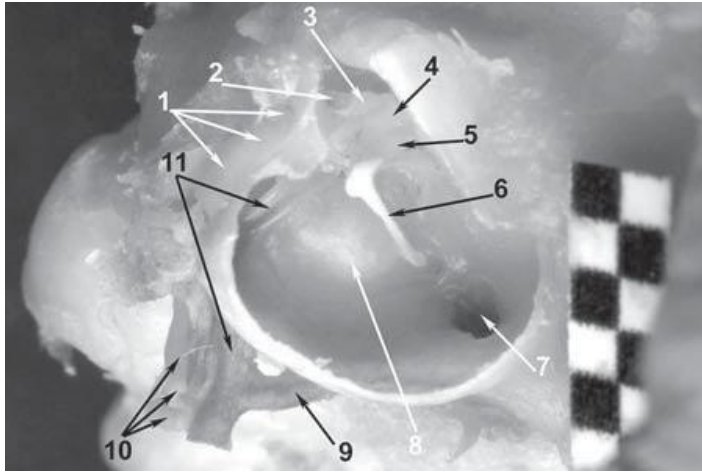
-Wistar albino

-Lewis

-Sprague Dawley

-Brown norwegian

-Fisher(20)



**Resim 1.** Sağ Timpanik kavite. Scale bar 0.5 mm; 1- fasial sinir 2-inkus kısa kolu 3- inkus gövdesi 4- malleus başı 5 -malleus anterior proçesi 6-malleus handle 7-auditor kanal timpanik ağzı 8- promontoryum 9- temporal kemik kanalına girmeden hemen önce internal karotid arter 10- juguler foramen sinirleri 11- stapedia arter.

Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, sıçan ve insan timpanik membranı histolojik olarak benzer özelliklere sahiptir. Bu benzerlik ve timpanik membranın sıçanlarda otomikroskopik muayenesinin kolay olması nedeni ile yapılan çalışmalarda sıçanlar daha çok tercih edilmektedir(22).

İnsanlarda, timpanik membran yüzey alanı  $\sim 66 \text{ mm}^2$  dir. Sıçanlarda ise yalnızca  $\sim 11 \text{ mm}^2$  dir(23). Pars tensa ve pars flaksidanın rölatif boyutları da insanlardan farklıdır. Pars flaksida, insanlarda timpanik membranın toplam büyüklüğü ile karşılaştırıldığında çok küçük iken, sıçanlarda aksine timpanik membranın 1/4 ila 1/3'ünü oluşturur. Sıçan orta kulağında yer alan kemikçikler insandakiler ile karşılaştırıldığında daha küçük oldukları görülür, yaklaşık insanların dörtte biri boyundadır(24).

Sıçanlarda timpanik kavite üç bölüme ayrılmıştır; timpanik bullanın alt kısmı hipotimpanium olarak adlandırılmaktadır, orta kısım mezotimpanium ve üst kısmı epitimpanium olarak adlandırılmaktadır. Timpanik bulla duvarı düzdür. Rostrale doğru bulla auditor kanala doğru yönelir. Arka iç duvar juguler foramendeki sinir ve damarlarla komşudur. Bulla kaudali aşağısında stilomastoid foramen vardır. Timpanik kavitedeki santral kabarıklık promontoryuma aittir. Promontoryum kohleanın bazal turuna ait kabarıklığıdır. Promontoryum rostrali kemik auditor kanala açılmaktadır. Promontoryum rostral ve kaudalinde 1 mm derinlikte oval pencereye ait gölge görülmektedir. Kavite fasial sinir kanalı ile komşudur (25). Sıçanlarda östaki tüpü genellikle kapalıdır, goblet hücreleri ve daha az miktarda müköz glandlar östaki mukozasını oluşturmaktadır. Östaki tüpü açılma basıncı sıçanlarda da insandaki gibidir (21). Sıçan ve insan mukozası mukosilyer transport sistemi dağılımında da benzer özellikler gösterir(26).

### **Sıçan ve İnsan Timpanik Membran Karşılaştırması;**

Sıçan ve insan timpanik membranları arasındaki farklar aşağıda sıralanmıştır;

1. Sıçanlarda PF insan timpanik membranı ile karşılaştırıldığında daha geniş bir alana sahiptir. Sıçanlarda PF, PT'ninyaklasık üçte biri kadarken insanda ise yirmide biri kadardır.

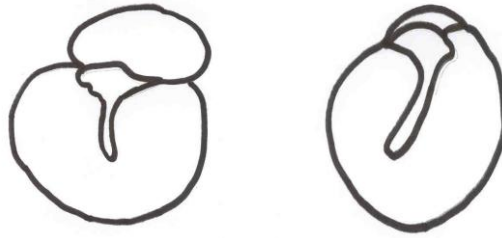
2. Sıçanlarda malleusun kısa proçesi arkaya doğru yönelim gösterirken, insanlarda ön tarafı işaret eder.

3. Sıçan timpanik membranında manubrium mallei yukarıdan aşağıya doğru kavislenerek uzanır. İnsanlarda ise manubrium mallei yukarıdan aşağıya doğru uzanırken önden arkaya doğru da yönelim göstermektedir.

4. Sıçan timpanik membranının ön-arka çapı 2.2-2.4 mm iken, insan timpanik membranının ön-arka çapı 9-10mm civarındadır.

SIÇAN

İNSAN



**Sekil 1.** Sıçan ve insan timpanik membranlarının şematik karşılaştırılması (PF: Parsflaksida, PT: Pars tensa, ANT: Anterior, POST: Posterior) (27)

## TİMPANOSKLEROZ

Timpanoskleroz;timpanik membran ve orta kulak submukozasında hyalin ve kalsifiye depozit birikimi ile karakterize bir süreçtir(28). Kollajen dokudaki iyileşme sürecinin sonucu olarak karşımıza çıkar(29).

İlk olarak 1734 yılında Cassebohm tarafından timpanik membranda kalsifiye plaklar tanımlanmıştır. Takiben 1837 yıllarında Von Troeltsch, timpanoskleroza bağlı orta kulak ve timpanik membran değişikliklerini tanımlamıştır. 1956 yılında ise Zollner tarafından timpanoskleroz ve otoskleroz arasındaki farklar ortaya konmuştur(30). Timpanosklerozu bu günkü anlamda ilk tanımlayan 1883 yılında Politzer olmuştur (3).

Orta kulaktimpanosklerozu yavaş geliştiği ve klinik bulgular hastalığın son safhasında ortaya çıktığı için gerçek insidansı söylemek güçtür. Toplumda görülme sıklığı Plester (3) tarafından %10 olarak bildirilmiştir. Paperella 1993 yılında yapılan çalışmalar sonucunda timpanosklerozun, ventilasyon tüpü uygulananlarda %19.7, kronik otitis media vakalarında %9-38, 30 yaş üstü kişilerde ise%80 oranlarında görüldüğünü söylemiştir (28). Yine Zollner, Sheehy ve House kronik otit olgularının üçte birinde timpanoskleroz görüldüğünü ifade etmişlerdir(13,9).

### **Timpanoskleroz Klinik Tipleri;**

Timpanoskleroz klinik olarak; orta kulak timpanosklerozu ve timpanik membran timpanosklerozu (miringoskleroz) olmak üzereiki başlık altında incelenmektedir.

Timpanik membran timpanosklerozu (miringoskleroz); timpanik membran üzerinde kresent veya at-nalı şeklinde plaklar halinde gözlenir(31).

Timpanik membranda timpanosklerotik odaklar ya kendi başına ya da orta kulak timpanosklerozunun bir belirtisi olarak bulunur. Genellikle membran ön

kadranında, daha az olarak da arka kadranda yerleşim gösterirler. At nalı şeklinde olanlar timpanik membran alt kadranı da içine alabilir(4).

Orta kulak timpanoskleroza; efüzyonlu otitis media (EOM), akut otitis media (AOM) veya kronik otitis medianın (KOM) iyileşme sürecinde, orta kulak mukozasının lamina propriasında kalsifiye birikimler ve dejenerasyonlarla ortaya çıkar (4).

Wielinga ve Kerr timpanoskleroza dört grupta sınıflandırmıştır:

Tip I: Perfore ya da salim timpanik membranı tutan tip

Tip II: Hareketli bir stapesle beraber malleus-inkus kompleksini etkileyerek, attik fiksasyonu yapan tip

Tip III: Stapes tabanında fiksasyon yapan tip, eğer varsa malleus-inkus kompleksi mobil, stapes suprastrüktürü olmayabilir.

Tip IV: Stapes, taban ve malleus-inkus kompleksinde fiksasyon yapan tip(32).

### **Etyopatogenez;**

Timpanoskleroz etyopatogenezini hala net olarak açıklığa kavuşturulamamış konulardandır. Timpanoskleroz, lamina proprianın bir hastalığıdır. Timpanik membran ve orta kulak hasarı sonrası, yara iyileşme süreci aşamalarında ortaya çıkan geri dönüşümsüz bir olaydır. Hasar sonrası aşırı iyileşme cevabı ile karakterizedir. Hasar, yalnız epiteli etkilemediği sürece hangi dokuda olursa olsun, benzer onarım özellikleri gösterecektir. Bu kural timpanik membran ve orta kulak hasarı için de geçerlidir (33,34).

Yapılan çalışmalar, timpanosklerozun üç fazda geliştiğini göstermektedir. Başlangıç fazında, inflamatuvar sürecin neden olduğu kollajen fibrillerde hasar ön plandadır. Bu fazda eksudasyon gözlenir. Geri dönüşümlü bir fazdır. İkinci faz, onarım fazıdır ve aşırı kollajenizasyon ve hiyalinizasyona neden olan fibroblastik invazyonla karakterizedir. Klinik olarak otoskopide mukozadan minimal kabarık, hafif beyaz, kartilajimsı lezyon şeklinde görülürler. Bu yapı operasyonlar esnasında kolayca soyulabilir özellik göstermektedir. Üçüncü ve son faz ise kalsifikasyon ve



nadiren ossifikasyon ile karakterizedir. Patoloji artık geri dönüşümsüz bir hal almıştır(35).

Santos ve ark. bu süreci beş fazda incelemişlerdir ve bu fazları eksudasyon, granülasyon, fibrozis, hiyalinizasyon ve kalsifikasyon olarak tanımlamışlardır. Hiyalinizasyon ve kalsifikasyon aşamaları geri dönüşümsüz fazlar olarak nitelendirilmekle beraber miringskleroz olarak adlandırılmaktadır(36).



Tablo1. Kalsifiye timpanosklerotik plak gelişimi

Timpanoskleroz ve miringskleroz gelişiminde inflamasyon, mekanik travma, otoimmünite, genetik faktörler gibi mekanizmalar üzerinden teoriler geliştirilmiştir. Aşağıda patolojik süreçte önemli yeri olduğu düşünülen faktörler üzerinde duracağız.

### **İnflamasyon;**

Timpanoskleroz hastalarında öykü derinleştirildiğinde çoğu zaman akut otitis media, kronik otitis media veya ventilasyon tüpü öyküsü mevcuttur. Timpanoskleroz, hem hafif inflamatuvar süreç sonrası hemde ağır enfeksiyon sonrası görülebilmektedir. İşte bu sebepten öngörü zordur. Otitis media sonrası TS insidansı % 20- 43 arasında değişmektedir(37).

Hussl ve Lim orta kulak konnektif dokuda gelişen plakların, kalsifikasyon ile sonuçlanan dejeneratif sürecin ürünü olduğunu söylemişlerdir. Efüzyonlu otit veya akut otitis medianın konnektif dokudaki destrüktif sürecinin, kollajen dejenerasyonuna ve distrofik kalsifikasyon ve timpanoskleroz açacağı hipotezini öne sürmüşlerdir. Kollajen dejenerasyonu, direkt orta kulaktaki enflamasyon veya enfeksiyon sonucu olabilir (örneğin bakteriyel proteinazlar ve kollajenazlar)(31).

Enfeksiyon sürecinde ilk olarak orta kulakta ödem ve kapiller dolgunluk ortaya çıkar. Orta kulak ve havalı boşluk mukozası polimorfonükleer (PMN) lökositler ile infiltre olur(4). Subepitelyal ödem, hemoraji ve kapiller geçirgenlikte artış gözlenir. Lamina propria kalınlaşma, orta şiddette metaplazi ve osteoit gözlenir(6). Takiben pürülan sekresyon boşlukları doldurur. Epitelde ülserasyon olması granülasyona gidiş ile sonuçlanabilir. İltihabi durumun devam etmesi sonucunda havalı boşluklar tıkanarak enzimatik yollarla kemikte erimeye neden olur. Bu enfeksiyöz tablo zaman içinde yerini fibrozise bırakır(4).

İnflamasyonun erken döneminde aktive olan makrofajlardan salınan Nitrik oksit(NO) ve diğer mediatörlerin neden olduğu doku hasarının iyileşmesi fibrozis ile sonuçlanmaktadır. Artmış fibroblastik aktivite ve kollajen sentezi hiyalinizasyona neden olmakta, hiyalinize alanların kalsifikasyonu sonucunda da miringoskleroz ve timpanoskleroz oluşmaktadır.

Otitis mediada çeşitli immün hücreler ve mediatörler zamana bağlı olarak salınırlar. Bu reaksiyonlar zinciri sonucu makrofajlardan osteoklastlara dönüşüm gerçekleşmektedir. Bu durum belki de timpanoskleroz gelişimine neden olur.

Flodini ve ark.(37) yaptıkları iki ayaklı çalışmada sıçan timpanik membranına pnömokok enjekte ederek akut otiti indüklemişlerdir. Takiben lenfositik popülasyon, makrofaj, IL-6, indüklenebilir nitrik oksit sentaz ve MHC II değerlerini çalışmışlardır. Çalışmalarında orta kulak enfeksiyonundan sonra ilk olarak ortama makrofajların geldiğini göstermişlerdir. Takiben B ve T hücreleri tabloda yerini almaktadır. IL-6, m-RNA inokulasyondan yaklaşık bir saat sonra açığa çıkmıştır.

Forseni ve ark. (28) benzer bir çalışmayı insan timpanik membran biyopsi materyalleri üzerinde yapmıştır. Dokuz seröz otit nedeni ile ventilasyon tüpü uygulanan çocuk hasta ve 11 timpanosklerozlu kronik otitli çocuk hasta çalışmaya dâhil edilmiş. Yapılan çalışmada makrofaj, B hücreleri ve IL -6 daha sıklıkla seröz otitis mediası olan grupta gözlenmiş, dolayısı ile hastalığın erken fazında ortaya çıktığını ifade etmişlerdir. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz ise timpanoskleroz gelişmiş vakalarda daha fazla gözlenmiştir, dolayısı ile hastalığın geç fazında ortaya çıktığı düşünülmektedir.

TS gelişiminde, otit esnasında enflamatuvar hücrelerin ve bakterilerin ürettiği SOR'nin rol aldığı da düşünülmektedir. Orta kulak enfeksiyonlarında ya aşırı SOR üretimi ya da bakterilerin direkt etkisi ile doku hasarı geliştiği düşünülmektedir. Serbest oksijen radikalleri en sık bağ dokularındaki makrofajlarca üretildiğinden oluşabilecek hasar, en sık bu bölgelerde meydana gelir(3).

Mattson's ve ark. (38) yirmidört sıçanın dahil edildiği çalışmasında enflamasyon sonrası oluşan serbest oksijen radikallerinin miringoskleroz gelişiminde etkin olabileceği hipotezinden yola çıkmıştır. Miringotomi uyguladığı sıçanları üç gruba ayırarak birinci gruba anti-enflamatuvar olan dexametazon, ikinci gruba RU486 intraperitoneal olarak uygulamıştır. Üçüncü grup ise kontrol grubu olarak kabul edilmiştir. Çalışma sonucunda dexametazon uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı şekilde miringoskleroz oluşumu açısından fark olduğu gözlenmiş. Dexametazon uygulanan grupta miringoskleroz ve enflamasyonun daha az miktarda olduğu görülmüştür.

Akut otitis media veya parasentez sonrası gelişen kalsifikasyon süreci ve sklerotik plaklar kemik dokusunu taklit etmektedir ve üç kemik modelling marker ile açıklanmaktadır; osteopontin (OPN), osteoprotegerin (OPG) ve osteonektin (ON). Raustyte ve ark. (39) tiplendirilmemiş H. influenzae kullanarak oluşturdukları deneysel akut otitis mediadan dört gün sonra timpanik membrana miringotomi uygulamışlardır. İnokülasyonun 4,7,14 ve 28. günlerinde timpanik membrana diseke ederek immünohistokimyasal olarak analiz etmişlerdir. Sonuç olarak;başlangıçta kalsiyum depozisyonunun timpanik membran pars tensa ve flaksidada makrofaj sitoplazmasında olduğunu görmüşlerdir. OPN'nin erken dönemde makrofaj ve pars

tonsada fibrosit gibi inflamatuvar hücrelerden salındığını göstermişlerdir. OPG salınımı başlangıçta inflamatuvar hücrelerde iken, geç dönemde pars tonsada fibrositlerdedir. İleri safhalarda miringotomize veya miringotomisiz kulaklarda marker ekspresyonu açısından fark gözlenmemiştir. Bu çalışmada; akut otitis mediada miringotomi olsun ya da olmasın makrofaj ve fibrositlerin başrol aldığı osteopontin, osteoprogentin ve osteonektin salınımının kalsifikasyonla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Miringoskleroz patogeneğinde göz önünde bulundurulması gerektiğine dikkat çekilmiştir.

Timpanoskleroz gelişiminde enfeksiyon sürecinde etken olan mikroorganizmaların sürece etkisi değişken midir? Thomasen ve ark. (40) yaptıkları çalışmada *Strep. Pneumonie*, *H. Influenzae* ve *Moraxella Cattarhalis* sıçan timpanik membranlarına enjekte ederek akut otit meydana getirmişlerdir. Oluşan otit tablosunda mikroorganizmalara göre histolojik değişiklikleri karşılaştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda *H. Influenzae* etkenli otitlerde artmış goblet hücre dansitesi, polip ve fibroz adezyon gözlenmiştir. Mukozal sekretuar kapasiteyi en fazla artıran mikroorganizma *H. Influenzae* olarak tesbit edilmiştir. *Strep. Pneumonie*de benzer şiddetle değişiklikler oluşturmasına karşın, etkileri genellikle yeni kemik formasyonu oluşturma eğiliminde olduğu görülmüştür. *M. Cattarhalis* ile oluşturulan enfeksiyonlarda ise histolojik değişikliklerin daha hafif derecede olduğu görülmüştür.

Yapılan bir başka çalışmada, *Strep. Pneumonie tip 3* ile oluşturulan akut otitlerin klinik olarak daha ciddi boyutta görüldüğü, skar ve miringoskleroz oranının daha yüksek olduğu görülmüştür. *Tiplendirilmemiş H. Influenzae* ile daha hafif şiddette akut otit geliştiği ve iyileşme döneminde timpanik membranda yalnız skar dokusu olduğu görülmüştür (41).

### **Mekanik travma;**

Wielinga ve ark.(42) yaptıkları çalışma sonucunda efüzyonlu otitis mediada timpanoskleroz gelişimininde enfektif sürecin etkisinden ziyade mekanik hasarın etkin olduğu fikrini öne sürmüşlerdir.

Wielinga ve arkadaşları sıçanlarda yaptıkları çalışmada yalnız östaki tüpünü tıkayarak enfeksiyon olmadan timpanoskleroz gelişimini göstermişlerdir ve yalnız deformasyon ile plak gelişimi olabileceğini savunmuşlardır(31).

Steril ve enfekte efüzyon indüksiyonu pars tensa fibröz dokusunda değişiklikler oluşturmaktadır, fakat her iki durumda da farklı yapısal değişiklikler mevcuttur. Steril efüzyonlar sonunda her zaman timpanoskleroz gelişmektedir. Enfekte efüzyonlarda ise hemen hepsinde lamina proprianın normal hücre ile homojen konnektif doku ile tama yakın onarımı sözkonusudur. Bu fibröz dokuda sirküler ve radial dizilim yoktur. Hiyalinizasyon ve kalsifikasyon yoktur. Bu bulgular ışığında timpanosklerozun nonenfekte efüzyondan kaynaklandığı söylenebilir. Timpanoskleroz, lamina proprianın mekanik hasarı sonrası ve/veya kanlanmasının bozulmasına bağlı da gelişebilmektedir(42).

Efüzyonlu kronik otitis media da ventilasyon tüpü(VT) uygulaması kabul görmüş bir tedavi yöntemidir. Pediatrik yaş grubunda en sık kullanılan cerrahilerden birisidir. Bu cerrahi girişimin en sık rastlanan komplikasyonu ise timpanosklerozdur (7).Hussl ve Mueller (42) yaptıkları bir çalışmada timpanosklerozun efüzyonlu otitis media sonrasında geliştiğini savunmuşlardır.Efüzyonlu otitis media tedavisinde VT uygulanmasının 6-8 yıl sonrasında hastaların %19.7sinde timpanoskleroz geliştiğini görmüşlerdir.Farklı literatürlerde değişik sonuçlar verilebilse de VT sonrası miringoskleroz insidansı % 25-35 arasında değişmektedir (7).

Başka bir çalışmada timpanoskleroz, VT uygulananlarda %30-50 oranında gözlenirken, tedavi edilmemiş veya yalnız miringotomi uygulanmış kulaklarda %0-21 arasında gözlenmiştir. Prospektif klinik çalışmalarda bir kez VT uygulamasının rekürren VT uygulaması ile karşılaştırıldığında timpanoskleroz prevalans ve şiddetinde değişiklik oluşturmadığı görülmüştür. 1983 yılında Tos da benzer sonuçlar elde etmiştir. Sonraki yıllarda Danish'in çalışmasında bu bulguların aksine birden fazla VT uygulandığında miringoskleroz prevalansının daha fazla olduğu görülmüştür(43).

Timpanoskleroz gelişiminde tüpün kulakta kalma süresi de patolojik süreci etkilemektedir. VT takıldığında tüp kenarlarında hiperemi ile kendini gösteren

inflamatuar reaksiyon göze çarpar, bu durum yaklaşık üç hafta kadar devam etmektedir. VT atıldığında ise perforasyon kapanma süreci başlar. TS, VT'nin atılması ve zardaki perforasyonun kapanması sırasında veya sonrasında gelişir. Bu süreç içinde parasentez esnasında yapılan travma ve kulak zarı içine kanama TS gelişimi açısından önem arz etmektedir(2). Dawes ve ark. (7); travmatik tüp yerleştirilmesi, hemoraji ve orta kulaktaki mayinin aşırı aspirasyonu sonrasında MS gelişim riskinin arttığını öne sürmüşlerdir. Kanama sonunda kulak zarı tabakaları arasında serbest hemoglobin ortaya çıkar ve böylece TS süreci başlar (4).

Bu hipotezler göz önünde bulundurularak Banerjie ve ark. (44) kanama miktarını azaltarak miringoskleroz oluşumunun önlenme ihtimalini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmaya ilk defa VT uygulanacak elli çocuk dâhil edilmiş. Mirinotomi sonrası, VT uygulanmadan hemen önce timpanik membrana adrenalın damlatarak kanama miktarını azaltarak miringoskleroz gelişimini incelemişlerdir. Hastaların operasyon sonrası birinci yıl kontrollerinde adrenalın uygulanan ve uygulanmayan gruplar arasında miringoskleroz gelişimi açısından istatistiksel anlamlı fark elde edilememiştir. Bu durumda yalnız miringotomi veya yalnız VT tatbiki sonrası mekanik travma ile stres indüklenebilir ve miringoskleroz gelişebilir düşüncesi daha baskın hale gelmiştir.

Tos ve Stangerup grommet takılan hastalarda yalnız parasentez yapılan grupla karşılaştırıldığında daha fazla oranda miringoskleroz geliştiğini tesbit etmişlerdir (%59-%13). Daly yaptığı çalışmada 4-15 yaş arası çocukların 4 yıllık takiplerinde ortalama timpanoskleroz insidansını% 10 olarak değerlendirmiştir. Kronik otitis mediada bu oran %9 ile %38 arasındadır. Kinney kronik otitis media nedeni ile cerrahiye giden veya timpanostomi tüpü sekeli olarak 1495 hastanın %20 sinde timpanoskleroz tesbit etmiştir(4).

De Beer ve ark. (45) 358 deneğin dâhil edildiği çalışmalarında, denekleri okul öncesi çağdan yetişkin döneme (8-18 yaş) kadar takip etmişlerdir. Öykülerinde otitis media varlığı ve ventilasyon tüpü uygulaması ile timpanik membran anomalileri (timpanoskleroz, atrofi,atelektazi,retraksiyon cepleri)arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda; otitis mediası olan ve ventilasyon tüpü ile tedavi edilen grupta timpanoskleroz dışındaki patolojilerin yaşla beraber spontan

olarak onarılabildiği görülmüştür. Timpanoskleroz en sık görülen sekel olarak değerlendirilmiştir.

Orta kulak kavitesinde oluşan hiperoksit duruma sekonder artmış oksijen radikali üretimi sonucu miringoskleroz gelişebileceğini destekleyen çalışmalar vardır(7). Orta kulak kavitesinin oksijen konsantrasyon seviyesi yaklaşık %5- 10 arasında değişmektedir. Orta kulak gaz seviyeleri kan gazı aracılığı ile düzenlenmektedir. Miringotomi uygulaması, orta kulağa fazla miktarda hava geçmesine imkân sağlamaktadır ve göreceli olarak hiperoksit durum gerçekleşmektedir (3,8).

Mattson ve ark. (7) yaptıkları çalışmada; miringotomize sıçanları farklı oksijen konsantrasyonlarına maruz bırakmışlardır. Bu çalışmada yüksek oksijen konsantrasyonu olan sıçanlarda miringosklerozun daha yüksek seviyede ortaya çıkartıldığı gösterilmiştir. Mattson yaptığı bir diğer çalışmada travmatize alana bakır çinko süperoksit dismutaz+katalaz, deferrioksamin veya bakır sülfat + demir klorid ile tedavi edildiğinde bakır çinko süperoksit dismutaz+katalaz ve deferrioksamin verilen grupta miringoskleroz gelişiminin durduğu veya azaldığı görülmüştür.

Karlıdağ ve ark. (46) yaptıkları çalışmada orta kulak biyopsi materyallerinde nitrik oksit ve malondialdehit seviyelerini timpanosklerozu olan ve olmayan örneklerde ölçmüşlerdir. Timpanosklerozu olan grupta antioksidan olarak görev yapan superoksit dismutaz gibi ajanların daha düşük oranda olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda nitrik oksit ve malondialdehit gibi ajanları timpanosklerozlu hastalarda daha yüksek oranlarda tesbit etmişlerdir.

### **Otoimmün nedenler;**

Bir diğer üzerinde durulan neden ise timpanik membran ve orta kulakta gerçekleşen otoimmün süreçtir.

Morgan' a göre TS, tip 3 immün kompleks hastalığı olarak düşünülmelidir. Schiff ve ark,yaptıkları çalışmada tavşandan elde edilen serum ile kobayın kulak zarı lamina propriasında pasif duyarlılık oluşturdular. Takiben parasentez, fizik travma ve ağır infeksiyon aracılığı ile pasif duyarlılık elde edilmiş otoantikörlere yeni aktif

otoantikorlar eklenmesini sağladıklarında bu evrede tip 3 hipersensitivite reaksiyonuyla doku harabiyeti meydana geldiği görüldü.

Cevanşir ve ark. TS lu olgularda genetik temelde HLA doku tipi antijenlerinden A1 ve DR3antijenleri anlamlı derecede yüksek bulunduğunuyaptıkları çalışmada ifade etmişlerdir (4).

Aslan ve ark,(47) 40 kişilik hastanın 20'sini timpanoskleroz tanısı ile 20 sini ise kronik otit tanısı ile operasyona almışlardır. Hastaların serum matriks metalloproteinaz seviyelerine bakıldığında; timpanoskleroz grubunda kronik otit ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, belirgin olarak matriks metalloproteinaz 2 ve 9 seviyelerinde artış tesbit etmişlerdir. Matriks mettalloproteinaz 1 seviyelerinde ise gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark gözlenmemiştir.

#### **Genetik nedenler;**

Her orta kulak enfeksiyonu geçiren veya ventilasyon tüpü uygulanan hastada timpanoskleroz ve/veya miringoskleroz gelişmemesinin patolojik süreçte genetik zeminin rol oynayabileceğini düşündürmüştür(48). Koç ve ark. (49) yaptıkları çalışmada ventilasyon tüpüne sekonder miringoskleroz insidansını cinsiyet göz önünde bulundurarak araştırmışlardır. Aynı tip orta kulak hastalığı olan ve aynı operasyon tekniği kullanılan hastalar karşılaştırıldığında belirgin erkek cinsiyet hakimiyeti olduğunu göstermişlerdir.

Timpanosklerozdaki kalsifikasyon süreci, hücre sayıları, fibroblast, makrofaj, IL-2 reseptörlerinde artışla seyreden ateroskleroz gibi hastalıklardaki kalsifikasyon süreci ile benzerdir. Matrix metalloproteinazlar(MMP) ekstrasellüler matriks degregasyonunda anahtar rol oynayan çinko ve kalsiyum ilişkili endopeptidazlar ailesinin bir üyesidir. MMP'lar kollajen, elastin, proteoglikanlar, laminin ve fibronektin gibi ekstrasellüler matriks elemanlarını degrade edebilir. Stromal hücreler, makrofajlar ve nötrofil gibi birçok hücreden salınabilirler. Bu nedenle MMP'ların, konnektif doku yeniden yapılanmasında anjiogenez esnasında muhtemel mediatör olduğu düşünülmektedir. Ayrıca normal yeniden yapılanma sürecinde de önemli olduğu düşünülmektedir. MMP aktivasyon ve aşırı salınımı veya aktif MMP ve MMP doku inhibitörleri arasındaki uyumsuzluk bir çok



spesifik durumla ilişkilendirilmiştir. Bunlar arasında romatoid artrit, periodontal hastalıklar, tümör invazyonu, metastaz, ateroskleroz, anjiogenez ve anevrizma gibi vasküler süreçler sayılabilir(35).

Koç ve ark. (47) yaptıkları çalışmalarında ateroskleroz ve miringosklerozun ışık ve elektron mikroskopisinde benzer özellikler göstermesine dayanarak ateroskleroz ve miringoskleroz arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Normal popülasyon ile karşılaştırıldığında ateroskleroza olan hastalarda TS görülme insidansının daha yüksek olduğu görülmüştür. Aterosklerozda ise genetiğin rolü iyi bilinmektedir.

Ferri ve ark. (50) ciddi karotid stenozu tanısı ile cerrahiye giden hastaların otoskopik muayenesi ve kulak veya vasküler patoloji öyküsü bulunmayan hastaların otoskopik muayenesini karşılaştırmışlardır. Sonuçta istatistiksel olarak anlamlı şekilde karotis stenozu olan hastalarda miringoskleroz insidansını daha yüksek olarak bulmuşlardır.

Ateroskleroz ve timpanoskleroz travma, endotelial hasar ve enfeksiyon gibi olayların son manifestasyonudur. Konnektif doku hasarı sonrası kalınlaşma, hiyalin dejenerasyon ve kalsifikasyon ile devam eden bir süreç söz konusudur. Üneri ve ark. (49) elektron mikroskopik bakıda ateroskleroz plaklarını arter duvarında ve orta kulakta gözlemişlerdir. Hem timpanoskleroz hem de aterosklerozda benzer histopatolojik görüntüler elde edilmiştir.

Alpay ve ark, kronik otitli TS'ü olan ve olmayan hastalarda Toll Like Reseptör 4(TLR4) gen polimorfizmini araştırdıkları çalışmada, TS olan grupta anlamlı derecede pozitif polimorfizm tesbit edilmiş. Bu durum neden her kronik otit vakasında timpanoskleroz gelişmediğini açıklamaya ön ayak olmuştur. Fakat netliğe kavuşması açısından ileri çalışmalar gerekmektedir (51).

### ***Histopatolojik görüntü;***

Çalışmalar TS gelişiminde üç fazdan bahsetmişlerdir. Başlangıç fazında inflamatuvar sürecin neden olduğu kollajen fibril hasarı mevcuttur. Bu faz eksudasyon fazıdır. Geri dönüşümlü olduğu düşünülmektedir. İkinci faz onarım fazıdır ve aşırı

kollajenizasyon ve hiyalinizasyona neden olan fibroblastik invazyon ile karakterizedir. Bu durum sonucunda dokuda homojen kitle görüntüsü ortaya çıkmaktadır. Klinik olarak bu durum dokudan hafif kabarık beyazımsı kartilaj doku şeklinde kendini gösterecektir. Bu doku operasyon odasında kolaylıkla soyulabilir. Üçüncü faz ise geri dönüşümsüzdür. Kalsifikasyon nadiren de ossifikasyon ile karakterizedir(35).

Yapılan bir başka çalışmada timpanoskleroz gelişimi histolojik olarak 5 fazda değerlendirilmiştir (36):

Faz 1: Polimorfonükleer infiltrasyonu ile karakterize eksudasyon safhası

Faz 2: Mononükleer makrofaj sistem elemanları birikimi ile karakterize neovaskülarizasyonun görüldüğü granülasyon

Faz 3: Damarlanmada azalma, kollajen fibrillerinin organizasyonu ve fibroblast proliferasyonu ile karakterize fibrozis

Faz 4: Fibroblast sayısında azalma, plak olumunda artma ile karakterize hiyalinizasyon

Faz 5: Kemik veya kartilaj görünümü veren kollajen matriks birikimi, kalsiyum ve fosfor birikimi ile karakterize kalsifikasyon

Histolojik olarak timpanik mebran ve orta kulak subepitelyal konnektif dokuda asellüler hiyalinizasyon olarak görülmektedir. Çoğu vakada kalsifikasyon gelişmektedir. Ayrıca bu lezyonlarda osteogenezis de görülebilmektedir. Kemik depozisyonu ve ossikuler fiksasyon genellikle attiktedir ve malleus başı ve inkus arasındadır, plaklar aşık hale geldiğinde lamina propria ile sınırlıdır (31).

Timpanoskleroz, elektron mikroskopik olarak üç boyutlu düzensiz kollajen, attik ve etrafında sferik mineralize agregatlardan oluşan bir görüntü sunar(28).

### ***Timpanoskleroz klinik bulgular;***

Timpanosklerozda klinik bulgular timpanosklerotik plakların yerleşim yerine göre değişiklik göstermektedir(28). Hastalar asemptomatik olabileceği gibi değişen

derecelerde işitme kaybı, kulakta çınlama şikâyetleri ile de başvurabilirler. Odiolojik olarak orta kulak timpanoskleroza, genellikle çift taraflı ve ileri derecede iletim veya mikst tip işitme kaybı oluşturmaktadır(15).

TS, orta kulak mukozası, timpanik membran, epitimpanium, kemik zincir, ossiküler ligamanlar ve kas tendonlarında görülebilmektedir(29). Fakat timpanosklerotik odaklar orta kulakta özellikle üç yerde yoğunlaşmıştır; attik, inkudostapedial eklem ve promontorium. Attikteki timpanosklerotik odaklar, kemikcikleri zar gibi örterek malleus-inkus hareketlerini sınırlandırır. Attikteki önemli cerrahi mihenk noktalarının tanınmasını zorlaştırırlar. İnkudostapedial ekleme oluşan plaklar ise inkus uzun kolu ve stapesi örterek görülmelerini engeller. Stapes ile fasial kanal ve stapes ile promontorium arasını doldururlar(4).

Yalnız timpanik membranda yer alan plaklar, anlamlı derecede işitme kaybına neden olmazken, epitimpaniumda kemikcikleri tutan ve stapes suprastrüktürü veya oval pencere ayaklarını tutan TS vakalarında değişen derecelerde işitme kaybı gözlenmektedir(28). Ayrıca şiddetli vakalarda otik kapsül de etkilenebilmektedir, bu takdirde sensörinöral işitme kaybı ortaya çıkmaktadır. Nadir de olsa total işitme kaybı dahi gözlenebilmektedir(27). Membrandaki plaklara benzer şekilde promontoriumdaki sklerotik plaklar da işitme üzerine olumsuz etki yapmazlar(4). Yine pencereleri tutan timpanoskleroz olgularında tinnitus görülebilmektedir(15).

Odiolojik bulgular timpanoskerozun yerleşim yerine göre değişiklikler göstermektedir. Kazıkdaş ve ark.(52) sıçanlarda deneysel miringoskleroz oluşturduktan sonra timpanometrik olarak inceleme yapmışlardır. Sonuç olarak sklerotik materyal nedeni ile timpanik membran mobilitesi azalmakta ve timpanogramda amplitüde azalmaya neden olmaktadır. Böylece tip As timpanogram sonucu elde edilmektedir.

Otoskleroz ve timpanoskleroz birbirinden farklı histopatolojik süreç olmalarına karşın otoskleroz, %5 oranında timpanosklerotik plaklarla birlikte görülmektedir. Bu plaklar epitimpaniumda, malleus-inkus çevresinde ve pencereler civarında gözlemlendiğinde işitmeyi olumsuz olarak etkilemektedir. Bu

olgular datedaviden fayda görme ihtimali açısından otoskleroz ile karşılaştırıldığında başarı şansının daha az olduğu görülmektedir(15).

Kronik otite sekonder gelişen timpanoskleroz vakalarında genellikle aktif süpürasyon bulunmaz. Ayrıca TS, timpanoplasti vakalarında cerrahi başarıda kötü prognostik göstergedir(29).

### ***Timpanoskleroz Tedavisi;***

Timpanosklerozun küratif bir tedavi yöntemi yoktur. Bazen cerrahi prosedürler uygulansa da rekürrensler siktir ve mevcut işitmede azalma söz konusu olabilir. Ayrıca cerrahinin iatrojenik sensörinöral işitme kaybı gibi riskleri vardır, bu nedenle cerrahinin potansiyel faydası bu hastalarda sorgulanmalıdır. Mobilizasyon yapılan olgularda cerrahi yeni bir doku travması oluşturduğundan bir süre sonra yeniden TS plak oluşarak işitmeyi bozmaktadır. Austin, Sheehy ve House, Tos ve arkadaşları cerrahi prosedürleri önerirken, bir kısım yazar TS tedavisinde cerrahinin en son çözüm olduğunu savunmaktadırlar (3).

Tedavi yöntemleri üç ana başlık altında incelenebilir; koruyucu tedavi, medikal tedavi ve cerrahi tedavi.

***Koryucu tedavi;*** Timpanoskleroz gelişimini önlemeye yöneliktir. Schiff'e göre TS oluşumunun önüne geçilebilir. AOM tedavisi yeterli sürede verilmelidir. İmmünolojik zeminin de olduğu vakalarda mezenşimal duyarlılık söz konusu olabilir. Bu durumda *H.influenzae* ve *streptokoklar* gibi bakteriler temizlense bile bu bakterilerin katabolik yıkım ürünleri, iltihap hücreleri ve özellikle lenfositler mukozada defektler açarak lamina propriada duyarlılık meydana getirebilirler.

Timpanoskleroz gelişimini önlemek amacıyla yapılan çalışmalarda çeşitli ajanların etkinliği araştırılmıştır. Özcanve ark, metalloproteinaz inhibitör etkisi olan doksisisiklin kullanarak miringotomi ve akut otit geliştirdikleri sıçan timpanik membranında TS gelişiminde azalma tesbit etmişlerdir(35).

Cıncıkve ark, 70 sıçan üzerinde yaptıkları çalışmada miringotomi sonrası birinci gruba antifibrinolitik özellikleri bilinen 5-FU, ikinci gruba mitomisin-C topikal olarak uygulamışlardır. Üçüncü grubu ise kontrol grubu olarak kabul

etmişlerdir. Sonuçta mitomisin-C ve 5-FU eşit oranda miringoskleroz gelişimini azalttığını göstermişlerdir (53).

Üneri ve ark. miringotomi ve ventilasyon tüpü uygulanan 72 çocuk üzerinde yaptıkları çalışmada Evitamininin antioksidan özelliğinden faydalanarak miringoskleroz oluşumunu kontrol grubu ile karşılaştırarak değerlendirmişlerdir. Sonuçta Evitamini kullanılan grupta anlamlı derecede miringoskleroz gelişiminin az olduğunu göstermişlerdir (54).

Özcan ve ark, N-acetylcysteine (NAC) konsantrasyonlarını değiştirerek yaptıkları çalışmada yine miringoskleroz gelişiminde NAC 'in MS' u azaltıcı etkisi olduğunu görmüşlerdir. Aynı çalışma grubu yine sistemik selenyum kullanarak rat membranının da miringosklerozun azaldığını göstermişlerdir (10).

**Medikal tedavi;** kalsiyum antagonistlerinin oluşabilecek distrofik kalsifikasyonun önüne geçebileceği düşünülmektedir. Lizozomal stabilize edici ve antienflamatuar ilaçların bu dokuda patolojik gelişmeleri yavaşlattığı bilinmektedir. Fakat küratif tedavi metodları değildir. Bu açıdan ileri çalışmalar gerekmektedir(4).

**Cerrahi tedavi;** iletim tipi işitme kayıplarının mikrocerrahi metodlar ile ortadan kaldırması veya sosyal hayat için gerekli işitmeyi sağlamak amaçlanmaktadır (32).

Timpanosklerozun cerrahi tedavisi timpanoplasti, işitme rekonstrüksiyonu ile beraber timpanoplasti gibi cerrahi prosedürleri içermektedir. Genel olarak kabul gören seçenek işitme rekonstrüksiyonu yapılan prosedürlerdir(55).

Smyth'e göre timpanoskleroz, ossikuloplasti için kontraendikasyon kabul edilmektedir. Diğer otolojistlere göre ise cerrahi belki de en iyi seçenektir. Sheehy ve House'a göre timpanoplasti prensipleri şu şekildedir; öncelikle geri dönüşümsüz hastalığın çıkartılması, intakt ve mobil timpanik membranın rekonstrüksiyonu ve ses iletim mekanizmasının restorasyonudur (32).

Timpanoskleroz cerrahisinde patolojinin yerleşim yeri cerrahi metodu değiştireceği ve patolojinin kesin değerlendirilmesinin intraoperatif yapılacağı için

deneyimli kişiler tarafından uygulanması gerekmektedir. Atik lokalizasyonlu timpanosklerozde atik bypass yöntemi veya kemikcik mobilizasyonu ile beraber atik dış duvarının alınması yöntemleri uygulanabilir. Kemikcik mobilizasyonu Zöllner, Sheehy ve Charachon tarafından desteklenmektedir (32).

Stapes timpanosklerozu için iki cerrahi seçenek mevcuttur. Birincisi mobilizasyon, ikincisi ise stapedektomi veya stapedotomidir. Stapes tabanı veya bacakları plaklar ile tutulu ise işitme rekonstrüksiyonu stapedotomi, stapedektomi, teflon piston uygulaması gibi prosedürler uygulanarak yapılabilmektedir. Cerrahi esnasında mobilizasyon yapılması, bir nevi doku travması olduğu için tekrar TS gelişimine neden olabilir ve işitme tekrar bozulabilir(3).

Mobilizasyon tekniğinin avantajı cerrahinin tek basamakta sonlandırabilmesidir. Önemli bir de avantajı ise sensörinöral işitme kaybı gelişebilmesidir. İşitme kaybı kohlear hasar, hidrolik travma veya perilenf fistülünden kaynaklanmaktadır. Emmet ve Shea mobilizasyon uyguladıkları vakalarda yaklaşık 27 dB lik kazanç elde ederken, stapedektomi uyguladıkları vakalarda 26 dB lik kazanç elde etmişlerdir. Giddings ve House 154 hastanın 10 yıllık takibinde, mobilizasyon uygulanan ve stapedektomi uygulanan hastaların işitme seviyeleri ve işitmeyi ayırt etme skorlarını karşılaştırdıklarında fark olmadığı gözlemlenmiştir(32).

Timpanosklerotik plakların temizlenmesi her zaman mümkün olmamaktadır. Temizlendiği vakalarda ise refleksiyon nedeni ile erken dönemde tekrar işitme kaybı gözlenebilmektedir(3). Timpanoskleroz cerrahi tedavisinde, primer patolojik sürecin halen aktif olması sebebi ile cerrahi tedavi düşük oranlarda başarı sağlamaktadır Cerrahi sonrası erken dönemde hava-kemik aralığı düzelse de uzun dönem takiplerde odiojik bulgular operasyon öncesi döneme gerileyebilmektedir(10).

Smyth ve ark. kemikcik rekonstrüksiyonu (stapedektomi, total ossikuler rekonstrüksiyon) ile birlikte yaptıkları timpanoskleroz cerrahilerinin %79 unda mükemmel işitme sonuçları elde ettiklerini söylemişlerdir. Buna rağmen Gormley kendi vakalarında uzun dönem takip sonucunda yalnızca %7 vakada hava-kemik

aralığını 21'den az olarak değerlendirdi. Bu durum timpanosklerozlu vakalarda stapedektomiye sorgulattır pozisyona getirdi.

Yakın zamanlı serilerde tek basamaklı yapılan cerrahilerde 57 vakanın %27'sinde kohlear kayıp tesbit edilmiştir. Timpanoplasti verekonstrüksiyon timpanoskleroz vakalarında uygulanabilmekle beraber kohlear hasar riski oldukça büyüktür ve gözönünde bulundurulmalıdır(31).

### ***Oksidatif Stres ve Serbest Oksijen Radikalleri***

Oksidatif stres; oksidan oluşumu ve antioksidan savunma arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması ile ortaya çıkan ve yaşlanma, kanser, kalp hastalıkları, diyabet ve diyabetin komplikasyonları başta olmak üzere pek çok patolojik tablonun zemininde rol oynayan bir tablodur (56).

Serbest oksijen radikalleri; dış yörüngesinde tek sayıda serbest elektronbulunan, kimyasal olarak reaktif atom veya moleküllerdir. Organizmada "süperoksit" ve "hidroksil" gibi serbest radikallere ek olarak, "hidrojen peroksit" ve "hipoklorözasi" gibi radikal olmayan fakat serbest radikal oluşturma potansiyeli bulunan zararlı oksijen türevleri de oluşabilmektedir (57,58). Aerobik canlılarda Serbest oksijen radikalleri belirli oranlarda oluşmaktadır. Fagositik hücrelerin savunma mekanizmalarında önemli rolleri mevcuttur. Serbest radikaller, paylaşılmamış elektronlarından dolayı, protein, karbonhidrat ve nükleik asitlerle reaksiyona girer ve bu moleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar (59). SOR normal oksidatif metabolizmanın bir ürünü olabileceği gibi inflamasyon, oksijen toksisitesi, perfüzyon hasarı ve radyasyon sonrası da ortaya çıkabilmektedir (54). Serbest oksijen radikallerinin, hücre bileşenleri ile oluşturdukları reaksiyonlar şunlardır:

**Proteinler:** Aminoasitler ile reaksiyona giren serbest radikaller, proteinyapısındaki enzimlerin spesifik aktivitelerini ortadan kaldırırlar. Protein bağlanma ve enzim aktivitelerinde ortaya çıkan farklılaşma hücrede fonksiyonel bozukluklar oluşturur (60).

**Karbonhidratlar:** Polisakkarit polimerizasyonunda artışneden olan serbest radikaller, glukoz gibi monosakkaritlerin oto-oksidasyonu sonucu hidrojenperoksit, diğerk peroksitler ve oksialdehitler oluşumuna neden olur. Böylece bozulan moleküler yapıışlevini kaybeder (59).

**Nükleik Asitler:** Serbest radikaller, DNA zincirinde kırılmalar meydana getirirler. DNA hasarı sonrası aktive olan ‘polimeraz’ enzimi ile reaksiyona girerek DNA’nın onarımına engel olurlar (61).

**Lipidler:** Serbest radikaller, hücre membranlarındaki kolesterol ve doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Oksidatif hasarın temel etkimekanizması bu şekildedir (62,63).

Haddad’ın(64) yaptığı deneysel çalışmada ise akut otitis mediada ortaya çıkan lipid peroksidasyonunun orta kulak mukozasında zamanla ilişkili seviyelerini araştırmıştır.Çalışma sonucunda lipid peroksidasyon ürünü olan lipid peroksidasyonunun otitis medianın ilk beş ve onuncu günlerde en yüksek seviyede olduğunu, yirmi ve otuzuncu günlerde ise anlamlı derecede azaldığını göstermiştir.

Takoude ve ark. (65)insan orta kulak mukozasında enfeksiyon ile ilişkili serbest oksijen radikali üretimini araştırmışlar. Orta kulak efüzyonu bulunan 35 çocuğun kulağından mayi örnekleri alınarak, seröz, mukoid ve pürülan olarak sınıflandırılmış. Mayi içerisinde serbest radikal hasarı göstergesi olarak lipid hidroksiperoksit seviyeleri değerlendirilmiş. Çalışma sonucunda her üç mayi içerisinde lipid hidroksiperoksid farklı seviyelerde tesbit edilmiş, fakat mukoid grup seröz grup ile karşılaştırıldığında daha yüksek seviyede lipid hidroksiperokside sahip olduğu görülmüş. Benzer sonuçlar pürülan grup seröz grupla karşılaştırıldığında da elde edilmiş.

Serbest radikaller, in vivo ortamda normal metabolizma esnasında ksantin oksidaz ve nitrik oksit sentaz gibi enzimler aracılığı ile üretilir. Polimorfonükleer lökositler de serbest radikaller üretiminde rol alır. Fagositoz ve araşidonik asit metabolizması sürecinde süperoksit radikaller artmış miktarda üretilirler ve miringoskleroz oluşumuna katkıda bulunurlar. Serbest oksijen radikallere karşı ilk defans süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile olur. SOD süperoksit radikallerin



detoksifikasyonunda rol alır. Hidrojen peroksit radikallerinin detoksifikasyonunda katalaz da rol almaktadır. Nitrik oksit (NO) biyoaktivitesi süperoksit ile etkileşimine bağlıdır. Süperoksit dismutaz indirekt olarak NO aktivitesini korur. Karlıdağ ve ark. timpanosklerozlu hastalarda eritrositlerde süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitesinin TS olmayan hastalara göre daha düşük olduğunu tesbit etmişlerdir (46).

Diğer radikallerin aksine NO düşük düzeylerde önemli fonksiyonlar yerine getirirken yüksek konsantrasyonlarda hücre için zararlı bir molekül haline gelmektedir (66). NO indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) tarafından sentezlenir (67). NO aktif makrofaj ve endotelial hücrelerden salınır. NO orta kulağın inflamatuvar cevabında rol alır (46).iNOS, aşırı NO üretimi ile dokuda hasar gelişimine katkıda bulunur. NO kısa sürede havadaki O<sub>2</sub> ile oksitlenerek nitrojen dioksite dönüşür. Nitrojen dioksit dokular için oldukça zararlı bir moleküldür. NO üzerinde yük taşınamaması, çiftlenmemiş elektron taşıması nedeni ile hücreler arası geçişlerde herhangi bir engele maruz kalmadan kolayca hareket etmektedir. Bu çiftlenmemiş elektron taşıması NO'e radikal özelliği kazandırır.NO ve serbest radikaller orta kulakta bir dizi reaksiyona girer ve nihayet timpanoskleroz formasyonu gelişir. Aşırı miktarda üretilen NO inflamasyon gibi durumlarda süperoksit radikalleri ile reaksiyona girerek aslında patojenlere karşı sitotoksik aktivite gösteren peroksinitrite dönüşür. Fakat peroksinitrit sitotoksik etkisini kendi hücrelerinde de hasar oluşturarak gösterebilir (68).

### *Antioksidanlar*

Serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "**antioksidan savunma sistemleri**" veya kısaca "**antioksidanlar**" olarak bilinirler.

Antioksidanlar altı kategoride sınıflandırılabilirler;

1. Peroksil radikallerinin zayıf OH veya NH bağları ile reaksiyona girerek zincir kırıcı etki gösterenler
2. Alkil radikalleri ile reaksiyona girerek zincir kırıcı etki gösterenler
3. Hidroksiperoksitleri eriterek antioksidan etki gösterenler
4. Metallerin aktivasyonunu önleyerek etki gösterenler
5. Döngüsel zinciri sonlandırarak etki gösterenler
6. Çeşitli antioksidanlar ile sinerji gösterenler (69).

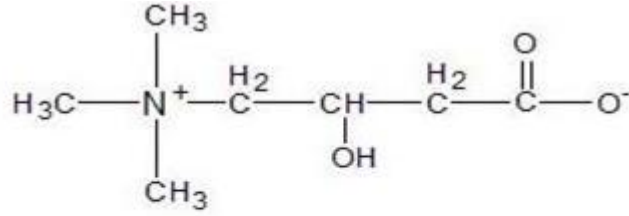
Antioksidanlar endojen veya eksojen kaynaklı olabilir. Aşağıda çeşitli antioksidanlar alfabetik sıra ile verilmiştir (69).

Alfabetik isim	Antioksidan kategorisi	Örnek
Antioksidan C	Karotenoidler	B-karoten, Lutein
Antioksidan E	Enzimler	SOD, Katalaz, GPx
Antioksidan G	Glutasyon	Glutasyon
Antioksidan H	Hormonlar	Melatonin, Östrojen
Antioksidan L	Lipid ilişkili kimyasal	Ubikinon 10, N-asetil sistein, lipoik asit
Antioksidan M	Mineraller	Çinko, Selenyum, Bakır
Antioksidan P	Fenoller	Quersetin, Katekin
Antioksidan S	Steroidler	Kortizon, Östradiol, Östriol
Antioksidan V	Vitaminler	A-tokoferol, askobik asit

**Tablo2.** Alfabetik sıra ile çeşitli antioksidanlar

Kampf ve ark, N-asetil sistein'in (NAC) NO üretimini inhibe ettiğini göstermiştir. Bergamini ve ark. NAC'in iNOS protein ekspresyonunu inhibe ettiğini, NAC eklenmesinin lipopolisakkarit bağımlı NO üretimini modüle ettiğini göstermiştir. Özcan ve ark, yaptığı çalışmada miringotomize sıçanlarda NAC kullanılan grupta, tedavi almayan grup ile karşılaştırıldığında NO seviyelerinin düşük olduğu, NAC'ın NO artışını önlediği gösterilmiş (67). NAC'ın daha önceki çalışmalarda makrofajlardan serbest oksijen radikallerinin üretimini baskıladığı görülmüştür(10).

## KARNİTİN



L-Karnitin kimyasal yapısı

Kimyaca, beta-hidroksi-gama-trietilamonyum butirat'tır. Bir aminoasit türevidir. Et, süt ve süt ürünlerinde bulunur. Diyetle alınabilir. Vücutta karaciğer ve böbreklerden proteinler içindeki lizin'den sentez edilir. Karaciğer, endojen karnitin üretimi için ana kaynaktır. Sentez için C vitamini, niasin, piridoksin, demir, S-adenozilmetionine gerek vardır. Karnitin, kaslarda depo edilir, fakat üretimi kaslarda gerçekleşmez. Böbrekler karnitinin yaklaşık % 95'ini filtre ederek, hemostazında büyük rol almaktadır. Karnitin, organik asitlerin böbreklerden atılımını da kolaylaştırmaktadır(70-72).

Karnitinin bilinen en önemli fonksiyonu; uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondride oksidasyonudur. Bu olay için yağ asitlerinin karnitin açil transferazlar aracılığı ile açilkarnitin türevi haline geçmesi gerekmektedir. Bu yolla mitokondrilere girmeleri (translokasyonları) gerekir. Karnitin, mitokondrilere oksidatif fosforilasyon olayını ve karbonhidratların aerobik metabolizmasını artırır. Ek olarak mitokondride L-karnitin açil- CoA üretimini nötralize eder. Bu süreç pürivat dehidrogenazı stimüle ederek glukozun oksidatif kullanımını artırır. Laktat üretimini ve asidozu azaltır(72,73).

L-carnitine farklı oksidatif kaynaklar arasında enerji regülasyonunu sağlar. İskemi esnasında bu regülatör mekanizma bozulmaktadır. L- karnitin serbest yağ asitlerinin sitozolden β-oksidasyona uğrayacakları mitokondriye transportunda esansiyel faktördür. L- karnitin antioksidandır. Lipid peroksidasyon son ürünlerinin depolanmasını önlemektedir(72).

Sayed Ahmet ve ark,(71) yaptıkları çalışma sonucunda serum ve idrar karnitin değerlerinin erken toksisite takibinde gösterge olabileceği sonucuna ulaşmışlardır. Oksidatif stres ve karnitin eksikliğinin Ifosfamid tedavisinin yan etkisi olarak görülen Fankoni sendromu ve burada görülen kardiyotoksisiteye neden olabileceğini göstermişlerdir. Propiyonil L-karnitinkullanarak karnitin desteğinin kardiyotoksisite gelişimini önlediğini savunmuşlardır.

Rodrigues ve ark. (74) alkolik malnutre sıçanlarda karnitinin hepatik nitrojen dengesi üzerine olan etkilerini araştırmak için yaptıkları çalışmada karnitinin herhangi bir olumlu etkisini tesbit edememişlerdir.

Ali ve ark.(70) yaptıkları çalışmada ise karbon tetra klorür ile hepatik hasar sonrası bir gruba karnitin, bir gruba, koenzim Q10 ve diğer grub ise kontrol grubu kabul edilmiş. Karbon tetra klorür uygulandıktan sonra hepatik glutatyon, albumin ve proteinlerde azalma, serum AST,ALT değerlerinde artış, lipit peroksidaz, sialik asit nitrik oksit değerlerinde artış tesbit edilmiş. Diğer yandan koenzim Q ve/veya karnitin ile tedavi edilen grupta istatistiksel olarak anlamlı ölçüde çoğu parametrede düzelme tesbit edilmiş.

Calandralle ve ark. (75) deneysel olarak oluşturdukları glokom da antioksidan ve antiapoptoitk özelliği bilinen karnitinin etkilerini araştırmışlar. Stres hücrelerinin tipik markerları olan glial fibrotik asidik protein, indüklenbilir nitrik oksit sentaz, ubiquitin, kaspaz 3 gibi ajanların karnitin kullanılan grupta azalmış olduğunu tesbit etmiştir.

Akbaş ve ark, (9) yirmi sıçan üzerinde yaptıkları çalışmada sıçanların timpanik membranlarına miringotomi açarak miringoskleroz oluşumunu indüklemişlerdir. Sıçanlar iki gruba ayrılarak birinci grup kontrol grubu olarak kabul edilmiş, ikinci gruba ise intraperitoneal karnitin uygulanmıştır. 28 günün sonunda sıçanlar dekapite edilerek timpanik membranları histopatolojik olarak ışık mikroskopisinde incelenmiş. Birinci grupta ikinci grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artış gösteren miringoskleroz tesbit edilmiş. Karnitinin muhtemel antioksidan etkisi üzerinden miringosklerozu azalttığı kanısına varılmış.

Arslan ve ark. (76) 16 sıçan üzerinde yaptığı çalışmada sıçanların ciltlerinde yanık oluşturduktan sonra sıçanları iki grupta incelemişler. Birinci grubu kontrol grubu kabul ederek herhangi bir medikasyon uygulanmış. İkinci gruba ise intraperitoneal yoldan 100mg/kg karnitin verilmiş. Tedavinin sekizinci gününde hem histopatolojik, hem makroskopik hemde biyokimyasal analizler yapılmış. Sonuç olarak yanığın ilerleyici etkilerinin karnitin tarafından durdurulduğu gözlenmiş. Tam kat yanıklarda nekrozu azalttığı gözlenmiş.

Tellioğlu ve ark.(77) yaptıkları bir diğer çalışma 30 sıçan üzerinde uygulanmıştır. Sıçanlarda kaldırılan dorsal cilt flebi takibi ve nekroz oranları değerlendirilmiştir. Birinci grup kontrol grubu olarak kabul edilmiş ve herhangi bir tedavi verilmemiştir. İkinci gruba 50mg/kg karnitin, üçüncü gruba ise 100 mg/kg karnitin intraperitoneal olarak verilmiştir. Bir haftanın sonunda yapılan analizlerde kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında karnitin gruplarında istatistiksel olarak anlamlı ve daha az miktarda nekroz gözlenmiştir. Düşük doz karnitin verilen grupta yüksek doz verilen gruba oranla daha fazla miktarda nekroz geliştiği görülmüştür.

Primer karnitin eksikliği, nadir görülen bir hastalıktır. Karnitin eksikliğinde halsizlik, yorgunluk, göğüs ve kas ağrısı, zayıflık, düşük kan basıncı ve /veya konfüzyon gözlenebilir(70).

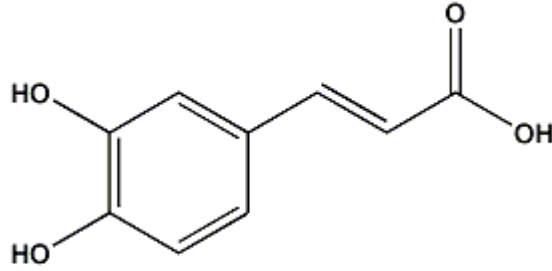
Primer karnitin eksikliği bazı kalıtsal hastalıklar ile birlikte ortaya çıkar ve nadir görülür. Myopati, kardiyomyopati, karaciğer bozukluğu, ketogenezin bozulması, yağın iskelet kası ve kalp kasında depolanmasına ve açlık sırasında hipoglisemiye neden olur. Sekonder karnitin eksikliği ise renal fonksiyon bozukluğu sonucu tubuluslardan veya hemodiyaliz nedeniyle karnitin kaybının aşırı derecede artması sebebi ile ortaya çıkar. Eksikliğin nadir görülmesi sebebi ile diyetle günlük rasyon değeri hesaplanamamıştır. Miadından önce doğmuş düşük doğum ağırlıklı prematür bebekler karnitin eksikliğine daha duyarlıdır. Proteinlerden fakir hububat esasına dayanan diyet, lizin ve metioininin eksik alınması nedeni ile, karnitin eksikliğine yol açabilir(73).

Primer eksikliğinde L-karnitin (levokarnitin), ağızdan günde 200mg/kg dozunda verilir, bazen 400 mg/kg verilmesi gerekir; günlük doz 2-4 doza bölünür. İntravenöz yoldan 3-4 doza bölünerek günde 100 mg/kg'a kadar verilebilir.

Sekonder eksiklikte ağızdan günde 1 g verilir: diyaliz hastalarında başlangıçta her seanstan sonra i.v. enjeksiyonla 20mg/kg verilir. Verilecek doz, kan karnitin konsantrasyonuna göre ayarlanır(73).

Koroner arter hastalıkları, konjestif kalp yetmezliği veya periferik damar hastalıkları gibi myokard veya çizgili kasta karnitin azalması olan ve enerji metabolizmasının bozulduğu durumlarda bir yararının olduğu halen inandırıcı bir şekilde gösterilmemiştir (73).

### KAFEİK ASİT FENİL ESTER



Kafeik asit kimyasal yapısı

Kafeik asit fenetil ester;balıdan elde edilen bir ekstretdir, propolis içeriğinde bulunan ve izole edilen çok geniş spektrumlu etkileri bulunan bir maddedir. Polifenolik asit türevidir(78).Kafeik asit fenil ester (CAPE), propolisin biyolojik olarak aktif bileşenlerinden biri olmakla birlikte, antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, immun uyarıcı ve karsinostatik, hasar önleyici, antikanser özellikleri bulunan bir bileşiktir. En önemli özelliklerinden biri tümör hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisidir. Transforme hücre serilerinde selektif apoptozu indüklemektedir. Kafeik asitin oksidatif süreci değiştirdiği iyi bilinmektedir. Ayrıca metal iyonların şelatizasyonu, serbest radikal kurtarıcı, serbest radikal ve lipid peroksidasyon

enzimlerini (lipooksijenaz ve siklooksijenaz 2) inhibe edici özellikleri vardır. CAPE, NF-κB aktivasyonunu inhibe eder, serbest radikaller ve inflamasyon ile ilişkili hastalıklarda hücrel hasarı azaltmaktadır (78-81). Memelilerde dokularda antioksidan savunma sisteminin, lipid peroksidasyon sürecinde rol oynayan bazı reaktif oksijen ürünlerinin inhibe edilerek gerçekleştiği bilinmektedir. Bu antioksidan sistem, enzimatik ve enzimatik olmayan yollar ile gerçekleşmektedir (82). Ayrıca komplet nonkompetitif mekanizma ile 5-lipooksijenaz inhibitörüdür (81).

Russo ve ark. yaptıkları hayvan çalışmalarında oksidatif hasarı azaltmada CAPE'nin önemli etkisi olduğunu göstermektedirler. Gürel ve ark. termal hasar oluşturdukları deneysel hayvan çalışmasında CAPE'nin ksantin oksidaz aktivitesini akciğer ve böbrekte suprese ettiğini gözlemişlerdir(82).

CAPE nin lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etkisi sıçanlarda yanık sonrası tedavide plazmada çalışılmış ve malondialdehit (MDA) seviyelerinde plazmada anlamlı derecede azalma gözlenmiştir.

Özyurt ve ark. sıçanlarda iskemi reperfüzyon hasarı sonrası kafeik asit ekleyerek plazma MDA seviyelerindeki azalmayı göstermişlerdir. Yara iyileşmesinde inflamasyon, immünomodülasyon ve oksidanların regülasyonu önem arz etmektedir (81).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda *invivo* olarak yenidoğan beyin hipoksik iskemik hasar modelinde CAPE' nin hücre ölümünden koruyucu etkisi gözlenmiştir. Yapılan kardiyak iskemik modelde hemodinamiyi stabilize ettiği ve hasar riskini azalttığı görülmüştür (79). Bu işlemi NF-κB inhibisyonu ile gerçekleştirmektedir. NF-κB inflamatuvar cevap, hücrel proliferasyon ve hücre adezyonundan sorumlu gen ekspresyonunda ubiquitin transkripsiyon faktörüdür(83).

CAPE, düşük glutatyon (GSH) düzeyiyle ilişkili olan korneal neovaskülerizasyonda ve lens epitel hücrelerinin transformasyonunun baskılanmasında koruyucu bir etki sergilemektedir. CAPE, insan koroner arter endotel hücrelerinde NF-κB üzerine etki ederek, ox-LDL aracılı degradasyonunu inhibe eder ve iskemiye bağlı hasarı önler.

Kemoterapide, CAPE' nin intestinal karsinogenezi baskıladığı, CAPE türevli bileşiklerin oral kansere karşı potansiyel ajanlar oldukları gösterilmiştir. İnsan HeLa, BEAS-2B, HL-60, MCF-7 ve sıçan ME 308 hücre hatları üzerinde çeşitli hücre kültürü çalışmaları çeşitli kimyasal karsinojenler ile yapılmıştır. Bu deneylerde kullanılan CAPE' nin oksidatif stresi azaltarak kanser önleyici bir madde olduğu ortaya konmuştur. CAPE, bir insan lösemik hücre hattı olan HL-60 hücreleri üzerinde apoptozise ve bununla ilişkili su atılımına, glutasyon tüketimine, mitokondriyal disfonksiyona, Bcl-2 “down-regülasyonu”na, Bax “up-regülasyonu”na ve Kaspaz-3 aktivasyonuna neden olmaktadır (73).

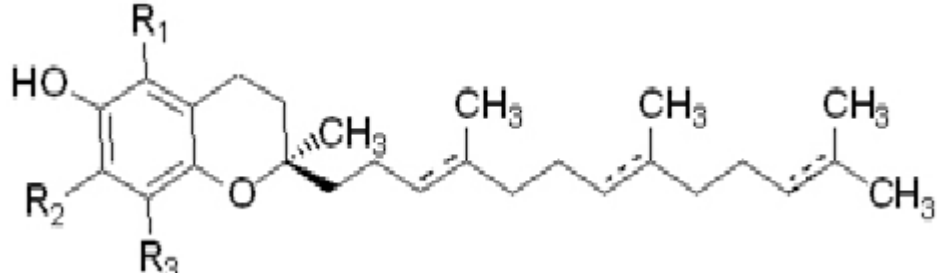
Kavaklı ve ark, (84) ise sıçanlarda spinal kord hasarı yaptıktan sonra bir gruba CAPE, bir gruba deksametazon vermişlerdir. Bir gruba ise herhangi bir tedavi vermemişlerdir. Serum malondialdehit seviyeleri karşılaştırıldığında en yüksek oran tedavi verilmeyen grupta gözlenmiştir. Takiben CAPE ve deksametazon grubu gelmektedir. CAPE'nin antioksidan özelliği vurgulanmıştır.

Serarslan ve ark. (81) yaptıkları çalışmada; ratlarda ciltte tam kat insizyon sonrası primer sütünasyonve yara iyileşmesi proçesi takibinde kafeik asit fenil esteri intraperitoneal olarak kullanmışlardır. Kontrol gurubu ile karşılaştırdıklarında yara iyileşmesini antioksidan ve SOR- kurtarıcılarının etkisi ile hızlandırdığı gösterilmiştir.

Song ve ark. (83) miringotomi uygulayarak miringosklerozu indükledikleri deneysel hayvan çalışması sonucunda tedavide CAPE uyguladıkları grubun tedavi almayan grup ile karşılaştırıldığında daha fazla skeroz geliştirdiğini, lamina propiranın daha ince olduğunu gözlemişler. Bu süreçte muhtemel mekanizmanın CAPE 'nin antioksidan ve antiinflamatuvar etkisinden kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.



## E VİTAMİNİ



BİLEŞEN	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	FİTİL ZİNCİRİ
<b>alfa-tokoferol</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Doymuş
<b>gama-tokoferol</b>	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Doymuş
<b>beta-tokoferol</b>	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	Doymuş
<b>delta-tokoferol</b>	H	H	CH <sub>3</sub>	Doymuş
<b>alfa-tokotrienol</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Doymamış
<b>gama-tokotrienol</b>	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Doymamış
<b>beta-tokotrienol</b>	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	Doymuş
<b>delta-tokotrienol</b>	H	H	CH <sub>3</sub>	Doymamış

Evans ve Bishop, 1925 yılında bazı lipidlerin eksikliğine bağlı olarak üreme yetersizliğini tesbit etmişlerdir. Eksik olan bu maddeye D vitamininden alfabetik sıraya göre daha sonra gelen E vitamini adını vermişlerdir. Evans 1936 yılında ise buğday tohumu yağından ekstrakte ettiği maddeyi tokoferol olarak adlandırmıştır. Yapılan laboratuvar çalışmalarında E vitamini almayan farelerin dünyayacanlı yavru getiremedikleri görülmüştür ve bu sebepten tocopherol kelimesi tocos: çocuk, phero: doğurtan, ol:alkol (molekülün alkol yapısını belirtmek için) sözcüklerinden türetilmiştir. Metil grubunun sayısı ve pozisyonuna göre E vitamini, sekiz anologtan oluşmaktadır(85).

E vitamini, tokoferoller (alfa, beta, gama ve delta) ve tokotrienoller (alfa, beta, gamave delta) olmak üzere iki farklı gruba ayrılır. Tokoferoller doymuş metil grubu taşıırken, tokotrienoller doymamış fitil zinciri taşımaktadırlar (85). Tokoferolün besinler içinde bulunan beta, gama, delta, eta ve zeta türevlerinin etkinliği, alfa tokoferolününe göre oldukça düşüktür. Tokoferoller kimyaca izoprenoid zinciri ile

süstitüe edilmiş 6-hidroksikroman (tokol ) türevleridir. Düşük derecede olmak üzere, besinler içindeki tokotrienollar da E vitamini etkinliği gösterir(73).Besinler içindeki E vitamini etkinliğinin yaklaşık %80'inin alfa tokoferole bağlı olduğu, geri kalan %20 'sinin diğer tokoferol türevlerinden ve tokotrienollardan ileri geldiği kabul edilmektedir (73).

Alfa tokoferolün kimyasal olarak ölçülebilmesi ve diğer E vitamini türevlerinin ölçümlerinin zor olması nedeni ile E vitamini değerlendirilirken yalnız alfa tokoferol miktarı ölçülür; besinler içindeki diğer türevlerin etkinliği alfa tokoferolünkinin %25'ine eşit olduğu düşünülerek elde edilen değere eklenir(73). En güçlü E vitamini etkinliği gösteren ve gıdalar içinde en fazla bulunan E vitamini türevi alfa tokoferoldür. Bu madde doğal olarak D izomeri halinde bulunur; sentetik olarak rasemik hali yapılır ve ilaç olarak da bu rasemik şekli kullanılmaktadır. Fiziksel özellikleri açısından bir sıvı yağdır(73). E vitaminin saf formları suda çözünmezken, alkol,organik çözücüler (aseton, kloroform, eter) ve bitkisel yağlarda kolaylıkla çözünebilir.

Bitkisel yağlardoğal vitamin E kaynaklarıdır (86,87). E vitamini; hububat tanelerinde (bunların yağ fraksiyonunda), mısır yağı, pamuk yağı, soya yağı ve diğer bitkisel sıvı yağlarda ve bunlardan yapılmış margarinlerde, et, hayvansal yağ, karcığer, balık eti, tavuk eti ve yumurtada bulunur (73,88). Kızartma, kaynatma ve saklama sırasında önemli ölçüde parçalanır. Anne sütünde oldukça fazladır (73). E vitamini sentezi insan ve hayvan vücudunda gerçekleşmediği için dışarıdan besinlerle alınması gereken vitaminlerdendir(89).

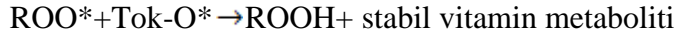
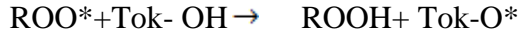
Yakın zamana kadar E vitamininin insan organizmasında fizyolojik önemi bulunmadığı ve eksikliğinde belirgin bir patolojik bozukluğun gelişmediği sanılırdı. Öte yandan sıçanlarda eksikliği halinde çeşitli bozukluklar geliştiği eskiden beri bilinmektedir. Yeni verilerin ışığı altında E vitamininin, insanda fizyolojik öneminin olduğu ve eksikliği halinde belirli patolojik bozukluklar oluştuğu saptanmıştır. Günlük E vitamini gereksinimi kesin olarak belirlenmemiştir. 3-15 mg olduğu düşünülmektedir. Günlük tavsiye edilen rasyon çocuklarda 3-7 mg ve erişkinlerde 10-12 mg' dır(73, 90).VitaminE iyi bilinen hidrofobik, yağda çözünen, zincir kırıcı bir antioksidandır(61).Vücuttaki ve gıdalardaki karotenleri ve diğer okside olabilen

materyalleri koruyan doğal bir antioksidandır. Oksidatif stres birçok hastalığın patogeneğinde yer almaktadır(88). Vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturan fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka, antioksidan özelliğini de sağlamaktadır. Yağ dokusu, adrenal bezler, testis, kalp, karaciğer ve trombositlerde değişik miktarlarda bulunur. Hücre içinde çok mitokondri, mikrozom, nükleus ve plazma membranı gibi hücrel komponentlerde yoğunlaşırlar. Miyokard membranlarındaki miktarı oldukça fazladır(90).

Oksidasyon-redüksiyon işlemleri birçok biyolojik sistem için gereklidir, fakat oksidatif uyarı ve antioksidan savunma sistemi denge halinde olmalıdır. Serbest oksijen radikalleri üretimine doğal koruyucu antioksidanlar arasındaki denge bozulduğunda oksidatif strese neden olabilir ve lipidlerin, nükleik asitlerin, proteinlerin aşırı oksidasyonu sonucu hücre hasarı gelişebilir (88).

E vitamini, peroksitleri ve serbest oksijen radikallerini nötralize edebilir. Hücre membran fosfolipidlerinin poli-doymamış yağ asitleri (linoleik asit ve araşidonik asit gibi), spontan olarak veya oksidan metabolitlerin varlığı sonucu kolayca oksitlenerek peroksit türevlerine dönüşebilir. Gerçekleşen bu olaya lipid peroksidasyonu veya otooksidasyonu adı verilir. Bu olay esnasında membranda serbest oksijen radikalleri oluşur. Sürecin gelişmesini önleyen veya serbest oksijen radikallerini nötralize eden en güçlü antioksidan faktör E vitamini'dir. E vitamini, hücre ve subcellüler yapıların membran lipidleri üzerindeki bu etkisi nedeni ile bu membranları oksidatif zedelenmeye karşı korur. Böylece eritrosit membranının stabilitesi artırır, aynı etkiyi diğer hücrelerde de gösterir. Özellikle plazma ve kırmızı hücrelerde esansiyel SOR temizleyicisidir.  $\alpha$ -tocopherol, diabetik sıçanlarda indüklenebilir nitrik oksit sentaz aktivitesini ve siklik glutamat monofosfat değerlerini azaltmaktadır. Siklooksijenaz-2 (COX-2) enziminin substratı olan okside hiperoksitleri temizlemek yolu ile COX-2 aktivitesini azalttığı görülmüştür. Diğer çalışmalarda COX-2 aktivitesini peroksinitrit seviyesini azaltarak gerçekleştirmektedir. Bir diğer mekanizma ise prostoglandin E2 (PGE2) üretimini azaltarak COX aktivitesini direkt inhibe etmesidir (91).

E vitamini (Tok-OH), peroksitler üzerindeki nötralize edici etkisini, kendisinin bir fenolik hidrojen atomunu peroksil radikale (ROO\*) transfer etmek suretiyle aşağıdaki şekilde iki basamakta yapar:



Polat ve ark.(8) timpanik membran ve orta kulak mukozasında E vitamininin serbest radikal değerlerini düşürdüğünü göstermişlerdir. Susamanve ark. intramusküler E vitamini kullanarak guinea pig biyokimyasal değerlerinde MDA da anlamlı azalma tesbit etmiştir.

Vitamin E, reaktif oksijen ürünlerini nötralize ederek membranda lipit peroksidasyonunu önler. Böylece kardiyovasküler sistem gibi organların yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü korur. Reaktif oksijen ürünlerinin nötralizasyonunu takiben kendisi bir radikale döner antioksidan özelliğini devam ettiremez. Dihidrofolik asit varlığında ise tekrar vitamin E formuna dönmektedir(92,73).

E vitamini, A vitamininin barsaktan emilimini artırarak doku konsantrasyonlarını artırır. E vitamini hücrelerde ubikinon'un da oksitlenmesini önler. İlginç olarak E vitamini uygulanması A hipervitaminozu belirtilerini hafifletebilir(73).

Farmakolojik dozlarda alfa-tokoferol, trombositlerin adezyon ve agregasyonunu azaltır, K vitaminine bağımlı pıhtılaşma faktörlerini inhibe eder. Ayrıca damar endotelinin salıverilmesi üzerinde oksitlenmiş DDL'nin yaptığı stimülasyonu ve nitrik oksit üretimindeki inhibitör etkisini azaltır.

Yapılan in vitro deneylerde E vitamininin yüksek konsantrasyonlarda, trombosit agregasyonunu inhibe ettiği görülmüştür. E vitamini katılmış veya E vitamini çıkartılmış diyetlerde beslenen sıçanlarda yapılan incelemede, E vitamini eksikliğinde trombositlerde membran fosfolipitlerinden araşidonik asit salıverilmesinin ve buna bağlı olarak, trombosit agregasyonunun güçlü bir stimülanı olan tromboksan A<sub>2</sub> sentezinin arttığı ortaya konulmuştur. E vitamininden zengin diyetle beslenen sıçanların damar çeperinde antiagregan bir prostanoit olan

prostosiklin sentezinin arttığı bulunmuştur; bu olayın, araşidonik asitten prostosiklin sentezi sırasında oluşan siklik endojen peroksitlerin prostosiklin sentaz üzerindeki inhibitör etkisinin, E vitamini tarafından antagonize edilmesine bağlı olduğu sanılmaktadır. Ancak, insanda E vitamininin in vivo belirgin bir antitrombotik ve antitrombotik etkinlik oluşturduğu inandırıcı bir şekilde gösterilememiştir.

E vitamini absorpsiyonu ve kanda şilomikronlar içinde karaciğere taşınması yağda çözünen diğer vitaminlere benzer (73). E vitamini, gastrointestinal kanaldan absorbe edilir. Esterleri ise, bağırsaklarda absorbe olduktan sonra, şilomikronlar aracılığıyla karaciğere taşınır. E vitamini herhangi bir taşıyıcı proteine ihtiyaç duymadan, pasif difüzyonla emilir. Öncelikle şilomikron yapısına katılır. Şilomikronlar lipoprotein lipaz aracılığı ile hidroliz olur, bu esnada E vitamininin bir kısmı dokulara taşınırken, kalan kısmı ise, şilomikron kalıntıları ile beraber karaciğer kökenli VLDL (çok düşük dansiteli lipoprotein)' ler vasıtası ile dolaşıma salınır veya yüksek dansiteli lipoproteine taşınır(93-95). Vücutta karaciğerden ziyade yağ dokusunda toplanır; depolanan miktarı fazla değildir. Plasentayı zor geçer. Emziren kadınlarda meme bezleri tarafından süt içine görece fazla miktarda itrah edilir. Normal durumlarda plazmadaki konsantrasyonu bireyler arasında değişkenlik gösterir ve ortalama 0.4-0.5 mg/dl kadardır. Plazmadaki total lipid düzeyinde meydana gelen değişimler E vitamini düzeyine de yansır. Bu nedenle plazma E vitamini düzeyine bakarak yeterliğin değerlendirilmesinde mutlak E vitamini konsantrasyonundan ziyade, plazma E vitamini/total lipid düzeyine bakılır. Oranın 0.8mg/g 'nin altına düşmesi eksiklik olarak değerlendirilir. Malabsorpsiyon sendromlarında E vitamini absorpsiyonu, yağ absorpsiyonundaki bozulmaya paralel olarak azalır ve vücut sıvılarındaki düzeyide azalmış olur. 20 mg/kg gibi yüksek sayılan bir dozda bir kez verilmesinden sonra eliminasyon yarı ömrü 44 saat olarak bulunmuştur.

Ateroskleroz gelişiminde önemli bir risk faktörü olan düşük dansiteli lipoprotein (DDL) damar çeperindeki hücreler tarafından daha yüksek riskli oksitlenmiş DDL şekline dönüştürülmesi E vitamini tarafından inhibe edilir. Aynı özellik beta- karotende de vardır. Olgu-kontrol incelemelerinde, bir eksiklik söz konusu olmaksızın, plazmada ve yağ dokusunda E vitamini ve beta-karoten

düzeşinin düşüklüğü ile stabil anjina ve myokard infarktusu riskinin artması arasında ilişki olduğı saptanmıştır (73).

İnsan eritrositlerinin hidrejen peroksit ile in vitro ortamda hemolizi, E vitamini tarafından önlenir. Eritrositlerin hidrejen peroksite duyarlılığının ölçülmesi esasına dayanan in vitro testler, insanda E vitamini eksikliği olup olmadığını ortaya koymak için kullanılırlar(73).E vitamini eksikliğinde karaciğer hücrelerinde oksijen kullanımını azalır. E vitamini ile beraber selenyumdan da yoksun diyetle beslenen sıçanlarda karaciğer nekrozu geliştiğı gösterilmiştir (73).

Alfa-tokoferol, alkol veya sodyum tuzu şeklinde içeren ve ağız yolundan ulanılan draje veya tablet şeklindeki müstahzarlar ve enjeksiyonluk müstahzarlar halinde bulunur. Draje veya tablet oral yolla alınırken, ampul formu i.m. enjeksiyon yolu ile alınır.

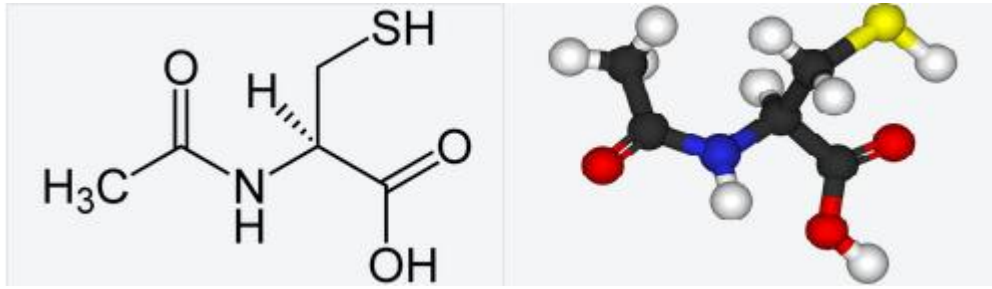
E vitamini, yenidoğan ve bebekte oluşun hemotolojik sendrom, prematür oksijen tedavisi uygulanan çocuklarda gelişen retrolental fibroplazi'nin profilaksisinde kullanılabilir. Prematürün ağırlığı 1250 g'ın altına düşmüş ise oksijen tedavisi ile beraber E vitamini de tedaviye eklenir. Retrolental fibroplazi insidansını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaltmasa da ilerleyen haftalarda gelişen göz içi lezyonların şiddetini ve körlük oranını azaltır. E vitamini kistik fibrozise bağı malabsorbsiyon durumu gibi çeşitli malabsorbsiyon durumlarında ağızdan günlük dozu 100-200 mg olacak şekilde uygulanabilir. Bir yaş altındakilerde ise doz 50 mg' a düşürülmelidir. E vitamini eksikliğine bağı spinoserebellar dejenerasyon sendromundakullanılmaktadır. Zamanla körlüğe götüren ve fotoreseptörleri tutan dejeneratif retina hastalığı olan retinitis pigmentozada günde 400 İÜ veya daha yüksek dozlarda yararlı olduğı bulunmuştur. Beyinde substatia nigra da dopaminin Mao B enzimi tarafından oksidatif deaminasyonu sonucu meydana gelen SOR inaktivasyonunun azalmasının veya aşırı miktarda oluşmasının Parkinson hastalığı patogeneğinde rol oynadığı varsayım olarak ileri sürülmüştür.

Günlük diyetine ilave olarak, uzun süre E vitamininin alınmasının ateroskleroz ve koroner kalp hastalığı riskini azaltması halen tartışmalı bir konudur. Deney hayvanlarında, oksitlenmiş düşük dansiteli lipoproteinin makrofajların damar

çeperinde köpük hücrelerine dönüşmesini arttırdığı ve endotel fonksiyonunu bozduğu gösterilmiştir; ayrıca aterosklerotik lezyonlarda oksitlenmiş LDL'nin varlığı insanlarda gösterilmiştir. E vitamini, DDL'nin oksitlenmesini önlemektedir.

E vitamini erişkinlerde 800 ünite ve üzerinde bazen bulantı, kaslarda güçsüzlük, yorgunluk hissi ve görme bulanıklığı yapar. 200 ünite veya üzeri dozlarda alındığında gonadlarda bozukluk, ketonüri ve gastrointestinal bozukluğa yol açabilir. 1.5 kg 'ın altındaki prematüre yenidoğanda yüksek dozda alındığında nekrotizan enterokolit yapabilir. Uzun süre megadoz E vitamini alanlarda seyrek de olsa nekrotizan miyopati oluşabilir. E vitamini intravenöz yoldan kullanılmamalıdır; asit, hepatosplenomegali, sarılık, trombositopeni ve azotemi gibi ciddi reaksiyonlara sebep olur ve ölümcül sonuçlar doğurabilir(73).

### N-ASETİL SİSTEN



L-Sistein'in N-asetil türevidir. Mukolitik etkisi, kendi molekülünde bulunan serbest sülfidril (-SH) grubu ile balgamın mukoprotein moleküllerindeki disülfür (-S-S) köprülerini kırmasına ve onları depolimerize etmesine bağlıdır. Ancak karbosisteinde serbest -SH grubu olmadığı için etkilerini başka bir şekilde yaptığı sanılmaktadır. Pankreasın kistik fibrozunda bronşlarda oluşan çok koyu ve fazla yapışkan mukusu bile sıvı hale getirip atılmasını kolaylaştırabilir. Kronik bronşit olgularında, özellikle, yerleşmiş mukus tıkaçları varsa kullanılır.

Ağız yolundan verilmeye özgü preparatları vardır. Bu yoldan günde 3 kez 200 mg dozunda verilir. Ağızdan verildiğinde mukolitik etkinliği inhalasyon ile verilmesine göre daha zayıftır.

Başlıca yan etkileri; bulantı, kusma, bronkospazm, stomatit ve rinoredir. Hemoptizi yapabilir. Hipersensitivite gösterenlerde ve hamilelerde kullanılmamalıdır.

Asetilsistein karaciğer hücrelerinde glutatyonun rejenerasyonunu artırdığından asetaminofen zehirlenmesinde i.v. infüzyon ve enjeksiyon şeklinde veya ağızdan antidot olarak da kullanılır.

N-asetilsistein (NAC) iyi bilinen bir antioksidan ve antiinflamatuvar ajandır (96). NAC iki yolla antioksidan özellik göstermektedir; inflamatuvar dokuda nötrofillerden salınan serbest oksijen radikallerini direkt temizleyerek ve indirekt olarak SOR'ni azaltabilen glutatyonu oluşturmak için glutamin ve glisin birleşmesini sağlayarak. Daha önceki çalışmalar NAC'ın SOR üretiminin önlenmesinde fagositler üstüne etkisi de gösterilmiştir (10).

Kurian ve ark. (97) gretfli koroner arter baypas yapılan hastalarda çeşitli antioksidan ve lipid peroksidasyon indekslerini incelemişlerdir. NAC'ın tedavi öncesi verilmesinin erken postoperatif fonksiyonlarda güçlenmeye ve operasyon esnasında lipid peroksidasyonunda azalmaya neden olduğu görülmüştür.

Kontrast nedenli akut renal yetmezlik gibi oksidatif stres modellerinde N-asetilsisteinin faydalı etkileri hem insan hem de hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (98).

Nitescu ve ark. (99) sıçanlarda deneysel olarak oluşturdukları renal iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası NAC kullanmışlardır ve sistemik oksidatif stres üzerinden etki ederek renal glutatyon seviyesini arttırmış, plazma askorbil konsantrasyonlarını arttırmış ve renal interstisiyel inflamasyonu azaltmış olduğunu göstermişlerdir.

Swarnalatha ve ark. (98) hemodializ hastalarında demir tedavisi verilmeden önce ve sonra kanda lipid peroksidasyon ürünü olan MDA ve yüksek sensitif CRP(Hs CRP) değerlerini monitorize etmişlerdir. Birinci gruba demir verilmeden on gün önce N-asetil sistein verilirken ikinci gruba plasebo verilmiştir. Ve çalışmanın sonucunda N-asetil sistein verilen grupta demir verilmeden önce ve sonra oksidatif stresin daha az olduğu, endotelyal disfonksiyonun daha az olduğu görülmüştür.



Antioksidan özelliği nedeni ile miringoskleroz oluşumunu önlemek amacı ile yapılan çalışmalarda kullanılmıştır. Özcan ve ark,(10) miringotomi uyguladıkları yirmi sıçanı dört gruba ayırarak incelemiştir. Birinci gruba herhangi bir tedavi vermezken, ikinci gruba topikal salin, üçüncü gruba 0.6 mg ve dördüncü gruba 1.2 mg topikal N-asetilsistein uygulamışlardır. Oniki günün sonunda timpanik membranları histolojik olarak incelediklerinde grup 3ve 4'te grup 1 ve 2 ile karşılaştırıldığında daha az oranda miringoskleroz geliştiği gözlenmiş.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda ağırlıkları 250-300 gr aralığında değişen 50 adet wistar albino sıçan kullanıldı. Tüm işlemler, 1986 Uluslararası Strazburg Hayvan Hakları Evrensel Beyannamesi şartlarına uygun olarak Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinde, Etik Kurulu onayı (2009 HADYEK 020) alınarak veteriner hekim kontrolünde gerçekleştirildi.

Denekler; 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 21C° ±1 sıcaklıkta, serbest yemek ve su alabildikleri, sıradan kafeslerde standart koşullarda barındırıldı.



Resim2. Sıçanların doğal ortamında görüntüsü

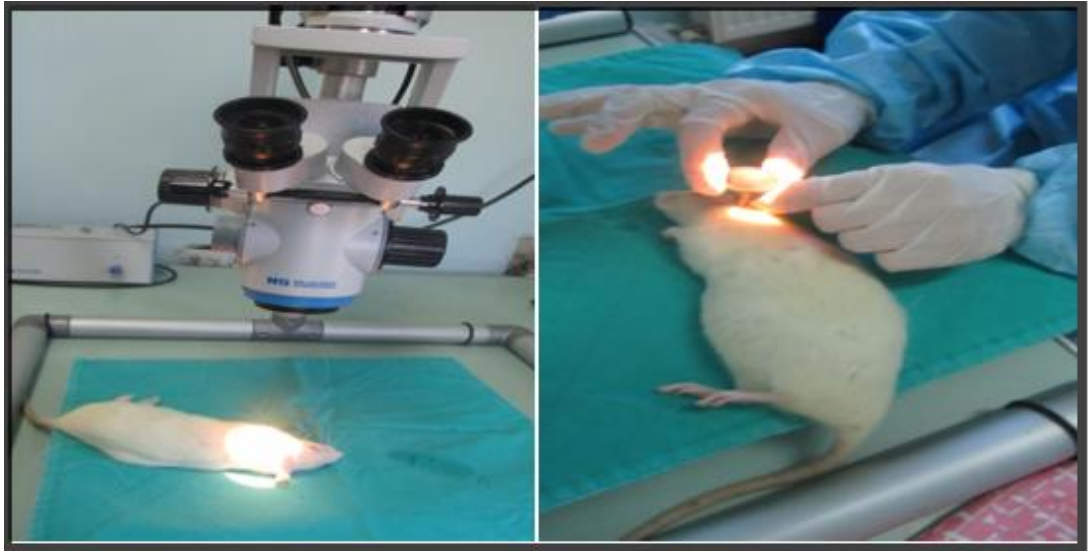
### **Bakteri süspansiyonunun hazırlanması**

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Hastane'si Mikrobiyoloji Laboratuvarında, hastalardan elde edilip -80 derecede stoklanmış olan streptokokus pnomoni suşlarından biri, laboratuvarda hazırlanmış olan koyun kanlı agara (OXOID LTD., Basingstoke, hamshire, ENGLAND) pasaj alınarak %5 karbondioksitli etüvde (SANYO electric Co., LTD. JAPAN) 24 saat inkübe edilerek üretildi. Üretilen Streptokokus pnömone kolonileri kullanılarak BHI (OXOID LTD, Basingstoke, hamshire, ENGLAND) sıvı besi yeri içeren tüpte 0,5 McFarland ( yaklaşık  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml) bakteri süspansiyonu hazırlandı.

### Otomikroskopik muayene ve bakteri inokülasyonu

Tüm sıçanlara, işlem öncesi 50 mg/kg ketamin (Ketalar, Eczacıbaşı Warner Lambert, İstanbul, Türkiye) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid (Ksilazol, Provet Veteriner Ürünleri Sanayi, İstanbul, Türkiye) intraperitoneal enjeksiyonu ile anestezi uygulandı.

Otomikroskopik bakı altında tüm sıçanların timpanik membranları değerlendirildi, hiçbir olguda perforasyon ve enfeksiyon bulguları gözlenmedi. Otitis mediayı indükleyerek miringoskleroz ve timpanoskleroz oluşumunu sağlamak amacı ile tüm sıçanların sol orta kulağına 0,5 McFarlanda ayarlanmış olan bakteri süspansiyonundan 0.05 ml inoküle edildi. Bütün olgular intratimpanik inokülasyon ile eş zamanlı randomize olarak beş gruba ayrıldı.



**Resim 3.**Otomikroskopik bakı altında sıçan timpanik membran değerlendirilmesi

### Çalışma grupları

1. Grup	10 adet yetişkin sıçan	Herhangi bir medikal tedavi verilmedi. Kontrol olarak kabul edildi.
2. Grup	10 adet yetişkin sıçan	250 mg/kg/gün N-asetil sistein izotonik içerisinde IP, 15 gün, günlük tek doz
3. Grup	10 adet yetişkin sıçan	10 mg/kg/gün salinle seyreltilmiş kafeik asit fenil ester IP, 15 gün, günlük tek doz
4. Grup	10 adet yetişkin sıçan	100 mg/kg/gün karnitin IP, 15 gün, günlük tek doz
5. Grup	10 adet yetişkin sıçan	100 mg/kg/gün E vitamini IP, 15 gün, günlük tek doz

Tablo3. Çalışma gruplarının sınıflandırması.

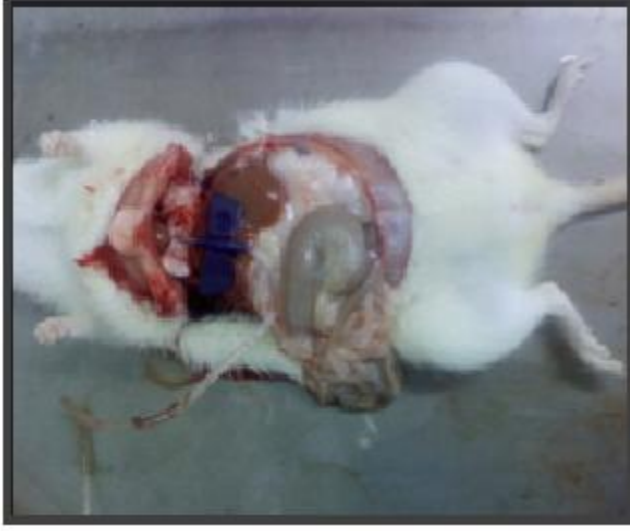
1. Grup; 10 adet yetişkin sıçan dâhil edildi. Sıçanlara herhangi bir medikasyon uygulanmayarak kontrol grubu oluşturuldu. Birinci haftada yapılan otomikroskopik muayenede bir olguda otit bulguları gözlenmemesi üzerine çalışma dışı bırakıldı.
2. Grup; 10 adet yetişkin sıçan dâhiledildi. Sıçanlara 15 gün boyunca, günlük 250 mg/kg N-asetil sistein (Assist, Hüsnu Arsan, İstanbul, Türkiye ) izotonik içerisinde intraperitoneal (IP) uygulandı.
3. Grup; 10 adet yetişkin sıçan dâhiledildi. Günlük tez doz halinde, 15 gün süresince 10 mg/kg salinle seyreltilmiş kafeik asit fenil ester (Sigma-Aldrich Corp, St Louis, MO, USA) intraperitoneal olarak uygulandı. Çalışmanın 7. gününde yapılan otomikroskopik muayenede bu grupta bir sıçanda akut otit bulguları gözlenmedi. Olguda enfeksiyon gelişmediği kabul edilerek çalışma dışı bırakıldı.

4. Grup; Sıçanlara günlük tez doz halinde 15 gün boyunca 100 mg/kg/gün karnitin (L-karnitin, Sigma tau, Pomezia, İtalya) intraperitoneal olarak uygulandı. Çalışmanın 10. gününde bu gruptan bir sıçan ex oldu ve çalışma dışı bırakıldı.
5. Son grup olan beşinci gruptaki 10 sıçana günlük tek doz halinde 100mg/kg/gün E vitamini (dl-alfatocoferol asetat, Aksu Farma, İstanbul, Türkiye) 15 gün boyunca intraperitoneal olarak uygulandı.

Sıçanlarda analjeziyi sağlamak amacı ile asetaminofen 1-2 mg/kg 100 ml su içinde verildi.

Parasentez sonrası orta kulağa uygulanan *streptococcus pneumoniae* inokülasyonunun oluşturacağı akut otit bulguları sedatize sıçanların 7. gününde ışık mikroskobu (HS MÜLLER -WEDEL INTERNATIONAL) altında incelendi. Grup 1 ve 3' te birer olguda akut otit bulgularına rastlanmadı ve çalışma dışı bırakıldı. Çalışmamız sürecinde 10. günde grup 4 te bir olgunun ex olması üzerine grup 4'te 9 sıçan ile çalışmaya devam edildi.

Çalışmamızın 15. gününde sakrifikasyon öncesi tüm sıçanlara 50 mg/kg ketamin (Ketalar, Eczacıbaşı Warner Lambert, İstanbul, Türkiye) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid (Ksilazol, Provet Veteriner Ürünleri Sanayi, İstanbul, Türkiye) intraperitoneal enjeksiyonu ile anestezi uygulandı. Daha hızlı ve düzgün bir fiksasyon elde etmek amacı ile kalp yoluyla vasküler sistem üzerinden perfüzyon fiksasyon yapıldı. Takiben sıçanlar sakrifiye edilerek temporal kemikleri total olarak dışarı alındı.



**Resim 4.** Sıçanlarda perfüzyon fiksasyon yöntemi uygulanması

#### **Histopatolojik Değerlendirme;**

Tüm sıçanlara ketamin ve ksilazin hidroklorid anestezi altında kalbin apeksine perfüzyon seti ve perfüzyon iğnesi takıldı. İlk olarak, normal musluk suyu yaklaşık 100 ml verildi. % 0.9 salin solüsyonu yaklaşık 20 ml / dk yavaş, sürekli akışına izin verecek şekilde sisteme verildi. Atriumdan kesi yapılarak vücut kanı uzaklaştırıldı. Takiben 200-300 ml % 10 formalin ile 20ml/dk'dan gidecek şekilde sistem içerisinden vücuda verildi. Sıçanda meydana gelen kasılmalar, boyun ve kuyruk bölgesinde sertleşme takibi yapıldı. Bu şekilde perfüzyon fiksasyon işlemi tamamlanmış oldu. Sıçalar sakrifiye edildikten sonra temporal kemik total olarak dışarı alındı. Temporal kemik %10'luk formaldehid solüsyon içerisinde 24-48 saat arasında muhafaza edildi. Takiben temporal kemik örnekleri EDTA'lı dekalsifikasyon solüsyonu içerisinde haftada bir kez değişmek suretiyle bir buçuk ay süre ile muamele edildi. Dekalsifiye edilen örnekler yaklaşık bir gün süre ile akar su altında yıkandı. Örnekler, sırası ile % 70, 80, 90 alkol içerisinde bir saat ve % 100'lük alkol içerisinde iki saat süre ile bekletildi. Otuzar dakikadan toplam bir buçuk saat süre ksilen solüsyonu tatbik edildi. Alınan dokular iki saat ve üç saat olmak üzere iki kez parafinize edildi. Takiben dokular bloklandı. Parafine gömülen dokulardan en az on kesit alınacak şekilde rotary mikrotom (LEİCA) ile 5 ve 20 mikronluk kesitler alındı. Alınan kesitler sistematik rastgele yöntemle örneklendi ve histolojik inceleme için Masson's Trikrom boyama yöntemi ile boyandı. Boyanan

kesitler stereoloji iş istasyonu (Stereology Workstation-Lieca DM 2500 ışık mikroskobu, Biopoint motorize tabla, Quicam kamera, Stereoinvestigator yazılımı ve Bilgisayar sistemi) kullanılarak incelendi.

İncelemeler iki esas üzerinde durularak gerçekleştirildi. Birinci üzerinde durulan konu; lamina propriada gelişen enflamasyon idi. Orta kulakta lamina propriada enflamasyon, bir alanda ölçülen enflamatuar hücre sayılarak sınıflandırıldı. Bir alanda hücre görülmediğinde 0, 5'ten az hücre görüldüğünde +, 5'ten fazla hücre görüldüğünde ++ olarak kategorize edildi.

İkinci değerlendirilen konu ise enflamasyona sekonder lamina propria kalınlığı idi. Çeşitli aşamalarda hasar gören doku preparatları haricindeki elimizde bulunan uygun preparatlar kullanılarak X10'luk büyütmeye göre kalibre edilerek lamina propria kalınlığı ölçüldü ve sonuçlar gruplar arasında karşılaştırma yapılarak analiz edildi. İnce ve kalın kesitlerden fotoğraflar dökümante edildi.

### **İstatistiksel Analiz;**

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 10.0 programı kullanılarak değerlendirildi. Her grup kendi içinde alt gruplara göre orta kulak mukozası lamina propria kalınlıkları tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırıldı. Fark önemli olduğu için gruplar (alt gruplar 1-4) ikişer ikişer Post Hoc Testlerinden 'Tukey HSD' ile karşılaştırıldı. Orta kulak mukozası lamina propria kalınlığı ortalaması alındı.  $(LPK\ 1+2+3+4+5) / 5$  Elde edilen sonuçlar Kruskal Wallis Varyans analizi kullanılarak değerlendirildi. Orta kulak lamina propria kalınlığı ortalamasına göre gruplar arası fark önemlidir ( $\chi^2$ : 57.514, p: 0.0001). Fark önemli olduğu için gruplar ikişer ikişer 'Mann Withney U-Test' kullanılarak karşılaştırıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında, anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.

## BULGULAR

Çalışma, Mayıs 2010 ve Haziran 2011 Tarihleri arasında Gaziosmanpaşa Üniversitesi DETAE hayvan laboratuvarında toplam 50 sıçan üzerinde yapıldı. Tüm sıçanların sol kulaklarına 0,5 Mc Farland *Streptococcus Pneumonie* içeren 0.05 ml solüsyon inoküle edildi. İnokülasyon sonrası herhangi bir tedavi uygulanmayan 10 sıçan (n=10) “Grup I”, intraperitoneal N-asetil sistein uygulanan 10 sıçan (n=10) “Grup II”, intraperitoneal kafeik asit uygulanan 10 sıçan (n=10) “Grup III”, intraperitoneal karnitin uygulanan 10 sıçan (n=10) “Grup IV” ve pnömokok inokülasyonu sonrası intraperitoneal Evitamini uygulanan 10 sıçan (n=10) “Grup V” olarak adlandırılmıştır. Grup I ve III’ te birinci haftada yapılan otomikroskopik incelemede akut otit bulguları gözlenmeyen birer denek çalışma dışı bırakıldı. Grup IV’te ise takiplerde bir denek ex olmuş ve çalışma dışı bırakıldı. Çalışmanın 15. gününde sıçanlar sakrifiye edildi. Takiben histopatolojik aşamalar gerçekleştirildi. Histolojik çalışmaların yapılacağı kliniğin aşırı yoğunluğu nedeni ile istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verebilecek sayıda sıçan ile çalışmaya devam edilmiştir. Randomize olarak her grup için beş sıçan sol orta kulağı histolojik açıdan değerlendirildi.

Hazırlanan preparatlarda iki aşamalı inceleme yapıldı.

### **Lamina propriada inflamasyon**

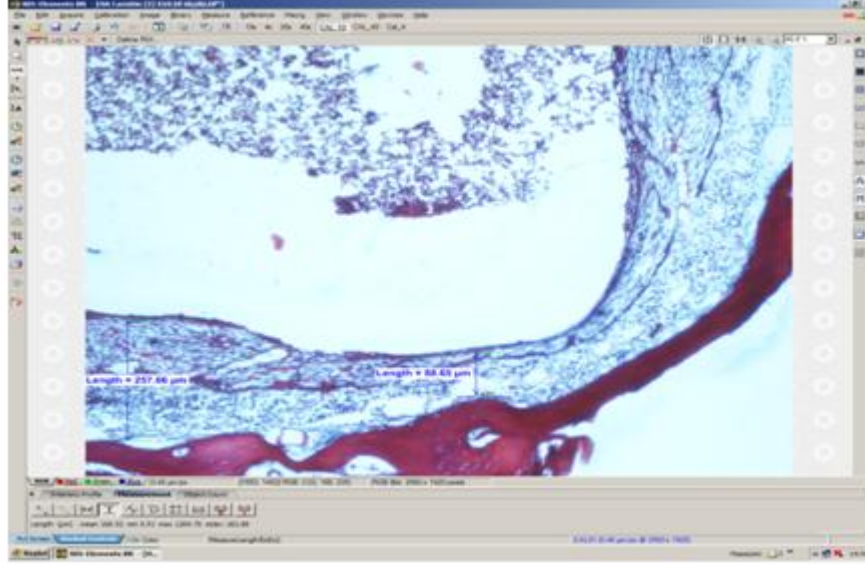
Orta kulakta enflamasyon semikantitatif olarak değerlendirildi. Bir alanda ölçülen enflamatuar hücre sayıları sınıflandırıldı. Bir alanda hücre görülmediğinde 0, 5’ten az hücre görüldüğünde +, 5’ten fazla hücre görüldüğünde ++ olarak kategorize edildi. Tüm gruplarda ++ enflamatuar hücre görülmesi sebebi ile istatistiksel analiz uygulanmadı.

### **Orta kulak mukozası lamina propria kalınlığı**

Orta kulak mukozası lamina propria kalınlığının ölçülmesi için Masson Tricrom ile boyanan kesitlerden elde edilen veriler, bir kamera ile bilgisayara aktarıldı. Ölçümler 10’luk büyütmeye kalibre edilerek mikrometre cinsinden yapıldı. Bu ölçümlerin ortalamaları lamina propria kalınlığı olarak kabul edildi. Her grupta,



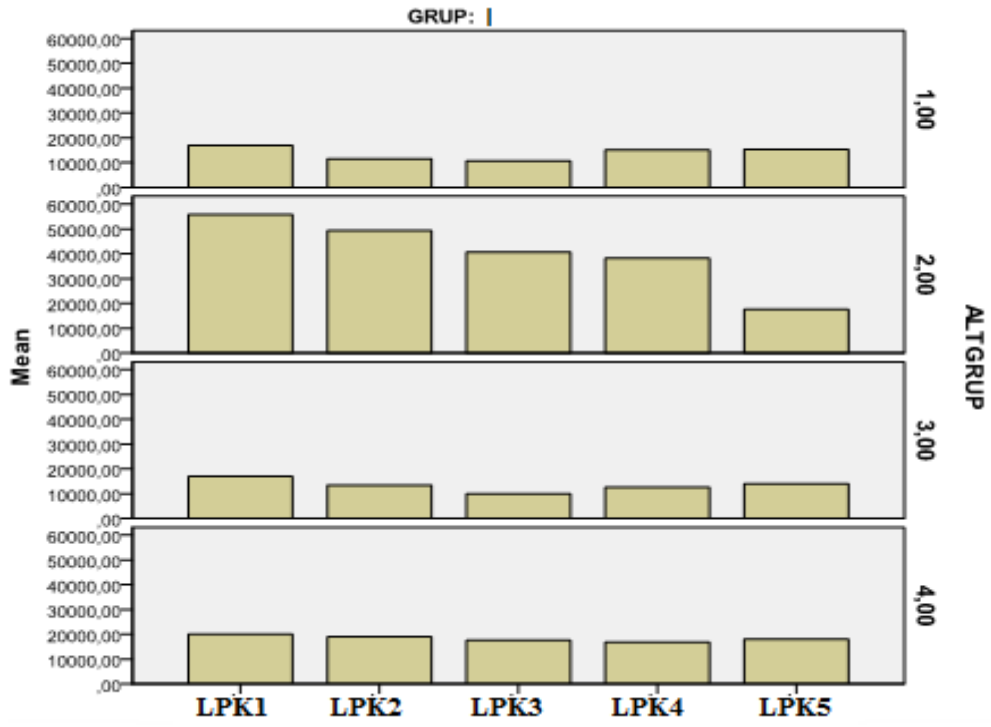
incelenen kesitlerde orta kulak mukozası lamina propria kalınlığı beş farklı noktadan ölçüldü. Resim 5



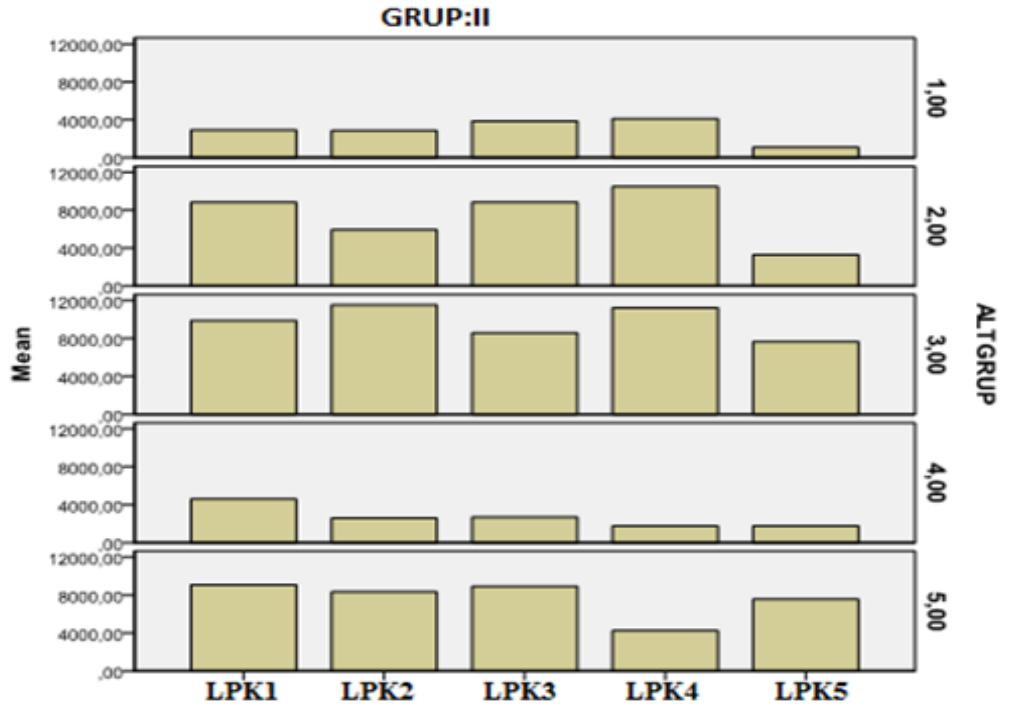
**Resim 5.** Orta kulak mukozası lamina propria ölçümleri

Her grupta beş farklı noktadan ölçülen orta kulak mukozası lamina propria kalınlığı, her grup için kendi içinde karşılaştırıldı. Her bir grup için alt gruplara göre Tek Yönlü Varyans Aanalizi uygulandı. Fark önemli olduğu için gruplar (alt 1-4) ikişer ikişer Post Hoc testlerinden ‘Tukey HSD’ ile karşılaştırıldı.

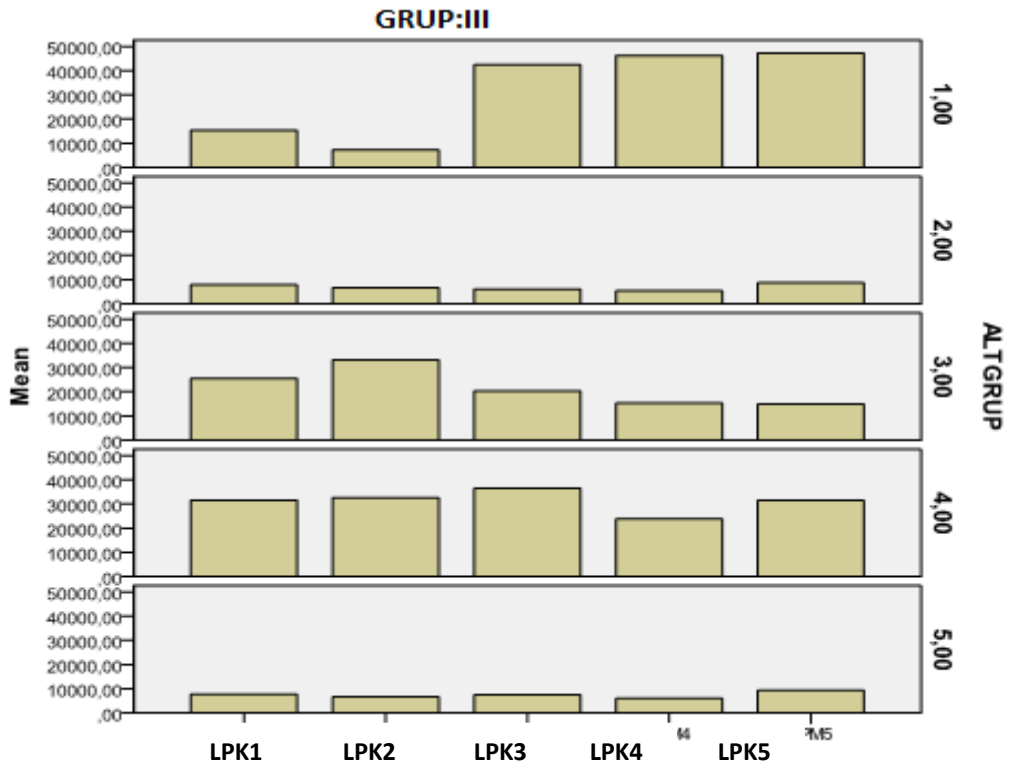
Bu sonuçlar ışığında; her bir grup içinde her bir kulak için enflamasyonun aynı olmadığı, aynı preparatta dahi orta kulakta farklı bölgelerde farklı yoğunluk gösterdiği görülmüştür. Sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir. (Tablo 4-8)



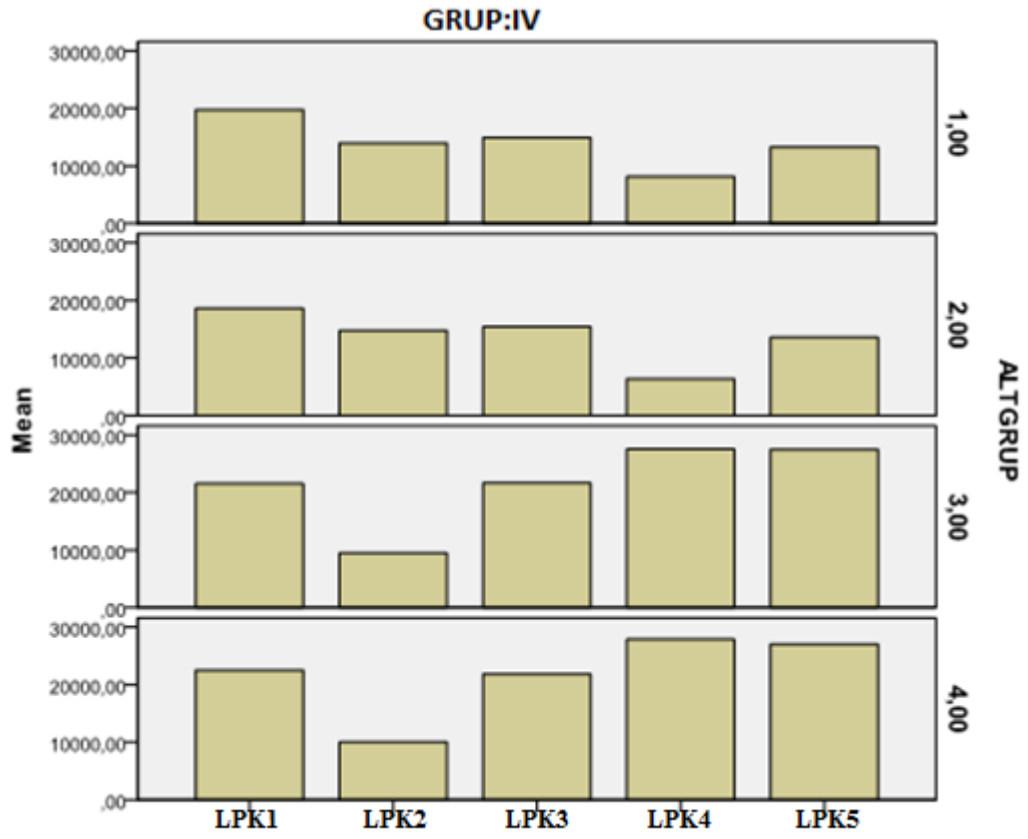
Tablo 4. Grup I. Orta kulak mukozası farklı noktalardan ölçülen lamina propria kalınlığı



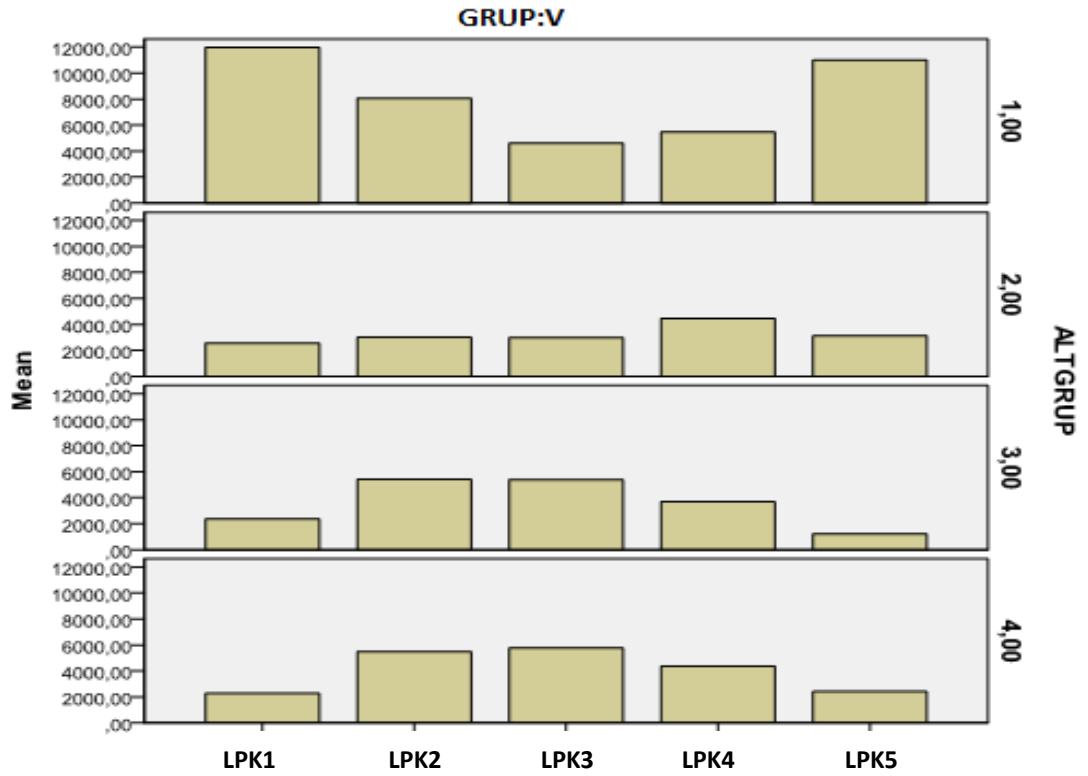
Tablo 5. Grup II. Orta kulak mukozası farklı noktalardan ölçülen lamina propria kalınlığı



Tablo6.Grup III. Orta kulak mukozası farklı noktalardan ölçülen lamina propria kalınlığı



Tablo7. Grup IV. Orta kulak mukozası farklı noktalardan ölçülen lamina propriakalınlığı



Tablo 8. Grup V Orta kulak mukozası farklı noktalardan ölçülen lamina propria kalınlığı

Her grupta orta kulak lamina propria kalınlığı ortalamaları alındı [(LPK1+LPK5)/5]. Kruskal Wallis Varyans Analizi (Mann Whitney U- Testi) kullanıldı. Lamina propria kalınlığına göre gruplar arası fark anlamlı olarak sonuçlandı. ( $\chi^2$ : 57.514, p: 0,0001). Fark önemli olduğu için gruplar ikişer ikişer ‘Mann Whitney U-Testi’ ile karşılaştırıldı.

**LPK ORTALAMA**

	95% Güvenlik aralığında		Minimum	Maksimum
	Alt Sınır	Üst Sınır		
KONTROL	15597,1886	27362,6734	8870,20	51028,80
NAC	4523,8119	7680,3161	1041,40	14142,80
KAFEİK ASİT	13240,5610	26335,9830	3710,80	58349,00
KARNİTİN	15183,4155	20409,3645	8393,00	28003,40
E VİTAMİNİ	3463,7189	6092,9611	459,00	11272,40
Total	11630,6519	16157,5590	459,00	58349,00

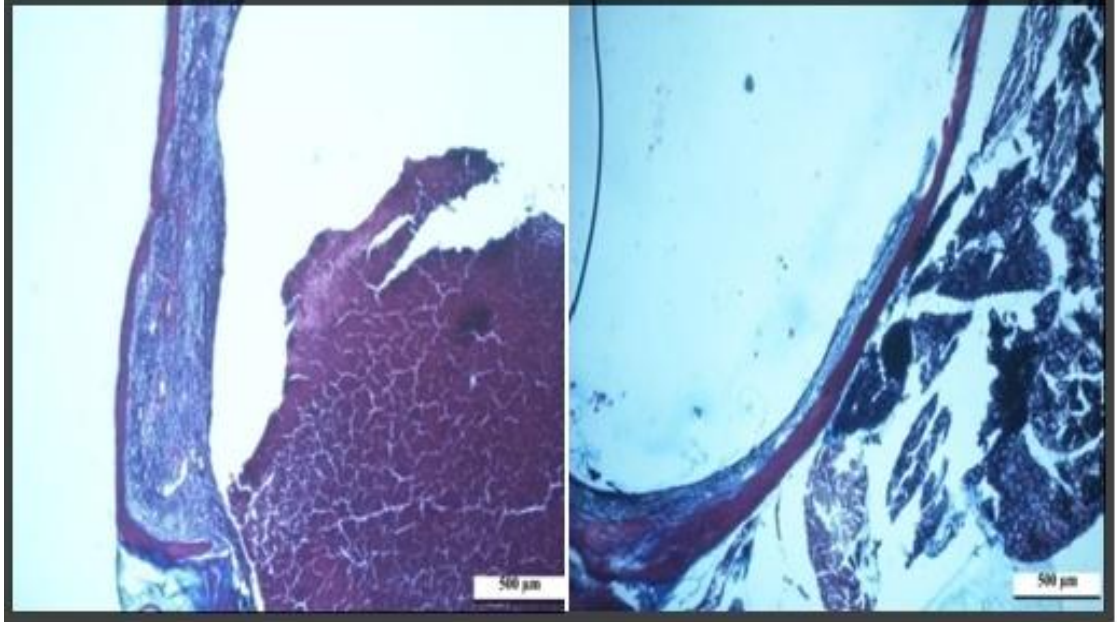
Tablo 9. Lamina propria kalınlığı alt sınır ve üst sınır görülmekte

LPK ORTALAMA

	N	Ortalama	Std. Deviasyon	Std. Hatta
KONTROL	20	21479,9300	12569,57768	2810,64301
NAC	25	6102,0640	3823,47307	764,69461
KAFEIKASIT	25	19788,2720	15862,48258	3172,49652
KARNITIN	20	17796,3900	5583,10899	1248,42068
E VITAMINI	20	4778,3400	2808,93308	628,09653
Total	110	13894,1055	11977,64418	1142,02356

Tablo 10. Lamina propria kalınlığı ortalamaları görülmekte

Kontrol grubu ve NAC grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir (u: 18.00, p: 0.0001). NAC grubunda lamina propria kalınlığının daha az olduğu gözlemlendi. Ayrıca kontrol grubunda orta kulak boşluğunda inflamatuvar hücrelerin yoğunlaşarak abse odakları geliştirdiği görüldü.



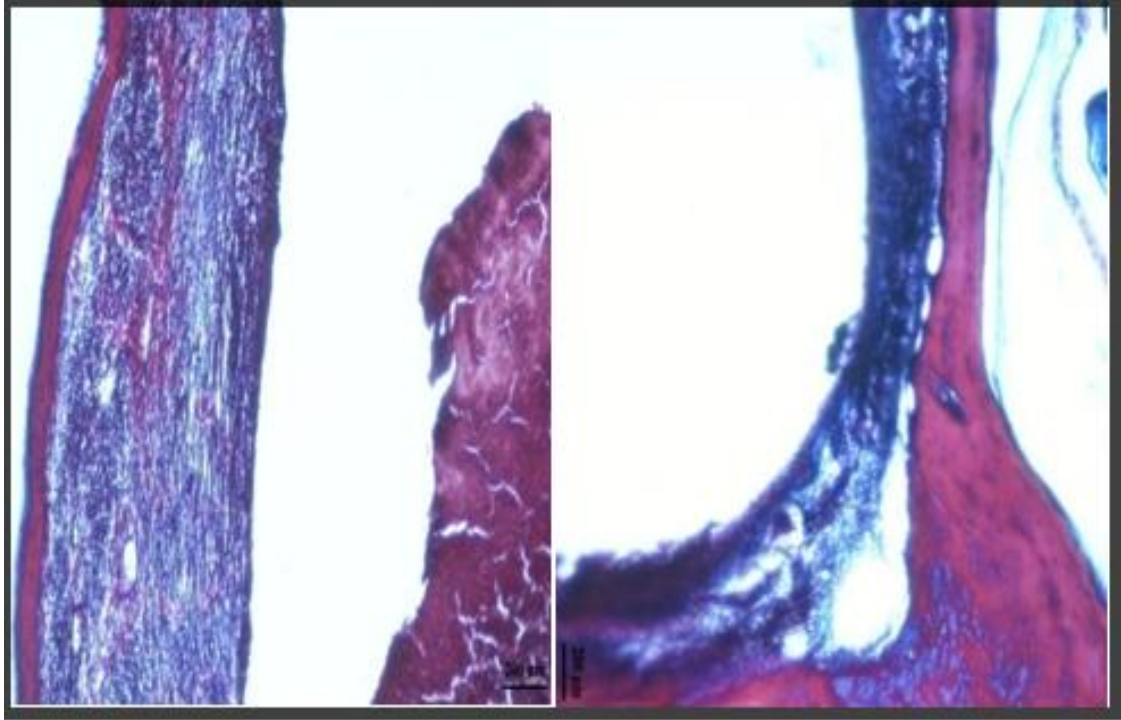
A.

B.

**Resim 6.** A; Kontrol grubundan alınan örnekte 20 µm'luk kesitler x4 büyütmede izlenmekte B; NAC grubundan alınan örnekte 20µm'luk kesitler x4 büyütmede izlenmekte



Kontrol grubu ile kafeik asit fenil ester karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamsız sonuçlar izlendi (u: 201, p: 0,263). Kontrol grubu ve kafeik asit fenil ester grubunda benzer lamina propria kalınlığı ölçümleri elde edildi. Kafeik asit grubunda yaygın fibröz değişiklikler ve yer yer laküner boşluklar izlendi. Aynı zamanda orta kulak mukozası epitelinde epitelyal metaplazi gözlendi. Mukoza altında abse odakları izlendi.

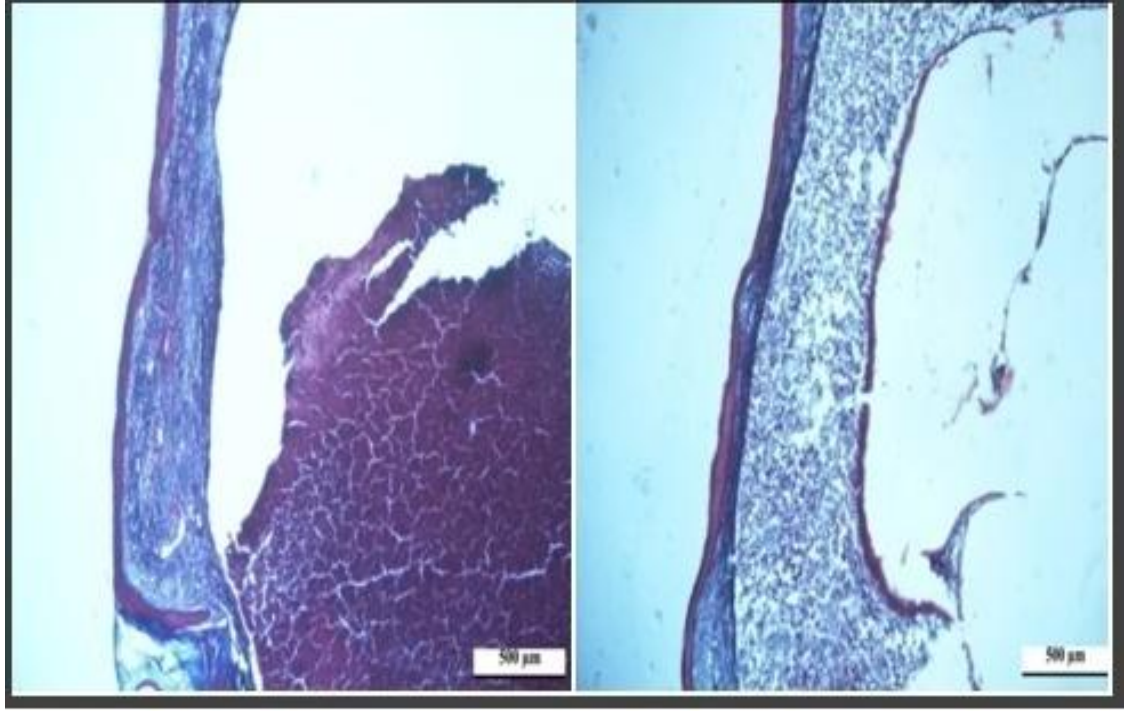


A.

B.

**Resim 7.** A; Kontrol grubundan alınan örnekte 20  $\mu\text{m}$ 'luk kesitler x10 büyütmede izlenmekte B; Kafeik asit fenil ester grubundan alınan örnekte 20 $\mu\text{m}$  luk kesitler x10 büyütmede izlenmekte

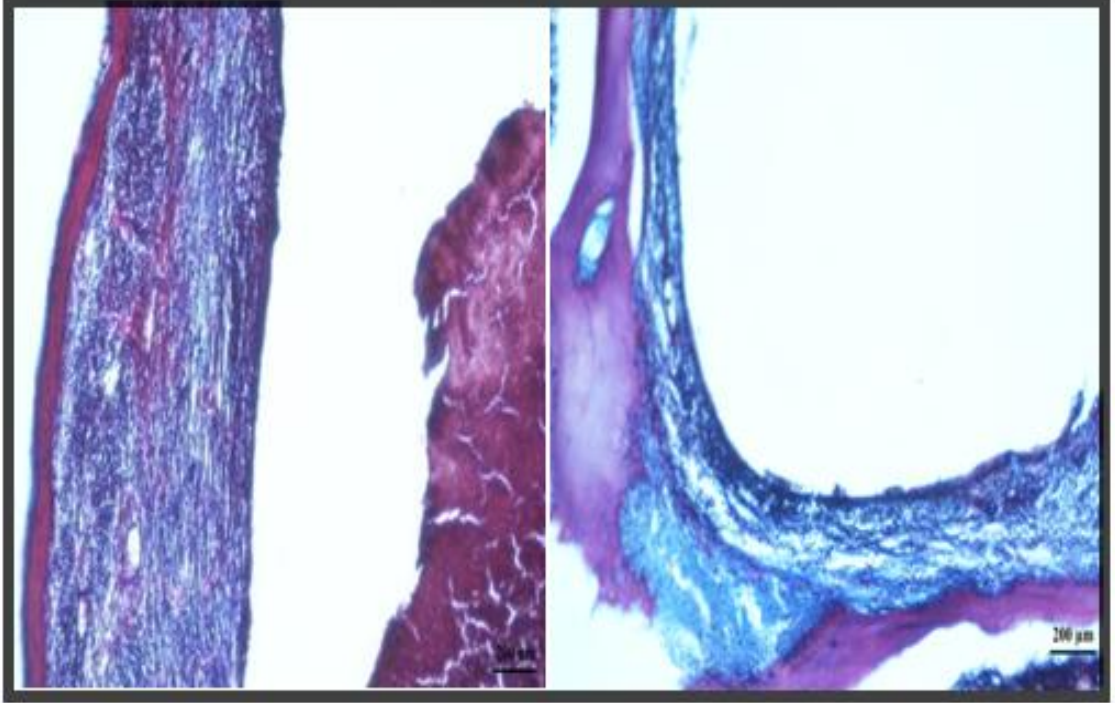
Kontrol grubu ile karnitin grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamsız sonuçlar izlendi (u:193, p:0.862). Işık mikroskopik bakıda hücreden fakir, yoğun fibröz yapı dikkati çekti. Karnitin kullanılan grupta istatistiksel olarak orta kulak lamina propria kalınlığı üzerine anlamlı sonuçlar elde edilmedi. Karnitinin bizim çalışmamızda timpanosklerozda etkinliği gösterilemedi.



A. B.

**Resim 8.** A; Kontrol grubundan alınan örnekte 20 µm'lik kesitler x4 büyütmede izlenmekte B; Karnitin grubundan alınan örnekte 20µm' luk kesitler x4 büyütmede izlenmekte

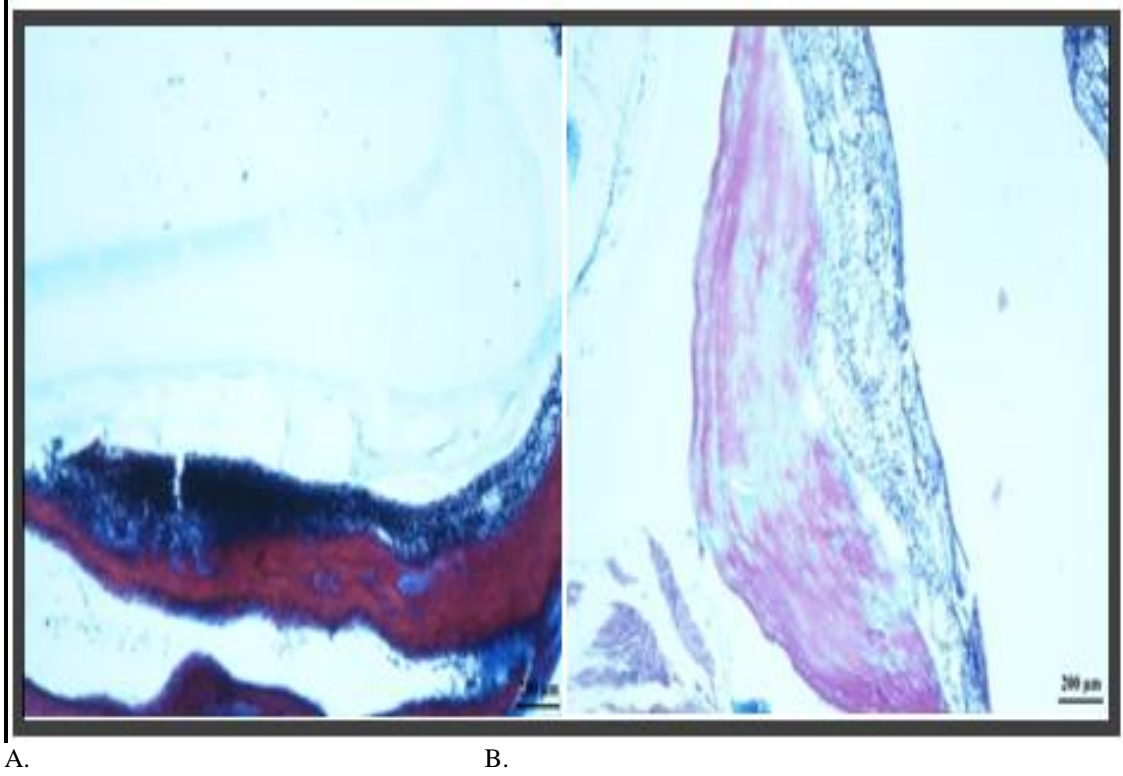
Kontrol grubu ile E vitamini grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edildi ( $u:4.0$ ,  $p:0.0001$ ). E vitamini uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı ölçüde lamina propria kalınlığında azalma tesbit edildi.



A. B.

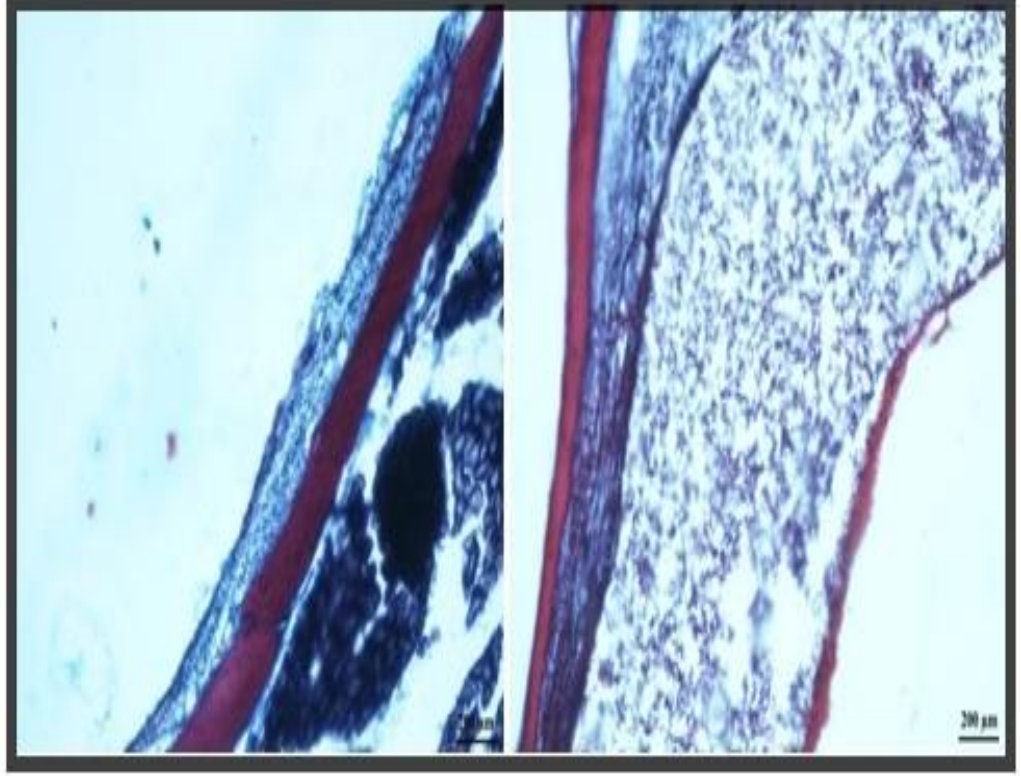
**Resim 9.** A; Kontrol grubundan alınan örnekte 20 µm'luk kesitler x10 büyütmede izlenmekte B; E vitamini grubundan alınan örnekte 20µm'luk kesitlerx10 büyütmede izlenmekte

NAC grubu ile kafeik asit grubu karşılaştırıldığında lamina propria kalınlıkları üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklar izlendi (u:121.0, p: 0.00001). Nac grubunun ölçümlerinde lamina proprianın daha ince olduğu görüldü. Kafeik asit grubunda ise lamina propria daha kalın olarak ölçüldü. NAC'ın istatistiksel olarak anlamlı derecede kafeik asitten daha etkin olduğu gösterildi.



**Resim 10.** A; NAC grubundan alınan örnekte 5 µm'lik kesitler x10 büyütmede izlenmekte B; Kafeik asit fenil ester grubundan alınan örnekte 5 µm'lik kesitler x10 büyütmede izlenmekte

NAC grubu ile karnitin grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar izlendi (u: 18.00, p:0.0001). Lamina propria kalınlığı NAC grubunda karnitin grubu ile karşılaştırıldığında daha az olarak ölçüldü.

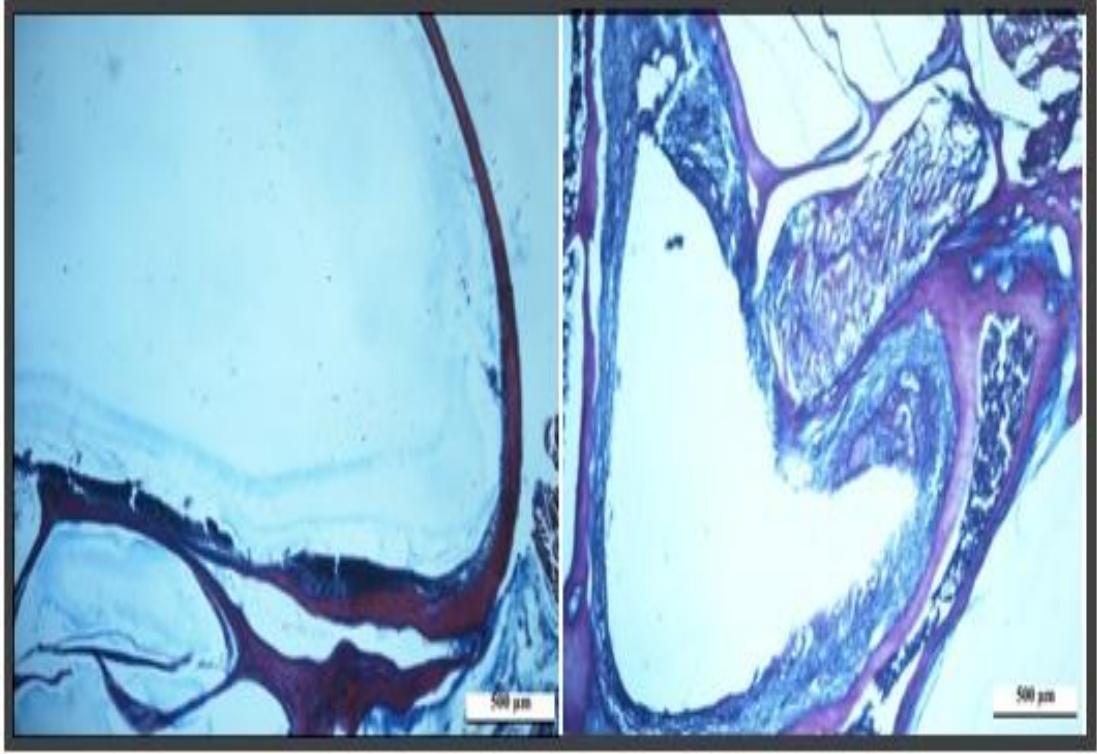


A. B.

**Resim 11.** A; NAC grubundan alınan örnekte 20  $\mu\text{m}$ 'luk kesitler x10 büyütmede izlenmekte B;Karnitin grubundan alınan örnekte 20 $\mu\text{m}$ 'luk kesitler x10 büyütmede izlenmekte



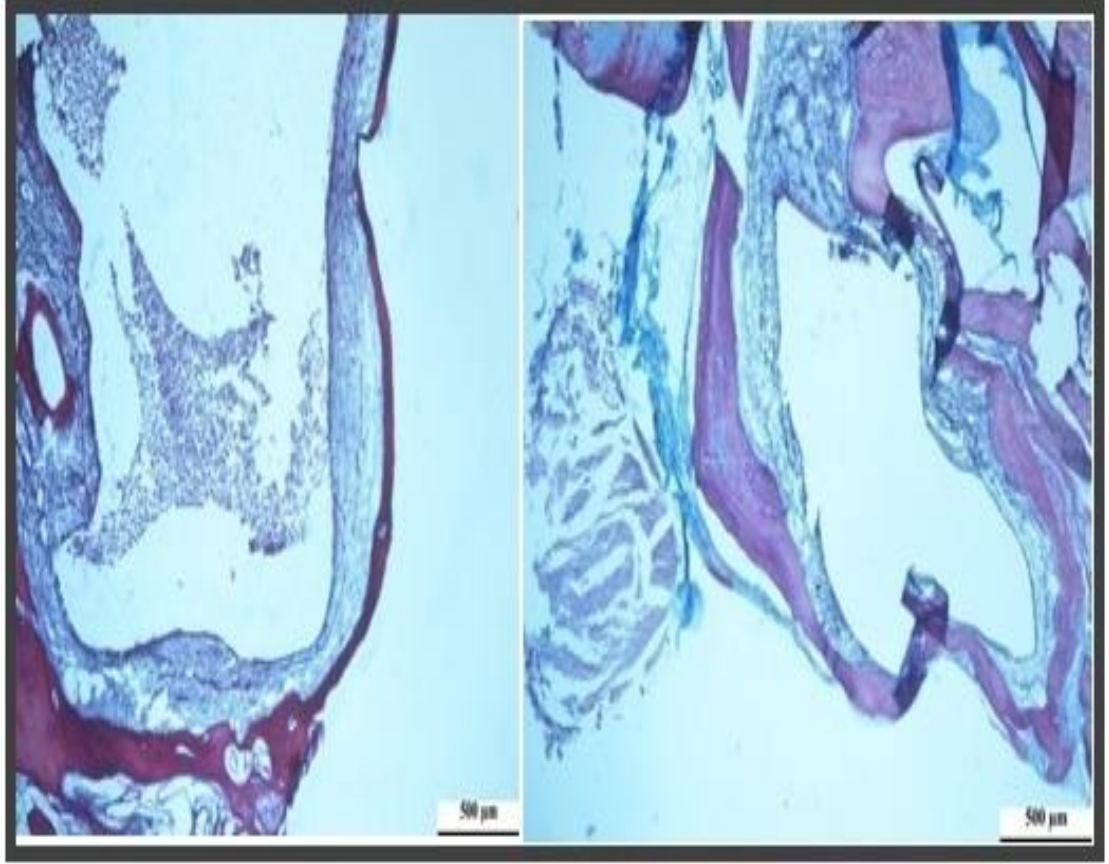
NAC grubu ile E vitamini grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamsız sonuçlar izlendi (u:213, p:0.39). Her iki grubun da lamina propria üzerine olan etkinlikleri benzer olarak değerlendirildi. E vitamini ve NAC'ın birbirlerine üstünlükleri gösterilemedi.



A. B.

**Resim 12.** A; NAC grubundan alınan örnekte 5 µm'luk kesitler x4 büyütmede izlenmekte B; E vitamini grubundan alınan örnekte 5µm'luk kesitler x4 büyütmede izlenmekte

Kafeik asit fenil ester grubu ile karnitin grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamsız sonuçlar izlendi(u:230, p:0.648). Kafeik asit fenil ester ve karnitinin etkinlikleri benzerlik gösterdi.

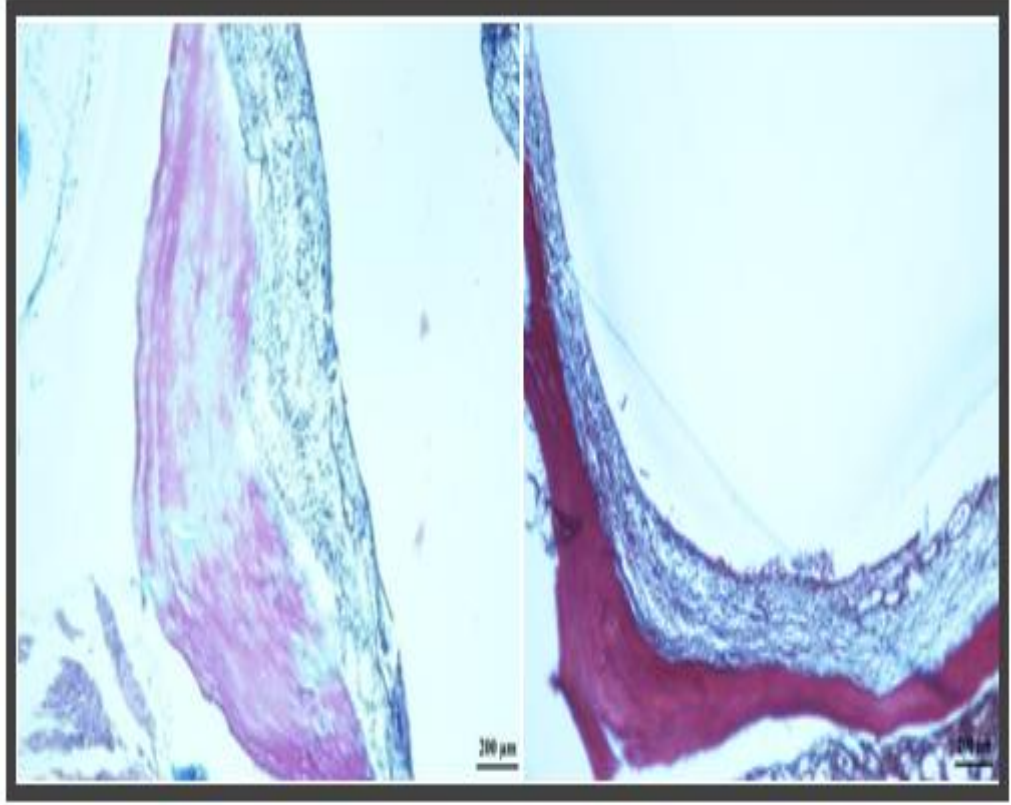


A.

B.

**Resim 13.** A; Kafeik asit fenil ester grubundan alınan örnekte 5 µm'luk kesitler x4 büyütmede izleniyor. B; Karnitin grubundan alınan örnekte 5µm'luk kesitler x4 büyütmede izlenmekte

Kafeik asit fenil ester grubu ile E vitamini grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar izlenmiştir (u:72, p: 0.0001). E vitamininin lamina propria üzerinde daha etkin olduğu görülmüştür. E vitamini kullanılan grupta kafeik asit ile karşılaştırıldığında lamina proprianın anlamlı derecede daha ince olduğu görülmüştür. E vitamininin etkinliğinin kafeik asitten istatistiksel olarak daha fazla olduğu tesbit edilmiştir.

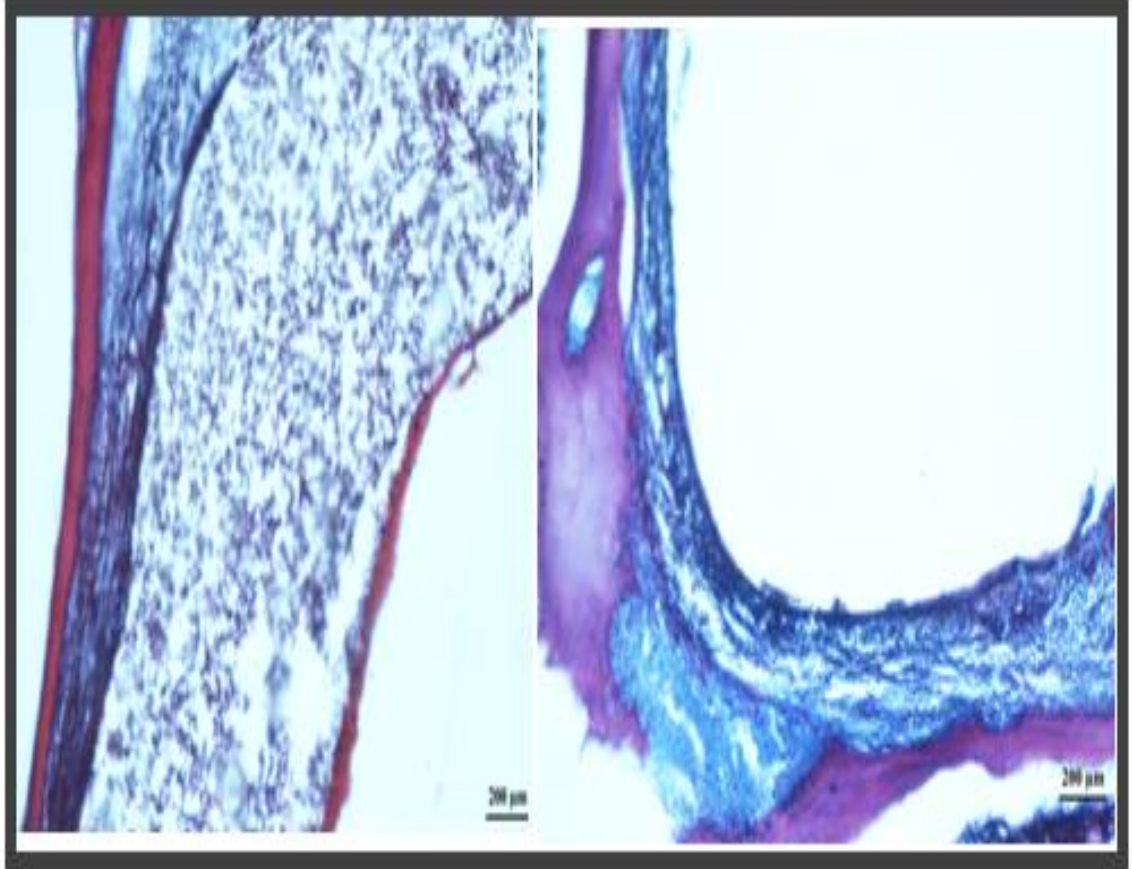


A. B.

**Resim 14.** A; Kafeik asit fenil ester grubundan alınan örnekte 5 µm’luk kesitler x10 büyütmede izleniyor. B; E vitamini grubundan alınan örnekte 5µm’luk kesitler x10 büyütmede izlenmekte



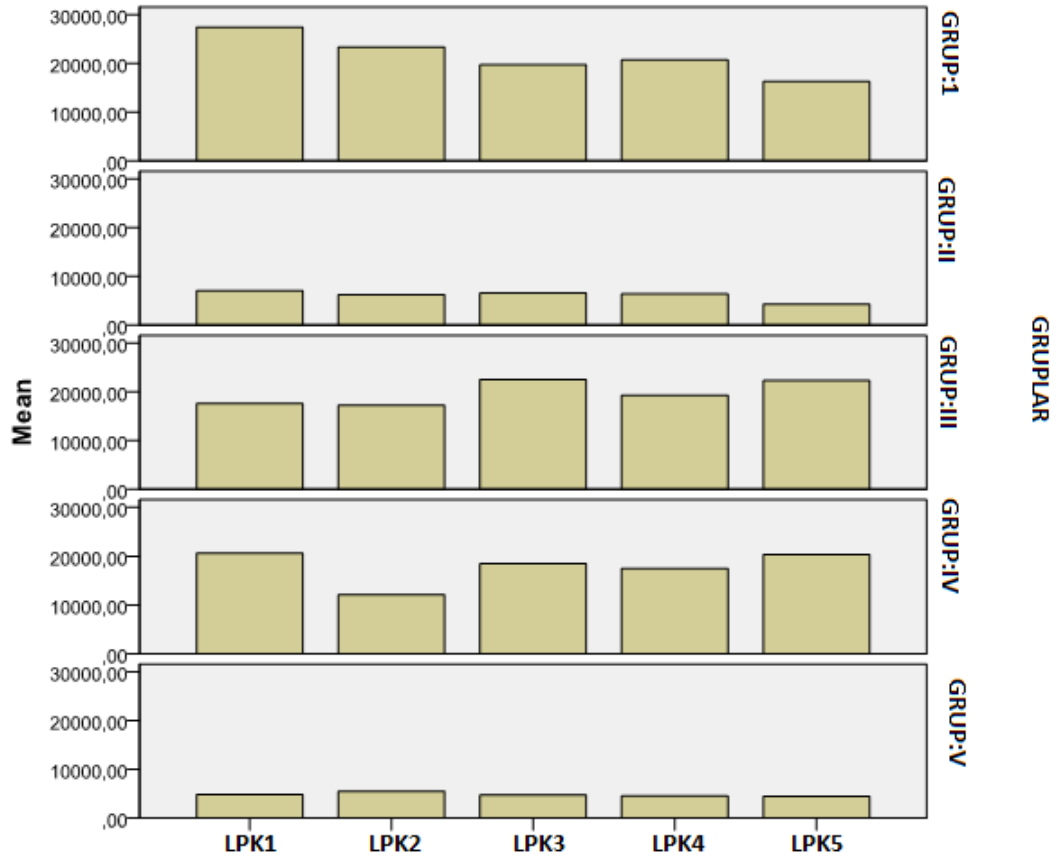
Karnitin grubu ile E vitamini karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar izlenmiştir (u:6.00, p: 0.0001). E vitamini kullanılan grupta lamina proprianın daha ince olduğu görüldü. Karnitin grubunda ise daha kalın olarak değerlendirildi. E vitamininin karnitin ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede daha etkin olduğu görüldü.



A. B.

**Resim 15.** A; Karnitin grubundan alınan örnekte 20 µm'luk kesitlerx10 büyütmede izlenmekte B;E vitaminigrubundan alınan örnekte 20µm'luk kesitler x10 büyütmede izlenmekte

Aşağıda gruplar arası karşılaştırma grafik halinde verilmiştir. N-asetil sistein ve E vitamini verilen gruplarda kontrol ve diğer gruplara göre anlamlı derecede daha iyi sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Kafeik asit ve karnitinin ise yapılan diğer çalışmaların aksine bizim çalışmamızda inflamasyonu azaltıcı, lamina propria kalınlığını kontrol grubu ile karşılaştırıldığında azaltıcı etkisi gözlenmemiştir.



Tablo11. Gruplar arası lamina propria kalınlığı ortalaması karşılaştırması görülmekte

## TARTIŞMA

İlk olarak Cassebahmtarafından timpanik membranda beyaz halkalar şeklinde tanımlanan TS, timpanik membran ve orta kulağın kalsifikasyonu ile karakterize bir durumdur. 1873 yılında skleroz tanımı ilk olarak Von trolsch tarafından kullanılmıştır. 1956 yılında ise Zollner tarafından kullanılan timpanoskleroz terimi günümüzde de yaygın olarak kullanılmaktadır (30).

Otoskopide orta kulak mukozasında beyaz nodüler birikimler şeklinde görüntü veren asellüler hiyalin depozisyonu ile karakterize TS, yalnız timpanik membranı ilgilendirdiğinde miringoskleroz adını almaktadır.TS'da timpanik membran ve orta kulak yapılarında lamina propriada elastik ve fibröz tabakada kalsifikasyon ve hiyalinizasyon ile karakterize dejeneratif bir iyileşme süreci söz konusudur. TS, orta kulak mukozasında, timpanik membranda, epitimpaniumda kemikciklerde, stapes suprastrüktüründe, oval pencerede footplatede, ossiküler ligamanlar ve kas tendonlarında yerleşim gösterebilir (28,29).

Miringoskleroz sıklıkla asemptomatik seyrederek ancak, sklerotik plağın yeri ve konumuna göre değişen derecelerde işitme kaybı ile karşımıza çıkabilir. Şayet plak TM'da geniş bir alan işgal ediyorsa ya da kemik anulus, kemikcikler veya promontoriuma yapışık ise belirgin bir işitme azlığı gözlenebilir (28).

Timpanosklerozda klinik bulgular, timpanosklerotik plakların yerleşim yerine göre değişiklik gösterecektir. Hastalar asemptomatik olabileceği gibi hafiften ileri dereceye kadar değişebilen ileti tipi işitme kaybı, tinntus gibi şikâyetler ile başvurabilirler.Odyolojik olarak orta kulak timpanosklerozu, genellikle çift taraflı ve ileri derecede iletim veya mikst tip işitme kaybı oluşturmaktadır. Yalnız timpanik membranda yer alan plaklar, anlamlı derecede işitme kaybına neden olmazken, epitimpaniumda kemikcikleri tutan ve stapes suprastrüktürü veya oval pencere ayaklarını tutan TS vakalarında değişen derecelerde işitme kaybı gözlenmektedir (28). Ayrıca şiddetli vakalarda otik kapsül de etkilenebilmektedir, bu takdirde sensörinöral işitme kaybı ortaya çıkmaktadır. Nadir de olsa total işitme kaybı dahi gözlenebilmektedir (27). Yine pencereleri tutan timpanoskleroz olgularında tinntus görülebilmektedir.

Timpanosklerozda oluşabilecek hasarı ve klinik tabloyu geri çevirecek tam kür ile sonuçlanan bilinen bir tedavi yöntemi yoktur. Tedavi protokolleri medikal ve cerrahi tedavi başlıkları altında değerlendirilmiştir. Cerrahi tedavi, oluşmuş hasarın işitmeye olan olumsuz etkisini ortadan kaldırmak amacı ile uygulansa da uzun dönem başarı oranları yüz güldürücü değildir. Etyopatogenez ön planda düşünülerek timpanoskleroz gelişme ihtimali olan grupta patolojik sürecin engellenmesini amaçlayan koruyucu tedavi ise henüz çalışma aşamasındadır.

Medikal tedavi amacıyla kullanılan kalsiyum antagonistlerinin, süreç sırasında oluşabilecek distrofik kalsifikasyonları engelleyerek etki edebilecekleri düşünülmüştür. Lizozomal stabilize edici ve antinekrotik özelliği olan kortikosteroid ve antienflamatuar ilaçların bu dokuda patolojik gelişmeleri yavaşlattığı sanılmaktadır (4).

Cerrahi tedavi ile ileti tipi işitme kayıplarının mikrocerrahi metodlarla ortadan kaldırılması veya sosyal iletişim için gerekli işitmeyi sağlamak amaçlanmaktadır. Cerrahi prosedürlerin uygulandığı durumlarda rekürrens ihtimali siktir ve mevcut işitmede azalma söz konusu olabilir. Ayrıca cerrahinin iatrojenik sensörinöral işitme kaybı gibi riskleri vardır, bu nedenle cerrahinin potansiyel faydası bu hastalarda sorgulanmalıdır. Austin, Sheehy ve House, Tos ve arkadaşları timpanoskleroz tedavisinde cerrahi taraftarı iken, bir kısım otörler cerrahinin TS tedavisinde son başvurulacak yöntem olduğunu savunmaktadır. Smyth'e göre timpanoskleroz ossikuloplasti için kontraendikasyon oluşturmaktadır. Diğer otörlere göre ise en iyi tedavi yöntemidir. Genel olarak timpanoskleroz cerrahisi, Shee ve House tarafından tanımlanan, "geri dönüşümsüz hastalığın çıkartılması, sağlam ve hareketli timpanik membran ile rekonstrüksiyon ve ses iletim mekanizmasının yeniden yapılandırılması" prensiplerini içermektedir (3,4,31,32).

Timpanoskleroz oluşumunu tetiklediği düşünülen, submukozal seviyedeki doku hasarı nedeni olarak, akut veya kronik enfeksiyonlar, cerrahi travmalar başta olmak üzere tüm orta kulak travmaları gösterilmektedir. Hastalığın etyopatogenezinde genetik ve otoimmün bozuklukların da rol aldığı düşünülmektedir.

Birleşik Devletler’de 6 yaşına kadar olan çocukların yaklaşık %30’unda 3 ya da daha fazla akut otitis media atağı bulunmaktadır ve yıllık yaklaşık 700.000 çocuk rekürren veya kronik efüzyonlu otit tanısı ile miringotomi ve/veya ventilasyon tüpü uygulamasına maruz kalmaktadır. Kronik veya rekürren efüzyonlu otitis medianın önüne geçilmesi için ventilasyon tüpü uygulamasına gerek olsa da bu uygulama ile uzun dönemde çeşitli sekeller görülebilir (100). Literatürlerde ventilasyon tüpü sonrası miringoskleroz insidansı % 25-35 arasında değişmektedir. Başka bir çalışmada timpanoskleroz, ventilasyon tüpü uygulananlarda %30-50 oranında gözlenirken, tedavi edilmemiş veya yalnız miringotomi uygulanmış kulaklarda %0-21 arasında gözlenmiştir. Bu sonuçlar VT uygulamasının miringoskleroz insidansını artırdığını göstermiştir. Yapılan prospektif klinik çalışmaların sonuçları, bir kez VT takılması ile mükerrer VT takılması arasında timpanoskleroz sıklık ve şiddetinde değişiklik oluşturmadığı yönünde idi. İlerleyen dönemlerde Danish’in çalışmasında VT uygulamasının miringoskleroz prevalansını artırdığı görülmüştür (43). VT uygulaması esnasında oluşan cerrahi travma veya miringotomi ile orta kulakta oluşan hiperoksit durum sonucunda miringoskleroz geliştiğini düşündüren farklı çalışmalar vardır (3,8). Gerek uygulama sıklığı gerekse uygulandıktan sonra ortaya çıkan patolojik durumlar, ventilasyon tüpü uygulaması komplikasyonlarının önüne geçilmesi için koruyucu tedavi modalitelerini düşündürmüştür. Bu amaçla yapılan çalışmalar ile ventilasyon tüpü uygulaması sonrası gelişen morbiditenin azalması ve önlenmesi hedeflenmektedir.

Timpanoskleroz etyopatogenezinde sıklıkla tartışılan diğer patolojik durumlar arasında kronik otitis media, efüzyonlu otitis media ve akut otitis media yer almaktadır. Akut otitis media çocukluk çağının en sık rastlanılan hastalıklarından bir tanesidir. Bazı çalışmalar hayatın ilk yılında çocukların % 19-62’sinin, üç yaşına kadar olan çocukların %50-84’ünün en az bir kez otit atağı geçirdiğini göstermiştir (41). Russel ve Giles, Wielinga ve ark. timpanoskleroz gelişimini sıçanlarda östaki tüpünü oblitere ederek ve orta kulakta efüzyon gelişimini indükleyerek oluşturmaya çalışmışlardır. Buna rağmen çoğu TS hayvan model çalışmalarında, timpanosklerotik süreç streptokok türleri veya *H. influenzae* gibi enfeksiyöz ajanlar inoküle edilerek indüklenmiştir. Biz de kendi çalışmamızda tiplendirilmemiş *Strep. Pneumoniae* inoküle ederek akut otit ve inflamasyona sekonder timpanosklerozu indüklemeye

çalıştık.Çalışmamızda inokülasyon sonrası sıçanların % 94'ünde akut otit bulguları gözlemlendi. Olguların tamamında lamina propriada kalınlaşma, fibröz doku gelişimi, laküner boşlukların ortaya çıkması ve epitelyal metaplazi gibitimpanoskleroz oluşumu sırasında ortaya çıkan histopatolojik değişiklikler gözlemlendi.

Timpanoskleroz ve miringoskleroz etyopatogenezinde sorumlu faktörler göz önünde bulundurularak çeşitli ajanlar ile bu patolojik sürecin önüne geçilmeye çalışılmıştır.

Matriks metalloproteinazlar (MMP) ekstrasellüler matriks degradasyonunda anahtar rol oynayan kalsiyum ve bakır bağımlı endopeptidaz ailesindedir. Kollajen, elastin, laminin, fibronektin gibi ekstrasellüler matriks yapılarını degrade edebilir. Makrofaj, stromal hücreler gibi birçok hücreden salgılabilmektedir.Özcan ve ark, (35) metalloproteinazların TS gelişimindeki etkisini bir metalloproteinaz inhibitörü olan doksisisiklin kullanarak göstermiştir. Miringotomi ve pnömokok intratimpanik inokülasyonu ile sıçanlarda deneysel olarak TS'ü indüklemişler ve 6 haftalık takip sonucunda doksisisiklin kullanılan grupta kontrol grubuna oranla orta kulak ve timpanik membranda sklerotik plak kalınlığının daha az olduğunu göstermişlerdir.

Akut otitis media veya parasentez sonrası gelişen kalsifikasyon süreci ve sklerotik plaklar kemik dokusunu taklit etmektedir. Kemik modelling belirteçleri ile timpanoskleroz gelişimi arasındaki ilişki çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Raustyte ve ark. (39) tiplendirilmemiş *Haemophilus influenzae* kullanarak oluşturdukları deneysel akut otitis mediadan dört gün sonra timpanik membrana miringotomi uygulamışlardır. Timpanik membrana bakteri inokülasyonun 4, 7, 14 ve 28. günlerinde temporal kemiği diseke ederek immünohistokimyasal olarak analiz etmişlerdir. Sonuçta akut otitis mediada miringotomi olsun ya da olmasın makrofaj ve fibrositlerin başrol aldığı osteopontin, osteopogentin ve osteonektin salınımının kalsifikasyonla ilişkili olduğu gösterilmiş ve miringoskleroz patogenezinde göz önünde bulundurulması gerektiğine dikkat çekilmiştir.

Dawes ve ark. travmatik ventilasyon tüpü yerleştirilmesinin, hemoraji ve orta kulak sıvısının aşırı aspirasyonunun MS riskini artırdığını söylemişlerdir (7). Banerjee ve ark. (44) ventilasyon tüpü uygulaması esnasında oluşan kanamanın

miringoskleroza artırdığı hipotezine dayanarak yaptıkları çalışmada ventilasyon tüpü yerleştirilmeden önce, miringotomi yapıldıktan hemen sonra adrenalini topikal olarak kanamayı azaltmak amacı ile kullanmışlardır. Çalışmalarında kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında uzun dönemde miringoskleroz gelişimi üzerinde topikal adrenalinin etkisinin olmadığını görmüşlerdir.

Cıncık ve ark. (53), 70 sıçan üzerinde yaptıkları çalışmada miringotomize sıçanları topikal 5-Flourourasil (5-FU), mitomisin-C ve topikal serum fizyolojik uyguladıkları üç gruba ayırarak miringoskleroz gelişimi ve miringotomi patensi açısından incelemiştir. Sonuç olarak mitomisin-C uygulanan grupta miringotomi patensinin 5-FU grubuna göre daha uzun sürdüğünü görmüşlerdir. Miringoskleroz gelişiminde ise her iki ilacın da kontrol grubu ile karşılaştırıldığında eşit oranda miringoskleroz gelişimini azalttığı görülmüştür.

Mattson ve ark.farklı oksijen konsantrasyonlarında hiperoksit durumun miringotomize sıçanlardaki etkisini yaptıkları çalışmada değerlendirmiştir. Yüksek oksijen konsantrasyonuna maruz kalan sıçanlarda miringosklerozun daha yüksek seviyede ortaya çıktığı gösterilmiştir (40).Orta kulak kavitesindeki hiperoksit durum serbest oksijen radikal üretiminde artışa neden olarak miringoskleroz oluşturmaktadır. Miringotomi yapıldığında normalde orta kulak kavitesinde %5-10 seviyelerinde seyreden oksijen saturasyonu %21'e ulaşmaktadır. Bu göreceli hiperoksit durum oksijen derive serbest radikal üretiminde artışa neden olabilir. Aynı zamanda orta kulakta inflamasyona sekonder NO seviyelerinde artış gözlenmektedir. Artmış oksijen konsantrasyonlarında NO, O<sub>2</sub> ile reaksiyona girerek dokular için oldukça zararlı olan nitrojen dioksit'e dönüşür ve sklerotik yapıların gelişimi için zemin oluşturur. Ayrıca aynı dönemde timpanik membranda inflamatuvar reaksiyonlar da gözlenmiştir. Bu nedenle antioksidanlar, redüktanlar veya antiinflamatuvar ajanların kullanımı ile miringoskleroz oluşumunun önlenebileceği düşünülmektedir (3,8).

Kaptan ve ark.'nın (66) miringotomi uyguladıkları otuz sıçan üzerinde ginko biloba ekstralarının serbest oksijen radikalleri üzerinden yaptıkları etki baz alınan çalışmalarında malondialdehit, süperoksit dismutaz seviyeleri ve miringoskleroz şiddeti değerlendirilmiştir. On günlük çalışma sonucunda miringoskleroz şiddeti

ginkobiloba kullanılan sıçanlarda salin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük olarak tesbit edilirken, malondialdehit ve süperoksit dismutaz seviyeleri düşük olarak tesbit edilse de istatistiksel olarak anlam taşımadığı görülmüştür. Ek olarak glutasyon peroksidaz değerleri kontrol grubundan daha yüksek olarak sonuçlanmıştır.

Tüm bu sonuçlar ışığında yapmış olduğumuz deneysel çalışmada, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri bilinen N-asetilsistein, kafeik asit, karnitin ve E vitamininin timpanoskleroz gelişimini önlemedeki rollerini araştırdık. Aynı zamanda medikasyonların birbirine üstünlüğü olup olmadığını da kendi aralarında karşılaştırdık.

N-asetilsistein antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri bilinen bir ajandır(96). NAC,antioksidan etkisini inflamatuvar dokuda nötrofillerden salınan serbest oksijen radikallerini direkt temizleyerek ve indirekt olarak oksijen derive serbest radikalleri azaltabilen glutasyonu oluşturmak için glutamin ve glisin birleşmesini sağlayarak göstermektedir (10). N-asetil sisteinin antioksidan etkisi üzerine yapılan birçok çalışma vardır.

Kurian ve ark. (97) kardiyopulmoner bypass'ın indüklediği oksidatif stres üzerine yaptıkları çalışmada antioksidan olarak N-asetil sistein ve Mg kullanmışlar. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında N-asetil sistein kullanılan ve Mg kullanılan grupta kardiyopulmoner bypass sonrası reperfüzyon hasarı ile oluşan biyokimyasal hadiselerin azaldığı tesbit edilmiş.

Özcanve ark.(10),N-asetil sisteinkonsantrasyonlarını değiştirerek yaptıkları çalışmada serum nitrit /nitrat, lipid yıkım ürünü olan malondialdehit değerlerini ve miringoskleroz gelişimi incelemiştir. Çalışmanın sonucunda dozdan bağımsız olarak NAC kullanılan gruplarda MS'un daha az olduğunu görmüşlerdir. Aynı zamanda NAC kullanılan grupta serumda nitrit/nitrat ve malondialdehitin kontrol grubu ile karşılatırıldığında daha düşük seviyede olduğunu görmüşlerdir. Bizim çalışmamızda da, N- asetil sisteinin lamina propria kalınlığı üzerine etkisinin anlamlı olduğu görüldü. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında lamina propria kalınlığında anlamlı derecede azalma olduğu tesbit edildi.Özcan ve ark'nin elde ettikleri sonuçlar bizim sonuçlar ile paralellik göstermektedir. Aynı zamanda NAC kullanılan grupta



karnitin ve kafeik asit kullanılan grupla karşılaştırıldığında, lamina propria kalınlığında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma tesbit edildi. NAC kullanılan grubun lamina propria ölçümleri ile E vitamini kullanılan grubun ölçümleri benzerlik gösterdi ve birbirlerine üstünlükleri istatistiksel anlamda gösterilemedi.

E vitamini, lipid peroksidasyonu esnasında ortaya çıkan SOR ve peroksitlerin nötralize eden antioksidan bir ajandır. E vitamini bu özelliği ile membranları oksidatif zedelenmeye karşı korur (89). Biz de çalışmamızda E vitaminin antioksidan etkinliğinden faydalanmayı planladık. Günümüze değin E vitaminin serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerini nötralize ettiğini gösteren birçok çalışma yapılmıştır.

Farklı bir çalışmada Morsy ve ark. (101), E vitamininin antioksidan etkisi aracılığı ile spinal kord reperfüzyon hasarını istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalttığını, Alfa tokoferolün nörolojik defisit insidansını azaltırken aynı zamanda oksidatif stres değerlerini de düzelttiğini göstermişlerdir.

Üneri ve ark. (7) ise miringotomize sıçanlarda timpanik membran ve orta kulak mukozasında SOR seviyelerini ölçtüklerinde; E vitamininin SOR seviyelerini anlamlı miktarda azalttığını göstermiştir.

Üneri ve ark. (54) yaptıkları bir diğer çalışmada miringotomi ve ventilasyon tüpü uygulanan 72 çocuğun sağ kulağına E vitaminini topikal olarak kullanmıştır. Hastaların dokuz aylık takibi, timpanik membranları mikroskopik bakı altında incelenerek yapılmıştır. Sonuç olarak 144 kulağın 33'ünde miringoskleroz tesbit edilmiştir. Bu miringosklerotik kulakların 22 tanesi tedavi almamış olan sol kulağa aitken, 11 tanesi E vitamini uygulanan sağ kulağa ait olarak değerlendirilmiştir. E vitamini kullanılan grupta daha az sayıda miringoskleroz geliştiğini yayınlamışlardır.

Polat ve ark. (8) beş gruba ayırdıkları 40 sıçan üzerinde yaptıkları çalışmada birinci grup dışındaki tüm sıçanlara bilateral miringotomi uygulamışlardır. İkinci gruba herhangi bir tedavi verilmezken, üçüncü gruba topikal zeytinyağı, dördüncü gruba topikal E vitamini ve beşinci gruba intramuskuler E vitamini uyguladıktan 24 saat sonra sıçanlar sakrifiye edilmiş ve reaktif oksijen ürünleri seviyesi sağ timpanik

membranda değerlendirilmiştir. Grup4'te tedavi edilmemiş grup ile karşılaştırıldığında daha düşük seviyede SOR tesbit edilmiştir. Histolojik incelemede sklerotik değişiklikler değerlendirilmiş ve sonuçların SOR ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. Grup iki ve üçte beyaz halka tarzı lezyonlar görülürken, grup dört ve beşte (grup'5 te iki sıçan dışında) bu değişikliklere rastlanmamıştır. Sonuç olarak dokuda çalışılan SOR değerleri ve sklerotik değişiklikler arasında korelasyon gözlenmiş ve topikal E vitamininin de SOR değerlerini azalttığı görülmüştür. Bizim yaptığımız çalışmada ise E vitamininin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında lamina propria kalınlığında istatistiksel olarak önemli derecede azalmaya neden olduğu görüldü. Polat (8), Kazıkdaş (52), Üneri (54) ve ark.'nın yaptıkları, E vitaminin miringosklerozu önleyici, serbest oksijen radikallerini azaltıcı etkilerini araştıran çalışmaların sonuçları ile bizim yaptığımız çalışmanın sonuçları arasında paralellik gözlemlendi. Aynı zamanda E vitamini kullanılan grupta karnitin ve kafeik asit kullanılan grupla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede lamina propria kalınlığında azalma tesbit edildi. Böylece E vitaminin, kafeik asit ve karnitine olan üstünlüğünü gösteren sonuçlar elde edildi.

Kafeik asit fenil ester antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, immüno stimülatör, antiangiogenik, antiinvaziv, antimetastatik ve karsinostatik aktivitesi bilinen bir ilaçtır. Kafeik asitin antioksidan, antiinflamatuvar etkilerinden faydalanarak birçok çalışma yapılmıştır (78-81).

Özyurt ve ark. (102) bleomisin ile akciğer fibrozisini indüklediği çalışmalarında sıçanları dört grupta incelemiştir. Bir gruba bleomisin+ CAPE, diğer gruba bleomisin +E vitamini, bir gruba yalnız bleomisin uygulanmıştır. Son grup ise kontrol grubu olarak sınıflandırılmıştır. Yaptıkları çalışma sonunda akciğer dokusunda heksokinaz, glukoz-6 fosfat dehidrogenaz, laktat dehidrogenaz ve Malondialdehit seviyeleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak CAPE ve E vitamini uygulanan gruplarda doku enzim düzeylerinin kontrol grubuna yakın seviyelerde olduğu gösterilmiştir. Bleomisin akciğer hasarı oluştururken serbest oksijen radikallerinde yükselme söz konusudur. CAPE ve E vitamini antioksidan özellikleri ile enzim aktiviteleri üzerinde koruyucu etki göstermişlerdir.

Kavaklı ve ark.(84) ise sıçanlarda spinal kord hasarı yaptıktan sonra bir gruba CAPE, bir gruba deksametazon uygulamışlar ve bir diğer grubu ise herhangi bir tedavi vermemek sureti ile kontrol grubu olarak sınıflandırmışlardır. Lipid peroksidasyon ürünü olan serum malondialdehit seviyeleri gruplar arasında karşılaştırıldığında, tedavi verilmeyen grupta en yüksek seviyede olduğu gözlenmiştir. Takiben kafeik asit ve deksametazon grubu gelmektedir. Bu çalışma ile kafeik asitin antioksidan özelliği vurgulanmıştır.

Serarslan ve ark. (82)yara iyileşmesi sürecinde antioksidanların etkisini kafeik asit fenil ester kullanarak araştırmışlardır. Sıçanlarda ciltte tam kat insizyon sonrası primer sutureasyon ve yara iyileşmesi sürecinin takibinde kafeik asit fenil ester kullanılan grupta yara iyileşmesinin kontrol grubuna oranla daha hızlı olduğu görülmüştür.

Kafeik asit fenil ester'in antioksidan etkisinden faydalanılarak kulakta miringoskleroz üzerinde de çalışmalar yapılmıştır. Song ve ark. (103) kafeik asit fenilesterin miringotomize kulaklarda miringoskleroz üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda CAPE'nin kontrol grubuna oranla daha az skleroz geliştirdiğini ve lamina propria'nın daha ince olduğunu görmüşlerdir. Bu süreçte muhtemel mekanizmanın CAPE'nin antioksidan ve antiinflamatuvar etkisinden kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.

Bizim çalışmamızda kafeik asit fenil ester'in kontrol grubu ile karşılaştırıldığında lamina propria kalınlığı üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca CAPE, karnitin ve kontrol grubu lamina propria kalınlığında benzer sonuçlar elde edilmiştir. Song ve ark. (103), timpanik membranda miringotomi yapılan bölgenin kalınlığını değerlendirmişlerdir. Bizim sonuçlarımızın paralellik göstermemesinin sebebi belkide çalışmalar arasında timpanoskleroz gelişimini sağlamak için uygulanan yöntem farklılığıdır. Biz çalışmamızda timpanosklerozu akut otit geliştirerek indüklemeye çalışırken, Song ve ark. membrana miringotomi uygulayarak miringosklerozu indüklemeye çalışmışlardır. Belki de kafeik asitin etkileri daha çok mekanik travma veya miringotomi sonrası oluşan göreceli hiperoksit durum üzerinden gerçekleşmektedir. Oysa bizim çalışmamızda orta kulakta enflamatuvar süreç söz konusudur. Bu farklılığın

açıklanabilmesi için benzer metodlar kullanılarak yapılan ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

L-karnitin antioksidan özelliği iyi bilinen ve bu güne kadar birçok çalışmaya konu olmuş bir ajandır. (72,73). Arslan ve ark,(76) karnitinin hem biyokimyasal hem de histopatolojik analizlerde yanığın ilerleyici etkisini kontrol grubuna oranla durdurduğunu çalışmalarında göstermiştir.Yine Tellioğlu ve ark, (77)benzer bir çalışmayı cilt flebi ve nekroz gelişimi üzerinde karnitinin etkisini yüksek ve düşük dozlarda kullanarak değerlendirmiştir.Karnitinin anlamlı etkisi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gösterilmiş ve ek olarak yüksek doz uygulamasının nekroz üzerine etkinliğinin daha fazla olduğu gösterilmiştir.Biz de çalışmamızda 100 mg/kg doz uygulayarak karnitinin bu etkisini değerlendirdik.

Karnitin timpanik membranda da çalışılmıştır. Akbaş ve ark, (9) yirmi sıçan üzerinde yaptıkları çalışmada sıçanların timpanik membranlarına miringotomi açarak miringoskleroz oluşumunu indüklemişlerdir. Sıçanlar iki gruba ayrılarak birinci grup kontrol grubu olarak kabul edilmiş, ikinci gruba ise intraperitoneal karnitin uygulanmıştır. 28 günün sonunda sıçanlar dekapite edilerek timpanik membranları histopatolojik olarak değerlendirildiğinde, birinci grupta istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artış gösteren miringoskleroz bulgularitesbit edilmiş ve karnitinin antioksidan etkisi üzerinden miringosklerozu azalttığı kanısına varılmıştır.

Çalışmamızda karnitinin lamina propria kalınlığı üzerinde istatistiksel anlamlı etkisi gözlenmemiştir. Akbaş ve ark,çalışmalarında sıçanları 28. günde sakrifiye ederek timpanik membranı incelemişlerdir. Süre açısından karşılaştırıldığında; çalışmamız daha kısa süreyi kapsamakta idi. Belki de veriler arasındaki uyumsuzluk çalışma süreleri arasındaki farktan kaynaklanmaktadır. Çalışmalar arasında yöntem farkı da mevcuttur.Akbaşve ark,miringosklerozumekanik travma ve hiperoksit ortam oluşturarak indüklenmektedir. Biz ise çalışmamızda timpanosklerozu oluşturulan akut otit ile indüklenmeye çalıştık. Bu yöntem farkı sonuçları etkilemiş olabilir. Karnitin, kafeik asit fenil ester ve kontrol grubunda benzer lamina propria kalınlık ölçümleri elde edildi. Yapılan diğer çalışmaların aksine yaptığımız çalışmada karnitinin etkisiz olarak bulunması belki de histolojik açıdan değerlendirilen ölçüt

farklılığına bağlıdır. Bu durumu açıklığa kavuşturmak için timpanosklerozun değerlendirilmesinde farklı ölçütlerin de kullanılması gerekli olabilir.

## SONUÇ

Günümüzde timpanoskleroz küratif tedavisi olmayan, yerleşim yerine göre değişiklik göstermekle birlikte çeşitli derecelerde işitme kaybı, tinnitus ve hatta bazen total işitme kaybı gibi morbiditelere yol açan bir hastalık olarak bilinmektedir. Çeşitli tedavi modaliteleri geliştirilmiş olsa da, uygulanan metodların tam etkinliği söz konusu değildir. Cerrahi tedaviler sonrası rekürrensler veya cerrahiye bağlı gelişen komplikasyonlar nedeniyle cerrahi tercih edilen bir tedavi metodu olmaktan neredeyse çıkmıştır. Son dönemlerde, hastalığın gelişimini önlemeye yönelik tedavi modaliteleri üzerine çok sayıda araştırma yapılmaktadır.

Bu çalışmada, antioksidan özellikleri bilinen N-asetil sistein, karnitin, kafeik asit fenil ester ve E vitamininin timpanoskleroz gelişimi üzerinde engelleyici etkilerini araştırdık ve bu medikasyonları kendi aralarında karşılaştırdık. Sonuç olarak; N-asetil sistein ve E vitamini kullanılan gruplarda kontrol grubu ve diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı sonuçlar elde edilmesine karşın, N-asetil sistein ve E vitamininin kendi aralarında birbirlerine üstünlüğü görülmedi.

Sonuçlar, timpanoskleroz gelişiminin ön görüldüğü AOM, KOM, EOM veya ventilasyon tüpü uygulaması gibi durumlarda N-asetil sistein ve E vitamini kullanmanın faydalı olabileceği düşündürmektedir. Fakat insanlarda sistemik ve topikal etkinliğinin araştırılması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. Cummings CW. Cummings Otolaryngology Head and Neck Surgery. Fourt Edition. Elsevier Mosby.2005; volume 4, 2801-15.
2. Akyıldız N. İşitme ve Denge Organının Morfolojisi. Akyıldız N. Ed. Kulak hastalıkları ve mikrocerrahisi 1. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi 1998;1-57.
3. Görür K. Timpanoskleroz ve Miringosklerozun Eiyopatogenezi. Otoscope2004; 4:125-9.
4. Akyıldız N. Timpanoskleroz. Akyıldız N. Ed. Kulak hastalıkları ve mikrocerrahisi 1. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi 1998;461-72.
5. Flodin F M, Hulterantz M. Possible inflammatory mediators in tympanosclerosis development International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology 63 (2002) 149-54.
6. Çelik O. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi 1. 2. Baskı, Asya Tıp Kitabevi 2007;232.
7. Uneri C, Bağlam T, Yazıcı M. The effect of Vitamin E treatment on thedevelopment of myringosclerosisism after ventilation tube insertion International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology 2006;70, 1045-8.
8. Polat Ş, Öztürk Ö, Uneri C ve ark. Determination of Reactive Oxygen Species in Myringotomized Tympanic Membranes:Effect of Vitamin E Treatment. Laryngoscope2004;114:720-5.
9. Akbas Y, Pata YS, Görür K. The effect of L-carnitine on the prevention of experimentally induced myringosclerosis in rats. Hearing Research 184 2003; 107-112.
10. Özcan C, Görür K, Cinel L. the inhibitory effect of topical N-acetylcysteine application on myringosclerosis in perforated rat tympanic membrane. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology 63, 2002; 179-84.
11. Nıtescu N, Ricksten SE, Marcussen N. N-acetylcysteine attenuates kidney injury in rats subjected to renal ischaemia-reperfusion. Nephrol Dial Transplant 2006; 21: 1240–7.

12. Sataloff RT. Occupational Hearing Loss. Third Edition, Taylor and Francis 2006; 893-95.
13. Koç C. Kulak Burun boğaz Hastalıkları ve Baş- Boyun Cerrahisi. Güneş Kitabevi. 2004;45-63.
14. Lee K.J. Essential Otolaryngology Head and Neck Surgery. Eight Edition, McGraw-Hill 2003: 9-11.
15. Çelik O. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi 1. 2. Baskı, Asya Tıp Kitabevi 2007;127-54.
16. Morris MS. Tympanostomy Tubes Types, Indications, Techniques, and Complications. Otolaryngologic Clinics of North America 1999; 32 (3).
17. Knutsson J, Bagger-Sjöback D, and Unge M V. Distribution of Different Collagen Types in the Rat's Tympanic Membrane and Its Suspending Structures. Otolology & Neurotology 2007;28:486-91.
18. Stenfeldt K, Johansson C, Hellström S. The collagen structure of the tympanic membrane: Collagen types I, II, and III in the healthy tympanic membrane, during healing of a perforation, and during infection. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2006;132:293-8.
19. Leon B. Surgical Pathology of the Head and Neck. Third Edition Informa healthcare. 2009: 423-24.
20. Richard F, Judkins, Hongyan L et all. Surgical anatomy of the rat middle ear. Otolaryngol Head Neck Surg 1997;117:438-47.
21. Fleischer G. Evolutionary Principles of the Mammalian middle ear. Adv. Anat Embryol Cell Biol 1978; 55: 1-70.
22. Carvalho LM, Bento RF, Neto CS. Influence of Hypercalcemia in the Formation of Tympanosclerosis in Rats. Otolology & Neurotology 2005;27:27–32.
23. Zimmer WM, Deborah FR, Saunders JC. Middle-ear development VI: Structural maturation of the rat conducting apparatus. Anatomical Record 1994; 239:475-84.
24. Daniels HJ, Fulgham RS, Brinn JE, Barrett KA. Comparative anatomy of Eustachian tube and middle ear cavity in animal models for otitis media. Ann Otol Rhinol Laryngol 1982; 91:82-9.

25. Wysocki J. Topographical anatomy and measurements of selected parameters of the rat temporal bone. *Folia Morphol* 2008;67(2):111-9.
26. Albiin N, Hellström M, Stenfors LE. Middle ear mucosa in rats and humans. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1986;126,:2-15.
27. Castagno LA, Lavinsky L. Tympanic membrane healing in myringotomies performed with argon laser or microknife: an experimental study in rats. *Rev Bras Otorrinolaringol (Engl Ed)* 2006;72:794-9.
28. Forse'ni M, Bagger-Sjöback D, Hultcrantz M. A study of inflammatory mediators in the human tympanosclerotic middle ear. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2001;127:559-64.
29. Gleeson M. Scott- brown's Otorhinolaryngology Head and Neck surgery Seventh Edition. Volume 3. Hodder Arnold. 2008; 3401.
30. Aslan H, Katılmış H, Öztürkcan S. Tympanosclerosis and our surgical results *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2010; 267:673-77.
31. Cummings CW. Cummings otolaryngology head and neck surgery. Fourth Edition. Elsevier Mosby. 2005; 4,3002-4.
32. Albu S, Babighian G, and Trabalzini F. Surgical Treatment of Tympanosclerosis. *The American Journal of Otology* 2000; 21:631-5.
33. McMinn RM. Electron microscopic observations on the repair of perforated tympanic membranes in the guinea-pig *J. Anat.* 1975; 120, 1, pp. 207-217.
34. Mattsson C, Johansson C, Hellström S. Myringosclerosis develops within 9 hours of myringotomy. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1999;61:31-6.
35. Ozcan I, Selcuk A, Ozcan M. the Effect of Topical Doxycycline in the Prevention of Experimental Tympanosclerosis *Laryngoscope* 2008;118
36. Santos PF, Leal MC, Peixoto C, Caldas NS, et al. Otomicroscopic and histologic findings of induced myringosclerosis in rats: a critical study of an experimental model. *Rev Bras Otorrinolaringol (Engl Ed)* 2005;71:668-74.
37. Flodin F M, Hultcrantz M. Possible inflammatory mediators in tympanosclerosis development *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 2002; 149-54.



38. Mattsson C, Stierna P, and Hellström S. Treatment With Dexamethasone Arrests the Development of myringosclerosis After Myringotomy. *The American Journal of Otolaryngology* 2000;21:804-8.
39. Raustyte G, Per Caye'-Thomasen, Hermansson A et al.. Calcium deposition and expression of bone modelling markers in the tympanic membrane following acute otitis media. *International journal of pediatric otorhinolaryngology* 2006;70(3):529-39
40. Per Cayé-Thomasen and Tos M. Histopatologic differences due to bacterial species in acute otitis media. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 63(2) 2002; 99-110.
41. Raustyte G, Hermansson A. Development of myringosclerosis during acute otitis media caused by *Streptococcus pneumoniae* and non-typeable *Haemophilus influenzae*: a clinical otomicroscopical study using the rat model. *Medicina (Kaunas)* 2005; 41(8).
42. Wielinga EWJ, Peters TA. Middle Ear Effusions and Structure of the Tympanic Membrane *Laryngoscope* January 2001;111.
43. Schilder AGM, Zielhuis GA. Long term effects of otitis media with effusion: otomicroscopic findings. *The American journal of Otolaryngology*. 1995; 16, 3.
44. Banerjee AR, Jennings C, Marshall JN. The Effect of Topical Adrenaline on the Development of Myringosclerosis After Tympanostomy Tube Insertion *The American Journal of Otolaryngology* 2000;21:482-4.
45. De Beer BA, Schilder AGM, Zielhuis GA, Natural Course of Tympanic Membrane Pathology Related to Otitis Media and Ventilation Tubes Between Ages 8 and 18 Years *Otolaryngology & Neurotology* 2005;26:1016-21.
46. Karlıdağ T, İlhan N, Kaygusuz İ. Comparison of Free Radicals and Antioxidant Enzymes in Chronic Otitis Media With and Without Tympanosclerosis. *The Laryngoscope* January 2004; 114(1):85-9.
47. Aslan H, Başoğlu MS, Şentürk B. Serum matrix metalloproteinases and tympanosclerosis *The Journal of Laryngology Otolaryngology* 2011; 125, 142-146.
48. Koç A, Uneri C. Genetic predisposition for tympanosclerotic degeneration, *Eur Arch Otolaryngol*. 2002; Apr, 259(4): 180-3.

49. Koç A, Uneri C. Sex distribution in children with tympanosclerosis after insertion of a tympanostomy tube *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2001; 258 :16–19.
50. Ferri M, Faggioli GL, Ferri GG. Icarotid stenosis correleted with tympanosclerosis. *Int Angiol.* 2004 Jun; 23(2): 144-6.
51. Stenstrom R, Pless B, Bernard. Hearing Thresholds and Tympanic Membrane Sequelae in Children Managed Medically or Surgically for Otitis Media With Effusion. *Arch Pediatr Adolesec* 2005 Dec; 159(12),1151-6.
52. Kazikdas K, Şerbetcioğlu Ç. Tympanometric Changes in an Experimental Myringosclerosis Model After Myringotomy *Otol Neurotolology*: April 2006; 27 (3), 303-7.
53. Cincik H, Güngör A, Çekin E. Effects of Topical Application of Mitomycin-C and 5-Fluorouracil on Myringotomy in Rats *Otolology Neurotolology*: May 2005; 26(3): 351-54.
54. Üneri C, Bağlam T, Yazıcı M. The Effect of Vitamin E Treatment on the development of Myringosclerosis after Ventilation Tube Insertion. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 2006;70, 1045-48.
55. Tsuzukı K, Yanagihara N, Hinohira Y. Tympanosclerosis involving the ossicular chain: mobility of the stapes in association with hearing results. *Acta Oto-Laryngologica*, 2006; 126: 1046-52.
56. Atalay M, Laaksone DE. Diabetes, Oxıdative Stress and Physical Exercise. *Journal of Sports Science and Medicine* 2002; 1, 1-14.
57. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkey GB. Pharmacological approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991; 161: 488-502.
58. Feher J, Csomos G, Vereckei A (Ed). The chemistry of free radical reactions. In: *Free Radical Reactions in Medicine*, Springer-Verlag, Berlin, Germany 1987: 2-10.
59. Aybey B, Tufan H, Ergenekon G. Serbest radikaller. *Türkdenn* 1996; 30:116-22.
60. Erenel G, Erbaş D, Ancioğlu A. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi M J* 1992: 243-50.

61. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayımları 1995: 3-95.
62. Halliwell B, Gutteridge JMC. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. *Lancet* 1984: 1396-1397.
63. Younes M, Siegers CP. Interrelation between lipid peroxidation and other hepatotoxic events. *Biochem Pharmacol* 1984; 33: 2001-2003.
64. Haddad J Jr. Lipoperoxidation as a measure of free radical injury in otitis media. *Laryngoscope* 1998 Apr; 108(4 Pt 1): 524-30.
65. Takoudes TG, Haddad J Jr. Evidence of oxygen free radical damage in human otitis media. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999 May; 120(5): 638-42
66. Kaptan Z K, Emir H, Göçmen H. Ginkgo biloba, a free oxygen radical scavenger, affects inflammatory mediators to diminish the occurrence of experimental myringosclerosis. *Acta Oto-Laryngologica*, 129: 8, 826- 31.
67. Szabo C, Ferrer-Sueta G, Zingarelli B et al. Mercaptoethylguanidine and guanidine inhibitors of nitric oxide synthase react with peroxynitrite and protect against peroxynitrite-induced oxidative damage. *J Biol Chem* 1997; 272: 9030-6.
68. Türköz Y, Özerol E. Nitrik Oksit'in Etkileri ve Patolojik Rollerini. *Journal of Turgut Özal Medical Center* 1997; 4(4).
69. Flora JS. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxid Med Cell Longev*. 2009 ; 2(4): 191-206.
70. Alı SA, Faddah L, Abdel-Baky A. Protective Effect of L-Carnitine and Coenzyme Q10 on CCl4-Induced Liver Injury in Rats. *Sci Pharm*. 2010; 78: 881-96.
71. Sayed-Ahmed MM, Darweesh AQ and Fatani AJ. Carnitine deficiency and oxidative stress provoke cardiotoxicity in an ifosfamide-induced Fanconi Syndrome rat model. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* July/August 2010; 3: 4, 266-74.
72. Karsidağ T, Asensio JA, Kabukcuoglu F. Preliminary study comparing the effects of locally and systemically applied L-carnitine on the healing of full-thickness skin defects. *Scandinavian Journal of Surgery* 2010; 99: 147-52.

73. Kayaalp O. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi farmakoloji. S: 287-292 1.Cilt 9.Basım Hacettepe-Taş Kitabevi, Ankara, 2000.
74. Rodrigues PL, Portari G V, Padovan G J, Failure of carnitine in improving hepatic nitrogen content in alcoholic and non-alcoholic malnourished rats. CLINICS 2010;65(9):877-883.
75. Calandrella N, Seta C, Scarsella G, Carnitine reduces the lipoperoxidative damage of the membrane and apoptosis after induction of cell stress in experimental glaucoma. Cell Death and Disease. 2010;5;1e62.
76. Arslan E, Milcan A, Ünal Ş ve ark. The effects of carnitine on distally-burned dorsal skin flap: an experimental study in rats. Burns , May 2003; 29(3), 221-7.
77. Telliöđlu AT, Uras KA, Yılmaz T ve ark. The Effect of Carnitine on Random-Pattern Flap Survival in Rats. Plastic Reconstructive Surgery: 15 September 2001;108 (4), 959-62.
78. Hsu LY, Lin CF, Hsu WC. Evaluation of Polyphenolic Acid Esters as Potential antioxidants. Biologic& Pharmaceutical Bulletin. 2005; Vol.28, No.71211.
79. Biray Ç, Gündüz C, Yılmaz B ve ark. Propolis ve etken maddeleri olan kafeik asit fenil ester (CAPE) ve sinamik asitin, insan T hücreli akut lenfoblastik lösemi hücre dizisi (CCRF-CEM)'de sitotoksik ve apoptotik etkinliğinin değerlendirilmesi. Ege Tıp Dergisi 2006; 45(2) : 83 – 92.
80. Tan J, Ma Z, Han L et al. Caffeic acid phenethyl ester possesses potent cardioprotective effects in a rabbit model of acute myocardial ischemia-reperfusion injury. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2005; 289:2265-71.
81. Wei X, Zhao L, Ma Z et al. Caffeic acid phenethyl ester prevents neonatal hypoxic-ischaemic brain injury. Brain 2004; 127, 2629-35
82. Serarslan G, Altuđ T, Kontas T ve ark. Caffeic acid phenethyl ester accelerates cutaneous wound healing in a rat model and decreases oxidative stress. Clinical and Experimental Dermatology 2007; 32, 709-15.
83. Gürel A, Armutcu F, Hosnuter M ve ark. Caffeic Acid Phenethyl Ester Improves oxidative Organ Damage in Rat Model of thermal Trauma. Physiol. Res 2004; 53:675-682.

84. Kavaklı HŞ, Koca C, Alıcı Ö ve ark. Effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester on Malondialdehyde Levels in Spinal Cord Injury in Rats. *JAEM* 2010; 121-3.
85. Evans, HM, Bishop KS. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. 1922. *Science*, 56 (1458): 650-651.
86. Absorption, transport and distribution of vitamin E. *J Nutr.* 1990.Mar;120(3): 233-42.
87. Putnam ME, Comben N. Vitamin E (review article). *The Veterinary Record*. Dec 1987; (5): 541–545.
88. McDowell LR. *Vitamins in animal nutrition*. Academic Press Inc 1989; 365-387.
89. Palan PR, Strube F, Letko J. Effects of Oral, Vaginal, and Transdermal Hormonal Contraception on Serum Levels of Coenzyme Q10, Vitamin E, and Total Antioxidant Activity. *Obstetric and gynecology International*. 2010;2010.
90. Food and Nutrition Board Institute of Medicine. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, Selenium and carotenoids. National Acad. Press. Washington 2000.
91. Capuron L, Moranis A, Combe N et al. Vitamin E status and quality of life in the elderly: influence of inflammatory processes. *Br J Nutr.* 2009; 102(10): 1390-1394.
92. Kazikdas K. C, Uguz M. Z, Erbil G. The Anti-Oxidant Effect of Alpha-Tocopherol in the Prevention of Experimentally Induced Myringosclerosis. *Otology & Neurotology* 2006;27:882 - 886.
93. Patel J, Matnor NA, Iyer A et al. A Regenerative Antioxidant Protocol of Vitamin E and  $\alpha$ -Lipoic Acid Ameliorates Cardiovascular and Metabolic Changes in Fructose-Fed Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011; 2011.
94. Yachi R, Igarashi O, Kiyose C. Protective effects of the vitamin analogs against Carbon Tetrachloride-Induced Fatty Liver in Rats. *J Clin Biochem Nutr.* 2010 September;47,148-154
95. Jialal I, Fuller CJ. Oxidized LDL and antioxidants. 1993. *Clin Cardiol* . 16: 1-9.

96. Mayes PA. Structure and Function of the Water-soluble Vitamins. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA - Rodwell VW. Harper's Biochemistry. 23. ed. Lange medical publication, London 1993; 573–87.
97. Kurian G A, Paddikkala N. N-acetylcysteine and magnesium improve biochemical abnormalities associated with myocardial ischaemic reperfusion in South Indian patients undergoing coronary artery bypass grafting: a comparative analysis. Singapore Med J 2010; 51(5) : 381.
98. Swarnalatha G, Ram R, Neela P. Oxidative stress in hemodialysis patients receiving intravenous iron therapy and the role of N-acetylcysteine in preventing oxidative stress. Saudi J Kidney Dis Transpl 2010; 21: 852-8.
99. Nitescu N, Ricksten SE, Marcussen NN. N-acetylcysteine attenuates kidney injury in rats subjected to renal ischaemia-reperfusion. Nephrol Dial Transplant 2006; 21: 1240–1247.
100. Özcan C, Polat G, Görür K ve ark. The Effect of Local Administration of N-acetylcysteine in Perforated Rat Tympanic Membrane: an Experimental Study in Myringosclerosis. Pharmacological Research 2002; Vol. 45, No. 1.
101. Morsy MD, Mostafa O and Hassan W. A potential protective effect of  $\alpha$ -tocopherol on vascular complication in spinal cord reperfusion injury in rats. Journal of Biomedical Science 2010, 17: 55.
102. Özyurt H, Özyurt H, Atış Ö. Deneysel olarak oluşturulan akciğer fibrozisinde E vitamini ve kafeik asit fenil ester'in akciğer dokusundaki bazı metabolik enzimlere etkisi. Tıp Araştırmaları Dergisi 2006; 4(3): 14-18.
103. Song JJ, Kwon SK, Cho CG. The effect of caffeic acid phenethyl ester on the prevention of experimentally induced myringosclerosis. International Journal of pediatric otorhinolaryngology 2007; 71: 1287-1291.