

## ARAŞTIRMA / RESEARCH ARTICLE

# Rat timpanik membranında deneysel olarak oluşturulan miringoskleroz gelişim sürecine N-nitro L-arjinin metil ester'in etkisi

E. Doğan, T.K. Erdağ, S. Sarıoğlu, M.C. Ecevit, A.Ö. İkiz, E.A. Güneri

### Özet

**Amaç:** Bu çalışmada, miringotomi yapılan ratlara intraperitoneal ve topikal olarak uygulanan N-nitro L-arjinin metil ester'in (L-NAME) kulak zarı perforasyonu iyileşmesi ve miringoskleroz gelişimi üzerine olan etkileri incelenmiştir.

**Yöntem:** Çalışmamızda 20 adet Wistar rat kullanılmıştır. Yapılan otomikroskopik bakıda sağlıklı timpanik membrana sahip olduğu görülen 20 rata bilateral miringotomi yapıldıktan sonra, hayvanlar her grupta beş rat olacak şekilde rastgele dört gruba ayrılmışlardır. Birinci gruptaki beş rat tedavisiz bırakılmıştır. İkinci grupta ise 10 mikrolitre serum fizyolojik emdirilmiş gelfoam, miringotomiden hemen sonra, miringotomi sonrası 12. saatte ve 24. saatte olmak üzere üç kez her iki timpanik membrandaki perforasyon üzerine yerleştirilmiştir. Üçüncü grupta, 10 mikrolitre (100 mg/ml) L-NAME emdirilmiş gelfoam miringotomiden hemen sonra, miringotomi sonrası 12. saatte ve 24. saatte her iki timpanik membrandaki perforasyon üzerine yerleştirilerek uygulanmıştır. Dördüncü grupta bulunan beş rata ise 10 mg/kg (5 mg/ml) dozundaki L-NAME miringotomiden hemen sonra, miringotomi sonrası 12. saatte ve 24. saatte intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Ondört günlük iyileşme periyodu sonrasında yapılan otomikroskopik miringoskleroz değerlendirmesinin ardından, hayvanlar sakrifiye edilerek histopatolojik inceleme amacıyla timpanik membranları çıkarılmıştır. Yapılan histopatolojik değerlendirmede, Hematoksilin-Eozin ve Van Gieson ile boyanan kesitler ışık mikroskopu altında incelenerek inflamasyon skorlaması, timpanik membran kalınlığı ölçümü ve miringoskleroz skorlaması yapılmıştır.

**Bulgular:** Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre, topikal ve intraperitoneal olarak uygulanan L-NAME'nin, yapılan miringotomiye cevap olarak ortaya çıkan inflamasyonu istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı görülmüştür ( $p<0.05$ ). Histopatolojik miringoskleroz dikkate alındığında, topikal ve intraperitoneal olarak uygulanan L-NAME'nin miringosklerozu, tedavisiz bırakılan ve topikal serum fizyolojik uygulanan gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı gösterilmiştir ( $p<0.05$ ). Topikal ve intraperitoneal L-NAME uygulanan gruplardaki ortalama timpanik membran kalınlığının, tedavisiz bırakılan ve topikal serum fizyolojik uygulanan gruplara göre istatistiksel anlamlı olarak düşük düzeyde kaldığı görülmüştür ( $p<0.05$ ).

**Sonuç:** Çalışmamızda, L-NAME'nin diğer dokularda gösterilen antiinflamatuvar ve antifibrotik davranışını, timpanik membran dokusundaki yara iyileşme sürecinde de sergilediği ortaya konmuştur. Bu etkileriyle rat timpanik membranında miringoskleroz gelişimini önlediğini göstermiş olduğumuz L-NAME, miringotomi yapılması ya da ventilasyon tüpü uygulaması sonrası görülebilen miringosklerozun önlenmesinde iyi bir tedavi alternatifi olabilir.

Türk Otolarengoloji Arşivi, 2008; 46(3): 155-160

### Giriş

Miringoskleroz, timpanik membranın lamina propriasındaki kollajen yapının hiyalin dejenerasyonu ve kalsifikasyonu ile karakterize bir patoloji olup, efüzyonlu otitis medianın tedavisinde mirin-

gotomi yapılması ya da ventilasyon tüpü uygulaması sonrasında ortaya çıkabilir.<sup>15</sup> Miringotomi sonrası orta kulaktaki oksijen konsantrasyonunun dış ortamdaki seviyesine ulaşmasıyla gelişen hiperoksik durumun serbest oksijen radikallerinin (SOR) oluşumuna neden olduğu, oluşan SOR'un ise doku hasarına yol açtığı gösterilmiştir.<sup>6,9</sup> Doku hasarı sonrası miringosklerozla sonuçlanmaktadır.<sup>3,9</sup>

Peroksinitrit, travma ve inflamasyon sırasında dokuda üretimi artan toksik bir serbest radikaldir. Peroksinitrit, süperoksit ve nitrik oksit (NO) moleküllerinin reaksiyona girmesi sonucunda oluşmaktadır. NO'nun sitotoksik etkilerinden asıl sorumlu olan serbest radikal peroksinitrittir.<sup>9,11</sup> NO akut inflamasyon sırasında indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) enzimi tarafından yüksek miktarlarda sentezlenmektedir.<sup>10,11</sup> iNOS, NO sentezi sırasında yarı esansiyel bir aminoasit olan L-arjinini substrat olarak kullanmaktadır. iNOS enzimi için uygun substratı azaltan L-arjinin analogları kullanılarak NO'nun aşırı üretimi azaltılabilir. Çalışmamızda bir L-arjinin analogu olan N-nitro L-arjinin metil ester (N $\omega$ -Nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride, N-5751 Sigma®, Germany) kullanılmıştır.

N-nitro L-arjinin metil ester (L-NAME), yapılan çeşitli çalışmalarda antiinflamatuvar, antioksidan ve anti-fibrotik etkileri kanıtlanmış, geniş kullanım alanına sahip bir maddedir. Akut inflamasyon ve yara iyileşme modellerinde L-NAME kullanılarak NO sentezinin inhibe edilmesinin inflamasyonu, doku hasarını ve kollajen depolanmasını azalttığı gösterilmiştir.<sup>12-15</sup> Fakat birçok dokudaki yara iyileşmesinde olumlu etkileri gösterilmiş olan L-NAME'nin timpanik membran perforasyonu iyileşmesi ve miringoskleroz gelişimi üzerine olan etkilerini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada topikal ve intraperitoneal olarak uygulanan L-NAME'nin, timpanik membran iyileşmesi ve miringoskleroz gelişimi üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

## **Gereç ve Yöntem**

İntraperitoneal 50 mg/kg ketamin hidroklorür ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid enjeksiyonuyla sağlanan anestezi sonrası yapılan otomikroskopik bakıda bilateral normal timpanik membrana sahip olduğu görülen 20 adet rat çalışmaya dahil edildi. Otomikroskopik görüş altında, kulak spekulumu ve steril pik kullanılarak her iki kulak zarının arka üst kadranına 1 mm çapında standart miringotomi yapılan ratlar her grupta beş hayvan olacak şekilde rastgele dört gruba ayrıldı.

### **Grup miringotomi (M) (n=10)**

Bu gruptaki beş ratın toplam 10 kulak zarına, tanımlanan standartlarda yapılan miringotomi sonrası herhangi bir tedavi uygulanmadı.

### **Grup miringotomi + topikal serum fizyolojik (M+SF) (n=8<sup>a</sup>)**

Bu gruptaki beş ratın toplam 10 kulağına miringotomiden hemen sonra, miringotomi sonrası 12. saatte ve 24. saatte olmak üzere üç kez 10 mikrolitre serum fizyolojik emdirilmiş gelfoam, perforasyon üzerine gelecek şekilde yerleştirildi.

<sup>a</sup>Ondördüncü günde yapılan otomikroskopik bakıda, bu gruba ait bir ratın her iki timpanik membranında enfeksiyon ile uyumlu görünüm izlendi. Hazırlanan bu iki spesmenin histopatolojik incelemesinde yoğun polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu ve fibrin birikimi görülmesi üzerine, enfekte oldukları kabul edilerek her iki timpanik membran da çalışma dışı bırakıldı.

### **Grup miringotomi + topikal L-NAME (M+tpk L-NAME) (n=10)**

Bu gruptaki beş ratın toplam 10 kulağına, miringotomiden hemen sonra, miringotomi sonrası 12. saatte ve 24. saatte olmak üzere üç kez 10 mikrolitre (100 mg/ml) L-NAME emdirilmiş gelfoam, perforasyon üzerine gelecek şekilde yerleştirildi.

### **Grup miringotomi + intraperitoneal L-NAME (M+iP L-NAME) (n=10)**

Bu gruptaki bilateral miringotomi yapılan beş rata miringotomiden hemen sonra, miringotomi sonrası

12. saatte ve 24. saatte olmak üzere üç kez 10 mg/kg (5 mg/ml) L-NAME intraperitoneal olarak verildi.

Miringotomi sonrasında hayvanlar 14 günlük iyileşme periyoduna bırakıldılar. Çalışmanın 14. gününde otomikroskopik olarak miringoskleroz değerlendirilmesi yapıldı. Buna göre; otomikroskopik bakıda görünür sklerotik lezyon yoksa (0), yalnızca malleus koluna komşu yerleşimli sklerotik lezyon varsa (+), malleus koluna komşu sklerotik lezyonlarla birlikte ön üst kadranda da sklerotik lezyon varsa (++) , malleus kolundan anulusa ulaşan ve anulus boyunca uzanan geniş sklerotik lezyonlar varsa (+++) olacak şekilde skorlandı (Resim 1-4).

Otomikroskopik değerlendirme yapıldıktan sonra hayvanlar yüksek doz intraperitoneal pentotal (80 mg/kg) enjeksiyonunu takiben dekapite edildi. Dekapitasyon sonrası ratların bullaları çıkarıldı. Mikroskopik görüş altında diseke edilen timpanik membranlar kendilerini çevreleyen kemik anulus ve 1-2 mm dış kulak yolu ile birlikte çıkarıldı.

Çalışmanın histopatolojik hazırlık ve değerlendirme işlemleri DEÜTF Patoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Tüm histopatolojik değerlendirmeler, hangi

çalışma grubuna hangi tedavinin uygulandığını bilmeyen, aynı patolog tarafından yapıldı.

Her iki kulaktan hazırlanan spesmenlerden alınan beş mikrometre kalınlığındaki kesitler Hematoksilin-Eozin (H&E) ve Van Gieson (VG) ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi (Resim 5-8). Timpanik membran lamina propriasında gözlenen inflamasyon 0-3 puan arasında bir değer verilerek semikantitatif olarak skorlandı (inflamasyon yok: 0, hafif inflamasyon: 1, orta derecede inflamasyon: 2, şiddetli inflamasyon: 3). Timpanik membran total kalınlığının ölçümü için H&E boyalı kesitlerden elde edilen mikroskopik görüntüler kullanıldı. VG boyalı kesitlerden elde edilen görüntüler kullanılarak timpanik membran lamina propriasındaki sklerotik lezyonların değerlendirilmesi yapıldı. Bulgular 0-2 puan arasında bir değer verilerek semikantitatif olarak skorlandı (miringoskleroz yok: 0, lamina propriada ayrı ayrı yerleşmiş seyrek sklerotik lezyon: 1, bir arada bulunan geniş sklerotik lezyon: 2).

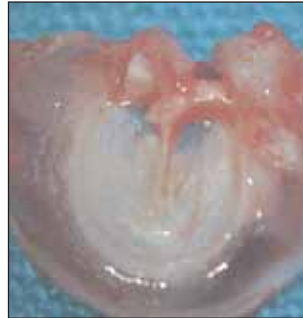
Otomikroskopik miringoskleroz, lamina propria da inflamasyon ve histopatolojik miringoskleroz açısından gruplar arasındaki farklılığı test etmek için



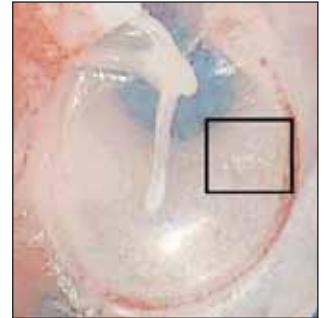
**Resim 1.** M grubuna ait bir timpanik membran. Ok ile işaretli perforasyon alanının kalın bir zar yapısı ile kapandığı görülüyor. Diğer alanlarda yaygın skleroz izleniyor. [Bu resim, derginin [www.turkarchotolaryngol.org](http://www.turkarchotolaryngol.org) adresindeki online versiyonunda renkli görülebilir]



**Resim 2.** M+SF grubuna ait bir timpanik membran. Artmış timpanik membran kalınlığı ile birlikte tüm kadranda yaygın skleroz mevcut. [Bu resim, derginin [www.turkarchotolaryngol.org](http://www.turkarchotolaryngol.org) adresindeki online versiyonunda renkli görülebilir]



**Resim 3.** M+IP L-NAME grubuna ait bir timpanik membran. Umbo çevresinde az miktarda sklerotik lezyon izleniyor. Diğer alanlarda sklerozun olmadığı, zarın şeffaf ve ince yapısını koruduğu gözleniyor. [Bu resim, derginin [www.turkarchotolaryngol.org](http://www.turkarchotolaryngol.org) adresindeki online versiyonunda renkli görülebilir]



**Resim 4.** M+tpk L-NAME grubuna ait bir timpanik membran. İşaretli olan arka-üst kadranda miringotomi alanının daha ince bir zar yapısı ile kapandığı görülüyor. Diğer alanlarda ise sklerotik lezyon içermeyen şeffaf ve ince görünüm dikkat çekiyor. [Bu resim, derginin [www.turkarchotolaryngol.org](http://www.turkarchotolaryngol.org) adresindeki online versiyonunda renkli görülebilir]

Fischer's Exact Test kullanıldı. Timpanik membran ortalama kalınlık değerleri ise ikili gruplar arasında Mann-Whitney U testi kullanılarak test edildi. Kullanılan tüm analizlerde  $p < 0.05$  değeri istatistiksel anlamlı kabul edildi (Tablo 1).

## Bulgular

Otomikroskopik miringosklerozun, topikal L-NAME uygulanan M+tpk L-NAME grubunda tedavisiz bırakılan M grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı tespit edildi ( $p=0.02$ ). M+tpk L-NAME grubu ile M+SF grubu karşılaştırıldığında ise istatistiksel anlamlılığa yakın olmakla birlikte  $p$  değerinin  $0.05$ 'in hemen üzerinde kaldığı görüldü ( $p=0.054$ ) ve bu sonuç denek sayısının azlığına bağlandı.

M+tpk L-NAME ve M+İP L-NAME grupları arasında ise otomikroskopik miringoskleroz açısından anlamlı farklılık bulunmadı ( $p=1.00$ ) (Tablo 2).

**Tablo 1.** Otomikroskopik değerlendirmeye göre miringoskleroz bulguları.

| Grup         | Miringoskleroz |          |         |             |       |
|--------------|----------------|----------|---------|-------------|-------|
|              | MS yok         | Hafif MS | Orta MS | Şiddetli MS |       |
|              | Sayı           | (0)      | (+)     | (++)        | (+++) |
| M            | 10             | 0        | 2       | 4           | 4     |
| M+SF         | 8              | 1        | 1       | 3           | 3     |
| M+tpk L-NAME | 10             | 6        | 2       | 2           | 0     |
| M+İP L-NAME  | 10             | 5        | 2       | 2           | 1     |

**M:** Miringotomi, **MS:** Miringoskleroz, **SF:** Serum fizyolojik, **tpk:** Topikal, **İP:** İntraperitoneal, **L-NAME:** N-Nitro L-arjinin metil ester

Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında; topikal L-NAME uygulanan M+tpk L-NAME grubundaki inflamasyon şiddetinin hem M hem de M+SF grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görüldü ( $p=0.02$  ve  $p=0.04$ ). İP L-NAME'nin inflamasyonu, tedavisiz bırakılan ve topikal SF uygulanan gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı görüldü ( $p=0.003$  ve  $p=0.007$ ).

Topikal L-NAME uygulanan M+tpk L-NAME grubu ile intraperitoneal L-NAME uygulanan M+İP L-NAME grupları arasında ise inflamasyon şiddeti açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ( $p=1.00$ ) (Tablo 3).

M+tpk L-NAME grubunda ölçülen timpanik membran kalınlığının M grubu ve M+SF grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu belirlendi ( $p=0.004$  ve  $p=0.008$ ). M+İP L-NAME grubunda hesaplanan ortalama timpanik membran kalınlığı, hem M hem de M+SF grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az bulundu ( $p=0.001$  ve  $p=0.004$ ). M+tpk L-NAME ve M+İP L-NAME grupları arasında yapılan karşılaştırmada ise ortalama timpanik membran kalınlığı açısından anlamlı farklılık bulunmadı ( $p=0.909$ ) (Tablo 4).

M+tpk L-NAME grubu ile M ve M+SF grupları arasında yapılan histopatolojik miringoskleroz karşılaştırmasında, M+tpk L-NAME grubunda miringosklerozun istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görüldü ( $p=0.02$  ve  $p=0.04$ ).

**Tablo 2.** Lamina propriadaki inflamasyon şiddetinin gruplardaki dağılımı.

| Grup         | Lamina propriada inflamasyon |       |                 |      |        |       |
|--------------|------------------------------|-------|-----------------|------|--------|-------|
|              | Yok / Hafif                  |       | Orta / Şiddetli |      | Toplam |       |
|              | Sayı                         | %     | Sayı            | %    | Sayı   | %     |
| M            | 3                            | 30.0  | 7               | 70   | 10     | 100.0 |
| M+SF         | 3                            | 37.5  | 5               | 62.5 | 8      | 100.0 |
| M+tpk L-NAME | 9                            | 90.0  | 1               | 10   | 10     | 100.0 |
| M+İP L-NAME  | 10                           | 100.0 | 0               | 0.0  | 10     | 100.0 |

**M:** Miringotomi, **SF:** Serum fizyolojik, **tpk:** Topikal, **İP:** İntraperitoneal, **L-NAME:** N-Nitro L-arjinin metil ester

M+İP L-NAME grubu ile M ve M+SF grupları arasında yapılan histopatolojik miringoskleroz karşılaştırmasında, M+İP L-NAME grubunda miringosklerozun istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görüldü (p=0.02 ve p=0.04).

Topikal L-NAME uygulanan M+tpk L-NAME grubu ile intraperitoneal L-NAME uygulanan M+İP L-NAME grupları arasında ise histopatolojik miringoskleroz açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=1.00).

## Tartışma

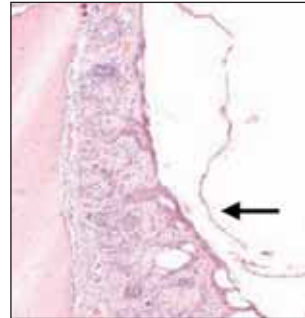
Çalışmamızda, yapılan miringotomi sonrası iNOS aracılığıyla sentezlenen NO'nun indüklediği aşırı inflamasyon ve doku hasarının önlenmesi amacıyla L-NAME; miringotomiden hemen sonra, miringotomi sonrası 12. saatte ve 24. saatte topikal ve intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Elde edilen bulgulara göre ilk 24 saatte uygulanan L-NAME'nin, hem M+tpk L-NAME hem de M+İP L-NAME grubunda, yapılan miringotomiye cevap olarak ortaya çıkan inflamasyonu belirgin olarak baskıladığı görülmüştür.



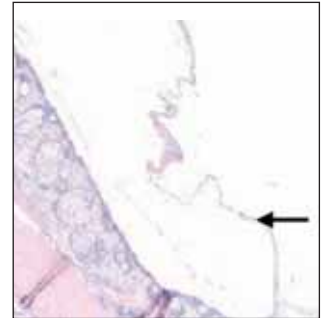
**Resim 5.** M grubundan örnek kesit. **Ok** ile işaretli timpanik membranda belirgin kalınlaşma izleniyor. Lamina propria yoğun inflamasyon ve skleroz gelişimi mevcut. [Bu resim, derginin [www.turkarchotolaryngol.org](http://www.turkarchotolaryngol.org) adresindeki online versiyonunda renkli görülebilir]



**Resim 6.** M+SF grubundan örnek kesit. Artmış timpanik membran kalınlığı dikkat çekiyor. **İşaretli** alanda, lamina propria'daki yoğun inflamasyon ve hiyalinizasyon gösterilmektedir. [Bu resim, derginin [www.turkarchotolaryngol.org](http://www.turkarchotolaryngol.org) adresindeki online versiyonunda renkli görülebilir]



**Resim 7.** M+tpk L-NAME grubundan örnek kesit. **Ok** ile işaretlenen timpanik membranda fibroblastik proliferasyonun ve sklerotik değişimlerin olmadığı, timpanik membranın M ve M+SF gruplarına göre daha ince olduğu görülmektedir. [Bu resim, derginin [www.turkarchotolaryngol.org](http://www.turkarchotolaryngol.org) adresindeki online versiyonunda renkli görülebilir]



**Resim 8.** M+İP L-NAME grubundan örnek kesit. M ve M+SF grubuna göre timpanik membran kalınlığının belirgin olarak daha az olduğu görülmektedir. [Bu resim, derginin [www.turkarchotolaryngol.org](http://www.turkarchotolaryngol.org) adresindeki online versiyonunda renkli görülebilir]

**Tablo 3.** Gruplardaki total timpanik membran kalınlığı ortalamaları.

| Grup         | Ortalama (mikrometre) | Standart sapma |
|--------------|-----------------------|----------------|
| M            | 77.9                  | 33.5           |
| M+SF         | 62.8                  | 21.3           |
| M+tpk L-NAME | 28.0                  | 24.7           |
| M+İP L-NAME  | 25.5                  | 17.8           |

**M:** Miringotomi, **SF:** Serum fizyolojik, **tpk:** Topikal, **İP:** Intraperitoneal, **L-NAME:** N-Nitro L-arjinin metil ester

**Tablo 4.** Histopatolojik incelemeye göre miringoskleroz bulguları.

| Grup         | Miringoskleroz |        |           |          |
|--------------|----------------|--------|-----------|----------|
|              | Sayı           | MS yok | Seyrek MS | Geniş MS |
| M            | 10             | 0      | 3         | 7        |
| M+SF         | 8              | 2      | 1         | 5        |
| M+tpk L-NAME | 10             | 7      | 2         | 1        |
| M+İP L-NAME  | 10             | 5      | 4         | 1        |

**M:** Miringotomi, **SF:** Serum fizyolojik, **tpk:** Topikal, **İP:** Intraperitoneal, **L-NAME:** N-Nitro L-arjinin metil ester

L-NAME ile inflamatuvar cevabın baskılanması, inflamasyon fazında oluşan doku hasarının şiddetinin azalmasına neden olmaktadır. Böylece doku hasarına

cevap olarak ortaya çıkan fibroblastik reaksiyonun ve aşırı kollajen sentezinin önüne geçilebilmektedir.

Histopatolojik miringoskleroz dikkate alındığında, L-NAME'nin miringosklerozu M+tpk L-NAME ve M+İP L-NAME gruplarında, M ve M+SF gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar, miringotomi sonrası uygulanan L-NAME'nin antiinflamatuvar, antifibrotik ve kalsifikasyonu önleyici etkileriyle miringosklerozu azalttığını göstermektedir.

Araştırmamızda topikal ve intraperitoneal L-NAME uygulanan gruplardaki ortalama timpanik membran kalınlığının, tedavisiz bırakılan ve topikal serum fizyolojik uygulanan gruplara göre istatistiksel anlamlı olarak düşük düzeyde kaldığı görülmüştür. L-NAME'nin inflamasyonu ve kollajen sentezini azaltması, timpanik membran kalınlığının daha az olmasına neden olmaktadır.

Sonuç olarak çalışmamızda, L-NAME'nin diğer dokularda gösterilen antiinflamatuvar ve antifibrotik davranışını, timpanik membran dokusundaki yara iyileşme sürecinde de sergilediği ortaya konmuştur. Bu etkileriyle rat timpanik membranında miringoskleroz gelişimini önlediğini göstermiş olduğumuz L-NAME, miringotomi yapılması ya da ventilasyon tüpü uygulaması sonrası görülebilen miringosklerozun önlenmesinde iyi bir tedavi alternatifi olabilir. Ancak klinik uygulama bulması için daha ileri ve geniş kapsamlı çalışmaların yapılmasına gereksinim vardır.

#### Kaynaklar

1. Mattsson C, Stierna P, Hellström S. Treatment with dexamethasone arrests the development of myringosclerosis after myringotomy. *Am J Otol* 2000; 21: 804-8.
2. Forseni M, Hansson GK, Bagger-Sjöback D, Hultcrantz M. An immunohistochemical study of inducible nitric oxide synthase in the rat middle ear, with reference to tympanosclerosis. *Acta Otolaryngol* 1999; 119: 577-82.
3. Akbaş Y, Pata YS, Görür K, Polat G, et al. The effect of L-carnitine on the prevention of experimentally induced myringosclerosis in rats. *Hear Res* 2003; 184: 107-12.
4. Spratley JE, Hellström SO, Mattsson C, Pais-Clemente M. Topical ascorbic acid reduces myringosclerosis in perforated tympanic membranes. A study in rat. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001; 110: 585-91.
5. Özcan C, Görür K, Cinel L, et al. The inhibitory effect of topical N-acetylcysteine application on myringosclerosis in perforated rat tympanic membrane. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2002; 63: 179-84.
6. Polat S, Öztürk Ö, Üneri C, et al. Determination of reactive oxygen species in myringotomized tympanic membranes: effect of vitamin E treatment. *Laryngoscope* 2004; 114: 720-5.
7. Mattsson C, Magnuson K, Hellström S. Myringosclerosis caused by increased oxygen concentration in traumatized tympanic membrane. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995; 104: 625-32.
8. Russell JD, Giles JJ. Tympanosclerosis in the rat tympanic membrane: an experimental study. *Laryngoscope* 2002; 112: 1663-6.
9. Mattsson C, Marklund SL, Hellström S. Application of oxygen free radical scavengers to diminish the occurrence of myringosclerosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1997; 106: 513-8.
10. Muijsers R, Folkerts G, Henricks P, Sadeghi-Hashjin G. Peroxynitrite: a two-faced metabolite of nitric oxide. *Life Sci* 1997; 60: 1833-45.
11. Jeon EJ, Park YS, Lee SK, et al. Effect of nitric oxide and peroxy-nitrite on mucociliary transport function of experimental otitis media. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2006; 134: 126-31.
12. Darmani H, Crossan JC, Curtis A. Single dose of inducible nitric oxide synthase inhibitor induces prolonged inflammatory cell accumulation and fibrosis around injured tendon and synovium. *Mediators Inflamm* 2004; 13: 157-64.
13. Efron DT, Thornton FJ, Steulten C, et al. Expression and function of inducible nitric oxide synthase during rat colon anastomotic healing. *J Gastrointest Surg* 1999; 3: 592-601.
14. Lee RH, Efron D, Tantry U, Barbul A. Nitric oxide in the healing wound: a time-course study. *J Surg Res* 2001; 101: 104-8.
15. Schaffer MR, Tantry U, Thornton FJ, Barbul A. Inhibition of nitric oxide synthesis in wounds: pharmacology and effect on accumulation of collagen in wounds in mice. *Eur J Surg* 1999; 165: 262-7.

#### Bağlantı Çakışması:

Bağlantı çakışması bulunmadığı belirtilmiştir.

#### İletişim Adresi: Dr. Ersoy Doğan

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi KBB Anabilim Dalı

İnciraltı İZMİR

GSM: (0505) 765 62 63

e-posta: ersoy.dogan@deu.edu.tr