



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



**RATLARDA PSEUDOMONAS AERUGINOSA İLE
OLUŞTURULAN DENEYSEL KRONİK OTİTİS MEDIA
MODELİNDE ROSMARİNİK ASİTİN TEDAVİ
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Sadık Vural KAYA

**KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ayhan KARS

ERZİNCAN
2024

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

RATLARDA PSEUDOMONAS AERUGINOSA İLE
OLUŞTURULAN DENEYSEL KRONİK OTİTİS MEDIA
MODELİNDE ROSMARİNİK ASİTİN TEDAVİ
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Sadık Vural KAYA

KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ayhan KARS

Bu tez araştırması Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Birimi Tarafından TTU-2023-938 Proje Kodu ile Desteklenmiştir.

ERZİNCAN
2024

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi

Tıp Fakóltesi Dekanlığı'na,

Tıpta uzmanlık tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Ratlarda Pseudomonas Aeruginosa ile Oluşturulan Deneysel Kronik Otitis Media Modelinde Rosmarinik Asitin Tedavi Etkinliğinin Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir / hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımda yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmasıyla ilgili tüm süreçler Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından, 27/07/2023 tarihinde, 2023/07-21 numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Sadık Vural KAYA

Tarih:

İmza:

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerine her daim başvurduğum, gerek mesleki gerek insani olarak davranışı ve tutumları ile bana yol gösteren, asistanlık sürecim boyunca bana hem bir hoca hem bir abi gibi yaklaşan ana bilim dalı başkanımız Sayın Doç. Dr. İsmail SALCAN'a,

Asistanlık eğitimimde ve kendimi mesleki anlamda geliştirmemde büyük katkıları olan, uzmanlık eğitimimde ufkumu genişleten, her zaman bilgi ve tecrübelerine başvurabileceğimi bildiğim, insani ve etik değerleri ile örnek aldığım tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Ayhan KARS'a,

Bilgi ve tecrübelerini her zaman benimle koşulsuz paylaşan, asistanlık eğitimime katkıları yadsınamaz olmakla beraber bu tezin fikir aşamasından bu yana desteğini hiç esirgemeyen değerli meslek büyüğüm Dr. Öğr. Üyesi Serkan ALTIPARMAK'a,

Kliniğimizin temellerini atan, hep yanımda olan Sayın Prof. Dr. Suphi MÜDERRİS'e,

Eğitimimin bir bölümünde de olsa engin tecrübelerinden yararlanma fırsatı elde ettiğim, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ender SEÇKİN'e, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Rana Bayram ZENGİNCE'ye, ihtisasım boyunca yolumun kesiştiği, değerli bilgilerinden istifade etmemi sağlayan sevgili Uzm. Dr. Uğur YILDIRIM'a, Uzm. Dr. Esmâ SÜLEYMAN'a, Uzm. Dr. Fatma YILDIRIM'a,

Asistanlık süreci boyunca zorlu ve meşakkatli bu yolda birlikte yürüdüğümüz tüm asistan arkadaşlarıma, birlikte çalışmaktan keyif aldığım tüm odyoloji ekibine, servis hemşirelerimize, poliklinik sekreterlerimize, ameliyathane ve servis personellerimize,

Bu günlere gelmemde emeklerin en büyüğü ve değerlisine sahip olan, her koşulda desteklerini hissettiğim annem Melek KAYA, babam Mustafa KAYA ve ablam Fatma Serap BALAKAN'a,

Hayatıma girdiği andan itibaren mutluluk ve neşe kaynağım olan, bu süreçte benimle birlikte yıpranan ve kahrımı çeken sevgili eşim Dr. Merve Öngel KAYA'ya,

Sonsuz minnet ve saygılarımla, teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamız Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından TTU-2023-938 proje kodu ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER VE TABLOLAR DİZİNİ	vii
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Kulak Embriyolojisi.....	7
2.1.1. Dış Kulak Embriyolojisi.....	7
2.1.2. Orta Kulak Embriyolojisi.....	7
2.1.3. İç Kulak Embriyolojisi.....	7
2.2. Kulak Anatomisi.....	8
2.2.1. Temporal Kemik Anatomisi.....	8
2.2.2. Dış Kulak Anatomisi.....	12
2.2.3. Orta Kulak Anatomisi.....	14
2.2.4. İç Kulak Anatomisi.....	17
2.3. Rat Kulağının Anatomisi.....	19
2.4. Kronik Otitis Media (KOM).....	20
2.4.1. Tanım ve Epidemiyoloji.....	20
2.4.2. Risk Faktörleri ve Patogenez.....	21
2.4.3. Mikrobiyoloji.....	23
2.4.4. Kronik Otitis Media Tipleri.....	23
2.4.5. KOM Klinik Bulguları ve Evreleri.....	26
2.4.6. KOM Muayene Bulguları ve Tanı.....	28
2.4.7. KOM Medikal Tedavi.....	28
2.4.8. KOM’ da Cerrahi Tedavi.....	29

2.4.9. KOM Komplikasyonları.....	31
2.5. Enflamasyon Patofizyolojisi.....	34
2.6. Rosmarinik Asit.....	35
2.7. Siprofloksasin.....	36
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	38
3.1. Deney Hayvanları ve Çalışma Protokolü.....	38
3.2. Kronik Otit Modeli Oluşturulması.....	40
3.3. Topikal Tedavi Uygulaması.....	41
3.4. Histopatolojik İnceleme.....	42
3.5. İstatistiksel Analiz.....	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. Nötrofil Aktivitesi.....	45
4.2. Kronisite.....	47
4.3. Histiosit.....	48
4.4. Keratin Birikimi.....	49
4.5. Subepitelyal Ödem.....	50
4.6. Konjesyon.....	51
4.7. Fibroblast Proliferasyonu.....	53
4.8. Neovaskülarizasyon.....	54
4.9. Timpanik Membran Kalınlığı.....	56
5. TARTIŞMA.....	58
6. SONUÇLAR.....	69
7. KAYNAKLAR.....	70

KISALTMALAR DİZİNİ

KOM	: Kronik Otitis Media
RA	: Rosmarinik Asit
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
TM	: Timpanik Membran
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
SOM	: Seröz Otitis Media
AOM	: Akut Otitis Media
GÖR	: Gastroözefagial Reflü
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
DKY	: Dış Kulak Yolu
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
İP	: İntraperitoneal
Ve ark.	: Ve Arkadaşları
BPI	: Bakterisidal Geçirgenlik Arttırıcı Protein

ŞEKİLLER VE TABLOLAR DİZİNİ

Şekil 1: Sağ temporal kemik dıştan görünüşü.....	8
Şekil 2: Sağ temporal kemik içten görünüşü.....	9
Şekil 3: Sol timpanik membranın endoskopik görüntüsü.....	13
Şekil 4: Attikotomi sonrası sağ timpanik kavite görüntüsü.....	17
Şekil 5: A) Orta ve iç kulak anatomisi B) Koklea anatomisi.....	19
Şekil 6: Otitis media türleri arasındaki iyileşme-dönüşüm mekanizmasının şematik gösterimi.....	22
Şekil 7: Tubotimpanik hastalık.....	24
Şekil 8: Biberiye bitkisi ve rosmarinik asitin kimyasal yapısı.....	36
Şekil 9: Ad Libitum beslenme ve şeffaf plastik kafesler içinde takipli deney grupları..	40
Şekil 10: KOM modeli oluşturulması.....	41
Şekil 11: Topikal tedavi uygulaması.....	42
Şekil 12: Rat temporal kemiklerinin makroskopik görüntüsü.....	44
Şekil 13: Rat orta kulak mukozasının normal mikroskopik görüntüsü.....	45
Şekil 14: Şiddetli (sol) ve hafif (sağ) nötrofilik infiltrasyonunun mikroskopik görüntüsü.....	46
Şekil 15: Nötrofil aktivasyonunu gösteren grafik.....	46
Şekil 16: Lenfoplazmositer hücre infiltrasyonunu gösteren mikroskopik görüntü.....	47
Şekil 17: Kronisite (lenfoplazmositer hücre infiltrasyonu)' yi gösteren grafik.....	48
Şekil 18: Histiosit varlığını gösteren grafik.....	49
Şekil 19: Parakeratoz alanı mikroskopik görüntüsü.....	50
Şekil 20: Subepitelyal ödem bulgularını gösteren grafik.....	51

Şekil 21: Konjesyon bulgularını gösteren grafik.....	52
Şekil 22: Fibroblast proliferasyonunu gösteren grafik.....	53
Şekil 23: Neovaskülarizasyon alanlarının mikroskopik görüntüsü.....	55
Şekil 24: Neovaskülarizasyon bulgularını gösteren grafik.....	55
Şekil 25: TM kalınlaşması mikroskopik görünümü.....	56
Tablo 1: TM kalınlıklarının ortalama değerleri.....	57



RATLARDA PSEUDOMONAS AERUGINOSA İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL KRONİK OTİTİS MEDIA MODELİNDE ROSMARİNİK ASİTİN TEDAVİ ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda antiinflamatuvar, antibakteriyel ve antioksidan etkileri gösterilmiş olan rosmarinik asit (RA)'ın, topikal damla formunda kullanımda kronik otitis media (KOM) üzerindeki tedavi edici etkinliğinin histopatolojik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 30 adet erişkin, dişi Wistar albino cinsi rat kullanıldı. Ratlar randomize olarak her birinde 6'şar rat bulunan 5 gruba ayrıldı. 1. grup sağlıklı kontrol grubu olarak ayrılmış ve iki kulaklarına da herhangi bir girişim uygulanmamıştır. Kalan 4 grupta *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) suşlarının transtimpanik inoküle edilmesi ile KOM modeli oluşturuldu. 2. grup KOM takip grubu olarak tedavisiz izleme alındı, 3. siprofloksasin damla ile tedaviye alındı, 4. grup siprofloksasin ve RA %2'lik solüsyon damlatılarak tedaviye alındı ve 5. grup RA %2'lik solüsyon damlatılarak tedaviye alındı. 14 günlük takibin ardından 30 rat (60 kulak) sakrifiye edilerek bilateral temporal kemikleri diseke edildi ve histopatolojik olarak nötrofil aktivitesi, kronisite, histiosit varlığı, keratin birikimi, subepitelyal ödem, konjesyon, fibroblast proliferasyonu, neovaskülarizasyon ve timpanik membran (TM) kalınlığı açısından incelendi.

Bulgular: Nötrofil aktivitesi yönünden gruplar arasında anlamlı farklılık izlendi (p: 0,002). 2. grupta nötrofil aktivitesi 1. - 4. ve 5. gruplara göre anlamlı şekilde yüksek bulundu (sırasıyla; p<0,001/ p: 0,01/ p: 0,02).

Kronisite açısından gruplar arasında anlamlı farklılık izlendi (p<0,001). 2. grupta kronisite oranı 1. gruba göre anlamlı şekilde artmış bulundu (p: 0,02).

Histiosit skorları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık izlendi (p<0,001). 2. grupta histiosit varlığı 1. - 3. - 4. ve 5. gruplara oranla anlamlı şekilde yüksek izlendi (sırasıyla; p<0,001/ p: 0,01/ p<0,001/ p:0,001).

Keratin birikimi açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık izlendi (p: 0,004). 2. grupta keratin debris birikimi 1. - 4. ve 5. gruplardan anlamlı olarak fazla bulundu (sırasıyla; p:0,01/ p:0,01/ p:0,01).

Subepitelyal ödem açısından incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık gözlemlendi (p: 0,004). 1. grupta subepitelyal ödem 3. - 4. ve 5. gruplara oranla anlamlı olarak daha az bulundu (sırasıyla; p: 0,03/ p: 0,009/ p: 0,003).

Konjesyon açısından bakıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık görüldü (p<0,001). 1. grupta konjesyon 2. - 3. ve 4. gruplara oranla anlamlı olarak daha az izlendi (sırasıyla; p<0,001/ p: 0,031/ p:0,031).

Fibroblast proliferasyonuna bakıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı (p<0,001). 1.grupta 3. ve 4. gruplara kıyasla fibroblast proliferasyonu anlamlı oranda düşük izlendi (sırasıyla; p<0,001/ p: 0,012). 2. grupta fibroblast proliferasyonu 3. gruba göre daha düşük bulundu (p:0,005).

Neovaskülarizasyon açısından bakıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık görüldü (p<0,001). 1. grupta 2. ve 5. gruplara göre anlamlı olarak daha düşük neovaskülarizasyon izlendi (sırasıyla; p<0,001/ p: 0,001).

TM kalınlığı açısından gruplar arasında anlamlı farklılık görüldü (p<0,001). 1. grupta TM kalınlığı 3. gruba göre anlamlı olarak düşük bulundu (p<0,001).

Sonuç: RA'in topikal kulak damlası formunda kullanımının KOM'da tedavi edici etkinliği olduğuna dair klinik ve histopatolojik bulgular elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kronik otitis media, rosmarinik asit, hayvan deneyi, deneysel otit modeli, otitis media.

**INVESTIGATION OF THERAPEUTIC EFFECTIVENESS OF ROSMARINIC
ACID IN EXPERIMENTAL CHRONIC OTITIS MEDIA MODEL IN RATS
INDUCED WITH PSEUDOMONAS AERUGINOSA**

ABSTRACT

Aim: In our study, we aimed to investigate the histopathological therapeutic efficacy of rosmarinic acid (RA), which has been shown to have anti-inflammatory, antibacterial and antioxidant effects, on chronic otitis media (COM) when used in topical drop form.

Materials and Methods: Thirty Wistar rats were used in the study. The rats were randomly divided into 5 groups for 6 rats. Group 1 was separated as a healthy control group. COM was induced with *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) in 4 groups. Group 2 COM follow-up group, group 3 treated with ciprofloxacin drops, group 4 treated with ciprofloxacin+RA drops, and group 5 treated with RA drops. After 14 days of follow-up, 30 rats (60 ears) were sacrificed and their temporal bones examined histopathologically for neutrophil activity, chronicity, presence of histiocytes, keratin accumulation, subepithelial edema, congestion, fibroblast proliferation, neovascularization and tympanic membrane (TM) thickness.

Results: There was a significant difference between the groups in terms of neutrophil activity ($p: 0.002$). Neutrophil activity in group 2 was found to be significantly higher than in groups 1, 4 and 5 (respectively; $p<0.001/ p: 0.01/ p: 0.02$).

There was a significant difference between the groups in terms of chronicity ($p<0.001$). The chronicity rate in group 2 was found to be significantly increased compared to group 1 ($p: 0.02$).

There was a significant difference between the groups in terms of histocyte scores ($p<0.001$). The presence of histiocytes in group 2 was observed to be significantly higher than in groups 1, 3, 4 and 5 (respectively; $p<0.001/ p: 0.01/ p<0.001/ p:0.001$).

There was a significant difference between the groups in terms of keratin accumulation ($p: 0.004$). Keratin debris accumulation was found to be significantly higher in group 2 than in groups 1, 4 and 5 (respectively; $p:0.01/ p:0.01/ p:0.01$).

A significant difference was observed between the groups in terms of subepithelial edema ($p: 0.004$). Subepithelial edema was found to be significantly less in group 1 than in groups 3, 4 and 5 (respectively; $p: 0.03/ p: 0.009/ p: 0.003$).

A significant difference was observed between the groups in terms of congestion ($p<0.001$). Congestion was observed to be significantly less in group 1 than in groups 2, 3 and 4 (respectively; $p<0.001$ / $p: 0.031$ / $p:0.031$).

A significant difference was observed between the groups in terms of fibroblast proliferation ($p<0.001$). Fibroblast proliferation was significantly lower in group 1 compared to groups 3 and 4 ($p<0.001$ / $p: 0.012$, respectively). Fibroblast proliferation was lower in group 2 compared to group 3 ($p:0.005$).

A significant difference was observed between the groups in terms of neovascularization ($p<0.001$). Neovascularization was significantly lower in group 1 compared to groups 2 and 5 ($p<0.001$ / $p: 0.001$, respectively).

A significant difference was observed between the groups in terms of TM thickness ($p<0.001$). TM thickness was significantly lower in group 1 compared to group 3 ($p<0.001$).

Conclusion: Clinical and histopathological findings were obtained indicating that the use of RA healing in COM.

Key Words: Chronic otitis media, rosmarinic acid, animal experiment, experimental otitis model, otitis media.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik otitis media, TM'de perforasyon, kulak akıntısı ve işitme kaybı ile seyreden, temporal kemiğin tüm havalı boşluklarını döşeyen mukozanın kronik bir enflamasyonudur (1). Kulak akıntısı KOM'da görülen en sık şikayet olmaktadır. Tanısı genellikle anamnez ve fizik muayene ile konulmaktadır. Tanıda semptomların süresi hakkında kesin kabul gören bir fikir birliği kurulamamıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre en az iki haftadır mevcut olan perfore kulak zarı ve pürülan otere KOM tanısında yeterlidir (2). Başka görüşler ise mevcut semptomların altı haftadan uzun sürmesi halini kronik olarak değerlendirmektedir (3, 4). Hastalığın yaygınlığının değerlendirilmesinde, tedavi seçeneklerinden uygun olanın seçilmesinde ve komplikasyon durumlarında görüntüleme yöntemlerinden yararlanılabilmektedir. Tedavisiz bırakıldığı takdirde hayatı tehdit eden komplikasyonlara yol açabilen, insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olan kronik bir hastalıktır, bu nedenle fizyopatolojisi ve yeni tedavi seçeneklerinin aydınlatılması halk sağlığı açısından önem arz etmektedir.

KOM mikrobiyolojisine bakıldığında ise en başta suçlanan etkenler bakteriler olmaktadır. Bu patojen bakteriyel mikroorganizmalar arasında ise en sık görülenlerin başında *P. aeruginosa* gelmektedir (5, 6).

Hastalığın etyopatogenezi üzerine literatürde yapılmış birçok çalışma ve suçlanmış pek çok mekanizma ile etkenler vardır. Östaki tüpü disfonksiyonu, sık geçirilen akut otitis media ve/veya efüzyonlu otitis media atakları, proinflamatuvar sitokinler ile antiinflamatuvar sitokinler arasındaki dengenin bozulması, lökosit ve makrofaj aktivitesi sonucu ortaya çıkan enzimlerin doku harabiyeti yaparak enflamasyonun devamlılığına neden olması gibi etmenler suçlanan mekanizmalardandır.

Otore şikayeti ile başvuran hastalara KOM tanısı konulduktan sonra akıntılı kulağın medikal tedavisi sonrası değerlendirilmesi ve cerrahi gerekliliği açısından incelenmesi daha doğrudur. Bu sebeple akıntılı kulakta yaygın kabul gören tedavi seçeneği düzenli kulak aspirasyonu ve birlikte topikal antibiyoterapi kullanılmasıdır.

Topikal antibiyoterapi sistemik antibiyoterapiye tercih edilmektedir çünkü hastalığın ileri dönemlerinde ortaya çıkan granülasyon dokuları üzerinde gelişen nekrotik debrisler orta kulağa olan kan akımında azalmaya ve sistemik tedavinin burada yeterli konsantrasyona ulaşamamasına neden olmaktadır (2).

Topikal antibiyoterapide ise en çok tercih edilen grup kinolonlardır. Kinolonların özellikle *P. aeruginosaya* karşı etkili olan siprofloksasinin ototoksisite açısından güvenli ve başarılı tedavi sonuçları olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir. Günümüzde halen kulak burun boğaz uzmanlarınca KOM tedavisinde tercih edilmektedir.

RA, ilk defa rosmarinus officinalis (biberiye)'den elde edilmiş ve ismini de bu bitkiye ithafen almıştır (7, 8). RA kafeik asit ve 3,4-dihidroksifenillaktik asitin bir esteridir. Sadece biberiyede değil aynı zamanda adaçayı ve fesleğen gibi mutfakta sıkça kullanılan pek çok bitkide bulunmaktadır (9).

RA pek çok deneysel hastalık modelinde çalışmalara girmiş ve iyileştirici etkileri olan biyoaktif bir birleşik olduğu görülmüştür. Antiinflamatuvar, antibakteriyel ve antioksidan etkinliği yapılan çok sayıda araştırma ile ortaya konulmuştur.

Biz de çalışmamızda RA'nın ratlarda deneysel olarak oluşturulan KOM modeli üzerinde topikal damla formunda kullanıldığında iyileşmeye olan etkisini araştırdık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Kulak Embriyolojisi

Dış, orta ve iç kulak embriyolojik olarak üç farklı yer ve üç ayrı germ tabakasından köken alır. Dış ve orta kulak brankial yarık ve ceplerden gelişirken iç kulak ise nöral ektodermden köken alır (10).

2.1.1. Dış Kulak Embriyolojisi

Embriyolojik hayatın üçüncü haftasında üç tanesi birinci brankial arkta, üç tanesi ikinci brankial arkta olmak üzere altı adet tomurcuk gelişir. Birinci brankial arkta gelişen tomurcuklardan dış kulağa ait yapılardan tragus, heliks ve simba konka oluşurken ikinci brankial arkta gelişen tomurcuklardan da antitragus, antiheliks ve konka oluşur (11). Dış kulak yolu ise birinci brankial yarık ektoderminden embriyolojik yaşamın altıncı haftasında gelişmeye başlar ve yirmi sekizinci haftasında gelişimini tamamlar (12).

2.1.2. Orta Kulak Embriyolojisi

Tuba östaki ve orta kulak birinci brankial yarıktan köken alan tubotimpanik resesten gelişirler. Orta kulakta yer alan kemikçiklerden malleus ve inkus birinci brankial arkta, stapes ikinci brankial arkta köken alırken stapes tabanı ise farklı olarak otik kapsülden gelişir. Tensor timpani kası birinci brankial ark mezoderminden, stapedius kası ikinci brankial ark mezoderminden gelişir (13).

Orta kulak boşluğu ile dış kulak yolunu ayıran TM; faringeal membrandan köken alır. TM'nin dış yüzeyi ektoderm, iç yüzeyi endodermden gelişir ve TM bu iki yüzey arasında kalan nöral krestten köken alan fibröz bir dokudan oluşan orta tabaka ile birlikte üç tabakalı bir yapıya sahiptir. Bu sayede her üç germ yaprağı da TM'nin gelişimine katkı sağlamış olur (10). Timpanik kavite embriyolojik yaşamın dokuzuncu ayında temporal kemiğin mastoid segmentine doğru genişleyerek mastoid antrumu meydana getirir. Mastoid havalı hücreler doğumdan sonraki ikinci yılda sternokleidomastoid kasın kasılması ile mastoid apeks oluşumuna kadar gelişimlerine başlamazlar ve gelişim süreçleri yaklaşık 5-6 yaşlarında tamamlanır (14).

2.1.3. İç Kulak Embriyolojisi

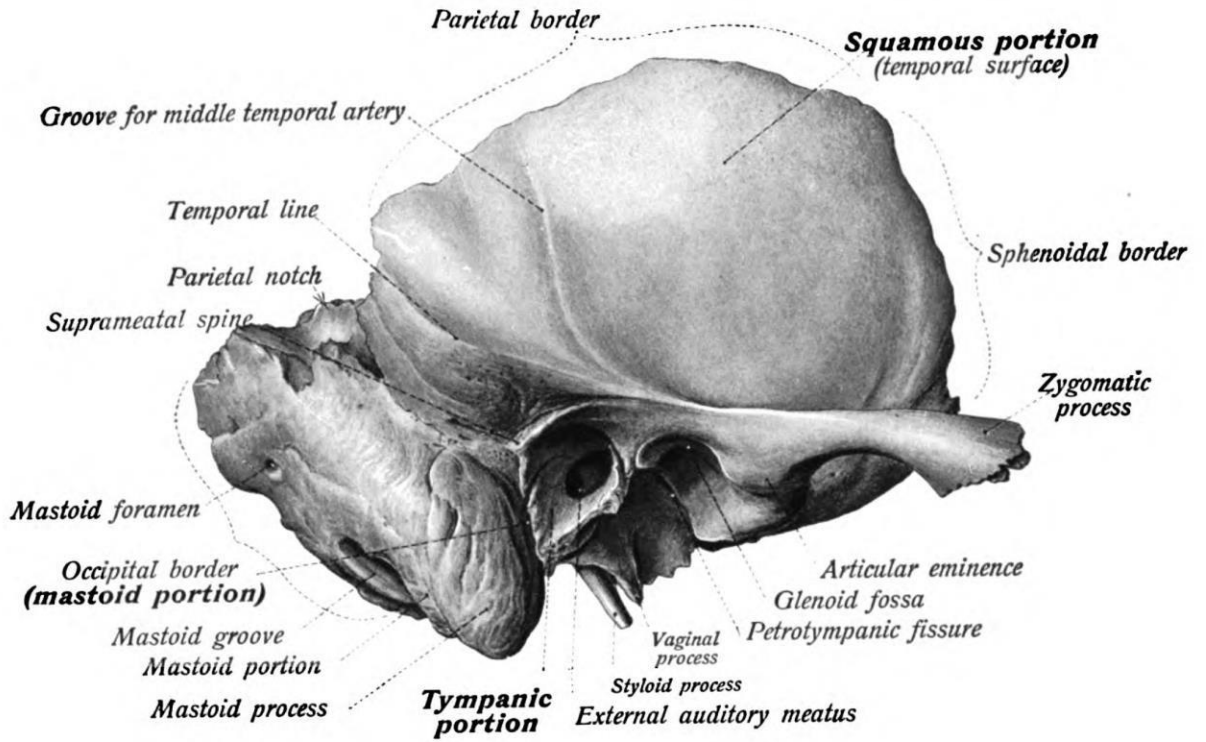
İç kulak yapılarının tümü embriyolojik yaşamın dördüncü haftasında ektodermden gelişmeye başlar. Otik vezikül; koklea, semisirküler kanallar ve vestibülün öncüsüdür (15).

2.2 Kulak Anatomisi

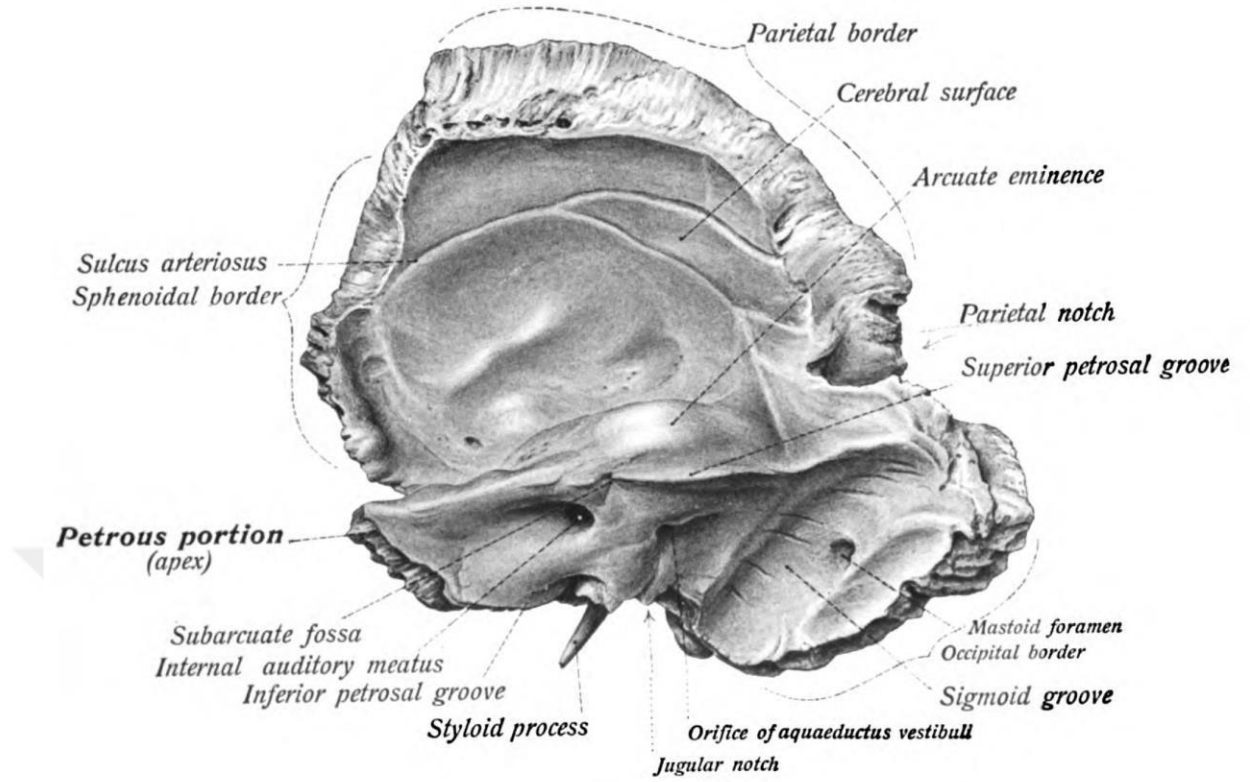
2.2.1 Temporal Kemik Anatomisi

Temporal kemik kafa kaidesinin her iki tarafında bulunmakla beraber kafatasının yan ve alt duvarlarının oluşumuna da katkı sağlar. Parietal kemik ile üstte, oksipital kemik ile arkada, sfenoid kemik ile önde komşuluk halindedir. Kafa tabanının ve nörokraniumun oluşumuna da katkı sağlar. Temporal kemik beş ayrı bölümde incelenir (16).

1. Skuamöz parça
2. Mastoid parça
3. Petröz parça
4. Timpanik parça
5. Stiloid çıkıntı



Şekil-1: Sağ temporal kemik dıştan görünüşü (17).



Şekil-2: Sağ temporal kemik içten görünüşü (17).

Skuamöz Parça

İnce bir yaprak veya kuş kanadı şeklinde olup temporal kemiğin diğer kısımlarına göre daha üstte ve önde yer alır. Temporal kemiği oluşturan en büyük parçadır. Skuamöz parça ile mastoid parça arasındaki ayrım bölgesi, aynı zamanda temporal kasın sonlanım noktası olan ve önemli bir cerrahi kılavuz bölgesi oluşturan linea temporalis inferior skuamöz parçanın dış kısmında yer alır. Yine dış kısmın arka üst kısmında A. Temporalis Media'nın oturduğu bir oluk bulunur. Skuamöz parçanın iç yüzü orta kafa çukuru ile komşuluk gösterir ve burada A. Meningea Media'nın geçtiği bir çukurluk vardır. Zigomatik ark dış yüzün öne doğru yaptığı çıkıntının (zigomatik proses) katılımı ile oluşur ve bu sayede temporal kemik orta yüz kemikleri ile ilişkili haldedir. Bu zigomatik prosesin ortasında Petrotimpanik Fissür (Glasser yarığı) olarak isimlendirilmiş bir yarık bulunur ve içerisinden internal maksiller arterin timpanik dalı geçerken lateralinde Huguier kanalı içerisinde ise korda timpani seyreder (18, 19).

Mastoid Parça

Temporal kemiğin posterolateralinde bulunur. Mastoid parça, üzerinde cerrahi açıdan önemli kılavuz noktalarını barındırır. Dış yüzeyde petröz kısım ile skuamöz kısmın birleşim noktasının oluşturduğu petroskuamöz suture bulunur. Petroskuamöz suture zigomatik kökten ortaya doğru ilerleyerek orta kafa çukurunun alt sınırını yapar ve buraya linea temporalis superior denilir. Yine dış alt yüzeye sternokleidomastoid kas yapışır. Mastoid kemik üzerindeki önemli kılavuz noktalardan biri olan Henle spini (suprameatal spin) dış kulak yolu posterosuperiorunda, mastoid parçanın lateralinde bulunur. Henle spini anatomik yapı olarak triangular tip, krest (yarım ay) tip ve suprameatal çıkıntının bulunmadığı tip olarak üç farklı varyasyon gösterebilir. En sık görülen varyasyon ise krest tiptir (20). Henle spininin arka üst kısmında gözele bir görünüme sahip olan alana kribriform plate veya area cribroza adı verilir. Area cribroza mastoid antruma gidiş için önemli bir kılavuz noktadır (21). Area cribroza MacEwen üçgeni denilen önemli bir cerrahi kılavuz bölgesinin içerisinde bulunur. MacEwen üçgeninin sınırlarını ise; yukarıda linea temporalis inferior, henle spininden dış kulak yoluna teğet çizilen bir çizgi ve dış kulak yolu arka sınırından teğet geçip linea temporalis inferioru dik kesecek şekilde çizilen bir çizgi oluşturur. Mastoid antrum bu üçgenin 15 mm medialinde yerleşir (22). Mastoid kemik içerisinde pnömatisize hücreler bulunmaktadır. Bu havalı hücrelerin en büyüğü antrum olarak adlandırılır (13). Antrum ile orta kulak kavitesi aditus ad antrum aracılığıyla birbiriyle bağlantılıdır. Mastoid parça bazen anatomik varyasyon olarak bir kemik lamel ile ikiye ayrılır ve bu kemik lamel Körner septumu olarak isimlendirilir (23).

Mastoid kemik iç yüzeyinde sigmoid sinüsün yerleştiği bir oluk bulunur. Sigmoid sinüs mastoid kavitenin arka sınırını yapar. Mastoid parçada sinodural açının lateralinde yerleşik olan ve sigmoid sinüsün orta fossa ve temporal skuamayı drene eden venler ile birleşmesini sağlayan emissar venler bulunmaktadır. Bu venler mastoid kemikte foramen emissarium denilen deliklerden geçerler (24). Kulak cerrahisi sırasında özellikle mastoid kemiğe enstrümental cihazlar yardımı ile yapılan girişimlerde sigmoid sinüs tanıdıktan sonra medialde karşımıza çıkan yapı posterior fossa dural laminasıdır. Posterior fossanın büyük kısmı Trautman üçgeni denilen ve sınırlarını; tegmen mastoidei, superior petrozal sinüs ve kemik labirent arasında çizilen hayali çizgilerin oluşturduğu bir alan içerisinde (25). Posterior fossa dural laminası; üstte superior petrozal sinüs, alt ve dışta sigmoid sinüs, iç kısımda ise posterior semisirküler kanal ile sınırlı bir kemik laminadır.

Petröz Parça

Petröz kısım temporal kemiğin en medialini oluşturan ve üç yüzlü piramide benzeyen bir kemik bölümdür. Petröz parça üstte orta kafa çukuru ile komşuluk gösterir. Petröz parçanın sfenoid kemik ile birleştiği bölgede foramen laserum isimli bir açıklık bulunur. Buradan arteria meninge media geçerek kafa içerisine devam eder (24).

Ön yüzün ortasında tümsek şeklinde belirgin yapı arkuat eminensdir. Arkuat eminens superior semisirküler kanalın izdüşümüne denk gelmektedir. Temporal kemiklerin yaklaşık %15'inde arkuat eminens izlenmez (23). Bu kabartıntının ön dış kısmında tegmen timpaniye uyan düz bir alan bulunur. Burası timpanik boşluğun üst sınırını oluşturur ve malleus başı ile komşuluk gösterir. Tegmen timpaninin anteriorunda apekse doğru yerleşim gösteren iki adet çukurcuk ve bunlar ile uyumlu iki adet kanal mevcuttur. İki sulkustan içtekenden nervus petrosus superficialis majör ve arteria meninge medianın petrozal dalı geçerken, dıştakinden ise nervus petrosus superficialis minör ile birlikte superior timpanik arter geçmektedir. Yine apekse yakın bölgede ve bu iki sulkusun hemen arkasında trigeminal gangliona ait bir çukurluk bulunur.

Petröz parçanın arka yüzü superior ve inferior petrosal sinüsler ile sigmoid sinüs sulkusları ile sınırlandırılmıştır. Arka yüzün santralinde internal akustik kanal bulunur. Meatus akustikus internus içerisinden nervus fasialis, nervus vestibülokoklearis, nervus intermedius (Wrisberg siniri) sinirleri ile birlikte arteria auditiva interna geçerek temporal kemiğe girerler.

Petröz kemik tabanının alt yüzeyi okspital kemik ile birlikte foramen jugulareyi oluşturur. Juguler foramen ön ve arka olarak iki kısma ayrılarak incelenir. Ön kısım n. glossofaringeus, n. vagus ve Arnold ganglionu ile n. aksesoriusu içerir. Arka kısımda ise juguler ven bulbusu yer alır. Foramen jugularenin önünde kanalis karotikusun dış aperturu bulunur ve internal karotis arter buradan geçerek kafa içine girer. Fossa jugularisin posterolateralinde prosesus stiloideus yer alır. Bu çıkıntının posteriorunda ise foramen stilomastoideum bulunur. N. Fasialis'in kafa dışına çıktığı yer foramen stilomastoideumdur (24).

Timpanik Parça

Timpanik kısım dış kulak yolu kemik kısmının ana yapısını oluşturur. Skuamöz kısım ile birleşim yerinde timpanoskuamöz sütür, mastoid kemik parça ile birleşim yerinde ise

timpanomastoid sütür bulunur. N. Vagusun auriküler dalı olan Arnold siniri timpanomastoid strden geçerek dış kulak yoluna dağılır (22). Timpanik kemiğin anteroinferior bölgesinin ortası çok ince bir yapıda olup foramen timpanikum veya foramen Huschke denilen açıklıkları içerebilir (26). Timpanik kemiğin en medialinde timpanik membranın oturduğu anulus timpanikus vardır. Anulus timpanikus üst kısmı açık kalmış bir halka şeklindedir ve bu açıklığa Rivinus entiği denilir. Bu açıklık skuamöz kemiğin Skutum adı verilen kısmı ile kapatılır (23).

Stiloid Parça

Stiloid parça, timpanik kısım aşağısında anteroinferiora doğru uzanan 2.5 cm'ye kadar varan bir çıkıntıdır (17). Bu çıkıntının 2.5 cm'den uzun olması durumu klinikte uzun süreli boğaz ağrısı ve batma şikayetleri ile karşımıza çıkan ve uzun stiloid proses ile giden Eagle sendromu olarak adlandırılır.

2.2.2. Dış Kulak Anatomisi

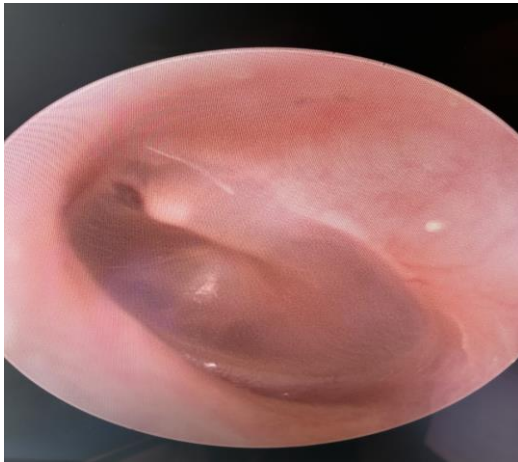
Kafanın her iki tarafında bulunmak ile beraber kulak kepçesi (aurikula) ve dış kulak yolu (DKY) olarak iki bölümden oluşur.

Aurikula; perikondrium ve cilt ile kaplı elastik kıkırdaktan oluşan, seslerin toplanarak dış kulak yoluna iletilmesini sağlayan yapıdır. zerinde girinti ve çıkıntılar bulunur. D yüzde yer alan en büyük çukurluğa konka aurikula denir. Konka; krus heliks ile simba ve kavum konka olarak ikiye ayrılır. Kavum konkanın anteriorunda heliks kökünden insisura terminalis ile ayrılan tragus yerleşirken alt sınırında ise antitragus olarak adlandırılan bir çıkıntı bulunur. Heliks, aurikulanın en dış kısmında serbest kenar boyunca uzanır ve aşağıda kıkırdak içermeyen lobülü oluşturur. Helikse paralel bir diğer çıkıntı ise antiheliks olarak isimlendirilir ve anterosuperiorda krura antiheliks denilen iki bacağa ayrılır. Kulak kepçesi anterior, süperior ve posteriordan  adet ekstrensek kas ve bağ dokusu ile temporal kemiğe tutunur. Ekstrensek kaslar insanlarda rudimenter kalmışken aurikulanın altı adette intrinsek kası vardır. Aurikulanın duyusal innervasyonu n. trigeminalis, n. fasialis ve n. vagus ile üçüncü servikal sinir tarafından sağlanır. Temel arteriyel dolaşımı arteria temporalis sperfasialis ile arteria oksipitalis ile sağlanır.

Dış kulak yolu; meatus akustikus eksternus ile timpanik membran arasında uzanan, arkada 25 mm nde 31 mm uzunluğunda, d 1/3'  kıkırdak i 2/3'  kemikten oluşan bir kanaldır. Kıkırdak kısım çocuklarda daha uzunken yaşla beraber kemik kısmın oranı artar.

Kıkırdak bölümün ön duvarında Santorini fissürleri olarak tanımlanan yarıklar mevcut olup bunlar dış kulak yolunun esnekliğini artırırken enfeksiyonlar için de bir geçiş yolu oluştururlar (24, 27). Dış kulak yolunda iki adet sütür hattı bulunur; alttaki timpanomastoid, üstteki timpanoskuamöz sütürdür. İnervasyonu ise önde trigeminal sinirin mandibular dalı, arkada fasiyal sinir, alt ve arkada ise vagus siniri aracılığı ile olur (24).

Timpanik membran; dış kulak yolu ile orta kulak boşluğu arasında sınırı oluşturan oblik yerleşimli, yarı saydam bir zardır (28). Uzunluğu 10-11 mm, kalınlığı 0,1 mm, genişliği 8-9 mm boyutlarındadır. Dış yüzü konkav yapıda olup bu konkavlığın orta noktası umbo olarak bilinir ve manubrium mallei bu noktada zara yapışıktır. Manubriumun bu noktada yaptığı kabarıklığa stria mallearis denilir. Striadan ön ve arkaya plika mallearis anterior ve posterior olarak iki adet plika uzanır. Bu plikaların altında kalan zar bölümüne pars tensa, üstünde kalan bölümüne ise pars flaksida denir (29). TM dışta dış kulak yolu cildinin devamı olan kutanöz tabaka, ortada radial ve sirküler tarzda liflerden oluşan fibröz tabaka ve içte ise orta kulak mukozasının devamı olan mukozal tabaka olarak üç tabakadan oluşmuştur. Pars flaksida da orta tabakadaki fibröz doku pars tensaya göre daha az bulunur. Pars flaksida bu sebeple daha gevşek ve ince bir yapıdadır. TM temporal kemiğin timpanik parçası içerisinde bulunan sulkus timpanikusa anulus fibrosus (Gerlach halkası) aracılığı ile tutunur (24). Kulak zarı manubrium malleiden geçen bir çizgi ile bunu umboda dik kesen hayali ikinci bir çizgi yardımı ile ön-üst, ön-alt, arka-üst, arka-alt şeklinde topografik olarak dört kadrana ayrılır (30). Arteriyel dolaşımı maksiller arterin auriküler dalı ile posterior auriküler arter anastomozları aracılığı ile olurken duysal innervasyonunu vagus, trigeminal ve fasiyal sinirler alır.



Şekil-3: Sol timpanik membranın endoskopik görüntüsü (Erzincan Mengücek Gazi EAH KBB polikliniği)

2.2.3. Orta Kulak Anatomisi

Orta kulak boşluğu (kavum timpani) temporal kemikte yerleşmiş, altı yüzeyi bulunan, dikdörtgen prizmaya benzer bir yapıdır. Timpanik membran ile kemik labirent arasında yerleşmiş, kolumnar mukoza ile kaplı, içi hava ile dolu bir boşluktur. Östaki tüpü vasıtası ile nazofarenks, aditus aracılığıyla mastoid havalı hücreleri, oval ve yuvarlak pencereler ile de iç kulak ile bağlantılıdır. Kavum timpaninin iç hacmi yaklaşık olarak 2 cc'dir (31). Orta kulak boşluğu birbiriyle bağlantılı ve hareketli kemikçik zincir sistemi sayesinde ses titreşimlerini timpanik membrandan iç kulağa iletir. Orta kulak boşluğunun farklı anatomik yakınlıkları bulunan altı adet duvarı mevcuttur.

Üst duvar: Orta kulak boşluğu ile orta fossayı birbirinden ayırır. Tegmen timpani olarak isimlendirilir. Tegmen çok ince bir kemik yapısında olduğundan bu alana olan girişimlerde dura hasarı veya intrakranial komplikasyon riski yüksektir. Kimi zaman petröz kemik ile arasında küçük dehisanslar vasıtasıyla bağlantılar izlenir. Bu ilişki orta kulak enfeksiyonlarının direkt olarak kafa içine ilerlemesine neden olabilir.

Alt duvar: Vena jugularis interna ve bulbus jugularis ile komşuluk gösterir. Düzensiz ince bir kemik yapısında olup içerisinde Cellulae Timpanica adında hücreler barındırır (24). Juguler bulbus; sigmoid sinüs ile internal juguler venin birleşim noktasını ifade etmektedir. Juguler bulbus anatomik varyasyonlar gösterebilir. En çok izlenen ve cerrahi açıdan preop değerlendirilmesi önem arz eden varyasyonu yüksek yerleşimli juguler bulbustur. Türkiye' de yapılmış bir çalışmada yüksek juguler bulbus oranı %15,2 bulunmuştur (32).

Ön duvar: İnferiorda internal karotis arter, süperiorda silli kolumnar epitel ile döşeli tuba östakinin isthmusu, östakinin süperomedialinde ise semikanalis tensor timpaninin çıkıntıları ile komşuluğu mevcuttur (33). Bu bölgeye yapılacak cerrahi işlemlerde dikkatli olunması gereken nokta nadiren izlenen internal karotis arterin aberan seyretmesidir. Litaratürde bir temporal kemik çalışmasında karotis arter dehisans insidansı %7,7 bulunmuştur (34).

İç duvar: Orta kulak boşluğu ile iç kulağı birbirinden ayıran kısımdır. Bu duvarda en bariz tanınan yapı kokleanın bazal kıvrımının orta kulağa doğru yaptığı kabarıklık olan promontoryumdur. Promontoryumun arka üst bölümünde stapes tabanının oturduğu oval pencere yer alırken arka alt kısmında ise skala timpani ile ilişkili olan yuvarlak pencere yerleşik olarak izlenir (24, 33). Oval pencerenin yukarısında fasiyal sinirin kabarıntısı bulunur. Fasiyal sinir kavum timpanide yaklaşık 10-12 mm uzunluk boyunca horizontal

seyreder ve bu bölüm genikulat ganglion ile ikinci dirsek arasını doldurur. Yuvarlak pencere ön kenarı boyunca izlenen oluk içerisinde ise Jacobson siniri seyreder.

Arka duvar: Yukarıda aditus ad antrum aracılığı ile mastoid havalı hücreleri ile bağlantılıdır. Antrumun hemen alt kısmında stapes kas tendonunun tutunduğu piramidal eminens bulunur. Piramidal eminensin hemen altında ise korda timpaninin orta kulağa girdiği apertura kanalikuli korda timpani olarak adlandırılan bir oluk bulunur. Eminensin dış tarafında ise sınırlarını dışta dış kulak yolu ve korda timpani, arka ve üstte ise fossa inkudisin oluşturduğu fasiyal reses bulunur (10, 13). Yuvarlak ve oval pencerenin arka kısmında piramidal eminensin altında fasiyal kanala yönelmiş olan alana sinüs timpani denilir. Bu alan orta kulak kolesteatomalarının tutabildiği ve ulaşımı güç bir bölge olduğundan dolayı da cerrahi sırasında artık kalabildiği ve bundan dolayı nüks hastalığın sık görüldüğü alanlardandır.

Dış duvar: TM'nin yerleştiği, dış kulak yolu ile orta kulak boşluğunu ayıran duvardır. Skutum ve hipotimpanum da burada bulunur.

Orta kulak boşluğu pratikte ele alınırken altı alt anatomik bölgeye ayrılır (35, 36).

- 1) Epiteimpanum (Attik): Timpanik membranın üzerinde kalan alandır.
- 2) Mezoimpanum: Timpanik membranın medialinde kalan bölgedir.
- 3) Hipotimpanum: Timpanik membran ve sulkus timpanikusun altında kalan kısımdır.
- 4) Antrum: Epiteimpanumun hemen posteriorunda kalan bölgedir.
- 5) Aditus ad antrum: Epiteimpanumdan antruma uzanan açıklığı tanımlar.
- 6) Mastoid sellüler yapı: Orta kulak mukoperiostunun devamı olduğundan kavum timpani yapıları arasında sayılır.

Timpanik membran ile oval pencere arasında dizili, birbirleriyle eklem yapan ve hareketli yapıları ile ses iletiminde görev alan sırası ile malleus, inkus ve stapes olarak isimlendiren üç adet kemikçik bulunur. Bu kemikçiklerin stabilizasyonunu sağlayan orta kulak duvarları ile ilişkili kas ve ligamanlar da kavum timpani içerisinde yerleşik olarak bulunmaktadır.

Malleus: Kemikçiklerden en lateralde ve en büyük olandır. Kulak zarı ile temas halinde bulunur. Uzunluğu 8-9 mm, ağırlığı ise ortalama 23 mg kadardır. Manubrium, kollum ve kapitulum mallei ile anterior ve lateral proseslerden oluşur (23, 24, 27). Manubrium kısmı ile kulak zarına yapışır ve ses titreşimleri böylelikle kemikçik sistemine aktarılır. Tensor timpani kası kollum malleiye yapışır. Bu kas aktivasyonu timpanik membranı mediale çeker.

Kapitulum mallei ile inkus korpusu epitimpaniumda inkudomalleolar eklemi oluşturur. Korda timpani malleus ile inkusun arasından geçmektedir.

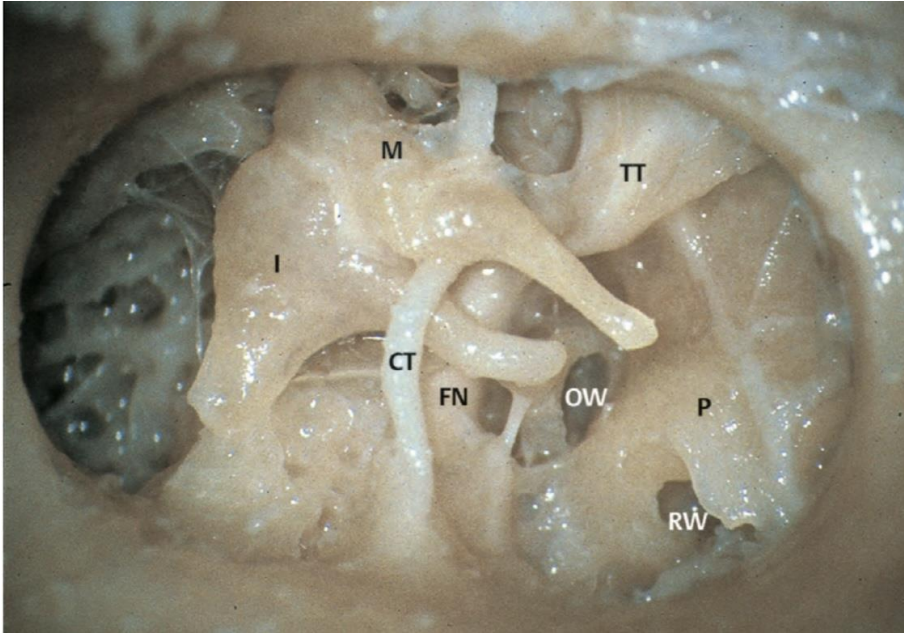
İnkus: Korpus, krus longus ve krus breve olarak üç kısımdan oluşur ve şekil itibari ile örse benzer (37). Korpus parçası malleus başı ile eklem yaparken, uzun kolun stapes başı ile eklem yaptığı kısmına lentiküler proses denir. Kısa kol fossa inkudise yerleşiktir ve mastoidektomi cerrahisinde önemli kılavuz noktalardan biridir.

Stapes: Baş, boyun, baştan tabana doğru uzanan anterior ve posterior olmak üzere iki adet krus ve taban olmak üzere beş kısımdan oluşur (38). Taban kısmı ligamentum annulare ile oval pencereye oturur. Stapes kası tendonu krus posterior üzerine yapışıktır (39).

M. Tensor Timpani: Östaki tüpünün kıkırdak bölümünden başlar, tüpün üzerinde ve paralel seyrederek. Prosesus kokleariformise uzanır ve buradan dönüş yapıp ilerleyerek malleus boynuna yapışır. Aktive olduğunda manubriumu iç ve arkaya çeker bu sayede timpanik membranı tespit eder. N. Mandibularisin medial pterigoid dalı tarafından innerve edilir (24, 27).

M. Stapedius: Piramidal eministen başlar, stapesin arka bacağı ile boynunun arka kısmına yapışır. Kasıldığında stapes arka bacağı arkaya doğru çekerek tabanı kaldırır ve bu hareketle yüksek şiddetli seslerde iç kulak hasarına engel olur. Fasiyal sinirin stapedia dalı ile innerve olur.

Korda Timpani: N. Fasialisin temporal kemik içindeki en geniş dalıdır. Timpanik membranın medial yüzünde anulusa paralel olarak seyrederek, malleus ve inkus kemikçikleri arasından geçer, petrotimpanik fissürden orta kulağı terk eder. Dilin 2/3 ön kısmının tat duyusunu taşır.



Şekil-4: Attikotomi sonrası sağ timpanik kavite görüntüsü. M: Malleus, I: İnkus, TT: Tensor Timpani, P: Promontoryum, RW: Yuvarlak Pencere, OW: Oval Pencere, CT: Korda Timpani, FN: Fasiyal Sinir (40).

2.2.4. İç Kulak Anatomisi

Temporal kemiğin petröz parçası içerisinde yerleşik, işitme ve denge ile ilgili kısımları barındıran alandır. İç kulak membranöz ve kemik labirent olarak iki kısımda incelenir (39). Kemik ve membranöz labirentler arasında perilenf sıvısı dolaşırken membranöz labirent içerisinde endolenf dolaşır (41).

Kemik labirent; vestibulum, kemik semisirküler kanallar, koklea, aquaduktus vestibuli ve aquaduktus kokleadan oluşur. Membranöz labirent ise; utrikulus, sakkulus, duktus semisirkülaris, duktus endolenfatikus, duktus perilenfatikus, duktus koklearis ve korti organından oluşur.

Vestibulum: Düzensiz bir şekli olup kemik labirentin santral kısmını oluşturur. Koklea ve yarım daire kanalları (semisirküler kanallar) ile bağlantılıdır.

Koklea: Şekil itibari ile salyangozu andıran ve modiolus olarak adlandırılan eksenî etrafında 2,5 tur dönüş yapan kemikten oluşan bir yapıdır. Modiolus etrafında dönüş yapan kemik yapıya lamina spiralis ossea denir. Baziler membran ile koklear kanal skala vestibüli ve

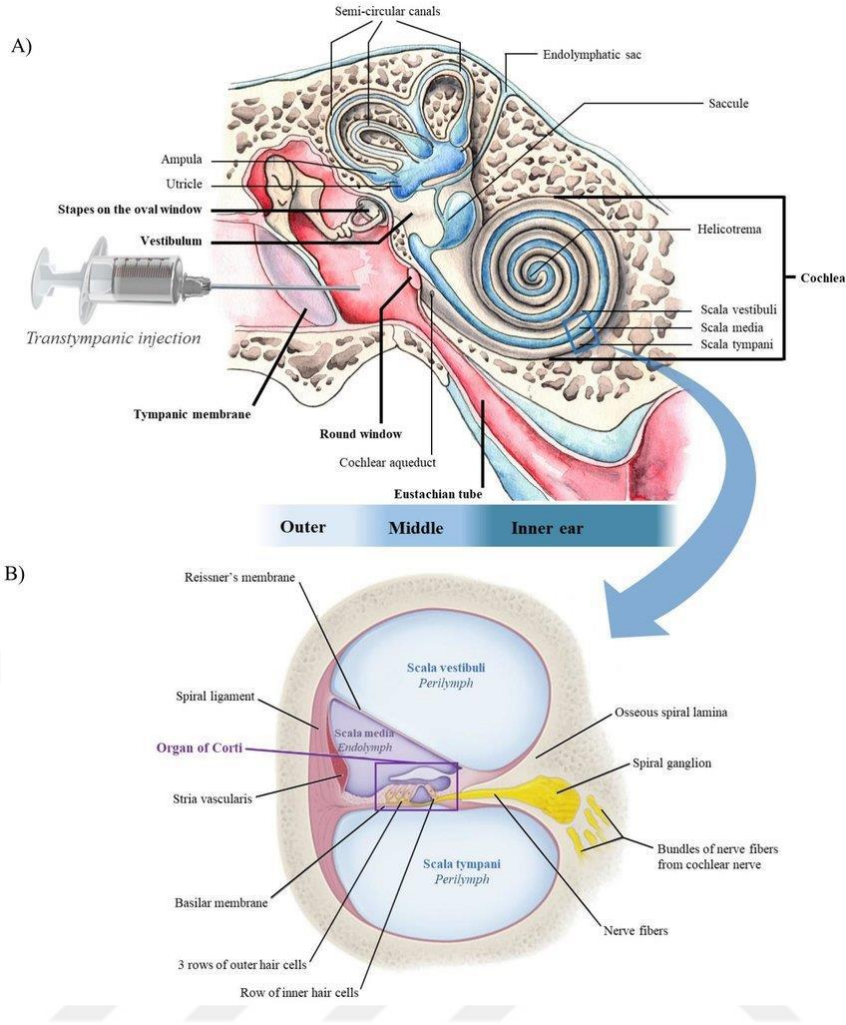
skala timpani olarak ikiye ayrılır. Bu iki skala kokleanın apeksinde helikotrema'da birleşir. Skala vestibüli oval pencere ile iştiraklı iken skala timpani yuvarlak pencereye açılır. Korti organı baziler membran üzerinde yerleşmiştir.

Semisirküler kanallar: Üç ayrı düzlemde birbirlerine dik olarak sıralanmış anterior (süperior), posterior ve horizontal (lateral) olarak bilinen üç adet kanaldır. Ampullaları aracılığıyla vestibulum'a açılırlar. Membranöz ampullaların kemik ampulla ile birleştiği yerde krista ampullaris denilen çıkıntılar bulunur. Krista ampullaris çıkıntılarının üzerleri kupula olarak isimlendirilen jelatinöz bir sıvı ile kaplıdır. Buradaki nöroepitelyal tabakadan çıkan n. ampullaris anterior-posterior ve lateralis isimli sinirler n. utrikularis ve n. sakkularis ile birleşerek N. Vestibularis oluştururlar.

Utrikulus ve Sakkulus: Vestibulumun medial duvarında yerleşiktirler. İç yüzlerinde denge ile ilişkili özelleşmiş hücrelerin bulunduğu makula yer almaktadır. Makulaları birbirine dik yerleşimlidir ve başın lineer hareketlerini algılamayı sağlarlar. Duktus endolenfatikus sakkulusun posteriorundan başlar ve duktus utrikulosakkularis ile birleşir.

Duktus endolenfatikus: Aquaduktus vestibuli isimli kanal içerisinden geçerek dura altında sakkus endolenfatikus olarak sonlanır.

Duktus perilenfatikus: İçerisinde perilenfin dolaştığı, aquaduktus koklea isimli kanal içerisinden geçen ve skala timpani ile subaraknoid boşluğu birleştiren kanaldır.



Şekil-5: A) Orta ve iç kulak anatomisi B) Koklea anatomisi (42).

2.3. Rat Kulağının Anatomisi

Kulak burun boğaz hastalıkları pratiğinde özellikle de kulak ile ilgili hayvan deneylerinde ratlar ve guinea pigler oldukça sık kullanılmaktadır (43). Bunun nedeni ise gerek laboratuvar şartlarında kolay ve hızlı şekilde üretilebilmeleri gerekse anatomik açıdan insana benzerlikleridir. Hayvanlar üzerinde yapılacak olan çalışmaların daha doğru yürütülebilmesi için deney yapılacak olan hayvanın anatomisini bilmek önem arz eder.

Rat orta kulağı insanda bulunan tüm yapıları içermektedir. Kemikçiklerin büyüklüğü insan kemikçiklerinin yaklaşık 1/4' ü kadardır (44). Sıçanların orta kulakları bulla olarak adlandırılan kemik içerisinde yer alır (45, 46). Kulak zarları da insaninkine benzer yapıda olup insan kulak zarı alanı yaklaşık 80 mm² iken rat kulak zarı alanı ise 11 mm² kadardır (47,

48). Sıçan timpanik membranında pars flaksidanın pars tensaya oranı insanlara kıyasla daha fazladır. Timpanik membranın toplam büyüklüğü ile kıyaslandığından insanlarda pars flaksida küçük bir yer kaplarken sıçanlarda timpanik membranın yaklaşık üçte birini oluşturur. Bunların dışında rat ve insan kulak zarları benzerlik göstermekle beraber bazı farklılıklar izlenmektedir (49);

Yukarıda da bahsedildiği gibi pars flaksidanın pars tensaya oranı insanlara nazaran daha büyüktür.

Manubrium mallei yukarıdan aşağı doğru kavislenerek seyrederken insanlarda yukarıdan aşağı anteroposterior yönelimdedir.

Rat timpan membranının ön-arka çapı yaklaşık 2.2-2.4 mm iken insanlarda 9-10 mm' dir.

2.4. Kronik Otitis Media

2.4.1. Tanım ve Epidemiyoloji

KOM, timpanik membranda perforasyon, kulak akıntısı ve işitme kaybı ile giden, üç aydan uzun süredir var olan ve medikal tedaviye rağmen düzelme göstermeyen, mastoid havalı hücreleri-orta kulak boşluğu ve östaki tüpü mukozasının kronik enflamasyonu olarak tanımlanır (1).

Bu tanımlamanın yanında semptomların süresi hakkında mutlak kabul gören bir fikir birliği yoktur. WHO, KOM'u en az iki haftadır bulunan perfore kulak zarı ile kulak akıntısı olarak kabul ederken (50), başka görüşler ise semptomların altı haftadan uzun sürmesi halini kronik olarak tanımlamaktadır (3, 4).

Klinik tabloyu üç ana özellik oluşturur; kulak zarında perforasyon, dış kulak yolundan zaman zaman kesilen akıntı ve sıklıkla iletim tipi karakter gösteren işitme kaybı (51).

KOM günümüzde halen önemini koruyan bir sağlık sorunu oluşturmaktadır. Dünyanın tüm bölgelerinde pek çok farklı insan toplulukları hastalıktan etkilenmeye devam etmektedir (52). İnsidans ve prevelansı üzerine gelişmiş ülkelerde dahi güvenilir veriler olmadığından doğru bir oran vermek zorlaşmaktadır. WHO KOM'u tedavi edilebilir bir hastalık olarak ele aldığından bu konuya özellikle önem vermektedir. KOM prevelansı dünyada yaklaşık 65-330 milyon arasında gösterilmekte olup bu hastaların %60'ına yakınında klinik olarak izlenen işitme kaybı mevcuttur (2). KOM'un dünya genelinde tüm yaş gruplarında %4,76 insidansı

olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (53). Yapılan bazı çalışmalarda gelişmiş ülkelerde sıklığın %1'in altında olduğu bildirilmiştir (52). Ülkemizde genç erkek popülasyonu üzerine yapılan bir çalışmada KOM prevalansı %1,77 olarak bulunmuştur (54).

2.4.2. Risk Faktörleri ve Patogenez

KOM etyopatogenezinde çevresel, sosyoekonomik durum, enfeksiyöz ve genetik gibi pek çok faktör yer almaktadır. Çocukluk çağında özellikle 6 yaş öncesi dönemde çok sık orta kulak iltihabı izlense de bu oran yaşla birlikte azalma göstermektedir (55). KOM'un sosyodemografik özelliklerinin incelendiği geniş kapsamlı bir çalışmada yoksulluk seviyesinin altında yaşamının da önemli bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir (56). Alerjik hastalığı ve üst solunum yolu hastalığı olanlarda da orta kulak hastalıklarının daha sık izlendiği görülmüştür (57). Bunun yanında immün sistemi etkileyen (diyabetes mellitus, kronik hastalıklar ve çeşitli immün sistem bozuklukları) hastalıklar, beslenme bozuklukları, alerji, nazofarenkste hipertrofik lenfoid doku varlığı, kraniofasial anomaliler ve deformiteler, akut otitis media (AOM) ve seröz otitis media (SOM)'nın uygun olmayan ve yetersiz tedavisi de etiyolojik risk faktörleri arasında sayılmaktadır (58). Gastroözofagial reflü (GÖR) ve mide içeriğinin orta kulağa geçişi de suçlanmaktadır (59). Tüm bu risk faktörlerinin dışında AOM'un kronikleşmesinde önem arz eden iki lokal faktör vardır; östaki tüpü ve mastoidin durumu. Östaki tüpünün drenaj, ventilasyon ve koruma görevleri mevcuttur. Çalışmalarda KOM hastalarının mastoid kemikleri sağlıklı bireyler ile kıyaslandığında daha sklerotik izlenmiş ve havalanma kaybı olduğu görülmüştür (58). KOM'a ait risk faktörlerinin başlıcaları şu şekilde sıralanabilir;

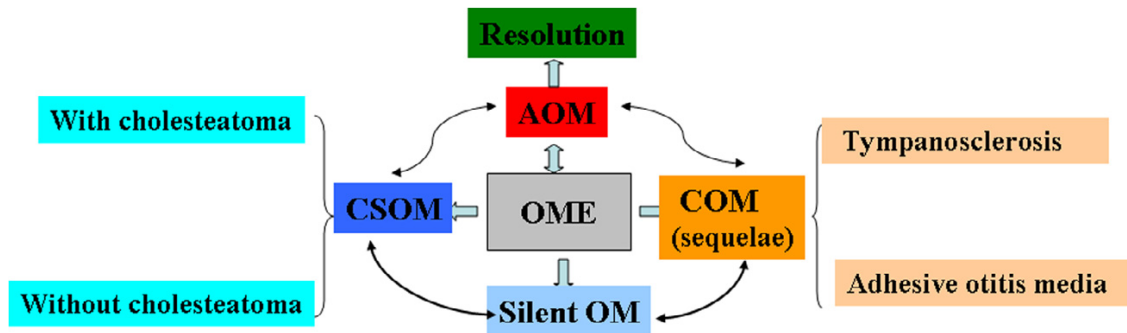
- Irk ve genetik faktörler
- Kraniofasial anomaliler
- Kötü sosyoekonomik düzey
- Kötü ve yeterli olmayan sağlık hizmetleri
- Rekürren ve seröz otitis media
- Sık üst solunum yolu enfeksiyonu hikayesi
- İmmün sistem bozuklukları
- Waldeyer halkasında lenfoid hiperplazi (adenoid)
- Gastroözofagial reflü hastalığı

KOM'un patogeneğinde genetik, bakteriyel ve çevresel birçok faktörün rol aldığı düşünülmektedir. Bu faktörler göz önünde bulundurularak temelde dört ana sebep şöyle sıralanabilir;

- 1) Östaki borusunun orta kulak havalandırma fonksiyonunun çeşitli sebeplerle sekteye uğraması,
- 2) Orta kulakta ve mastoid havalı hücrelerde olağan havalanmanın kısıtlanmasına neden olacak ödem, granülasyon gibi patolojik faktörlerin varlığı,
- 3) Tekrarlayan AOM ve SOM atakları,
- 4) Kavum timpanide anatomik olarak bulunan ligaman ve katlantılar ile kasların havalanmanın yetersiz olmasına bağlı olarak etkilenmeleri sonucu timpanik membranda adezyon ve perforasyon gibi patolojilerin ortaya çıkması.

Bakteriyel biyofilm tabakası oluşumu da KOM patogeneğinde önemli bir mekanizmadır. Bu biyofilm tabakası patojenlerin tedaviye direnç geliştirmelerine katkı sağlamakla birlikte bu sayede rekürren enfeksiyonlara ve patojen eradikasyonunun zorlaşmasına zemin hazırlamaktadır. Bunun yanında orta kulak yapılarına sıkı şekilde yapışarak kemiklerde enflamasyon ve mukozada ülserasyona neden olur (60).

KOM'da bir diğer problem ise mukozada skarlaşma ve küçük damarlarda trombozun sebep olduğu avasküler alanların oluşumudur. Bu nedenle kemikçiklerde nekroz gelişir. Enflamasyonun devamı halinde mastoid kemikte skleroz meydana gelir ve antrum küçülür (61). Özetle kronik otitis media patogenezi karmaşık pek çok sebebin bir araya gelmesiyle oluşan klinik bir tablodur (62).



Şekil-6: Otitis Media türleri arasındaki iyileşme-dönüşüm mekanizmasının şematik gösterimi (63).

2.4.3. Mikrobiyoloji

Orta kulak enfeksiyonunun en önemli etken patojenleri bakterilerdir. Bu patojenler östaki yoluyla nazofarenksten veya intakt olmayan bir kulak zarı sebebiyle dış kulak yolundan orta kulağa ulaşabilirler (52, 64, 65). KOM'da en sık gösterilen patojenler sırasıyla; *P. aeruginosa*, *Stafilokokus aureus*, *Proteus vulgaris* ve *Klebsiella pneumoniae*'dir (5, 6).

P. aeruginosa; kavum timpani mukozasında meydana gelen değişikliklerin çoğundan sorumlu tutulmaktadır. Uygun ortamı yakaladıklarında proteaz, lesitinaz, jelatinaz, fibrinolizin, lipaz, kazeinaz, elastaz, hemolizin, ekzotoksin A ve antimikrobiyal enzimleri etkisiz kılan bir takım enzim ve benzeri maddeleri salgılayarak dokuda nekroz meydana getirirler. Bu yıkımın sonucunda da polip, granülasyon, nekroz, kötü kokulu otore ve osteit gelişimi ortaya çıkar (24).

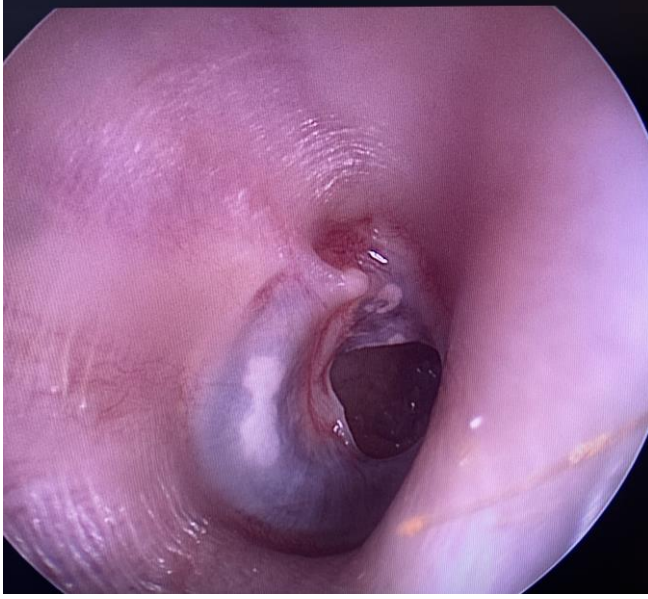
Daha nadir görülmekle birlikte KOM'da mantar türleri, anaerobik bakteriler ve mikobakteri türleri de izole edilebilmektedir. Ancak uygun şekilde kültür alınmasına rağmen her zaman mikroorganizma üretilmeyebilir (66).

2.4.4. Kronik Otitis Media Tipleri

KOM, klinik ve histopatolojik özellikleri göz önüne alınarak tubotimpanik ve attikoantral hastalık olarak ikiye ayrılır (67).

Tubotimpanik Hastalık

Mukozal veya güvenli tip olarak da isimlendirilir. Kolesteatom ile birlikte görülmesi çok nadirdir. Timpanik membrandaki perforasyon pars tensada sınırlı kalmış ve anulus fibrozus sıklıkla sağlam izlenir. Genellikle iyi seyirli olup kemik zincirde hasar beklenmez. Çok ileri derecede olmayan iletim tipi işitme kaybı ile birlikte (68).



Şekil-7: Tubotimpanik Hastalık (Erzincan Mengücek Gazi EAH KBB polikliniği)

Attikoantral Hastalık

Skumöz veya güvenli olmayan tip olarak da adlandırılır. Enflamasyon temelde attikte, sinüs timpaniyi de içine alacak şekilde posterior timpanumda ve aditus ad antrumum da içerecek şekilde timpanik istmustadır. Kulak zarının pars flaksida bölgesinde perforasyon ve/veya retraksiyon cebi görülebilir. Bu hastalarda klinik tabloya genellikle kolesteatom eşlik eder ve kolesteatom ile birlikte kemik zincirde erozyon sıklıkla izlenir (68).

KOM, tubotimpanik ve attikoantral hastalık dışında etiyolojisinde rol alan faktörler ve histopatolojik özelliklerinin göz önünde bulundurulduğu sık kullanılan başka bir sınıflandırmaya göre de (Lille sınıflaması) beş ana gruba ayrılır (69);

- 1) Kronik basit otitis media (alerjik ya da sekretuar tip tubatimpanitisler) (Lille Tip 1)
- 2) Kronik mukozal otitis media (Lille Tip 2)
- 3) Kronik mukoza ve kemik nekrozu gösteren otitis media (Lille Tip 3)
- 4) Özel tip KOM'lar (Kronik Tüberküloz otitler, Sifilitik otit)
- 5) Kolesteatomlu KOM

KOM tubotimpanik ve attikoantral özelliklerine göre ise üç sınıfta incelenir;

- 1) Kronik Basit Otitis Media: Tubotimpanik özellikler barındıran iyi prognozlu bir klinik tablodur. Hastalarda bir üst solunum yolu enfeksiyonunu takiben orta kulakta ödem gelişir ve sonrasında timpanik membran perforasyonu meydana gelir. Klinik seyir aralıklı kulak akıntısı ve aralarda kuru dönemler şeklindedir. İşitme kaybı perforasyonun yeri ve büyüklüğü ile kemikçik zincir harabiyetinin durumuna göre değişkenlik göstermekle birlikte genellikle hafif derecede iletim tipi işitme kaybı görülür.
- 2) Kronik Mukozal Otitis Media: Tubotimpanik özelliklere sahip ancak daha agresif seyirli bir hastalıktır. Bu hastaların kulak zarındaki perforasyon daha geniş ve/veya subtotaldır. Orta kulak mukozasındaki ödem daha belirgin izlenir. Mukoza hipertrofisine sekonder granülasyon dokuları ve polipler izlenebilir. Mukozal hasara ve ilerlemesine bağlı kemik zincirde destrüksiyon gelişebilir. İşitme kaybı bu orta kulak patolojilerinin boyutuna bağlı olmak ile birlikte ileri derecede değildir.
- 3) Kronik Kolesteatomlu Otitis Media: Kolesteatom basit şekilde çok katlı yassı epitel dokusunun orta kulak ile temporal kemiğin havalı bölgelerinde izlenmesi olarak tabir edilebilir. Johannes Müller tarafından ilk defa 1838’de yağ tümörü şeklinde tanımlanmış ve bu anlama gelen kolesteatom olarak adlandırılmıştır. Fakat bu adlandırma hatalıdır çünkü kolesteatom bir tümör olmamakla birlikte yağ ve kolesterol içermez. Bezold ve Haberman 1890’da kolesteatomun orta kulağa TM’de bulunan bir perforasyondan ilerleyen skuamöz epitel debrisini olduğunu tanımlamışlardır. Kolesteatomun histopatolojisinde iç kısımda keratin içeren debris, dış kısımda ise matriks olarak bilinen tabakanın iç yüzeyini çok katlı yassı epitel dış yüzeyini ise bağ dokusu elemanları oluşturur. En dışta perimatriks olarak tanımlanan granülasyon dokusu bulunur. Kemik doku ile temas halinde bulunan perimatriksten salgılanan enzimler kemik destrüksiyonundan sorumludur. Kolesteatom dokusu enfekte olursa ölü hücrelerin parçalanması ile ortaya ağır yağ asitleri ve kolesterin kristalleri çıkar, bunlar da kolesteatomun kötü kokusundan sorumludurlar. Kolesteatomun histopatolojik tanısı için matriks, perimatriks ve kistik yapının birlikte görülmesi gerekir. Keratin debrislerinin görülmesi tek başına tanıya yeterli olmamaktadır (70). Kolesteatom genel olarak akkiz (edinsel) ve konjenital olmak üzere iki ana grupta incelenir.
Konjenital kolesteatom herhangi bir enfeksiyon ve/veya cerrahi öyküsü olmaksızın intakt TM arkasında meydana gelir. Orta kulak boşluklarında doğuştan var olan skuamöz epitel artıklarının progresif genişleyerek kistik kitle halini almasıyla ortaya

çıkır. Uzun süre bulgu vermez, intakt zar arkasında ön-üst kadranda inci tanesi gibi görülebilir (52).

Akkiz kolesteatom ise genellikle attikte bulunan bir perforasyon ve/veya retraksiyon cebinden kaynaklanır. Bu bölgelerden skuamöz epitelin orta kulağa girmesi ve burada birikerek keratinize bir yapı ortaya çıkarmasından meydana gelir. Akkiz kolesteatomlar bulundukları yerden attik, antrum, mastoid, posterior timpanum, östaki, mezotimpanum ve hipotimpanuma yayılabilir. Çevre kemik dokularda erozyona neden olarak fasiyal sinir, labirent ve duraya ilerleyerek buralarda hasara neden olabilir.

2.4.5. KOM Klinik Bulguları ve Evreleri

KOM' da klinik bulgu ve semptomlar hastalığın şiddetine göre değişiklik gösterir.

Ağrı: KOM'da genellikle ağrı izlenmez. Ancak ağrı varsa sıklıkla komplikasyonu işaret eder. Yine ağrı eksternal otite bağlı da gelişebilir. Ağrı, kanlı ve kokulu akıntı mevcut ise kulak kaynaklı tümörler açısından da alert olunması gerekir. Bunun dışında dış kulak yolunda ağrı ve nekrotik döküntülerle birlikte intakt bir timpanik membran varlığı özellikle yaşlı ve kronik hastalığı bulunan bireylerde malign eksternal otiti akla getirmelidir.

Kanama: Genellikle hastalığın sürecinde meydana gelen ve oldukça fragil olan granülasyon dokuları ile polipler neden olur.

Baş Dönmesi: Sıklıkla KOM'un akut alevlenmeleri sırasında izlenir. Enfeksiyon varlığında yuvarlak pencere membranının geçirgenliği artar ve bu da bakteriyel toksinlerin labirent içerisine sızarak labirentite yol açmasına neden olur. Bunun sonucunda hastalarda baş dönmesi izlenebilir.

İşitme Kaybı: Hastaların çoğunluğunda işitme kaybı şikayeti mevcuttur. Genellikle iletim tipi vasfında izlenir. Kulak zarındaki perforasyonun büyüklüğü ve yeri, orta kulaktaki hastalığın şiddeti ve yayılımı ile ek patolojilerin varlığı işitme kaybının derecesini etkiler. Bazı hallerde ise orta kulakta mevcut olan patolojiler (polip, hipertrofik mukoza veya granülasyon dokuları, kolesteatom) destrükte olmuş kemikçik zincir arasında iletim sağlayarak işitme kaybının belirgin olmamasına neden olabilir. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde ise labirentte bakteriyel toksinlerin neden olduğu harabiyete bağlı sensörinoral komponent eklenerek mikst tipte işitme kaybı gelişebilir.

Akıntı: KOM'da en yaygın semptom ve hekime en sık başvuru sebebidir. Komplikasyonsuz basit tip KOM'larda akıntı genellikle seromüköz ve kokusuz karakter gösterir. Ancak sekonder enfeksiyon eklenen ve/veya komplike vakalarda ise akıntı pürülan karakterde ve kokulu özellik kazanır. Akıntı aralıklı olarak devamlılık gösterir. Uzun süreli ve kötü kokulu akıntı mastoid hücrelerde gelişen bir osteiti işaret eder. Kolestomatlı KOM'da gelişen kemik nekrozu ve osteomiyelit tablosu sonucunda akıntı tipik koku ve karakterini kazanır.

KOM klinik olarak dört evrede incelenmektedir; 1) Aktif, 2) İntermittan, 3) İnaktif ve 4) Skatrisyel.

- 1) Aktif Evre: Akıntının sürekli olduğu evredir. Akıntının devamlılığı orta kulakta enfeksiyon ve enflamasyonun devam ettiğinin göstergesidir. Muayenede kulak zarında perforasyon ve akıntı izlenir. Orta kulak mukozası hiperemik ve hipertrofik görünümündedir. KOM'un şiddeti ve sınıfına göre granülasyon, epitel debrisleri ve polip izlenebilir. Akıntının pürülan vasıf göstermesi sekonder enfeksiyonun göstergesidir (1).
- 2) İntermittan Evre: Aralıklı akıntı ve kuru dönemleri olan evredir. Kulak akıntısı genellikle bir üst solunum yolu enfeksiyonu veya alerjiyi takiben indüklenir, atak sonrası da azalarak durur. Orta kulak mukozası akıntılı dönemde ödemli görünümde iken atak sonrası ödem yok olur (1).
- 3) İnaktif Evre: Akıntının olmadığı evredir. Bu hastaların kulakları genellikle kuru ve timpanik membranda santral perforasyon mevcuttur. Perforasyonun kenarları bazı alanlarda incelmış ve üzeri epitelle kaplanmıştır. Bu bulgular KOM iyileşme sürecini ya da travma/parasentez sonrası kalan bir perforasyonu işaret edebilir. Östaki tüpü salımdır. Valsalva gibi manevralar ile perforasyondan hava çıkışı olması bunu gösterir. Hafif iletim tipi işitme kaybı görülür. Kemik zincir destrüksiyonu olmuşsa işitme kaybının tipi ve şiddeti değişiklik gösterebilir (1).
- 4) Skatrisyel Evre: KOM'un iyileşme evresidir. Enfekte orta kulak mukozasının tamamen iyileştiği ve yer yer fibrotik dokuların izlendiği görülür. Kulak zarındaki perforasyonun kapandığı izlenebilir ya da küçük santral bir perforasyon da görülebilir. Bu iyileşme zarda timpanoskleroz veya adezyon ile olabilir. Bu hasta grubunda ileri derecede iletim tipi işitme kaybı görülür. Bu kaybın nedeni kemikçik zincirde destrüksiyon, timpanoskleroz ve orta kulaktaki fibrotik yapışıklıklardır (24).

2.4.6. KOM Muayene Bulguları ve Tanı

KOM’da doğru tanı için ayrıntılı otoskopik, otomikroskopik ve açılı endoskopları içeren kulak muayenesi ile birlikte detaylı anamnez, odyolojik değerlendirme ve radyolojik görüntülemeleri içeren sistematik bir yaklaşım benimsenmelidir.

Ayrıntılı kulak muayenesi ile perforasyonun varlığı, büyüklüğü ve yerleşim yeri, akıntı varlığı, bakiye zarın durumu, orta kulak mukozasının görüntüsü, polip-debris ve granülasyon dokusu varlığı, kemikçik zincirin durumu, retraksiyon ceplerinin olup olmadığı ve kolesteatom açısından değerlendirilmelidir.

Odyolojik Değerlendirme: Diyapozon testleri ile başlanmalıdır. Sonrasında odyolojik olarak kemik-hava iletimi, konuşmayı alma eşiği ve diskriminasyon skorları ölçülmelidir.

Radyolojik Görüntüleme: KOM tanısı genellikle iyi bir kulak muayenesi ile konulur. Radyolojik tetkikler klinik muayeneye tamamlayıcı bilgi vermesi açısından ve cerrahi hazırlık için gereklidir. Yine komplikasyon şüphesinde görüntüleme yapılması gerekir. Konvansiyonel grafiler önemi büyük oranda yitirmiş olup bunların yerini Bilgisayarlı Tomografi (BT) ve Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) almıştır. Konvansiyonel grafiler içerisinde Schuller grafisi ile mastoid kemik havalanması ve dış kulak yolu-transvers sinüs arası mesafe değerlendirilebilir. Temporal kemik BT’de dış kulak yolunda harabiyet varlığı, mastoid hücrelerin durumu, orta kulak yapıları ve temporal kemik tümörleri değerlendirilebilir. MRG’ nin KOM’da rutin kullanım gerekliliği olmamak ile beraber gadolinyum ile yapılan kontrastlı MRG’de tümör, kan ve mukozal enflamasyon ayırt edilebilir. Bunun yanında difüzyon ağırlıklı MRG kolesteatom tespiti ve nüks takibi açısından önemlidir (67).

2.4.7. KOM Medikal Tedavi

KOM tedavisinde amaçlarımız mevcut enfeksiyonu eradike etmek, komplikasyonların önüne geçmek, kulak zarındaki perforasyonun tamiri ve işitme rekonstrüksiyonunun sağlanmasıdır. Medikal tedavide esas amaç enfeksiyonun kontrolü ve stabilize edilmesidir. Genel olarak hasta kulağın su ile temasından kaçınılması, düzenli ve yeterli kulak aspirasyonu ile debrislerin ve akıntının temizlenmesi, sistemik ve/veya topikal antibiyoterapi ile topikal antiseptik ve steroidli damlaların kullanımını içerir. Güncel yaklaşımda dış kulak yolu ve orta kulağın aspirasyon ile mekanik temizliği ve topikal antibiyotikli damla kullanımı benimsenmiştir (71). Aminoglikozidlere nazaran daha etkili olmaları, ototoksik ve vestibülotoksik yan etkilerinin bulunmaması nedeni ile kinolon grubu antibiyotikler topikal

tedavide en çok kullanılan ajanlardır (72). Topikal antibiyotik tedavisine topikal steroid damlaların eklenmesi konusunda kesin bir fikir birliği yoktur. Ancak 2004 Amerikan Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Akademisi konsensüs paneli dış kulak yolu veya orta kulakta yoğun inflamasyon ve granülasyon dokularının varlığında topikal antibiyoterapinin yanında steroid kullanımının da uygun olabileceğini belirtmektedir (73). Düzenli ve yeterli aspirasyonlar ile bir kaç kez topikal antibiyoterapi almış ancak akıntısı devam eden, invaziv enfeksiyon veya dirençli mikroorganizmalar açısından risk altında olan hastalarda kültür sonucuna göre uygun sistemik antibiyoterapi rejimi seçilmelidir. Parenteral olarak tercih edilecek olan antibiyoterapinin mutlaka antipseudomonal etkinliği de olmalıdır (71). KOM'un medikal tedavisinde kullanılan bir diğer topikal ajan grubu ise borik asit, asetik asit, Burrow çözeltisi gibi topikal antiseptiklerdir. Geniş etki spektrumuna sahip olmaları, maliyet etkin oluşları, direnç gelişmemesi ve bakteriyel biyofilme karşı da etkili olmaları nedeni ile tercih edilmektedirler (74).

2.4.8. KOM' da Cerrahi Tedavi

Cerrahi tedavide normal anatomiye yakın havalı ve kendini temizleyebilen bir orta kulak ve mastoid oluşturmak, enfeksiyonun ortadan kaldırılması ve olabildiğince işitmenin rekonstrüksiyonu ile iyileştirilmesi amaçlanmaktadır. Medikal tedaviye rağmen düzelme izlenmeyen, kolesteatom bulunan ve komplikasyon gelişen olgularda cerrahi endikasyonu vardır.

KOM cerrahi tedavisinde aşağıdaki yaklaşımlardan uygun olanı hastalığın durumu ve cerrahın tecrübesine göre seçilmektedir;

- 1) Miringoplasti: Kavum timpani ve mastoid kaviteye müdahale edilmeksizin sadece timpanik membran perforasyonuna yönelik yapılan cerrahi prosedürleri tanımlar.
- 2) Timpanoplasti: Mastoidektomi olmaksızın bu terim kulak zarındaki perforasyonun tamiri yanı sıra kemikçik zincir rekonstrüksiyonu ile işitmenin iyileştirilebilmesi ve enfeksiyonun ortadan kaldırılmasını amaçlayan cerrahi prosedürler bütünüdür.

Wullstein'nin sınıflandırmasına göre beş tip timpanoplasti vardır (75);

Tip I Timpanoplasti: Kemikçik zincir sağlam ve intaktır. Perforasyon onarımı yapılır. Miringoplasti de denebilir.

Tip II Timpanoplasti: Malleus erode veya hiç yoktur. Graft kalan malleus üzerine veya direkt olarak inkus üzerine serilir.

Tip III Timpanoplasti: Malleus ve inkusun her ikisi de yoktur. Graft intakt stapes üzerine serilir.

Tip IV Timpanoplasti: Stapes baş, boyun ve krusları yoktur ancak stapes tabanı mobildir. Graft doğrudan stapes tabanı üzerine yerleştirilir.

Tip V Timpanoplasti: Tip IV' te bulunan patolojilere ek olarak stapes tabanı fiksedir. Bu durumda horizontal semisirküler kanala pencere açılır. Tip V' in Paparella tarafından modifiye edilen şeklinde horizontal kanala pencere açılması (Tip Va) yanı sıra otoskleroz veya timpanosklerozla bağlı stapes fiksasyonu mevcut ise stapedektomi (Tip Vb) yapılabilir.

- 3) Mastoidektomi: Mastoid kemikteki enfekte havalı hücrelerin belli seviyelerde temizlenmesi anlamını taşır. İki farklı teknik mevcuttur;

Açık Teknik (Canal Wall Down): DKY arka duvarının indirilerek mastoid ve orta kulağın tek boşluk haline getirildiği yöntemdir. Radikal ve modifiye radikal mastoidektomiler bu grup içerisinde yer alır. Yaygın kolesteatom durumlarında veya kolesteatom olmaksızın küçük sklerotik mastoid varlığında da uygulanabilir (67).

Kapalı Teknik (Canal Wall Up): DKY arka duvarı indirilmez, tam kortikal mastoidektomiyi takiben fasiyal reses aracılığı ile posterior timpanotomi yapılarak orta kulağa girilir. Mastoidektomi yapılan timpanoplastiler bu grupta yer alır. Sınırları belirli, temizlenebilir kolesteatomlarda, mastoidi sklerotik olmayan ve osteit gelişmemiş olgularda bu teknik kullanılabilir (67, 76).

Açık teknik geniş görüş alanı ile epitimpanum ve kavum timpani yapılarına tam hakimiyet kurularak hastalığın tamamen temizlenmesine olanak sağlar. Daha güvenli operasyon yapılır, postoperatif komplikasyonların yönetilmesi daha rahattır. Ancak hayat boyu bakım ihtiyacı olması, oluşturulan kavitenin enfeksiyöz ajanlara açık olması, soğuk su ve hava ile temasta baş dönmesi olabilmesi ve işitmenin daha kötü olması ise bu tekniğin dezavantajlarını oluşturur. Kapalı tekniğin avantajları ise fonksiyonel sonuçlarının daha iyi olması, kavite probleminin olmaması, akıntı ve enfeksiyon riskinin daha düşük olması olarak sıralanabilir. Bu teknikte karşılaşılabilecek dezavantajlar ise daha dar bir görüş alanı sunması, fasiyal sinir-kemikçik zincir ve orta kafa çukuru durası gibi önemli yapıların yaralanma olasılığının daha yüksek olması şeklinde sıralanabilir. Ayrıca intakt kanalda ulaşılması güç olan ve görülemeyen bölgelerde rezidü ve/veya nüks kolesteatom olması ihtimali vardır (67, 76).

2.4.9. KOM Komplikasyonları

KOM komplikasyonları orta kulakta mevcut olan enfeksiyonun mastoid hücreler ve orta kulak mukoperiostiumunu aşması ile meydana gelir. KOM bu mukoperiosteal sınırı genellikle şu dört yol ile aşar;

- 1) Preforme yollar vasıtası ile yayılım: Oval ve yuvarlak pencereler, temporal kemikteki sütürlar, koklear ve vestibüler akuaduktus gibi normal olarak var olan anatomik açıklıklar yoluyla olan yayılımı ifade etmekle birlikte kafa travması ve geçirilmiş cerrahi sonrası meydana gelen defektler de preforme yollar oluşturabilir.
- 2) Kemik destrüksiyonuna bağlı doğrudan yayılım: Özellikle uzun süreli KOM'larda ve kolesteatomda izlenir. Kronik enflamasyonun destrükte ettiği kemik dokudan enfeksiyonun direkt yayılımı ile ortaya çıkar. Komplikasyonlara en sık neden olan yoldur.
- 3) Tromboflebit ve periflebit yolla yayılım: Orta kulak ve mastoidte mevcut enfeksiyon buralardaki küçük venüllerde tromboflebit meydana getirerek sağlam kemik boyunca yayılım gösterebilir. Venöz yapılar boyunca da (periflebit) yayılım gelişebilir.
- 4) Hematojen yayılım: Seyrek görülen bir yayılım yoludur. Bu yolla bazen beyin apseleri görülebilir.

KOM komplikasyonları ekstrakraniyal ve intrakraniyal komplikasyonlar olmak üzere iki ana başlıkta incelenir. Ekstrakraniyal komplikasyonlar da kendi içerisinde intratemporal ve ekstratemporal olarak alt başlıklarda sınıflandırılır. İntratemporal komplikasyonlar intrakraniyal komplikasyonlara göre daha sık izlenir. En sık görülen intratemporal komplikasyon akut mastoiditken en sık intrakraniyal komplikasyon menenjit'tir. Beyin apsesi ise en mortal komplikasyondur (77).

Ekstrakraniyal İntratemporal Komplikasyonlar

- A) Akut Mastoidit: Orta kulaktaki enfeksiyon genellikle mastoid havalı hücrelerde de enfeksiyona neden olarak akut mastoidit tablosunu meydana getirir. Akut mastoidit tablosunda mukozada enflamasyon ve ödem izlenir, kemikte erozyon genellikle görülmez. Ancak bu ödem ve enflamasyon halinin gerilememesi durumunda drenaj yollarında sekteye neden olur ve bu da enflamasyonun litik aktivitesini doğurarak kemik nekrozu meydana getirir. Bu duruma koalesan mastoidit denilir. Akut

mastoidit genellikle tedavi ile düzelen bir durumdur. Düzelme olmaz ise koalesan mastoidit veya subperiosteal apse gelişimi izlenebilir. Mastoiditte postauriküler ağrı, eritem, şişlik ve otoskopik muayenede kulak zarında bombeleşme ve hiperemi ile perforasyon varsa otore izlenir. Otoskopik bakıda DKY arka duvarda yumuşama ve çökme mastoiditin önemli bir bulgusudur (78).

- B) Labirentit: İç kulağın enflamatuar hastalığıdır. Hastalarda sensörinöral işitme kaybı ve şiddetli baş dönmesi şikayetlerine neden olur. Seröz ve süpüratif olarak iki klinik tipi vardır. Seröz labirentit geçici yakınma ve bulgular ile seyreder ve kalıcı fonksiyon kaybına neden olmaz. Süpüratif labirentit ise total ve kalıcı bir tablo açığa çıkartır.

Özellikle kolesteatomlu KOM hastalarında ortaya çıkabilen ve labirenti ilgilendiren bir diğer komplikasyon ise labirent fistülüdür. Antruma yakın yerleşimi nedeni ile en sık lateral semisirküler kanal etkilenimi izlenir. Labirent fistülü gelişen hastalar KOM semptomlarına ek olarak epizodik vertigo ataklarından yakınır. Yine bu hastalarda bazen yüksek sese maruziyet sonrası vertigo atağı izlenebilir bu da Tulio fenomeni olarak isimlendirilir. %70’inde fistül testi pozitif olsa da testin negatif olması labirent fistülünü dışlamaz (79).

- C) Fasiyal Paralizi: KOM’lu bir hastada fasiyal paralizi izlenmesi kolesteatoma işaret eder. Kolesteatomun neden olduğu kemik destrüksiyonu sonucu gelişen dehisans ve enflamasyonun bir sonucu olarak ortaya çıkar. En sık timpanik segment etkilenir (78).

- D) Petrözit: Temporal kemiğin petröz parçasının apeksindeki havalı hücrelerin orta kulakta gelişen enflamasyondan etkilenmesi ile ortaya çıkan çok nadir görülen bir komplikasyondur. Bu bölgenin etkilenimi sonucu hastalarda Gradenigo tarafından tanımlanmış olan; kulakta akıntı, retroorbital ağrı (ağrının sebebi trigeminal sinir ganglionunun irritasyonundan kaynaklanır) ve diplopi (VI. kranial sinir paralizisi nedeni ile) triadı ile karakterize Gradenigo Sendromu gelişebilir (78).

Ekstrakraniyal Ekstratemporal Komplikasyonlar

Postauriküler Apse: Subperiosteal apsenin en sık görülen formudur. Retroauriküler alanda periost ile kemik arasında apse formasyonu oluşumudur. Hastalarda aurikula anterior ve inferiora doğru itilmiştir ve kulak arkası kıvrım diffüz eksternal otitten farklı olarak kaybolmuştur. Palpasyon ile mastoid üzerinde fluktuasyon veren eritemli bir alan mevcuttur.

Tedavide drenaj ve antibiyoterapi uygulanır. İki gün içerisinde yanıt alınamazsa basit mastoidektomi endikasyonu vardır (80).

Bezold Apsesi: Mastoiditi takiben gelişen subperiostal apsenin mastoid apeks medialindeki sternokeidomastoid kas yapışma yerine ilerlemesi sonucu boyuna yayılımı ile gelişir. Boyunda ağrılı şişlik palpe edilir. Tedavi mastoidektomi ve servikal apsenin drenajıdır (81). Enfeksiyonun digastrik kas posterior karnına yayılımı ile Citelli apsesi meydana gelir.

Luc Apsesi: Enfeksiyöz akıntı nadir de olsa periostu deler ve temporal kas derininde birikir. DKY ile bu bölgeye ulaşan enfeksiyonun neden olduğu bu duruma Luc apsesi denilir.

İntrakraniyal Komplikasyonlar

Menenjit: En sık izlenen intrakraniyal komplikasyondur. KOM komplikasyonu olarak gelişen menenjitte enfeksiyon sıklıkla kemik ve duradaki hasar sonucu direkt olarak yayılır. Bunun yanında labirent fistülü de iç kulak aracılığı ile menenjite yol açabilir. KOM komplikasyonu olarak izlenen menenjit durada defekt sonucu enfeksiyöz patolojinin subaraknoid aralığa uzama riski bulunduğundan cerrahi olarak acil bir durumdur. Diğer intrakraniyal komplikasyonlar ile ayırıcı tanısında BT kullanılabilir (82, 83).

Epidural Apse: Epidural mesafe dura ile kemik arasında uzanan potansiyel bir boşluğu ifade eder. Mastoidit ve/veya kolesteatomun neden olduğu kemik erozyonu sonucu meydana gelir. Sıklıkla semptom vermeden sessiz seyreder.

Subdural Apse (Ampiyem): Dura ile araknoid arasındaki potansiyel boşlukta pürülan mayi birikimidir. Progresif seyredebilir ve sıklıkla kötü prognozludur. KOM semptomlarına ek olarak nörolojik bulgular izlenir. Beyin apsesi ile ayırıcı tanısında MRG yardımcı olabilir (82, 83).

Beyin Apsesi: Pik yaptığı iki yaş grubu pediatrik grup ve dördüncü dekattır. Otojenik beyin apselerinin büyük bir kısmı KOM sonucu gelişmekte olup bunun da büyük bölümünü kolesteatomlu KOM oluşturmaktadır. Sıklıkla tromboflebit ile retrograd yayılım sonucu gelişir. En sık temporal lob etkilenir. Klinik olarak başlangıç, latent, manifest ve terminal evreleri bulunur (82, 84).

Lateral Sinüs (Sigmoid) Tromboflebiti: KOM, kolesteatom ve koalesan mastoiditin neden olduğu kemik destrüksiyonu sonucu direkt perisinüzal alana enfeksiyöz materyallerin yayılımı veya mastoid emisser venlerin flebiti sonucu meydana gelebilir. Titreme ile ani

yükselen bacaklı ateş, hızlı şekilde kötüleşen şiddetli baş ağrısı, bulantı ve kusma şikayetleri izlenir. Postauriküler bölgede basmakla gode bırakan ödem ve hassasiyet ise Griesinger bulgusu olarak isimlendirilir ve mastoid emisser ven trombozunda izlenir.

Otitik Hidrosefali: Santral bir hadise olmaksızın artmış intrakraniyal basınç bulguları ve bunun yanında lomber ponksiyon ile yapılan beyin omurilik sıvısı (BOS) analizlerinin normal olması ile karakterize nadir görülen bir durumdur. Patofizyolojisi konusunda henüz fikir birliği sağlanamamış olmasına karşın sıklıkla lateral sinüs tromboflebiti sonrası görülür. Tanıda radyolojik olarak basınç artışına neden olan yer kaplayıcı bir patoloji veya menenjit olmadığı gösterilmelidir.

2.5. Enflamasyon Patofizyolojisi

Enflamasyon doku hasarı ve enfeksiyon gibi uyaranlar ile indüklenen adaptif bir yanıttır (85). Akut enflamasyon canlıyı enfeksiyöz patojenlere karşı koruyan ve doku hasarının onarılmasını tetikleyen bir olaydır. Akut süreç enflamatuvar yanıtı sonlandıran ve onarımı başlatan bir çözünme evresi ile kendini sınırlar (86). Bu akut durumu başlatan uyaran ortadan kalkmaz ve/veya çözünme aşaması sekteye uğrar ise kronik enflamasyon meydana gelir (87).

Akut enflamasyonda ilk müdahale elemanları nötrofillerdir. Normal koşullarda nötrofiller bağışıklık yanıtının büyümesini engellemek için nekrotik hücrelerin fagositozunu yapar ve ürettiği çeşitli sitokinler ile iyileşme/onarım fazının başlamasını tetikleyerek çözünme evresine geçişi destekler (88). Ancak son on yılda nötrofillerin kronik enflamasyonda önemli rolü olduğu gösterilmiştir (87).

Enflamatuvar yanıt en iyi şekilde patojen mikroorganizmalar (özellikle bakteriler) ile gelişen enfeksiyöz durumlar üzerinde açıklanmıştır. Enfeksiyonun ilk tanınmasına dokuda yerleşik histiositler ve mast hücreleri aracılık eder. Tanınma sonucunda çok sayıda ve çeşitli inflamatuvar mediatörler üretilir. Bu mediatörler dokuda lokal enflamatuvar bir eksüdat oluşturur ayrıca kapiller geçirgenliği arttırarak nötrofillerin olay yerine akışını sağlarlar. Geçiş nötrofillerin kapiller endotelinden süzülmesine olanak verirken eritrositlerin geçişini engeller bu da konjesyona ve dilatasyona neden olur. Etkilenen bölgeye ulaşan nötrofiller patojen mikroorganizmalar ile karşılaşma sonucu doğrudan temasla ya da dokuda yerleşik hücrelerin salgıladığı sitokinlerle aktive olurlar. Aktivasyon sonucunda nötrofiller; SOR'leri, proteinaz, elastaz ve katepsin içeren granüllerinin bu içeriklerini serbest bırakarak patojen mikroorganizmaları öldürmeye çalışır. Ancak bu oldukça güçlü mediatörleri içeren granül

deşarjı mikroorganizma ile konak doku ayrımı yapmaksızın görevini yerine getirdiğinden doku hasarı kaçınılmazdır (89).

Tüm bu mekanizmaların aktivasyonu ile ortaya çıkan akut enflamatuvar yanıtı başarılı olur ise enfeksiyöz patojenler ortadan kaldırılır ve fibroblastlar tarafından gerçekleştirilen onarım/remodeling başlar. Mediatör dengesi antiinflamatuvar lipoksinler tarafına kayar. Lipoksinler nötrofillerin müdahalesini engelleyerek remodeling/onarım fazının ana elamanlarının olaya dahil olmasını sağlar (90).

Eğer akut enflamatuvar yanıt başarılı sonuçlanmaz ise hadise devam eder ve hücresel içerikte değişiklikler gözlenir. Nötrofilik infiltrasyon yavaş yavaş yerini makrofajlar ve lenfoplazmositer hücrelere bırakır. Bu yeni hücresel mekanizmalar da yeterince etkili olamazsa granülomların ve üçüncül lenfoid dokuların oluşumunu içeren kronik enflamatuvar tablo ortaya çıkar (85).

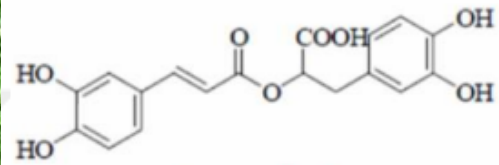
2.6. Rosmarinik Asit

RA ilk kez İtalyan kimyacılar Scarpati ve Oriente tarafından nane ailesi olarak tanımlanan Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyasına ait biberiye (*Rosmarinus officinalis*) bitkisinden üretilmiş ve ismini de bu bitkiye ithafen almıştır (8, 91). Maki florası içerisinde yer alır ve ülkemizde sıklıkla güney anadoluda bulunur. Halk arasında urum çiçeği, kuşdili ve akpüren gibi farklı isimlerle anılmaktadır (92). Biberiyenin yanı sıra *Mentha spicata* (kıvırcık nane), *Salvia officinalis* (ada çayı), *Melissa officinalis* (limon otu), *Thymus citriodorus* (limon kekiği) de bol miktarda rosmarinik asit içerir (93).

RA'nın kimyasal yapısı Albrecht tarafından aydınlatılmıştır (94). Bu kimyasal yapısına bakıldığında RA; kafeik asit ve 3,4-dihidroksifenillaktik asitin esteri olan bir fenolik asittir (7). Kafeik asit bölümü sadece fenilalaninden oluşurken 3,4 dihidroksifenillaktik asit kısmı ise sadece tirozinden meydana gelir. Kırmızı turuncu renkteki RA'nın molekül formülü $C_{18}H_{16}O_8$ 'dir. IUPAC ismi ise (2R)-3-(3,4-dihidroksifenil)-2-[(E)-3-(3,4-dihidroksifenil) prop-2-enoil] oksipropanik asittir (7, 95).

RA'nın lipit peroksidasyon inhibisyonu, antiinflamatuvar, nöroprotektif, antianjiyogenik, hepatoprotektif, antimikrobiyal, immünomodülatör, antidiyabetik, antialerjik, analjezik, antikanser ve oksidatif strese karşı koruyucu etkileri üzerinde aydınlatıcı çalışmalar mevcuttur (96-101).

Biberiye bitkisinin alternatif tıpta analjezik, diüretik, antispazmotik, ekspektoran, gaz giderici ve safra söktürücü gibi pek çok kullanımı mevcuttur (102). Halk arasında da farklı şekillerde ve amaçlarda kullanımı olsa da ülkemizde onaylanmış ve ruhsatlı bir ilaç formu bulunmamaktadır. Tüm bu özellikleriyle günümüzde halen pek çok çalışma için kaynak oluşturmaya devam etmektedir.



Şekil-8: Biberiye bitkisi ve rosmarinik asitin kimyasal yapısı (103).

2.7. Siprofloksasin

Siprofloksasin sentetik bir florokinolon derivesi olup tüm kinolonlar gibi bakterisidal etkilidir. Bakterisidal etkisi hızlı başlar ve uzun etkilidir. Direnç gelişimi çok sık değildir. Aminoglikozidler, beta-laktam antibiyotikler ve tetrasiklinler ile çapraz reaksiyon göstermez.

İlk florokinolonlar 1980'lerde üretilmiş olup oral kullanım formları şeklinde gram negatif mikroorganizmalara özellikle de *pseudomonas* türlerine etkili olduklarından sıkça kullanılmışlardır (104). Kinolon grubu antibiyotikler deoksiribonükleik asit (DNA) replikasyonu, transkripsiyonu ve rekombinasyonunda önemli rol alan DNA giraz (tip 2 topoizomeras) enzimini inhibe ederek bakteri hücre replikasyonunu engellerler (104).

Kinolonlar genellikle *Entorobakter*, *Pseudomonas* grubu bakteriler, *Hemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Legionella*, *Chlamidia* ve *M. avium intraselölare* dışındaki mikobakteriler gibi gram negatif mikroorganizmalar üzerine etkilidirler. Anaeroblara etkinlikleri ise zayıftır (105).

Önceki bölümlerde de bahsedildiği üzere KOM mikrobiyolojisinde en sık izole edilen patojen mikroorganizmalar *P. aeruginosa*, *Stafilokokus aureus* ve diğer bazı gram negatif

bakterilerdir. Bu mikroorganizmaların duyarlı olduğu antibiyotik seşimi tedavide önemli basamağı oluşturmaktadır. Ancak bu ajanlara karşı oral antibiyoterapinin orta kulakta yeterli derişime ulaşamadığından etkili olmadığı gősterilmiřtir (72). Bu yűzden KOM tedavisinde antibiyotiklerin topikal damla formlarının kullanımı yaygınlaşmıştır (106). Siprofloksasin hem gram negatif hem gram pozitif bakterilere őzellikle *Pseudomonas* ve metisilin dirençli *Stafilokok* türlerine karşı en güçlü kinolonlardandır (106). Siprofloksasinin KOM tedavisinde otorenin iyileşmesi ve *Pseudomonas* eradikasyonunda etkili olduğu gősterilmiřtir (107).

Yaygın olarak kullanılan topikal antibiyotikli kulak damlalarının sensörinöral işitme kaybı ve tüylű hücrelerde hasara yol aētıđı bazı hayvan çalışmalarında gősterilmiřtir (108). Ancak KOM tedavisinde topikal olarak kullanılan siprofloksasinin ototoksik etkisi olmadığı bildirilmiştir (109). Siprofloksasinin çocuklarda kullanımını sınırlayan en önemli yan etkisi kıkırdak hasarıdır (110). Buna karşılık bazı çalışmalarda ise bu yan etkiye rastlanmamıştır (111).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 27.07.2023 tarihli 2023/07-21 numaralı kararınca etik kurallarına uygun bulunarak onaylandıktan sonra Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yürütülmüştür.

Çalışmamız Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından TTU-2023-938 proje kodu ile desteklenmiştir.

3.1. Deney Hayvanları ve Çalışma Protokolü

Araştırmamızda Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarı'nda üretilen erişkin, ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen, sağlıklı, 30 adet Wistar albino cinsi dişi rat kullanıldı. Ratlar çalışma boyunca iyi havalandırılmış, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsüne uyulan, ortalama 21-24 °C sıcaklık ve ortalama %42 nem oranı sağlanan ortamda şeffaf plastik kafeslerde muhafaza edildi. Deney süresince standart yem ve temiz su ile herhangi bir kısıtlama olmaksızın ve rekabet ortamı oluşmadan ad libitum olarak beslenmeleri sağlandı. Çalışmamız süresince uygulanan tüm girişimler Helsinki deklarasyonunda belirtilen hayvan araştırmaları prensiplerine uyularak gerçekleştirildi. Toplamda 30 ratın 60 kulağı değerlendirildi. Çalışmaya başlamadan önce tüm hayvanlara otomikroskopik muayene yapılarak DKY ve timpanik membranları varsa buşon ve debrisler aspiratör ve/veya küret yardımı ile temizlenerek değerlendirildi. Hiçbir ratta patoloji saptanmadı. Tüm hayvanlar çalışma boyunca günlük kilo kaybı, dehidratasyon bulguları, anormal davranış, düşkün görünüm ve rutin sağlık bakımı açısından takip edildi.

Araştırmada anestezi için ketamin hidroklorür (Ketalar flk, Pfizer İlaç, Türkiye) ve ksilazin hidroklorür (Rompun %2, Bayer İlaç, Türkiye) kullanıldı. Rosmarinik asit etkinliğinin karşılaştırılabilmesi için siprofloksasin (Siprogut %0,3 steril kulak damlası, Bilim İlaç, Türkiye) kullanıldı. Etkinliğinin araştırılması amacı ile rosmarinik asit (536954-5 g, %96 Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany) kullanıldı.

KOM oluşturulması ve topikal tedavi işlemleri ketalar anestezisi altında gerçekleştirildi. Ketalar anestezisi bir yardımcı beraberliğinde ratlar sabit tutularak intraperitoneal (İP) yolla uygulandı. Ketalar anestezisi, İP olarak ketamin hidroklorür 40 mg/kg (Ketalar flk, Pfizer İlaç, Türkiye) ve ksilazin hidroklorür 10 mg/kg (Rompun %2, Bayer İlaç, Türkiye) verilerek

sağlandı. Anestezi dozu tekrarı gerektiğinde, ilk dozun 1/3'ü kadar ketamin İP olarak uygulandı. Girişim yapılması için uygun anestezi döneminin ortaya çıkması beklendi. Parmak kısırtma yanıtının alınmadığı dönem uygulamalar için uygun anestezi dönemi olarak kabul edildi.

Ketalar anestezisi sonrası uygun anestezi dönemi ortaya çıktığına kanaat getirildikten sonra 30 ratın 60 kulağı otomikroskop altında incelendi ve ratlar rastgele 6'şar denekten oluşan 5 gruba ayrıldı. Çalışma grupları şu şekilde belirlendi;

1. Grup (Sağlıklı Kontrol Grubu): Bu grupta yer alan 6 adet rat bilateral otomikroskopik muayenenin ardından herhangi bir işlem yapılmadan 14 gün boyunca izleme alınarak sağlıklı kontrol grubu oluşturuldu.
2. Grup (KOM İzlem Grubu): Bu grupta yer alan 6 adet rat bilateral otomikroskopik muayenenin ardından her iki kulakta KOM modeli oluşturularak 14 günlük tedavisiz izleme alındı.
3. Grup (KOM+Topikal siprofloksasin tedavisi verilen grup): Bu grupta yer alan 6 adet rat bilateral otomikroskopik muayene sonrası her iki kulakta KOM modeli oluşturulmasının ardından günde bir kez, her bir kulağa 0,1 ml topikal siprofloksasin damla tedavisi ile 14 günlük tedavi takibine alındı.
4. Grup (KOM+Topikal rosmarinik asit ve siprofloksasin kombine tedavisi verilen grup): Bu grupta yer alan 6 adet rat bilateral otomikroskopik muayene sonrası her iki kulakta KOM modeli oluşturulmasının ardından günde bir kez, her bir kulağa 0,1 ml topikal siprofloksasin damla ve 0,1 ml uygun şekilde hazırlanmış rosmarinik asit çözeltisi damlatılarak 14 günlük tedavi izlemine alındı.
5. Grup (KOM+Topikal rosmarinik asit tedavisi verilen grup): Bu grupta yer alan 6 adet rat bilateral otoskopik muayene sonrası her iki kulakta KOM modeli oluşturuldu. Ardından her bir kulağa günde bir kez 0,1 ml rosmarinik asit çözeltisi damlatılarak 14 günlük tedavi takibine alındı.

Tüm gruplara 14 günlük takibin ardından yüksek doz ketalar anestezisinin ardından dekapitasyon yapıldı. Dekapite edilen ratlara orta kulak mukozası intakt olarak korunarak bilateral temporal kemik diseksiyonu yapıldı ve temporal kemikler histopatolojik değerlendirme için %10'luk formaldehit solüsyonu içinde tespate alındı.



Şekil-9: Ad Libitum beslenme ve şeffaf plastik kafesler içerisinde takipli deney grupları (Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarı)

3.2. Kronik Otit Modeli Oluşturulması

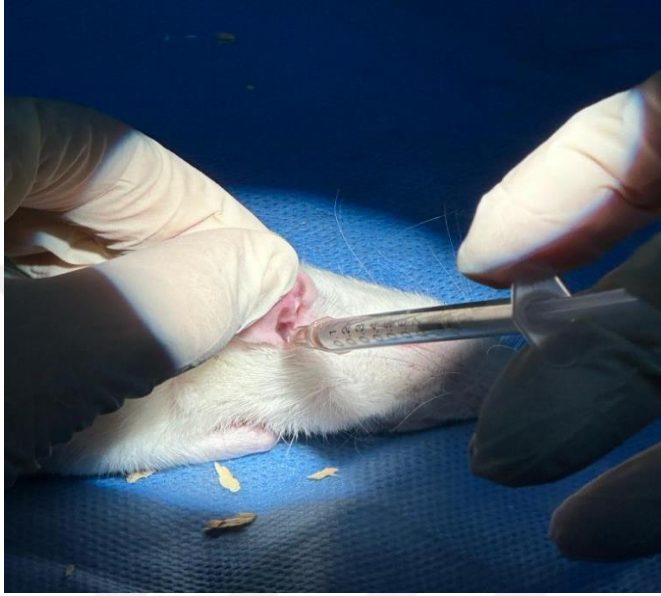
Önceki bölümlerde de bahsedildiği üzere KOM'da en sık izlenen patojen mikroorganizmaların başında *P. aeruginosa* gelmektedir. Biz de çalışmamızda ratlarda KOM modeli oluşturabilmek için *Pseudomonas* suşlarından yararlandık.

KOM modeli oluşturulmak üzere kullanılacak olan *P. aeruginosa* suşları Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Mengücek Gazi Eğitim Araştırma Hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarında uygun ortam ve şartlarda geliştirilmiş, uygulama günü canlılığından emin olunan suşlar deneyde kullanılmıştır.

Ratlarda KOM modeli oluşturulması amacı ile ketalar anestezisi altında, otomikroskopik bakıda, dental enjektör yardımı ile sıçanların bilateral timpanik membranları yaklaşık %50 oranında perfore edildi. Ardından 0,1 ml 1×10^8 *P. aeruginosa* suşu rat orta kulak kavitelerine dental enjektör yardımı ile inoküle edildi.

İlk uygulamadan 7 gün sonra yine ketalar anestezisi altında otomikroskopik bakı sonrası tüm ratların bilateral kulaklarına aynı işlem uygulandı ve denekler tedavisiz izleme alındı.

Son inokülasyonu takiben 7 gün sonra ratlar ketalar anestezi altında otomikroskoik bakıya alındı ve tüm deneklerin her iki kulaklarında perforasyon ile dış kulak yolundan pürülan akıntı görüldü. Kültürlerde *P. aeruginosa* izole edildi. Bu bulgular KOM lehine değerlendirildi.



Şekil-10: KOM modeli oluşturulması.

3.3. Topikal Tedavi Uygulaması

Rosmarinik asit (536954-5 g, %96 Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany) % 0,9 sodyum klorür (NaCl) içerisinde çözdürülerek %2' lik rosmarinik asit solüsyonu hazırlandı.

Ketalar anestezisi uygulanan ratlara otomikroskopi altında günlük 0,1 ml %2'lik rosmarinik asit solüsyonu topikal olarak dış kulak yolundan uygulandı ve ilaç verilen kulak yukarıda kalacak şekilde 15 dakika beklenerek diğer kulak için de aynı işlemler tekrarlandı. Yine aynı şekilde siprofloksasin (Siprogut %0,3 steril kulak damlası, Bilim İlaç, Türkiye) de 0,1 ml topikal olarak dış kulak yolundan her kulağa uygulanarak 15'er dakika beklendi.



Şekil-11: Topikal tedavi uygulaması.

3.4. Histopatolojik İnceleme

Dekapitasyonu takiben elde edilen temporal kemikler %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Daha sonra örnekler %10'luk formik asit çözeltisi içinde dekalsifiye edildi. Dekalsifiye edilen dokular diseke edilerek parafine gömüldü. Elde edilen parafin bloklarından uygun kalınlıkta (5 mikrometre) kesitler alındı ve Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskobu altında incelendi. Histolojik olarak timpanik membran kalınlıkları ve orta kulak mukozaları;

- Nötrofil aktivitesi (- aktivite yok, + hafif; lamina propriada tek tek dağılan az sayıda nötrofil, ++ şiddetli; lamina propriada gruplar oluşturan ve epitele giriş gösteren nötrofil varlığı),
- Kronisite (- aktivite yok, + hafif; lamina propriada tek tek dağılan az sayıda lenfoplazmositer hücre, ++ belirgin; lamina propriada gruplar halinde dağılan lenfoplazmositer hücre),
- Histiosit varlığı (- yok, + var; lamina propriada az sayıda tek tek dağılan histiosit varlığı, ++ belirgin; lamina propriada gruplar halinde dağılan ve küme oluşturan histiosit varlığı),
- Keratin birikimi (- parakeratoz var, keratin normal, + var; keratin birikimi epitel tabakasının bir iki katı kadar),

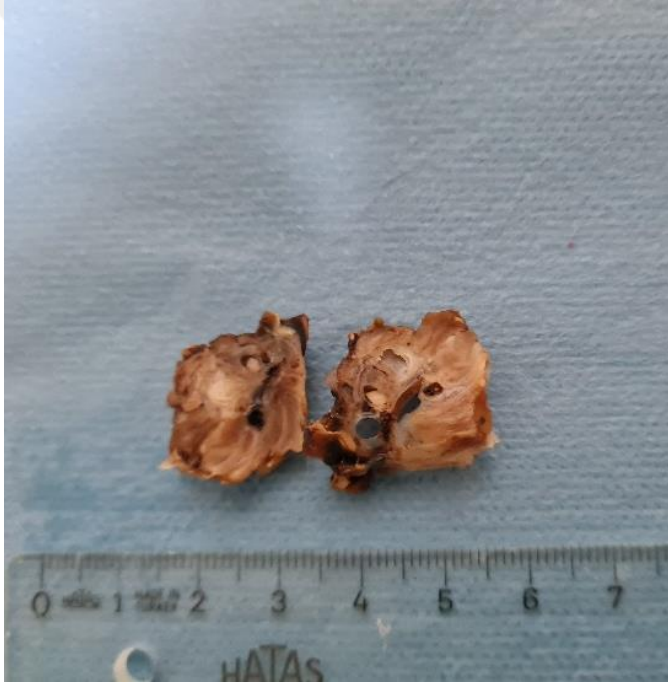
- Subepitelyal ödem (- yok, + hafif, ++ şiddetli),
- Konjesyon (- yok, + hafif; x40 büyütmede 1 kapillerde dilatasyon, ++ orta; x40 büyütmede 2-3 kapillerde dilatasyon, +++ şiddetli; x40 büyütmede 3 ve daha fazla kapillerde dilatasyon),
- Fibroblast proliferasyonu (- yok, + hafif, ++ şiddetli),
- Neovaskülarizasyon (- yok, + hafif; x40 büyütmede 1-3 arası vasküler yapı izlenmesi, ++ orta; x40 büyütmede 3-6 arası vasküler yapı izlenmesi, +++ şiddetli x40 büyütmede 6 ve üzeri vasküler yapı izlenmesi),
açısından aynı patolog tarafından semikantitatif olarak değerlendirildi.

3.5. İstatistiksel Analiz

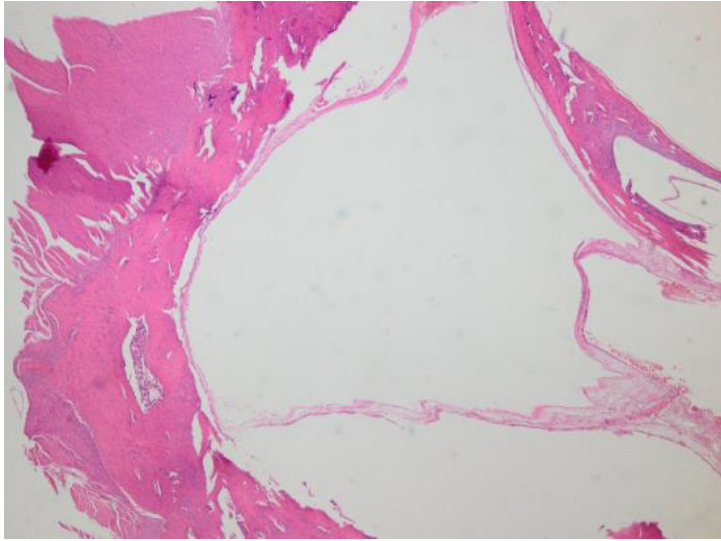
Çalışmamızın istatistiksel analizi Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 21.0 (Armonk, NY: IBM Corp.) kullanılarak yapıldı. Çalışmadan elde edilen veriler ortanca (medyan) olarak ifade edildi. Sürekli değişkenler için dağılımın normalliğini test etmek amacı ile Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Histopatolojik analizde gruplar arası farklılıklar parametrik olmayan testlerden Kruskal-Wallis testi ile, fark oluşturan grup ise Mann-Whitney U testi ile belirlendi. $p < 0,05$ değerler anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışmanın deney aşaması 01.08.2023-01.09.2023 tarihleri arasında Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yürütülmüştür. Toplam 30 adet Wistar albino cinsi erişkin dişi rat (60 kulak) randomize 5 gruba ayrıldı. Sağlıklı kontrol grubu hariç diğer gruplarda KOM modeli oluşturulmasını takiben bir grup KOM izlem grubu olarak ayrıldı ve kalan 3 grup tedavi altında izlendi. Çalışma boyunca hayvan kaybı yaşanmadı. Araştırma sonunda otomikroskopik muayeneyi takiben tüm ratlar dekapite edildi ve temporal kemikleri orta kulak mukozaları intakt olarak diseke edilerek histopatolojik incelemeye alındı. Orta kulak mukozaları ve timpanik membranlar; nötrofil aktivitesi, kronisite, histiosit varlığı, keratin birikimi, subepitelyal ödem, konjesyon, fibroblast proliferasyonu, neovaskülarizasyon ve timpanik membran kalınlığı açısından incelendi.



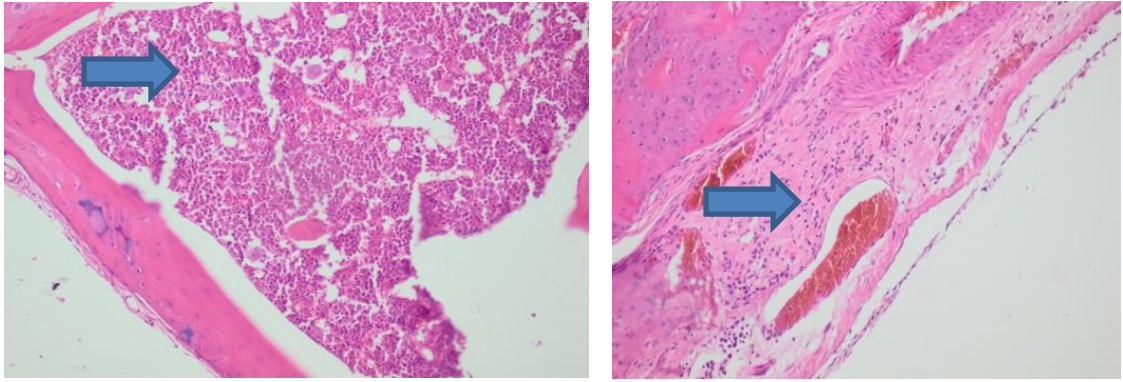
Şekil-12: Rat temporal kemiklerinin makroskopik görüntüsü



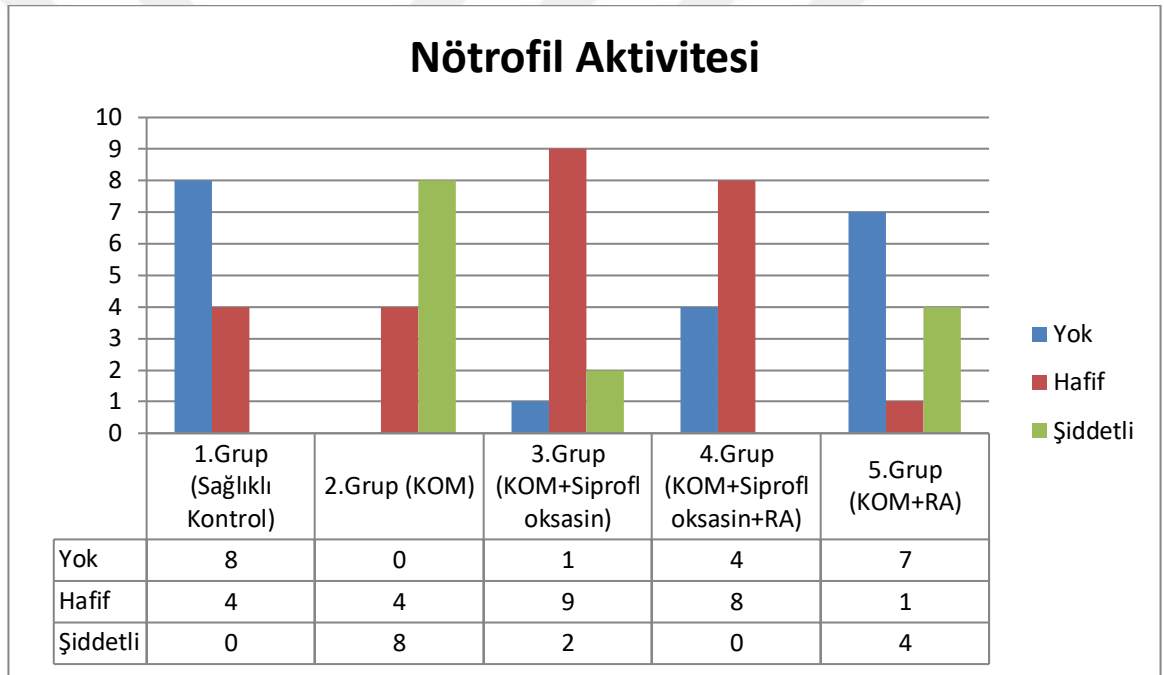
Şekil-13: Rat orta kulak mukozasının normal mikroskopik görüntüsü (Sol: x40 H&E)

4.1. Nötrofil Aktivitesi

Çalışma grupları nötrofil aktivitesi açısından incelendiğinde histopatolojik olarak, - (aktivite yok), + (hafif; lamina propriada tek tek dağılan az sayıda nötrofil), ++ (şiddetli; lamina propriada gruplar oluşturan ve epitele giriş gösteren nötrofil varlığı) olarak derecelendirildi. 1. grupta (sağlıklı kontrol grubu) toplam 6 ratın 12 kulağının 8'inde nötrofil aktivitesi görülmedi (%66,7), 4 kulakta hafif derecede nötrofil aktivitesi (%33,3) izlendi. 2. grupta (KOM grubu) toplam 6 ratın 12 kulağının 4'ünde hafif derecede nötrofil aktivitesi (%33,3), 8 kulakta şiddetli derecede nötrofil aktivitesi (%66,7) izlendi. 3. grupta (KOM+siprofloksasin tedavi grubu) toplam 6 ratın 12 kulağının 1'inde nötrofil aktivitesi görülmedi (%8,3), 9 kulakta hafif derecede nötrofil aktivitesi (%75), 2 kulakta şiddetli derecede nötrofil aktivitesi (%16,7) izlendi. 4. grupta (KOM+siprofloksasin+RA tedavi grubu) toplam 6 ratın 12 kulağının 4'ünde nötrofil aktivitesi görülmedi (%33,3), 8 kulakta ise hafif derecede nötrofil aktivitesi (%66,7) izlendi. 5. grupta (KOM+RA tedavi grubu) toplam 6 ratın 12 kulağının 7'sinde nötrofil aktivitesi görülmedi (%58,3), 1 kulakta hafif derecede nötrofil aktivitesi (%8,3), 4 kulakta ise şiddetli nötrofil aktivitesi (%33,3) izlendi.



Şekil-14: Şiddetli (sol) ve hafif (sağ) nötrofilik infiltrasyonunun mikroskopik görüntüsü (Mavi Oklar) (x200 H&E)

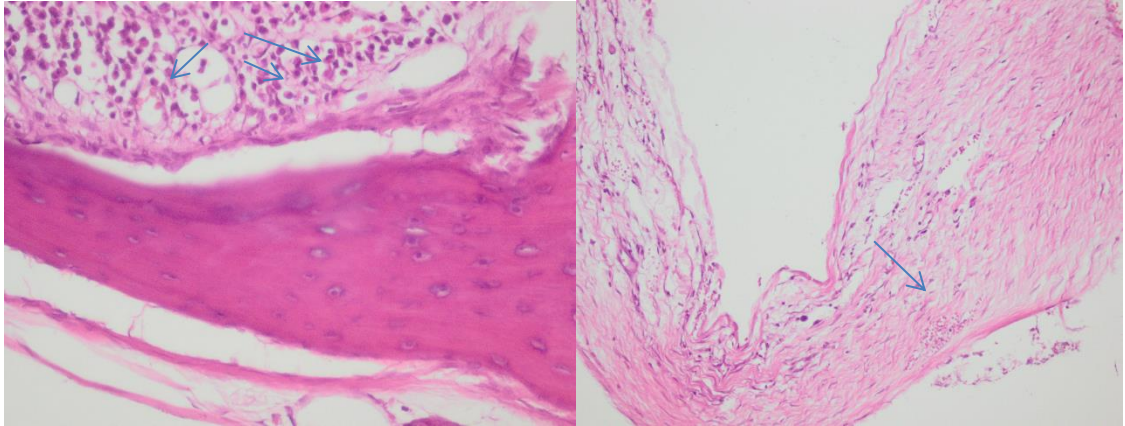


Şekil-15: Nötrofil aktivasyonunu gösteren grafik

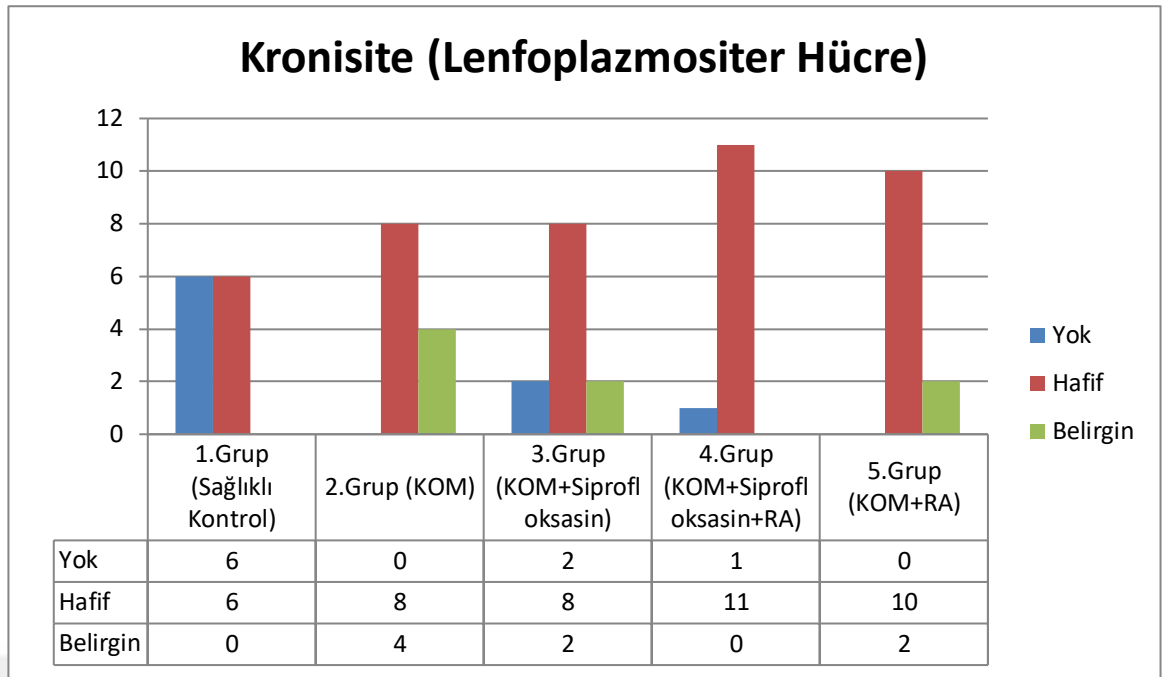
Yapılan gruplar arası karşılaştırmalar sonucunda; 2'inci grubun nötrofil aktivitesi oranı grup 1'e göre anlamlı oranda artmış bulundu ($p < 0,001$). Grup 2'nin nötrofil aktivitesi oranı grup 4'e göre anlamlı oranda artmış bulundu ($p: 0,01$). Grup 2'nin nötrofil aktivitesi oranı grup 5'e göre anlamlı oranda artmış bulundu ($p: 0,02$). Grup 3'ün nötrofil aktivitesi şiddeti grup 2'ye göre sayısal olarak azalma göstermiş olup istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

4.2. Kronisite

Çalışma grupları kronisite açısından histopatolojik olarak, - (aktivite yok), + (hafif; lamina propriada tek tek dağılan az sayıda lenfoplazmositer hücre), ++ (belirgin; lamina propriada gruplar halinde dağılan lenfoplazmositer hücre) olarak derecelendirildi. 1. grupta (sağlıklı kontrol grubu) 6 ratın toplam 12 kulağının 6'sında kronisite bulgularının izlenmediği (%50), 6 kulakta hafif derece kronisite bulguları izlendiği (%50) görüldü. 2. grupta (KOM grubu) 6 ratın 12 kulağının 8'inde hafif derecede kronisite bulgularının izlendiği (%66,7), 4 kulakta ise belirgin şekilde kronisite bulgularının izlendiği (%33,3) görüldü. 3. grupta (KOM+siprofloksasin tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 2'sinde kronisite bulgularının izlenmediği (%16,7), 8 kulakta hafif derecede kronisite bulgularının izlendiği (%66,7), 2 kulakta belirgin kronisite bulgularının izlendiği (%16,7) görüldü. 4. (KOM+siprofloksasin+RA tedavi grubu) grupta 6 ratın 12 kulağının 1'inde kronisite bulgularının izlenmediği (%8,3), 11 kulakta hafif derecede kronisite bulgularının izlendiği (%91,7) görüldü. 5. grupta (KOM+RA tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 10'nunda hafif kronisite bulgularını izlendiği (%83,3), 2 kulakta belirgin kronisite bulgularının izlendiği (%16,7) görüldü.



Şekil-16: Lenfoplazmositer hücre infiltrasyonunu gösteren mikroskopik görüntü (Mavi Oklar) (x400 H&E)

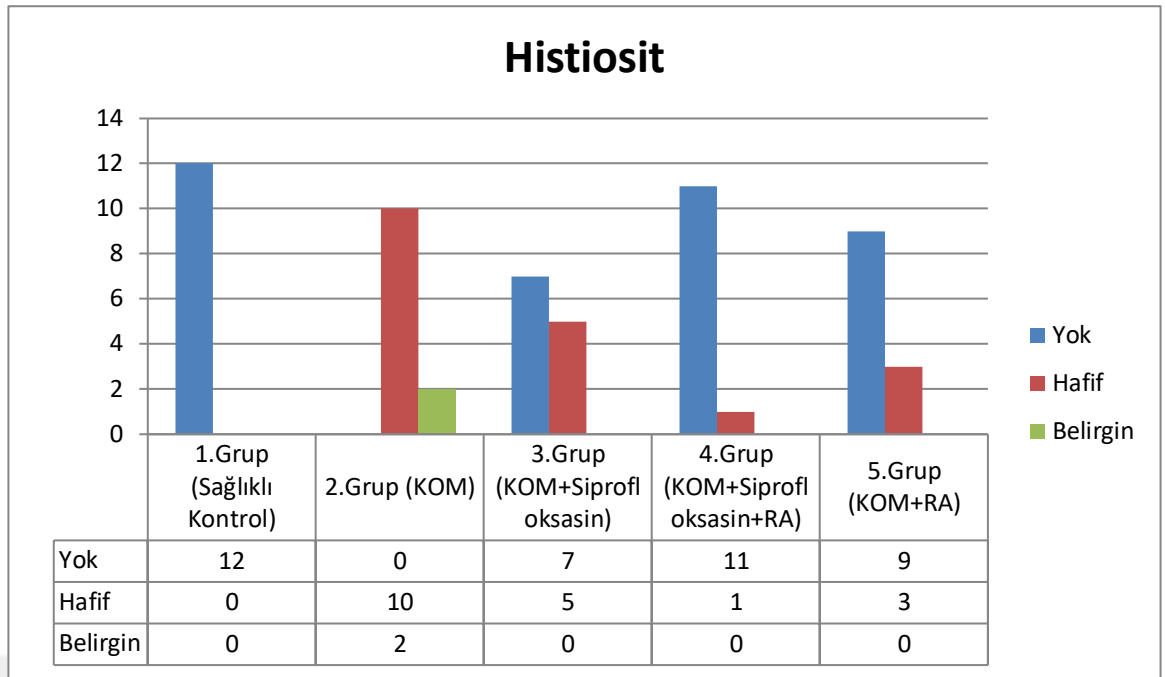


Şekil-17: Kronisite (lenfoplazmositer hücre infiltrasyonu)’yi gösteren grafik

Yapılan gruplar arası karşılaştırmalar sonucunda 2’inci grubun kronisite oranı 1’inci gruba göre anlamlı oranda artmış bulundu ($p; 0,02$). Tedavi gruplarının sayısal oranına bakıldığında KOM grubuna göre kronisite şiddetinde azalma izlenmiş olsada istatistiki olarak anlamlı fark izlenmedi.

4.3. Histiosit

Çalışma grupları histiosit varlığı açısından histopatolojik olarak, - (yok), + (var; lamina propriada tek tek dağılan az sayıda histiosit), ++ (belirgin; lamina propriada gruplar halinde ve küme oluşturan histiositler) olarak skorlandı. 1. grupta (sağlıklı kontrol grubu) 6 ratın 12 kulağının histopatolojik incelemesinde histiosit izlenmedi. 2. grupta (KOM grubu) 6 ratın 12 kulağının 10’unda histiosit izlendiği (%83,3), 2 kulakta ise belirgin histiosit varlığı izlendiği (%16,7) görüldü. 3. grupta (KOM+siprofloksasin tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 7’sinde histiosit bulunmadığı (%58,3), 5 kulakta ise histiosit izlendiği (%41,7) görüldü. 4. grupta (KOM+siprofloksasin+RA tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 1’inde histiosit izlenirken (%8,3), 11 kulakta histiosit izlenmediği (%91,7) görüldü. 5. grupta (KOM+RA tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 3’ünde histiosit izlenirken (%25), 9 kulakta histiosit izlenmediği (%75) görüldü.

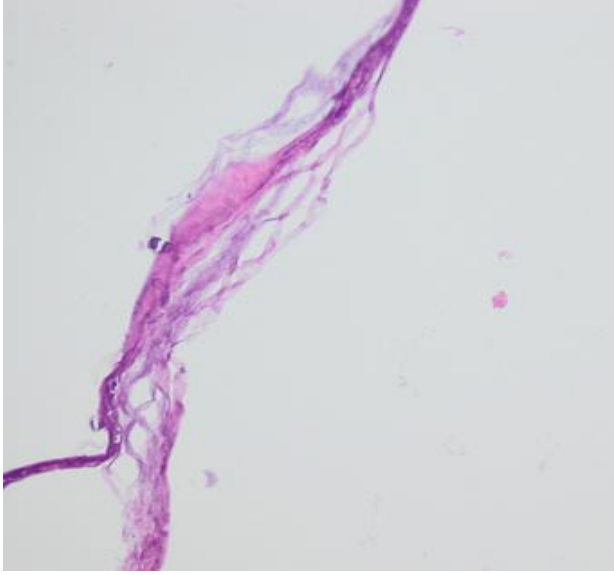


Şekil-18: Histiosit varlığını gösteren grafik

Gruplar arasında yapılan karşılaştırma analizleri sonucunda; 2'inci grupta histiosit varlığı 1'inci gruba göre anlamlı oranda yüksek bulundu ($p < 0,001$). 2'inci grupta histiosit varlığı 3'üncü gruba göre anlamlı oranda yüksek bulundu ($p: 0,01$). 2'inci grupta histiosit varlığı 4'üncü gruba göre anlamlı oranda yüksek bulundu ($p < 0,001$). 2'inci grubun histiosit varlığı 5'inci gruba göre anlamlı oranda yüksek bulundu ($p: 0,001$). KOM grubunda histiosit diğer tüm gruplara oranla anlamlı oranda yüksek bulundu.

4.4. Keratin Birikimi

Çalışma grupları keratin birikimi açısından incelendiğinde histopatolojik olarak, - (parakeratoz var, keratin normal), + (var; keratin birikimi epitel tabakasının bir iki katı kadar) olarak derecelendirildi. Çalışma gruplarımızda sadece 2. grupta (KOM grubu) 6 ratın 12 kulağının 5'inde ve 3. grupta (KOM+siprofloksasin tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 2'sinde keratin birikimi izlendi. Diğer gruplardaki deneklerin histopatolojik incelemelerinde keratin debrisleri görülmedi.

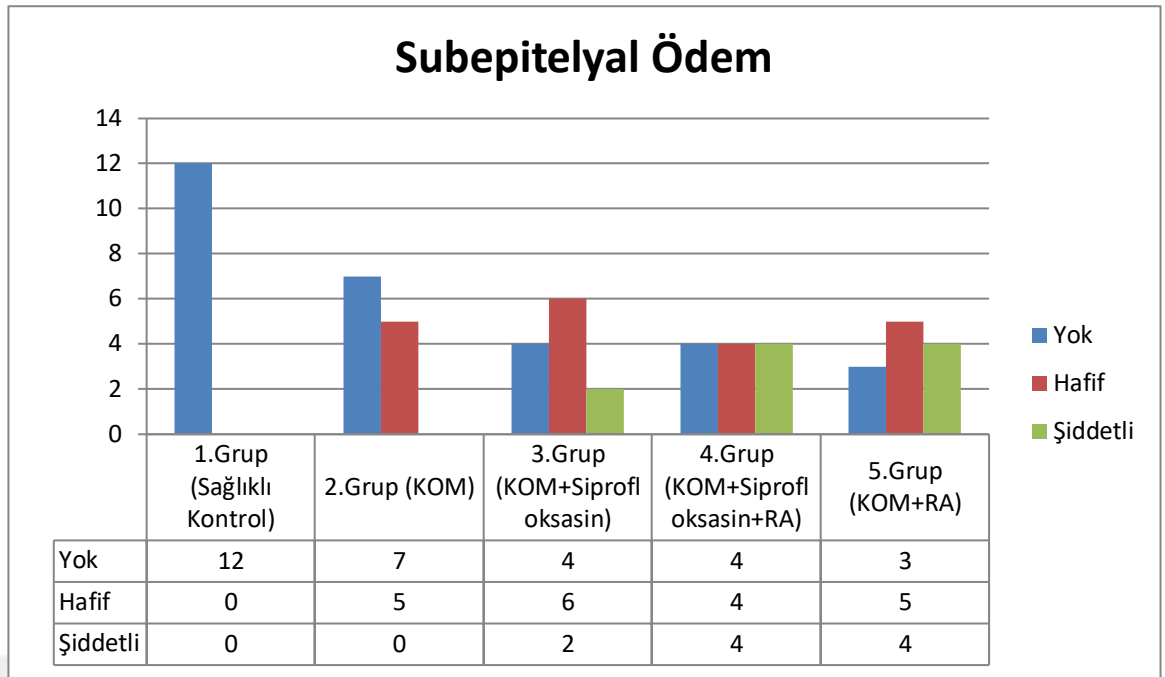


Şekil-19: Parakeratoz alanı mikroskopik görüntüsü (x200 H&E)

Gruplar arasında yapılan karşılaştırma analizlerinde ise 2'inci grupta keratin birikimi 1'inci gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p: 0,01). 2'inci grubun keratin birikimi 4'üncü gruba oranla anlamlı oranda artmış bulundu (p: 0,01). 2'inci grubun keratin birikimi 5'inci gruba göre anlamlı oranda yüksek bulundu (p: 0,01).

4.5. Subepitelyal Ödem

Çalışma grupları subepitelyal ödem açısından incelendiğinde histopatolojik olarak, - (yok), + (hafif), ++ (şiddetli) olarak semikantitatif olarak derecelendirildi. 1. grupta (sağlıklı kontrol grubu) 6 ratın 12 kulağının histopatolojik incelemesinde subepitelyal ödem izlenmedi. 2. grupta (KOM grubu) 6 ratın 12 kulağının 7'sinde subepitelyal ödem izlenmedi (%58,3), 5 kulakta ise hafif derecede subepitelyal ödem izlendiği (%41,7) görüldü. 3. grupta (KOM+siprofloksasin tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 4'ünde subepitelyal ödem izlenmedi (%33,3), 6 kulakta hafif derecede subepitelyal ödem izlendi (%50), 2 kulakta ise şiddetli subepitelyal ödem izlendiği (%16,7) görüldü. 4. grupta (KOM+siprofloksasin+RA tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 4'ünde subepitelyal ödem izlenmedi (%33,3), 4 kulakta hafif derecede subepitelyal ödem izlendi (%33,3), 4 kulakta ise şiddetli subepitelyal ödem izlendiği (%33,3) görüldü. 5. grupta (KOM+RA tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 3'ünde subepitelyal ödem izlenmedi (%25), 5 kulakta hafif derecede subepitelyal ödem izlendi (%41,6), 4 kulakta ise şiddetli subepitelyal ödem izlendiği (%33,4) görüldü.



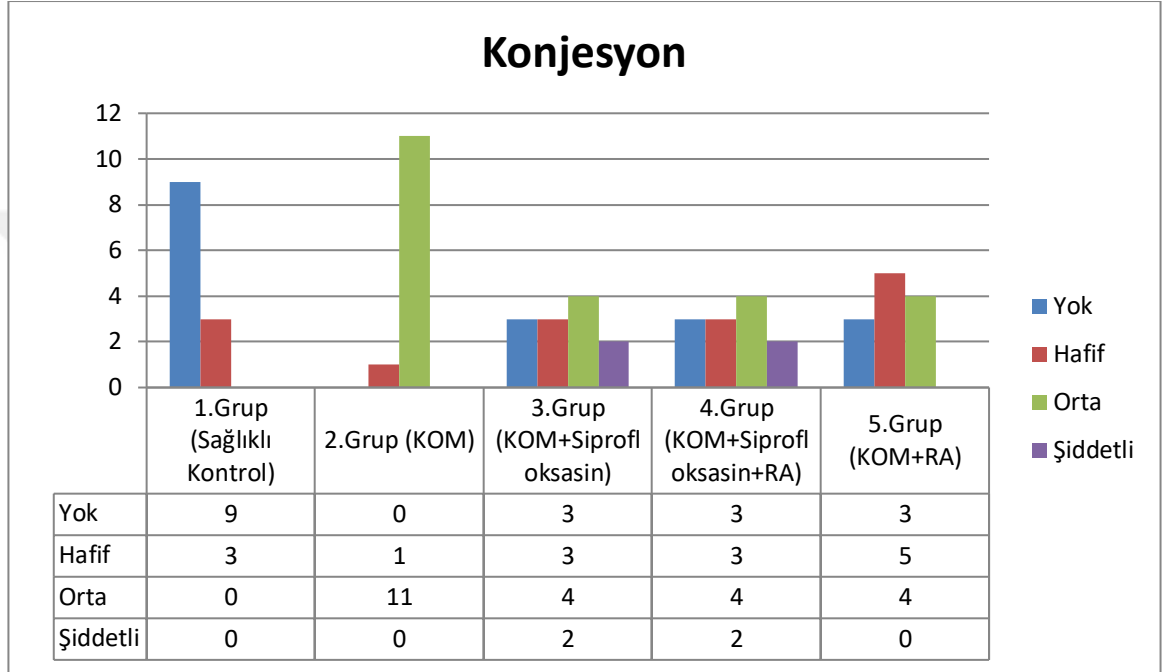
Şekil-20: Subepitelyal ödem bulgularını gösteren grafik

Gruplar arasında yapılan karşılaştırma analizleri sonucunda; 3'üncü grupta subepitelyal ödem 1'inci gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p: 0,03). 4'üncü grupta subepitelyal ödem 1'inci gruba göre anlamlı oranda yüksek bulundu (p: 0,009). 5'inci grupta subepitelyal ödem 1'inci gruba göre anlamlı oranda yüksek bulundu (p: 0,003). KOM grubunda da subepitelyal ödem sayısal oran olarak sağlıklı gruba göre fazla izlenmiş olsada istatistiki olarak anlamlı fark bulunmadı.

4.6. Konjesyon

Çalışma grupları konjesyon açısından incelendiğinde histopatolojik olarak, - (konjesyon yok), + (hafif derecede konjesyon; x40 büyütmede 1 kapillerde dilatasyon), ++ (orta derecede konjesyon; x40 büyütmede 2-3 kapillerde dilatasyon), +++ (şiddetli konjesyon; x40 büyütmede 3 ve daha fazla kapillerde dilatasyon) olarak derecelendirildi. 1. grupta (sağlıklı kontrol grubu) 6 ratın 12 kulağının 9'unda konjesyon izlenmedi (%75), 3 kulakta ise hafif derecede konjesyon izlendiği (%25) görüldü. 2. grupta (KOM grubu) 6 ratın 12 kulağının 1'inde hafif derecede konjesyon izlendi (%8,3), 11 kulakta orta derecede konjesyon izlendiği (%91,7) görüldü. 3. grupta (KOM+siprofloksasin tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 3'ünde konjesyon izlenmedi (%25), 3 kulakta hafif derecede konjesyon izlendi (%25), 4 kulakta orta derecede konjesyon izlendi (%33,3), 2 kulakta ise şiddetli derecede konjesyon izlendiği

(%16,7) görüldü. 4. grupta (KOM+siprofloksasin+RA tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 3'ünde konjesyon izlenmedi (%25), 3 kulakta hafif derecede konjesyon izlendi (%25), 4 kulakta orta derecede konjesyon izlendi (%33,3), 2 kulakta ise şiddetli derecede konjesyon izlendiği (%16,7) görüldü. 5. grupta (KOM+RA tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 3'ünde konjesyon izlenmedi (%25), 5 kulakta hafif derecede konjesyon izlendi (%41,6), 4 kulakta ise orta derecede konjesyon izlendiği (%33,4) görüldü.

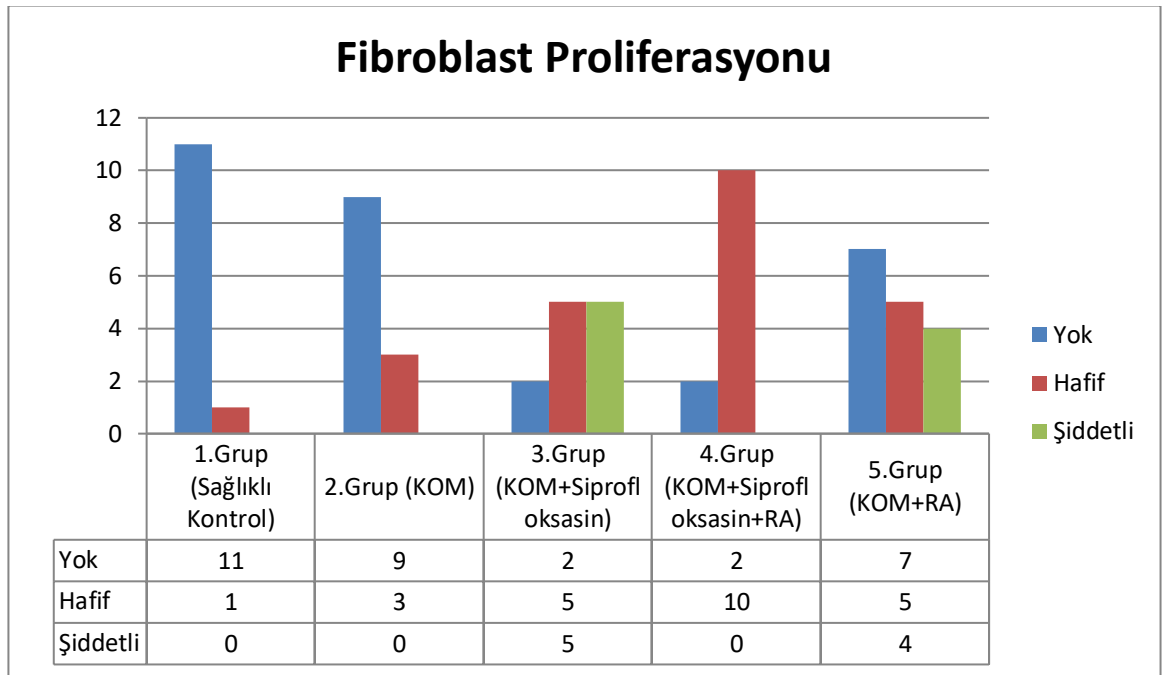


Şekil-21: Konjesyon bulgularını gösteren grafik

Gruplar arasında yapılan karşılaştırma analizlerinde; 2'inci grupta konjesyon oranı 1'inci gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,001$). 3'üncü grupta konjesyon oranı 1'inci gruba göre anlamlı oranda yüksek bulundu ($p: 0,031$). 4'üncü grubun konjesyon oranı 1'inci gruba kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu ($p: 0,031$).

4.7. Fibroblast Proliferasyonu

Çalışma grupları fibroblast proliferasyonu açısından incelendiğinde histopatolojik olarak, - (fibroblast proliferasyonu yok), + (hafif fibroblast proliferasyonu), ++ (şiddetli fibroblast proliferasyonu) olarak semikantitatif olarak derecelendirildi. 1. grupta (sağlıklı kontrol grubu) 6 ratın 12 kulağının sadece 1'inde hafif derecede fibroblast proliferasyonu izlendiği (%8,3), 11 kulakta ise fibroblast izlenmediği (%91,7) görüldü. 2. grupta (KOM grubu) 6 ratın 12 kulağının 9'unda fibroblast proliferasyonu izlenmediği (%75), 3 kulakta ise hafif derecede fibroblast proliferasyonu izlendiği (%25) görüldü. 3. grupta (KOM+siprofloksasin tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 2'sinde fibroblast proliferasyonu izlenmediği (%16,7), 5 kulakta hafif derecede fibroblast proliferasyonu izlendiği (%41,6), 5 kulakta ise şiddetli fibroblast proliferasyonu izlendiği (%41,6) görüldü. 4. grupta (KOM+siprofloksasin+RA tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 2'sinde fibroblast proliferasyonu bulunmadığı (%16,7), 10 kulakta ise hafif derecede fibroblast proliferasyonu bulunduğu (%83,3) görüldü. 5. grupta (KOM+RA tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 7'sinde fibroblast proliferasyonu bulunmadığı (%58,3), 5 kulakta ise hafif derecede fibroblast proliferasyonu izlendiği (%41,7) görüldü.

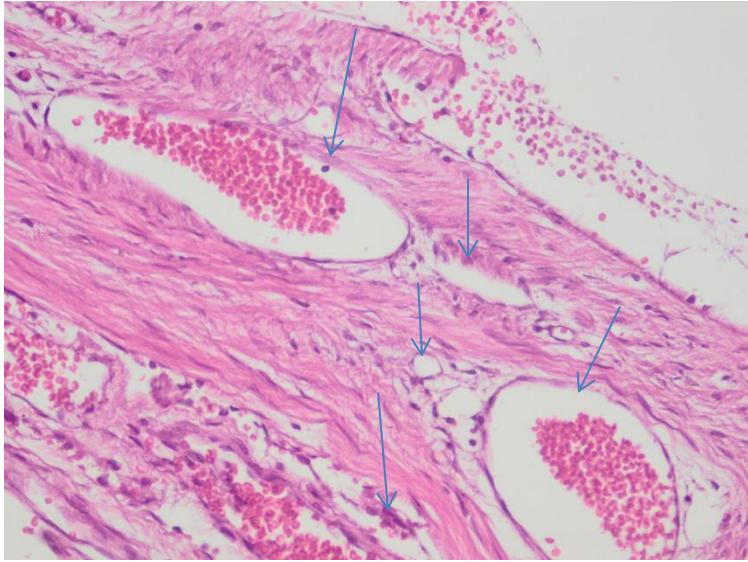


Şekil-22: Fibroblast proliferasyonunu gösteren grafik

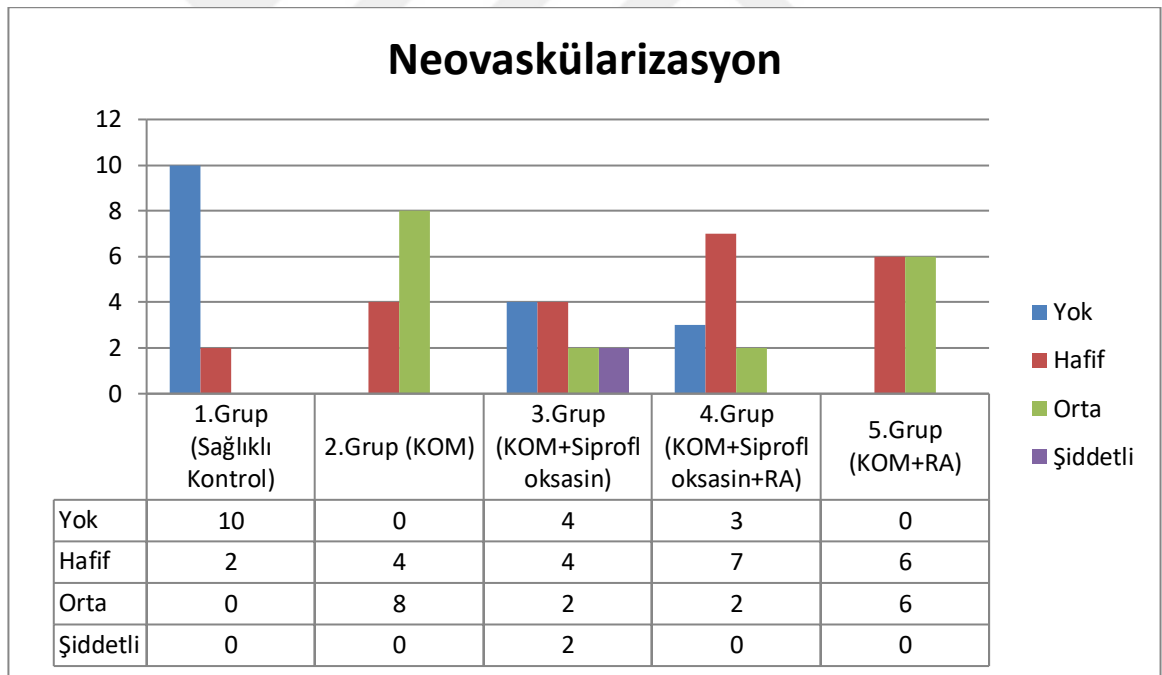
Gruplar arası karşılaştırma analizlerinin sonuçlarında; 3'üncü grubun fibroblast proliferasyonunun 1'inci gruba kıyasla anlamlı olarak yüksek olduğu bulundu ($p<0,001$). 4'üncü grupta fibroblast proliferasyonunun 1'inci gruba göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulundu ($p: 0,012$). 3'üncü grupta fibroblast proliferasyonunun 2'inci gruba kıyasla anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulundu ($p: 0,005$). Tedavi gruplarının hepsinin fibroblast proliferasyonu yönünden incelemesinde bazı gruplarda istatistiki olarak anlamlı fark bulunmasa da sağlıklı kontrol ve KOM grubuna oranla yüksek olduğu gözlemlendi.

4.8. Neovaskülarizasyon

Çalışma grupları neovaskülarizasyon açısından incelendiğinde histopatolojik olarak, - (neovaskülarizasyon yok), + (hafif derece neovaskülarizasyon; x40 büyütmede 1-3 arası vasküler yapı izlenmesi), ++ (orta derece neovaskülarizasyon; x40 büyütmede 3-6 arası vasküler yapı görülmesi), +++ (şiddetli neovaskülarizasyon; x40 büyütmede 6 ve üstünde vasküler yapı görülmesi) olarak derecelendirildi. 1. grupta (sağlıklı kontrol grubu) 6 ratın 12 kulağının 10'unda neovaskülarizasyon izlenmediği (%83,3), 2 kulakta hafif derecede neovaskülarizasyon izlendiği (%16,7) görüldü. 2. grupta (KOM grubu) 6 ratın 12 kulağının 4'ünde hafif derecede neovaskülarizasyon izlendiği (%33,3), 8 kulakta orta derecede neovaskülarizasyon izlendiği (%66,7) görüldü. 3. grupta (KOM+siprofloksasin tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 4'ünde neovaskülarizasyon izlenmediği (%33,3), 4 kulakta hafif derecede neovaskülarizasyon izlendiği (%33,3), 2 kulakta orta derecede neovaskülarizasyon izlendiği (%16,6), 2 kulakta ise şiddetli neovaskülarizasyon izlendiği (%16,6) görüldü. 4. grupta (KOM+siprofloksasin+RA tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 3'ünde neovaskülarizasyon bulunmadığı (%25), 7 kulakta hafif derecede neovaskülarizasyon bulunduğu (%58,3), 2 kulakta orta derecede neovaskülarizasyon bulunduğu (%16,7) görüldü. 5. grupta (KOM+RA tedavi grubu) 6 ratın 12 kulağının 6'sında hafif derecede neovaskülarizasyon izlendiği (%50), 6 kulakta ise orta derecede neovaskülarizasyon izlendiği (%50) görüldü.



Şekil-23: Neovaskülarizasyon alanlarının mikroskopik görüntüsü (Mavi Oklar) (x400 H&E)



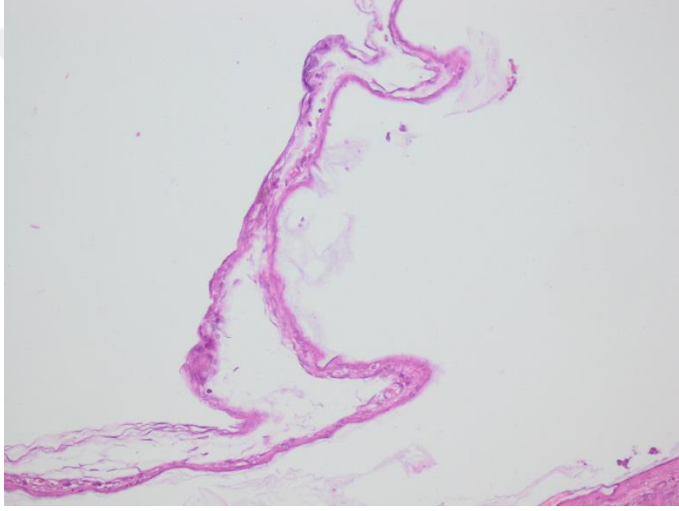
Şekil-24: Neovaskülarizasyon bulgularını gösteren grafik

Gruplar arası karşılaştırma analizleri sonuçlarında; 2'inci grupta neovaskülarizasyon 1'inci gruba göre anlamlı oranda yüksek bulundu ($p < 0,001$). 5'inci grupta neovaskülarizasyon 1'inci gruba kıyasla anlamlı oranda yüksek bulundu ($p: 0,001$). Sağlıklı gruba kıyasla KOM

grubu ve tedavi gruplarında neovaskülarizasyon tüm gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı oranda yüksek bulunmasa da bu gruplarda arttığı gösterildi.

4.9. Timpanik Membran Kalınlığı

Çalışma gruplarında timpanik membran kalınlıkları x40 büyütmede farklı alanlardan ölçülerek ortalama değerleri alınarak hesaplandı. Timpanik membran kalınlıklarının ortalama değerleri; 1. grupta (sağlıklı kontrol grubu) $20,9 \pm 6,3$ mikrometre, 2. grupta (KOM grubu) $30,3 \pm 10,5$ mikrometre, 3. grupta (KOM+siprofloksasin tedavi grubu) $52,8 \pm 17$ mikrometre, 4. grupta (KOM+siprofloksasin+RA tedavi grubu) $33,6 \pm 17$ mikrometre, 5. grupta (KOM+RA tedavi grubu) $32,6 \pm 18,1$ mikrometre olarak bulundu.



Şekil-25: TM kalınlaşması mikroskopik görünümü (x200 H&E)

Gruplar arası karşılaştırma analizlerinin sonuçlarında; 3'üncü grubun timpanik membran kalınlığının 1'inci gruptan anlamlı olarak yüksek olduğu ($p < 0,001$) bulundu. 1'inci grubun timpanik membran kalınlığı diğer gruplara göre en düşük seviyede iken 3'üncü grubun timpanik membran kalınlığı en yüksek seviyede izlenmiştir. Sağlıklı kontrol grubuna kıyasla diğer grupların hepsi ile istatistiki olarak anlamlı fark bulunamasa da tüm grupların timpan membranlarında kalınlaşma görüldü.

	Mean($\pm$ SD) μ m	Median(Min-Max)	Mean Rank	p
Grup 1 (Sağlıklı grup)	20,9 $\pm$ 6,3	23 (7,7- 27)	15,83	<0,001
Grup 2 (KOM)	30,3 $\pm$ 10,5	35,6 (14-41)	28,96	
Grup 3 (KOM+siprofloksasin)	52,8 $\pm$ 17	52,8 (23,3-78,6)	47,00	
Grup 4 (KOM+ siprofloksasin+ RA)	33,6 $\pm$ 17	34,6 (10,3-59)	30,50	
Grup 5 (KOM+RA)	32,6 $\pm$ 18,1	34,6 (7,7-78,6)	30,21	

Tablo-1: TM Kalınlıklarının Ortalama Değerleri

5.TARTIŞMA

Kronik otitis media mastoid, orta kulak, östaki borusu da dahil olmak üzere temporal kemiğin tüm havalı boşluklarının mukozasını etkileyen kronik enflamatuvar bir hastalıktır (1). KOM'dan etkilenen ve otere şikayetleri olan insan sayısının tüm dünyada 65-330 milyon arasında olduğu ve bunların yaklaşık %60'ında işitme kaybı olduğu ifade edilmektedir (2). WHO iki haftalık otorenin eşlik ettiği şikayetler bütününe KOM tanısı için yeterli olduğunu bildirmiştir (2).

Birçok çalışma KOM'un predispozan faktörleri, histopatolojisi ve moleküler temellerinin anlaşılması üzerine sürdürülmüştür. Genetik faktörler, östaki disfonksiyonu, otoimmün mekanizmalar, enfeksiyonlar, sitokinler, endotoksinler ve oksidatif stres gibi pek çok neden otitis medianın kronik enflamasyona gidişinden sorumlu tutulmuştur (112, 113). Ancak tüm bu çalışmalara rağmen KOM patofizyolojisi net olarak anlaşılabilmiş değildir. Hayat kalitesinin ciddi anlamda düşmesine neden olan bu hastalığın patofizyolojisinin iyi anlaşılabilmesi ve tedavi seçeneklerinin çoğaltılması insan sağlığı açısından önem arz etmektedir.

Literatürde yer alan pek çok çalışmada KOM mikrobiyolojisinden sorumlu mikroorganizmaların başında *P. aeruginosa* gelmektedir (5, 6). Mustafa Kazkayası ve arkadaşları (ark.)'nın (114) yaptığı bir çalışmada KOM'un medikal tedavisi araştırılmıştır. Bu çalışma iki merkezli olarak sürdürülmüş ve iki merkezde kulak burun boğaz kliniğine başvuran toplam 149 hasta dahil edilmiştir. Bu hastaların hepsine otoskopik muayene ile KOM tanısı konmuştur. Tedaviye başlanmadan önce yapılan kültür sonuçlarında ise 78 hastada *P. aeruginosa* üremiş olup çalışmaya dahil edilen hastaların kültürlerinden elde edilen en yüksek orana sahip mikroorganizma olduğu bildirilmiştir.

Şahin ve ark.'ları (115) yaptıkları bir çalışmada KOM'da borik asitin etkinliğini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada da literatürde yer alan mikrobiyolojik bilgilerden yola çıkılarak KOM modeli oluşturmada *P. aeruginosa* suşlarından yararlanılmıştır.

Biz de çalışmamızda KOM modeli oluşturabilmek için ketalar anestezi altında ratların bilateral timpanik membranlarını dental enjektör yardımı ile %50 perfore ettik. Ardından 0,1 ml 1×10^8 *P. aeruginosa* suşunu rat orta kulak kavitelerine yine dental enjektör yardımı ile inoküle ettik. Bir hafta sonra aynı uygulamayı tekrarladık. Son uygulamadan 7 gün sonra ratların her iki kulağında timpanik perforasyon ve pürülan otere izledik ve kültürler ile *P. aeruginosa* izole ettik. Bu bulgular ışığında KOM modelimizin geliştiğini tespit ettik.

Temiz ve ark'larının (116) yaptığı bir çalışmada KOM'da oksidatif stresin rolünü belirleyebilmek amacı ile KOM'da tiyoldisülfid homeostazının değişikliği araştırılmıştır. Çalışmada 59 KOM tanısı almış hasta ile 59 adet sağlıklı bireyde oksidatif stresin bir indikatörü olan serum tiyoldisülfid homeostazının değişiklikleri saptanmıştır. SOR immün sistem yanıtı açısından oldukça önem arz etmektedir. Nötrofiller, makrofajlar ve monositler gibi immün sistemde rol alan hücreler yabancı mikroorganizmalarla savaşırken SOR'leri açığa çıkarırlar. Bu SOR'lerinin fazla salınması durumunda ise doku hasarına neden oldukları bilinmektedir. Yapılan bu çalışmada da literatürde son yıllarda oksidatif stresin ve SOR'lerinin KOM'da rolü olduğu bilgisi ile tutarlı olarak KOM'lu hastaların serum tiyoldisülfid homeostazı sağlıklı gruba göre anlamlı oranda düşük bulunmuştur.

Nell ve ark.'larının (117) yaptığı bir çalışmada bakterisidal geçirgenlik artırıcı proteinin (BPI) ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş efüzyonlu KOM modelinde mukozal hasarı önlemesi araştırılmıştır. Sıçanların östaki tüpleri gelfoam ile tıkanmış aynı zamanda transtimpanik olarak salmonella typhimuriumdan elde edilen ve patojeniteden sorumlu olan lipopolisakkarit serum izotonik içerisinde orta kulağa enjekte edilmiştir. Bu sayede efüzyonlu KOM modeli oluşturulmuştur. Diğer kulaklarına ise kontrol amacı ile yalnızca serum izotonik transtimpanik olarak enjekte edilmiştir. KOM indüksiyonundan iki gün sonra ise bir grup rata BPI transtimpanik olarak enjekte edilmiştir. Sonrasında 1, 2, 4 ve 12. haftalarda ratlar ötenaziye takiben dekapite edilerek temporal kemikleri diseke edilmiş ve orta kulakları histopatolojik incelemeye tabi tutulmuştur. KOM oluşturularak tedavisiz izlenen grubun orta kulak histopatolojisinde orta kulak mukozasının nötrofiller, makrofajlar ve lenfositler ile infiltre edildiği ve mukozal kalınlaşma izlendiği görülmüş. Tedavi grubunda ise inflamatuvar hücre infiltrasyonunun neredeyse izlenmediği ortaya konulmuştur.

Goycoolea ve ark.'larının (118) yaptığı bir çalışmada ise otitis medianın morfolojisine ışık tutmak amacı ile orta kulak mukozasının savunma sisteminde yer alan hücrelerin inflamatuvar sürecin başlangıcından sonuna kadar değişimi incelenmiştir. Toplam 75 adet kediyi temporal kemik ve mukoperiosteal çalışmalarda kullanılmak üzere iki gruba ayırmışlar ve tüm kedilerin sol östaki tüplerini mukozal reaksiyona neden olmayan silikon (silastik) süngerler kullanarak tıkamışlar ve bu sayede otitis medianın sürekli olarak indükleneceğini ve sürekli inflamatuvar durum oluşacağını hedeflemişlerdir. Sağ östaki tüplerine ise kontrol amacı ile bir işlem yapmadan takibe almışlardır. Her iki gruptan hayvanları 1 ve 3'üncü günlerde, 1 ve 2'inci haftalarda, 3 ve 6'ıncı aylarda ötenazi sonrası dekapitasyonu takiben birinci grupta temporal kemikleri ikinci grupta ise mukoperiosteumları ışık mikroskobu altında incelemeye tabi tutmuşlardır. İnceleme sonuçlarında ise orta kulak

mukozasındaki değişiklikleri vücutta meydana gelen inflamatuvar reaksiyonlar ile korele bulmuşlardır. Östaki tıkanıklığını takiben ortaya çıkan enflamatuvar durumda mukozada ilk beliren hücreler 3. günde nötrofillerdir. Nötrofiller enflamatuvar durumda ilk ve en hızlı cevap olarak görülmüş, en şiddetli aktiviteleri 1 ve 2. haftalarda izlenmiş ancak 6. aya kadar sahada görülmeye devam etmişlerdir. Bununla birlikte makrofajlar ikinci sırada izlenmeye başlanan hücreler olup 3. günde görülmeye başlanmış ilk iki haftada nötrofiller ile birlikte enflamasyona cevaben yoğun infiltrasyonları izlenmiş 1. aydan sonra ise sahada izlenmemişlerdir. Fibroblastlar onarımdan sorumlu hücresel elemanlar olup enflamasyonun çözülmesi ve iyileşme sürecinde kendilerini göstermekle beraber henüz enflamasyon olmadan 1. günde dahi mukozada seyrek olarak izlenmişler, ikinci haftadan sonra esas yoğunluklarına ulaşmışlar ve iyileşme-yeniden şekillenme (remodeling) boyunca deneyin sonlandırıldığı son tarih olan 6. ayda halen sahada orta şiddetli infiltrasyon gösterdikleri izlenmiştir. Lenfositler de fibroblastlara benzer infiltrasyon göstermişlerdir. Yine deney boyunca enflamatuvar süreçte yeni kan damarları oluşumu, mevcut damarlarda genişlemeler ve enflamasyonun ilk dönemlerinde dilatasyona sekonder değişiklikler izlenmiştir.

Bhutta ve ark.'larının (119) yapmış olduğu hayvan ve insan çalışmalarında KOM'un etiyoloji ve çözümünün araştırılması isimli çalışmada KOM etiopatogenezi ve mekanizmaları açısından detaylamasına incelemelere yer verilmiştir. Bu yazıda da aktif KOM modellerinde enflamasyona sekonder değişiklikler olarak nötrofil ve makrofaj ağırlıklı infiltrasyon ve yer yer lenfositler ile fibroblastların izlendiği, neovaskülarizasyonun görüldüğüne değinilmiştir.

Öz ve ark.'larının yaptığı (120) bir çalışmada ratlarda topikal deskpantenolün travmatik kulak zarı perforasyonunda miringoskleroz üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla 24 adet rat her grupta 6'şar tane olmak üzere dört gruba ayrılmış, birinci gruptaki ratlara işlem yapılmadan takibe alınmış, ikinci gruptaki ratların timpanik membranlarında perforasyon oluşturulmuş ve takibe alınmış, üçüncü gruptaki ratların timpanik membranlarına perforasyon oluşturulduktan sonra kulak zarına değecek şekilde sponjel yerleştirilerek serum fizyolojik damlatılmış ve dördüncü gruptaki ratların timpanik membranları perfore edildikten sonra yine kulak zarına değecek şekilde sponjel yerleştirilerek dekspantenol damlatılarak takibe alınmıştır. Daha sonra deneye başlar başlamaz, 24, 48, 72 ve 120. saatlerde serum izotonik ve deskpantenol uygulanmıştır. Araştırmanın 15'inci gününde tüm ratlar yüksek doz anestezi ile ötenaziyi takiben dekapite edilmiş, temporal bullalar ve timpanik membranları çıkarılarak histopatolojik incelemeye alınmıştır. Sonuçlarda sağlıklı gruptaki ratların kulak zarı kalınlığı diğer gruplara göre daha ince bulunmuştur. Dekspantenol grubunda ise iyileşme ve

remodelingten sorumlu esas elemanlar olan fibroblastların diğerk gruplara oranla daha yüksek olduğu izlenmiştir.

Ünsal ve ark.'larının (121) allantoinin rat timpanik membranının kronik perforasyonlarına etkisini araştırdığı bir çalışmada ise; 25 adet ratın timpanik membranlarında dental enjektör yardımı ile oluşturulan perforasyonu takiben 4, 7, 10 ve 13'üncü günlerde perforasyon kenarlarına dental enjektör yardımı ile %50'lik triklorasetik asit değdirilerek perforasyon kalıcılığına emin olunduktan sonra 15'inci günde ratlar 3 gruba ayrılmıştır. 1. gruba intratimpanik olarak allantoin uygulanmış, 2. gruptaki ratlarda perforasyonu takiben herhangi bir uygulama yapılmadan takibe alınmış ve 3. gruptaki ratlara ise intratimpanik olarak distile su uygulanmıştır. Ardından çalışmanın 28. gününde ratlar otomikroskopik bakıyı takiben sakrifiye edilmiş ve histopatolojik inceleme amacıyla temporal bullaları diseke edilmiştir. Sonuçlara bakıldığında ise histopatolojik olarak tüm gruplarda fibroblastlar mukozada izlense de allantoin grubunda anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Yine tüm gruplarda lenfoplasmositer hücre infiltrasyonu, nötrofilik infiltrasyon, subepitelyal ödem ve neovaskülarizasyon izlenmiştir. Keratin birikimi yönünden bakıldığında tüm gruplarda keratin birikimi görülmekle beraber anlamlı olmasa da kronik perforasyon grubunda keratin birikimi daha yüksek izlenmiştir. Burdan yola çıkarak iyileşme ve remodelingte etkisi yadsınamaz olan fibroblastların çoğalması allantoin tarafından indüklenmiş ve iyileşme fazına girişı artırmıştır.

Kronik enflamasyon reaksiyonu akut reaksiyondan oldukça farklıdır. Akut olaylarda inflamasyonun ana hedefi dokuyu temizlemek ve bakterileri uzaklaştırmak, fibroblastları aktive ederek iyileşmeye zemin hazırlamaktır. Normal şartlarda inflamasyon kendi kendini sınırlayan bir olaydır. Ancak kronik hadiselerde ise inflamasyon daha fazla doku hasarına ve inflamasyonun devamına neden olur. Akut enflamasyonda nötrofiller ilk 3 günden sonra azalma gösterirken kronik enflamasyonda iyileşme boyunca görülürler (122). Kronik enflamasyonda rol alan çok sayıdaki aktif nötrofillerden aşırı miktarda matriks metalloproteinazları ve nötrofilik elastazlar salgılanır. Normal şartlarda bunlar dokudaki farklı faktörler yardımı ile inhibe edilirken kronik süreçte inhibisyon yetersiz olduğundan bu mediatörler doku yıkımına neden olur. Yine kronik enflamasyonda aşırı inflamatuvar hücre yükü sitokin profilini de etkiler, proinflamatuvar sitokinler baskın konuma geçerken proliferasyon indüksiyonu sağlayan faktörler azalır bu da kronik enflamasyonda proliferasyonun baskılanmasına yol açar (122). Nötrofil aktivasyonunu takiben meydana gelen çeşitli nötrofilik enzimlerin salınımı ve doku harabiyeti daha fazla nötrofil infiltrasyonuna neden olur. Proliferasyonun azalması fibroblastların artışını ve iyileşmenin

engellenmesine sebep olur. Kronik enflamasyonun gelecekteki tedavi hedefleri tüm bu nedenlerden dolayı nötrofilik granüllerin bozunma ürünlerinin inhibisyonunu sağlayacak maddelere odaklanmalıdır (122).

Bizim çalışmamızda amacımız enflamasyon meydana getirmek, bu enflamasyonun sürekli olduğunu gösterebilmek ve tedavi ajanlarının etkinliğini ortaya koyabilmek olmuştur. Çalışmamızın sonuçlarını yukarıda paylaştığımız literatür çalışmaları ile karşılaştırdığımızda enflamasyonun oluşumuna dair bulgularımız korelasyon göstermektedir. Nötrofil aktivitesi açısından baktığımızda KOM grubu ile sağlıklı grup, RA ile tedavi edilen grup, RA+ siprofloksasin ile tedavi edilen grup arasında anlamlı fark çıkmış olup KOM grubunda nötrofil aktivitesi bu gruplara göre belirgin derecede artmıştır. Tek başına siprofloksasin ile tedavi edilen grup ile kıyaslanmasında anlamlı farklılık elde edilmemiş olsa da bu gruptaki nötrofil aktivitesi şiddetinin KOM grubuna göre azaldığı gösterilmiştir. Bu da enflamasyonun akut safhasının geçilmesi için yeterli süre geçmiş olmasına rağmen KOM grubunda halen devam eden şiddetli inflamatuvar doku cevapları olduğunu göstermektedir. Tedavi gruplarında ise akut inflamasyonun inhibisyonu meydana gelmiş olup nötrofil cevabı azalma göstermiştir. Çalışmamızda histiyosit varlığı makrofaj olarak değerlendirilirse yapılan incelemede KOM grubu ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı fark izlenmiş olup KOM grubunda en yüksek oranda makrofaj varlığı gösterilmiştir. Makrofajların KOM grubunda anlamlı olarak diğer tüm gruplardan yüksek olması olayın devam eden inflamatuvar süreç olduğunu ve nötrofillerden sonra inflamasyon bölgesinde izlenen makrofaj aktivasyonun fagositotik aktivite ile doku yıkımına katkıda bulunduğunun göstergesi olabilir. Fibroblast proliferasyonu açısından yapılan incelemede tüm gruplarda değişken sayılarda fibroblastlara rastlanmıştır ancak tedavi verilen grupların hepsinde anlamlı sonuç elde edilmese de sağlıklı grup ile KOM grubuna kıyasla daha yüksek sayıda fibroblast hücresi izlenmiştir. İstatistiksel olarak da sağlıklı grup ile siprofloksasin ile tedavi edilen ve siprofloksasin+RA ile tedavi edilen gruplar arasında, KOM grubu ile de siprofloksasin ile tedavi edilen grup arasında anlamlı farklılıklar izlenmiştir. Fibroblastik aktivitenin literatürde doku rejenerasyonu ve iyileşmede etkili olduğu vurgulanmıştır. Bizim bulgularımız da değerlendirildiğinde literatür ile korele şekilde tedavi gruplarında fibroblastik aktivitenin artarak inflamasyonun çözülme fazına girdiği yorumu yapılabilir. Neovaskülarizasyon açısından baktığımızda ise tüm gruplarda çeşitli oranlarda neovaskülarize alanlar izlenmiş olup sağlıklı grupta en düşük seviyede gözlenmiştir. İstatistiksel analizde sağlıklı grup ile KOM grubu ve sağlıklı grup ile RA ile tedavi edilen grup arasında anlamlı fark izlenmiştir. Tüm gruplarda neovaskülarizasyonun artışı ilk etapta inflamatuvar hücre göçünün sağlanabilmesi için meydana geldiği yorumu yapılabilir.

Araştırmamızda konjesyon açısından yapılan değerlendirmeye bakılacak olursa; sağlıklı grup ile KOM grubu, siprofloksasin ile tedavi grubu, siprofloksasin+RA ile tedavi grupları arasında anlamlı farklılık izlenmiştir. Veriler değerlendirildiğinde sayısal olarak en şiddetli konjesyon yoğunluğu yine KOM grubunda elde edilmiştir. Bu da inflamasyonun ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun devam ettiği aktif enflame grup olan KOM grubunda bu hücrelerin aktivitesine sekonder değişiklikler olarak yorumlanabilir. Araştırmamızda subepitelyal ödemin histopatolojik bulgularının analizinde tüm tedavi gruplarında subepitelyal ödemin sağlıklı grup ve KOM grubuna kıyasla daha fazla izlendiği ortaya konulmuştur. Sağlıklı gruplar ile tedavi gruplarının istatistiksel analizlerinde anlamlı farklılık bulunmuş olup KOM grubu ile tedavi gruplarında anlamlı farklılık izlenmemiştir. Bu da tedavi gruplarında KOM grubu ve sağlıklı gruba nazaran daha fazla fibroblast proliferasyonu görülmesi ve fibroblastların iyileşme- remodeling sırasında ekstraselüler maktriği oluşturmasından kaynaklı olabilir. Keratin birikimi açısından çalışmamızın sonuçları incelendiğinde; KOM grubu ile sağlıklı grup, RA ile tedavi verilen grup, RA+siprofloksasin ile tedavi verilen gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur. Siprofloksasin ile tedavi verilen grup ve KOM grubu arasında anlamlı fark bulunmasa da keratin birikimi en fazla KOM grubunda olmuş, bu da inflamasyonun neden olduğu yanlış rejenerasyon ve hücre nekrozları sonucu keratin debrislerinin birikiminin geliştiğini gösterebilir. TM kalınlıkları değerlendirildiğinde ise bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu şekilde en ince timpanik membranlar sağlıklı gruptaki ratlara ait bulunmuştur. Bu sonuçlar ve yukarıda sıralanan çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde çalışmamızda deney gruplarında başarılı şekilde enflamasyon elde edildiği, KOM grubunda enflamasyonun devamlılık gösterdiği ve tedavi gruplarında bu inflamatuvar sürecin çözünme evresine girdiği histopatolojik olarak ortaya konulmuştur.

Kronik otitis media tedavisiz bırakıldığı takdirde ilerleyici işitme kaybı, dirençli otore gibi şikayetlerin yanında hayatı tehdit eden ciddi komplikasyonlara neden olabilecek bir hastalıktır. Tedavi modaliteleri üzerinde pek çok araştırma ve görüş bildirilmiş olsa da hastalığın şiddeti, tipi, yaygınlığı, derecesi, hastanın mevcut sağlık durumu ve ek hastalıkları gibi pek çok faktör tedavi seçeneklerini değiştirmektedir. Ancak pürülan otoreli bir kulakta tedavi seçenekleri olarak genel kabul gören görüş bir kulak burun boğaz uzmanı tarafından düzenli aspirasyon ve topikal antibiyoterapi/antiseptiklerin tek veya birlikte kullanımıdır.

Topikal antibiyoterapinin otorenin sonlanmasında, bakteriyel eradikasyonda ve inflamatuvar durumda çözümlenmede oral antibiyoterapiye, tek başına aspirasyon ile izleme ve oral ve topikal kombine antibiyoterapiye kıyasla daha etkili olduğu gösterilmiştir (2). Topikal

tedavinin oral antibiyoterapiye üstünlüğü ise KOM'a bağlı orta kulak ve mastoid kemikte gelişen granülasyon dokusunun fibrotik olması ve zamanla devaskülarize hal alması ile ilaç konsantrasyonunun yeterli seviyeye ulaşamamasına bağlanmıştır (2). Yine WHO'nun bildirisinde topikal kinolonların özellikle ototoksik olmaması nedeni ile siprofloksasinin etkinliğinin diğer topikal antibiyoterapi rejimlerine göre daha üstün olduğu bildirilmiştir (2).

Şahin ve ark.'ları (115) ratlarda *P. aeruginosa* ile oluşturulan KOM modelinde borik asitin tedavi etkinliğini araştırmışlardır. Her birinde 6'şar rat bulunan 7 gruptan toplam 42 rat üzerinde çalışmışlar. Sağlıklı kontrol gurubu hariç diğer grupların timpanik membranları %50 oranında perfore edilmiş, borik asit kontrol gurupları hariç diğer gruplardaki ratların orta kulaklarına birer hafta ara ile iki kez 0,1 ml 1×10^8 koloni *P. aeruginosa* suşu inoküle edilmiş ve KOM oluşturulmuştur. Gruplar şu şekilde oluşmuş olmaktadır; 1. grup sağlıklı kontrol gurubu, 2. grup tedavisiz KOM grubu, 3. grup %4' lük borik asit ile tedavi verilen KOM grubu, 4. grup %8' lik borik asit ile tedavi verilen KOM grubu, 5. grup siprofloksasin ile tedavi verilen KOM grubu, 6. grup sağlıklı orta kulağa %4' lük borik asit uygulanan grup ve 7. grup sağlıklı orta kulağa %8' lik borik asit uygulanan grup. 14 günlük tedavi sürecinin ardından yüksek doz anestezi ile ötenaziye takiben ratlar sakrifiye edilmiş, temporal kemikleri histopatolojik incelemeye yollanmıştır. Sonuçta ise tedavisiz KOM grubunda şiddetli eksudat, nötrofil infiltrasyonu, döküntü epitelden oluşan debris, timpanik membranda kalınlaşma ve submukozada yoğun enflamasyon, damarlanma artışı izlenmiştir. Siprofloksasin ile tedavi grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturacak şekilde azalmış nötrofil infiltrasyonu, enflamasyon, ödem ve daha az kalınlaşmış timpanik membran izlenmiştir.

Literatüre baktığımızda KOM'da topikal kinolon kullanımının yararlarını ve üstünlüğünü bildiren pek çok görüş ve yazar mevcuttur. Aslan ve ark.'ları (123) kanıtlanmış etkinlikleri nedeni ile ABD'de en sık kullanılan antibiyotiklerin kinolonlar olduğunu söylemiştir. Nwabuisi ve ark.'ları (124) topikal kinolonların düşük yan etki profiline sahip oldukları ve aminoglikozidlerden üstün olduklarını ifade etmişlerdir. Dohar ve ark.'ları (72) topikal kinolonların özellikle *P. aeruginosa*'ya karşı etkili olduklarını ve aminoglikozidler gibi kokleotoksisite ve vestibülotoksisite gibi yan etkilerinin olmadığını bildirmişlerdir.

Biz de çalışmamızda literatürde KOM'da etkinliği kanıtlanmış, ototoksik olmadığı ortaya konmuş olan siprofloksasin ile tedavi grubu oluşturarak diğer etken maddeyi ve KOM grubunu kıyasladık. Histopatolojik analizimizden edindiğimiz bilgilerde ise; siprofloksasinin nötrofil aktivitesinin şiddetini KOM grubuna kıyasla belirgin şekilde azalttığı görülmüştür ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Nötrofil aktivite şiddetinde bariz

azalma yapmasına rağmen anlamlı farklılık çıkmamasının temel nedeninin yetersiz denek sayısı olduğunu düşünmekteyiz. Yine makrofaj infiltrasyonu açısından baktığımızda KOM grubuna kıyasla siprofloksasin ile tedavi edilen grupta istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Araştırmamızda literatür ile uyumlu şekilde siprofloksasinin otoreli aktif KOM'da inflamasyonu baskılayarak iyileşme sağladığı ortaya konulmuştur.

Rosmarinus officinalis, bilinen adı ile biberiye, Güney Avrupa ve Akdeniz bölgesinde yetişen, yaprak dökmeyen, kokulu, iğne benzeri yapraklara sahip, beyaz-mavi-pembe veya mor renkte çiçekleri olan odunsu bir bitkidir. Biberiye adını latince çiy (ros) ve deniz (marinus) kelimelerinin birleşiminden almıştır. RA ilk kez biberiye bitkisinden üretilerek tanımlanmıştır (9). RA kafeik asit ve 3,4-dihidroksifenillaktik asitin bir esteridir. Sadece biberiyede değil aynı zamanda adaçayı (*Salvia officinalis*) ve fesleğen (*Ocimum basilicum*) gibi mutfakta kullanılan pek çok bitkide bulunmaktadır (9).

RA'nın enflamasyon üzerine en çok bildirilen etkisi kompleman ile etkileşimidir. Hem in vivo hem in vitro olarak kompleman aktivasyonunu engellediği gösterilmiştir (125). RA özellikle kompleman aktivasyonunun gerçekleştiği enflamasyon bölgesinde glukokortikoidler ve diğer antienflamatuar ilaçlar gibi yan etkisi olmaksızın aktive olan kompleman bileşeni C3b ile kovalent reaksiyona girerek kompleman aktivasyonunu engeller (126).

Silva ve ark.'larının (127) *rosmarinus officinalis* sulu özütünün nötrofil akışını ve sitokin salınımını engellediğini göstermek üzere yapmış oldukları bir araştırma mevcuttur. Deney tasarımı Wistar cinsi ratlar üzerinde kurgulanmış ve her deneyde 5 ile 6 rat kullanılmıştır. Ratların sırt bölgelerinde deri altına 10 ml steril hava verilmiş uygulamadan altı gün sonra yine aynı bölgeye aynı dozda steril hava uygulanmıştır. İlk hava enjeksiyonundan 10 gün sonra sıçanlar alt gruplara ayrılmış ve oral yoldan gavaj yardımı ile tedavi başlanmıştır. 1. grup kontrol grubu, 2. grup steril serum ile tedavi verilen grup, 3. grup 30 mg/kg indometasin ile tedavi verilen grup ve 4-5-6. gruplar sırası ile 100, 200, 400 mg/kg RA ile tedavi verilen gruplar. Daha sonra 2 ml karragenan oluşturulan hava keselerine enjekte edilmiş ve enjeksiyondan 4 saat sonra ratlar yüksek doz anestezi ile ötenaziye tabi tutulmuşlardır. Hava keseleri 2 ml buzlu steril serum ile yıkanmış ve toplam lökosit sayısı Neubauer haznesi kullanılarak belirlenmiş. Ayrıca histopatolojik kesitlerde farklı hücre sayımları da yapılmış ve inflamatuvar mediatör salgısını ve antioksidan belirteçleri değerlendirmek amacıyla hava keselerinden lavaj sıvısı da toplanmıştır. Sonuçlarda; RA'nın karragenan ile oluşturulan inflamasyonda in-vivo nötrofil göçünü azalttığı, karragenanın sebep olduğu enflamasyonlu eksüdatlarda inflamatuvar mediatörleri azalttığı, nötrofil

kemotaksisini ve adhezyon molekülü ekspresyonunu düzenlediği ayrıca oksidatif stresi azalttığı g  sterilmiştir.

Gamaro ve ark.'ları (128) rosmarinik ve kafeik asitlerin sıçanlarda inflamasyon ve nosisepsiyon sürecine etkisini araştırmışlardır.   alışmalarında Wistar cinsi sıçanları kullanmışlar ve plörezi modeli için her birinde 7 rat olan 5 grup (5 ve 10 mg/kg kafeik asit tedavi grupları, 5 ve 10 mg/kg RA tedavi grupları ile steril serumun intraperitoneal olarak uygulandığı kontrol grubu), kuyruk çekme testi için ise her birinde 10 rat olan 3 grup oluşturmuşlardır. Plörezi oluşturulması amacı ile 1 mg/ml'lik karragenan solüsyonundan 0,1 ml intraplevral olarak ratlara enjekte edilmiş ve uygulamadan dört saat sonra ratlar yüksek doz anestezi ile ötenaziye tabi tutulmuş ve plevral boşlukları a ılarak eksüdatlar toplanmıştır. Eks  dattaki toplam lökosit sayısı Neubauer haznesi ile sayılmış ayrıca diğer hücrelerin sayımı da histopatolojik olarak yapılmış ve periferik kan lökosit tayini yapılmıştır. Sonuçlara bakıldığında ise hem 5 mg/kg hem 10 mg/kg dozda RA uygulamasının plevral eks  data göç eden nötrofil sayısını belirgin düzeyde azalttığı ve istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturduğu ortaya konulmuştur.

Rocha ve ark.'ları (129) lokal ve sistemik inflamasyonlu sıçan modellerinde RA ve rosmarinus officinalis ekstratının antiinflamatuvar etkilerini araştırdıkları bir çalışmada 64 adet Wistar cinsi rat kullanmışlardır. Ratlarda akut lokal inflamasyonu incelemek için karragenan kaynaklı pençe ödeminden yararlanmışlardır. Sıçanları 8 gruba ayırmışlar; 1. grup sol arka pençesine 0,1 ml steril serum enjekte edilen grup, 2. grup sol arka pençesine 0,1 ml karragenan ile pençe   demi indüksiyonu yapılan grup, 3. grup pençe   demi indüksiyonundan 30 dakika önce 10 mg/kg RA ile tedavi verilen grup, 4. grup pençe   demi indüksiyonundan 30 dakika önce 25 mg/kg RA ile tedavi verilen grup, 5. grup pençe   demi indüksiyonundan 30 dakika önce 50 mg/kg RA ile tedavi verilen grup, 6. grup pençe   demi indüksiyonundan 30 dakika önce 10 mg/kg rosmarinus officinalis özütü ile tedavi verilen grup, 7. grup pençe   demi indüksiyonundan 30 dakika önce 50 mg/kg rosmarinus officinalis özütü ile tedavi verilen grup ve 8. grup pençe   demi indüksiyonundan 30 dakika önce 10 mg/kg indometazin ile tedavi verilen grup. Sonuçlarda ise indüklenen   demdeki artışın 6 saat sonraki değerlendirmesinde RA ve rosmarinus officinalis ile   n tedavi verilen gruplarda   demdeki artışın doz bağımlı olarak önemli şekilde azaldığı gözlenmiştir. Tek doz RA (25 mg/kg) uygulamasının antioksidan ve antiinflamatuvar olarak bilinen indometazin (10 mg/kg) uygulaması ile ödem oluşumunu aynı oranda azalttığı izlenmiştir.

Özdemir ve ark.'ları (130) RA'nın miringosklerozu önlemedeki etkisini araştırma amacı ile sıçan modeli kullanmışlardır. Sıçanları 3 gruba ayırmışlar; 1. grup yalnızca miringotomi yapılarak kontrol grubu olarak takibe alınmış, 2. grup miringotomi sonrası TM'lerine 0,5 cc RA emdirilmiş jel foam yerleştirilmiş ve 1, 3, 5, 7. günlerde işlem tekrarlanarak takibe alınmış, 3. grup ise miringotomi sonrası orogastrik sonda yardımı ile 10 mg/kg RA verilmiş ve 1, 3, 5, 7. günler aynı işlem tekrarlanarak takibe alınmış. 21 günlük takibin ardından tüm ratlar otomikroskopik bakı ile miringoskleroz durumları kontrol edildikten sonra yüksek doz anestezi ile sakrifiye edilerek temporal bullaları histopatolojik inceleme amacı ile diseke edilmiş. Histopatolojik inceleme sonucunda lokal ve oral RA uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre inflamasyon anlamlı oranda düşük izlenmiş. Aynı zamanda inflamasyon şiddeti de tedavi gruplarında kontrol gruplarına göre anlamlı olarak düşük izlenmiştir.

RA'nın antimikrobiyal etkilerinin incelendiği literatür çalışmaları da mevcuttur. *Stafilokokkus aureus* suşlarına karşı antibakteriyel etki gösterdiği aynı zamanda amoksisilin, ofloksasin ve vankomisin ile yine bu suşlara karşı sinerjistik etki gösterdiği izlenmiştir. Yine aynı çalışmada metisilin dirençli *stafilokokkus aureus* suşlarına karşı vankomisin ile sinerjistik etki gösterdiği ortaya konmuştur. Bu çalışmada aynı zamanda RA'nın antibiyotikler ile kombine kullanımının tek başına antibiyotik kullanımından etkili olduğu ortaya konulmuştur (131).

Biz de çalışmamızda literatürde antiinflamatuvar, antioksidan ve antibakteriyel etkileri araştırmalar ile ortaya konulmuş olan RA'nın KOM'da meydana gelen enflamasyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile tedavi üzerine etkilerini araştırmak amacıyla topikal olarak kullanımını inceledik. Ayrıca çalışmamız; yapmış olduğumuz literatür taramalarından elde edebildiğimiz sonuçlar itibarıyla bildiğimiz kadarı ile RA'nın bir otit modelinde topikal kullanımının tedavi edici etkinliğinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Bu yüzden topikal kulak damlası formunda dozlamına dair bilgi bulunamadığından RA'nın steril serum fizyolojik içinde çözdürülmüş %2'lik solüsyonu hazırlanarak bu dozda kullanılmıştır. Bu da çalışmamızın kısıtlamalarından biridir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz histopatolojik verilerin analiz sonuçlarına bakacak olursak; nötrofil aktivitesi açısından tek başına RA ve RA+siprofloksasin ile tedavi verilen grupta KOM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı sonuç veren azalma izlenmiştir. Bu da literatürde belirtildiği gibi RA'nın nötrofil kemotaksisi ve adhezyonunu inhibe ederek antiinflamatuvar etki göstermesinden kaynaklanmış olabilir. Lenfoplazmositer infiltrasyon açısından bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilmese de KOM grubuna

oranla tek başına RA ve RA+siprofloksasin ile tedavi edilen gruplarda infiltrasyon şiddetinde azalma olduğu gözlenmiştir. Makrofaj infiltrasyonu açısından bakıldığında ise yine tek başına RA ile tedavi verilen grup ile RA+siprofloksasin ile tedavi verilen gruplarda KOM grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı sonuç veren azalma görülmüştür. Bu sonuçlar ışığında RA'nın akut inflamasyonun inhibisyonunda etkili olduğu ve sürecin kronikleşmesinin önüne geçtiği yorumu yapılabilir. Nötrofiller ile birlikte makrofajlar ve lenfoplasmositer hücreler üzerine de antiinflamatuvar etki göstermiştir. Keratin birikiminin değerlendirilmesinde de KOM grubuna kıyasla RA ve RA+siprofloksasin ile tedavi edilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı sonuç veren azalma izlenmiştir. Keratin debrislerinde anlamlı oranda düşüşün inflamasyonun baskılanması ile inflamatuvar hücrelerin şiddetli fagositik aktiviteleri ve doku yıkımına neden olan mediatör salgıları engellenmiş bu sayede nekrotik ve dökülmüş epitel ile keratin debris birikiminin önüne geçilmiştir. Fibroblast proliferasyonu açısından çalışma sonuçlarımıza bakıldığında RA+siprofloksasin ile tedavi verilen grupta sağlıklı gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda artış izlenmiştir. Tek başına RA ile tedavi verilen grupta istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamasa da yine sağlıklı gruba kıyasla daha yüksek değerler elde edildiği gösterilmiştir. Tek başına RA ve RA+siprofloksasin ile tedavi edilen gruplar ile KOM grubu karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı olmasa da fibroblast proliferasyonunun arttığı izlenmiştir. Bu da RA'nın antiinflamatuvar etkilerinin yanında fibroblast proliferasyonunu arttırarak iyileşme ve remodelingi indüklediğini gösteriyor olabilir.

Araştırmamızda literatür bilgileri ile uyumlu olarak RA'nın antiinflamatuvar etkilerinin ortaya koyulduğu görülmektedir. Aynı zamanda tek başına antibiyotik uygulamasına nazaran antibiyotik+RA kombinasyonunun sinerjistik etki ile daha başarılı sonuçlar ortaya çıkardığı gösterilmiştir.

Çalışmamızın kısıtlamalarına bakacak olursak; denek sayısının azlığı istatistiki sonuçların anlamlılığı açısından en temel kısıtlayıcı faktör olarak görülmektedir. Yine yukarıda belirtildiği üzere RA'nın topikal damla formunda otit modelinde kullanım dozunun önceki çalışmalar olmadığından standardize edilememiş olmasının da sonuçlar üzerine etkisi olabileceği düşünülmektedir.

6.SONUÇLAR

Çalışmamızda toplam 30 adet erişkin, sağlıklı dişi rat (60 kulak) 5 gruba ayrılarak incelendi. 1. grup sağlıklı kontrol grubu olarak ayrıldı, 2. grup KOM modeli oluşturulduktan sonra tedavisiz izleme alındı, 3. grup KOM modeli oluşturulmasını takiben siprofloksasin ile tedaviye alındı, 4. grup KOM modeli oluşturulmasını takiben RA+siprofloksasin ile tedavi takibine alındı ve 5. grup KOM modeli oluşturulmasının ardından RA ile tedavi takibine alındı. Gruplar çalışma bitiminde yüksek doz anesteziyi takiben dekapite edildi ve histopatolojik inceleme amacıyla temporal kemikleri diseke edildi. Histopatolojik olarak; nötrofil aktivitesi, kronisite, histiosit varlığı, keratin birikimi, subepitelyal ödem, konjesyon fibroblast proliferasyonu, neovaskülarizasyon ve timpan membran kalınlığı açısından incelendi.

1. Çalışmamız RA'nın bir otit modelinde topikal damla formunda kullanıldığı literatürdeki ilk çalışma özelliğine sahiptir.
2. Çalışmamızda nötrofil aktivitesinin değerlendirilmesinde 2. grupta (KOM) 1, 4 ve 5. gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda artış bulundu. 3. grupta ise anlamlı fark bulunmasa da nötrofil aktivite şiddetinde azalma izlendi.
3. Çalışmamızda histiosit varlığı açısından yapılan değerlendirmede 2. grupta (KOM) diğer tüm gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış bulundu.
4. Çalışmamızda keratin birikimi açısından yapılan değerlendirmede 2. grupta (KOM) 4 (RA+siprofloksasin) ve 5. gruplara (RA) kıyasla istatistiki olarak anlamlı şekilde artış izlendi.
5. Çalışmamızda timpanik membran kalınlığı açısından yapılan incelemede 1. grup (sağlıklı kontrol) timpan membranlarının diğer grupların hepsinden daha ince olduğu görüldü.

Sonuç olarak RA'nın topikal damla formunda kullanımının kronik otit modelini tedavi edici yönde olumlu sonuçlar verdiğine dair histopatolojik bulgular elde edilmiştir.

RA'nın topikal kulak damlası formunda tedavide kullanılabilecek etkin doz ve konsantrasyonunun belirlenmesi açısından yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bununla birlikte RA'nın KOM üzerine olan tedavi edici etki mekanizmasının tam olarak ortaya koyulabilmesi amacı ile hem hücresel hem moleküler düzeyde yapılacak daha geniş sayılarda hayvan ile sürdürülen yeni hayvan çalışmalarına ihtiyaç vardır.

7.KAYNAKLAR

1. İNCESULU A. Kronik Süpüratif Otitis Media. Türkiye Klinikleri Journal of Surgical Medical Sciences. 2005;1(7):66-70.
2. Organization WH. Chronic suppurative otitis media: burden of illness and management options. 2004.
3. Fliss D, Dagan R, Houry Z, Leiberman A. Medical management of chronic suppurative otitis media without cholesteatoma in children. The Journal of Pediatrics. 1990;116(6):991-6.
4. Morris P. Management of otitis media in a high risk population. Australian family physician. 1998;27(11):1021-9.
5. Aduda DS, Macharia IM, Mugwe P, Oburra H, Farragher B, Brabin B, et al. Bacteriology of chronic suppurative otitis media (CSOM) in children in Garissa district, Kenya: a point prevalence study. International journal of pediatric otorhinolaryngology. 2013;77(7):1107-11.
6. Sattar A, Alamgir A, Hussain Z, Sarfraz S, Nasir J. Bacterial spectrum and their sensitivity pattern in patients of chronic suppurative otitis media. Journal of the College of Physicians and Surgeons--pakistan: JCPSP. 2012;22(2):128-9.
7. Petersen M, Simmonds MS. Rosmarinic acid. Phytochemistry. 2003;62(2):121-5.
8. Vatan Ö. Rosmarinik Asidin Cisplatine Karşı Antisitotoksik ve Antigenotoksik Etkisinin A549 ve Beas-2B Hücre Hatlarında Araştırılması. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2019;45(3):263-70.
9. Colica C, Di Renzo L, Aiello V, De Lorenzo A, Abenavoli L. Rosmarinic acid as potential anti-inflammatory agent. Reviews on Recent Clinical Trials. 2018;13(4):240-2.
10. Akyıldız A. İtme ve denge organlarının embriyolojisi. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara. 1998;1:3-22.
11. Güneri E. Kulak embriyolojisi ve doğumsal kulak hastalıkları. Otoloji ve Nöro-otoloji, O Çelik, Editor. 2013:1-23.
12. Dhingra P, Dhingra S. Diseases of Ear, Nose and Throat-eBook: Elsevier Health Sciences; 2017. 11-2 p.
13. Gulya A. Development of anatomy of the temporal bone and Skull Base. Shambaugh GE Jr, Glasscock ME III, editors. Surgery of the ear. Philadelphia: WB Saunders; 2003. p. 3-35.
14. Pearson A. Development of anatomy of the ear. Otolaryngology (English GM, ed). Philadelphia, Harper and Row Publishers; 1984. p. 1-68.
15. O'Rahilly R. The early development of the otic vesicle in staged human embryos. Development. 1963;11(4):741-55.
16. Gulya A. Developmental anatomy of the temporal bone and skull base. Surgery of the Ear 6th ed Beijing, PR China: People's Medical Publishing House. 2010:3-27.
17. Staubesand J. Sobotta İnsan Anatomisi Atlası. İstanbul: Beta Basın Yayın. 1990;1:301.
18. Anson BJ, Donaldson JA. The surgical anatomy of the temporal bone and ear. Philadelphia: WB Saunders Co. 1973:105-37.
19. Şenocak D, Otolaringoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. . 2000:838-57.
20. Aslan A, Mutlu C, Celik O, Govsa F, Ozgur T, Egrilmez M. Surgical implications of anatomical landmarks on the lateral surface of the mastoid bone. Surgical and Radiologic Anatomy. 2004;26:263-7.
21. Cummings C, Flint P, Haughey B, Robbins K, Thomas J, Harker L, et al. Cummings otolaringoloji baş ve boyun cerrahisi. Çev: Koç C. 2007;4.
22. Aslan A. Kulağın ve Kafa Tabanının Cerrahi Anatomisi. Otoloji ve Nöro-otoloji, O Çelik, Editor. 2013:25-40.
23. Aslan A. Temporal kemik anatomisi. Kulak Burun Boğaz Baş Boyun Cerrahisi Otoloji. 2016;1:6-20.
24. Akyıldız AN. Kulak hastalıkları ve mikrocerrahisi I: Bilimsel Tıp Yayınevi; 1998. 22-57 p.
25. Tos M. Manual of middle ear surgery: Georg Thieme Stuttgart; 1993.

26. Lacout A, Marsot-Dupuch K, Smoker WR, Lasjaunias P. Foramen tympanicum, or foramen of Huschke: pathologic cases and anatomic CT study. *American journal of neuroradiology*. 2005;26(6):1317-23.
27. Devranoğlu İ. Dış ve orta kulak cerrahisi. Birinci baskı. 2011:1-10.
28. Martin FN, Clark JG. Introduction to audiology. 1997:237-74.
29. Haberman RS. Middle ear and mastoid surgery: Thieme New York, NY, USA; 2004. 55-66 p.
30. Hildmann H, Sudhoff H. Middle Ear Surgery Springer-Verlag. Berlin; 2006. p. 44-9,62-7.
31. Mansour S, Magnan J, Haidar H, Nicolas K, Louryan S, Mansour S, et al. Comprehensive and Clinical Anatomy of the Middle Ear. 2013.
32. Atmaca S, Elmalı M, Kucuk H. High and dehiscence jugular bulb: clear and present danger during middle ear surgery. *Surgical and Radiologic Anatomy*. 2014;36:369-74.
33. Cruz OLM. Kafa tabanı, Temporal Kemik, Dış Kulak ve Orta Kulak Anatomisi, in Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi, C.W. Cummings. Güneş Kitabevi: Ankara. 2007:2801-14.
34. Moreano EH, Paparella MM, Zelterman D, Goycoolea MV. Prevalence of carotid canal dehiscence in the human middle ear: a report of 1000 temporal bones. *The Laryngoscope*. 1994;104(5):612-8.
35. Schuknecht HF, Gulya AJ. Anatomy of the temporal bone with surgical implications. (No Title). 1986.
36. Shambaugh G. Surgical anatomy of the temporal bone, surgery of the ear. Philadelphia: WB Saunders Co. 1967:41-69.
37. Standring S. Gray's anatomy e-book: The anatomical basis of clinical practice: Elsevier Health Sciences; 2021. The anatomical basis of clinical practice: Elsevier Health Sciences. 2021.
38. Derya Ümit Talas YV, Onur İsmi, Orhan Beger Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Uzmanlık Eğitimi Kaynak Kitap – 1 KULAK ANATOMİSİ. 2018:443-52.
39. Brell JF GJ, Scott Brown Disease of the Nose, Throat and Ear. 1982(Bristol.
).
40. Sanna M, Sunose H, Mancini F, Russo A, Taibah A, De Donato G, et al. Middle ear and mastoid microsurgery: Thieme medical publishers; 2012.
41. Austin FA. Ballenger .jj SJe. Anatomy of the ear. In: Otorhinolaryngology: Head and Neck Surgery. Williams and Wilkins. 1996;15. ed:838-57
42. Maynard R, Downes N. Vertebrae, Ribs, Sternum, Pectoral and Pelvic Girdles, and Bones of the Limbs, in: Anatomy and Histology of the Laboratory Rat in Toxicology and Biomedical Research. 2019.
43. Dkhar B, Bhatia A, Saikia PP, Pyngrope H. Improved postauricular surgical approach to the round window of rats. *Journal of Neuroscience Methods*. 2020;330:108481.
44. Judkins RF, Li H. Surgical anatomy of the rat middle ear. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*. 1997;117(5):438-47.
45. Albuquerque AAS, Rossato M, Oliveira JAAd, Hyppolito MA. Understanding the anatomy of ears from guinea pigs and rats and its use in basic otologic research. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*. 2009;75:43-9.
46. Li P, Gao K, Ding D, Salvi R. Characteristic anatomical structures of rat temporal bone. *Journal of otology*. 2015;10(3):118-24.
47. (Ed.) AAKaKC. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi. 2004;Ankara: Güneş kitabevi:52–5.
48. Zimmer WM, Rosin DF, Saunders JC. Middle-ear development VI: Structural maturation of the rat conducting apparatus. *The Anatomical Record*. 1994;239(4):475-84.
49. Castagno LA, Lavinsky L. Tympanic membrane healing in myringotomies performed with argon laser or microknife: an experimental study in rats. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*. 2006;72:794-9.
50. Verhoeff M, Van Der Veen EL, Rovers MM, Sanders EA, Schilder AG. Chronic suppurative otitis media: a review. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2006;70(1):1-12.

51. Aarhus L, Tambs K, Kvestad E, Engdahl B. Childhood otitis media: a cohort study with 30-year follow-up of hearing (the HUNT study). *Ear and hearing*. 2015;36(3):302-8.
52. Bluestone CD. Epidemiology and pathogenesis of chronic suppurative otitis media: implications for prevention and treatment. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 1998;42(3):207-23.
53. Monasta L, Ronfani L, Marchetti F, Montico M, Vecchi Brumatti L, Bavcar A, et al. Burden of disease caused by otitis media: systematic review and global estimates. *PloS one*. 2012;7(4):e36226.
54. Salihoğlu M, Hardal Ü, Cıncık H. Türkiye’de genç erkek nüfusunda kronik otitis media prevalansı. *The Turkish Journal of Ear Nose and Throat*. 2010;20(6):273-6.
55. Martines F, Bentivegna D, Maira E, Sciacca V, Martines E. Risk factors for otitis media with effusion: Case–control study in Sicilian schoolchildren. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2011;75(6):754-9.
56. Vakharia KT, Shapiro NL, Bhattacharyya N. Demographic disparities among children with frequent ear infections in the United States. *The Laryngoscope*. 2010;120(8):1667-70.
57. Umapathy D, Alles R, Scadding GK. A community based questionnaire study on the association between symptoms suggestive of otitis media with effusion, rhinitis and asthma in primary school children. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2007;71(5):705-12.
58. Caye-Thomasen P, Hermansson A, Bakaletz L, Hellström S, Kanzaki S, Kerschner J, et al. Panel 3: Recent advances in anatomy, pathology, and cell biology in relation to otitis media pathogenesis. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*. 2013;148(4_suppl):E37-E51.
59. Sudhoff H, Bücken R, Groll C, Shagdarsuren S, Dazert S, Schreiber S. Tracing of gastric reflux into the middle ear in a Mongolian gerbil model. *Otology & Neurotology*. 2007;28(1):124-8.
60. Jolivet-Gougeon A, Bonnaure-Mallet M. Biofilms as a mechanism of bacterial resistance. *Drug Discovery Today: Technologies*. 2014;11:49-56.
61. Gopen Q. *Fundamental Otology: Pediatric & Adult Practice*: JP Medical Ltd; 2012.
62. Çelik O. Kulak burun boğaz hastalıkları ve baş boyun cerrahisi: Asya Tıp Kitabevi; 2007.
63. Si Y, Zhang ZG, Chen SJ, Zheng YQ, Chen YB, Liu Y, et al. Attenuated TLRs in middle ear mucosa contributes to susceptibility of chronic suppurative otitis media. *Human immunology*. 2014;75(8):771-6.
64. Bluestone CD. Pathogenesis of otitis media: role of eustachian tube. *The Pediatric infectious disease journal*. 1996;15(4):281-91.
65. Roland PS. Chronic suppurative otitis media: a clinical overview. *Ear, nose & throat journal*. 2002;81(8):8.
66. Dohar JE. All that drains is not infectious otorrhea. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2003;67(4):417-20.
67. S. Ö. Kronik süpüratif otitis media, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi İstanbul: Turgut Yayıncılık. 2002;1. Baskı, Onur Çelik, editör:160-3
68. Daniel SJ. Topical treatment of chronic suppurative otitis media. *Current infectious disease reports*. 2012;14:121-7.
69. Önerci M. Kulak Burun Boğaz Baş Boyun Cerrahisi Otoloji. Ankara: Matsa Basımevi. 2016:215-6.
70. Lim DJ, Saunders WH. Acquired cholesteatoma: light and electron microscopic observations. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*. 1972;81(1):2-12.
71. Prunty S, Ha J, Vijayasekaran S. Management of chronic suppurative otitis media. *Otitis Media: State of the art concepts and treatment*. 2015:117-22.
72. Dohar JE, Kenna MA, Wadowsky RM. In vitro susceptibility of aural isolates of *Pseudomonas aeruginosa* to commonly used ototopical antibiotics. *Otology & Neurotology*. 1996;17(2):207-9.
73. Hannley MT, Denny III Jc, Holzer SS. Use of ototopical antibiotics in treating 3 common ear diseases. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*. 2000;122(6):934-40.
74. Adrizzina I, Adenin LI, Lubis YM. Efficacy of boric acid as a treatment of choice for chronic suppurative otitis media and its ototoxicity. *Korean journal of family medicine*. 2018;39(1):2.

75. Kartush JM, Michaelides EM, Becvarovski Z, LaRouere MJ. Over-under tympanoplasty. *The laryngoscope*. 2002;112(5):802-7.
76. Cingi C. Kulak Burun Boğaz Enfeksiyonları. Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi KBB Anabilim Dalı. 2008.
77. Kanlıkama M. Otitis Medianın Komplikasyonları. *Kulak Burun Boğaz Baş Boyun Cerrahisi* 2016;Cilt1(Otoloji):235-58.
78. Albers FW. Complications of otitis media: the importance of early recognition. *Otology & Neurotology*. 1999;20(1):9-12.
79. Gersdorff M, Nouwen J, Decat M, Degols J, Bosch P. Labyrinthine fistula after cholesteatomatous chronic otitis media. *Otology & Neurotology*. 2000;21(1):32-5.
80. Ibekwe AO, Okoye BC. Subperiosteal mastoid abscesses in chronic suppurative otitis media. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*. 1988;97(4):373-5.
81. Samuel J, Fernandes C. Otogenic complications with an intact tympanic membrane. *The Laryngoscope*. 1985;95(11):1387-90.
82. Bluestone C, Klein J. Intracranial complications of otitis media and mastoiditis. *Pediatric Otolaryngology*, 4th ed, Saunders, Philadelphia. 2003:772-4.
83. Kangsanarak J, Fooanant S, Ruckphaopunt K, Navacharoen N, Teotrakul S. Extracranial and intracranial complications of suppurative otitis media. Report of 102 cases. *The Journal of Laryngology & Otology*. 1993;107(11):999-1004.
84. Hoşal İN. Kronik Otitis Media. İstanbul: Elit Ofset Matbaacılık; 2013;Çelik O, Otoloji ve Nörootoloji:255-84.
85. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins Basic Pathology: Robbins Basic Pathology E-Book: Elsevier Health Sciences; 2017.
86. Serhan CN, Gupta SK, Perretti M, Godson C, Brennan E, Li Y, et al. The atlas of inflammation resolution (AIR). *Molecular aspects of medicine*. 2020;74:100894.
87. Herrero-Cervera A, Soehnlein O, Kenne E. Neutrophils in chronic inflammatory diseases. *Cellular & molecular immunology*. 2022;19(2):177-91.
88. Peiseler M, Kubers P. More friend than foe: the emerging role of neutrophils in tissue repair. *The Journal of clinical investigation*. 2019;129(7):2629-39.
89. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. 2008;454(7203):428-35.
90. Serhan CN. Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annu Rev Immunol*. 2007;25(1):101-37.
91. Petersen M. Rosmarinic acid: new aspects. *Phytochemistry Reviews*. 2013;12:207-27.
92. Baytop T. Türkiye'de bitkiler ile tedavi: geçmişte ve bugün: Nobel Tıp Kitabevleri; 1999.
93. Shekarchi M, Hajimehdipoor H, Saeidnia S, Gohari AR, Hamedani MP. Comparative study of rosmarinic acid content in some plants of Labiatae family. *Pharmacognosy magazine*. 2012;8(29):37.
94. Zinsmeister HD, Becker H, Eicher T. Moose, eine Quelle biologisch aktiver Naturstoffe? *Angewandte Chemie*. 1991;103(2):134-51.
95. Swamy MK, Sinniah UR, Ghasemzadeh A. Anticancer potential of rosmarinic acid and its improved production through biotechnological interventions and functional genomics. *Applied microbiology and biotechnology*. 2018;102:7775-93.
96. Alagawany M, Abd El-Hack ME, Farag MR, Gopi M, Karthik K, Malik YS, et al. Rosmarinic acid: modes of action, medicinal values and health benefits. *Animal Health Research Reviews*. 2017;18(2):167-76.
97. Elufioye TO, Habtemariam S. Hepatoprotective effects of rosmarinic acid: Insight into its mechanisms of action. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019;112:108600.
98. Govindaraj J, Sorimuthu Pillai S. Rosmarinic acid modulates the antioxidant status and protects pancreatic tissues from glucolipotoxicity mediated oxidative stress in high-fat diet: streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecular and cellular biochemistry*. 2015;404:143-59.
99. Hasanein P, Mohammad Zaheri L. Effects of rosmarinic acid on an experimental model of painful diabetic neuropathy in rats. *Pharmaceutical biology*. 2014;52(11):1398-402.
100. Ngo YL, Lau CH, Chua LS. Review on rosmarinic acid extraction, fractionation and its anti-diabetic potential. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;121:687-700.

101. Osakabe N, Yasuda A, Natsume M, Yoshikawa T. Rosmarinic acid inhibits epidermal inflammatory responses: anticarcinogenic effect of *Perilla frutescens* extract in the murine two-stage skin model. *Carcinogenesis*. 2004;25(4):549-57.
102. Koç H. Bitkilerle sağlıklı yaşam: Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi; 2004.
103. Furtado MA, de Almeida LCF, Furtado RA, Cunha WR, Tavares DC. Antimutagenicity of rosmarinic acid in Swiss mice evaluated by the micronucleus assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2008;657(2):150-4.
104. Tuncay İ, Özbek H, Köşem M, Ünal Ö. A Comparison of effects of floroquinolones on fracture healing (An experimental study in rats). *Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery*. 2005;11(1):17-22.
105. Mycek J, Harvey A, Champe C. Lippincott Farmakoloji. Nobel, 2 Baskı, Bölüm 32, s: 323-327, İstanbul. 1998.
106. Tutkun A, Özagar A, Koç A, Batman C, Üneri C, Sehitoglu MA. Treatment of chronic ear disease: topical ciprofloxacin vs topical gentamicin. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 1995;121(12):1414-6.
107. Alper CM, Casselbrant ML, Dohar JE, Rose EAM, Kenna MA, Doyle WJ, et al. Treatment of chronic suppurative otitis media with topical ciprofloxacin. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*. 1998;107(10):865-71.
108. Brownlee RE, Hulka GF, Prazma J, Pillsbury HC. Ciprofloxacin: use as a topical otic preparation. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 1992;118(4):392-6.
109. Kaygusuz İ, Karlıdağ T, Gök Ü, Yalçın Ş, Keleş E, Demirbağ E, et al. Kronik süpüratif otitis media tedavisinde topikal siprofloksasin ve tobramisin dksametazon ile kullanımı. *The Turkish Journal of Ear Nose and Throat*. 2002;9(2):106-11.
110. Koestner JA. Ciprofloxacin: a new fluoroquinolone. *The American journal of the medical sciences*. 1989;297(2):128-31.
111. Force RW, Hart MC, Plummer SA, Powell DA, Nahata MC. Topical ciprofloxacin for otorrhea after tympanostomy tube placement. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*. 1995;121(8):880-4.
112. Dayasena R, Dayasiri M, Jayasuriya C, Perera D. Aetiological agents in chronic suppurative otitis media in Sri Lanka. *The Australasian medical journal*. 2011;4(2):101.
113. Vanneste P, Page C. Otitis media with effusion in children: Pathophysiology, diagnosis, and treatment. A review. *Journal of otology*. 2019;14(2):33-9.
114. KAZKAYASI M, ÖZÜNLÜ A, GEREK M, BAYSALLAR M. KRONİK SÜPÜRATİF OTİTİS MEDİA'DA TIBBİ TEDAVİ.
115. Şahin A, Kars A, Kılıç K, Sakat MS, Köyceğiz S, Yildirim S. Efficacy of boric acid therapy in a pseudomonas aeruginosa-induced chronic otitis media model in rats. *Cukurova Medical Journal*. 2022;47(3):1163-71.
116. Temiz H. Kronik Otitis Media'da Tiyol-Disülfid Homeostazının Değişikliği. *Dicle Tıp Dergisi*. 2021;48(1):197-204.
117. Nell MJ, Koerten HK, Grote JJ. Bactericidal/permeability-increasing protein prevents mucosal damage in an experimental rat model of chronic otitis media with effusion. *Infection and immunity*. 2000;68(5):2992-4.
118. Goycoolea MM, Juhn S, Paparella MM, Carpenter A-M. Cells involved in the middle ear defense system. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*. 1980;89(3_suppl):121-8.
119. Bhutta MF, Thornton RB, Kirkham L-AS, Kerschner JE, Cheeseman MT. Understanding the aetiology and resolution of chronic otitis media from animal and human studies. *Disease models & mechanisms*. 2017;10(11):1289-300.
120. Işılav ÖZ, HELVACIOĞLU F, Samet K, BABAKURBAN ST. Ratlarda Topikal Dekspantenolün Travmatik Kulak Zarı Perforasyonunda Miringoskleroz Üzerine Etkisi. *Journal of Ear Nose Throat and Head Neck Surgery*. 2018;26(3).
121. Ünsal N, Bayram A, Akay E, Yaşar M. The effect of allantoin on chronic perforation of rat tympanic membrane. *The Journal of International Advanced Otology*. 2021;17(3):251.

122. Menke NB, Ward KR, Witten TM, Bonchev DG, Diegelmann RF. Impaired wound healing. *Clinics in dermatology*. 2007;25(1):19-25.
123. Aslan A, Altuntas A, Titiz A, Arda HN, Nalca Y. A new dosage regimen for topical application of ciprofloxacin in the management of chronic suppurative otitis media. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*. 1998;118(6):883-5.
124. Nwabuisi C, Ologe F. Pathogenic agents of chronic suppurative otitis media in Ilorin, Nigeria. *East African medical journal*. 2002;79(4):202-5.
125. Englberger W, Hadding U, Etschenberg E, Graf E, Leyck S, Winkelmann J, et al. Rosmarinic acid: a new inhibitor of complement C3-convertase with anti-inflammatory activity. *International journal of immunopharmacology*. 1988;10(6):729-37.
126. Ghasemian M, Owlia S, Owlia MB. Review of anti-inflammatory herbal medicines. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*. 2016;2016(1):9130979.
127. Silva AMdOe, Machado ID, Santin JR, de Melo ILP, Pedrosa GV, Genovese MI, et al. Aqueous extract of *Rosmarinus officinalis* L. inhibits neutrophil influx and cytokine secretion. *Phytotherapy Research*. 2015;29(1):125-33.
128. Gamaro GD, Suyenaga E, Borsoi M, Lermen J, Pereira P, Ardenghi P. Effect of rosmarinic and caffeic acids on inflammatory and nociception process in rats. *International Scholarly Research Notices*. 2011;2011(1):451682.
129. Rocha J, Eduardo-Figueira M, Barateiro A, Fernandes A, Brites D, Bronze R, et al. Anti-inflammatory effect of rosmarinic acid and an extract of *Rosmarinus officinalis* in rat models of local and systemic inflammation. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2015;116(5):398-413.
130. Özdemir D, Ağrı İ, Bakırtaş M, Ağrı A, Mehel DM, Çelebi M, et al. The effect of rosmarinic acid on the prevention of myringosclerosis. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2019;126:109597.
131. Ekambaram SP, Perumal SS, Balakrishnan A, Marappan N, Gajendran SS, Viswanathan V. Antibacterial synergy between rosmarinic acid and antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*. 2016;5(4):358.