

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL AKUT OTİTİS MEdİADA ANTİBİYOTİK
VE ANTİOKSİDANLARIN SERBEST RADİKAL
HASARI ÜZERİNE ETKİSİ**

737880

**T.C. YÜKSEKÖRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

UZMANLIK TEZİ

137880

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Şinasi YALÇIN**

Erhan DEMİRBAĞ

ELAZIĞ - 2003

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr S. Sırrı KILIÇ

DEKAN

S. Sırrı Kılıç

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

[Signature]
Doç. Dr. Üzeyir GÖK

Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafınızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Şinasi Yalçın

[Signature]

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Üzeyir GÖK (Başkan)

Prof. Dr. Şinasi YALÇIN

Doç. Dr. Ziya ÇETİNKAYA

Yrd. Doç. Dr. Turgut KARLIDAĞ

Yrd. Doç. Dr. Erol KELEŞ

[Signatures]

TEŞEKKÜR

Mesleki, akademik ve sosyal tecrübelerini devamlı bizimle paylaşan, tez konumun seçiminde, değerlendirilmesinde destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Şinasi YALÇIN' a teşekkürü bir borç bilirim.

Uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde değerli katkılarını esirgemeyen her zaman yakın ilgi ve desteklerini gördüğüm ve daima göreceğime inandığım, başta Anabilim Dalı Başkanı'mız Doç. Dr. Üzeyir GÖK olmak üzere Yrd. Doç. Dr. İrfan KAYGUSUZ, Yrd. Doç. Dr. Turgut KARLIDAĞ ve Yrd. Doç. Dr. Erol KELEŞ' e ayrı ayrı teşekkür ederim.

Çalıştığım dönem boyunca birlikte olduğum, kendilerinden mesleki bilgiler yanında sevgi, saygı ve dostluğa dair pek çok şey öğrendiğim, ikinci aile ortamının değerli üyeleri olan kliniğimizin uzman ve asistan doktorlarına, hemşirelerine, sekreterlerine ve personeline özellikle teşekkür etmek isterim.

Tez çalışmamda katkılarından dolayı Doç. Dr. İbrahim ÖZERCAN, Yrd. Doç. Dr. Nevin İLHAN ve Yrd. Doç. Dr. Ahmet KIZIRGİL' e teşekkür ederim.

Ve göstermiş olduğu sonsuz anlayış ve fedakarlıklarından dolayı sevgili eşime ve hayatımıza uğur getiren oğluma minnettarım.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
I. ÖZET	1
II. ABSTRACT	2
III. GİRİŞ	3
A. OTİTİS MEDİA	6
B. AKUT OTİTİS MEDİA	9
B.1. Epidemiyoloji ve Etiyoloji	9
B.2. Patogenez	10
B.3. Patoloji	12
B.4. Mikrobiyoloji ve Bakteriyel Rezistans	13
B.5. Klinik	15
B.6. Tanı	16
B.7. Tedavi	17
C. SERBEST RADİKALLER	19
C.1. Süperoksit Radikali	20
C.2. Hidrojen Peroksit	22
C.3. Hidroksil Radikali	22
C.4. Singlet Oksijen	23
C.5. Ozon	24
C.6. Nitrojen Oksitleri	24
C.7. Hipoklorik Asit	25
D. SERBEST RADİKALLERİNİN TOKSİK ETKİLERİ	26
E. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ	29
E.1. Süperoksit Dismutaz	29
E.2. Katalaz	30
E.3. Glutasyon Peroksidaz	30
E.4. Glutasyon Redüktaz	30
E.5. Glutasyon	31
E.6. Askorbik Asit (C Vitamini)	31
E.7. Alfa-Tokoferol (E Vitamini)	32
E.8. A Vitamini	33

IV.	GEREÇ VE YÖNTEM	34
	A. DENEKLER	34
	B. STREPTOCOCCUS PNEUMONİAE' NİN HAZIRLANMASI	35
	C. DENEKLERİN İNOKÜLASYONU	35
	D. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME	36
	E. SERBEST RADİKAL ÖLÇÜMÜ	37
	E.1. Doku ve Eritrosit SOD Ölçümü	37
	E.2. Plazma MDA Ölçümü	37
	E.3. Doku MDA Ölçümü	37
	E.4. Hemoglobin Tayini	38
	E.5. Protein Tayini	38
	F. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	38
V.	BULGULAR	39
	A. HİSTOLOJİK BULGULAR	39
	B. BİYOKİMYASAL BULGULAR	43
	B.1. Plazma MDA Değerleri	43
	B.2. Doku MDA Değerleri	44
	B.3. Eritrosit SOD Değerleri	46
	B.4. Doku SOD Değerleri	47
VI.	TARTIŞMA	49
VII.	KAYNAKLAR	60
VIII.	ÖZGEÇMİŞ	72

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Otitis medianın sınıflandırılması.....	Sayfa 8
Tablo 2: Akut otitis media için risk faktörleri.....	Sayfa 9
Tablo 3: Orta kulak mukozasındaki histolojik bulgular.....	Sayfa 43
Tablo 4: Bütün gruptaki plazma MDA değerleri.....	Sayfa 43
Tablo 5: Orta kulak mukozası MDA değerleri.....	Sayfa 45
Tablo 6: Eritrosit SOD değerleri.....	Sayfa 46
Tablo 7: Orta kulak mukozası SOD değerleri	Sayfa 47



ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1 : E Vitamininin moleküler yapısı..... Sayfa 32
- Şekil 2 : Kontrol kulağında normal orta kulak mukozası..... Sayfa 40
- Şekil 3 : AOM grubu kobaylarda submukozal tabakada ödem..... Sayfa 41
- Şekil 4 : AOM grubu kobaylarda enflamatuar hücre infiltrasyonu
ve damarlanma artışı.....Sayfa 41
- Şekil 5 : Amoksisilin + E vitamini grubu kobaylarda azalmış
enflamasyon.....Sayfa 42
- Şekil 6 : Plazma MDA değerleri..... Sayfa 44
- Şekil 7 : Orta kulak mukozası MDA değerleri..... Sayfa 45
- Şekil 8 : Eritrosit SOD değerleri..... Sayfa 46
- Şekil 9 : Orta kulak mukozası SOD değerleri..... Sayfa 48

KISALTMALAR LİSTESİ

AOM	: Akut otitis media
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ET	: Eustachi tüpü
Fe ⁺²	: Ferröz Demir
Fe ⁺³	: Ferrik Demir
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GSH-Red	: Glutasyon redüktaz
GSSG	: Glutasyon disülfid
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HOCl	: Hipoklorik asit
LPO	: Lipid hidroperoksid
MDA	: Malonil dialdehit
NADP	: Nikotin amid adenin dinükleotid fosfat (Okside formu)
NADPH	: Nikotin amid adenin dinükleotid fosfat (Redükte formu)
NBT	: Nitrobluetetrazoliume
NO	: Nitrik oksit
NO ₂ ⁻	: Nitrojen dioksit
N ₂ O	: Nitröz oksit
O ₂	: Oksijen
O ₂ ⁻	: Süper oksit radikali
O ₂ ⁻²	: Peroksi anyonu
¹ O ₂	: Singlet oksijen
O ³	: Ozon
OH	: Hidroksil radikali
ONOO ⁻	: Peroksi nitrit
OM	: Otitis media
SOD	: Süperoksit dismutaz
SR	: Serbest Radikal
TM	: Timpanik membran
ÜSYE	: Üst solunum yolları enfeksiyonları

I. ÖZET

Serbest radikal (SR) ler bir veya daha fazla sayıda çiftlenmemiş elektron içeren oldukça reaktif ve toksik bileşiklerdir. Doku hasarının fizyopatolojisinde SR ler en önemli etkenlerdir. SR ler hücre membranındaki lipidlere zarar verdiği zaman Lipid hidroperoksit ve Malonildialdehid (MDA) oluşur. SR lere karşı organizmadaki ilk savunma süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile gerçekleşir.

Bu çalışmada akut otitis media (AOM) sonrası oluşabilecek SR hasarı araştırılarak, antioksidan ve antibiyotik tedavilerinin SR hasarı üzerine etkinlikleri karşılaştırıldı.

Çalışmaya alınan guinea piglerin sol kulaklarına Streptococcus pneumoniae, sağ kulaklarına ise serum fizyolojik verildi. Kobaylar AOM grubu (grup I), E vitamini grubu (grup II), amoksisilin grubu (grup III) ve amoksisilin + E vitamini grubu (grup IV) olarak gruplara ayrıldı. Tüm gruplarda plazma MDA ve eritrosit SOD düzeyleri ile orta kulak mukozalarında MDA ve SOD ölçümleri yapıldı.

Doku ve plazma MDA düzeyleri AOM oluşturulan grupta diğer tedavi gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.01$). Tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise grup III ve IV' ün doku MDA değerlerinin Grup II' ye göre anlamlı derecede düşük olduğu ($p<0.01$), fakat grup III ve IV arasında istatistiksel fark olmadığı görüldü ($p>0.05$).

Orta kulak mukozal SOD ve eritrosit SOD değerleri, grup I' de en düşük, grup IV' de ise en yüksek olarak bulundu. Grup I ve II arasında doku SOD değerlerinde anlamlı bir farklılık bulunamazken, bu iki grup ile grup III ve IV arasında istatistiksel fark tespit edildi ($p<0.01$).

Bu çalışmanın verileri, AOM sonrası orta kulakta SR hasarının oluştuğunu ve SR giderici tedavilerin uygulanması gerektiğini desteklemektedir. Çalışmamızda kullanılan E vitamininin SR hasarını azalttığı gösterilmekle birlikte, etkili antioksidan tedaviyi belirleyebilmek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Akut otitis media, serbest radikal, antioksidan tedavi, antibiyotik

II. ABSTRACT

Free radicals are reactive and toxic molecular species with one or more unpaired electron. They are the most important elements in the physiopathology of tissue injury. When free radicals cause injury to the lipids in cell membrane, lipid hydroperoxide (LPO) and malondialdehyde (MDA) are produced. First defence of organism against free radicals is catalyzed by superoxide dismutase (SOD).

The present study was evaluated the free radical injury that happened after acute otitis media (AOM) and the effects of antioxidant and antibiotic treatment on free radical injury. Guinea pigs were injected with *Streptococcus pneumoniae* in the left ear and sterile saline in the right ear. The animals were divided into AOM group (group I), Vitamin E group (group II), amoxicillin group (group III) and amoxicillin with vitamin E group (group IV). In all groups plasma MDA and erythrocyte SOD levels and middle ear mucosal MDA and SOD levels were assayed.

A statistically significant increase in tissue and plasma MDA levels in AOM group, as compared with treatment groups ($p < 0.01$). As comparing treatment groups levels of MDA in group III and IV were significantly lower than group II ($p < 0.01$), but there was not statistically significant difference between group III and IV ($p > 0.05$).

Middle ear mucosal SOD and erythrocyte SOD levels were lowest in group I and highest in group IV. There was not significant tissue SOD level difference between group I and II but there was statistically significant difference between group I, II and group III, IV ($p < 0.01$).

These results support that free radical injury happens after AOM and condition of free radical scavenging therapies have beneficial effects. This study demonstrated vitamin E decreased free radical injury but to establish the effective antioxidant treatment implication further studies are needed.

Key words: Acute otitis media, free radical, antioxidant treatment, antibiotic.

III. GİRİŞ

Akut otitis media (AOM), viral üst solunum yolları enfeksiyonları (ÜSYE) hariç, çocukluk çağının en sık rastlanan ve en fazla antibiyoterapi verilen hastalıklarından birisidir (1). Hastalığın neden olduğu büyük maliyetin yanında, çocukların kognitif, konuşma, dil ve emosyonel gelişimlerinde oluşturduğu olumsuz etkiler kaygı vermektedir (2).

Akut otitis media oluşumunda yaş, cinsiyet, ırk, genetik, beslenme alışkanlığı, çevresel şartlar ve sosyoekonomik faktörler rol almaktadır. AOM genellikle hayatın ilk 2 yılında, özellikle 6 ile 12. aylar arasında pik yapmaktadır. Bu yaşlarda AOM' ye olan yatkınlığın en önemli nedeni Eustachi tüpü (ET)' nün anatomik özelliğidir. ET otitis media patogenezinde merkez nokta konumundadır. ET' nin ventilasyon, drenaj ve koruma olmak üzere üç fonksiyonu vardır. Çocuklarda bu üç fonksiyon erişkinlerdeki kadar iyi olmadığından ET daha disfonksiyonel olmakta ve otitis media (OM)' ya yatkınlık artmaktadır (3,4).

Orta kulağın akut enfeksiyonları genellikle bir ÜSYE' yi izler. Viral ajanlar, ÜSYE patojeni olarak veya orta kulakta bakteriyel enfeksiyonla birlikte bulunmaları nedeniyle, patogeneze ayrı bir öneme sahiptirler. Viral patojenler bakterilerin inflame nazofarenks mukozasına yapışmasını kolaylaştırır, orta kulak ve ET' nin mukosilier aktivitesini bozar ve bakterilerin orta kulağa girmesine olanak sağlarlar (5). Viral enfeksiyonlar sıklıkla AOM' ye öncülük etseler de virüsler genellikle bakterilerin yanında kopatojen olarak yer alırlar ve sadece %6 olguda tek başlarına etken olarak bulunurlar (6-8). Genellikle timpanosentezden sonra %80 oranında bakteriyel patojen izole edilmektedir (9). AOM' deki baskın mikroorganizmalar; *Streptococcus pneumoniae*, tiplendirilemeyen (non-typeable) *Haemophilus influenzae* ve *Moraxella catarrhalis*' dir (2,5,10). AOM olgularının %40' undan *S. pneumoniae*, %25-30' undan *H. influenzae* ve %10-20' sinden *M. catarrhalis* sorumludur (11).

Serbest radikaller (SR) bir veya daha fazla eşlenmemiş (tek sayıda) elektron içeren ve bağımsız olarak bulunabilen çok kısa ömürlü kimyasal ürünlerdir. En önemli radikaller oksijenden üretildiği için serbest oksijen radikalleri olarak da adlandırılmaktadır. Eşlenmemiş elektronları nedeniyle son derece reaktif bir yapıya sahip olabilen SR' ler bu elektronlarını paylaşmak için diğer moleküllerle hızla reaksiyona girerek daha kararlı yapıları oluştururlar. Reaksiyona girdikleri

moleküller bir elektron azalarak yanındaki molekülden bir elektron alacak derecede reaktif hale gelirler. Böylelikle SR' ler bir zincir reaksiyonu şeklinde çoğalırlar (12,13).

Oksijen aerobik canlılarda meydana gelen oksidasyon tepkimeleri nedeniyle solunum sisteminde önemli rol oynar. Oksidasyon tepkimeleri yaşam için gerekli olup, tepkimeler esnasında oksijen molekülünden toksik olabilecek ara ürünler de oluşur ki bunlara genel olarak "Reaktif Oksijen Türevleri" denir ve daha çok serbest oksijen radikalleri olarak isimlendirilir (14,15).

Serbest radikaller in vivo olarak daha çok oksidatif fosforilasyonda, elektron transport zinciri esnasında normal metabolizma sonucu ortaya çıkarken, aynı zamanda ksanthin oksidaz ve nitrik oksit sentaz gibi enzimler tarafından da üretilebilirler (14). Fagositoz süresince nötrofil ve makrofajlar süperoksit radikali ve hidrojen peroksit üretirler. Bunun yanında radyasyon, oksijen toksisitesi, iskemi-reperfüzyon hasarı ve enflamasyon sonucunda da SR' ler ortaya çıkabilir (16,17).

Serbest radikallerin oluşumu ile hücrede glukoz-6-fosfataz enzimi inaktive olur ve membran permabilitesi artar. Lipid peroksidasyonuna bağlı olarak organellerde fonksiyon bozukluğu oluşur. Lizozomal fragilite artışı ile mikrozomal enzimlerde değişiklikler meydana gelir, sonuçta kollojen oluşumunda artış ve hücre ölümü görülür. Oksidasyon oluşurken membranlar daha sertleşir ve akışkanlığı azalır, membrandaki iyon pompalarının geçirgenliği artar ve kalsiyum iyonları içeri girer. Bu durum ise bir çok hastalığın patolojisinin açıklanmasında önemli bir göstergedir (18-20).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda OM' li çocuklardan elde edilen orta kulak sıvılarında enflamatuar mediatörlerin varlığı ve artışı gösterilmiştir. Leukotrien B₄, İnterlökin 8, İnterlökin-1 β , tümör nekrotizan faktör, kollogenazlar ve diğer bazı sitokinler AOM' ye bağlı orta kulak sıvılarında artmış olarak bulunmuştur (21-23).

Bu enflamatuar mediatörlerin yanında bir çok çalışmada SR' ler ile ilgili araştırmalar yapılmıştır. Deneysel çalışmalarda ve insan çalışmalarında hem orta kulak mukozasında hem de orta kulak sıvılarında SR hasarı sonucu oluşan lipid peroksidasyonun göstergesi olan lipid hidroperokside (LPO) ve malondialdehide (MDA) düzeylerinde artma olduğu rapor edilmiştir (17,24,25).

Otitis media esnasında orta kulakta SR oluşumunun 2 olası mekanizması mevcuttur. Bunlar *S. pneumoniae*'nin kendi üretimi olan SR'ler ve nötrofillerden enfeksiyona cevap olarak üretilen SR'lerdir. Üretilen SR'ler ve onların toksik ara ürünleri yüksek reaktifirler ve hücrenin lipid, protein, nükleotid ve karbonhidrat yapılarında kimyasal modifikasyona yol açarak doku hasarı oluştururlar (25).

Araştırmalarda antibiyotikle öldürülmüş bakterilerin orta kulağa inoküle edilmesinden sonra AOM'nin erken döneminde, mukozal hasara yol açabilecek SR üretiminin meydana geldiği gösterilmiştir (26). AOM sonrasında antibiyotikler bakteriyi yok ederken, enfeksiyonun eradikasyonundan sonra bile orta kulak sıvısında SR hasarına ait izler bulunabilmektedir (27).

Serbest radikallerin yarılanma ömürleri çok kısa olduğundan in vivo olarak ölçümleri çok güçtür. Bununla beraber SR'ler hücresel yapılarda belli bir oranda hasar oluştururlar ve bu hasar in vivo olarak değerlendirilebilir. SR'ler peroksidasyonla hücre membranındaki lipidlere zarar verdiği zaman LPO ve MDA üretilir ve bunların ölçümü SR hasarını değerlendirmede kullanılabilir (28).

Serbest radikal hasarının oluşumunu engellemek veya şiddetini azaltmak için SR giderici enzimler (Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi), antioksidan vitaminler (E, C ve beta-karoten gibi) ve diğer antiinflamatuvar ajanlar kullanılabilir (29). Yapılan bir çalışmada da kronik efüzyonu olan çocuklara glutatyon tedavisi uygulanmış ve tedaviden sonra orta kulak efüzyonlarında anlamlı derecede düzelmeye görüldüğü rapor edilmiştir (30).

Bu çalışmada koyalarda AOM sonrası orta kulakta MDA ve SOD düzeyleri araştırılarak, orta kulakta SR hasarının gelişip gelişmediği sorgulandı. Uygulanan antibiyotik ve antioksidan tedavilerin orta kulakta SR hasarı üzerine olan etkinlikleri araştırıldı.

A. OTİTİS MEDIA

Otitis media orta kulak ve temporal kemiğin havalı boşlukları ile ET' yi kaplayan mukozanın enfeksiyon ve enflamasyonu olarak tanımlanır (31). OM için zaman süreci içinde patolojinin anlaşılmasına bağlı olarak bir çok farklı sınıflandırma yapılmıştır. Genel olarak OM' ler süperatif ve nonsüperatif olarak sınıflandırılmış ve bu ayırım günümüze kadar devam etmiştir (32). Senturia ve ark. (33) 1978 yılında klinisyenleri ve bilim adamlarını bir araya getirerek otitis medianın tanımı, sınıflaması ve terminolojisine ilişkin bir konsensus oluşturmuştur ve OM' yi efüzyon yada perforasyon olup olmamasına göre sınıflandırmış ve bunları da sürelerine göre alt gruplara (akut, subakut ve kronik) ayırmıştır .

Klasik olarak OM' ler hastalığın başlangıç tarzına ve süresine göre sınıflandırılmaktadır (10);

Akut : Ani olarak başlayan ve 3 hafta içerisinde sonlanan OM' lerin hepsi bu grupta toplanmıştır.

Subakut : Üç hafta ile üç ay içerisinde devam eden OM' ler bu gruba dahil edilmelidirler. Üç hafta içinde iyileşmeyen AOM' lerin yanında, AOM sonrasında üç hafta içinde düzelmeyen efüzyonlar da bu grupta değerlendirilmelidir.

Kronik : Orta kulak ve diğer boşlukların mukozasının üç aydan daha uzun süren enfeksiyon ve enflamasyonlarını ifade eder. Üç aydan daha uzun süren perforasyonlu ve enflamasyonlu OM' ler ve yine AOM sonrası üç aydan daha uzun süren efüzyonlar kronik olarak adlandırılırlar.

Histopatolojik özelliklerine göre OM' ler;

Akut : Dokuda akut enflamasyonun klasik bulgularının olduğu, polimorfonüklear lökositlerin mukozayı infiltre ettiğini belirtir.

Subakut : Orta kulak mukozasında hem polimorfonüklear lökositlerin hem de mononüklear hücrelerin bulunduğu durumdur.

Kronik : Orta kulak mukoperiostiumunun mononüklear hücrelerle infiltre olduğunu belirtir. Eğer iltihabi reaksiyon mukoperiosteumda sınırlı ise OM sekelleri, iltihabi reaksiyon mukoperiosteumun da dışına taşmışsa OM komplikasyonları gelişir.

2002 yılında yapılan bir panelde Bluestone ve ark.' ları (34) daha önceki sınıflandırmalarda OM' nin şiddeti, sekelleri ve komplikasyonları ile ilgili durumların yer almadığına dikkat çekerek, günümüzdeki ilerlemiş teknolojik

gelişmelerle (mikroskopik inceleme ve tomografi) elde edilen bilgiler ışığında yeni bir sınıflandırma ve tanımlama yapmışlardır (Tablo 1). Bu panelde kabul edilen bazı tanımlar şunlardır:

Otitis media: Etiyoloji ve patogenez ile ilişkisiz olarak orta kulakta enflamasyon olmasıdır

Akut otitis media: Enfeksiyon belirti ve bulgularının hızla ortaya çıktığı, orta kulağın akut enflamasyonudur.

Efüzyonlu otitis media: Akut enfeksiyon bulgu ve belirtileri olmadan orta kulak boşluğunda sıvı toplanmasının söz konusu olduğu orta kulağın kronik enfeksiyonudur.

Orta kulak efüzyonu: Orta kulakta sıvı bulunmasıdır. Fakat bu terim etiyojii, patogenezi, süreci ve patolojiyi tam karşılayamamaktadır. Efüzyon ya akut otitis medianın yada efüzyonlu otitis medianın bir sonucu olabilir.

Efüzyonsuz otitis media: Orta kulakta efüzyon olmaksızın sadece orta kulak mukozasında ve timpanik membran (TM)' da enflamasyon olmasıdır. Bu durum otitis medianın erken evresinde veya rezolüsyon evresinde veya kronik hastalık döneminde görülebilir. Beraberinde Mirinjit olabilir veya olmayabilir (34).

Tablo1: Otitis medianın sınıflandırılması

1.Otitis media	
1.1 Akut otitis media	
1.2 Kronik otitis media	
1.2.1 Efüzyonlu	
1.2.2 Efüzyonsuz	
1.2.3 Akut atak	
2.Eustachi tüpü disfonksiyonu	
3.İntratemporal (ekstrakranial) sekeller ve komplikasyonlar	
3.1 İşitme kaybı	
3.1.1 İletim tipi	
3.1.2 Sensörinöral tip	
3.2 Timpanik membran perforasyonu	
3.2.1 Akut perforasyon	
3.2.1.1 Otitis media olmaksızın	
3.2.1.2 Otitis media ile birlikte (perforasyonlu AOM)	
3.2.1.2.1 Otore ile birlikte olan	
3.2.1.2.2 Otore ile birlikte olmayan	
3.2.2 Kronik perforasyon	
3.2.2.1 Otitis media olmaksızın	
3.2.2.2 Otitis media ile birlikte	
3.2.2.2.1 AOM ile birlikte	
3.2.2.2.1.1 Otore ile birlikte	
3.2.2.2.1.2 Otore olmaksızın	
3.2.2.2.2 Kronik otitis media (ve mastoiditis; Kronik süpüratif otitis media)	
3.2.2.2.2.1 Otore ile birlikte	
3.2.2.2.2.2 Otore olmaksızın	
3.3 Mastoidit	
3.3.1 Akut	
3.3.1.1 Otitis media ile birlikte akut mastoidit	
3.3.1.2 Periosteit ile birlikte akut mastoidit	
3.3.1.2.1 Subperiostal abse ile birlikte	
3.3.1.2.2 Subperiostal abse olmaksızın	
3.3.2 Kronik	
3.3.2.1 Kronik otitis media ile birlikte	
3.3.2.2 Kronik otitis media olmaksızın	
3.4 Apikal petrozit	
3.4.1 Akut	
3.4.2 Kronik	
	3.5 Fasial paralizi
	3.5.1 Akut
	3.5.2 Kronik
	3.6 Labirentit
	3.6.1 Akut
	3.6.1.1 Seröz
	3.6.1.1.1 Sınırlı
	3.6.1.1.2 Genel
	3.6.1.2 Süpüratif
	3.6.1.2.1 Sınırlı
	3.6.1.2.2 Genel
	3.6.2 Kronik
	3.6.2.1 Labirentin sklerozis
	3.7 Orta kulak atelektazisi
	3.7.1 Sınırlı
	3.7.1.1 Retraksiyon cebi olmaksızın
	3.7.1.2 Retraksiyon cebi ile birlikte
	3.7.2 Genel
	3.8 Aural akkiz kolesteatom
	3.8.1 Enfeksiyon olmaksızın
	3.8.2 Enfeksiyon ile birlikte
	3.8.2.1 Akut
	3.8.2.1.1 Otore olmaksızın
	3.8.2.1.2 Otore ile birlikte
	3.8.2.2 Kronik
	3.8.2.2.1 Otore olmaksızın
	3.8.2.2.2 Otore ile birlikte
	3.9 Kolesterol granulumu
	3.10 Ossiküler devamsızlık
	3.11 Adhesive otitis media
	3.12 Timpanoskleroz
	3.13 Ossiküler fiksasyon
	3.14 Enfeksiyöz egzematoid dermatit
	3.14.1 Akut enfeksiyöz egzematoid dermatit
	3.14.2 Kronik enfeksiyöz egzematoid dermatit
	4. İntrakranial komplikasyonlar
	4.1 Menenjit
	4.2 Ekstradural abse
	4.3 Subdural ampiyem
	4.4 Ensefalit
	4.5 Beyin absesi
	4.6 Dural sinüs trombozu
	4.7 Hidrosefalus

B. AKUT OTİTİS MEDIA

Akut otitis media ya da akut süpüratif otitis media, orta kulak ve temporal kemiğin havalı boşlukları ile ET' yi kaplayan mukozanın, birden başlayan ve klinik olarak açık enfeksiyon belirtileri ve bulguları ile seyreden ve kısa sürede orta kulak boşluğunda pürülan bir eksüdanın toplanması ile sonuçlanan bir OM tipidir (5).

Akut otitis media her yaştan insanı ilgilendiren ama özellikle çocukluk döneminde çok sık görülen bir enfeksiyondur (2,35). Çocuk kliniklerine başvuruda birinci sırayı % 23 ile viral ÜSYE alırken, AOM % 19 ile ikinci sıradada yer almaktadır (1).

B.1. Epidemiyoloji ve Etiyoloji

Akut otitis medianın epidemiyolojik özellikleri ve risk faktörleri incelenirken ele alınması gereken başlıca faktörler aşağıda sıralanmıştır (2,5,35), (Tablo 2).

Tablo 2. Akut Otitis Media İçin Risk Faktörleri

1. Yaşın küçük olması
2. Erkek cinsiyet
3. Kalabalık ortamda yaşama
4. Biberonla beslenme veya yetersiz anne sütü alımı
5. Sigara dumanına maruz kalma (aktif, pasif)
6. İlk atağın erken yaşta geçirilmesi
7. Evde AOM veya viral enfeksiyon öyküsü
8. Yetersiz sağlık koşulları ve yetersiz tedavi
9. Irk
10. Mevsim
11. Bağışıklık yetmezliği, yarı damak, silier diskinezi, Down sendromu gibi patolojik durumların bulunması
12. Düşük sosyoekonomik şartlar

Akut otitis mediaya yakalanma sıklığı ilk 2 yaşta, özellikle de 6-12 aylar arasında çok fazladır (4). Bu artışa ET' nin kısa ve horizontal pozisyonda olması, yaygın olarak viral ve bakteriyel patojenlere maruz kalma, enfeksiyona sınırlı cevap verme ve immünolojik özelliklerle açıklanabilir. İlk AOM atağı geçirme yaşı ile

reküren epizod arasında ise ters bir ilişki mevcuttur. Hayatın ilk aylarında AOM atağı geçiren çocuklarda AOM' nin tekrarlama ihtimali daha fazladır. Özellikle okula veya kreşe başlama ile ikinci pik dönemi başlar ve 11 yaşından sonra ise AOM sıklığı azalır. Yine konjenital veya kazanılmış immün yetmezliği olan çocuklarda ve down sendromlularda yüksek AOM insidansına rastlanır (2,5). Yapılan çalışmalarda erkek çocukların kız çocuklarına göre daha fazla AOM atağı geçirdikleri rapor edilmiştir (4).

Akut otitis media atakları aynı zamanda mevsimlerle de ilişkilidir. Kış aylarında AOM insidansı anlamlı olarak artarken bahar aylarında azalmaktadır (2). Bu durum kış aylarında kapalı ortamlarda kalabalık olarak yaşamakla ve sık ÜSYE geçirmekle ilişkilidir. Düşük sosyoekonomik düzey de AOM gelişiminde önemli bir risk faktörüdür. Özellikle kalabalık aileler, kötü hijyenik ortam, yetersiz beslenme, sigara dumanına maruz kalma, yetersiz anne sütü alımı, doktora geç başvurma ve yetersiz tedavi gibi durumlar AOM' nin sık tekrarlamasına ve kronikleşmesine yol açar. Düşük sosyoekonomik koşullar aynı zamanda sık ÜSYE gelişimine yol açarak beraberinde sık AOM atağı görülmesine neden olur (2,5,36).

Bir çok araştırmacı kronik ÜSYE ve ET' deki gelişimsel farklılıkların AOM patogenezindeki en önemli etiyolojik faktörler olduğunu kabul etmektedir. ET' nin ödem, tümör veya negatif intratimpanik basınçtan etkilenmesi, buradaki mukosilier aktiviteyi bozarak, enfeksiyonun farenks yoluyla timpanik kaviteye doğrudan yayılmasına ve AOM gelişmesine neden olmaktadır. Eğer TM' de perforasyon mevcutsa, enfeksiyon kaynağı bu perforasyondan orta kulağa ulaşabilir (35).

B.2. Patogeneze

Politzer zamanından beri ET, OM patogenezinde merkez nokta olmuştur. OM oluşması için nazofarengeal mukozaya bakterinin ulaşması, buradan ET' ye girmesi ve son olarak bakterinin orta kulakta çoğalması gerekmektedir (37).

Orta kulak, nazofarenkste ET ağzından mastoid hücrelere kadar uzanan bir boşluk sistemidir. Küboidal epitelle örtülü mastoid hücreler haricinde siliyalı respiratuar epitel ile kaplıdır. Nazofarenks ve orofarenks mikroorganizmalar açısından çok zengin olmasına rağmen orta kulak ve ET sterilidir. Bunun sebebi orta kulak ve ET' de mukus salgılayan goblet hücrelerinin bulunması ve ET' nin fonksiyonel olarak çalışmasıdır (38).

Eustachi tüpü nazofarenks ile timpanik kavite arasında yerleşmiş, bu iki yapı arasında anatomik devamlılığı sağlayan 3-4 cm uzunluğunda tubuler bir yapıdır. ET' nin 2/3 alt kısmı kartilajinözdür ve normalde kapalı pozisyonundadır. Yutkunma, esneme ve hapşırma sırasında aktif olarak açılır; kıkırdak yapısındaki esnek liflerin kapatıcı etkisi ve ekstrensek güçlerle pasif olarak kapanır. Tüpü açan asıl güç, trigeminal sinirin mandibular dalı ile innerve olan tensor veli palatini kasının kasılmasıdır. Levator veli palatini ise dolaylı katkı sağlamaktadır. ET' nin ventilasyon, drenaj ve koruma olmak üzere üç fonksiyonu vardır. Çocuklarda bu üç fonksiyon erişkinlerdeki kadar iyi değildir. İnfant ve erişkin ET' leri karşılaştırılırsa, infantlarda ET daha kısadır, daha horizontal yerleşimlidir ve daha fazla goblet hücresi içermektedir. Bu anatomik özellikler pediatrik ET' yi daha disfonksiyonel kılar. Bu anatomik farklılık 7 yaşında ortadan kalkmaktadır (3,37). Bluestone (39) nazofarenkse kontrast madde vererek yaptığı radyolojik incelemede 4 farklı fonksiyonel anomali tespit etmiştir. Bunlar; retrograd obstrüksiyon, anormal gevşeme, orta kulak reflüsü ve anormal gevşeme ile birlikte retrograd obstrüksiyondur. Orta kulağa reflü, yutkunmanın yanı sıra, burun temizleme ve burun çekme nedeniyle de olabilir. Patent ET orta kulak reflüsüne predispozisyon oluşturan ayrı bir patolojidir. ET' deki basınç değişiklikleri de tüpün fonksiyonel obstrüksiyonuna yol açabilmektedir .

Anatomik olarak da neoplazmlar, yarı damak ve büyük adenoidler ET obstrüksiyonu yapabilir. Çocuklarda adenoid boyutu ile otitis media insidansı arasındaki oran korale değildir. Otitis media patogeneğinde adenoid doku, anatomik obstrüksiyondan ziyade bakteri kaynağı olarak önem taşımaktadırlar (11,40). AOM' li hastaların nazofarenkslerinde %97 oranında patojen bakteriler izole edilmiş ve bunların orta kulak effüzyonlarından izole edilen bakterilerle %67 oranında korale olduğu gösterilmiştir (41). Bir başka çalışmada ise efüzyonlu otitis media nedeniyle opere edilen çocukların adenoid dokularında %87 oranında patojen bakteri bulunduğu rapor edilmiştir (42). Bluestone (43) 2807 kişi ile yaptığı çalışmada tüm yaş gruplarında %35 oranında S. pneumoniae, %23 oranında H. influenzae ve %14 oranında M. catarrhalis üretmiştir.

Nazofarenksteki patojen bakteri hücre yüzey reseptörüne spesifik olarak bağlanır. Genelde bu bakteriler nazofarenkse doğru temizlenebilirken, adezyon yeteneği fazla olanlar yaşamlarını buralarda sürdürmeye devam ederler. Özellikle çocuklarda adenoid doku patojenik bakterilerin önemli bir kaynağıdır. İnfluenzae A

virüsü gibi virüsler ise normal tubal mukozada destrüksiyon yaparak bakteriyel girişi kolaylaştırabilmektedir. Nazofarenkste çoğalan patojen daha sonra ET yolu ile orta kulağa ulaşmaktadır (5,44).

Otitis media gelişimindeki son aşama orta kulak boşluğunda bakteriyel replikasyon meydana gelmesidir. Bu yüzden otitis media immünolojisi büyük ilgi görmektedir. Akut yada kronik enfeksiyonda orta kulak boşluğunda biriken sıvıda çeşitli immünglobülinler, enflamatuar mediatörler, oksidatif ve hidrolitik enzimler ve humoral ve sellüler faktörler saptanmıştır. İnsan çalışmalarında AOM' de IgG predominant immünglobülin olarak tespit edilmiştir. Bazı klinik araştırmalarda otite eğilimli çocuklarda IgG₂ seviyesinin daha düşük olduğu ve bu çocukların nontypable H. influenzae'ya karşı daha fazla hassas olduğu rapor edilmiştir (45,46).

B.3.Patoloji

Orta kulağa mikroorganizma ulaşınca ilk cevap olarak tüm orta kulak mukozasında ve ET' de hiperemi ve ödem gelişir. Ardından seröz eksuda ve polimorfonükleer lökositler salınır. Mukozal hipertrofiyle birlikte basit kuboidal hücrelerin mukus üreten hücrelere metaplazisi görülür ve bu metaplazi mastoid hücrelere doğru yayılır. Bu dönemde orta kulakta sıvı birikimi yoktur. Otoskopik muayenede TM sağlam, hiperemik ve mat görünür. Daha sonra orta kulak ve mastoid kavitedeki hava absorbe edilir ve orta kulakta negatif basınç oluşur. Tüm kaviteye enflamatuar eksuda, mukus, bakteri ve lökositler dolar ve sonuçta orta kulak basıncı artar. Kulak zarı bombeleşir ve dışarı doğru itilir. Tedavi görmeyen vakaların %30' unda spontan perforasyon gelişir. Hastalığın seyri sırasında hastalık kendi kendini sınırlar ve spontan düzelebilir (36,47). Akut dönem bulguları geçtikten sonra orta kulaktaki efüzyon 2-3 ay kadar devam edebilir. Efüzyonların %50'si dört hafta içinde, %80'ni sekiz hafta içinde kaybolur (5). Efüzyon devam ediyorsa kıvamı serözden mukoid karaktere doğru değişir ve efüzyonlu otitis media gelişir. Tensor timpanide fibrozis ve kalınlaşma meydana gelir. Kasta meydana gelen bu kontraktür ve spazm, TM' de fiksasyona ve retraksiyona yol açar (48).

Otitis media kronikleşirse fibroblastik dansite artar ve kolumnar metaplazi görülür. Mukozada polipoid değişikliklerle birlikte lenfoid infiltrasyonu meydana gelir. Eğer epitelde ülserasyon meydana gelirse arkasından granülasyon dokusu gelişir. Osteitis ve osteogenezis sık olarak ortaya çıkar. Neovaskülarizasyon ile birlikte gevşek immatür granülasyon dokusu ve fibroelastik proliferasyon görülür.

Hastalık devam ettikçe subepitelial fibrozis ile birlikte matür granülasyon ve azalmış vaskülarite görülür. Bu durum iltihabın sürmesine, havalı boşlukların tıkanmasına ve ardından enzimatik yolla kemik erimesine neden olur (5).

B.4. Mikrobiyoloji ve Bakteriyel Rezistans

Akut otitis media çoğu olguda bakteriyel bir hastalık olarak karşımıza çıkar. Her ne kadar viral enfeksiyonlar sıklıkla AOM' ye öncülük etseler de virüsler genellikle bakterilerin yanında kopatojen olarak yer alırlar ve sadece %6 olguda tek başlarına etken olarak bulunmaktadır. Epidemilerde ve izole durumlarda timpanik kavite eksudalarından yapılan kültürlerde respiratuar sinsitial virüs, adenovirüs, rinovirüs ve influenza A ve B virüsleri elde edilmiştir (6-8). En yaygın olarak da respiratuar sinsitial virüs bulunmaktadır (4).

Genellikle timpanosentezden sonra %85 oranında bakteriyel patojenler izole edilmektedir (9). AOM' deki baskın mikroorganizmalar; *Streptococcus pneumoniae*, tiplendirilemeyen (non-typeable) *Haemophilus influenzae* ve *Moraxella catarrhalis*' tir (2,5,10). AOM olgularının yaklaşık % 40' undan *S. pneumoniae*, %25-30' undan *H. influenzae* ve %10-20' sinden *M. catarrhalis* sorumludur (11). Daha az sıklıkla rastlanan patojenler ise: A grubu streptokoklar (%3), *Staphylococcus aureus* (%2) ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi gram negatif organizmalardır (%1-2). Bunların içinde patojenitesi en yüksek olan *S. pneumoniae*' dir. Rekürren AOM olgularında ise tiplendirilemeyen *H. influenzae* önemli bir yer tutmaktadır (4,31). Block ve ark. (49) ise timpanosentez yapılmış 101 çocuğun %8' inden *Chlamydia pneumoniae* izole etmişlerdir. AOM' li çocukların orta kulak boşluğundan nadiren *Mycoplasma pneumoniae* da elde edilebilir. İn vitro olarak bu atipik patojenler β -laktam ve sulfo antibiyotiklere dirençli; makrolidler, tetrasiklinler ve kinolonlara ise duyarlıdır. Bununla birlikte tetrasiklinler 8 yaş, kinolonlar ise 16 yaş altında kullanılmamaktadır (50).

Bakteriyel rezistans AOM' de gittikçe artan önemli bir sorundur. Orta kulaktan izole edilen bakterilerde rezistans 2 yolla gerçekleşmektedir. Bunlardan biri beta laktamaz üretimi, diğeri ise penisilin-binding proteinlerde meydana gelen modifikasyonlardır (51). 1990' lı yıllardan önce *S. pneumoniae*' nin çoğu suşu 0.06 μ g/dl minimum inhibitör konsantrasyondaki veya daha düşük konsantrasyondaki penisiline duyarlı iken günümüzde çocukların nazofarenkslerinde %40 oranında penisiline rezistans pnömokoklar görülmeye başlanmıştır (52). Efüzyonlu otitis

mediası olan çocukların adenoid dokularında ise % 48 oranında oxacilin sodyum veya beta laktamaz direnci tespit edilmiştir (42).

H. influenzae suşlarının yaklaşık %55' i ve M. catarrhalis' in hemen hemen tüm suşları β -laktamaz üretmektedirler. M. catarrhalis tarafından üretilen β -laktamaz enzimleri, H. influenzae' nin β -laktamaz enzimlerine göre daha zayıf etkilidir ve multiple antibiyotik rezistansı yaygın değildir (53,54). Bu suşlar, amoksisiline direnç geliştirip, ikinci kuşak sefalosporinlerin çoğunda duyarlılığı azaltsalar da çoğu olguda β -laktam antibiyotik ile β -laktamaz inhibitörlerinin kombinasyonu ya da β -laktamaz stabil antibiyotik kullanılmasıyla rezistansın üstesinden gelinir (35).

Son yıllarda S. pneumoniae rezistansı dünya çapında anlamlı bir artış göstermiştir (55). Bu prevalans 24 aydan küçük çocuklarda, kreş veya kalabalık aile gibi ortamlarda yaşayan çocuklarda ve β laktam ilaç kullananlarda nispeten daha yüksek bulunmuştur (56).

S. pneumoniae suşları arasındaki primer rezistans mekanizması penisilin-binding proteinlerde meydana gelen değişikliklerdir. Proteinlerde meydana gelen değişiklikler antibiyotiklerin bağlanma affinitesini azaltarak rezistans oluştururlar (53). Bilinen en az 6 penisilin-binding protein vardır ve bu proteinlerdeki değişikliklerin fazla olması ile artmış rezistans arasında korelasyon bulunmaktadır. Bir başka deyişle rezistans aşamalı bir tarzda meydana gelmektedir. Bu mekanizma ile çok yüksek konsantrasyonlardaki antibiyotiklere bile rezistans gösterebilirler. S. pneumoniae suşlarında makrolidlere karşı gelişen rezistans ise iki mekanizma ile olmaktadır. Bunlardan biri efflux pompasıdır ve düşük rezistanstan sorumludur, diğeri ise ribozomlardaki değişikliklerdir ve bu da yüksek rezistanstan sorumludur (50).

A grubu Streptokoklar küçük çocuklarda AOM' nin yaygın olmayan etkenleridir ve özellikle 48 aydan büyük çocuklarda görülen AOM' lerin %13' ünden sorumludurlar. Her ne kadar bu organizmalar için penisilin rezistansı rapor edilmemişse de streptokokkal farenjitli hastaların %20-30' unda penisilin ve eritromisin başarısızlığı söz konusudur (57).

B.5. Klinik

Akut otitis media kliniğinde en fazla karşılaşılan semptomlar; kulak ağrısı, ateş, huzursuzluk, kulak akıntısı, işitme kaybı, üst ve alt solunum yolu enfeksiyon

bulgu ve belirtileri, kusma, ishal ve eğer komplikasyon gelişmişse bunlara ait bulgulardır (31,35).

Genellikle hastalar hekime kulak ağrısı ile başvururlar. Ağrı tek taraflı olabilir veya yer değiştirebilir. ÜSYE sırasında ortaya çıkan kulak ağrıları ise sıklıkla yansıyan ağrılardır. Ağrı ile birlikte işitme kaybı, kulakta dolgunluk hissi ve dengersizlik gibi semptomların olması AOM lehinedir (5).

Akut otitis medialis vakaların ancak %50' lik kısmında ateş vardır ve 39-40 C' ye çıkabilir. Diğer %50' lik kısımda ise ateş ya yoktur veya subfebril seyreder. Çocuklarda ateş sık görülen bir semptom olduğundan otoskopik muayenesi normal olan hastalarda başka enfeksiyon kaynağı araştırılmalıdır. Ateş ile birlikte özellikle çocuklarda oyun, uyku ve beslenme alışkanlıklarında değişiklikler gibi huzursuzluk belirtilerinin ortaya çıkması AOM olasılığını artırır. Ateş ne kadar şiddetli ise, çocuk ne kadar küçük ise, genel enfeksiyon belirtileri ne kadar bariz ise bir komplikasyon ihtimali o oranda yüksektir (5,31).

Akut otitis mediada kulak zarında perforasyon meydana gelirse kulak akıntısı ortaya çıkar. Genellikle perforasyonla birlikte ateş düşer, ağrı azalır veya kaybolur. Akıntı genellikle başlangıçta kanlıdır, sonra kanlı-pürülan ve daha sonra pürülan karakter alır. Perforasyon genellikle ön kadrantadır ve küçüktür. Akıntı 72 saatten fazla sürmez ve ardından perforasyon kapanır (35,58).

Akut otitis medialis hastalarda iletim tipi işitme kaybı gelişir. Fakat bu durum hastanın yakınmalarında öncelik teşkil etmez ve genellikle sorulunca öğrenilebilir. Bazen erişkin hastalar tarafından ise kulakta dolgunluk yada tıkanıklık hissi şeklinde belirtilir. Sık olmayarak tinnitus ve baş dönmesi yakınmaları görülebilir (31).

Hastaların büyük bir kısmında yakın zamanda geçirilmiş ÜSYE anamnezi veya belirtileri olabilir. Hastanın boğaz ağrısı, ateş, burun tıkanıklığı, öksürük ve genel kırgınlık haline kulak semptomları eklenebilir (59).

Akut otitis media kliniği klasik olarak 5 ayrı dönemde incelenir. Bunlar hiperemi evresi, eksüdasyon evresi, süpürasyon evresi, koelesan evre ve komplikasyon evresidir. Pratikte bu dönemlerin birbirinden ayırt edilmesi pek mümkün değildir. Esas olarak hastalığın gelişimi üstüne değerlendirme yapma olanağı sağlarlar (5,10).

B.6. Tanı

Akut otitis media tanısında en önemli aşama dış kulak yolu, kulak zarı ve orta kulak boşluğunun otoskopik muayenesidir. Normal kulak zarı saydam sedef renginde ve hafif konkavdır. Saydamlığı nedeniyle zaman zaman korda timpani ve inkudostapedial eklem gibi orta kulak oluşumları mikroskopla veya endoskopta yapılan incelemelerde görülebilir (60).

Akut otitis mediada otoskopik muayenede timpanik zar hiperemik ve bombedir. Topografik ayrıntıları siliktir. Pnömotik otoskopta yapılan muayenede timpanik zar hareketleri kısıtlıdır yada hiç hareket etmez. Süpürasyon safhasında ise perforasyon ve buradan gelen drenaj izlenebilir (31,35).

Hasta genel olarak halsiz ve enfeksiyon belirtileri göstermektedir. Burun ve nazofarenksin incelenmesinde sıklıkla vasküler konjesyon ve ödem saptanır. Pürülan akıntı ve kurutlanma olabilir. Nazofarenkste veya orofarenkste AOM gelişimine predispozisyon yaratacak patoloji varsa bunlar rekürren AOM açısından önem taşır (35).

Timpanometri dış kulak yolu hava basıncı değişikliklerinin, kulağın akustik admittansı (geçirgenlik) üzerine olan etkisinin ölçülmesidir. Dış kulak yolu basıncının -400 daPa ile +100 daPa arasında değiştirilmesi sırasında kulak zarından geri yansıyan enerjinin kaydedilmesi ile timpanogram elde edilir (31). Timpanogram, rutin AOM tanısında kullanılmamaktadır fakat orta kulakta sıvı varlığını veya yokluğunu ve TM hareketliliğini ortaya koymak için yararlı olabilir. Muayene edilemeyen çocukta normal timpanogram elde edilmesi, AOM tanısını ekarte etmekte destekleyici bir bulgu değildir (35,59).

Akustik reflektometri ile timpanometriden farklı olarak basınç ve hacim parametreleri kullanmadan kulak zarına bir ses dalgası yollanarak, kulak zarının kalınlığı ve orta kulakta sıvı olup olmadığı hakkında doğrudan bilgi elde edilir. 80 desibel şiddetinde ve 2000-4500 Hz arasında değişen frekanslarda bir ses 100 milisaniyelik bir zaman içinde uygulanır. Normalde kulak zarı sesin çok büyük bir bölümünü emer ve çok az bir kısmı yansır. Otitis media varlığında, yansıyan kısım artmıştır. Orta kulaktaki efüzyonunun varlığı açısından %95 güvenilir sonuç verir. AOM' nin hem tanısında hem de kontrollerde başarıyla kullanılabilir (61).

Akut otitis mediada bu tanı yöntemlerinin yanında basit diapozon testi ve pürtone odiyometri ile iletim tipi işitme kaybı varlığı gösterilebilir. Auditory

brainstem response (ABR) ile iletim veya sensörinöral tip işitme kayıplarının ayrımı yapılabilir fakat bunlar rutin olarak kullanılmamaktadırlar (35,58).

Tüm bu tanı yöntemlerinin yanında komplikasyon düşünülen olgularda radyolojik görüntüleme (konvansiyonel grafiler ve BT) ve etken organizmanın identifikasyonu ve tedavi amacıyla miringotomi ve timpanosentez yapılabilir (31,35).

B.7. Tedavi

Akut otitis media tedavisinde antibiyotiklerin kullanılması ile, hastalığın iyileşmesinde ve komplikasyonların önlenmesinde önemli derecede ilerleme sağlanmıştır. Fakat son yıllarda AOM olgularına antibiyotik verilmese bile, birkaç gün içinde spontan iyileşmenin ortaya çıktığı ve olgularda belirgin bir komplikasyon artışı gözlemlenmediği rapor edilmektedir ve eğer hastalık semptomları 3-4 günden fazla sürüyorsa antibiyotik tedavisi önerilmektedir (62). Bluestone (1) ise günümüzde AOM vakalarında viral etkenlerin ve yanlış tanının önemine işaret ederek, bu hastalarda antibiyotik kullanmadan spontan iyileşmenin olabileceğine dikkat çekmiştir. Bunun yanında H. influenzae ve M. catarrhalis' in etken olduğu AOM olgularının yarısında antibiyotik verilmeden bakterinin orta kulaktan kaybolduğu fakat buna karşın pnömokokların sorumlu olduğu AOM' lerde orta kulaktaki etkenin antibiyotik kullanılmadan kendiliğinden temizlenmesinin söz konusu olmadığı belirtilmektedir (62). Genel olarak bu bilgiler ışığında AOM' li olguların ancak 1/3' ünde antibiyotik kullanımının mutlak gerekli olduğu bildirilmektedir. Fakat klinikte bu %30' luk hasta grubunun belirlenme olanağının olmaması ve olguların en az %70-80' ninin bakteriyel olduğunun bilinmesi nedeniyle bütün AOM olgularında antibiyotik kullanılması önerilmektedir (1).

Akut otitis mediada antibiyotik tedavisi ampirik tedavi şeklinde veya orta kulak efüzyonunun kültürüne göre başlanabilir. Antibiyotik seçimi ve süresi konusunda kesin bir fikir birliği olmamasına rağmen ilk tercih edilmesi gereken ilaç olarak klavulanik asitle birlikte yada tek başına amoksisilin önerilmektedir (35). Eğer hasta herhangi bir sebeple amoksisilin kullanıyorken AOM atağı geçirdiyse, son bir ay içerisinde amoksisilin kullanmışsa, amoksisilin tedavisine rağmen 5 gün içerisinde bariz iyileşme görülüyorsa, penisilin allerjisi varsa veya yeni doğan döneminde AOM geçirirse (Bu dönemde AOM genellikle Gr (-) organizmalarla meydana gelir) amoksisilin dışında bir antibiyotik seçilmelidir (5).

Timpanosentez ile kültür alınmasının zorluğu ve bu nedenle antibiyogram yapılamaması, ayrıca β -laktamaz üreten organizmaların gittikçe artan insidansı nedeniyle genel olarak AOM tedavisinde beta laktamaz inhibitörleri ile kuvvetlendirilmiş ampisilin veya amoksisilin yada beta laktamazdan etkilenmeyen ikinci kuşak sefalosporinler tercih edilmektedir (50).

Akut otitis medialı olguların hepsinde kullanılması önerilen ilaçlar yalnızca analjeziklerdir. Hastaların çoğu çocuk olduğundan nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar tercih edilmelidir. Bu ilaçların antipiretik etkileride olması istenen bir durumdur (5).

Lokal veya sistemik dekonjestanlar, özellikle beraberinde ciddi ÜSYYE' leri olanlarda verilebilir, ama sadece AOM' si olan olgularda tedaviye bir katkısı bulunmamıştır. Yine antihistaminikler ve mukolitiklerin AOM tedavisinde olumlu bir etkisi gösterilememiştir (10).

Akut otitis mediada parasentez yapılması ile ilgili yapılan çalışmalarda, parasentez yapılmasının hastalığın iyileşme süresini veya işitme seviyesini etkilemediği ve hastalığın komplikasyon sürecine girmesini ya da kronik effüzyonlu otitis mediaya dönüşmesi olasılığını değiştirmedeği gösterilmiştir (63). Fakat hastada kültür alma endikasyonu varsa, eksüdasyon safhasında ağrı çok şiddetli ise veya AOM tedavisi sırasında komplikasyon geliştiğinden şüphe ediliyorsa parasentez yapılabilir. Fasial paralizili olgularda veya rekürren AOM anamnezi olanlarda, parasentez sonrası ventilasyon tüpü takılabilir (5,35,58).

C. SERBEST RADİKALLER

Atom, pozitif yüklü protonlar ve yüksüz nötronlardan oluşmuş bir çekirdek ile çevresinde bulunan negatif yüklü elektronlardan meydana gelmiştir. Elektronlar, Bohr atom kuramına göre çekirdek etrafında belli enerji düzeylerinde ve orbital adı verilen yörüngelerde hareket etmektedirler. Herhangi bir orbitalde en fazla iki elektron bulunabilir ve Pauli' nin eksklüzyon prensibi uyarınca bu elektronların ters (antiparalel) spinli olması gereklidir (64). Birçok molekülün en dış orbitalinde bulunan ve ters spinli elektron çifti, moleküle en kararlı konfigürasyonu vererek, diğer bileşiklerle değerlilik ve kovalent bağ kurallarına göre reaksiyonlara girmesini sağlamaktadır (12).

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşlenmemiş (tek sayıda) elektron içeren ve bağımsız olarak bulunabilen çok kısa ömürlü kimyasal türevlerdir. Eşlenmemiş elektronları nedeniyle son derece reaktif bir yapıya sahip olabilen SR' ler bu elektronlarını paylaşmak için, diğer moleküllerle hızla reaksiyona girerek, daha kararlı yapıları oluştururlar. Reaksiyona girdikleri moleküller bir elektron azalarak yanındaki molekülden bir elektron alacak derecede reaktif hale gelirler. SR' ler bir zincir reaksiyonu şeklinde çoğalırlar (12,13).

Oksijenin hayati öneminin yanı sıra aşırı oksijenin doku hasarında potansiyel bir kaynak olduğu fikri 1780' lere dayanmaktadır. Bu tarihten sonra birçok deney hayvanı ve insanlar üzerinde SR' ler üzerinden gelişen oksijen toksisitesinin klinik bulguları tanımlanmıştır. Oksijenin klinik kullanımı 1920' lere dayanmaktaysa da moleküler oksijen kaynaklı doku hasarı son yıllarda klinisyenlerin dikkatini çekmeye başlamıştır. Günümüzde doku hasarı ve hücre ölümünün, birçok metabolik reaksiyon sonucunda meydana gelen SR' lerin yeterince ortadan kaldırılamaması sonucunda ortaya çıktığı görüşü benimsenmektedir (65,66).

Oksijen, havada nitrojenden sonra en yüksek oranda bulunan moleküldür. Canlılarda iki temel görevi vardır; birincisi yapısal özellikte olup organizmayı oluşturan maddelerin yapısına katılmasıdır. İkincisi fonksiyonel nitelikte olup, aerobik canlıların solunum sisteminde rol almasıdır. Oksijenin bu fonksiyonel görevi yalnız aerobik canlılar için geçerlidir. (14,15).

Hiperoksijenizasyon, iskemi/reperfüzyon, enflamasyonlu hastalıklar, toksik doku yaralanmaları gibi durumlarda SR' lerin önemli bir rolü olduğu açıktır.

Bununla birlikte SR aracılığıyla nötrofiller bakterileri öldürmekte, radyasyon normal ve malign dokulara zarar vermekte ve bir çok ilaç karsinojen ve toksik ajan etkisi göstermektedir (67-69).

Oksijen, aynı anda iki elektron almasını engelleyen spin paralelliği nedeniyle elektronları tek tek alarak veya vererek reaksiyona girmeyi tercih etmektedir. Böylece iki orbitalinde eşlenmemiş birer elektronu bulunan moleküler oksijen ve elektronların tek tek eklenmesi ile bazıları SR özelliği taşıyan reaktif oksijen türevleri oluşmaktadır (13,70).

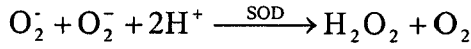
C.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)

Moleküler oksijen, dış orbitalinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu elektronlar paylaşılmadığında, ayrı ayrı orbitallerde bulduklarında veya spinleri aynı yönde olduğu zaman en düşük enerji seviyesindedirler. Bu dış orbitalden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu (süperoksit radikali), iki elektron alması ile de peroksi anyonu (O_2^{-2}) oluşur (71). Süperoksit radikali bir elektron daha alabilir ve böylece oluşan peroksi anyonu ortamdaki iki proton alarak hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşturabilir. Süperoksit radikali aynı zamanda aldığı elektronu başka bir elektron alıcıya vererek tekrar oksijene oksitlenebilir ve böylece indirgeyici olarak davranabilir. Başka bir yoldan ise iki süperoksit radikali birbiri ile etkileşerek biri oksitlenirken diğeri ise indirgenir ve böylece H_2O_2 ve Oksijen meydana gelir (68).

Canlılarda süperoksit radikallerinin oluşumuna neden olan olay ve etkileri iki grupta toplanır. Bunlar çevresel etkiler ve canlılarda metabolik faaliyetlerdir (72). Süperoksit anyon radikalinin temel kaynağı mitokondri ve endoplazmik retikulum elektron transport zincirleridir. Elektronlardan bir kısmı indirgenmiş elektron taşıyıcılarından kaçarak direkt olarak moleküler oksijene taşınır. Oksijen elektronları tek tek aldığı için süperoksit radikali ortaya çıkar. İkinci önemli süperoksit kaynağı ise aktive olmuş fagositik hücrelerdir. Oponize partiküllerin fagositlerle teması sonucu gelişen solunum patlaması ile ortaya çıkan süperoksit radikalleri fagosite edilmiş bakterinin ölümüne neden olurlar (70,73). Süperoksit anyon radikali özellikle iskemi-reperfüzyon sürecinde hidroksil radikali ile birlikte aşırı miktarda üretilmektedir. Bu radikaller tüm diğer toksik oksijen metabolitleri gibi direkt olarak

biyolojik moleküllere hasar vermekle birlikte diğer bir endojen SR olan nitrik oksit (NO) ile reaksiyona girerek kuvvetli bir oksidan olan peroksinitriti (ONOO) oluşturmaktadır (74).

Süperoksit radikali süperoksit dismutaz adı verilen enzim ailesinin katalize ettiği reaksiyonlar ile elimine edilir. Bu reaksiyon spesifik katalizörü olmadığı halde nötral pH da oldukça hızlıdır (75).

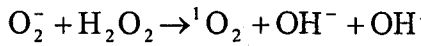


Süperoksit radikali solunum hücrelerinde çoğunlukla suya indirgenerek tüketilir. Süperoksit radikalleri sulu ortamda önemli ölçüde birikmezler, kendiliğinden dismutasyonla ortamdaki temizlenir veya H₂O₂ oluşturabilirler. Fakat SOD ile katalizlenen enzimatik dismutasyon hücre içi koşullarda kendiliğinden dismutasyondan 10⁹ kez daha hızlıdır (76,77).

Süperoksit radikali pKa' sı zayıf bir baz olduğundan kendiliğinden dismutasyon hızı pH' dan önemli ölçüde etkilenir. Bu nedenle asidik ortamda kendiliğinden dismutasyon daha hızlıdır ve bu koşullarda süperoksit radikalinden kolaylıkla H₂O₂ yapılır. Oysa nötral pH veya alkali pH' da iki süperoksit anyonu arasındaki elektrostatik itme nedeniyle kendiliğinden dismutasyon çok daha yavaş ilerler (71).

Süperoksit radikali bir seri tepkimelerle diğer radikallerin oluşumuna neden olur. Ortamda biriken süperoksit radikalinin girebileceği başlıca tepkimeler şunlardır (71);

1. Süperoksit radikali kendiliğinden dismutasyona uğrayabilir.
2. Ortamdan bir proton alarak perhidroksi radikali oluşturabilir.
3. Hidrojen peroksit ile tepkimeye girerek hidroksil radikali (OH) ve singlet oksijen (¹O₂) oluşturabilir.



4. Diaçil peroksitlerle veya diğer tepkimeler ile singlet oksijen yapımına neden olabilir.

Süperoksit radikalinin oluşturduğu bu radikaller diğer radikalik tepkimeleri başlatırlar ve süperoksidin kendisinden çok daha reaktif ve toksik radikaller

oluştururlar. Bu nedenle süperoksit radikalleri oluştuğu anda uzaklaştırılmazlarsa, diğer radikallerin oluşması kaçınılmazdır. Gerçekten de canlılarda oksijenin toksisitesine karşı savunma bu basamakta başlamaktadır. Bu korunma SOD tarafından başarılmakta olup, enzimin görevi süperoksit radikallerinin dismutasyonunu katalizlemektir (68,71,76).

C.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Süperoksit radikaline ikinci bir elektron ilavesi ile oluşan peroksit iyonu fizyolojik pH da hızla protonlanarak hidrojen peroksidi oluşturur. Ayrıca hidrojen peroksit, süperoksit radikalinin spontan veya enzim katalizli reaksiyon aracılığı ile dismutasyona uğraması ile de oluşabilmektedir. (78).

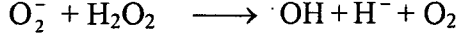
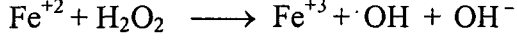
Hidrojen peroksit, geçici metal iyonları yokluğunda kısmen zayıf bir oksidan ve zayıf bir indirgeyici ajan olup, yüksüz kovalent yapısı nedeniyle süperoksit radikalinin aksine biyolojik membranlardan kolaylıkla geçebilmektedir. Hidrojen peroksidin redoks özelliği ve geçiş metal iyonları varlığında hidroksil radikali gibi çok reaktif SR' ler oluşturabilme potansiyeli nedeniyle organizmada bu türe karşı savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. İstenmeyen H_2O_2 , hücrelerden katalaz, glutatyon peroksidaz ve diğer bazı peroksidazlar aracılığı ile uzaklaştırılmaktadır (79).

C.3. Hidroksil Radikali ($\cdot OH$)

Hidroksil radikali canlı hücrelerdeki her tip molekülle çok yüksek bir hız sabitesi ile reaksiyona girmesi nedeniyle en toksik reaktif oksijen molekülü olarak kabul edilmektedir (78).

Hidroksil radikalleri suyun yüksek enerjili iyonizasyonu (radyolizis) ile oluşabilir ve bu oluşan $\cdot OH$ radikallerinin biyolojik moleküllerde oluşturduğu hasar minimaldir. 1890' larda ilk kez Fenton tarafından tanımlanan ve Fenton reaksiyonu olarak bilinen tepkimede H_2O_2 , ferröz demir (Fe^{+2}) ile reaksiyona girer ve güçlü bir oksidan olan demir oksijen kompleksi, ferril oluşur. Ferril ise, $\cdot OH$ vermek üzere parçalanır. Oluşan ferrik demir (Fe^{+3}) ya H_2O_2 ile ileri bir reaksiyona girerek Fe^{+2} ye indirgenirken süperoksit radikali ortaya çıkar ya da ortamdaki askorbik asid veya

süperoksit varlığında yeniden Fe^{+2} ye indirgenebilir. Ferrik demirin süperoksit anyon radikali ile reaksiyonu, ferril veya hidroksil iyonundan daha zayıf bir oksidan olan perferril üzerinden gelişerek Fe^{+2} ve O_2 oluşturmaktadır. İki reaksiyon birleşirse Demir Katalizli Haber-Weiss reaksiyonu ortaya çıkmaktadır (80).



Böylelikle süperoksit ve hidrojen peroksidin toksisitesinin büyük bir kısmı, demir katalizörlüğünde çok kuvvetli oksidanlar olan hidroksil, ferril ve perferril radikallerinin oluşumu ile ortaya çıkmaktadır (58).

İndirgenmiş bakır tuzları da, $\cdot OH$ oluşturmak üzere Fe^{+2} tuzlarından daha büyük bir hız sabitesi ile, H_2O_2 ile reaksiyona girmektedir (78). Hidroksil radikalının bir diğer oluşma yolu ise, geçiş metal iyonlarından bağımsız olarak nitrik oksit radikalının dahil olduğu bir reaksiyonla gerçekleşmektedir. Nitrik oksit radikalının süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda ortaya çıkan peroksinitrit, asidik pH da küçük miktarlarda hidroksil radikali oluşturmak üzere parçalanmaktadır (58,73,79).

Hidroksil radikali canlı hücrelerde deoksiribo nükleik asit (DNA), membran lipitleri, karbonhidratlar ve aminoasitler gibi makromoleküller ile çok hızlı bir şekilde reaksiyona girip doku hasarına neden olmaktadır (12,74).

C.4. Singlet Oksijen (1O_2)

Enerji absorpsiyonu ile oksijenin paylaşılmamış dış elektronları spinlerini değiştirebilirler. Oksijenin bu şekilde uyarılmış durumu dış iki elektron ayrı ayrı veya aynı orbitali işgal edebilirler. Oksijenin uyarılmış bu iki formuna singlet oksijen denir (76). İki tür singlet oksijen bulunmaktadır. Biyolojik sistemlerde daha önemli olanı delta formudur (singlet $^1\Delta gO_2$). Eşlenmemiş elektron içermediği için radikal değildir. Ayrıca moleküler oksijende söz konusu olan spin kısıtlaması ortadan kalktığı için oksidasyon yeteneği artmıştır. Diğer tür olan sigma formu (singlet $^1\Sigma g^+$) başka bir molekülle reaksiyona girmeden önce delta formuna dönüşmektedir. Doğada moleküler oksijenin, singlet oksijenin delta formuna dönüşmesi oksijen varlığında, klorofil, retinal, flavin, porfirin gibi pigmentlerin ışınlanması sonucunda

gerçekleşmektedir. İn vivo singlet oksijen oluşumu ise, memeli gözünde lens ve retina bölgelerinde meydana gelmektedir (14,79).

C.5. Ozon (O^3)

Ozon, atmosferin yüksek tabakalarında güneş ışınlarına karşı stratosferik bir koruyucu tabaka oluşturmaktadır. Yeryüzünde ise toksik ve okside edici bir çevre kirleticisidir. Ozon kirli havada ve fotokopi makineleri gibi bazı çok güçlü ışık kaynakları aracılığı ile ortaya çıkmaktadır. Akciğerlere, DNA' ya, lipidlere ve hızla okside olan proteinlere ileri derecede zarar vermektedir (79).

C.6. Nitrojen Oksitleri (NO^{\cdot} , NO_2^{\cdot} , N_2O)

Nitrojen oksitlerinden nitrik oksit (NO^{\cdot}) ve nitrojen dioksit (NO_2^{\cdot}) tek sayıda elektron içermeleri nedeniyle SR' dirler. Oysa nitroz oksit (N_2O) radikal değildir. NO_2^{\cdot} kahverengi, zehirli bir gaz ve okside edici güçlü bir ajandır. NO^{\cdot} ise renksiz bir gaz olup, zayıf bir indirgendir. NO^{\cdot} ilk kez 1772 yılında Joseph Priestley tarafından ayrı bir gaz olarak bulunmuştur. Daha sonra vücutta, damar endoteli ve diğer bazı hücrelerde, L-arginin amino asidinden üretildiği saptanmıştır. Halen NO^{\cdot} ' nin vazodilatör özelliği olan endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) ile aynı olduğu kabul edilmektedir. Nitrik oksit, tüm diğer toksik oksijen metabolitleri gibi direkt olarak biyolojik moleküllere hasar vermekle birlikte esas toksisitesi kendisinden daha reaktif nitrojen ara ürünlerine dönüşmesinden kaynaklanmaktadır (69,72,73). Bu ara ürünlerin başlıcaları nitrit, diğer bir endojen SR olan süperoksit ile reaksiyona girerek oluşturduğu ve kuvvetli bir oksidan olan peroksinitrit, peroksinitritin parçalanması ile oluşan hidroksil radikali, okside lipid ürünleri ($LONO/LON_2$, $LOONO/LONO_2$), nitril klorid (NO_2Cl) ve nitrojen dioksiddir. Peroksinitrit kuvvetli bir prooksidan olarak nitratlayıcı ajan oluşturmak üzere SOD ile reaksiyona girer ve hücrel proteinlerin tirozin kalıntılarının nitratlanarak 3-nitrotirozin oluşturmasına neden olur (74,81). Peroksinitrit anyonunun karbondioksit ve bikarbonat ile oluşturduğu ara ürün olan nitrozoperoksokarbonat ($ONOOCCO_2^{\cdot}$), hedef molekülleri nitratlayan bir ajandır (75). Son yıllarda nitrik oksidin nitrojen içeren stabil karbonhidratların, pürinlerin, DNA bileşiklerinin ve S-

nitrozotiyol adı verilen amino asid bileşiklerinin oluşumuna neden olduğu bildirilmektedir (82).

C.7. Hipoklorik Asit (HOCl)

Organizmada aktive olmuş nötrofillerce oluşturulan HOCl SR olmamakla birlikte çok güçlü bir oksidandır. Süperoksit radikalının dismutasyonu ile oluşan H_2O_2 vücutta aktive olmuş nötrofillerce, hem içeren myeloperoksidaz enziminin katalizörlüğünde, klorid iyonlarını okside ederek hipoklorik asidi oluşturmaktadır. Hipoklorik asidin demire bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki reaksiyonla hidroksil iyonunu oluşturduğu savunulmaktadır (13,83).

D. SERBEST RADİKALLERİNİN TOKSİK ETKİLERİ

Membran bütünlüğünün ve membran fonksiyonunun, hücrenin yaşayabilmesinde temel önemi vardır. Plazma membranı, membrana bağlı enzim destekleyicisi olan doymamış yağ asidinden zengin olduğu için SR' ler ile kolaylıkla reaksiyona girebilir ve peroksidasyona uğrayabilir. SR oluşumu ile hücrede Glukoz-6-fosfataz enzimi inaktive olur, membran permabilitesi artar. Lipid peroksidasyonuna bağlı olarak organellerde fonksiyon bozukluğu oluşur. Lizozomal fragilite artışı ile mikrozomal enzimlerde değişiklikler meydana gelir, hücre ölümü ve kollojen oluşumunda artış görülür. Oksidasyon oluşurken membranlar daha sertleşir ve akışkanlığı azalır, membrandaki iyon pompalarının geçirgenliği artar ve kalsiyum iyonları içeri girer. Bu durum ise bir çok hastalığın patolojisinin açıklanmasında önemli bir göstergedir (18,20).

Genel olarak SR' ler DNA' nın yapısında değişikliğe neden olarak mutasyon veya sitotoksisite oluşturmaktadır (20,84). SR' ler nükleotidlerin biyolojik özelliklerini değiştirmekte, protein ve nonprotein tiol gruplarını oksitleyerek thiyol radikalleri oluşturmaktadır. SR' ler kovalent bağları etkileyerek protein, nükleik asit ve lipidlerin yapı ve fonksiyonlarını bozmaktadır. Bu hasar, radikallerin membran enzimlerine ve reseptörlerine kovalent bağlanarak antijenik karakter kazanması ve transport fonksiyonunu bozması, poliansatüre yağ asidi/protein oranını değiştirmesi ve lipid peroksidasyonunu başlatması ile gelişmektedir. Hasar sekonder olarak lipid peroksit radikalleri, lipid hidroperoksidleri ve diğer lipid parçalanma ürünleri ile devam ettirilir. Lizozom hasarı ile salınan lizozomal enzimler hücre hasarını daha da artırmaktadır (67,84).

Lipid peroksidasyonu, membran yapısını teşkil eden poliansatüre yağ asitlerinin SR tarafından sekonder ürünlere (peroksitler, alkoller, aldehitler, örneğin; malonildialdehit, etan v.b.) yıkılma reaksiyonudur (19,20,85). Lipid peroksidasyonu dallanan bir zincir reaksiyonudur. Peroksidasyon bir kere başladıktan sonra otokatalitik olarak yayılabilmekte ve yüzlerce yağ asidi zinciri lipid hidroperoksidlere çevrilebilmektedir. Yayılma zincirinin uzunluğuna, membrandaki lipid/protein oranına, yağ asidinin bileşimine, oksijen konsantrasyonuna ve vitamin E gibi zincir reaksiyonlarını kesen antioksidanların varlığına bağlıdır (84,86).

Lipid hidroperoksidleri ve lipid peroksi radikalleri, SR gibi aynı hücrenin bir çok komponentiyle reaksiyona girerek hücrenel ve metabolik fonksiyonlar üzerine toksik etkiler gösterirler (87). Üç yada daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu MDA üretimi ile sonuçlanmaktadır. MDA iç membranın bazı özelliklerini değiştirebilmekte ve DNA' nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilmektedir. MDA bu özelliklerinden dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojeniktir (15,19,68,78). MDA biyolojik sistemlerde lipid peroksidasyonu tayininde en sık ölçülen üründür (28).

Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin SR' lere reaktivitesi yüksek olduğu için triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi amino asitleri içeren proteinler SR' lerden kolaylıkla etkilenirler. Glutasyon redüktaz ve gliseraldehid 3 fosfat dehidrogenaz gibi yukarıdaki amino asitlere bağımlı enzimler de reaktiviteleri için SR' lerden kolaylıkla etkilenerek inhibe olurlar (88).

Sitoplazmik proteinler ve membran proteinleri, okside edici ajanlara maruz kaldıklarında SR ile amino asit kalıntıları arasında ozon gibi daha irreversibl reaksiyonlar oluşur (89).

Prolin, lizin gibi amino asitler ve protein yapısını oluşturan peptid bağları, indirgenmiş oksijen türevlerinden etkilenebilir; örneğin süperoksit radikali ve hidroksil radikalinden hidrojen peroksitin açığa çıktığı reaksiyon ortamında, prolin ve lizin hidroksilasyonu nonenzimatik olarak oluşabilir. Proteinlerin SR harabiyetinden ne derece etkileneceği amino asit kompozisyonlarına bağlıdır (90).

Karbonhidratların proteinlere bağlanması, proteinleri SR hasarına daha duyarlı kılar. Fizyolojik pH ve ısıda glukoz gibi monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir (68).

Proteinler üzerine olan SR hasarı birikmişse yada belirgin proteinlerin spesifik bölgesi üzerinde yoğunlaşmışsa hücrenin canlılığı bakımından zararlı etki yapar (89). Hem proteinleri de SR' lerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin süperoksit radikali veya hidrojen peroksit ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olur. Fazla miktarda disülfid bağı içeren ekstrasellüler proteinler (IgG, albumin gibi), hidroksil ve peroksi radikal saldırısına daha hassastırlar (58,68).

İyonize edici radyasyonla oluşan SR' ler, DNA' yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar (58). Radyasyona bağlı olarak hücre içinde enerji

depolanması SR, iyon ve aktif moleküllerin oluşmasına yol açar. Nükleik asitler ve DNA üzerine SR etkisiyle DNA zincirinde kopmalar, bazlarda ve deoksiribozlarda kırılmalar ve hasar oluşur, bu da sitotoksositeye bağlıdır. Sonuçta mutajenez, karsinogenaz, kromozomal değişimler, hücre büyümesi ve farklılaşmasında değişiklikler görülür (58,68,89,90).

Serbest radikaller, enflamatuar cevabı ve ardından gelen doku hasarını modüle etmede önemli rol oynarlar. Enflamatuar hücre kaynaklı SR'lerin oluşturduğu hasardan en çok etkilenen ekstrasellüler doku komponentleri kollojen ve hyalüronik asittir. Ekstrasellüler sıvılar çok az miktarda süperoksit dismutaz içerdiğinden indirgenmiş oksijen türevlerinin eser miktarları bile bu kompartmanda büyük harabiyete yol açarlar (89-91).



E. ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

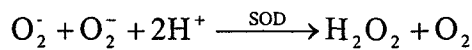
Oksijen radikallerine karşı savunma sistemleri enzimler ve düşük molekül ağırlıklı SR tutucuları olmak üzere iki grupta toplanırlar. Savunmada öncelikle etkili olanlar enzim sistemleridir. Bunlar süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon reduktaz ve glukoz 6 fosfat dehidrogenaz enzimleridir. Bu enzimlerin aktivitesi SR'lerin sentez ve yıkılma hızına ve beslenme ile alınan eser element (Mn, Se, Fe, Zn, Cu) miktarına bağlıdır (92).

Düşük molekül ağırlıklı SR tutucuları sitoplazmada bulunanlar ve lipide eriyenler olarak iki grupta toplanabilir. E vitamini ve β karoten, lipide eriyebilen antioksidan vitaminlerdir. Glutatyon, ürik asit, bilirubin ve askorbik asit sitoplazmik yerleşim gösteren antioksidan etkili maddelerdir (93). Seruloplazmin, transferrin, haptoglobulin ve albümin ise hücre dışı antioksidanlar olarak oksidan strese karşı korunmada etkilidirler (29).

E.1. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz (EC1.15.1.1), süperoksit anyon serbest radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eden hücre içi bir enzimdir. SR'lere karşı organizmadaki ilk savunma SOD enzimiyle gerçekleşir. Oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunur. Bütün canlılarda SOD kofaktör olarak içerdiği metal iyonuna göre üç grupta toplanır. Bunlar; demir içeren (Fe-SOD), manganez içeren (Mn-SOD) ve bakır ve çinko içeren (Cu/Zn-SOD) tiplerdir. Fe-SOD ve Mn-SOD prokaryotların karakteristik enzimleridirler, bakterilerde mitokondri matriksinde bulunurlar. Cu/Zn-SOD ökaryotların karakteristik enzimidir ve sitoplazmada bulunur. Ökaryotlarda Cu/Zn-SOD enziminin yanında Mn-SOD ve ekstrasellüler SOD (EC-SOD) adlı enzimlerde bulunur (94-96).

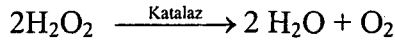
SOD, katalaz ve glutatyon peroksidazdan farklı olarak SR'leri substrat olarak kullanır. SOD, süperoksitin H_2O_2 'ye dismutasyonunu katalize eden bir metalloenzimdir (95).



Oluşan H_2O_2 Cu/Zn-SOD ve Fe-SOD izoenzimlerini inaktive ederken Mn-SOD üzerine etkisi yoktur. Organizmada oksidan stresin arttığı klinik durumlarda SOD enzimi aktivitesini arttırarak koruyucu etkinliğini devam ettirir (95,96).

E.2. Katalaz

Katalaz tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan bir hemenzimdir. Katalaz (EC 1.11.1.6) karbonik anhidraz enzimi ile beraber bilinen en hızlı enzimdir. Kanda, kemik iliğinde, müköz membranlarda, böbrekte ve karaciğerde bulunur. %20 oranında sitoplazmada %80 oranında peroksizomlarda bulunur. Katalaz oksidazların etkisi ile oluşan toksik H₂O₂' yi direkt olarak suya çevirir (94-96).

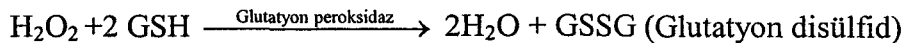


Bu reaksiyon daha çok H₂O₂ konsantrasyonunun arttığı durumlarda önem taşır. Düşük H₂O₂ konsantrasyonlarında diğer peroksidazlar devreye girer (97).

E.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz normal koşullarda hücrede bulunan H₂O₂' nin detoksifikasyonundan esas olarak sorumlu olan enzimdir. Lipid peroksidasyonunun başlamasını ve gelişmesini engeller. Selenyuma bağımlı veya bağımsız olmak üzere iki farklı tipi vardır. Enzim aktivitesi diyetle alınan selenyum miktarına bağılı olarak değişiklik göstermektedir. Selenyuma bağımlı GSH-Px hem H₂O₂' yi hem de lipid hidroperoksidlerini metabolize ettiği halde, selenyumdan bağımsız GSH-Px yalnızca lipid hidroperoksidlerini metabolize etmektedir (95,96).

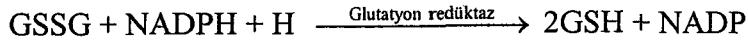
Hidrojen peroksit ve çeşitli organik hidroperoksidlerin GSH-Px ile indirgenmesi reaksiyonlarında, indirgenmiş glutasyon (GSH) substrat olarak kullanılır (98,99).



Katalaz ve GSH-Px enzimleri hücrenin farklı bölümlerinde lokalize olmalarından dolayı karaciğerde endojen olarak oluşan H₂O₂ seviyesini düzenlemede birlikte etkinlik gösterirler (95).

E.4. Glutasyon Redüktaz (GSH-Red)

Glutasyon hemen hemen tüm hücrelerde bulunan en önemli protein dışı tiyoldür ve hücre metabolizmasında bazı bileşiklerin transportunda ve hücrenin korunmasında rol alır. Antioksidan savunmanın etkinliğini sürdürebilmesi için oksitlenmiş glutasyonun tekrar indirgenmiş şekle dönüşmesi gerekir. Glutasyon redüktaz NADPH varlığında glutasyonu indirgeme reaksiyonunu katalizler (99).



Glutasyon redüktaz aktivitesi hücrenin sitozol, mitokondri ve kloroplastlarında bulunur. NADPH / NADP⁺ ve GSH / GSSG oranlarındaki değişiklikler akut pro-oksidan stres ile antioksidan savunma arasındaki dengesizliğin belirtisidir. Oluşan NADP⁺'nin tekrar NADPH'ye dönüşebilmesi için Glukoz 6-P-dehidrogenaz enzimine gerek duyulur (100).

E.5. Glutasyon (GSH)

Glutasyon organizmanın tüm hücrelerinde bulunan, hücrenin protein yapısı dışındaki sülfidril grubu içeriğinin %90' nını oluşturan bir tripeptiddir. Glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden meydana gelir. Glutasyon SR' lere karşı savunma sisteminin anahtar bileşenidir. Glutasyon, hemoglobini oksidasyondan koruyarak hücre bütünlüğünü sağlar, ağır metallerin vücuttan atılmasını kolaylaştırır, bazı amino asitlerin hücre içine taşınmasında ve biotransformasyonla oluşan zehirli maddelerin detoksifikasyonunda rol oynar (101).

Glutasyon H₂O₂'yi, lipid peroksitlerini, disülfidleri ve SR' leri indirgeyebilir ve sonuçta glutasyon disülfid oluşur. Glutasyon disülfid konsantrasyonundaki artış oksidan stresin bir göstergesidir (102).

E.6. Askorbik Asit (C Vitamini)

Hücre dışı sıvıların en önemli antioksidanıdır. Biyolojik ortamların çoğunda askorbat olarak bulunur (103). Askorbat etkili olarak H₂O₂, hipoklorit, süperoksit, hidroksil ve peroksil radikallerini ve singlet oksijeni tutar. Askorbat sıvı fazdaki tüm peroksil radikallerini plazma lipidlerine diffüze olmadan önce tutar. Bu şekilde sıvı peroksil radikalleri ile oluşan lipid peroksidasyonunun başlamasını engelleyerek biomembranları peroksidatif hasardan korur (104).

C vitamini fizyolojik ve yüksek konsantrasyonlarda antioksidan etkilidir. Düşük konsantrasyonlarda ise Na⁺K⁺-ATPaz aktivitesini azaltır, membran fosfolipid yapısını değiştirerek lipid peroksidasyonunu artırır. Bu şekilde C vitamini doza bağımlı olarak paradoksal bir etki gösterir (103).

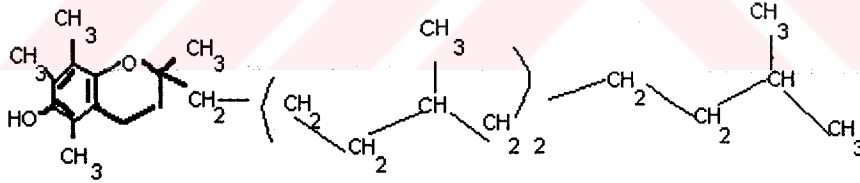
Plazma askorbatı aktif polimorf nüveli leukositlerden serbestleyen oksidanlara karşı çok etkilidir. C vitamini düzeyi düşük, özellikle sigara içen toplumlarda genetik mutasyon riski yüksek olarak saptanmıştır. Ayrıca C vitamini

düşük dansiteli lipoprotein oksidatif modifikasyonunu inhibe ederek aterosklerozün gelişmesini engellemede etkilidir (104,105).

E.7. Alfa-Tokoferol (E Vitamini)

Vitamin E membranlarda düşük konsantrasyonlarda bulunmasına rağmen lipide çözünen zincir kırıcı başlıca antioksidandır. Önemli bir endojen ve eksojen antioksidan olarak hücrel ve hücre içi membranların bütünlüğünün korunması E vitamininin başlıca fonksiyonlarından biridir. Lipide çözünürlüğünün yüksek olması nedeniyle kolayca membran fosfolipidlerine diffüze olabilmekte ve 20 karbonlu doymamış yağ asitlerini indirgeyerek SR'lerin biomembranlarda oluşturabileceği lipid peroksidasyonunu önlemektedir (106).

E vitamini yağda eriyen bir vitamin olup alfa, beta, gama ve delta tokoferollerden meydana gelir. Fakat bunlardan sadece alfa tokoferol E vitamini etkinliği gösterir. E vitamini terimi yapısal olarak birbiri ile bağlantılı bir grup bileşiği kapsar. Bunlar temelde 2 metil 6 kroman halkası içeren ve 2. karbona bağlı 16 karbonlu fitil yan zinciri kapsayan bir grup bileşiktir (107) (Şekil 1).



Şekil 1: E Vitamininin moleküler yapısı

E vitamini meydana getiren tokoferollerin antioksidan ve antisterilite özelliği yanında, bu vitaminin birçok hastalıkları içerisine alacak kadar geniş bir tedavi değerine sahip olduğu da ileri sürülmüştür. Alfa tokoferol fosfolipaz A₂, C ve D' nin biomembranlardaki zararlı etkilerini önler. İmmün sistem fonksiyonlarını düzenler. E vitamini eritrosit membran stabilitesi için esansiyeldir. Hemolizi engellediği ve eritrositteki oksidatif hasarı önlediği bilinmektedir. Eritrositleri, Zn eksikliğinin ve/veya Fe fazlalığının tahrip edici etkisinden korur. E vitamini midede

nitritlerin nitroz aminlere dönüşümünü engelleyerek antikanserojen olarak etki eder. Ayrıca iskemi ve reperfüzyon ile ilişkili peroksidatif hasarı engellemede etkilidir. E vitamini trombosit agregasyonunu ve prostaglandin oluşumunu da engeller. Fiziksel egzersiz sırasında dokular primer antioksidan olarak E vitamini harcadığı için ağır egzersiz sırasında E vitamini gereksinimi artış gösterir (107,108).

E.8. A Vitamini

A vitamini ön maddesi olan β karoten plazmada alfa tokoferolden elli kat daha az bulunmasına rağmen benzer şekilde SR tutucu olarak görev yapar ve doku hasarını önler. Yağda eriyen bir vitamin olan β karotenin E vitamininden farkı, düşük oksijen basıncında daha etkili olmasıdır. Bu şekilde yüksek oksijen basıncında etkili olan α -tokoferol'ün antioksidan etkisini tamamlar (109).

Düşük dansiteli lipoproteinleri oksidatif hasara karşı savunmada en etkili antioksidan terapinin, suda çözünen askorbat ile yağda çözünen α -tokoferol ve β karotenin birlikte verilmesi olduğu ileri sürülmüştür (110).

IV. GEREÇ VE YÖNTEM

A. DENEKLER

Çalışma T.C. Tarım ve Köy işleri Bakanlığı Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü' nden temin edilen 400-600 gr ağırlığında 50 adet erkek albino guinea pig üzerinde, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu' ndan izin alınarak gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılacak sarf malzemeleri, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) birimi tarafından temin edildi. Tüm guinea piglerin kulakları otoskopik olarak değerlendirildi ve dış kulak yolu ve kulak zarları normal olanlar çalışmaya dahil edildi. Hayvanlar Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (FÜTDAM)' nde özel yemler ve yeşil sebzelerle standart olarak beslendi. Tüm çalışma boyunca 'Experimental and surgical technique in rat' prensiplerine uyuldu.

Çalışmaya alınan kobayların, sol orta kulaklarına *S. pneumoniae* ve sağ orta kulaklarına serum fizyolojik verildi. İnokülasyondan 2 gün sonra hayvanların kulakları otoskopik olarak incelendi ve çalışma kriterlerini sağlayanlar rastgele 4 grubu ayrıldı;

Grup 1 (AOM kontrol grubu): Bu gruptaki deneklerin hepsinin sol kulaklarına *S. pneumoniae* inoküle edildi. Sağ kulaklarına ise serum fizyolojik uygulandı. Bu gruba herhangi bir tedavi uygulanmadı. Böylelikle AOM geçiren deneklerin orta kulak mukozalarında bazal SR düzeyi (MDA) ve antioksidan düzeyi (SOD) ile kanlarındaki MDA ve SOD düzeyi tespit edildi.

Grup 2 (E vitamini grubu): Orta kulağa *S. pneumoniae* inokülasyonundan sonra antioksidan ilaç olarak 100 mg/kg/gün dozunda E vitamini (Evigen amp, Aksu ilaç Türkiye) uygulanan grup. E vitamini inokülasyondan 48 saat sonra günde bir kez İ.M. olarak 5 gün süre ile uygulandı.

Grup 3 (Amoksisilin grubu): Bu gruptaki deneklere *S. pneumoniae* ile birlikte antibiyotik olarak 100 mg/kg/gün dozunda amoksisilin (Remoxil Flk, İ.E.Ulugay İlaç Türkiye) tedavisi uygulandı. Amoksisilin tedavisi *S. pneumoniae* uygulanmasından 48 saat sonra başlanarak 5 gün boyunca günde iki defa olarak İ.M. olarak uygulandı.

Grup 4 (Amoksisilin + E vitamini grubu): *S. pneumoniae* inokülasyonu ile birlikte Amoksisilin ve E vitamini tedavisinin birlikte uygulandığı grup. Bu gruba

streptokok inokülasyonundan 48 saat sonra 100 mg/kg/gün E vitamini ve 100 mg/kg/gün amoksisilin birlikte 5 gün süreyle uygulandı.

B. STREPTOKOK PNEUMONİAE' NİN HAZIRLANMASI

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikroorganizma Kültür Koleksiyonları Araştırma ve Uygulama Merkezi (KÜKENS)' nden elde edilen *S. pneumoniae* (Kuen 1455 suşu) kullanıldı. Liyofilize haldeki bakterinin bulunduğu ampülün içine steril bir pasteur pipeti ile 200 mikrolitre sıvı besi yerine (Brain-Heart infusion broth) konuldu. Bakteri süspansiyonu edildikten sonra *S. pneumoniae*' nin varlığı, kanlı agar besiyerine yapılan ekim sonucunda üremenin olması ile doğrulandı. Üretilen bakterilerden, steril santrifüj tüpünde 1.5 ml sıvı besiyeri içerisinde süspansiyon olarak hazırlandı ve hayvanlar inoküle edilinceye kadar -80°C de saklandı. Her hayvan inokülasyonundan önce bir tüpteki bakteri süspansiyonu eritildi ve kanlı agar plağına ekilerek yeniden üretilmesi sağlandı. Üretilen bakteriler her ml.' sinde 10^8 CFU bakteri bulunacak şekilde sıvı besiyeri içerisinde süspansiyon edilerek inokülasyona hazır hale getirildi.

C. DENEKLERİN İNOKÜLASYONU

Tüm hayvanlara inokülasyondan önce 87 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar, Eczacıbaşı ilaç, Türkiye) ve 13 mg/kg xylazin hidroklorid (Rompun, Bayer ilaç, Türkiye) intraperitoneal olarak enjekte edilerek anestezi sağlandı. Her bir kulak kanalı % 70'lik etil alkol ile yıkandı ve temizlendi. Steril teknik kullanılarak kulak kanalına pediatrik bir kulak spekulumu yerleştirildi. Operasyon mikroskobu (Zeiss S1, Germany) kullanılarak 22 G' lik lakrimal prob timpanik membranın anterior süperior bölümünden geçirilerek orta kulağına ulaşıldı. Her deneğin sol orta kulak kavitesine her mililitresinde 10^8 *S. pneumoniae* bulunan solüsyondan 100 μl , sağ orta kulak kavitesine ise 100 μl steril serum fizyolojik solüsyonu enjekte edildi.

Hayvanlar inokülasyondan sonra 2. günde otoskopik olarak incelenerek *S. pneumoniae* uygulanan kulaklarda otitis media gelişip gelişmediği kontrol edildi. Serum fizyolojik uygulanan kontrol kulakları da enfeksiyon açısından değerlendirildi. Streptokok uygulanan ve AOM gelişmeyen denekler ile kontrol kulaklarında enfeksiyon bulgusu taşıyan denekler çalışma dışı tutuldu.

Çalışma kriterlerini taşıyan denekler rastgele 11' erli dört gruba ayrıldı ve gruplara göre ilaç uygulaması yapıldı. S. pneumoniae' nın intratimpanik verilmesinden 7 gün sonra hem plazma hem de orta kulak mukozasında MDA ve SOD değeri ölçümü için tüm kobaylara yüksek doz ketamine HCl verilerek dekapitasyon uygulandı. Dekapitasyondan önce diafragmanın üstünden orta hattı takiben kalbe girilerek kan örnekleri alındı. Dekapitasyondan sonra tüm hayvanların timpanik kemikleri çıkarılarak biyokimyasal ve histopatolojik inceleme için ayrı ayrı işlemlere tabi tutuldu.

D. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Histopatolojik inceleme için her bir guruptan dört deneğin temporal kemikleri %10' luk formaldehitte 24 saat süreyle fikse edildikten sonra tüm spesmenler %5 formaldehit içeren %20' lik formik asit solüsyonunda 5 gün süreyle dekalsifiye edildi. Spesmenler rutin takip sonrası parafine gömülerek 3 µm' lik kesitler alındı, hematoksilin-eozin (HE) ile boyanarak hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda (Olympus Bx-50, Olympus Optical, Japan) incelendi. Morfolojik inceleme için ise Periodic acid-shiff boyama kullanıldı. Her bir orta kulak mukozası aşağıda belirtilen ölçüler kullanılarak değerlendirildi (111);

- Submukozal kalınlık; %10-25 arasında artmışsa (+), %25' in üzerinde artmışsa (++) olarak değerlendirildi.
- Vasküler değişiklikler; damarlanmada artış %10-25 arasında ise (+), %25'in üzerinde ise (++) olarak değerlendirildi.
- Enflamatuar hücreler; 200'lük büyütmede her alana 5' ten az enflamatuar hücre varsa (+), 5 veya daha fazla enflamatuar hücre varsa (++) olarak değerlendirildi.
- Epitelial metaplazik değişiklikler; normal düz epitelden silialı veya siliasız silindirik veya kuboidal epitele dönüşüm olarak tanımlandı ve incelenen hücrelerin %50' sinden daha azı transforme olmuşsa (+), %50 ve daha fazlası transforme olmuşsa (++) olarak değerlendirildi.

E. SERBEST RADİKAL ÖLÇÜMÜ

E.1. Doku ve Eritrosit SOD Ölçümü

Kan SOD değerlendirmesi için alınan kan örnekleri EDTA' lı tüplere konuldu. Kan örnekleri 3.000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi. Ayrılan plazmadan MDA ve eritrositlerden SOD ölçümü için -20 °C' de bekletildi. SOD (EC1.15.1.1) aktivitesi Sun ve ark.' nın (112) metodu ile ve Durak ve ark.' nın (113) yapmış oldukları modifikasyona göre tayin edildi. Bu metotla SOD aktivitesi ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin, Nitrobluetetrazoliume (NBT)'u indirgemesi esasına dayanır. Oluşan süperoksit radikalleri NBT' yi indirgeyerek renkli formasyon oluşturur. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbanı verir. Enzimin olmadığı ortamda bu indirgeme meydana gelip mavi-mor renk oluşmaktadır. Ortamda SOD olduğunda ise NBT indirgenmesi olmayıp mavi-mor renk meydana gelmemektedir ve enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır.

$$\text{Enzim \% inhibisyonu} = \frac{\text{Abs}_{\text{kör}} - \text{Abs}_{\text{num}}}{\text{Abs}_{\text{kör}}} \times 100 \text{ olarak hesaplanır.}$$

Bir SOD ünitesi NBT redüksiyonunu % 50 oranında inhibe eden enzim aktivitesi olarak kabul edildi ve sonuçlar U/mg Protein olarak ifade edildi.

E.2. Plazma MDA Ölçümü

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA tayini Satoh (20) ve Yagi' den (114) modifiye edilen bir yöntemle spektrofotometrik olarak ölçüldü. Plazma lipid peroksidasyonunun ikincil ürünü olan MDA aerobik şartlarda pH: 3.4 olan bir ortamda tiobarbitirik asit ile 95°C' de inkübasyonu sonucu pembe renkli kompleks oluşturur. Oluşan bu kompleks 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldüğünde MDA miktarı saptandı.

E.3. Doku MDA Ölçümü

Temporal kemiklerden ayrılan orta kulak mukozaları soğuk serum fizyolojik (%0.9) ile yıkandıktan sonra ıslaklığı alınarak doku örneklerinin tartımı yapıldı ve -20°C' de derin dondurucuda ölçüm yapılınca kadar bekletildi. Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA tayini Ohkawa (115) tarafından belirtilen yöntemle spektrofotometrik yöntemle yapıldı. Bunun için daha önceden temizlenen ve tartılan örneklerin her gramı başına 19 ml %1.15' lik KCl tampona olacak şekilde

eklendi. Cam-cam homojenizatör kullanılarak homojenizasyon işlemi gerçekleştirildi. Doku homojenizatının 0.2 ml. sine 0.2 ml %8.1' lik tiyobarbitürük asit ve son hacim 4 ml' ye tamamlanacak şekilde distile su eklenerek 95°C'de 1 saat inkübe edildi. Standart olarak 1.1.3.3 tetrametoksiopropan (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA) kullanıldı. İnkübasyon sonrası soğuk su altında soğutulan tüplere 1ml distile su ile 5ml n-bütanol/piridin (15:1,v/v) eklenerek iyice karıştırıldı. 3000 rpm.de 10 dk. santrifüj edilen tüplerin üsteki organik fazı alınarak 532 nm' de köre karşı standart ve örnek absorbanları ölçüldü. Lipid peroksit düzeyleri her miligram ıslak doku başına nmol MDA olarak verildi.

E.4. Hemoglobin Tayini

Hemoglobin miktarı Drabkin yöntemi ile ölçüldü (116). Bu yöntemle ferrisiyanür, hemoglobindeki demiri oksitleyerek iki değerlikli demiri üç değerlikli demire çevirerek methemoglobine dönüşmesini sağlar. Bunu takiben potasyum siyanid ile kararlı bir pigment olan siyanmethemoglobin meydana gelir. Siyanmethemoglobinin absorbanı spektrofotometrik olarak 546 nm' de okundu.

$$\text{Hemoglobin(g/dl)} : \frac{\text{Örnek absorbanı}}{\text{Standart absorbanı}} \times \text{standart konsantrasyon}$$

E.5. Protein Tayini

Homojenatlardaki protein Lowry yöntemine göre ölçüldü (16). Bu yöntemin ilkesi proteinlerin alkali ortamda Folin-Denol ayracı ile mavi bir renk oluşturmasıdır.

$$\text{Mgr protein / ml} : \frac{\text{Örnek absorbanı}}{\text{Standart absorbanı}} \times \text{standart konsantrasyon}$$

F. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Deneyisel çalışma sonucunda elde edilen biyokimyasal veriler ve histopatolojik değerlendirmeler kaydedildi. İstatistiksel analizler, SPSS bilgisayar programıyla (SPSS Inc., ABD) yapıldı. Bütün verilerin ortalamaları ve standart deviasyonları hesaplandı.

İlk olarak her bir grupta orta kulak mukozalarından elde edilen MDA ve SOD değerleri Mann Whitney U testi kullanılarak kontrol kulaklarıyla karşılaştırıldı.

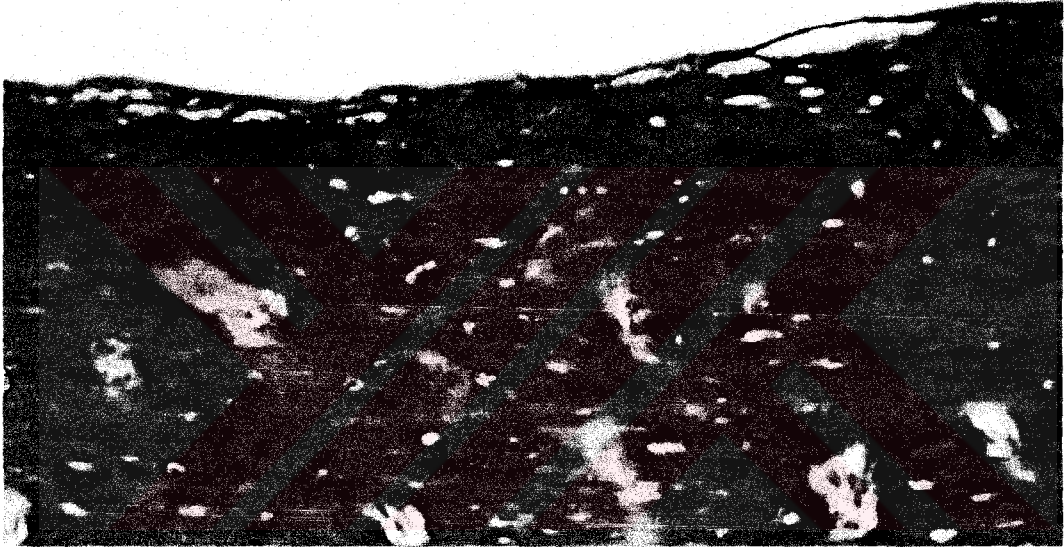
Daha sonra gruplar arasındaki doku MDA ve SOD değerleri için tek yönlü Kruskal Wallis Varyans analizi ile değerlendirme yapıldı. Gruplar arası anlamlılık tespit edildiğinde post Anova olarak Tukey testi kullanılarak anlamlılık düzeyi tespit edildi.

Plazma MDA, eritrosit SOD değerleri ve orta kulak mukozalarında ışık mikroskobu ile saptanan histopatolojik bulguları (submukozal kalınlık, enflamatuvar hücre artışı, vasküler proliferasyon ve metaplazik değişiklikleri) değerlendirmek için ilaç uygulanmayan grupta (Grup I), ilaç verilen gruplar arasındaki karşılaştırmada Mann Whitney U testi kullanıldı. İlaç uygulanan gruplarda grup içi anlamlılık ise tek yönlü Kruskal Wallis Varyans analizi ve Tukey testleri ile değerlendirildi.

V. BULGULAR

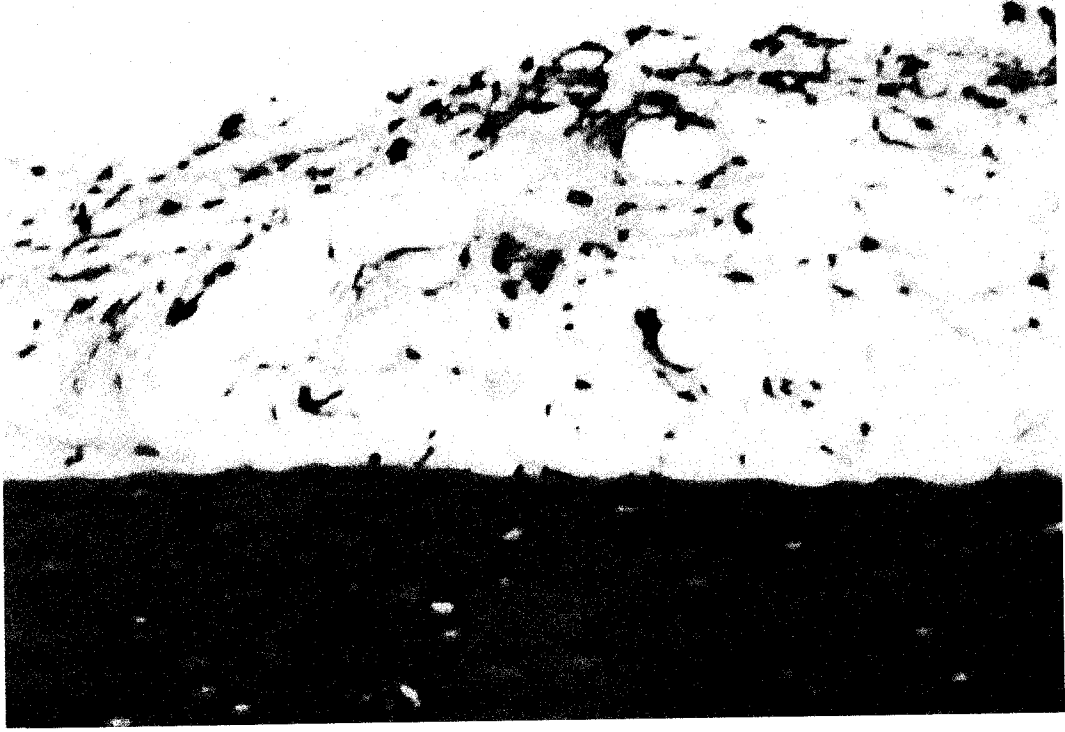
A. HİSTOLOJİK BULGULAR

Timpanik membranların mikroskopik incelemesinde önce kontrol kulakları incelendi. Kontrol kulaklarında enflamatuar değişikliklerin çok hafif veya hiç meydana gelmediği görüldü (Şekil 2).



Şekil 2 : Kontrol kulağında normal orta kulak mukozası (H.E X 200).

Orta kulak mukozalarının histolojik incelemelerinden elde edilen veriler tablo 3' de sunulmuştur. Grup 1' de enflamatuar cevap belirgin olarak şiddetliydi. Submukozal tabakada yaygın bir ödem ile birlikte kalınlık artışı görülmekteydi (Şekil 3). Belirgin derecede enflamatuar hücre infiltrasyonu mevcuttu. PMNL' lerin yanında mononükleer hücrelerin de yaygın olarak bulunduğu gözlemlendi. Konnektif doku tabakasında genç fibroblastlar ve damarlar belirgin olarak izleniyordu (Şekil 4). Eritrosit ekstrasvasyonu ve fibrin oluşumu belirgindi. Kontrol kulakları ile karşılaştırıldığında normal orta kulak epitelinin kuboidal veya silialı kolumnar epitele dönüştüğü izlendi. Sekretuar epiteldeki metaplazi orta kulak mukozasının pozitif PAS boyaması ile gösterildi.



Şekil 3: AOM grubu kobaylarda submukozal tabakada ödem (H.E X 200)



Şekil 4: AOM grubu kobaylarda enflamatuar hücre infiltrasyonu ve damarlanma artışı (H.E X 200)

E vitamini tedavisi alan grup 2' de histolojik inceleme bulguları grup 1' e göre hafif derecede azalmış görünmekteydi. Fakat genel olarak enflamasyon grup 1' deki gibi şiddetli olarak değerlendirildi ve istatistiksel açıdan fark bulunamadı ($P>0.05$).

Sadece Antibiyotik tedavisi alan grup 3' de ise enflamatuvar cevap grup 1' e göre belirgin olarak azalmıştı. Enflamatuvar hücre sayısı azalmış ve bazılarında tamamen izlenmezken, submukozal doku kalınlığı normale yaklaşmıştı. Epitelial metaplazi ise halen devam etmekteydi. Damarlanma ise AOM grubuna göre belirgin olarak azalmıştı.

E vitamin ve Antibiyotik tedavisi alan grup 4' deki spesmenlerin incelenmesinden elde edilen veriler ise Grup 3' teki sonuçlarla benzerlik göstermekteydi. Tedavi verilmeyen AOM grubunun sonuçları ile antibiyotik ve antibiyotik ile birlikte antioksidan tedavi verilen grupların sonuçları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak enflamasyonda azalma olduğu görüldü ($P<0.05$) (Şekil 5).



Şekil 5: Amoksisilin + E vitamini grubu kobaylarda azalmış enflamasyon (H.E X 200)

Sadece antioksidan tedavi alan grup ile sadece antibiyotik verilen grup karşılaştırıldığında submukozal kalınlık ve enflamatuar hücre sayılarında istatistiksel fark olduğu ($p<0.05$), diğer parametrelerde ise fark olmadığı görüldü ($p>0.05$). Antioksidan tedavi grubu ile antibiyotik ve antioksidan tedavinin birlikte verildiği grup karşılaştırıldığında ise metaplazi dışında diğer bulgular arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunduğu tespit edildi ($p<0.05$). Antibiyotik grubu ile antibiyotik ve antioksidanın birlikte uygulandığı grup arasında histolojik bulgular açısından istatistiksel fark bulunamadı ($p>0.05$).

Tablo 3: Orta kulak mukozasındaki histolojik bulgular

Parametreler	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Submukozal kalınlık	++ ++ ++ ++	++ ++ + ++	+ + + ++	+ + + +
Vasküler değişiklikler	++ ++ ++ ++	++ + ++ +	+ + + +	+ + - +
Enflamatuar hücreler	++ ++ ++ ++	++ + ++ ++	+ - + +	+ + + -
Epiteliyal metaplazi	++ ++ ++ ++	++ + ++ +	+ + + ++	+ + + -

B. BİYOKİMYASAL BULGULAR

B.1. Plazma MDA Değerleri

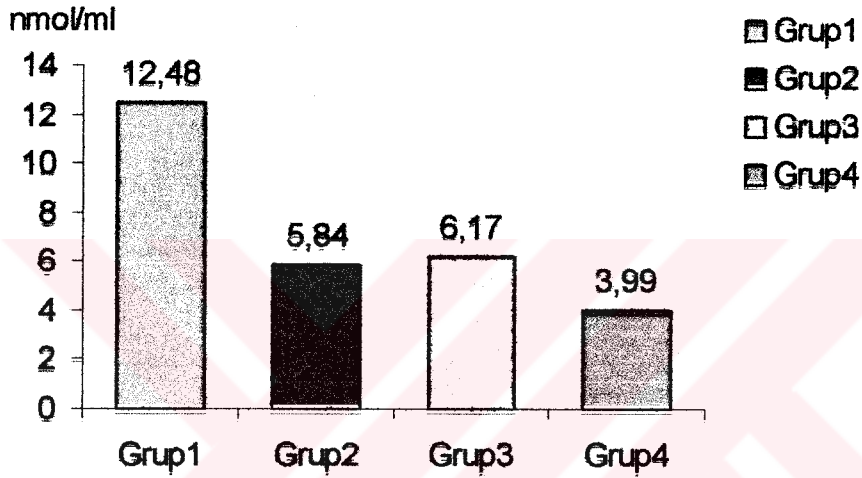
Tablo 4’ de sadece *S. pneumoniae* inoküle edilerek AOM oluşturulan ve tedavi verilmeyen grup 1, AOM sonrası antioksidan (E vitamini) tedavi verilen grup 2, yine AOM sonrası antibiyotik (amoksisilin) tedavisi verilen grup 3 ve son olarak AOM sonrası antioksidan ve antibiyotik tedavisinin birlikte uygulandığı grup 4’ ün plazma MDA düzeyleri görülmektedir.

Tablo 4: Bütün gruplardaki plazma MDA değerleri

Plazma MDA Düzeyi (nmol/ml)	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
	12,48 ± 5,39	5,84 ± 1,51*	6,17 ± 1,17*	3.99 ± 0,43*
* $p<0.01$				

Tablo 4’ de ve Şekil 6’ da görüldüğü gibi AOM oluşturulan ve tedavi verilmeyen kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında bütün gruplarda

belirgin olarak MDA düzeyinde azalma mevcuttu ($p<0.01$). Sadece E vitamini verilen kobayların plazma MDA değeri, antibiyotik uygulanan kobayların MDA değerinden düşük bulunmasına rağmen, grupları kendi içinde karşılaştırdığımızda, tüm tedavi verilen grupların plazma MDA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ($p>0.05$). Tek başına antioksidan uygulanması, tek başına antibiyotik verilmesi veya ikisinin birlikte uygulanması plazma MDA düzeyinde, kontrol grubuna göre anlamlı azalma meydana getirirken, tedavi uygulanan gruplar arasında plazma MDA değerleri açısından fark bulunmamıştır.



Şekil 6: Plazma MDA değerleri

B.2. Doku MDA Değerleri

Tablo 5' de tüm gruplardaki deneklerin *S.pneumoniae* inoküle edilen deney kulakları (sol kulak) ile serum fizyolojik verilen kontrol kulaklarının (sağ kulak) orta kulak mukozalarının MDA değerleri görülmektedir.

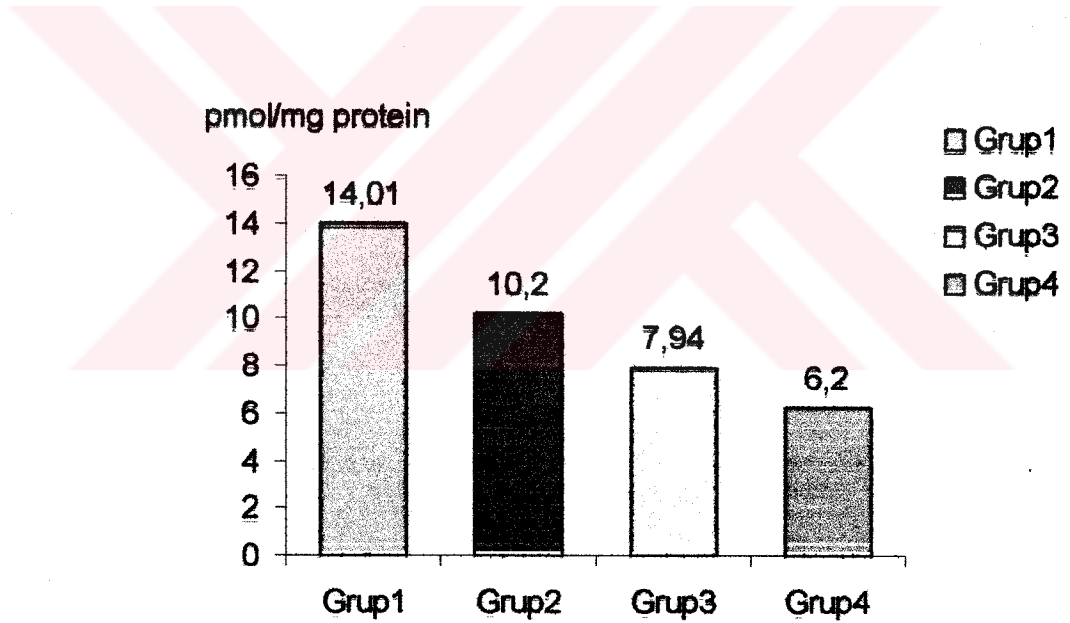
Tüm grupların deney ve kontrol kulaklarının orta kulak mukozalarının MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış mevcuttu ($p<0.01$). AOM grubunun deney kulağı ile diğer grupların deney kulakları karşılaştırıldığında her bir grup arasında doku MDA değerlerinde anlamlı fark olduğu tespit edildi ($p<0.01$). Doku MDA' sındaki en fazla azalmanın sırası ile; grup 4, grup 3 ve grup 2' de olduğu görüldü, fakat grup 3 ve 4 arasında doku MDA değerleri açısından anlamlı bir fark tespit edilemedi ($p>0.05$). Grup 2 ile grup 3 ve 4 arasında ise doku MDA

düzeylerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir azalmanın olduğu görüldü ($p<0.01$) (Şekil 7).

Tablo 5: Orta kulak mukozası MDA değerleri

Doku MDA Değerleri (pmol/mg protein)		
	Sol Kulak (Deney kulağı)	Sağ Kulak (Kontrol kulağı)
Grup 1	14,01 ± 2,52 ^a	2,58 ± 0,45
Grup 2	10,20 ± 0,47 [*]	2,69 ± 1,36
Grup 3	7,94 ± 1,24 [*]	2,44 ± 0,58
Grup 4	6,20 ± 0,14 [*]	2,09 ± ,048
	[*] $p<0.01$	^a $p<0.01$ (1- 2, 3, 4)

Kruskal Wallis Varyans Analizi ($p<0.001$), Tukey HSD ($p<0.01$)



Şekil 7: Orta kulak mukozası MDA değerleri

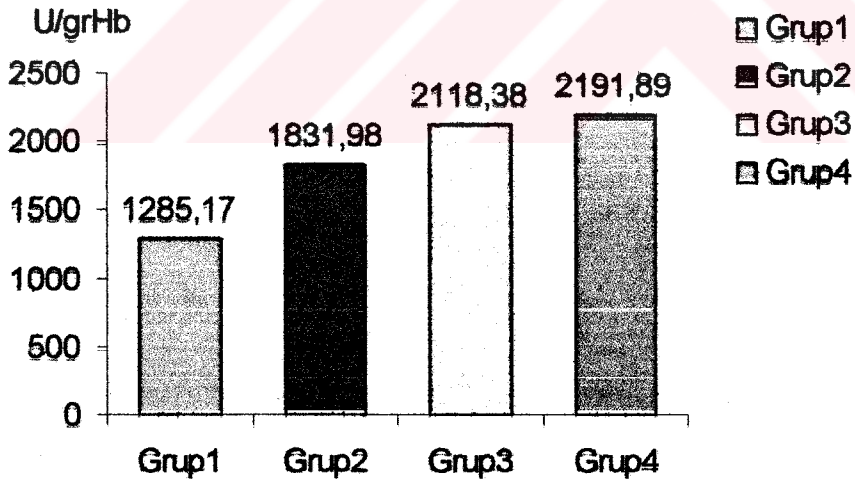
B.3. Eritrosit SOD Değerleri

Tablo 6' da tüm gruplardaki deneklerin eritrosit SOD değerleri görülmektedir.

Tablo 6: Eritrosit SOD değerleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
SOD (U/grHb)	1285,17 ± 197,37*	1831,98 ± 632,92	2118,38 ± 203,93*	2191,89 ± 466,96*
* P<0.05				

Tablo 6 ve Şekil 8 incelendiğinde tedavi verilmeyen AOM grubunda eritrosit SOD düzeyi en düşük olarak bulundu. Antioksidan tedavi verilen grupta ise eritrosit SOD düzeyinin artmasına rağmen AOM grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilemedi ($p>0.05$). Grup 3 ve 4 ile AOM grubu arasında eritrosit SOD değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$). Tedavi uygulanan gruplar arasında eritrosit SOD düzeyi açısından yapılan karşılaştırmada anlamlı farklılık bulunamadı ($p>0.05$).



Şekil 8: Eritrosit SOD değerleri

B.4. Doku SOD Değerleri

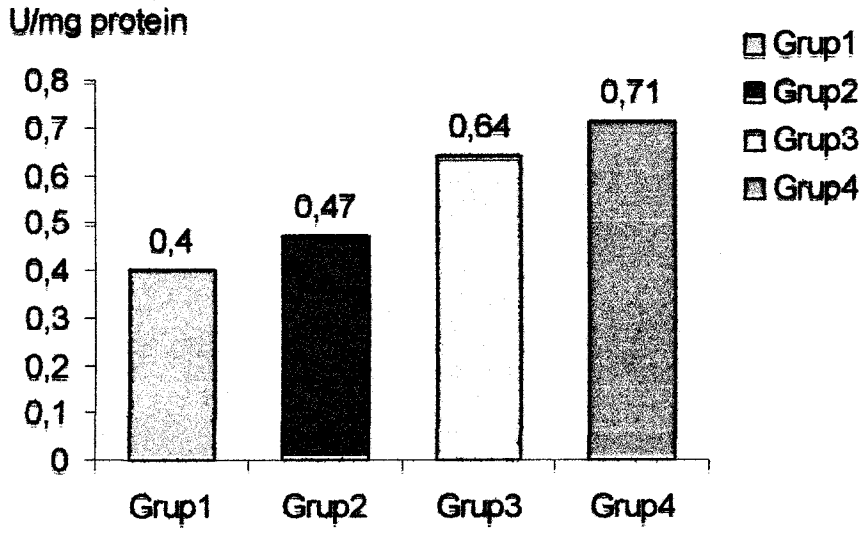
Tüm grupların deney kulakları ve çalışma kulaklarının orta kulak mukozasının SOD düzeyleri tablo 7’ de sunulmuştur.

Tablo 7: Orta kulak mukozası SOD değerleri

Doku SOD değerleri (U/mg protein)		
	Sol Kulak (Deney kulağı)	Sağ Kulak (Kontrol kulağı)
Grup 1	0,40 ± 0,03 ^a	0,52 ± 0,13
Grup 2	0,47 ± 0,06	0,52 ± 0,02
Grup 3	0,64 ± 0,08*	0,49 ± 0,10
Grup 4	0,71 ± 0,07*	0,56 ± 0,02
	*p<0.05	^a p< 0.01(1-3, 4 / 2-3, 4)

Kruskal Wallis Varyans Analizi (p<0.001), Tukey HSD (p<0.01)

Grupların deney ve kontrol kulaklarının orta kulak mukozalarının SOD düzeyi karşılaştırıldığında, AOM grubunda ve antioksidan uygulanan grupta SOD düzeyinin kontrol kulağına göre deney kulağında azalmış olduğu, fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi (p>0.05). Grup 3 ve grup 4’ te ise SOD düzeylerinin kontrol kulaklarına göre anlamlı derecede artmış olduğu görüldü (p<0.01). AOM grubunun deney kulağı ile tedavi verilen grupların deney kulaklarının orta kulak mukozalarındaki SOD düzeyleri karşılaştırıldığında grup 1 ile grup 2 arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı, fakat grup 3 ve 4’ ün SOD değerlerinin grup 1’ e göre anlamlı olarak yükseldiği görüldü (p<0.01). Grup 3 ve 4 arasında SOD artışı açısından anlamlı bir fark tespit edilmezken, grup 2’ ye göre grup 3 ve 4’ de istatistiksel olarak belirgin yükselme olduğu görüldü (Şekil 9).



Şekil 9: Orta kulak mukozası SOD değerleri

VI. TARTIŞMA

Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş (tek sayıda) elektron içeren ve bağımsız olarak bulunabilen çok kısa ömürlü kimyasal ürünlerdir. Eşlenmemiş elektronları nedeniyle son derece reaktif bir yapıya sahiptirler. Bu reaktif durum, molekülün hücrenin lipid, protein, karbonhidrat ve nükleotid yapıları ile reaksiyona girmesine neden olur (117).

Serbest radikaller in vivo olarak ksanthine oksidaz ve nitrik oksit sentaz gibi enzimler tarafından ve daha da önemlisi oksidatif fosforilasyon esnasında elektron transport zinciri yolu ile normal metabolizma esnasında üretilirler. Bu nedenle SR'ler yaşayan organizmalarda fizyolojik şartlarda bulunurlar. SR tepkimeleri vücutta SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimlerle kontrol altında tutulurlar (118).

1900' lü yılların başında ilk olarak tanımlandığından beri SR'ler romatoid artrit, ateroskleroz, pulmoner amfizem, enflamatuar barsak hastalığı ve periodontal hastalıklar gibi enflamatuar komponenti olan birçok hastalığın patogenezinde sorumlu olarak gösterilmiştir. Ayrıca stroke, myokard enfarktı ve katarakt gibi yaşlılıkla bağlantılı dejeneratif değişikliklerde de rol oynadıklarına inanılmaktadır. (117).

Bakteriyel enfeksiyon polimorfonükleer lökosit, lenfosit, nötrofil ve makrofajları dokuya çeker ve bu hücreler enflamasyona katkıda bulunan bir çok mediatör üretirler. Bu hücreler arasında lipid mediatörleri (prostaglandin ve leukotrienler) ve sitokinler (interlökin 1 ve tümör nekrotizan faktör) bulunmaktadır. Enflamatuar süreçte her faktörün ne kadar katkıda bulunduğu kesin olmamasına karşın lipid peroksidasyonu çoğu enflamatuar olayla ilişkilidir (119).

Birçok deneysel ve klinik çalışmada orta kulak efüzyonlarında enflamatuar mediatörler gösterilmiştir. Bu mediatörler, hücre zarında fosfolipidlerden derive olan araşidonik asit metabolitleri olan prostoglandinler ve leukotrienler, interlökin 1 beta, interlökin-2, interlökin-6 ve tümör nekrotizan faktördür. Hayvan modellerinde orta kulağa leukotrien ve prostoglandin enjeksiyonundan sonra enflamatuar değişiklikler meydana gelmiş ve bu gibi mediatörlerin spesifik inhibitörlerle tedavisinin otitis medianın ilerlemesine engel olduğu rapor edilmiştir (45,120-122).

Antioksidatif defans mekanizmaları ile SR'ler arasındaki denge bozulduğunda SR miktarında artma gözlenir. Radyasyon, oksijen toksisitesi, iskemi-reperfüzyon hasarı, enfeksiyon ve enflamasyon SR'lerin artışına yol açan

nedenlerden birkaçıdır. Enflamasyonda SR'lerin üretiminin artışı o bölgede yeterli lökositlerin varlığını gösterir ve bu durum oksidatif patlamaya yol açmaktadır (16,17).

Serbest radikallerin intrasellüler aşırı üretimi fosfolipaz A2 ve lipooksijenazları aktive ederek hücre ölümüne neden olur. Hipoksi ve iskemi mitokondrial oksidatif fosforilasyonu bozar ve oksijenin parsiyel redüksiyon ürünlerinin yüzdesini arttırır. ATP seviyesi düşer ve böylece ksantin oksidaz yoluyla hücrede ürik asit ve süperoksit yapılır. Bunun sonucunda doku nekrozuna neden olan akut oksidatif stres ortaya çıkar. Bu süreç SOD ve allopurinol gibi antioksidanların kullanılması ile önlenbilir yada geciktirilebilir (117).

Serbest radikal hasarı primer olarak süperoksit radikali ve hidroksil radikali tarafından oluşturulur. Süperoksit radikali en önemli oksidatif metabolittir. Protein, nükleotid ve yağ asitlerinde yaptığı hasarın yanında endotoksinlerin, immün kompleksin ve araşidonik asit metabolitlerinin neden olduğu hücre hasarını arttırır (84,123). Streptokokkal AOM' de oluşan O_2^- SOD ile H_2O_2 ' ye çevrilir. Daha sonra H_2O_2 hidroksil radikale dönüşerek yumuşak doku ve organizmada hasara yol açar. Bu radikaller doymamış yağ asitlerinin metilen karbonundan bir hidrojen atomu uzaklaştırarak, hücre membranlarındaki poliansatüre yağ asitleri üzerinden etkilerini gösterirler. Moleküler oksijen ile karbon merkezli radikal reaksiyonlarının sonucunda peroksi radikali oluşur. Peroksi radikali diğer ansatüre yağ asitlerinden hidrojen atomlarını ayırabilir ve sonuçta başka bir karbon merkezli peroksi radikali ve LPO meydana gelir (27).

Serbest radikaller hücre membranlarındaki doymamış yağ asitleri üzerine etki ederlerse, lipid peroksidasyonu şeklinde doku hasarı oluştururlar. Lipid peroksidasyonu 3 basamakta gerçekleşmektedir. Başlangıç fazında fosfolipidlerin poliansatüre yağ asitlerinden bir allellik hidrojenin çıkarılarak lipid radikali oluşturulur. Lipid radikali yeniden düzenlenerek dioksijenle reaksiyona girer ve lipid peroksi radikali oluşur. Çoğalma fazında ise lipid peroksi radikalinin farklı bir poliansatüre yağ asidinin divinil metanıyla reaksiyona girmesi ile lipid hidroperoksit ve ayrı bir lipid radikali üretilir. Üçüncü ve son dönemde ise vitamin E veya alfa tokoferol gibi bir antioksidan sistemle reaksiyona girerek olay sonlandırılır (117).

Lipid peroksidasyonu hücre membranı üzerindeki multiple patolojik etkisinden dolayı önemlidir. Lipid peroksidasyonu hücre membranının

akışkanlığında ve bariyer fonksiyonunda bozulmaya yol açar. Ayrıca lipid peroksidasyonu kemotaktik aktivitenin değişmesine, makrofaj fonksiyonunun blokajına ve protein sentezinin inhibisyonuna yol açabilir (17). Sonuçta hücresel yapılar bozulur ve hücre ölümü gerçekleşir. Orta kulak mukozasındaki bu tip hasar sadece iyileşmenin gecikmesine değil aynı zamanda işitme kaybı ve konuşmanın gecikmesi gibi sonradan ortaya çıkabilen şekillere ve kulak enfeksiyonunun tekrarlamasına yol açabilir (25).

Lipid peroksidasyonu hücre membranlarındaki fosfolipidleri de ilgilendirmektedir. Bunlar yüksek poliansatüre yağ asidi içerdiklerinden dolayı organik dünyadaki en anstabil moleküller olarak bilinmektedirler. Poliansatüre yağ asitleri, metilen karbonlarının alkalik hidrojenlerindeki düşük bağlı dissosiasyon enerjisinden dolayı oksidatif hasara karşı duyarlıdırlar (117).

Lipid peroksidasyonu mukozal hasarla efüzyon oluşumunu artırırken, ET' de enflamasyon oluşturarak sıvının boşalmasını engelleyebilir. ET obstrüksiyonu ve orta kulak efüzyonu orta kulakta hipoksik şartlar oluşturur. Hipoksi SR oluşumuna katkıda bulunduğu için bu şartlar devam ettiği sürece mukoza devamlı radikal hasarına maruz kalır. Enfeksiyonun orta kulakta enflamasyon gelişmesinde rol oynadığı ve enflamasyonun SR üretimini artırdığı gerçeği göz önünde tutulursa, belirgin orta kulak enfeksiyonu olmayan bazı çocuklarda neden kronik orta kulak sıvısının ortaya çıktığı ve zamanında antibiyotik tedavisinin bu durumu önleyemediği açıklanabilir (117).

Aerobik organizmalar yüksek miktarlarda poliansatüre yağ asidi içermektedir. Bunlar aerobik hücre zarlarında gerekli olan komponentler olup membran yapısına ve geçirgenliğe katkıda bulunmaktadır. SR' ler peroksidasyonla hücre membranındaki lipidlere zarar verdiği zaman LPO ve MDA üretilir ve bunlar SR hasarını değerlendirmede kullanılabilir (28).

Döner ve ark. (124) SR hasarını belirlemek için yaptıkları bir çalışmada, deneysel maksiller sinüzitte enfekte grubun mukozal MDA seviyesinin kontrol grubunun değerlerinden anlamlı olarak yüksek olduğunu ve bu sonuçların serum MDA seviyesi ile korole olduğunu rapor etmişlerdir.

İnsanlarda otitis medianın patogenezi multifaktöriyeldir. Hem viral hem de bakteriyel enfeksiyonlar rol oynayabilir. Çoğunlukla bir üst solunum yolu viral enfeksiyonu mukozalarda şişliğe, bakteriyel proliferasyona ve bakterilerin orta kulak boşluğunda hapsolmesine neden olur. ÜSYE' de virüsler tubal epitelin siliyer

hareketini, ventilatör fonksiyonunu ve lökosit fonksiyonunu inhibe eder. Böylece orta kulak kavitesine bakteri girişine yardımcı olarak AOM gelişimine neden olurlar. ET patogenezin merkezidir. İnfantlarda fonksiyonel ve anatomik olarak immatür ET mevcuttur ve çoğunlukla orta kulak enfeksiyonlarına öncülük eder. Bazı konakçı faktörleri de otit patogenezinin sorumlusu tutulmaktadır. Bunlar; immatür ve yetersiz immünolojik durum, üst solunum yolu alerjisinin varlığı, ailesel yatkınlık, cinsiyet, ırk, pasif sigara içimi, beslenme şekli, kalabalık ortam ve günlük bakım gibi faktörlerdir. Anormal ET fonksiyonu tüm yaş gruplarında orta kulak hastalıklarının patogenezinde en önemli faktördür (37).

AOM' de sıklıkla etken *S. pneumoniae* olduğu ve bazı kişilerde kronik doku hasarını başlattığı düşünüldüğü için patogenezi çalışmaları pnömokoklara karşı enflamatuvar cevabın etkisi bazı çalışmalarda araştırıldı. Canlı olmayan streptokok inokülasyonundan sonra vasküler permeabilitede ve serum proteinlerinde artma, nötrofil göçü ve ortamda lizozim ve araşidonik asit metabolitlerinin varlığı gösterildi (125). Bakterilerin nötrofillerce fagosite edilmesi, intrasellüler oksidatif cevapları stimüle eder ve bakteriler fagozomlarda öldürülür. Kawana ve ark. (92) oksidatif ürünlerin akut ve kronik OM' nin patogeneziyle ilişkili olabileceğini düşünerek pnömokokların neden olduğu orta kulak enflamasyonunun başlangıç fazında nötrofillerin ve onların oksidatif metabolik ürünlerinin orta kulak boşluğuna salgılanıp salgılanmadığını araştırdılar. Bu çalışmada streptokok inoküle edilen Chinchilla modelinde inokülasyondan 24 ve 48 saat sonra orta kulak sıvısında miyeloperoksidaz düzeyinin belirgin olarak yüksek olduğu ve lizozim, araşidonik asit metabolitleri ve oksidanlar gibi nötrofil metabolik ürünlerinin, pnömokokkal otitis medianın erken fazında orta kulak boşluğunda toplandığı gösterildi. Kawana ve ark. (92) elde ettikleri verilere dayanarak bu ürünlerin, akut ve kronik orta kulak hasarına katkıda bulunabileceğini savunmuşlardır.

Orta kulak mukozasının immün defansı diğer mukozalara benzemektedir; B ve T lenfositleri, plazma hücreleri, polimorfonükleer lökositler, makrofajlar, immünglobülinler, sitokinler ve bakteriler gibi çeşitli elemanları içerirler. Bu bahsedilen elemanların tümü de orta kulak efüzyonlarında gösterilmiştir (48).

Yeni araştırmalar OM' li çocuk hastalardan elde edilen sıvılarda enflamatuvar mediatörlerin varlığını ortaya koymuştur. LTB₄, IL8, İL 1 β , TNF , kollojenaz ve bazı diğer sitokinler AOM' ye bağlı gelişen orta kulak sıvılarında artmış olarak bulunmuştur (126).

Orta kulak mukozal hasarının potansiyel mekanizmalarından biri de SR' lerin neden olduğu olaylardır. Otitis media esnasında orta kulak kavitesinde SR salınımının iki olası mekanizması vardır. Bunlar S. pneumoniae' nın aerobik şartlarda çoğalması sonucu oluşan SR' ler ve akut enfeksiyonun nötrofil cevabın respiratuar patlama fazında polimorfonükleer lökositler tarafından salınan SR' lerdir. Toksik SR' ler ve onların ara ürünleri yüksek reaktiftirler ve hücrenin lipid, protein, karbonhidrat ve nükleotidlerinde kimyasal modifikasyon yaparak doku hasarına sebep olabilirler (25). Sunulan bu çalışmada hem kendisinin SR üretmesi hemde en sık AOM' ye neden olan bakteri olması nedeniyle S. pneumoniae kullanıldı.

Takoudes ve Haddad (27) çalışmalarında OM' li çocuklardan elde edilen tüm orta kulak sıvılarında LPO' nun varlığını gösterdiler. Özellikle mukoid ve pürülan karakterli sıvılarda LPO düzeyi, seröz karakterli sıvılara göre daha yüksek olarak bulunmuştu. Yine bu araştırmacıların başka çalışmalarında orta kulağa Streptokok inoküle ederek oluşturdukları deneysel AOM modelinde enfekte orta kulak mukozalarında histolojik olarak vaskularitede artış, submukozal ödem ve enflamatuar hücre infiltrasyonu gösterilmiş ve biyokimyasal olarak orta kulak sıvısında LPO düzeyinin ve orta kulak mukozasında H₂O₂ düzeyinin anlamlı olarak yükseldiği kanıtlanmıştır (27,127). Bizim çalışmamızda da Streptokok inoküle edilen ve AOM oluşturulan kulaklarda histolojik olarak submukozal ödem, vaskülarite artışı, enflamatuar hücre infiltrasyonu ve metaplazi izlendi. Antibiyotik ve antioksidan ile birlikte antibiyotik uygulanan gruplarda enflamatuar cevabın azaldığı gözlemlendi (P<0.01). Sadece antioksidan uygulanan grupta ise enflamatuar cevapta anlamlı bir azalma gözlenmedi (P>0.05).

Parks ve ark. (17) streptokokkal deneysel AOM modelinde, çalışma grubunun orta kulak mukozalarında LPO ve MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükselmiş olduğunu rapor etmişlerdir.

Başka bir çalışmada deneysel AOM' de hayvanlar 5, 10, 20 ve 30. günlerde sakrifiye edilerek orta kulak mukozalarında LPO düzeyi araştırılmış ve tüm ölçümlerde LPO düzeyinin kontrol gruplarından daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada mukozal hasar ve ET tıkanıklığına bağlı orta kulakta sıvı birikimi açıklanmaya çalışılmıştır. LPO düzeyinin 5. günde en yüksek 30. günde ise en düşük olduğu ve LPO düzeyinin zamanla azaldığı fakat yine de normalden yüksek olduğu rapor edilmiştir (117). Bu çalışmada lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA seviyesinin, AOM oluşturulan kulaklarda kontrol kulaklarına göre anlamlı

derecede yüksek bulunduğu gösterildi ve AOM sonrası orta kulak mukozasında SR hasarının geliştiği tespit edildi.

Döner ve ark. (128) deneysel AOM modelinde çalışma grubunun orta kulak mukozalarının yanında, serum örneklerinde de MDA düzeyinin kontrol grubuna göre daha yüksek bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bizim alışmamızda da hayvanların plazma MDA değerlerinin AOM grubunda artmış olduğu ve tedavi verilen gruplarda ise belirgin derecede azalma olduğu gösterildi.

Çalışmamızda ve birçok makalede orta kulakta SR hasarını göstermek için hayvan çalışmaları yapılmıştır (17,26,27,117,128). Kullanılan hayvan modellerinde orta kulak mukozasının ve oluşan orta kulak efüzyonunun değerlendirilmesi ile her ikisinde SR hasarı oluştuğu gösterilmiştir. İnsanlardan orta kulak mukozasının çıkarılması mümkün olmadığından bu yönüyle hayvan çalışmaları daha üstündür. Fakat bu avantajının yanında hayvan modelinin göz önünde tutulması gereken dezavantajları da vardır. Bunlardan en önemlisi pediatrik otitis medialarda disfonksiyonel bir ET önemli bir predispozan faktör iken kullanılan kobaylarda fonksiyonel bir ET bulunmaktadır.

Hücreyi SR hasarından koruyan SOD, katalaz ve glutasyon peroksidaz gibi intrasellüler enzimler mevcuttur. Bu enzimler aerobik metabolizmalı bütün hayvanlarda bulunur. SOD, süperoksit radikalinin hidrojen peroksite dismutasyonunu katalize eder. Katalaz H₂O₂' nin suya indirgenmesini katalize ederken, glutasyon peroksidaz lipid peroksitlerin uzaklaştırılmasını katalizler. Çoğu organ ve dokuda oksidatif hasara karşı antioksidatif bir sistem olarak SOD' un bulunduğu biyokimyasal ve sitokimyasal yöntemlerle ortaya konmuş ve bu enzimin bronşiol, alveol kolumnar epiteli ve olfaktör epitel gibi üst solunum yolları epitelinde lokalize olduğu rapor edilmiştir (129).

Epiteliyal hücreler iskemik bir durumda yüksek oksijen konsantrasyonuna maruz kaldıklarında SOD üretimini arttırabilme yeteneğine sahiptirler. Normal orta kulakta oksijen basıncı atmosferin 3/4'ü kadardır. Enflamasyon sonucu östaki tüpü obstrüksiyonu orta kulaktaki oksijen basıncını azaltacak ve bu da ekstrasellüler boşluğa doğru fagositlerin uyardığı SR salınımını başlatarak enflamasyonun doku hasarı ile sonuçlanmasına yol açacaktır (130). Bazı alışmalarda SOD ve katalazın guinea pig orta kulak mukozasında buldukları gösterilmiştir (131,132). Mukozada bulunan SR giderici enzimler için yapılan çalışmaların AOM' nin patofizyolojisini

ve oksijen bağımlı antimikrobiyal sistemi daha iyi anlamaya yardım edeceğine inanılmaktadır (130).

Ovesen ve Borglum (133) çalışmalarında, efüzyonlu otitis media nedeniyle ventilasyon tüpü takılan çocukların orta kulak sıvılarında SOD düzeylerini ölçerek iyileşme oranlarını karşılaştırdılar. Ölçülebilir düzeyde SOD' a sahip çocuklarda iyileşme oranının, tespit edilebilen konsantrasyonda SOD içermeyen çocuklara göre daha iyi olduğunu rapor ettiler. Orta kulak sıvılarındaki SOD konsantrasyonları arasındaki farklılığın, ortamda SR üreten fagositlerin varlığı veya yokluğuna bağlı olduğunu öne sürdüler. Lee ve ark. (130) ise deneysel çalışmalarında, AOM' de tubal mukozada SOD düzeyinin azalmış olduğunu, enflamatuar olay boyunca salınan SR' leri nötralize etmek için daha fazla SOD harcanmasının buna neden olabileceğini ve SOD' un bu yolla tubal mukozayı SR hasarından koruduğunu öne sürdüler.

Shigemi ve ark. (24) çalışmalarında orta kulak sıvılarında SOD düzeyini araştırmışlar ve orta kulak sıvılarında SOD düzeyini plazma SOD düzeyinden daha yüksek bulmuşlardır. Serum SOD' u ile orta kulak SOD düzeyi arasında korelasyon olmaması SOD' un orta kulakta lokalize olarak üretildiğini desteklemektedir. Orta kulak efüzyonları içinde mukoid efüzyonlardaki SOD düzeyi seröz ve pürülan efüzyonlardaki SOD oranından daha yüksek olarak rapor edilmiştir. Nötrofil sayısı ile SOD düzeyi arasında ise negatif bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. En düşük SOD düzeyinin pürülan efüzyonlarda tespit edilmesi, enflamatuar hücreler tarafından üretilen süperoksit anyonunun SOD' u tükettiğini desteklemektedir.

Bizim deneysel çalışmamızda SOD düzeyinin, AOM oluşturulan hayvanların orta kulak mukozalarında, kontrol kulaklarına göre azalmış olduğu ve yine buna paralel olarak eritrosit SOD' unun da azalmış olduğu görüldü ($P<0.05$). SOD seviyesindeki bu azalmanın enflamatuar süreçte yanıt olarak fazla miktarda SOD' un tüketilmesi ile açıklanması mümkündür. Antibiyotik tedavisi verilen grup 3 ve 4' te enflamasyonun baskılanması ile SOD değerlerinde belirgin bir yükselme tespit edilmiştir.

Bu sonuçlar göstermektedir ki; enflamasyona uğramış doku SR üretimine yönelmekte ve SR' lerin seviyesinin artması orta kulakta meydana gelen hasardan, orta kulaktaki efüzyonun kronikleşmesinden ve kısmen uzun dönemdeki morbiditeden sorumlu olabilmektedir (24,30,128).

Takoudes ve Haddad' ın (26) çalışmasında, antibiyotikle öldürülmüş *S. pneumoniae* inoküle edilen hayvanların orta kulak mukozalarında, postoperatif 1.

günde LPO düzeyinin kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek olduğu rapor edildi. Antibiyotiğe duyarlı bakterilerin AOM' nin erken döneminde orta kulak mukozasında hasara yol açan SR üretimine neden olduğu ve OM' de uygun antibiyotik tedavisine rağmen orta kulakta SR hasarı oluşabileceği gösterildi. Bu durum sadece S. pneumoniae varlığının bile orta kulakta enflamatuvar cevaba yol açtığını düşündürmektedir. Bu çalışmada kullanılan bakteriler antibiyotikle öldürüldükten sonra orta kulağa inoküle edildiğinden burayı invaze edip çoğalamamaktadır. Oysa AOM oluşurken genellikle bakteri orta kulak boşluğunu invaze eder ve daha sonra çoğalmaya başlar ve hatta enfeksiyondan bir veya iki gün sonra antibiyotik tedavisine maruz kalır. Biz çalışmamızda bu genel AOM kliniğini göz önünde tutarak tedaviye inokülasyondan iki gün sonra başladık.

Akut otitis mediada SR hasarını azaltmak için ya üretimleri azaltılmalı yada biyolojik sistemden atımları artırılmalıdır. Nötrofillerden SR üretimini azaltmak teorik olarak antiinflamatuvar ilaçlarla veya enfeksiyonun eradikasyonu ile sağlanabilir. Böylece orta kulak boşluğuna nötrofil göçü azaltılmış ve SR üretimi baskılanmış olur. AOM' de SR' lerin ikinci önemli kaynağı olan streptokoklardır ve enfeksiyonun eradikasyonu ile streptokokların SR üretmeleri azaltılabilir (26).

Bir çok antioksidan tedaviler SR' lerin neden olduğu diğer hastalıklarda tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Bu antioksidanlar arasında vitaminler (E, C, A vitaminleri) SR giderici enzimler (SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi.), bazı sentetik ilaçlar (deferoksamine gibi) ve lazaroid gibi yeni grup ilaçlar bulunmaktadır (17). Nitekim Lazaroid kullanılarak yapılan bir deneysel AOM modelinde Lazaroid verilen grupta ilk 24 saat içinde orta kulak mukozasında lipid peroksidasyonun kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığı rapor edilmiştir (134). Kronik efüzyonu olan çocuklara glutatyon tedavisi uygulanan bir çalışmada ise tedaviden 1 ve 3 ay sonra orta kulak efüzyonlarında anlamlı derecede düzelme görüldüğü rapor edilmiştir (30).

Hücre membranında lokalize E vitamini SR' lerin başlattığı zincirleme reaksiyonun kırılmasında önemli rol oynar. Enfeksiyon sırasında dışarıdan vitamin C veya E uygulanması SR' lerin neden olduğu hasarın önlenmesinde faydalı olabilir (17,26). TM perforasyonlarının iyileşmesi üzerine E vitamininin etkisi üzerine yapılan bir deneysel çalışmada, E vitaminin kontrol grubuna göre; epitel kalınlığını, fibroblast proliferasyonunu ve neovaskülarizasyonu stimüle ettiği istatistiksel olarak ortaya konmuştur (135). Yine bu çalışmada E vitamini ile tedavi edilen kobayların

TM' lerinde yapılan biyokimyasal incelemelerde; MDA düzeyi kontrol grubuna göre düşük bulunmuş ve E vitaminin antioksidan etkisiyle TM iyileşmesine katkı sağladığı istatistiksel olarak ortaya konmuştur (135).

Serbest radikal hasarı üzerine yapılan diğer bir çalışmada ise gürültüye bağlı oluşan SR' lerin neden olduğu koklear hasarı önlemek için, SR giderici ajan olarak melatonin uygulanmış ve melatonin grubunda kontrol grubuna göre işitme eşikleri, plazma ve doku MDA düzeylerinde ve eritrosit glutatyon peroksidaz düzeylerinde istatistiksel fark olduğu rapor edilmiştir (136).

Spesifik hayvan çalışmalarında AOM sırasında antibiyotikler bakteriyi yok ederken, enfeksiyonun eradikasyonundan sonra bile orta kulak sıvısında SR hasarının bulguları ortaya konabilmektedir. SR gidericiler, antioksidan vitaminler ve diğer antiinflamatuvar ajanların kullanılması ile enfeksiyon sırasında orta kulak hasarı azaltılabilir. Bu ilaçların AOM' de tedavi edici etkilerini araştırmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca insanlarda AOM sonrası SR hasarını araştıran çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu hayvan çalışmaları mukozadaki SR hasarını ortaya koyan insan araştırmalarına öncülük etmektedir (27).

Serbest radikallerinin herhangi bir nedenle artışı doku hasarına yol açabilmektedir. AOM sonrası orta kulakta SR hasarının meydana geldiği kabul edilen bir görüştür. Bu çalışmada, AOM sonrası oluşan lipid peroksidasyonunu önlemek için çeşitli tedavi yöntemleri karşılaştırıldı. Bu amaçla tedavide, AOM sonrası genellikle ilk tercih edilen antibiyotiklerden biri olan amoksisilin, güçlü bir antioksidan vitamin olan E vitamini ve bu iki ilacın birlikte kombinasyonu kullanıldı. Çalışmadan elde edilen veriler incelendiğinde tüm tedavi gruplarında orta kulak mukozasında MDA düzeyinin kontrol kulaklarına göre artmış olduğu ($p<0.01$) ve uygulanan tedaviler ile MDA seviyelerinde tedavi almayan AOM grubuna göre anlamlı derecede düşme olduğu görüldü ($p<0.05$).

Akut otitis media oluşturulan ve sadece E vitamini verilen grupta AOM grubuna göre orta kulak mukozasında MDA değerinin anlamlı derecede azalmış olduğu ($p<0.01$) ve SOD düzeyinde ise belirgin bir artışın olmadığı ($p>0.05$), histolojik olarak ise enflamasyonun devam ettiği ($p>0.05$) belirlendi. Plazma MDA' sındaki azalma, AOM grubuna göre anlamlı iken ($p<0.01$), iki grup arasında eritrosit SOD değerlerinde anlamlı bir fark tespit edilemedi ($p>0.05$). AOM sonrası tek başına E vitamini verilmesi SR hasarını azaltmakla birlikte, histolojik olarak

enflamasyonun devam etmesi ve orta kulakta SOD' un miktarının azalması, enflamatuvar sürecin devam ettiğini göstermektedir.

Amoksisilin ile tedavi edilen grubunun orta kulak mukozasında MDA düzeyinin, AOM grubuna göre belirgin derecede azalmış olduğu, aynı zamanda sadece E vitamini verilen deneklerin MDA değerlerine göre de aralarında belirgin fark olduğu tespit edildi ($p<0.01$). Orta kulak mukozal SOD değerleri enflamasyonun baskılanmasına bağlı olarak hem AOM grubuna göre hemde antioksidan tedavi grubuna göre anlamlı derecede yükselmişti ($p<0.01$). Plazma MDA ve eritrosit SOD değerleri bakımından AOM grubu ile belirgin fark tespit edilirken ($p<0.01$), tedavi alan gruplar arasında fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Antibiyotik tedavisi hem streptokokların eradikasyonunu sağlayarak hem de enflamasyonu baskılayarak SR hasarını belirgin derecede azaltmaktadır.

E vitamini ve antibiyotik tedavisinin birlikte uygulandığı grupta orta kulak mukozal MDA değerleri en düşük seviyede tespit edilmiştir. Elde edilen MDA düzeyindeki azalma AOM ve E vitamini gruplarına göre anlamlı iken ($p<0.01$), amoksisilin grubu ile anlamlılık bulunamamıştır ($p>0.05$). Orta kulak mukozal SOD seviyesi en fazla bu grupta ölçülmüştür. Fakat SOD' daki bu artış grup 1 ve 2' ye göre anlamlı iken ($p<0.01$), grup 3 ile istatistiksel bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Plazma MDA ve eritrosit SOD seviyeleri açısından tedavi grupları arasında fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Antibiyotik ile birlikte E vitamininin birlikte verilmesi SR hasarını diğer gruplara göre daha fazla azaltmış olduğu izlenmekle birlikte sadece antibiyotik verilen grupla istatistiksel farklılık ortaya konamamıştır. Belki denek sayısının artırılması veya antioksidan tedavi rejiminin yeniden düzenlenmesi bu farkın ortaya konmasına yardımcı olabilecektir.

Bu çalışmanın dikkat çekici bir diğer sonucu, tüm tedavi gruplarında SR hasarı kanda ve orta kulak mukozasında azalmış olarak bulunmasına rağmen, tedavi gruplarının doku MDA düzeylerinin, kontrol kulaklarının değerlerine göre yüksek olarak bulunmasıdır. Bu da uygulanan tedavilerin SR hasarını tamamen önleyemediğini düşündürmektedir. Bu durumun insanlarda klinik önemi vardır. Çünkü uygun antibiyotik ve hatta antioksidan tedaviye rağmen güçlü bir SR cevabı ortaya çıkabilir ve mukozal hasar meydana gelebilir. Otitis media nedeniyle hasarlanmış ve enflamasyona uğramış mukoza yeterince fonksiyon göremez ve hastada persistan orta kulak sıvı birikimine ve rekürren orta kulak enfeksiyonlarına

neden olur. Uzun dönemde ise işitme kaybı ve konuşmanın gecikmesi gibi sekeller ortaya çıkabilir.

Akut otitis medianın patogenezi multifaktöriyel olduğundan dolayı günümüzde hastalığı ve komplikasyonlarını tamamen önleyebilmek mümkün olamamaktadır. Uygulanacak tedavi rejimi AOM' yi ve buna bağlı morbiditeyi tamamen düzeltmese bile en az düzeye indirmelidir. AOM' de oluşan SR hasarı hastalığın morbiditesini arttıran faktörlerden biridir. SR giderici enzim, vitamin veya ilaçlarla SR' lerin indüklediği enflamatuar değişikliklerin azaltılması mümkündür. Bu araştırmanın sonuçları AOM sonrası orta kulakta güçlü bir SR hasarının oluştuğunu ortaya koymuştur ve AOM tedavisinde antioksidan ilaçların kullanılmasının gerekliliğini desteklemektedir. Çalışmamızda antibiyotikle kombine E vitamini tedavisinin SR hasarını azalttığı fakat sadece antibiyotik tedavisine anlamlı bir üstünlüğü olmadığı görüldü. Bunun yanında sadece E vitamini verilmesi bile SR hasarını kısmen önleyebilmiştir. Bu nedenle biz AOM tedavisinde antioksidan tedavi rejimlerinin kullanılması gerektiğine inanmaktayız. Yapılacak yeni çalışmalarda farklı antioksidan tedavilerin kullanılması ve insan çalışmalarında efüzyonlu otitis media gibi uzun dönemde görülen sekeller üzerine olan etkileri araştırılmalıdır.

VII. KAYNAKLAR

1. Bluestone CD, Klein JO. Otitis media in infants and children. Edn 2. Philadelphia: WB Saunders, 1995: 145-240
2. Hoberman A, Paradise JL. Acute otitis media: diagnosis and management in the year 2000. *Pediatrics Annals* 2000; 29: 609-620.
3. Bluestone CD, Rood SOR, Swards JD. Anatomy and physiology of the eustachian tube. Cummings DW, Harker LA. (Editörler). *Otolaryngology Head and Neck Surgery*. St. Louis: Mosby Volume 4, 1993: 2548-2560.
4. Paradise JL, Rockette HE, Colborn DK, Bernard BS, Smith CG, Kurs-Lasky M, Janosky JE. Otitis media in 2253 pittsburgh-area infants: prevalence and risk factors during the first two years of life. *Pediatrics* 1997; 99: 318-333.
5. Akkuzu B, Özlüoğlu LN. Akut otitis media. *Türkiye Klinikleri KBB* 2001; 1: 64-67.
6. Chonmaitree T, Owen MJ, Patel JA, Hedgpeth D, Horlick D, Howie VM. Effect of viral respiratory tract infection on outcome of acute otitis media. *J Pediatr* 1992; 120: 856-862.
7. Howie VM. Otitis media. *Pediatr Rev* 1993; 14: 320-323.
8. Sung BS, Chonmaitree T, Broemeling LD, Owen MJ, Patel JA, Hedgpeth DC, Howie VM. Association of rhinovirus infection with poor bacteriologic outcome of bacterial-viral otitis media. *Clin Infect Dis* 1993; 17: 38-42.
9. Block SL, Harrison CJ, Hedrick JA, Tyler RD, Smith RA, Keegan E, Chartrand SA. Penicillin resistant streptococcus pneumoniae in acute otitis media: risk factors, susceptibility patterns and antimicrobial management. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14: 751-759.
10. Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi I. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi. 1998: 247-271.
11. Gates GA, Muntz HR, Gaylis B. Adenoidectomy and otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1992; (Suppl) 155: 24-32.
12. Clark IA. Tissue damage caused by free oxygen radicals. *Pathology* 1986; 18: 181-186.

13. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkey GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991; 16: 488-502.
14. Halliwell B, Gutteride J.M.C. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 1984; 219: 1-4.
15. Halliwell B, Gutteride J.M.C. Superoxide, iron, vascular endothelium and reperfusion injury. *Free Radic Res. Commun* 1989; 5: 315-318.
16. İlhan N. Deneysel olarak karaciğere iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan kobaylarda oksidan ve antioksidan sistemin incelenmesi. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı. 1998.
17. Parks RR, Huang CC, Haddad JJr. Evidence of oxygen radical injury in experimental otitis media. *Laryngoscope* 1994; 104: 1389-1392.
18. Bauge JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Meth Enzymol* 1990; 186: 302-310.
19. Köse K, Doğan P. Lipid peroksidasyonu. *Erciyes Tıp Dergisi* 1992; Ek-1: 340-350.
20. Satoh K. Serum lipiperoxide in cerebrovascular disorders determined by a new colometric methods. *Clin Chem Acta* 1978; 90: 37-43.
21. Chonmaitree T, Patel JA, Sim T, Garafalo R, Uchida T, Sim T, et al. Role of leukotriene B4 and interleukin-8 in acute bacterial and viral otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1996; 105: 968-974.
22. Juhn SK, Garwis WJ, Less CJ, Le CT, Kim CS. Determining otitis media severity from middle ear fluid analysis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1994; 163: 43-45.
23. Okamoto Y, Kudo K, Ishikawa K, Ito E, Togawa K, Saito I, et al. Presence of respiratory syncytial virüs genomic sequences in middle ear fluidand its relationship to expression of cytokines and cell adhesion molecules. *J Infect Dis* 1993; 168: 1277-1281.
24. Shigemi H, Kurono Y, Egashira T, Mogi G. Role of superoxide dismutase in otitis media with effusion. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1998; 107: 327-331.

25. Takoudes TG, Haddad JJr. Evidence of oxygen free radical damage in human otitis media. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 120: 638-642.
26. Takoudes TG, Haddad JJr. Free radical production by antibiotic-killed bacteria in the guinea pig middle ear. *Laryngoscope* 2001; 111: 283-289.
27. Takoudes TG, Haddad JJr. Lipid peroxides in middle ear fluid after acute otitis media in guinea pigs. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1999; 108: 564-568.
28. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Math Enzymol* 1990; 186: 421-427.
29. Halliwell B, Cross CE, Gutteridge JMC. Free radicals, antioxidants and human disease. Where are we now? *J Lab Clin Med* 1992; 119: 598-601.
30. Testa B, Testa D, Mesolella M, D'Errico G, Tricarico D, Motta G. Management of chronic otitis media with effusion: The role of glutathione. *Laryngoscope* 2001; 111: 1486-1489.
31. Gates GA. Acute otitis media and otitis media with effusion. In: Cummings CW, Fredericson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schuller DE. (Editörler). *Otolaryngology Head and Neck Surgery (Pediatric Otolaryngology)*. St-Louis: Mosby Year Book, 1998: 461-477.
32. Harkness P, Topham J. Classification of otitis media. *Laryngoscope* 1998; 108: 1539-1542.
33. Senturia BH, Bluestone CD, Klein JO, Lim DJ, Paradise JL. Report of the ad hoc committee on definition and classification of otitis media and otitis media with effusion. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1980; 89 (suppl 68): 3-4.
34. Bluestone CD, Gates GA, Klein JO, Paperella MM, Paradise JL, Tos M et al. Definitions, terminology and classification of otitis media. Panel reports. *Ann. Otol Rhinol Laryngol* 2002; 111: 8-18.
35. Çelik O. (Editör) Akut süpüratif otitis media. *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi*. İstanbul :Turgut Yayıncılık, 2002: 143-160.
36. Jung TT, Hanson JB. Classification of otitis media and surgical principles. *Otolaryngol Clin N Am* 1999; 32: 369-383.

37. Bluestone CD. Pathogenesis of otitis media :role of Eustachian tube. *Pediatr Infect Dis J* 1996; 15: 281-291.
38. Giebenk GS. Otitis media update: pathogenesis and treatment. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1992; 101: 21-23.
39. Bluestone CD, Paradise JL, Beery QC. Physiology of the Eustachien tube in the pathogenesis and management of middle ear effusion. *Laryngoscope* 1972; 82: 1654-1670.
40. Goycoolea MV, Nuchow DC, Gycoolea HG. Otitis media: 16 years of pathogenesis approach. *Otolaryngol Clin North Am* 1991; 24: 967-980.
41. Howie VM. Simultaneous nasopharyngeal and middle ear exudate cultures in otitis media. *Pediatr Diag* 1972; 13: 31-37.
42. Karlıdağ T, Demirdağ K, Kaygusuz İ, Özden M, Yalçın Ş, Öztürk L. Resistant bacteria in the adenoid tissues of children with otitis media with effusion. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2002; 64: 35-40.
43. Bluestone CD, Stephanson JS, Martin LM. Ten year review of otitis media pathogens. *Pediatr Inf Dis J* 1992; 11(Suppl 8) : 7-11.
44. Lim DJ, Demaria TF, Bakaletz LO. Current concepts of pathogenesis of otitis media : a review. *Acta Otolaryngol (suppl)* 1988; 458: 174-180.
45. Johnson MD, Fitzgerald JE, Leonard G, Burluson JA, Dreutzer DL. Ctokines in experimental otitis media with effusion. *Laryngoscope* 1994; 104: 191-196.
46. Jung TT. Arachidonic acid metabolites in otitis media pathogenesis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1988; 97: 14-17.
47. Wright CG, Meyerhoff WL. Pathology of otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1994; 103 (suppl 163): 24-26.
48. Yagi K. Assay of lipid peroxidation in blood plasma or serum. *Methods in Enzymology* 1984; 105: 328-363.

49. Block SL, Hammerschlag MR, Hedrick J, Tyler RD, Smith A, Roblin P, et al. Chlamydia pneumoniae in acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16: 858-862.
50. Block SL. Strategies for dealing with amoxicilin failure in acute otitis media. *Arch Fam Med* 1999; 8: 68-78.
51. Barnett ED, Klein JO. The problem of resistant bacteria for the management of acute otitis media. *Pediatr Clin North Am* 1995; 42: 509-517.
52. Boken DJ, Chartrand SA, Goering RV, Kruger R, Harrison CJ. Colonization with penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in a child-care center. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14: 879-884.
53. Doern GV. Resistance among problem respiratory pathogens in pediatrics. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14: 420-423.
54. Doern GV. Trends in antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens of the respiratory tract. *Am J Med* 1995; 99 (suppl): 3-7.
55. Paradise JL. Managing otitis media: a time for change. *Pediatric* 1995; 96: 712-715.
56. Dowell SF, Butler JC, Giebink GS, Jacobs MR, Jernigan D, Musher DM, et al. Acute otitis media: management and surveillance in an era of pneumococcal resistance - a report from the Drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* Therapeutic Working Group. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18: 1-9.
57. Bass JW. Antibiotic management of group A streptococcal pharyngotonsillitis. *Pediatr Infect Dis J* 1991; 10: 43-49.
58. Akyıldız N, Kemalöglu Y. Otitis Media. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2000: 43-97.
59. Uzun KH, Yardımcı S. Otitis mediada tanı. *Türkiye Klinikleri KBB* 2001; 1: 57-63.
60. Kenna MA. Diagnosis and management of acute otitis media and otitis media with effusion. In: Wetmore RF, Muntz HR, McGill TJ, Potsij WP, Healy GB, Lusk RP. (Editörler). *Pediatric Otolaryngology*. New York : Principles and Practice Pathways. 2000: 263-279.

61. Coombs JT. The diagnosis of otitis media . new techniques. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13: 1039-1046.
62. Howie VM. Eradication of bacterial pathogens from middle ear infections. *Clin Infect Dis* 1992; 14(suppl 2): 209-213.
63. Kaleida PH, Casselbrant ML, Rockette HE, Paradise JL, Bluestone CD, Blatter MM, et al. Amoxicillin or myringotomy or both for acute otitis media: results of a randomized clinicaltrial. *Pediatrics* 1991; 87(4): 466-74.
64. Erdik E, Sarıkaya Y. Temel Üniversite Kimyası, Ankara: Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd. Şti 1986.
65. Athar M, Abdulla H, Sultana S, Favier A, Pero R. Free radicals and trace elements. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* 1993; 6: 65-73.
66. Frei B . Molecular and biological mechanisms of antioxidant action. *FASEB J* 1999; 13: 963-964.
67. Bulkley GB. The role of oxygen free radicals in human disease process. *Surgery* 1993; 94 (3): 407-411.
68. Erenel G, Erbaş D, Akıcıoğlu A. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Dergisi* 1992; 3: 243-250.
69. Pompella A, Maellaro E, Casini AF, Ferrali M, Ciccoli L, Comporti M. Measurement of lipid peroxidation in vivo: A comparison of different procuders. *Lipids* 1987; 22 : 206-211.
70. Li N, Karin M. Is NF-kappaB the sensor of oxidative stress? *FASEB J* 1999; 13: 1137-1143.
71. Fridowich I. Superokside dismutases. *Ann Rev Biochem* 1975; 44: 147-159.
72. Klug D, Rabani J. A direct demonstration of the catalytic action of superoxide dismutase through the use of pulse radiolysis. *J Biol Chem* 1972; 247: 4839-4842.
73. Chan PH. Role of oxidants in ischemic brain damage. *Stroke* 1996; 27: 1124-1129.

74. Rice-Evans CA, Bruckdorfer KR. Free radicals in the vasculature: pathological and physiological significance. In Rice-Evans CA. (Editör). Oxidative stress, Lipoproteins and Cardiovascular Dysfunction, London: Portland Press, 1995: 81-99.
75. Fridowich I. Overview:Biological sources of O_2^- . Meth Enzymol 1984; 105: 59-61.
76. Kılınç K. Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. Biyokimya Dergisi 1985; 10: 59-8.
77. Kılınç K. Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksit dismutaz. Biyokimya dergisi 1986; 9: 59-76.
78. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem 1995; 41: 1819-1828.
79. McElroy MC, Postle AD, Kelly FJ. Catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities of lung and liver during human development. Biochimica et Biophysica Acta 1992; 1117: 153-158.
80. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endotelial injury from nitric oxide and superoxide. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 1620-1624.
81. Alvarez B, Ferrer-Sueta G, Freeman BA, Radi R. Kinetics of peroxynitrite reaction with amino acids and human serum albumin. J Biol Chem 1999; 274:842-848.
82. Eiserich JP, Hristova M, Cross CE, Jones AD, Freeman BA, Halliwell B, van der Vliet A. Formation of nitric-oxide derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. Nature 1998; 391: 393-397.
83. Candeias LP, Patell KB, Stratford MRL, Wardman P. Free hydroxyl radicals are formed as reaction between the neutrophil-derived species superoxide and hypochlorous acid. FEBS Lett 1993; 333: 151-153.
84. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. Biochem J 1984; 222: 1-15.
85. Slater TF. Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. Meth Enzymol 1984; 105: 283-293.

86. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Yayınları, 1995: 1-47.
87. Dormandy TL. An approach to free radicals. *Lancet* 1988; 29: 1010-1014.
88. Erden M, Bor NM. Changes of reduced glutathione, glutathione peroxidase after radiation in guinea pigs. *Biochem Med* 1984; 31: 217-227.
89. Kavas G. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri Fizyoloji* 1989; 9: 1-8.
90. Aybey B, Tufan H, Ergenekon G. Serbest radikaller. *Türkderm* 1996; 30: 116-122.
91. Erden M. Serbest radikaller. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Derg* 1992; 12: 201-207.
92. Kawana M, Kawana C, Yokoo T, Qoie PG, Giebink GS. Oxidative metabolic products released from polymorphonuclear leukocytes in middle ear fluid during experimental pneumococcal otitis media. *Infect Immun* 1991; 59: 4084-4088.
93. Davies KJA. Intracellular proteolytic systems may function as secondary antioxidant defenses: an hypothesis. *Free Radic Biol Med* 1986; 2: 155-173.
94. Barber DA, Horris SOR. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am Pharm* 1994; 34: 26-35.
95. Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clin Chem* 1991; 37: 1932-1937.
96. Lim DJ, Demaria TF, Bakaletz LO. Current concepts of pathogenesis of otitis media : a review. *Acta Otolaryngol (suppl)* 1988; 458: 174-180.
97. Agar NS, Sadrzadeh SMH, Eaton JW. Erythrocyte catalase:A somatic oxidant defence? *J Clin Invest* 1986; 77: 319-321.
98. McElroy MC, Postle AD, Kelly FJ. Catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities of lung and liver during human development. *Biochimica et Biophysica Acta* 1992; 1117: 153-158.

99. Shan XQ, Aw TY, Jones DP. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. *Pharmacol Ther* 1990; 47: 61-71.
100. Ceballos-Picot I, Trivier JM, Nicole A, Sinet PM, Thevenin M. Age-correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem* 1992; 38(1): 66-70.
101. Meister A. On the antioxidant effects of ascorbic acid and glutathione. *Biochem Pharmacol* 1992; 44: 1905-1915.
102. Ripalda MS, Rudolph N, Wong SL. Developmental patterns of antioxidant defense mechanisms in human erythrocytes. *Pediatr Res* 1989; 26: 366-369.
103. Chan CA. Partners in defense, vitamin E and vitamin C. *Can J Physiol Pharmacol* 1993; 71: 725-731.
104. Schafer L, Thorling EB. Lipid peroxidation and antioxidant supplementation in old age. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50: 69-75.
105. Record IR, Macqueer SE, Dreosti IE. Zinc, iron, vitamin E and erythrocyte stability in the rat. *Biological Trace Element Research* 1990; 23: 89-96.
106. Esterbauer H, Dieber-Rotheneder M, Striegl G, Waeg G. Role of vitamin E in preventing the oxidation of low-density lipoprotein. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 314-321.
107. Hasanoğlu A. E vitamini. *Yeni Tıp Dergisi* 1993; 10: 33-37.
108. Çiçek E. E vitamininin tıbbi değeri. *D.Ü.T.F. Dergisi* 1984; 11: 347-354.
109. Burton GW, Inguld KU. Beta-karotene: an unusual type of antioxidant. *Science* 1984; 224: 569-573.
110. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 1996; 27: 41-50.
111. Park SN, Yeo SW. Effects of antibiotics and steroid on middle ear mucosa in rats with experimental acute otitis media. *Acta Otolaryngol* 2001; 121: 808-812.

- 112.Sun Y, Oberley LW, Ying L. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem 1988; 34: 497-500.
- 113.Durak I, Yurtarslanı Z, Canbolat O, Akyol O. A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. Clin Chim Acta 1993; 214: 103-104.
- 114.Yagi K. Assay of lipid peroxidation in blood plasma or serum. Methods in Enzymology 1984; 105: 328-363.
- 115.Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 1979; 95: 351-358.
- 116.Fairbank VF, Farias RN. Biochemical aspect of hematology. Tietz NW (Editör). Textbook of Clinical Chemistry. 2. baskı, W.B. Saunders Company 1986: 1506-1507.
- 117.Haddad J Jr. Lipoperoxidation as a measure of free radical injury in otitis media. Laryngoscope 1998; 108: 524-530.
- 118.Friedman AD, Shah JB, Takoudes TG, Haddad J Jr. The role of free radicals in chronic rhinosinusitis. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2002; 128: 1055-1057.
- 119.Del Meastro RF, Bjork J, Arfors KE. Increase in microvascular permeability induced by enzymatically generated free radicals. Part II. Role of superoxide anion radical, hydrogen peroxide and hydroxyl radical. Microvasc Res 1981; 22: 255-270.
- 120.Jung TT, Park YM, Schlund D, Weeks D, Miller S, Wong O, Juhn SK. Effect of prostoglandin, leukotriene and arachidonic acid on experimental otitis media with effusion in chinchillas. Ann Otol Rhinol Laryngol 1990; 99: 28-32.
- 121.Ophir D, Hahn T, Schattner A, Wallach D, Aviel A. Tumor necrosis factor in middle ear effusions. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1988; 114: 1256-1258.
- 122.Watanabe T, Hirano T, Suzuki M, Kurono Y, Mogi G. Role of interleukin-1 beta in a murine model of otitis media with effusion. Ann Otol Rhinol Laryngol 2001; 110: 574-580.

123. Fridovich I. Biological effects of the superoxide radical. *Arch Biochem Biophys* 1986; 247: 1-11.
124. Döner F, Delibaş N, Doğru H, Sarı I, Yorgancıgil B. Malondialdehyde levels and superoxide dismutase activity in experimental maxillary sinusitis. *Auris Nasus Larynx* 1999; 26: 287-291.
125. Nonomura N, Giebink GS, Juhn SK, Harada T, Aeppli D. The pathophysiology of *S. pneumoniae* otitis media : kinetics of the middle ear biochemical and cytological host responses. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1991; 100: 236-243.
126. Yellon RF, Doyle WJ, Whiteside TL, Diven WF, March AR, Fireman P. Cytokines, immunoglobulins and bacterial pathogens in middle ear effusions. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1995; 121: 865-869.
127. Takoudes TG, Haddad JJr. Hydrogen peroxide in acute otitis media in guinea pigs. *Laryngoscope* 1997; 107: 206-210.
128. Döner F, Delibaş N, Doğru H, Yanıktaş M, Demirci M. Free oxygen radicals in experimental otitis media. *J. Basic Clin Physiol Pharmacol* 2002; 13: 33-40.
129. Sakai M, Takeuchi M, Umemura T, Ueda H, Ohmori T, Ashihara M, Nagatsu I. Immunocytochemical localization of copper-zinc superoxide in mouse olfactory mucosa. *Auris Nasus Larynx* 1993; 20: 113-116.
130. Lee ES, Woo JS, Hwang SJ, Lim HH, Suh HK. Protective role of superoxide dismutase in rat Eustachian tubal mucosa against acute otitis media induced by upper respiratory tract infection. *J Laryngol Otol* 2000; 114: 832-836.
131. Parks RR, Huang CC, Haddad JJr. Superoxide dismutase in an animal model of otitis media. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1995; 252: 153-158.
132. Parks RR, Huang CC, Haddad JJr. Middle ear catalase distribution in an animal model of otitis media. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1996; 253: 445-449.
133. Ovesen T, Börglum JD. Superoxide dismutase in middle ear fluid from children with secretory otitis media. *Acta Oto-Rhino-Laryngol* 1992; 112 : 1017-1024.

- 134.Haddad J Jr, Egusa K, Takoudes TG. Effects of 21-aminosteroid U-74389G on acute otitis media in guinea pig model. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 118: 44-48.
- 135.Susaman N. Mekanik etkiyle oluşturulan timpanik membran perforasyonlarında E vitamininin malonildialdehit ve histopatolojik değişiklikler üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, 2000.
- 136.Karlıdağ T, Yalçın Ş, Öztürk A, Üstündağ B, Gök Ü, Kaygusuz İ, Susaman N. The role of free oxygen radicals in noise induced hearing loss:effects of melatonin and methylprednisolone. *Auris Nasus Larynx* 2002; 29: 147-152.



VIII. ÖZGEÇMİŞ

1972 yılında Elazığ' da doğdum. İlk, orta ve lise tahsilimi Elazığ' da tamamladım. 1988 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi' nde yüksek öğrenimime başlayıp 1994 yılında mezun oldum. Aynı yıl Amasya ili Merzifon ilçesinde pratisyen hekim olarak göreve başladım. 1995-1996 yılları arasında Hakkari ili Yüksekova ilçesinde askerlik görevimi yaptıktan sonra tekrar çalışma yerime döndüm. 1997-1998 yılları arasında ise Elazığ iline tayin olarak burada pratisyen hekimlik görevimi devam ettirdim. 1998 yılında girdiğim tıpta uzmanlık sınavında Fırat üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz bölümünü kazandım ve aynı yıl ihtisasa başladım. Halen bu klinikte araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk babasıyım.



**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**