

**DENEYSEL ÇALIŞMA**

# Travmatik timpanik membran perforasyonlarında E vitamininin histopatolojik iyileşme ve lipid peroksidasyon düzeyleri üzerine etkileri: Deneysel çalışma

The effect of vitamin E on histopathologic healing and lipid peroxidation levels in experimentally induced traumatic tympanic membrane perforations

Dr. Nihat SUSAMAN,<sup>1</sup> Dr. Şinasi YALÇIN,<sup>2</sup> Dr. Nevin İLHAN,<sup>3</sup> Dr. İ. Hanifi ÖZERCAN,<sup>4</sup>  
Dr. İrfan KAYGUSUZ,<sup>2</sup> Dr. Turgut KARLIDAĞ,<sup>2</sup> Dr. Üzeyir GÖK<sup>2</sup>

**Amaç:** E vitamininin, mekanik etkiyle oluşturulan timpanik membran perforasyonlarında iyileşme üzerine olası olumlu etkilerini ortaya koymak.

**Çalışma Planı:** Kırk adet guinea pig'in her iki timpanik membranında, standart 1.8 mm'lik perforasyon oluşturuldu. Denekler 20'şerli iki gruba ayrıldı. Bir gruba tedavi uygulanmazken, diğer gruba 100 mg/kg/gün E vitamini intramusküler enjeksiyonla verildi. Perforasyon oluşturulduktan sonra, 1, 3, 5 ve 7. günlerde gruplardan rastgele seçilen beş kobayın yaşamı sonlandırıldı. Timpanik membrandaki histopatolojik değişiklikler değerlendirildi ve doku malondialdehid düzeyleri ölçüldü.

**Bulgular:** Epitel kalınlığı, fibroblast proliferasyonu ve neovaskülarizasyon çalışma grubunda anlamlı derecede farklı bulundu ( $p<0.05$ ). Epitel kalınlığının iki grupta da birinci günden itibaren arttığı; ancak bu artışın çalışma grubunda daha hızlı olduğu belirlendi. Çalışma grubunda malondialdehid düzeyinin 3 ve 5. günlerde 1. güne göre artış göstermesine rağmen ( $p<0.05$ ), 7. günde 1. gün düzeyine indiği görüldü. Kontrol grubunda ise böyle bir düşüş saptanmadı.

**Sonuç:** E vitamini, travmatik timpanik membran perforasyonlarının iyileşme sürecini hızlandırmaktadır.

**Anahtar Sözcükler:** Antioksidan; guinea pig; lipid peroksitleri/metabolizma; malondialdehid/metabolizma; timpanik membran/yaralanma/ilaç etkisi; vitamin E/uygulama ve doz; yara iyileşmesi/ilaç etkisi.

**Objectives:** To examine the favorable effects of vitamin E on tympanic membrane perforations induced mechanically in guinea pigs.

**Study Design:** Bilateral tympanic membrane perforations of 1.8 mm were induced in 40 guinea pigs. The animals were randomly divided into two groups equal in number. One group remained untreated, while the other was administered vitamin E (100 mg/kg/day) through intramuscular injections. On days 1, 3, 5, and 7, five animals in each group were randomly sacrificed. Histopathologic changes in the tympanic membranes were evaluated and malondialdehyde levels were determined.

**Results:** Significant increases were observed in epithelial thickness, fibroblastic proliferation, and neovascularization in the study group ( $p<0.05$ ). Epithelial thickness was found to be increased in both groups beginning from the first day; however, this increase was more rapid in the study group. Although malondialdehyde levels showed significant increases on days 3 and 5 in both groups ( $p<0.05$ ), they returned to the first day values in vitamin E-treated animals on day 7, whereas controls still maintained high malondialdehyde levels.

**Conclusion:** Vitamin E hastens the healing process of traumatic tympanic membrane perforations.

**Key Words:** Antioxidants; guinea pigs; lipid peroxides/metabolism; malondialdehyde/metabolism; tympanic membrane/injuries/drug effects; vitamin E/administration & dosage; wound healing/drug effects.

♦ <sup>1</sup>Elazığ SSK Hastanesi KBB Hastalıkları Kliniği; Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, <sup>2</sup>KBB Hastalıkları Anabilim Dalı, <sup>3</sup>Biyokimya Anabilim Dalı, <sup>4</sup>Patoloji Anabilim Dalı, Elazığ.

♦ Dergiye geliş tarihi: 18 Eylül 2002. Düzeltme isteği: 6 Kasım 2002. Yayın için kabul tarihi: 27 Şubat 2002.

♦ İletişim adresi: Dr. Nihat Susaman. Doktorlar İş Merkezi, A Blok, Kat 4, 23200 Elazığ.  
Tel: 0424 - 237 71 76 Faks: 0424 - 238 80 96  
e-posta: susam@rt.net.tr

♦ <sup>1</sup>Department of Otolaryngology, Elazığ SSK Hospital; Departments of <sup>2</sup>Otolaryngology, <sup>3</sup>Biochemistry, and <sup>4</sup>Pathology, Medical Faculty of Fırat University, all in Elazığ, Turkey.

♦ Received: September 18, 2002. Request for revision: November 6, 2002. Accepted for publication: February 27, 2002.

♦ Correspondence: Dr. Nihat Susaman. Doktorlar İş Merkezi, A Blok, Kat 4, 23200 Elazığ, Turkey.  
Tel: +90 424 - 237 71 76 Fax: +90 424 - 238 80 96  
e-mail: susam@rt.net.tr

Timpanik membran perforasyonlarının (TMP) büyük bir çoğunluğu penetran veya künt travmalar, ani basınç değişiklikleri (barotravma), aşırı akustik enerji değişimi ya da otitis media gibi değişik nedenlerle oluşur.<sup>[1]</sup>

Serbest oksijen radikallerinin TMP'lerdeki histopatolojik değişikliklerde önemli rol oynadığı görüşü yaygınlık kazanmaktadır. Timpanik membran perforasyonları sonrası serbest oksijen radikallerinin oluşumu lipid peroksidasyon ürünleriyle bağlantılıdır.<sup>[2]</sup> Singlet oksijen, superoksit, peroksil ya da hidroksi radikali gibi reaktif oksijen substantları doku harabiyeti ve enflamasyonuna birlikte katılıyor olabilir.<sup>[3,4]</sup> Serbest oksijen radikalleri lipid, protein ve nükleik asitler gibi biyomoleküllerle reaksiyona girerek ya da timpanik membranda endojen enzimatik veya non-enzimatik antioksidanları azaltarak da harabiyete neden olabilir.<sup>[5]</sup> Vitamin E (alfa-tocopherol), hayvanlarda ve insanlarda en önemli lipofilik non-enzimatik serbest radikal yakalayıcısıdır.<sup>[3]</sup> Biyomembranlardaki lipid peroksidasyonunun erken evresinde serbest radikalleri yakalayarak lipid peroksidasyonunun ve hücre membranındaki poliansatüre yağ asitlerinin serbest radikal tehditinde ilk basamak savunma mekanizması olarak düşünülmektedir.<sup>[5]</sup> Vitamin E tocopheroksil radikale çevrilir. Bu da askorbit asit ve glutatyonla tekrar alfa-tocopherole indirgenir. Böylece askorbit asit ve glutatyon hücre membranlarında alfa-tocopherol düzeylerinin sürdürülmesi sağlanır.<sup>[4]</sup>

Nedeni ne olursa olsun, meydana gelen TMP'lerin akut ya da kronik dönemde tedavi edilmeleri, bunlara bağlı gelişebilecek komplikasyonları önleyecektir. İyileşmeyen TMP'ler cerrahi olarak onarılmalıdır.<sup>[2]</sup> Ancak, cerrahi girişim zaman, işgücü kaybı ve maliyetinin yüksekliği nedeniyle ekonomik değildir. Bu nedenle, perforasyonu hasta açısından daha kolay ve ucuz yöntemlerle kapatacak madde ve teknikler araştırılmaktadır. Bunlar arasında hastanın kendi kanından elde edilmiş fibrin yapıştırıcılar, hyalüronik asit ve gelfilmler sayılabilir. Ancak, timpanik membranun, özellikle akut perforasyonlarının tedavisinde etkinliği tam olarak ortaya konmuş herhangi bir madde yoktur.<sup>[3]</sup> Günümüzde, travmalar sonucu meydana gelen TMP'nin iyileşmesini geciktiren ve kalıcı olmasına neden olan serbest oksijen radikallerinin giderilmesini hedefleyen tedaviler aranmaktadır.<sup>[4,5]</sup>

Bu çalışmada, travmatik TMP oluşturularak, E vitamininin doku serbest oksijen radikallerinden

malondialdehid (MDA) düzeyi ve timpanik membranda meydana gelen iyileşmeye ait histopatolojik değişiklikler üzerine etkisini incelemeyi amaçladık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma protokolü Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Bölgesel Komitesi tarafından onaylandı (Protokol No 1850). Çalışma, 400-800 gr ağırlığında, sağlıklı 40 guinea pig üzerinde gerçekleştirildi. Denekler 20°C oda sıcaklığında, paslanmaz çelik kafeslere teker teker yerleştirildi ve yem fabrikasından alınan aynı tür ticari yem ve su ile beslendi. Daha sonra, %2'lik xylazine hidroklorür 5 mg/kg ve ketamin hidroklorür 50 mg/kg kombinasyonu intramusküler yoldan verilerek anestezi sağlandı. Mikroskop altında, timpanik membranları sağlam olan deneklerin her iki timpanik membranında posterior superior kadrana steril şartlarda trokar (09.52.15 nolu Medicon, Almanya) yardımı ile standart 1.8 mm'lik perforasyon oluşturuldu. Deney hayvanları rastgele seçimle 20'şerli iki gruba ayrıldı.

Kontrol grubu olan birinci gruba deney süresince 0.3 ml/gün serum fizyolojik; çalışma grubu olan ikinci gruba ise 100 mg/kg/gün E vitamini (alfa-tocopherol asetat, Ephynal®, Roche, İstanbul, Türkiye), intramusküler olarak uygulandı.

Uygulamanın 1, 3, 5 ve 7. günlerinde, iki gruptan rastgele seçilen beşer hayvanın yaşamı yüksek doz ketamin hidroklorür verilerek, histopatolojik ve biyokimyasal inceleme amacıyla sonlandırıldı. Her iki timpanik membran kemik anulusla birlikte çıkarıldı ve biri biyokimyasal, diğeri histopatolojik inceleme için kullanıldı.

Biyokimyasal inceleme için lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA tayini, Ohkawa ve ark.<sup>[6]</sup> tarafından belirlenen yöntemle yapıldı. Timpanik membran doku örneklerine her gram başına 19 ml %1.15'lik KCl solüsyonu ile cam-cam homojenizatör kullanılarak, homojenizasyon işlemi gerçekleştirildi. Doku homojenizatörünün 0.2 ml'sine 0.2 ml %8.1'lik tiyobarbitürik asit ve son hacim 4 ml'ye tamamlanacak şekilde distile su eklenerek, 95°C'de bir saat inkübe edildi. Standart olarak 1.1.3.3 tetrasetoksipropen (Sigma Chemical Co., St. Louis, ABD) kullanıldı. İnkübasyon sonrası soğuk su altında soğutulan tüplere, 1 ml distile su ile 5 ml n-bütanol/piridin (15:1, v/v) eklenerek karıştırıldı. Üç bin rpm'de 10 dk santrifüj edilen tüplerin üsteki organik fazı alınarak 532 nm'de köre karşı standart ve örnek absor-

bansları ölçüldü. Lipid peroksit düzeyleri her miligram ıslak doku başına nmol MDA olarak verildi.

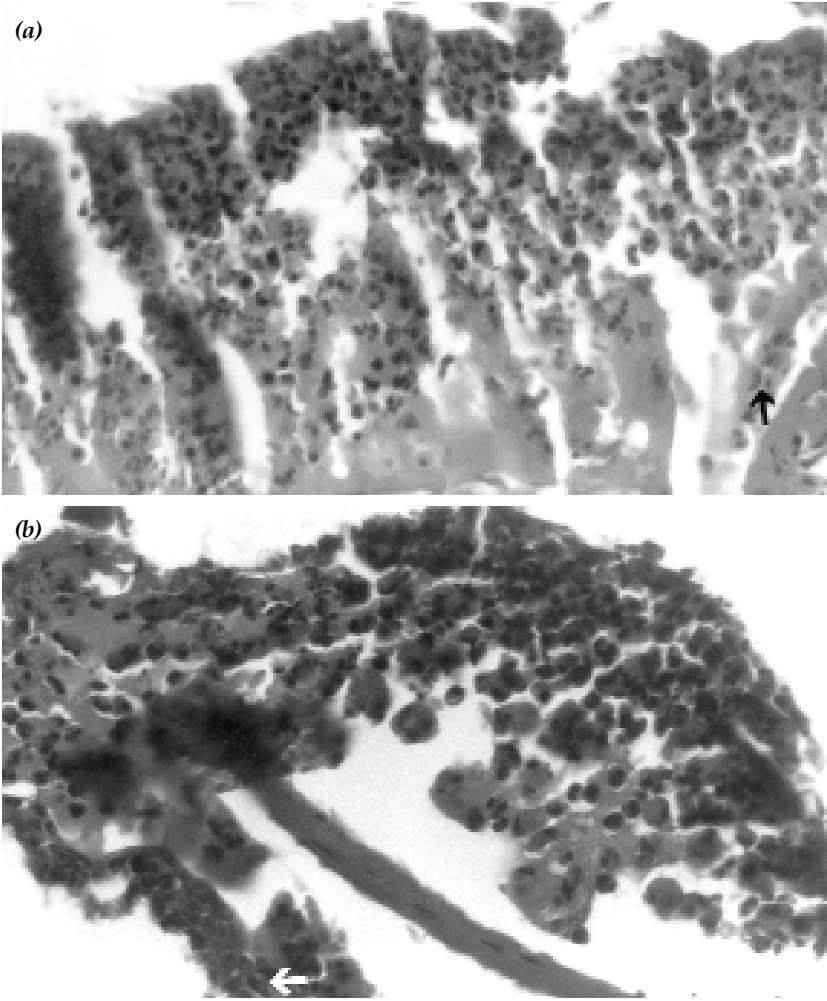
Örnekler histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehitte 24 saat süreyle fikse edildikten sonra, %5 formaldehit içeren %20'lik formik asit solüsyonunda beş gün süreyle dekalsifiye edildi. Daha sonra parafine gömülerek 3 mm'lik kesitler alındı ve hematoxilen-eozinle (H-E) boyandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda (Olympus Bx-50, Olympus Optical, Japonya) fibroblast proliferasyonu, neovaskülarizasyon, epitel kalınlığı, fibrin, polimorfonükleer lökosit (PMNL) ve mononükleer hücre yönünden incelendi. Bu parametrelerin her biri yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak derecelendirildi.

İstatistiksel analizler, SPSS bilgisayar programıyla Kruskal Wallis tek yönlü ANOVA, Tukey-HSD ve Mann-Whitney U-testi kullanılarak yapıldı; anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak kabul edildi.

## BULGULAR

### *Histopatolojik inceleme*

Fibroblast proliferasyonu ve neovaskülarizasyon, kontrol grubunda üçüncü günde oluşmaya başladı ve yedinci günde en yüksek düzeye ulaştı (Şekil 1a, b) (Tablo I). Çalışma grubunda ise fibroblast proliferasyonu ve neovaskülarizasyon üçüncü günden itibaren kontrol grubuna göre daha fazla artış gösterdi ve yedinci günde en yüksek düzeye geldi (Şekil 2a, b) (Tablo II). Fibrin miktarı ve PMNL infiltrasyonu iki grupta da birinci günde en yüksek değerine ulaşmış yedinci güne doğru, ilerleyen bir düşüşle en alt düzeye indi (Şekil 1, 2) (Tablo I, II). Fibrin miktarı, kontrol grubunda çalışma grubuna göre daha fazla bulunurken, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p < 0.05$ ). Epitel kalınlığı, iki grupta da birinci günden yedinci güne doğru ilerleyen bir artış gösterdi;



Şekil 1 - Kontrol grubunda (a) birinci ve (b) yedinci günlerde histopatolojik bulgular (H-E x 200).

ancak çalışma grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla idi (Tablo III). Çalışma grubunda yedinci günde bağ dokuda PMNL'lerin azaldığı, fibrblast proliferasyonunun arttığı, submukozal damarlar oluştuğu ve subepitelyal hiperplazik reaksiyonun belirginleştiği görüldü. Perforasyon kenarlarında meydana gelen çok katlı yassı epitelin, yarının bir kenarından diğerine köprü oluşturarak perforasyonu kapattığı izlendi (Şekil 2b).

#### *Biyokimyasal inceleme*

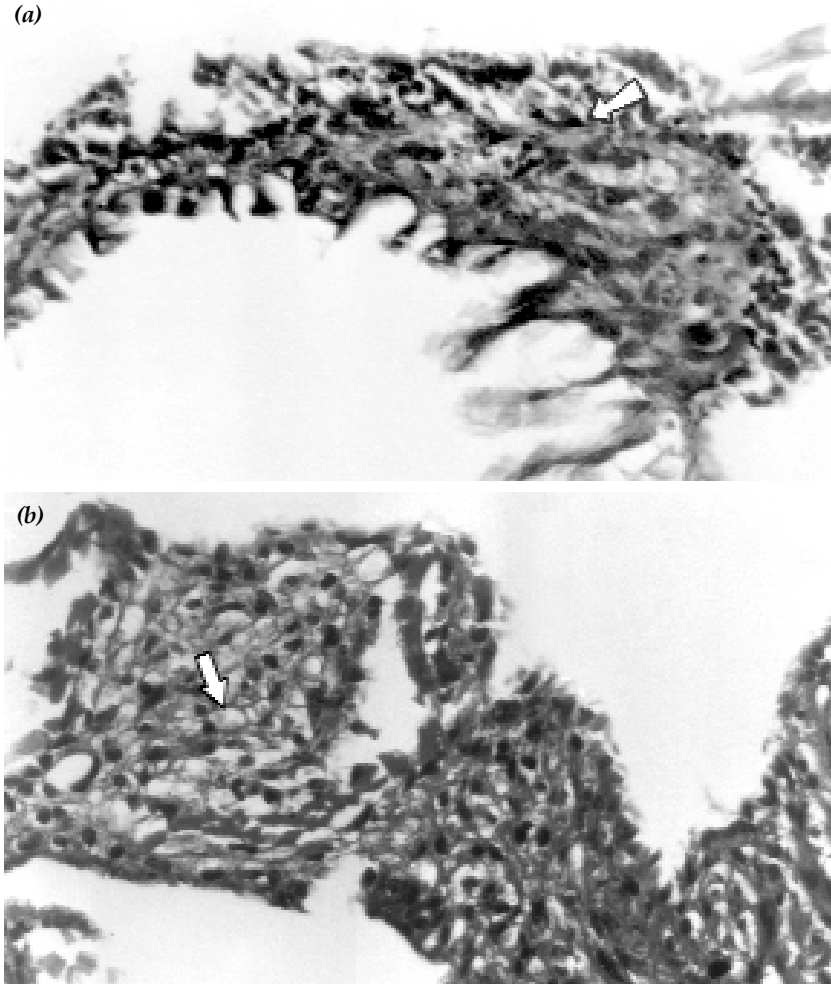
Kontrol grubunda MDA düzeyinin üçüncü günde en yükseğe ulaştıktan sonra azalmaya başladığı ve yedinci günde ilk günkü düzeyine inmediği görüldü. Çalışma grubunda ise MDA düzeylerinin üçüncü ve beşinci günlerde birinci güne göre arttığı, ancak yedinci günde ilk günkü düzeyine indiği görüldü. Yapılan istatistiksel incelemede kontrol grubu

ile çalışma grubu arasında anlamlı bir farklılığın olduğu gözlemlendi (Tablo IV).

#### **TARTIŞMA**

Timpanik membran perforasyonlarda erken müdahalenin amacı, kendiliğinden kapanmayla olduğundan daha yüksek oranda intakt ve fizyolojik bir zar elde etmektir.<sup>[7,8]</sup> Literatürde TMP'nin %88 oranında kendiliğinden iyileşebileceği; ancak doğal seyrine bırakıldığında, perforasyon devam ettiği sürece enfeksiyon riski nedeniyle iyileşmenin gecikebileceği bildirilmiştir.<sup>[9-11]</sup>

Serbest oksijen radikalleri artan sayıda hastalık ve enflamatuvar durumun patogenezinin sorumlu tutulmaktadır. Bunlar protein, karbonhidrat, nükleik asit ve lipidlerin kimyasal değişimiyle doku harabiyetine neden olabilir. Lipid peroksidasyonu, ser-



Şekil 2 - Çalışma grubunda (a) birinci ve (b) yedinci günlerde histopatolojik bulgular (H-E x 200).

**TABLO I**  
KONTROL GRUBUNUN HİSTOPATOLOJİK BULGULARI

Parametreler	1. gün					3. gün					5. gün					7. gün				
Fibroblast proli.	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	++	++	+++	++	+++
Neovaskülarizasyon	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	++	+	++	+	++
Fibrin	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	++	++	+	++	+	++	++	+	+	+	-	+
E. kalınlığı (µm)	5	3	3	3	3	10	8	8	10	8	10	12	12	12	10	18	15	15	20	15
PMNL	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	++	++	+	+	+	+	+
MNH	-	-	-	-	-	+	+	++	+	+	++	++	+	++	+	++	+	++	+	+

Fibroblast proli: Fibroblast poliferasyonu; E. kalınlığı: Epitel kalınlığı; PMNL: Polimorfonükleer lökosit; MNH: Mononükleer hücre.

**TABLO II**  
ÇALIŞMA GRUBUNUN HİSTOPATOLOJİK BULGULARI

Parametreler	1. gün					3. gün					5. gün					7. gün				
Fibroblast proli.	-	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	+++	+	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++
Neovaskülarizasyon	-	-	-	-	-	+	++	++	+	+	++	+++	++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++
Fibrin	++	+++	++	++	+++	++	++	+	+	++	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
E. kalınlığı (µm)	5	5	5	5	5	20	16	18	20	18	24	20	25	24	25	28	30	36	30	32
PMNL	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	++	+	+	++	++	+	-	+	-	+
MNH	-	-	-	-	-	+	+	++	++	+	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+

best radikallerin hücre membranındaki poli-ansatüre yağ asitlerini etkilemesi sonucu meydana gelir.<sup>[3,12]</sup>

Guinea pig modellerinde deneysel otitis media oluşturularak yapılan bir çalışmada timpanik membran dokusunda MDA ölçülmüştür.<sup>[13]</sup> Enfekte ve kontrol grupları karşılaştırılmış ve MDA düzeyi 3, 5 ve 7. günlerde kontrol grubuna göre önemli oranda yüksek bulunmuştur.<sup>[13]</sup> Bu sonuçlarla orta kulak enfeksiyonları ile serbest oksijen radikallerinin hasarı arasındaki ilişki anlaşılmış; otitis media tedavi protokolü ve kullanılan ajanların dikkatle incelenmesi gerektiği belirtilmiştir.<sup>[14]</sup>

Normalde sağlıklı dokulardaki lipid peroksidasyon düzeyleri çok düşüktür. Lipid peroksidasyonu, serbest radikale bağlı doku hasarının bir belirleyicisi olarak kullanılabilir. Bu sonuç, E vitamininin lipid peroksidasyonunu önleyen ve oluştuğunda nötralize eden bir antioksidan ajan olduğu görüşüyle uyumludur.<sup>[12]</sup>

Çalışmamızda da MDA düzeyinin, literatürle uyumlu olarak, çalışma grubunda başlangıçta artmasına rağmen, yedinci günde birinci gün değerlerine indiği saptanmıştır. Kontrol grubunun MDA düzeyinde ise azalma görülmemiştir. Kontrol gru-

**TABLO III**  
KONTROL VE ÇALIŞMA GRUPLARININ GÜNLERE GÖRE TİMPANİK MEMBRAN EPİTEL KALINLIĞININ KARŞILAŞTIRILMASI

Günler	Ortalama (µm)		Mann-Whitney U-testi
	Kontrol	Çalışma	
1	3.40±0.89	5±0.00	p<0.01
3	8.80±1.09	18.4±1.67	p<0.05
5	11.2±1.09	23.6±2.07	p<0.05
7	16.6±2.30	31.2±3.03	p<0.05

**TABLO IV**  
KONTROL VE ÇALIŞMA GRUPLARININ GÜNLERE GÖRE MALONDİALDEHİD DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Günler	Ortalama (nmol/mgr yaş doku)		Mann-Whitney U-testi
	Kontrol	Çalışma	
1	1.62±0.33	1.01±0.54	p>0.05
3	8.36±2.39	1.87±0.43	p<0.05
5	4.11±1.50	1.12±0.27	p<0.05
7	3.99±1.68	1.00±0.25	p<0.05

bunun 3, 5 ve 7. günlerde ölçülen MDA düzeyleri, çalışma grubuna göre daha yüksektir. E vitamininin hücre ve organel membranlarındaki lipid peroksidasyonunu önleyen güçlü antioksidan bir etkiye sahip olduğu gösterilmiş; bu sonuç, E vitamininin lipid peroksidasyonunun sonlandırılmasında zincir kırıcı etkisine bağlanmıştır.<sup>[15]</sup> Çalışmamız da bu yönden literatürle uyumludur.

Literatürde E vitamininin, sistemik veya topikal uygulanmasıyla yara iyileşmesini hızlandırdığı, hücrel ve humoral immüniteyi stimüle ettiği, istenmeyen skar oluşumunu önlediği ve epitel rejenerasyonunu artırdığı bildirilmiştir.<sup>[16-18]</sup> Elde ettiğimiz histopatolojik bulgular da, çalışma grubunda epitel kalınlığının arttığını, fibroblast proliferasyonu ve neovaskülarizasyonun hızlandığını istatistiksel olarak anlamlı biçimde ortaya konmuştur.

Sonuç olarak, deneysel travmatik TMP'de E vitamininin histopatolojik ve biyokimyasal parametreler üzerinde anlamlı derecede olumlu etkisinin olduğu görülmüştür. Bu veri gelecekte insan TMP'nin tedavisine ışık tutabilir.

#### KAYNAKLAR

1. Spandow O, Hellstrom S. Animal model for persistent tympanic membrane perforations. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1993;102:467-72.
2. Ars B. Organogenesis of the middle ear structures. *J Laryngol Otol* 1989;103:16-21.
3. Gladstone HB, Jackler RK, Varav K. Tympanic membrane wound healing. An overview. *Otolaryngol Clin North Am* 1995;28:913-32.
4. Laurent C, Hellstrom S, Fellenius E. Hyaluronan improves the healing of experimental tympanic membrane perforations. A comparison of preparations with different rheologic properties. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1988;114:1435-41.
5. Stenfors LE. Repair of tympanic membrane perforations using hyaluronic acid: an alternative to myringoplasty. *J Laryngol Otol* 1989;103:39-40.
6. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-8.
7. Manning SC, Casselbrant M, Lammers D. Otolaryngologic manifestations of child abuse. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1990;20:7-16.
8. Matt BH, Miller RP, Meyers RM, Campbell JM, Cotton RT. Incidence of perforation with Goode T-tube. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1991;21:1-6.
9. Rybak LP, Johnson DW. Tympanic membrane perforations from water sports: treatment and outcome. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1983;91:659-62.
10. Austin DF. Chronic otitis media. In: Ballenger JJ, Snow JB, editors. *Otolaryngology head and neck surgery*. 15th ed. Baltimore, MD: Williams & Wilkins; 1996. p. 1010-37.
11. Shambough GE, Glasscock ME. Closure of tympanic membrane perforations. In: Shambaugh GE, Glasscock ME, editors. *Surgery of the ear*. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1990. p. 334-49.
12. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J* 1987;1:441-5.
13. Kawana M, Kawana C, Yokoo T, Quie PG, Giebink GS. Oxidative metabolic products released from polymorphonuclear leukocytes in middle ear fluid during experimental pneumococcal otitis media. *Infect Immun* 1991;59:4084-8.
14. Parks RR, Huang CC, Haddad J Jr. Evidence of oxygen radical injury in experimental otitis media. *Laryngoscope* 1994;104(11 Pt 1):1389-92.
15. Igarashi A, Uzuka M, Nakajima K. The effects of vitamin E deficiency on rat skin. *Br J Dermatol* 1989;121:43-9.
16. Ehrlich HP, Tarver H, Hunt TK. Inhibitory effects of vitamin E on collagen synthesis and wound repair. *Ann Surg* 1972;175:235-40.
17. Haberal M, Hamaloğlu E, Bora S, Öner G, Bilgin N. The effects of vitamin E on immune regulation after thermal injury. *Burns Incl Therm Inj* 1988;14:388-93.
18. Samoilov AV, Seifulla RD, Shekhter AB, Volozhin AI, Denisov AB, Druzhinina RA, et al. The characteristics of the wound-healing action of solubilized alpha-tocopherol acetate. *Eksp Klin Farmakol* 1993;56:59-62. [Abstract]