



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

**KOLESTEATOM PATOGENEZİNDE HIPOKSİ İLE  
İNDÜKLENEN FAKTÖR, APC-KADERİN, KI-67 ANTİJENİ  
ve p27 PROTEİNLERİNİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Serkan TÜRKİLİ**  
**UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Kemal GÖRÜR**

**MERSİN – 2011**



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

**KOLESTEATOM PATOGENEZİNDE HIPOKSİ İLE  
İNDÜKLENEN FAKTÖR, APC-KADERİN, KI-67 ANTİJENİ  
ve p27 PROTEİNLERİNİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Serkan TÜRKİLİ  
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Kemal GÖRÜR**

**Bu tez, BAP-TF CTB (ST) 2010–1 TU protokol no' lu proje olarak  
Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
desteklenmiştir.**

**MERSİN – 2011**

## TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi, deneyim ve sabrıyla bana her konuda yol gsteren, yetişmemde emei gezen, danışman hocam Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Kemal G3r3r ve diğer hocalarım Prof. Dr. Cengiz 3zcan, Prof. Dr. Murat 3nal, Prof. Dr. Derya 3mit Talas, Yrd. Doç. Dr. Yusuf Vayısoğlu ve daha 3nce birlikte çalıştığım kliniğimizden uzmanlığını almış olan Uzm. Dr. Haktan Ergin bağış, Uzm. Dr. Nilg3n G3ner, Uzm. Dr. Onur İsmi, Uzm. Dr. Taylan G3l3t3rk, Uzm. Dr. Levent Sev3k ve asistan arkadaşlarım Dr. Savaş K3rl3, Dr. Feyzi Meşe, Dr. 3vg3 inpolat, Dr. H3seyin S3t ve ayrıca kliniğimizin t3m hemşire ve personeline teőekk3r ederim.

Tezin oluşturulmasındaki katkılarından dolayı Patoloji anabilim dalından Doç. Dr. Ebru Serins3z ve t3m personeline teőekk3r ederim.

Eğitimimde benden hiçbir fedak3rlığı esirgemeyen ailem ve eşime ayrıca teőekk3r ederim.

Dr. Serkan T3RKİLİ

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET	5
ABSTRACT	7
GİRİŞ VE AMAÇ	9
GENEL BİLGİLER	10
Kronik otitis media	13
Kolesteatomlu kronik otitis media	17
Kronik otitis media komplikasyonları	30
Kolesteatom etyopatogenezi ile ilgili yapılan moleküler çalışmalar	32
MATERYAL METOD	36
BULGULAR	38
TARTIŞMA	44
SONUÇ VE ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	53
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	60
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ	61
TABLolar DİZİNİ	62

## ÖZET

Kolesteatom, keratinize çok katlı yassı epitelde bulunan keratinositlerin aşırı çoğalması ile timpanik kavite ve diğer yakın anatomik bölgelerde destrüksiyona neden olan bir patolojidir. Birçok moleküler araştırmalar yapılmasına karşın kolesteatomun patogenezi hala tam olarak açıklanamamaktadır. Ayrıca, kolesteatom matriksinde bulunan keratinositlerin farklılaşmadığı, bilinen önemli bir sorun olarak durmaktadır. Keratinositlerin farklılaşmamasında nelerin etkili olduğu tedavide en önemli kilit noktasıdır.

Bu çalışmada, kolesteatom gelişiminde hipoksinin rolünün olup olmadığını araştırmak için; hipoksi ile indüklenen faktör (HIF), kontrolsüz çoğalmanın olup olmadığını incelemek için; p27, kontrollü hücre ölümünün devam edip etmediğini araştırmak için; KI-67, hücreler arası bağlantılarda sorun olup olmadığını araştırmak için; APC ve  $\beta$ -Katenin düzeylerini incelemeyi amaçladık.

Bu çalışmaya 2009—2011 yılları arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz anabilim dalında mastoidektomi yapılan 42 kolesteatomlu kronik otitis media hastası alındı. Ameliyat sırasında çalışma grubu olarak kolesteatom matriksi ve kontrol gurubu olarak da aynı hastanın dış kulak yolu derisinden birer parça alındı. Örnekler parafine gömülerek kesitler alındı, iki gruptaki dokularda p27, Hipoksi ile indüklenen faktör KI-67, APC ve  $\beta$ -Katenin ekspresyonu immünohistokimyasal olarak araştırıldı.

Elde edilen sonuçlarda kontrol gurubuna göre kolesteatom dokusunda p27 düzeyindeki pozitif nükleer boyanmada azalma, yayınlar ile benzer olup, istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi ( $p=0.005$ ). Diğer antikorlarda kolesteatom ve dış kulak yolu derisinde nükleer boyanmada farklılık saptanmadı.

Sonuç olarak bu gösterge, kolesteatom dokusunda aşırı hücre çoğalmasına karşın kontrollü bir hücre ölümünün olduğunu, ortamdaki hipoksinin ya da hücreler arası bağlantıların öneminin olmadığını göstermektedir. Kolesteatomun tekrarlaması ve hızlı çoğalmasında p27 düzeyinin önemli olabileceği görülmektedir.

Bu nedenle, p27 monoklonal antikoru kolesteatom proliferasyon indeksi olarak kullanılabilecek bir yöntem olabilir. Peroperatif olarak kolesteatom'da p27 düzeyinin düşük olduğu olgularda, postoperatif rekürrens ve hızlı büyümenin olabileceği göz önünde bulundurulabilir.

**Anahtar kelimeler: Kolesteatomlu kronik otit, keratinosit, p27, HIF, proliferasyon**

## ABSTRACT

### **Investigated of Hypoxia inducible factor, APC-Cadherin, Ki-67 antigen and p27 proteins role in the cholesteatoma pathogenesis**

The cholesteatoma epithelium is characterized by keratinocyte over proliferation and this pathology resulted as destruction in the middle ear and also in the surrounding tissue due to its aggressive growth. Pathogenesis of cholesteatoma is still a debate despite the fact that there are many studies on this tissue. In addition, the keratinocytes in the cholesteatoma matrix can not differentiate so this is a major problem. The most important key point is the recognition that the items that are effective in keratinocytes differentiation.

In this study, to investigate whether the role of hypoxia in the development of cholesteatoma; hypoxia inducible factor (HIF), to examine whether the uncontrolled proliferation; P27, continue to investigate whether controlled cell death; KI 67, investigate whether there is a problem in intercellular connections; APC and  $\beta$ -catenin aimed to investigate the levels of these marker.

Forty-two patients, who had chronic otitis media related to cholesteatoma, were included in this study at the department of otolaryngology head and neck surgery at the Mersin University from 2009 to 2011. The cholesteatoma tissue was peroperatively taken, and the same patient's skin of the external ear canal was examined as control group. The samples were sinking deeply in to parafine and sections were taken. They were painted immunohistochemically and searched for p27, hypoxia induced factor, KI-67, APC and  $\beta$  Catenin expression.

According to our results, the decrease in positive nuclear painting by p27 in cholesteatoma tissue was similar with the other studies and was statistically significant ( $p=0.005$ ). There was no difference in cholesteatoma and the skin of the external ear canal for other nuclear painting.

As a result, this indicates that in the cholesteatoma tissue, excessive cell proliferation occurs against controlled cell death and shows that there is no importance of hypoxia or intercellular connections.

As a result of the study; p27 monoclonal antibody can be a useful method of assessing cholesteatoma proliferation index. It is advisable that the patients should be carefully managed about recurrences and complications postoperatively who had low perioperative levels of p27 monoclonal antibody titers.

**Keywords: Chronic Otitis with Cholesteatoma, keratinocyte, p27, HIF, proliferation**



## GİRİŞ VE AMAÇ

Kolesteatom, keratinize çok katlı yassı epitelin orta kulak, mastoid veya petröz kemikte bulunması ve kontrolsüz çoğalması sonucu oluşur. Kemikçik zincir ve otik kapsül erezyonu sonucu işitme kaybı, vestibüler disfonksiyon, fasiyal paralizi ve intrakranial komplikasyonlara neden olabilir. Dolayısıyla destrüktif bir benign tümör gibi kabul edilir<sup>1</sup>.

Çoğalan bütün hücreler de büyüme ve çoğalma kontrollü hücre proliferasyonu ve programlanmış hücre ölümünün bir denge içerisinde yürümesi ile mümkündür. Kolesteatomda bu denge bozulmaktadır. Daha önceki çalışmalarda; kolesteatom epitelinde proliferasyon gösteren hücrelerin dağınık halde oldukları ve proliferasyon marker düzeylerinin artmış olduğu gösterilmektedir<sup>2,3</sup>.

Gelişen ameliyat teknikleri ve tıbbi tedaviye rağmen kolesteatom' a bağlı mortalite ve morbidite görülmektedir. Kolesteatom gelişiminin önlenmesi ya da oluşan kısmın cerrahiye gerek kalmadan ortadan kaldırılması hasta ve hekimin işini çok kolaylaştıracaktır.

Derinin orta kulak boşluğuna nasıl girdiği ve burada kolesteatom' a nasıl dönüştüğü bilinmemektedir. Kolesteatomun oluşumunda ve kontrolsüz çoğalmasında asıl suçlanan hücreler keratinositlerdir. Bu araştırmada hücrelerin farklılaşmasını engelleyen nedenler ve proliferasyonu tetikleyen mekanizmalar arasında olabileceğini düşündüğümüz faktörlerin rolü araştırıldı.

## GENEL BİLGİLER

Kolesteatomu ilk olarak Du Verney 1683' de "Steatoma" olarak belirtmiş, daha sonraları fransız patolog Cruveilhier 1829' da temporal kemiğin "tümör incisi veya inci tümörü" olarak tanımlamıştır. Fakat ilk kolesteatom alman fizyolojist Johannes Muller tarafından 1838' de "kolesterin ve yağ içeren benign bir tümör " olarak isimlendirilmiştir<sup>1</sup>. Von Troeltsch 1868' de kolesteatomu orta kulak mukozasının birikintisi olarak tanımlamıştır. Bezold 1880' lerde kolesteatomun östaki disfonksiyonu sonucu kulak zarında meydana gelen retraksiyon cebindeki epidermal debristen meydana geldiğini bildirmiştir. Aynı yıllarda Habermann ise kolesteatomun perforasyon aracılığı ile orta kulağa giren yassı epitel olduğunu rapor etmiştir<sup>4</sup>. 1962 yılında Gray " Yanlış yerde bulunan deri " tanımını önermiş olup 1993 yılında Strunk bu tanımı biraz daha değiştirerek "Kolesteatom yanlış yerde gelişen deridir " tanımını kullanmıştır. "Kulak kolesteatomu orta kulak boşluklarında gelişen deridir" tanımı bu klinik lezyonun en gerçekçi tanımıdır.

Kolesteatom hiperproliferatif epitelin keratin ile birlikte progresif olarak birikimi ile karakterize, benign olmasına rağmen destrüktif olan bir lezyondur. Kolesteatom dokusunu daha iyi anlamak için normal deri dokusunu tanımlamak gerekir. Deri dokusu; epidermis, dermis ve hipodermis olarak 3 tabakadan oluşur. Epidermis en ince tabaka olup 5 kattan meydana gelir.

1:Stratum Corneum: En dışıdır, ölü hücrelerden oluşur.

2:Stratum Lucidum: İnce, yoğun eozinofilik hücrelerden oluşur.

3:Stratum Granulosum: Bazofilik granüller içeren oval hücrelerden oluşur.

4:Stratum Spinosum: Çok kenarlı polihedral hücrelerden oluşur.

5:Stratum Germinativum: Bazal tabaka olarakta bilinir. Derinin yenilenmesini sağlayan, mitotik aktivitesi yüksek hücrelerden oluşur<sup>5</sup>.

Dermis, epidermisin altında yer alan, papiller ve retiküler tabakadan oluşan bir yapıdadır. Hipodermis en derinde olup yağ dokusu, bağ dokusu, vasküler yapılar, sinir ve kıl folikülleri içerir. Dış kulak kanalı kemik duvarı üzerindeki deri, epidermal tabakaların özelliklerini taşır. Epidermis altında çok ince bir tabaka

bulunur ve ince bir periost ile kemiğe yapışır. Matriksinin üstünde kolesteatom, deriye göre daha ince olan epitelyal bir yapıdadır. Derideki gibi papillaları ve uzantıları yoktur. Ölü hücreler üst üste toplanarak kolesteatomdaki beyaz lamellerini oluştururlar.

Kolesteatom epiteli dıştan içe doğru 4 tabaka içerir. Stratum lucidum tabakası yoktur.

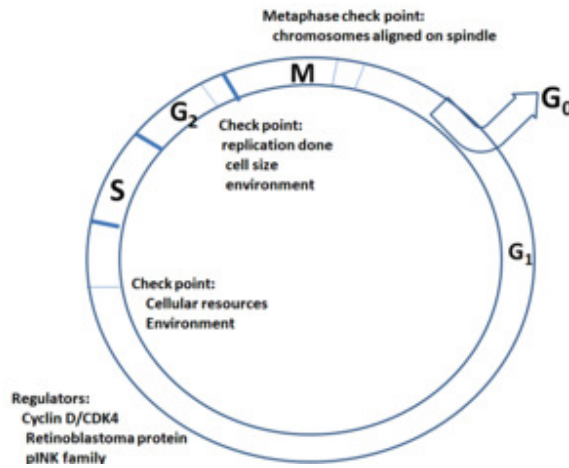
1: Stratum Corneum: İnce, çok katlı keratinize çekirdeksiz hücrelerden oluşur.

2: Stratum Granulosum: İnce olup dejenerasyon gösteren, sitoplazmaları bazofilik granüller içeren hücrelerden oluşur.

3: Stratum Spinosum: Polihedral, çok kenarlı hücrelerden oluşur. Az sayıdaki keratinositlerin arasında langerhans hücreleri yer alır.

4: Stratum Germinativum: Prizmatik bazofilik çekirdekli hücrelerden oluşur. Arada, küçük Merkel hücreleri bulunur.

Deride sürekli yenilenmeyi sağlayan tabaka bazal germinatif tabakadır. Kolesteatomda bazal germinatif tabakanın çevresinde korion denilen bir bağ dokusu vardır. Bu iki tabaka matrix adını alır ve kolesteatomun doğurucu tabakasını oluşturur. Orta kulak boşluğundaki kolesteatomun orta kulak duvarları ile temasta olan tabakası bu bazal germinatif tabaka ve çevresindeki koriondur<sup>6</sup>.



Şekil 1. Hücre siklusu

Kolesteatom patogenezindeki proliferatif aktiviteyi anlamak için, hücrelerin çoğalmasında gerekli olan siklusu iyi değerlendirmek gerekir. Hücreden bir canlı oluşmasında, hücrelerin bölünmesi sonucu çoğalması, yani proliferasyonu çok önem taşımaktadır. Aslında tüm hücre proliferasyonu gen transkripsiyonu, protein oluşturulması, organel hareketi ve hücre hareketinden ibaret bir süreçtir. Ancak bu sürecin ilerlemesi oldukça iyi bir şekilde düzenlenmelidir ki, bu sayede hücre farklı durumlara kolayca adapte olabilsin ve zarar görmesin. Nitekim bölünme ve çoğalma sürecinde olacak olan olayların kalıpları, hücrede ve bilhassa çekirdekte programlanmış durumdadır. Örneğin hücre bölünmesinde, genler kopyalanıp replike edilir, hücre çekirdeği parçalanır, kromozomlar çiftleşerek birbirlerinden ayrılırlar ve hücre bölünerek iki farklı kardeş hücre meydana gelir. Tüm bu süreç hücre siklusu olarak adlandırılır. Vücuttaki birçok hücre sürekli olarak üretilip yenilenir. Bu hücrelere en iyi örnek, deri ve kan hücreleridir. Hücre siklusu, iki mitotik bölünme arasındaki dönemdir. Bu dönemde en önemli olay, yeni DNA sentezinin meydana gelmesidir. Mitozu tamamlayan hücre için iki olay vardır: Hücre bölünmesi veya hücre ölümü. Eğer; bu hücre tekrar bölünecekse, birbirini izleyen 3 ayrı evreyi (G1,S,G2) geçmek zorundadır. Bunlar hücre siklusunu oluşturur. G1 evresinde; RNA, protein sentezlenir ve hücre DNA sentezine hazırlanır. S evresinde; DNA sentezlenir. G2 evresinde; DNA sentezi tamamlanmış ve kromozomlar kendini eşlemeye başlamıştır. Bu evrede hücre mitozu hazır hale gelir. Bu üç evreyi tamamlayan hücre mitozu girer. Hücre siklusu; hücrenin doğumundan, kardeş hücrelere ayrılmasına dek olan değişimleri içine alan bir süreçtir. Işık mikroskobu ile en sık görülen hücre siklusu bulguları; kromozom kondensasyonu, iğ iplikleri üzerine dizilmesi ve hücrenin ikiye ayrılmasıdır. Bu faz hücre siklusunun M fazı (Mitoz fazı) adını alır ve yaklaşık olarak 1–2 saat devam eder. Bununla birlikte; tam bir hücre siklusu, erişkin dokularda bulunan hücrelerde 20- 24 saate dek uzayan bir sürede gerçekleşmektedir. Bu süreç 4 basamağa ayrılabilir. Bunlar; G1, S, G2 ve M fazlarıdır. G1, S ve G2 fazlarına interfaz denilir. M fazı sonunda iki kardeş hücre ortaya çıkar ve her biri G1 fazına girer. Bu dönemde diğer hücre siklusu için gerekli olan metabolitlerin çoğu üretilir. Aynı zamanda bu dönemde, hücrenin bir daha bölünüp bölünmeyeceğinin kararı alınır.

Eğer hücreler bölünmeyeceklerse, G0 adı verilen sessiz faza girerler. G1 süresince hücreler, diğer bölünmeye girmeyi uyaracak olan büyüme faktörlerine cevap verme aşamasındadırlar. Eğer cevap verilirse, artık geri dönüş olmaz ve hücre bölünmeye başlar. Büyüme faktörleri, aynı zamanda, G0' da bulunan hücreleri de uyararak, hücre siklusuna girmeye zorlar. Bununla birlikte, tümör baskılayıcı genler (tümör supressor genes) adı verilen proteinler hücre siklusunu G1 fazında bloke eder. Bu nedenle G1 fazı, hücre bölünmesinin düzenlenmesinde çok önemli olan bir dönemdir. Onkogen adı verilen proteinler, bu dönemde patolojik olarak bu düzenlenmeyi bozarak kontrolsüz hücre büyümesine neden olmaktadır. DNA replikasyonu, S fazı süresince gözlenir ve bu dönem sonunda DNA içeriği 2 katına çıkar. G2 fazı süresince, hücre bölünmeye hazırlanır ve çekirdek zarı parçalanması ile bu dönem sona erer. S fazı 6, G2 fazı 4 ve M fazı 2 saat gibi bir süre içinde tamamlanmasına karşın G1 süresi çok değişkendir<sup>7</sup>.

Hücre siklus fazları arasındaki geçişlerin düzenlenmesi, moleküler seviyede yapılan araştırmalar sonucu daha iyi anlaşılabilmiştir. G1'den S fazına ve G2'den M fazına geçişlerde cyclin adı verilen protein ailesi oldukça yüksek düzeylere çıkmaktadır. Diğer birçok benzer proteinler de hücre siklusunun belirli dönemlerinde artma ve azalma gösterirler. Hücre mitoz döneminden sonra, ya tekrar bölünmeye girmek için hazırlık yapmak üzere G1 fazına girer ya da istirahat fazı olan G0 fazında kalarak hayatini devam ettirir. Hücre siklusu ve mitoz bölünme çok iyi kontrol edilmektedir. Bu kontrolün değişik tip proteinler tarafından sağlandığı bilinmektedir<sup>7</sup>.

### **KRONİK OTİTİS MEDIA**

Kronik otitis media (KOM); kulak zarında perforasyon, süpüratif karekterde kulak akıntısı ve çoğunlukla iletim tipi işitme kaybı ile karakterize otitis media tipidir. Medikal tedaviye yanıtız üç aydır süren otitis media tipi veya akut otitis media atağından sonra altı haftadan daha uzun süreli tedaviye yanıt vermeden devam eden süpüratif akıntılı otitis medialar KOM olarak kabul edilmektedir. KOM sıklığının sadece genetik faktörlerle değil sosyoekonomik faktörlerle ilişkili olduğu bilinmektedir<sup>6</sup>.

Kronik otitis medianın klasik olarak selim ve tehlikeli formları vardır. Tehlikeli form kemik invazyonu ile giden orta kulak ve mastoid hücrelerde skuamöz epitelin bulunduğu kolesteatomlu KOM tablosudur. Selim form ise kronik süpüratif otitis media ve atelektatik kulak hastalığıdır. Kronik KOM' da işitme kaybı iki şekilde olur; birincisi kulağın devamlı veya tekrarlayıcı enfeksiyonudur. İkincisi ise sesin iletim mekanizmalarına zararı ile veya yuvarlak pencereden toksinler ve enfeksiyöz ajanların kohleaya zararı ile oluşur<sup>8</sup>.

### **KOM Histopatolojisi**

KOM'da irreversible doku hasarı vardır. İlk olarak mukozada ülserler olur, bunu granülasyon dokusu ve burjon oluşumu izler. Mukoza inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu sonucu ödemlenir ve polipler oluşur. Granülasyon dokusu iltihabi mediatörler ve litik enzimler salgılayarak mastoid ile orta kulak arasında geçişi engeller. Ayrıca istmusa meydana gelen ödem, granülasyon dokusu ve burjonlar östaki borusunda ikincil daralmalara neden olur. Granülasyon dokusu enfeksiyonun kronikleşmesi bakımından önemlidir. Çünkü granülasyon dokusunun kendisi tahrip edici özelliği ile kemikciklerde nekroza neden olabilir, ilk etkilenen ise inkusun uzun koludur, böylece incus stapes bağlantısı kaybolur<sup>6</sup>.

### **KOM'da Patogenez**

Sık akut otitis media (AOM) ve efüzyonlu otitis media (EOM) geçiren çocuklarda orta kulak mukozasında silier aktivite etkilenir, mukozada metaplazik değişiklikler başlar, irreversible mukoza değişiklikleri meydana gelerek sessiz (silint) otitis media gelişmesine neden olabilir. AOM ve EOM' nın yetersiz tedavisi ve kronikleşmeyi artıran faktörler AOM- EOM- Silent OM- KOM sürecini kolaylaştırmaktadır. Kulak zarı perforasyonları ve ventilasyon tüpü varlığı dış kulak yolundaki mikroorganizmaların orta kulağa girmesine ve enfeksiyon oluşturmalarına neden olmaktadır.

Orta kulak hastalığının kronikleşmesinden sorumlu faktörler:<sup>8</sup>

- Kronik östaki tüpü disfonksiyonu (Tekrarlayan burun-boğaz enfeksiyonları, burun alerjisi, östaki tüpünün obstrüksiyonu)
- Timpanik membranın kalıcı perforasyonu

- Orta kulakta skuamöz metaplazi veya başka bir irreversibl patoloji
- Orta kulağın ve mastoid boşlukların havalanmasına karşı kalıcı obstriksiyon ( timpanoskleroz, polip, granülasyon dokusu)
- Mastoidde sekestrasyon alanları veya persistan osteomyelitis
- Alerji, debilite veya konağın bozulmuş savunma mekanizması gibi kişiye ait özellikler

### **KOM Mikrobiyolojisi**

Kronik otitlerde en sık izole edilen mikroorganizma Psödomonas aeruginosadır. Diğer izole edilen aerobik bakteriler enterik gram negatif basiller, S.aureus, streptokokuslar, K.pneumonia ve H.influenzadır. Anerobik bakterilerden de Bacterioideslerdir<sup>9</sup>. Farklı olarak kolesteatomlu otitlerde anaerobik mikroorganizmalar daha baskındır<sup>10</sup>.

### **KOM Sınıflama**

Kronik otit için en güncel sınıflama;<sup>11</sup>

1- Kronik aktif otitis media

- Kolesteatomlu otitis media
- Kolesteatomsuz otitis media

2- Kronik inaktif otitis media

- Sık reaktive olan otitis media
- Nadiren reaktive olan otitis media

Lille tarafından yapılan bir sınıflamada etiyopatolojik duruma göre yapılmakta ve 5 sınıfa ayrılmaktadır<sup>6</sup>.

a.Allerjik ya da sekretuar tip tubotimpanitisler( Lille Tip I)

b.Kronik mukozal otitis medialar(Lille Tip II)

c.Kronik mukoza ve kemik nekrozu gösteren otitis medialar(Lille Tip III)

d.Özel Tip KOM 'lar (Kronik tüberküloz otitler ve sifilitik otitler)

e.Kolesteatomlu KOM

**a.Allerjik sekretuar tubotimpanitisler:** Üst solunum yolu alerjisi ile birlikte ortaya çıkan, alerjinin kontrolü ile kesilen ve tekrarlayan kulak akıntıları ile karakterize KOM dır. Bunlarda tipik olarak genelde ön alt kadranda santral bir

perforasyon, seromüköz veya seröz bir akıntı vardır. İletim tipinde ve hafif düzeyde bir işitme kaybı mevcuttur.

**b.Kronik mukozal otitis medialis:** Orta kulak ve mastoid mukozasında sınırlı bir inflamasyonla karakterizedir. Küçük santral perforasyon mevcut olup, orta kulak mukozası şiş ve ödemli görünümündedir. Polipler ve granülasyon dokuları görülür. Aktif dönemde mukopürülan akıntı izlenir.

**c.Kronik mukoz ve kemik nekrozu gösteren otitis medialis:** Santral perforasyon mevcut olup, perforasyonun kenarlarından yassı epitelin orta kulağa girdiği görülür. Kötü kokulu ve ince bir kulak akıntısı vardır. Orta kulak mukozasında granülasyon dokusu ve polipler izlenir. Pencerelerin burjon ile kaplanmasından dolayı ugultu ve baş dönmeleri ortaya çıkar. İşitme azlığı ileri düzeyde olmaktadır.

**d.Özel KOM Tipleri:**

**Tüberküloza bağlı KOM:** Özellikle 12 yaş altında sık görülür. Pastörize edilmemiş sütün içilmesi ile sistemik olarak veya akciğer tüberkülozlu bir hastadan basilin doğrudan temas ile alınmasıdır<sup>8</sup>. Primer veya sekonder olabilir. Tüberküloz basili orta kulağa genellikle burun, farenks, üst solunum yolları tüberkülozunun orta kulağa atlaması ile meydana gelir. Az miktarda, kötü kokulu kulak akıntısı vardır. İşitme eksikliği çok ileri düzeylere ulaşabilir. Muayenede başlangıç döneminde kulak zarı sağlam iken daha sonra birkaç adet küçük perforasyon oluşur, bunlar daha sonra birleşerek büyük bir perforasyona dönüşür. Tedavisinde İNH, Streptomisin, PAS kullanılır.

**Sifilize bağlı KOM:** Konjenital veya akkiz olabilir. Konjenital olanda petröz apeks, mastoid kemik, labirentin kemik, yarım daire kanalları ve kemikçiklerde harabiyet vardır. Akkiz olan DKY derisini, orta kulağı ve iç kulağı tutabilir. Sifilize bağlı KOM tedavisinde penisilin etkilidir

**e.Kolesteatomlu KOM:** Kolesteatom, keratinize skuamöz epitelin oluşturduğu ve destrüksiyon yaparak büyüme özelliği olan kitledir. Kolesteatomda normal deriden farklı olarak stratum lucidum yoktur<sup>6</sup>.



## **KOLESTEATOMLU KRONİK OTİTİS MEDIA**

Kolesteatomlu KOM' a "attikoantral hastalık" adı da verilmektedir. Perforasyon genellikle pars tensanın posterosüperior kısmında veya pars flaksidadadır.

### **Epidemiyoloji**

Kolesteatomun prevalansı tam olarak bilinmemektedir. Kolesteatom sıklığı 1978' lerde Amerikada 4.2/100.000 iken, 21.yüzyılda 13.8/100.000 olarak belirtilmiştir. Tos çocuklarda 3/100.000 kolesteatom vakası var iken, erişkinlerde 12.6/100.000 sıklığında olduğunu belirtmiştir<sup>12</sup>.

Kronik otitli temporal kemik çalışmalarında, kolesteatom kulakların %36' sında perforasyon ile birlikte iken, %4' ünde timpanik membranda perforasyon saptanmamıştır.<sup>10,13</sup>

Kafkas ırkında primer edinilmiş kolesteatom daha sık görülür iken, Asya' da sekonder edinilmiş kolesteatomun daha sık görüldüğü ve daha sık komplikasyon riski olduğu bildirilmektedir<sup>14</sup>. Konjenital kolesteatom görülme yaşı  $5,6 \pm 2,8$  yaş olup çocuklardaki edinilmiş kolesteatom görülme yaşı ise  $9,7 \pm 3,3$  yaşlarıdır<sup>15</sup>. Kolesteatom Kafkas ırkında yüksek insidansda görülmekte olup, bunu Afrika yerlileri takip etmekte ve Asya'da daha az (Hindistan hariç) görülmektedir<sup>16</sup>.

Ayrıca yarık damaklı hastalarda daha sık görüldüğü aynı çalışmada bildirilmektedir. Kolesteatomlu hastaların % 10–17' sinde karşı kulak tutulumu bildirilmektedir. Eskimolarda önemli derecede daha az görüldüğü bildirilmektedir. Bu etnik grupta nazofarenksin daha geniş olması nedeni ile orta kulak havalanmasının daha iyi olduğu ve kronik orta kulak hastalığı sekellerinden koruduğu belirtilmektedir<sup>1</sup>.

### **Patogenez**

Histolojik olarak kolesteatom perimatrix, matrix ve keratin lamellerden oluşmaktadır. Perimatrix yapısal olarak kollojen lifleri, elastik lifler, fibroblastlar ve inflamatuvar hücreler içermektedir. Abramson ve arkadaşları kolesteatomdaki kollojenaz aktivitesini tanımlamış, daha sonra Thompsen ve arkadaşları enzimin keratinositlerden üretildiğini göstermektedir. Quaranta ve arkadaşları otuz erişkin ve çocuğun kolesteatom dokusunda perimatriksin histomorfolojik özelliklerini incelemiştir. Çocuklardaki perimatrikste bol miktarda kollojenaz enzim aktivitesi

bulunduran mononükleer hücrelerin olduğunu, erişkinlerde bu miktarın daha az olduğunu savunmaktadır. Sonuçta perimatriksin kolesteatom patogenezinde önemli rol oynadığını, rekürens ve invazyonda pediatrik hastalarda etkili olduğunu ileri sürmektedir<sup>17</sup>.

Kolesteatomdaki oluşum mekanizması hala anlaşılammıştır. Ancak gen defekti ya da inflamatuvar hücrelerden salınan sitokinlerin önemli nedenler olabileceği düşünülmektedir. Böylece biyolojik, biyokimyasal ve genetik defekti tanımlamak kolesteatomun patogenezinin anlamak için önemlidir<sup>18</sup>.

Kolesteatomdaki kemik erezyonu iki temel mekanizma ile açıklanmaktadır. Birincisi: basınç etkisi kemik remodülasyonuna neden olmaktadır. İkincisi: kolesteatomun çevresindeki enzimatik aktivite, osteoklastik aktiviteyi artırarak kemik erezyonu hızını artırdığı savunulmaktadır. Kolesteatom enfeksiyonunda bu yıkım etkisi artmaktadır<sup>19</sup>.

Huisman ve arkadaşları tarafından yapılan bakteriyel lipopolisakkaritlerin (LPS) kolesteatom agresivitesindeki etkinliğinin araştırıldığı çalışmada; yüksek LPS konsantrasyonu olan kolesteatomlu doku örneklerinde kemik rezorpsiyonu sıklığı; düşük LPS konsantrasyonu olan örneklere göre anlamlı olarak yüksek çıkmıştır. Bu çalışmada LPS' in sitokinlerin miktarını artırarak osteoklast aktivitesini tetiklediği sonucuna varılmaktadır. Böylece LPS' in kolesteatom bölgesinde kemik rezorpsiyonunda önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir<sup>20</sup>.

RANKL osteoklast olgunlaşmasının ve kemik rezorpsiyonunun artışı sağlayan sinyal sistemidir. RANKL ekspresyonunun azaltılması, kemik kaybı ile giden hastalıkların tedavisinde kullanılabilecek bir yaklaşımdır. Koptisine in vitro ortamda osteoklastogenezise inhibitör etki gösteren, antipiretik, antinosiseptif ve anti-inflamatuvar etkili olan bir alkaloidtir<sup>21</sup>.

## Sınıflama<sup>22</sup>

Kolesteatom birçok özelliğine göre sınıflanmaya tabi tutulmuştur.

- Yerleşim yerine göre
- Gelişim yollarına göre
- Morfolojik görünümüne göre
- Cerrahi tedavi sonrası nükslerine göre

A- Kolesteatomlar yerleşim yerine göre;

1- Dış kulak yolu (DKY) kolesteatomları

2- İyatrojenik kolesteatom

3- Orta kulak boşluğundaki kolesteatomlar

Bunlarda; Konjenital ve akkiz kolesteatomlar olarak iki büyük gruba ayrılır.

Konjenital kolesteatomlarda yerleşim yerlerine göre;

a) Konjenital orta kulak kolesteatomları,

b) Petröz apeks kolesteatomları

Akkiz kolesteatomlarda iki ayrı gruba ayrılır;

a) Primer akkiz b) Sekonder akkiz kolesteatomlar

B- Kolesteatomlar ayrıca gelişim yollarına görede;

1-Anterior epitimpanum kolesteatomları

2-Posterior epitimpanum kolesteatomları

3-Posterior mezotimpanum kolesteatomları

C- Morfolojik görünümüne göre;

1- Hernial sac kolesteatomları

2- Finger-like kolesteatomları

3- Epidermozis

D- Cerrahi tedavi sonrası nükslerine göre;

1-Rekürrent kolesteatomlar

2-Rezidüel kolesteatomlar

Türk Otorinolarenoloji Baş Boyun Cerrahisi Derneği Otoloji-Nörootoloji Çalışma Grubu 2005 Otitis Media Raporuna göre ise evreleme şu şekildedir: Evre 1' de kolesteatom kemikçik zincirde erozyon olmadan orta kulağa sınırlıdır. Evre 2, evre 1' e benzerdir ancak bir veya daha fazla kemikçikte erozyon izlenir. Evre 3' te kemikçik zincirde erozyon olmadan orta kulak ile birlikte mastoid hücreler de etkilenmiştir. Evre 4, evre 3' e benzerdir ancak bir veya daha fazla kemikçik zincirde erozyon izlenir. Evre 5' te orta kulak, mastoid ve temporal kemiğin diğer bölgelerine kadar yayılmış kolesteatom vardır ve cerrahi ile total olarak çıkartılamaz ve 1 veya daha fazla kemikçik etkilenmiştir, labirent fistülü bulunabilir veya bulunmayabilir. Evre 6, evre 5' e benzerdir ancak kolesteatom temporal kemiği aşmıştır<sup>23</sup>.

**Dış Kulak Yolu (DKY) Kolesteatomları:** DKY kemik duvarının alt ve arka kısmında kemik erozyonu ve DKY' da keratin debrislerin toplanması ile karakterize nadir görülen bir hastalıktır. Keratozis obturans ile karışır. Ayrımında; keratozis obturansın akut, ağrılı, bilateral, gençlerde ve iletim tipi işitme kaybı ile birlikte olması önemlidir. Keratozis obturans sık olarak sinüzit ve kronik bronşektazi ile birlikte bulunur. Tedavisi cerrahidir<sup>22</sup>.

**İyatrojenik Kolesteatom:** Kulağa yapılan müdahaleler sonucu oluşan kolesteatomlardır. Ventilasyon tüpü takılması ya da parasentez sırasında DKY epitel kulak zarı içine bükülebilir. Epitel kulak zarı içine yerleşerek kolesteatom'a neden olur. Basit bir müdahale ile ( enükleasyonla) dışarı alınır. Timpanoplasti ameliyatında perforasyon kenarları tam olarak avive edilmezse, greft alttan yerleştirilse bile kolesteatom gelişebilir. İyatrojenik kolesteatomda en sık neden greftin üstten yerleştirilmesidir. Timpanomeatal flebin çeşitli nedenlerle tam olarak diseksi edilememesi sonucu bir miktar DKY epitelinin greft altında kalması sonucu gelişir. Genellikle müdahaleden bir yıl sonra ortaya çıkarlar. Greftin altında beyaz yuvarlak kitle (literatürde inci: pearl) olarak karşımıza çıkar. Büyük çoğunlukla anulus ya da anulusa yakın yerde görülürler. Basit enükleasyonla çıkarılmaları yeterlidir<sup>22</sup>.

## İmplantasyon teorisi

Özellikle cerrahi müdahaleler sırasında dış kulak yolu epitelinin orta kulak boşluğuna, timpanik zara ya da dış kulak yolu derisinin altına kaçması ile oluşan iyatrojenik kolesteatomların patogenezini açıklar. İyatrojenik kelimesi her ne kadar hekim hatası ile oluşan anlamına gelse de aynı zamanda travma veya yabancı cisimlerle, ventilasyon tüpü tatbiki, timpanoplasti ameliyatları ya da parasentez sırasında epitel artıklarının göçü ile meydana gelebilir<sup>22</sup>.

**Konjenital Kolesteatom:** Embriyolojik gelişmesi sırasında orta kulak petröz kemik ve mastoidde kalan yassı epitelden gelişmektedir. Bunun dışında nöral tavanın kapanması sırasında kafa boşluğuna giren epitel artıklarında kolesteatom meydana getirebilirler. Tüm kolesteatomların yaklaşık %2-5' ini meydana getirmektedirler<sup>24</sup>. Yerleşim yerlerine göre orta kulak ve petröz apeks kolesteatomları olmak üzere ikiye ayrılır. Konjenital orta kulak kolesteatomlarının büyük çoğunluğu rastlantı sonucu tanınır. Konjenital kolesteatom en sık 5 ile 7 yaşları arasında görülmekle birlikte ileri yaşlarda da görülebilmektedir. Erkek/kadın dağılımı 3/1 dir. Bilateral konjenital kolesteatom vakaları nadiren görülmekte ve tüm vakalarının %3' den azını oluşturduğu bildirilmektedir<sup>25,26</sup>. Konjenital kolesteatom serebellopontin köşeye ulaştığında vestibüler schwannomayı taklit ederek progresiv ilerleyen sensorinöral işitme kaybı, kalorik cevapta azalma ve fasiyal sinir paralizisi meydana getirmektedir. Konjenital kolesteatom enfeksiyon öyküsü olmadan, intakt timpanik membran arkasında beyaz kitle olarak görülmektedir<sup>9</sup>. Beyaz kitle genellikle manibrium mallei civarında görülür. Ön kadranda yerleşenlerde belirti bulunmaz. Bazen çocuk kulağında dolgunluktan yakınabilir. Buna karşılık arka kadranda bulunanlar kemikçik zincirde harabiyet oluşturarak işitme kaybı yapabilirler. Geç belirtilerden biride trigeminal sinirin üçüncü parçasına ilişkin paraestezi ve hipoestezi. Tanıda en önemli yöntem tomografidir<sup>22</sup>.

Kolesteatomun konjenital kabul edilmesi için bazı kriterler ileri sürülmüştür.(Levenson ve Michales)

1-Timpan zar sağlam olmalıdır.

2-Kulak akıntısı ve kulak zarı perforasyonu anemnezi olmamalıdır.

3-Parasentez ve ventilasyon tüpü takılması gibi cerrahi müdahale anemnezi olmamalıdır.

4-DKY atrezisi bulunmamalıdır.

5-Kulak zarı içinde gelişmiş kolesteatomayla birlikte olmamalıdır.

6-Temporal kemik travması öyküsü olmamalıdır.

Potsic ve colleagues in 172 konjenital kolesteatomlu vaka sonrasında geliştirdiği derecelendirme sisteminde;<sup>27</sup>

Stage I: Bir kadranda sınırlı tutulum

Stage II: Kemikler ile ilişkisiz multipl kadran tutulumu

Stage III: Mastoid ile ilişkisiz kemikcik zincir tutulumu

Stage IV: Mastoid tutulumu

Stage IV de rezidüel kolesteatom riski % 67 olarak gözlemlenmiştir.

**Akkiz Kolesteatomlar:** Akkiz kolesteatomlar primer akkiz ve sekonder akkiz olmak üzere ikiye ayrılır. Primer akkiz kolesteatom deyimi ile timpan zar ve östaki tüpü sağlamken meydana gelen kolesteatom ifade edilmektedir. Bu konjenital kolesteatomdan ayrı bir antitedir. Buradaki epitelin kaynağı embriolojik kalıntı değil kulak zarı dış yüzünü örten derinin orta kulak boşluğuna girmesi söz konusudur. Bu g  ile ilgili invazyon teorisi, bazal hücre hiperplazisi teorisi, effüzyonlu otitis media teorisi, epitel implantasyon teorisi gibi değişik teoriler ortaya atılmıştır. Sekonder akkiz kolesteatomda ise timpan zarda perforasyon mevcuttur. Perforasyonun yerleşim yerine göre pars tensa ve pars fleksida kolesteatomları olarak ikiye ayrılır. Pars tensa kolesteatomlarının başlangıç yeri genellikle arka üst kadrandır. Marjinal perforasyonlar sıklıkla bu bölgededir. Pars tensa kolesteatomları genellikle pnömatizasyonu olmayan ya da az gelişmiş mastoidlerde rastlanır<sup>22</sup>.

DKY ve konjenital kolesteatomlar biryana bırakılırsa, iyatrojenik ve sekonder akkiz kolesteatomların oluşumunda dört varsayım ileri sürülmektedir:<sup>10</sup>

1- Skuamöz metaplazi teorisi

2- Epitelyal invazyon teorisi

3- Bazal hücre hiperplazi teorisi

4- İnvaginasyon teorisi.

### **Skvamöz metaplazi teorisi**

1864 de Von Trölsch kolesteatomdaki keratinize skuamöz epitelin, orta kulak mukozasının metaplazisi sonucu olduğunu savunmaktadır. Sade orta kulak mukozasının kronik inflamasyon sonrasında metaplaziye ugradığını ileri sürmektedir. Chole ve Frush ratlarda vitamin A eksikliğinde orta kulak mukozasının metaplaziye gittiğini tanımlamıştır<sup>1</sup>. Bu teorinin ana dayanak noktası paranazal ve bronş mukozasının uzun süreli kronik enfeksiyonlar ve iritasyon sonucu squamöz epitele dönüşmesidir. Çalışmalarda orta kulak metaplazinin daima epidermoid düzeyde kaldığı fakat yassı epitele dönüşmediği görülmektedir<sup>22</sup>. Böylece direkt kolesteatom oluşumunu gösteren histolojik ve deneysel kanıt olmadığından bu hipotez geçerliliğini kaybetmiştir<sup>1</sup>.

### **Epitelyal İnvazyon teorisi**

1888' de Habermann ve 1890' da Bezold skuamöz epitelin timpanik membrandaki marjinal perforasyondan orta kulak mukozasına girdiğini savunmaktadır. 1901' de Politzer perforasyon sonrası olan inflamasyonların dış kulak yolu epitelinin orta kulağa migrasyonundan sorumlu olduğunu ileri sürmektedir<sup>1</sup>. Bir epitele komşu mukozada herhangi bir nedenle tahribat olursa, bu hasarlanan yeri epitel göç ederek örtme eğilimindedir. Mukoza varlığı ile migrasyon durmasına kontakt inhibisyon denir. Kolesteatomda kontakt inhibisyonun ortadan kalkması nedeniyle dış kulak yolu epiteli, attik ya da marjinal perforasyondan orta kulağa ulaşmaktadır. Bu teori sekonder akkiz kolesteatomları açıklamaktadır<sup>22</sup>.

### **Bazal hücre hiperplazi teorisi**

1925' de Lange pars flaksidadaki keratinize epitelin subepitelyal boşluğa invaze oldukları ve atik kolesteatom neden olduğunu savunmaktadır. Lim ve arkadaşlarının insan ve hayvan deneylerinde bazal membranın lokalize eriyerek supepitelyal boşluğu keratinositlere bıraktığını ileri sürmektedir. Keratinositler çoğalarak inkülüzyon kistleri oluşturur ve sonuçta kolesteatom gelişmektedir<sup>1</sup>. Bu mekanizma bazı sağlam timpanik membranı olan insan kolesteatomlarını açıklamaktadır. Bu teoriye göre mikrokolesteatom büyüyüp daha sonra membranda perforasyonlara neden olarak tipik attik kolesteatom görünümü oluşmaktadır<sup>10</sup>.

## **İnvaginasyon teorisi**

1993' de Wittmaack tarafından öne sürülen akkiz kolesteatomların patogeneğinde kabul edilen bir teoridir. Pars flaksida ve pars tensadaki çeşitli nedenlerle oluşan negatif basınç ile orta kulağa doğru olan derin retraksiyonlarda keratin toplanması ile kolesteatom meydana gelmektedir (ex vacuo theory). Retraksiyon pakelerinin drenaj kaybı orta kulak ve mastoid hücrelere doğru kolesteatom dokusunun genişlemesine neden olur<sup>1</sup>. Bu tip kolesteatomlarda timpanik membranın posterosüperior kadranında defekt görünümü ve kanal duvarında erezyona neden olan retraksiyon cepleri mevcuttur. Bunlar perforasyon olmadığı halde marjinal perforasyon görünümü olan invaginasyondur. İnvaginasyon bölgesinde keratin debrisler birikerek primer akkiz kolesteatomu meydana getirmektedir. Keratin matrix bakteriler tarafından enfekte olursa epitelyal proliferasyona neden olan kronik persistan enfeksiyonlara neden olur<sup>10</sup>.

**Retraksiyon kesesi kolesteatomu:** Bu tip kolesteatomlar, genellikle havalanması iyi olmayan sklerotik mastoidlerde gelişir. Kolesteatom kesesi küçük kalır ve büyük çaplara ulaşmaz. Kесе genellikle yuvarlaktır. Kolesteatomun başlangıcı ile kese arasında değişik uzunlukta bir boyun bulunur. Buna karşılık kemikte diğer tiplere göre daha fazla harabiyet yapar. Yarım daire kanallarının fistülleri en çok bu tipte görülür<sup>22</sup>.

**Finger-like Kolesteatom:** Eldiven parmağı şeklindedir. İyi havalanan mastoidlerde görülür. Gelişmek için yeterli büyüklükte alan buldukları içi büyük çaplara ulaşırlar. Her boşluğa girdikleri için şekilleri düzgün değildir. Bir diğer adı da Ramifie (dallanmış) kolesteatomdur.

**Epidermozis:** Epiderminin tabaka ya da kitle halinde orta kulağa göç etmesidir. Bunun oluşmasında üç olasılık ileri sürülmüştür. Kulak zarı santral perforatedir. Manibrium malleinin orta kulağa temas eden kısmından epidermis promotoriuma göç eder ve mukozasının yerini alır. Kulak zarı arka kadranda inkudostapedial ekleme yapışık yerde bir perforasyon gelişecek olursa epidermis buradan inkusun uzun kolu yardımı ile processus lentikularise, stapes başına,



kururalara ve tendona yayılır. Epidermis perforasyon kenarından iç yüzeye geçer ve mukozanın yerini alır<sup>22</sup>.

**Rezidüel Kolesteatom:** Cerrahın bilerek ya da hata sonucu bıraktığı kolesteatomdan gelişir. Kendi haline bırakılmış kolesteatomlar bir yıl sonra tekrar opere edilir ve pearl denen beyaz yuvarlak bir kitle halinde çıkarılır.

**Rekürren Kolesteatom:** Cerrahi olarak tedavi edilmiş hastada yeniden meydana gelmiş kolesteatomdur<sup>22</sup>.

### **Kolesteatomda Tanı**

Kolesteatom muayenede sıklıkla kötü kokulu, pürülan akıntı ile karşımıza çıkar. Aralıklarla olan kulak akıntısı kronik otitlerin ortak özelliğidir. Kötü kokunun sebebi ağır yağ asitlerinden ve kemik destrüksiyonundan kaynaklanır. Kronik otitdeki kokulu akıntı antibiotik tedavisi ile kesilmesine karşılık kolesteatomdaki kokulu akıntı devam eder. Eksternal otit haricinde KOM ve kolesteatomda kulak ağrısı bulunmaz. Muayenede retraksiyon poşlarına dikkat edilmelidir.

Orta kulaktaki mukozal katlantılar epitimpanik ishmusta total blokaj yaparak negatif epitimpanik basınç oluşturur. Bu hastalarda normal timpanogram olup östaki aracılığı ile orta kulak havalanması normal düzeydedir. İzole epitimpanik negatif basınç retraksiyon poşları ve sonrasında kolesteatom formasyonuna neden olmaktadır<sup>28</sup>.

Retraksiyon poşları (RP) kolesteatom meydana getirmesi bakımından ikiye ayrılır.

A) Potansiyel retraksiyon poşları B) Prospektif retraksiyon poşları

**Potansiyel retraksiyon poşları:** Kolesteatom tehlikesi içeren ancak hali hazırda kolesteatom saptanmayan poşlardır.

**Prospektif retraksiyon poşları:** Kolesteatom vardır ve süreç ilerlemeye devam etmektedir. Retraksiyon poşlarının potansiyel kolesteatom kabul edilmesi için fibröz tabaka erimektedir. DKY epiteli ile orta kulak mukozası sırt sırtadır. RP mobil veya fikse ve şeffaftır. Arkasında kemik zincirini özellikle inkudostapedial eklemi ve orta kulak mukozasını görülebilir. Orta kulak boşluğu havalanmaktadır. Dıştaki epitel tabaka sağlıklıdır, parlaktır ve poşta döküntü saptanmaz. Bu tip RP' u uzun seneler sağlıklı olarak kalabilir. Ancak enfeksiyon ve havalanma bozukluğu devam ederse kolesteatom gelişebilir.

RP larının prospektif kolesteatom kabul edilmesi için;

—RP serbest veya fikse olabilir.

—RP nın hudutları görülmeyebilir.

—RP nın dış yüzünü kaplayan epitelyum tabakası düzensizdir, içinde epitel döküntüleri vardır.

—RP inkudostapedial ekleme veya orta kulak mukozasına yapışıktır.

—Anulus genişlemiş ve skutum yenmiştir.

Bu bulgular açık bir kolesteatom işareti olarak algılanmalı ve ameliyat endikasyonu konmalıdır.

Kolesteatomun tanısında en önemli yeri bilgisayarlı tomografi (BT) tutar. BT tanıda, yayılım yerlerinin tespitinde ve operasyon tekniğinin seçiminde önemlidir. Konvansiyonel grafilerde; schuller, law, chausse III ve guillen pozisyonları en sık kullanılan pozisyonlardır. Schuller pozisyonu mastoid pnömotizasyonunu ve lateral sinüsü gösterir.

### **Kolesteatomda Tedavi**

Kolesteatomda kesin tedavi cerrahidir. Cerrahide amaç kuru, temiz, güvenli ve işiten bir orta kulak oluşturmaktır. Tedavi edilmediğinde morbidite ve mortaliteye neden olabilmektedir. Tedavinin en önemli amacı mümkün olduğunca anatomi korunarak hastalığın tam eradikasyonudur. Güvenli bir orta kulak sağlandıktan sonra işitme onarımı yapılmalıdır<sup>9</sup>.

Birçok farklı cerrahi yaklaşımlar tanımlansa da açık kavite timpanomastoidektomi kolesteatom tedavisinde altın standarttır. Bu teknik İleri kolesteatom vakalarında iyi görüş sağlamak ve hastalığı ortadan kaldırmak için yapılmaktadır.

Mastoidektomi sonrası nitrojen absorbe eden mukoza ortadan kalkarak yerine skuamöz epitel gelmektedir. Kapalı kavite timpanomastoidektomi operasyonunda ise nitrojen absorbe eden mukoza mevcut olduğundan operasyon sonrası, özellikle inflamasyonun devam ettiği durumlarda vaskülerizasyonun artması ile orta kulak ve mastoid kavitede negatif basınç devam eder ve kolesteatom reküranslerine neden olmaktadır. Son yıllarda açık kavite mastoidektomi sonrası kavite obliterasyonu önerilmektedir<sup>11</sup>.

Cerrahi Teknikler: Kolesteatomda teknik seçiminde dikkat edilmesi gereken noktalar şunlardır.

1) Kolesteatomun büyüklüğü 2) Mastoidin pnömatizasyonu 3) Klinik olarak östakinin durumu

Kolesteatomun geniş olması kontrol edilmesi gereken alanında geniş olması anlamına gelir. Pnömatize mastoidlerde kapalı teknikler mastoidin bütün hücrelerinin açılması ve kontrol edilmesini gerektirir. Pnömatizasyonu iyi olmayan mastoidte kolesteatom küçük olması beklenir. Bu vakalarda yapılan açık teknik çok ciddi bir kavite problemine yol açmaz. Kapalı teknik uygulanırsa retraksiyon poşlarına neden olur. Hem kapalı tekniklerde hem de MRM' de östakinin durumu ameliyatın başarısını etkiler. Orta kulak mukozasının durumu östaki hakkında fikir verir. Bütün bunlara karşılık kolesteatomun tedavisinde yöntem seçimi hastaya ve cerraha göre değişmektedir<sup>22</sup>.

Mastoidektomi prosedürleri: <sup>10</sup>

- 1- Basit mastoidektomi
- 2- Kanal wall up mastoidektomi
- 3- Kanal wall down mastoidektomi
- 4- Radikal mastoidektomi
- 5- Modifiye radikal mastoidektomi
- 6- Mastoid obliterasyon prosedürleri

**Basit mastoidektomi:** Bu prosedürde mastoid kortex ve hastalıklı hücreleri ortadan kaldırılır. Sadece koelesan mastoiditte ve subperiostal apsede drenajı sağlamak için yapılır. Antrum sadece kolesteatomu kontrol etmek için açılmalıdır <sup>10</sup>. Ayrıca kohlear implantasyonda, iç kulak ve posterior fossaya translabirentin yaklaşımda, petröz apekse perilabirentin yaklaşımda ilk adım basit mastoidektomi operasyonudur <sup>9</sup>.

**Kanal wall-up mastoidektomi:** Basit mastoidektomiye göre daha geniş mastoid hücreler açılmaktadır. İki prosedürde süperior ve posterior kanal duvarı korunmaktadır. Fasiyal recess yaklaşımda ve diğer prosedürlere eklenmektedir. Operasyon sonrası defekt kemik, kartilaj ve alloplastik materyaller ile rekonstrikte edilmektedir <sup>10</sup>.

**Kanal wall- down mastoidektomi:** Bu prosedürde tüm mastoid hücreler geniş bir şekilde açılarak, süperior ve posterior kanal duvarı indirilir ve sonrasında meatoplasti yapılır<sup>10</sup>. Bu prosedür açık kavite mastoidektomi, modifiye radikal mastoidektomi, radikal mastoidektomi ve bondy mastoidektomi olarak isimlendirilmektedir. Reküren mastoidektomi, temporal kemik enfeksiyonlarında drenajı sağlamak için yapılmaktadır<sup>9</sup>.

**Modifiye radikal mastoidektomi (MRM):** Kolesteatom vakalarında en sık kullanılan operasyon olup, DKY kemik arka duvarının kaldırılması, attikin geniş bir şekilde açılması nedeni ile kolesteatomu iyi bir şekilde ortaya koyar ve uygun vakalarda kulak zarının onarılması ve iletim zincirinin yeniden yapılmasını mümkün kılar. Kavite her zaman ve kolaylıkla kontrol edilebildiğinden nüks oranı düşüktür. Geniş bir kavite oluşmuşsa kavitenin oluşturduğu sakıncalardan korunmak için obliterasyon teknikleri ile kavite oblitere edilebilir<sup>22</sup>. Nüks etmiş kapalı tekniklerin revizyonunda da en sık kullanılan ameliyat yöntemidir. Genellikle iki aşamalı operasyona uygun olmayan, takibi zor hastalarda kullanılan bir prosedürdür<sup>9</sup>.

**Radikal mastoidektomi:** Sadece ileri derecede sensörinöral işitme kaybı olan geniş kolesteatomlu vakalar veya adeziv otitlerde tercih edilir. Radikal mastoidektomide orta kulak mukozası, kulak zarı ve kemikçikler çıkarılır. DKY kemik duvarı mastoid antrum ile aynı seviyeye gelinceye kadar turlanır. Östaki ağzı fibröz doku ya da kemik parçası ile tıkanır. Oluşan geniş kavitenin iyi bir şekilde havalanması ve kolay bir şekilde kontrol edebilmek için meatoplasti yapılır<sup>22</sup>.

**Klasik Bondy Modifiye radikal mastoidektomi:** Attik ve kemikçikleri kendi haline bırakan, sadece attiki ve mastoidi açan bir tekniktir.

**İntact canal Wall Technic (ICWT):** Bir diğer adı fasial reses yaklaşımıdır. Bu tekniğin en önemli amacı fasial resesi ve sinüs timpaniyi açmak ve buralarda yerleşmiş her türlü patolojiyi temizlemektir. Hem fasial resesi hemde sinüs timpani ve orta kulağın görülmesi mümkün olur. Eğer bir kavite oluşturmadan kolesteatom temizlenmek isteniyorsa bu teknik bütün ayrıntıları ile uygulanmalıdır<sup>22</sup>.

Majör kolesteatom vakalarında kullanılan open kavitenin sorunlarından kaçınmak için kullanılan bir yöntemdir. Bu teknikle anatomik ve fonksiyonel bir kulak elde edilir. Bu operasyon yüksek rezidüel ve reküren kolesteatom oranlarına

sahiptir. Bu nedenle 1 yıl sonra reeksplorasyon gerektirmektedir. Tek işiten kulakta, intrakranial komplikasyonlarda, semisirküler kanallarda fistül olan vakalarda kontrendikedir<sup>9</sup>.

**Transkanal anterior attikotomi (TAA)** :Bu tekniğin uygulanabilmesi için kolesteatomun arka sınırının en fazla fossa inkudise kadar uzanması ve büyük çoğunluğu ile ön attik ve kemikçikler bölgesine sınırlı olması gerekir. Ameliyat öncesinde sınırları tam olarak ayrılamayan, retraksiyon poşundan gelişmiş kolesteatom vakalarında başlangıç ameliyatı olarak seçilip daha sonra diğer açık ya da kapalı tekniğe dönülebilir. Ancak bu teknik uygulanırsa açılan attik bölgesi kıkırdak ya da kemik greft ile onarılmalıdır. Aksi takdirde bu bölgede yeni retraksiyon poşları ve rekürrent kolesteatomlar ortaya çıkma ihtimali yüksektir.<sup>22</sup>

**Kolesteatomda Nüks:** Daha önce de bahsedildiği gibi nüks rekürrens veya rezidüel kolesteatom olmak üzere iki şekilde olmaktadır. Rekürrens kolesteatomlar genellikle hastalığın cerrahi olarak tedavi edildikten sonra posterior epitimpanium ve posterior mezotimpaniumda yeniden oluşan retraksiyon poşlarından gelişirler. Rezidüel kolesteatomlar cerrahın bıraktığı yassı epitelin tekrar gelişmeye başlaması olarak tanımlanır. Nüksü hastalarda en sık yakınma işitme kaybının artması, akıntı, greftin perfore olması, polip ya da keratin birikmesidir. Özellikle çocuklarda kolesteatomun hızlı seyrettiği hatırlanarak en küçük vertigo, subfebril ateş, baş ağrısı ya da kulak ağrısı bizi komplikasyon açısından uyarmalıdır. Kapalı teknik uygulanmış vakalarda operasyondan bir yıl sonra başlamak üzere aralıklarla BT kontrolü yapılmalı, en ufak bir yumuşak doku dansite artışı kolesteatom yönünden uyarıcı olmalıdır. Açık teknik uygulanmış vakalarda BT komplikasyon kuşkusu varsa uygulanır.

Kolesteatomda nüksleri önlemek için aşağıdaki kriterlere dikkat edilir;

—Vakaya göre teknik seçilmeli.

—İyi pnömatize ve sınırlı vakalarda kapalı teknik. İyi pnömatize olmayan vakada açık teknik seçilmeli.

—Çocuklarda mümkün oldukça açık teknik tercih edilmeye çalışılmalı.

—İki taraflı kolesteatom vakalarında açık teknik tercih edilmeli.

—Bir kulağı işiten vakalarda açık teknik tercih edilmeli.

- Semisirküler kanallarında fistül olan vakalarda açık teknik tercih edilmeli.
- Sensörinöral işitme kayıplarında açık teknik tercih edilmeli.
- Kafa içi koplikasyonlu vakalarda açık teknik tercih edilmeli.
- Her vakada sinüs timpani, fasial reses ve ön attik mutlaka kontrol edilmeli.
- Diabetli hastalarda açık teknikten kaçınılmalı, eğer açık teknik uygulanacak ise kavite oblitere edilmelidir <sup>22</sup>.

### **KRONİK OTİTİS MEDIA KOMPLİKASYONLARI**

Orta kulak iltihaplarının orta kulak mukozasının ve temporal kemiğin havalı boşluklarının dışına taşmasına otojen komplikasyonlar adı verilir.

Otojen komplikasyonların büyük çoğunluğu subakut ve kronik otitis medialar sırasında ortaya çıkarlar.

#### 1-İntratemporal komplikasyonlar

Orta kulak

- Fasiyal paralizi
- Kemikcik lezyonları
- Kulak zarı perforasyonu

Mastoid

- Petrozit
- Pnömatizasyon azalması
- Koalesan mastoidit

İç kulak

- Labirentit
- Sensorinöral işitme kaybı

#### 2- Ekstratemporal komplikasyonlar

İntrakranial

- Ekstradural apse
- Supdural apse
- Beyin apsesi
- Meningit
- Lateral sinüs tromboflebiti
- Otitik hidrocefali

## Ekstrakranial

—Bezold absesi

—Zigomatik apse

—Postauriküler apse

KOM'un klinik seyri sırasında ortaya çıkan aşağıdaki durumlar klinisyenin komplikasyon gelişimi açısından uymalı;

—AOM iki haftadan beri sürüyorsa ve hastanın yakınmaları giderek artıyorsa,

—AOM tedavi edildikten sonra iki hafta içinde nüks ederse,

—KOM' da alevlenme, ateş ve ağrı ortaya çıkarsa,

—Tedaviye rağmen pis kokulu kulak akıntısı devam ederse,

—Kültürde H.influenza tip B ve anaeroblara rastlanırsa,

Komplikasyon için aşağıdaki durumlar yol göstericidir;

—Ağrı ve ateşin olması özellikle intrakranial komplikasyonları,

—Kulak kepçesi arkasında ödem, şişlik, ağrı olması, kepçenin öne ve aşağı doğru yer değiştirmesi akut mastoidit ve subperiostal apseyi,

—Süpüratif bir kulakta aynı taraf retroorbital ağrının olması petrozit,

—Baş dönmesi, bulantı, kusma ve işitme kaybı durumunda ise labirentit,

—Hasta kulak tarafında periferik fasiyal paralizi gelişmesi KOM' a bağlı kanal harabiyetini, AOM' da nöropraksiyi,

—Baş ağrısı, letarji, papilla stazı ve ödemi, görme bozukluğu, epilepsi bir intrakranial komplikasyonu,

—Bacaklı ateş görülmesi sigmoid sinüs tromboflebitini göstermektedir.

—En sık karşılaştıkları intrakranial komplikasyonları menenjit, lateral sinüs trombozu ve serebellar apse iken, en sık karşılaştıkları ekstrakranial komplikasyonları ise mastoid absesi, postauriküler fistül ve fasiyal paralizi olarak bildirdiler.<sup>22</sup>

## **KOLESTEATOM ETYOPATOGENEZİ İLE İLGİLİ YAPILAN MOLEKÜLER ÇALIŞMALAR**

Bu amaçla genellikle incelenen moleküller proteinlerdir. Teknik olarak genellikle immünohistokimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Normal ve anormal dokuların ayrımı ve hatta anormal dokuların tiplendirilmesi gerçekleştirilebilmektedir. Bu proteinler hücre proliferasyon markerları adını alırlar ve bu markırlara karşı geliştirilen antikolar, immünohistokimyasal metodlar aracılığı ile patolojide tanı amaçlı olarak da kullanılabilirlerdir.

### **P27 PROTEİNİ**

P27 hücre siklusunun düzenlenmesinde görevli siklin bağımlı kinazların (CDK) inhibitörüdür. Hücre siklusunun düzenlenmesi CDK kompleksleri tarafından düzenlenmekte olup siklin bağlayıcılar ile aktive olmakta ve CDK inhibitörleri ile inhibe olmaktadır. G1 den S fazına geçiş CDK1/CDK4, siklin E/CDK 2 ve siklin A/CDK 2 kompleksi tarafından düzenlenmektedir. Siklin B/CDK1 ise G2 den M ye geçişi düzenlemektedir. p27' si düşük olan fareler radyasyon ve kimyasal karsinojenlerin tetiklediği malign tümörlere karşı daha hassastır. Bu düşüş p27 proteinlerinin yarı ömürlerinin azalmasına bağlıdır. Göğüs, prostat, akciğer ve overler gibi birçok normal epitel dokusunun çoğalan tabakalarında yüksek seviyelerde nükleer p27 proteinini eksprese ederler. Buna karşın birçok insan tümöründe p27 proteininin azalması dikkati çekmektedir. Bu azalma proliferasyonun inhibisyonunu ortadan kaldırmaktadır<sup>29</sup>.

### **HİPOKSİ İLE İNDÜKLENEN FACTÖR**

Hipoksi ile indüklenen faktör (HIF-1); azalmış oksijen düzeyi ile aktive olan oksijen homeostazında görevli bir transkripsiyon faktörüdür. HIF-1 $\alpha$  ve HIF-1 $\beta$  olarak iki alt grubu bulunmaktadır. HIF-1 aktivasyonu ile hipoksik şartlara uyumu sağlayan genlerin transkripsiyonu artmaktadır. Son yıllardaki çalışmalar HIF-1' in demir şelatörlerinden hormonlara kadar uzanan bir takım çevresel ve fizyolojik stimülüsler tarafından aktive olduğunu göstermektedir. Temel bilimlerdeki çalışmalar HIF-1 aktivasyonunun doku iskemisi ve iskemi/hipoksi ile ilgili hastalıkların tedavisinde değerli bir terapötik yaklaşım olabileceğini ileri sürmektedir. Çalışmalar 70' in üzerinde genin HIF-1' den sorumlu olduğunu ve



hücre proliferasyonu, hücre ölümü, hücre iskelet yapısı, hücre adezyonu, hücre motilitesi, anjiogenez, eritropoez, ilaç rezistansında ve hücre fizyolojiyi ilgilendiren birçok proteinin kodlanmasında görevli olduğunu göstermektedir. HIF-1 yara iyileşmesi gibi fizyolojik süreçler ve tümör progresyonu, doku iskemisi gibi patolojik süreçlerde oldukça kritik bir role sahiptir<sup>30</sup>.

### **Ki-67 PROTEİNİ**

Ki-67 proteini 1983 yılında, Gerdes ve arkadaşları tarafından tanımlandı. Bu yapı çoğalan bütün hücrelerde izlenmektedir. Araştırılan hücre popülasyonunun büyüyen kısmını araştırmada kullanılan önemli bir markerdir. İnsan Ki-67 proteinine karşı antikorların mikroenjeksiyonu sonrasında hücre bölünmesinde azalma izlenmiştir. Bu bulgu sonucunda Ki-67' nin hücre proliferasyonunda önemli rol oynadığı saptanmaktadır. Ki-67 çoğalan hücrelerde görülen bir çekirdek proteindir. Esas olarak G1, S, M ve G2 fazında görülür G0 fazında yoktur. Hücre proliferasyonunun morfolojik özelliklerini iyi bir şekilde gösteren protein olup, mitotik index ve tümör gradelemesinde sıklıkla kullanılır<sup>31</sup>.

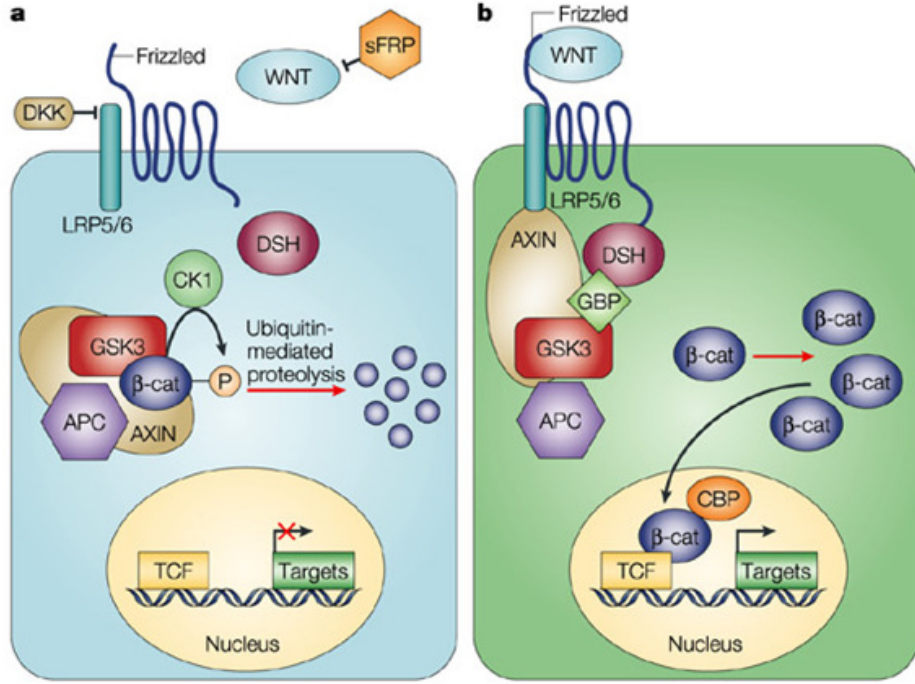
### **$\beta$ -KATENİN**

Normal koşullarda hücreler birbirlerine ve ekstraselüler matrikse adezyon molekülleri ile tutunurlar böylece, mekanik etkilerle dağılıp ayrılmaları engellenmiş olur. Adezyon moleküllerinin; hücre iskelet organizasyonu, farklılaşma ve büyüme kontrolünde önemli etkileri bulunmaktadır. Hücre -hücre temasında rol alan bir transmembran proteini olan E-kaderin, adezyon görevini kalsiyum varlığında gerçekleştirmektedir. Ayrıca, doku yapısının organizasyonu, hücre göçü ve farklılaşmasında önemli bir role sahiptir. Kaderinler klasik ve desmozomal kaderinler şeklinde guruplandırılmaktadır. Klasik kaderinler üç guruba ayrılmakta olup sitoplazmaya  $\beta$ -katenin adı verilen intrastoplazmik proteinlerle bağlanmaktadır. Normal epitel hücreleri birbirine sıkıca bağlı iken, kanser hücreleri daha gevşektir ve invaziv davranış göstermektedir. Sonuç olarak tümör hücrelerinde  $\beta$ - kateninin miktarının artması nükleusta proliferasyon genlerini etkileyerek proliferasyonu tetiklenmektedir<sup>32</sup>.

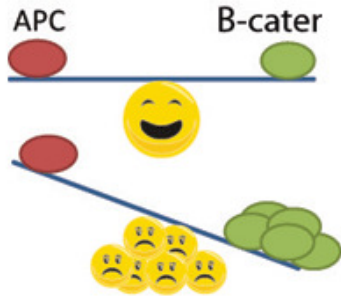
## ADENOMATÖZ POLİPOZİS KOLİ ( APC)

Adenomatöz polipozis koli (APC), bir tümör supresör genidir ve inaktive olduğunda tümör oluşumunu kolaylaştırmaktadır. APC geni,  $\beta$ - katenin' in bağlandığı 15-aa tekrarı ve 20-aa tekrarı olmak üzere iki bölge içermektedir. Kanselerde 20-aa tekrarı olan bölge daima delesyona uğrarken, 15-aa tekrarı korunmaktadır. APC' nin azalmış olduğu hücrelerde 20-aa bölgesi  $\beta$ -katenin' in ekspresyonunu azaltırken, 15-aa bölgesinin aşırı ekspresyonunun in-vivo etkisi yoktur. Bu ise APC ve  $\beta$ - katenin arasındaki etkileşimin, APC' nin tümör supresör fonksiyonunda önemli etkisi olduğunu göstermektedir. Serin-treonin kinaz GSK 3- $\beta$  (Glikojen sentaz kinaz 3- $\beta$ ), APC aracılı  $\beta$ - katenin ekspresyonunun azaltılmasında yer almaktadır. GSK 3- $\beta$ , APC ve  $\beta$ - katenin ile kompleks halinde bulunmakta ve direkt olarak APC'nin serin kalıntısı içeren 20 aa bölgesini fosforile etmektedir. APC 'nin fosforile olması sonucu,  $\beta$ - katenin ile olan etkileşimini artırmaktadır.  $\beta$ - katenin'in APC ile olan etkileşimi ve N- terminalinden GSK 3- $\beta$  tarafından fosforile edilmesi ile ubiquitin- proteozom aracılığı ile küçültülmesi için hedef almakta ve sitoplazmik  $\beta$ - katenin proteini azalmaktadır. Bu sonuçlar,  $\beta$ - katenin seviyesinin APC ve GSK 3- $\beta$  tarafından ortak olarak azaltıldığını göstermektedir. APC genindeki mutasyon sonucu durdurma kodonu oluşmakta ya da  $\beta$ - katenin'i azaltma kodonu olmayan kısaltılmış protein kodlanmaktadır ve sonuç olarak sitoplazmada  $\beta$ - katenin düzeyi yükselmektedir. Böylece APC ya da  $\beta$ - kateninde oluşabilecek mutasyonlarla  $\beta$ - katenin birikimi gerçekleşmektedir, bu da tümör invazyonu ve metastaz ile ilişkilidir <sup>33</sup>.

Sonuç olarak APC ya da  $\beta$ - katenin, oluşabilecek mutasyonlarla  $\beta$ - katenin birikimi gerçekleşmekte ve nükleusta transkripsiyon faktörleri ile birleşmekte ve proliferasyon tetiklenmektedir <sup>34</sup>.



**Şekil 2. β-katenin/ APC kompleksi**<sup>35</sup>



**Şekil 3. İmbalance of APC and beta catenin.**

(by Dr. Jyoti Madhusoodanan Edited by Dr. D.B. Starr, Stanford University)

APC proteini normal hücrelerde β-katenin ile dengede olmalıdır. Eğer APC mutasyonları ve ya β-katenin miktarında aşırı ekspresyon olduğunda denge bozulup hücrelerde kontrolsüz çoğalma artmaktadır. Böylece tümör oluşumuna zemin hazırlanmış olmaktadır.

## MATERYAL VE METOD

Bu çalışmaya 2009—2011 yılları arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz anabilim dalına başvuran 42 kolesteatomlu kronik otitis media olgusu alındı. Hastaların muayene bulguları preoperatif olarak kaydedildi. Hastalar çalışma hakkında bilgilendirildi ve izinleri alındı. Klinik bulgu ve duruma göre uygun cerrahi girişimler uygulandı. Operasyon esnasında kolesteatom matriksi alındı. Kontrol grubu olarak aynı hastaların operasyon sırasında dış kulak yolu deri örnekleri alındı. Patoloji anabilim dalına gönderilen ameliyat materyalleri formol fiksasyonundan sonra parafine gömüldü. Bu iki grupta Hipoksi ile indüklenen faktör, APC-Kadherin, Kİ-67 antijeni ve p27 protein düzeylerine bakılarak iki grup arasında farklılık olup olmadığı araştırıldı.

### **İmmünohistokimyasal boyama**

Çalışmaya alınan parafin bloklardan 5 mikrometre ( $\mu\text{M}$ ) kalınlığında hazırlanan kesitler lamlara alındı. Monoklonal antikolar kullanılarak immünohistokimyasal boyama yapıldı. Etüvde bir gece boyunca  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  bırakılan kesitler, ertesi gün  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  de 60 dakika bekletildi. Kesitler deparafinizasyon ve rehidratasyon amaçlarıyla önce ksilen sonra değişen konsantrasyonlarda alkol solüsyonlarından geçirildi ve kesitler distile su ile yıkandı.

Antijen retrieval için kesitler 10mM Sodyum sitrat, ph 6.0 olan solüsyon içerisinde mikrodalgada önce orta derecede 10 dakika, sonra düşük derecede 5 dakika bekletildi. Mikrodalgadan çıkarılan kesitler oda sıcaklığında 20 dakika tutulduktan sonra, distile su ile yıkandı. İki defa endojen peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için %3' lük hidrojen peroksit ile 20 dakika inkübe edildi. Kesitler distile su ile iki kez birer dakika yıkandı. Monoklonal antikolar ile oda sıcaklığında 60 dakika inkübe edildi. PBS (phosphate buffer saline ) ile üç kez beşer dakika yıkandıktan sonra, HRP(Horse Radish Peroksidaz) kromalin yöntemi ile rutin boyama işlemi tamamlandı.

### **İmmünohistokimyasal değerlendirme**

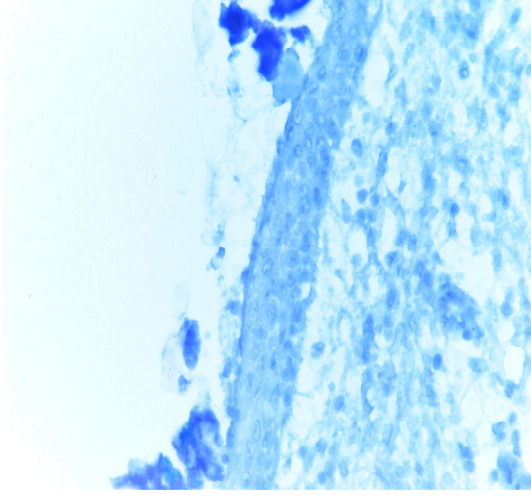
Antikorların boyanma paterni değerlendirilirken tüm kolesteatom dokusu incelenerek 500 hücre sayıldı. Nükleer boyanma gösteren hücrelerin sayısının, toplam hücre sayısına oranı yüzde olarak hesaplandı. %5 in üzerinde boyanma gösteren bloklar pozitif olarak kabul edildi.

### **İstatistiksel İncelemeler**

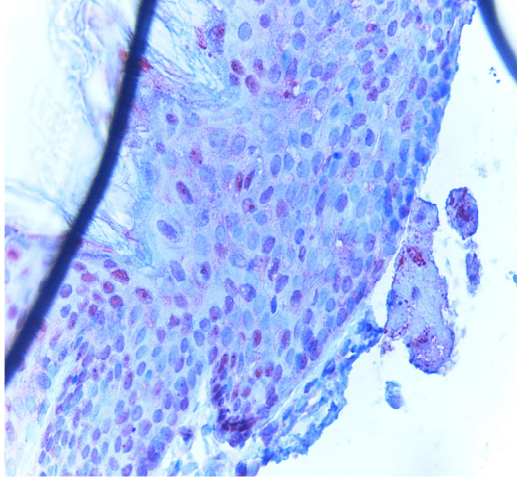
Bireylerden elde edilen verilerin normal dağılıma uygunluk kontrolleri Shapiro Wilk testi ile test edilmiştir. Elde edilen ölçümlerin dağılımı normal dağılıma uymadığından tanımlayıcı istatistik olarak medyan ve yüzdeler verilmiştir. Deriden ve kolesteatomdan alınan patoloji sonuçları kategorik yapıda olduğu için sayı ve yüzdeler hesaplanmıştır. Deri ve kolesteatomda parametrelerin oranları arasında farklılık olup olmadığının testinde ise z testi kullanılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 11.5 ve MedCalc®v11.0.1 paket programı kullanılmıştır.

## BULGULAR

Kolesteatom ve dışkulak yolu derisi (DKY) arasında proliferasyon açısından fark olup olmadığını anlamak için iki dokuda da p27, APC, HIF, Ki-67 ve  $\beta$ -Katenin düzeylerine bakıldı. Kolesteatom ve DKY derisi arasında anlamlı fark yalnızca p27 de gözlemlendi. DKY derisinde, p27 ile değişen oranda pozitif nükleer boyanma izlenirken, kolesteatom olgularında boyanma saptanmadı( Fotograf 1-2). Diğer dört faktörle anlamlı düzeyde boyanma farklılığı bulunamadı.



Fotograf 1. Kolesteatomda p27 boyanması  $\times$  400



Fotograf 2. DKY da p27 boyanması  $\times$  400

Hastaların yaşları 9-89 (27.7±17.7) arasında değişmektedir. Hasta gurubunun %64.3'ünü erkekler, %35.7 sini kadınlar oluşturmakta idi. Hastaların demografik ve klinik bulguları Tablo 1 de belirtildi.

**Tablo 1. Hastaların demografik bulguları**

ADI-SOYADI	YAŞI	BIYOPSİ NO	OPERASYON +İŞİTME REKONSTRİKSİYONU	KOMPLİKASYON
1-E.A	12	6384-09	MRM+ İ.İ.İ.O	Yok
2-Ö.S	28	6393	RM	Sol fasiyal paralizi+Labirent erezyonu
3-T.T	16	7063-09	MRM	Yok
4-M.Ü	69	8241-09	RM	Yok
5-A.K	49	71-10	MRM+Kartilaj ile onarım	Yok
6-S.Ç	20	605-10	TM+TORP	Yok
7-Ö.S	28	1658-10	RM	Yok
8-M.Ü	31	1833-10	MRM+Kartilaj ile onarım	Yok
9-A.K	53	2344-10	TM	Yok
10-S.D	16	2537-10	MRM+TORP	Yok
11-O.B	11	2629-10	TM+TORP	Yok
12-K.G	33	2890-10	MRM +Kartilaj ile onarım	Yok
13-F.Y	27	2929-10	RM	Yok
14-Z.O	19	3674-10	MRM+Kartilaj ile onarım	Yok
15-S.Ö	12	3716-10	RM	Yok
16-E.G	15	4649-10	RM	Yok
17-A.G	36	4708-10	TM	Yok
18-M.P	25	5058-10	MRM+PORP	Yok
19-G.E	35	5842-10	MRM+TORP	Yok
20-N.M	17	6080-10	TM+PORP	Yok
21-A.D	9	6453-10	TM+Çimento ile onarım	Yok

22-Y.P	16	6065-10	TM+TORP	Yok
23-A.O	24	6832-10	MRM+TORP	Yok
24-A.Ç	37	7095-10	MRM	Yok
25-E.E	10	7108-10	RM	Yok
26-E.İ	17	7167-10	TM	Yok
27-V.S	12	7289-10	TM	Yok
28-S.T	89	8133-10	RM	Mastoid apsisi
29-A.S	49	8601-10	RM	Yok
30-Ç.Ç	16	8680-10	MRM+TORP	Yok
31-İ.Y	58	8727-10	MRM+Kartilaj ile onarım	Yok
32-Z.K	28	9592-10	RM	Yok
33-A.T	13	9800-10	RM	Yok
34-Ş.Y	33	4289-10	RM	Labirent erezyonu +Vertigo
35-S.Y	10	9901-10	RM	Yok
36-Z.D	15	550-10	MRM+ İ.İ.İ.O	Yok
37-B.G	12	554-11	RM	Yok
38-G.E	34	1015-11	RM	Yok
39-A.S	58	1160-11	TM	Yok
40-N.Ö	25	1181-11	RM	Yok
41-M.A	14	1622-11	RM	Yok
42-Ö.A	34	1657-11	RM	Yok

**Kısaltmalar:** İ.İ.İ.O: İnkus interpozisyonu ile işitme onarım

Hastalara en sık uygulananan cerrahi operasyon % 42.8 oranında radikal mastoidektomi, İkinci sıklıkta %33.3 oranında modifiye radikal mastoidektomidir. Diğer teknikler Tablo 2' de belirtildi.



**Tablo 2. Hastalara uygulanan cerrahi teknikler**

	ERKEK	KADIN	TOPLAM
Radikal mastoidektomi	11(%26.1)	7(%16.6)	18(%42.8)
Modifiye radikal mastoidektomi	8(%19)	6(%14.2)	14(%33.3)
Timpanomastoidektomi	8 (%19)	2(%4.7)	10(%23.7)
Timpanoplasti	0	0	0
Toplam	27 (%64.3)	15(%35.7)	42(%100)

Hastalara uygulanan operasyon sonrasında iki hastada intraoperatif labirent erezyonu, bir hastada preoperatif fasiyal paralizi ve bir hastada preoperatif postauriküler apse mevcut idi. İntrakranial komplikasyon görülmedi.

Modifiye radikal mastoidektomi ve timpanomastoidektomi uygulanan 24 hastanın 17 sine işitme rekonstrüksiyonu yapıldı. En sık uygulanan rekonstrüksiyon işlemi 6 (%35.2) hastada TORP uygulaması oldu. Tüm rekonstrüksiyon yöntemleri Tablo 3 te belirtildi.

**Tablo 3. İşitme rekonstrüksiyonu yapılan vakalar**

	ERKEK	KADIN	TOPLAM
Kemik çimentosu	1(%5.8)		1(%5.8)
İnkus interpozisyonu	1(%5.8)	1(%5.8)	2(%11.7)
Kartilaj grefti	3(%17.6)	2(%11.7)	5(%29.4)
PORP	1(%5.8)	2(%11.7)	3(%11.7)
TORP	3(%17.6)	3(%17.6)	6(%35.2)
			17(%100)

İstatistiksel inceleme yöntemi aşağıda Tablo 4'de belirtildi.

**Tablo 4. İstatistiksel inceleme**

Adı- soyadı	Yaş	p27- K	p27- D	Apc -K	Apc- D	Hif- 1 -K	Hif- 1-D	$\beta$ - katenin- K	$\beta$ - katenin- D	Ki 67-K	Ki 67-D
1-E.A	12	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1
2-Ö.S	28	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0
3-T.T	16	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
4-M.Ü	69	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
5-A.K	49	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
6-S.Ç	20	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1
7-Ö.S	28	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
8-M.Ü	31	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
9-A.K	53	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
10-S.D	16	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
11-O.B	11	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1
12-K.G	33	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1
13-F.Y	27	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1
14-Z.O	19	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1
15-S.Ö	12	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0
16-E.G	15	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1
17-A.G	36	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
18-M.P	25	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1
19-G.E	35	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
20-N.M	17	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
21-A.D	9	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
22-Y.P	16	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1

23-A.O	24	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1
24-A.Ç	37	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
25-E.E	10	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0
26-E.İ	17	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1
27-V.S	12	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
28-S.T	89	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
29-A.S	49	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
30-Ç.Ç	16	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
31-İ.Y	58	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
32-Z.K	28	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
33-A.T	13	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
34-Ş.Y	33	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
35-S.Y	10	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1
36-Z.D	40	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1
37-B.G	12	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
38-G.E	34	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1
39-A.S	40	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1
40-N.Ö	25	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1
41-M.A	14	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0
42-Ö.A	40	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1

K-Kolesteatom

D-Deride

Hastaların biyoistatistik incelemesinde boyanması %5' in altında olan hastalar "0", %5' in üzerinde olan hastalar "1" olarak belirtildi.

## TARTIŞMA

Bu çalışmada, kolesteatom ve DKY derisinden alınan örnekler beş ayrı proliferasyon faktörü kullanılarak karşılaştırıldı. Kolesteatom ve DKY derisi arasında anlamlı fark yalnızca p27 proliferasyon faktörü düzeyinde gözlemlendi. Kolesteatom dokusunda p27 boyanmasının, DKY derisine göre anlamlı derecede az olduğu görüldü. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ( $p=0.005$ ). Diğer Ki-67, HIF-1,  $\beta$ -Katenin ve APC belirteçleri açısından iki doku arasında anlamlı boyanma farklılığı bulunmadı. Bu durum kolesteatom dokusunda hücre bölünmesinin kontrolsüz olarak devam ettiğini göstermekte olup, aynı zamanda hipoksinin kolesteatom oluşumunda ya da aşırı çoğalmasında bir rolünün olmadığını düşündürmektedir.

Kolesteatom, temporal kemikte sık izlenen orta kulak hastalığıdır. Keratinositlerin kontrolsüz çoğalması, kemik erezyonu ve çevre dokularda destrüksiyon ile sonuçlanan kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Histopatolojik olarak benign olmasına rağmen, klinik olarak yıkıcı bir hastalıktır. Birçok çalışma kolesteatom matrisindeki keratinositlerin proliferasyonu, diferansiyasyonu ve migrasyonunun perimatriks fibroblastlarının aktivasyonu ile olduğunu göstermektedir<sup>36</sup>.

Kolesteatom epidermisinin hiperproliferasyon mekanizmaları ve faktörleri hala net olarak bilinmemektedir. Kolesteatomda epidermal hücrelerin proliferasyonu malign tümörlerde olduğu gibi kontrolsüz değildir. Kolesteatom epidermisinde hiperproliferasyona rağmen hücreler hala apoptotik hücre ölümü yeteneğine sahiptirler. İmmunhistokimyasal çalışmalar PCNA' nın (Proliferation cell nuclear antigen) monoklonal antikoları ile dış kulak yolu derisinde sadece bazal tabakada boyanma görülürken, kolesteatom dokusunda suprabazal tabakalarda da boyanmanın olduğu gösterilmektedir.<sup>37</sup>

Erişkin ve çocuk hastalarda kolesteatom morbiditeye neden olan önemli bir hastalıktır. Kronik otitis mediada kronik enflamasyon sonucu orta kulak ve timpanik membranda hiperproliferatif değişiklikler izlenir. Bazı çalışmalarda kronik otit seyrindeki orta kulak epitelinde olan proliferasyon ve diferensiyasyonda büyüme faktörlerinin rolü olduğu düşünülmektedir <sup>38</sup>.

Erken evre kolesteatomda timpanik membranda (TM) histopatolojik olarak birtakım değişimler meydana gelmektedir. Deneysel kolesteatom oluşturulan bir hayvan çalışmasında TM' in bütün bölgelerinde kontrol grubuna göre yoğunluk ve kalınlık artışı olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, keratin üretiminde ve hücre tabakalarının sayısında da artış olduğu bildirilmektedir. Proliferasyon artışı ve belirgin kalınlaşma her kolesteatom dokusunda bulunmaktadır. Fibröz tabakanın kalınlaşmasında kollajen fibril liflerinin artışı ve az miktarda ödemin olduğu ileri sürülmektedir <sup>39</sup>.

Kronik otitis medialı hastalarda timpanik membran ve orta kulak patolojileri çoğunlukla birlikte dir. Fakat timpanik membran patolojisinin yokluğu, orta kulak patolojisinin olmadığı anlamına gelmemektedir. Yapılan bir postmortem temporal kemik çalışmasında; Timpanik membran ve orta kulak patolojileri karşılaştırılmaktadır.

Miringoskeroz ve granülasyon dokusu, miringoskeroz ve ossiküler patoloji, retraksiyon ve kolesterol granülomu, retraksiyon ve kolesteatom, retraksiyon ve ossiküler patoloji, perforasyon ve ossiküler patoloji ilişkili bulunmuştur. Kulak zarında patoloji olması orta kulakta patoloji olabileceğini göstermesine karşın, orta kulak patolojilerinin sadece yarısında kulak zarında bulgular görülmektedir. Yani sadece otoskopinin normal olması orta kulak patolojisinin olmadığı anlamına gelmemektedir. Ek olarak odyo-timpanometri, görüntüleme yöntemleri ve otoakustik emisyon testleri gerekliliğini bildirmektedir <sup>40</sup>.

Epidermis hızlı proliferasyon ve deskuamasyon olan stratifiye skuamöz epiteldir. Keratinositler epidermal hücrelerin %95' inden fazlasını oluşturur. Normal deri ile karşılaştırıldığında, kolesteatomda bazal ve suprabazal tabakalardaki keratinositlerde artmış proliferasyon mevcuttur. Normal deride bazal tabakadaki keratinositlerin, yüzeysel spinöz tabakaya göç etmeleri sırasında, stratifiye

epidermis içinde çoğalma yeteneklerini kayb ettikleri gösterilmektedir. Buna karşın kolesteatomda, bazal ve suprabazal tabakalarda hücre gruplarının yüksek oranda proliferere olma yeteneğine sahip olması ve bu çoğalmanın genetik olarak yatkınlık göstermemesi en büyük özelliğidir<sup>41,42</sup>.

Kolesteatom histopatogenezi hala tam olarak anlaşılamamaktadır. Bu konu hakkında yapılan araştırmalar sırasında çeşitli faktörler üzerinde çalışılmıştır. İnflamatuar parametreler için; interlökinler, büyüme faktörleri(TGF-alfa, EGF vb.), mitotik faktörler olarak Ki-67 (MIB1), PCNA, p27(KİP1), p21, p53, aktif caspase 3, kollejen 4, epitelyal marker olarak; filagrin, sitokeratin, Erb-2, EMA, araştırılmıştır. Sarkolektin, Galektin-3, HSP 60-70, fas/APO1 protein, Annexin II gibi moleküler düzeyde oluşan değişimler ve bunların etkileri kolesteatomda araştırılmaktadır.

Bu hastalık cerrahi olarak tedavi edilmesine rağmen, rekürrens özelliği göstermesi klinik açıdan günümüzde hala bir takım sorunlar yaratmaktadır. Bu konu hakkında yapılan çalışmalarda çeşitli immünolojik parametrelere bakılarak kolesteatom patogenezi hakkında bilgi edinilmeye çalışılmaktadır<sup>43</sup>.

Kolesteatomdaki apoptotik hücre miktarı, bu hücrelerin dağılım şekli (homojen-heterojen) ve kalsisiklin pozitif hücre yüzdesi; rekürrent kolesteatomu, non-rekürrent kolesteatomdan ayırmada kullanılabileceği literatürde bildirilmektedir. Kalsisiklin arttığı durumlarda apoptozun ve proliferasyonun azaldığı saptanmaktadır. Rekürrens olan vakalarda kalsisiklin düzeyinde azalma, apoptotik hücre sayısında artış saptanmaktadır<sup>44</sup>.

Hücre siklusunun kontrolünde p53 tümör süpresör geni kritik düzenleyici rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada kolesteatomda, normal cilde göre anlamlı düzeyde p53 artışı olurken, Ki-67 de anlamlı bir artış olmamaktadır. Böylece p53'ün hücre siklusuna bağlanmasında sorun olduğu sonucuna varılmaktadır<sup>45</sup>.

Yapılan çalışmalarda Tümör nekrozis faktör-alfa (TNF) kolesteatom epitelinde tespit edilmektedir. İn vitro TNF-alfa bazal keratinositlerde proliferasyon, protein sentezi ve terminal farklılaşmayı stümüle ettiği bildirilmektedir. Bu bulgular TNF-alfanın kolesteatom gelişiminde önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır<sup>46</sup>.

Granülasyon dokusu ve kolesteatomda proliferasyon aktivitesi ve apoptozisin araştırılmasında PCNA pozitif hücre oranı kolesteatomda %42-95,

granülasyon dokusunda % 35-75 olarak saptanmaktadır. TUNEL methodu ile bakılan apoptozis oranı ise kolesteatomda %12–73, granülasyon dokusunda %1–65 olarak saptanmaktadır. Her iki dokuda proliferasyonun ve apoptozisin arttığı sonucuna varılmaktadır<sup>47</sup>.

Siklin ve siklin bağımlı kinaz kompleksinin (CDK) hücre döngüsünün ilerlemesinde önemli rolleri vardır. Bu kompleks özellikle p27(kip1) olan CDK inhibitörleri tarafından inhibe edilmektedir. Sung ve ark. nın yaptığı çalışmada p27 ve Ki- 67 proliferasyon markırı olarak kolesteatom ve dış kulak yolu derisinde araştırılmaktadır. Ki–67 ile boyanan hücreler bazal ve suprabazal tabakada olmasına rağmen, p27 ile boyanan hücreler daha üst tabakalarda izlenmektedir. Kolesteatomda izlenen aşırı çoğalmaya rağmen p27(kip1) ile çoğalmanın durması buradaki çoğalmanın kontrollü olduğunu göstermektedir. Bu gösterge kolesteatomdaki çoğalmanın malign tümörlerdeki kontrolsüz hücre çoğalmasından farklı olduğunu göstermektedir<sup>48</sup>.

Meme kanserli hastalarda yapılan çalışmalarda p27 nin birçok vakada anlamlı derecede düştüğünü, agresif karsinomlarda düşük olan siklin D1 ve östrojen reseptör düzeyleri ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Meme kanserinin yanında lenfoma, akciğer, kolon, yumurtalık ve prostat karsinomlarında p27 önemli bir prognostik faktördür<sup>49</sup>.

Beyazıt ve ark. nın yaptığı çalışmada kolesteatom dokusunda p27 düzeyinin anlamlı olarak azaldığını göstermektedir. Kontrol kulak derisinde ise normal sınırlarda kalmaktadır. Bu nedenle, kolesteatomdaki hücre siklus kontrolünün kaybına, epiteldeki hiperproliferasyon yeteneğinde artışın neden olabileceği öne sürülmektedir.<sup>50</sup>

Şiddetli enflamatuar reaksiyon olduğu durumlarda, subepitelyal inflamatuvar hücreler çeşitli sitokinler üreterek epitelyal hücrelerin çoğalmasını arttırlar. İnflamatuar reaksiyonlar ve sitokinler, p27 aktivitesini direkt veya indirekt inhibisyon yolu ile tetiklediği düşünülebilir. P27' nin azalması, koinsidental olarak IL-2'nin yüksek düzeyleri ile ilişkilidir. Endojen IL-2 ekspresyonunu; p27 ve p21 'in regüle edilmesinde önemli rol oynamaktadır. Tümör hücreleri hücre siklusu progresyonunu CDK inhibitörlerinden bağımsız bir şekilde sürdürürler<sup>51</sup>.

Monoklonal Ki-67 antikorunu, çoğalan tümör hücre çekirdeklerinde ve keratinositlerin stoplazmalarında saptanan bir göstergedir. Epitelin yüzeysel tabakalarında Ki-67 boyanması olmaz iken, zarın derin epitelyal tabakalarda Ki-67 boyanması olmaktadır. Bu kolesteatomun sitokinler tarafından stümüle edilen epitelin derin katmanlarından geliştiğini göstermektedir. Hücre çoğalmasının morfolojik özelliklerini iyi şekilde gösteren bir protein olup, mitotik index ve tümör derecelendirmesinde sıklıkla kullanılır<sup>52</sup>.

Ki-67 proliferatif marker olarak Kulak Burun Boğaz alanında da kullanılmaktadır. Nazal poliplerin Ki-67 ile çalışılması sonucu reküren poliplerin, non-reküren polipler ile karşılaştırılmasında Ki-67 ile bakılan proliferatif aktivitenin anlamlı olarak reküren poliplerde fazla olduğu gösterilmektedir<sup>53</sup>.

KBB dışında Ki-67' nin prognostik faktör olarak kullanılabildiğini gösteren çeşitli araştırmalar mevcuttur. Renal hücreli kanserlerde, klasik prognostik faktörler olan stage, grade, nodal tutulum, metastaz oranı göz önünde bulundurulduğunda; Ki-67 ve karbonik anhidraz IX un önemli bir prognostik değeri olduğu bildirilmektedir<sup>54</sup>.

Normal epitel ile karşılaştırıldığı zaman kolesteatom dokusunun artmış proliferasyon varlığı yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmektedir. Konnektif dokudaki inflamatuvar sitokinlerin kolesteatom keratinositlerindeki anormal proliferasyondan sorumlu olduğu bildirilmektedir. Kolesteatom keratinositlerinin, hiperproliferatif karakteri ve farklılaşmasındaki değişiklikler normal deriye göre anlamlı oranda arttığı nükleer antijen olan MIB-1 (Ki-67) nin monoklonal antikoları ile tesbit edilmektedir<sup>55</sup>.

Mallet ve ark., çalışmalarında Ki-67 'nin; ciddi kemik erozyonu ile major komplikasyonlara yol açan, kolesteatom dokusu ile daha agresif davranış içinde olduğu bilinen, çocuk kolesteatomlarında daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Çocukluk çağındaki kolesteatomların, erişkinlere göre daha agresif ve tehlikeli seyretmesinin nedenlerinden birinin, kolesteatom matriksinde hiperproliferasyon aktivitesi olduğu ileri sürülmektedir.<sup>56</sup>

Yapılan çalışmalarda kolesteatoma örneklerinin %66' sında perimatrix de aktif enflamasyon saptanmıştır. MIB-1, TGF-alfa ve EGFR kolesteatomada normal



dış kulak yolu cildine göre çeşitli düzeylerde artmış olarak saptanmıştır. İnflamasyon keratinosit proliferasyonunu artırmaktadır <sup>57</sup>.

Çocukluk kolesteatomları ile erişkin kolesteatomların Ki-67 (MIB-1) indeksi açısından karşılaştırılan bir çalışmada çocuk kolesteatomlarının erişkinlere göre anlamlı derecede destrüktif ve proliferatif aktivitesinin fazla olduğu saptanmaktadır <sup>58</sup>.

Baş boyun kanserlerinde yapılan moleküler çalışmalar, yüksek oranda proliferating cell nuclear antigen (PCNA) ve Ki-67 boyanması gösteren hücrelerinin bulunmasının, tümörün metastaz yapma ihtimalini arttırdığını göstermektedir. Böylece preoperatif biyopsilerde PCNA ve Ki-67 bakılması, T evresi ve boyun muaynesi tümörün boyun metastazı yapma riski açısından yol gösterici olduğu bildirilmektedir <sup>59</sup>.

Ayrıca meme tümörlerinde Ki-67 artışı tespiti, prognoz ile yakın ilişki içindedir. Örneğin endometrium kanserinde Ki-67 (ve PCNA) immunoreaktivitesi ile östrojen-progesteron ekspresyonu arasında çok güçlü ama zıt yönde bir ilişki olduğu bildirilmektedir. Diğer yandan proliferasyon oranı ile p53 geni anomalileri arasında aynı yönde güçlü bir ilişki bulunduğu, bunun yanında meme, prostat, kolon, akciğer, karaciğer ve gastrik karsinomlarda, kolesteatom dokusunda, bazı lenfoma ve sarkomalarda olduğu gibi artmış proliferasyonu olduğu ve bu vakalarda Ki-67 veya PCNA kullanılmak suretiyle yapılan immünohistokimyasal yöntemlerle kolayca tanı konulabildiği ve prognoz hakkında fikir sahibi olunabildiği bilinmektedir. Thymidine işaretleme veya flow sitometri gibi değişik metodlarla, özellikle küçük tümörlerde, proliferen olan hücrelerin benign veya malign olup olmadıkları birbirlerinden ayırt edilememektedir. Bununla beraber, hücre proliferasyon proteinleriyle yapılan analizlerde bu ayırımın yapılabilmesi en büyük avantajlardan biri olarak kabul edilmektedir <sup>31-60</sup>.

Kolesteatomdaki dış kulak yolu epitelinin attik bölgeye göçü intraselüler bağlantılardaki kalıcı kırılmalar sonrasında olmaktadır. Bu E-kaderin-beta-katenin kompleksindeki defektlerden kaynaklandığı düşünülmektedir yapılan araştırmalarda dış kulak yolu epitelinde beta-kateninde ve moleküler değişikliklerin olduğu sonucuna

varılmaktadır. Böylece keratinositlerdeki deskuamasyon ve ölen keratinositlerin toplanarak kolesteatom patogenezinde rol aldığı sonucuna varılmaktadır <sup>61</sup>.

Eksternal kulak kanalı kolestratomlarında (EACC) dış kulak yolunun (DKY) kemik kısmında kronik inflamasyon mevcuttur. Cerrahi sonrası konservatif yöntemler olarak özellikle apoptozis farklı kolesteatom olgularında araştırılmaktadır. Yapılan bir hücre kültürü çalışmasında pro-apoptotik bir ilaç olan sulindakin hücreler arası adezyonda görevli beta katenini fosforilleyerek apoptozisi artırdığı gösterilmiştir. Sulindak ile inkübe edilen hücre kültüründe beta katenin miktarının azaldığı ve cerrahi uygulanamayan kolesteatom vakalarında lokal tedavi olarak kullanılabileceği sonucuna varılmaktadır <sup>62</sup>.

Beta-katenin hücre bütünlüğünün sağlanmasında önemli role sahip bir proteindir. Transforming growth faktör beta (TGF- $\beta$ ) meme epitelinde beta katenini azaltığından faydalanılarak yapılan kolesteatomun hücre kültürü çalışmasında hücre duvarında beta kateninin aktivitesinin artarken, intraselüler bölgede değişmediğini göstermektedir <sup>63</sup>.

Önceki çalışmalarda kolesteatom epitelinde minimal apoptozisin olduğu ve mitojen aktive protein kinaz (MAPK) kompleksinin apoptozis karşıtı olarak epitel hücrelerinde aktivitesi olduğu gösterilmektedir. MAPK kompleksi kolesteatom epitelinde keratinositlerin en son farklılaşmasıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir. Yapılan 50 hastalık kolesteatom çalışmasında MAPK, Fosforile p38, involucrin ve pAkt/PKB aktivitesinde kontrol gurubuna göre artış olurken, filaggrin ekspresyonunda anlamlı azalma olduğu bildirilmektedir <sup>64</sup>.

Önceki çalışmalarda kolesteatom epitelinde MAPK nin, p21 ekspresyonunu indüklediği ve hücre siklusunun p53 bağımlı mekanizmalarla durduğunu göstermektedir. 18 vakalık kolesteatom çalışmasında p21 ve MAPK ekspresyonunun yüksek olduğu, aralarında pozitif korelasyon olduğu sonucuna varılmaktadır. (p =0.013) <sup>65</sup>

Kolesteatom dokusunda hipoksi inducible faktör ve von hippel lindau proteini araştırmasında normal cilt dokusuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde boyanma göstermektedir. Bu araştırmanın sonucunda kolesteatom patogenezinde

hipoksinin önemli bir rol oynadığını özellikle tekrarlayan kolesteatom vakalarında daha fazla boyanma olduğunu göstermektedir <sup>66</sup>.

Hipoksi-inducible factor (HIF1- $\alpha$ )' ün kolorektal kanserlerin gelişiminde rol oynayı düşünülerek yapılan bir çalışmada 32 hastanın tümörlü dokusu üzerinde HIF1- $\alpha$  and Survivin'in aşırı eksprese olduğu görülmektedir. <sup>67</sup>.

Meme kanserli hücrelerinin hipoksik ortamda yapılan kültüründe normoksik üretilen kültürde HIF-1  $\alpha$  nın normal seviyede olduğu görülürken, hipoksik ortamda üretilen kültürde HIF-1 nın aşırı eksprese olduğu ve invaziv ve göç edici davranış sergilediği görülmektedir. Sonuçta kanser tedavisinde HIF-1 nın kullanılabileceği önerilmiştir. HIF-1 $\alpha$  and HIF-2 $\alpha$  protein seviyeleri tümörün içerisinde artarak birçok tümör supresör genin fonksiyonunda azalmaya neden olmaktadır <sup>68,69</sup>.

Hipoksi-inducible factor (HIF1- $\alpha$ )' ün psoriatik lezyondaki keratinositlerde aşırı eksprese edildiği gösterilmektedir <sup>70</sup>.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Kolesteatom dokusunda aşırı çoğalma olmasına karşın kontrollü hücre ölümü devam etmektedir. Hücre adezyon molekülleri açısından DKY derisi ile kolesteatom arasında farklılık görülmemektedir. Ayrıca, hipoksinin kolesteatom oluşumunda etkisi bulunmamaktadır. Sonuç olarak aşırı çoğalmayı tetikleyen mekanizmanın, hücrelerarası sinyalizasyon sisteminden de kaynaklandığı ve bu konuda araştırmaların yapılmasının yararlı olabileceği kanısındayız.

## KAYNAKLAR

- 1- Olszewska E, Wagner M, Bernal-Sprekelsen M, et all. Etiopathogenesis of cholesteatoma. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2004 Jan;261(1):6–24.
- 2-Albino AP, Kimmelman CP, Parisier SC. Cholesteatoma: Amolecular and cellular puzzle. Am J Otol 1998;19: 7–19
- 3- Bernal Sprekelsen M, Ebmeyer J, Buchbinder A, Sudhoff H. Comperative analysis of the proliferative capacity of cholesteatomas. Acta Otorinolaringol Esp 2000; 51: 299–07
- 4- Soldati D, Mudry A. Knowledge about cholesteatoma, from the first description to the modern histopathology. Otol Neurotol. 2001;22(6):723–30.
- 5- Zanet J, Freije A, Ruiz M. Mitosis Block Links Active Cell Cycle with Human Epidermal Differentiation and Results in Endoreplication. PLoS One. 2010 Dec 20;5(12):e15701
- 6- Akyıldız N.Kulak hastalıkları ve mikrocerrahisi. 2.baskı. Ankara: Bilimsel tıp yayınevi.1998 p:337–354
- 7- Vermeulen K, Van Bockstaele DR, Berneman ZN. The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. Cell Prolif. 2003;36.131-49.Review
- 8- Ballenger JJ: Otolarinjoloji Baş ve Boyun cerrahisi: Nobel tıp kitapevi. p:1010–1054
- 9- Glasscock ME, Shambaugh CE: Surgery of the Ear, 2003 BC Decker Inc. Fifth edition. p:422–547
- 10- Cummings Otolaryngology Head & Neck Surgery 2010, Fifth edition. p:2630–2678
- 11- Brackmann DE, Arriaga MA. Otologic Surgery 2010:By Saunders. P:173–195

- 12-** Tos M: Incidence, etiology and pathogenesis of cholesteatoma in children. *Adv Otorhinolaryngol* 1988; 40: 110–117
- 13-** Da Costa SS, Paparella MM, Schachern PA, et al: Temporal bone histopathology in chronically infected ears with intact and perforated tympanic membranes. *Laryngoscope* 1992; 102:1229–1236
- 14-** Lee ST. Cholesteatoma in an Asian population. *Acta Otolaryngol.* 1991; 111(3): 536–41
- 15-** Nelson M, Roger G, Koltai PJ, et all. Congenital cholesteatoma: classification, management, and outcome. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002;128(7):810–4
- 16-** Potsic WP, Samadi DS, Marsh RR, Wetmore RF. A staging system for congenital cholesteatoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002;128(9):1009–12
- 17-** Dornelles C, Costa SS, Meurer L. Correlation of cholesteatomas perimatrix thickness with patient's age. *Rev Bras Otorrinolaringol.* nov./dec. 2005. n.6, p:792–7
- 18-** Dornelles C, Costa SS, Meurer L. Histologic description of acquired cholesteatomas: comparison between children and adults. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2006;72(5):641–8
- 19-** Nicoletta M. Pop F. Morphological considerations about middle ear cholesteatoma. *Romanian Journal of Morphology and Embryology* 2006, 47(1):73–77
- 20-** Huisman MA, Berckmans RJ, Sturk A, Van LJ, Grote JJ. Lipopolysaccharide Concentration and Bone Resorption in Cholesteatoma. *Otology & Neurotology* 2003;24: 709–713
- 21-** Lee JW, Iwahashi A, Hasegawa SI. et all. Coptisine inhibits RANKL-induced NF-κB phosphorylation in osteoclast precursors and suppresses function through the regulation of RANKL and OPG gene expression in osteoblastic cells. *J Nat Med.* 2011 Jun 9

- 22-** Akyıldız N.Kulak hastalıkları ve mikrocerrahisi.2.baskı. Ankara: Bilimsel tıp yayınevi.1998., p:354-419
- 23-** Türk Otorinolarenoloji Baş Boyun Cerrahisi Derneği. Otoloji-Nörootoloji Çalışma Grubu 2005 Otitis Media Raporu
- 24-** Yeo SW, Kim SW, Chang KH, Suh BD. The clinical evaluations of pathophysiology for congenital middle ear cholesteatoma. Am J Otolaryngol. 2001;22(3):184–9
- 25-** Litman RS, Smouha E, Sher WH, Shangold LM. Two cases of bilateral congenital cholesteatoma--usual and unusual presentations. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 1996;36 (3):241–52
- 26-** Braganza RA, Kearns DB. Bilateral congenital cholesteatomas. Am J Otol. 1993;14 (2):191–3.
- 27-** Potsic WP, Korman SB, Samadi DS, et al: Congenital cholesteatoma: 20 years' experience at The Children's Hospital of Philadelphia. Otolaryngol Head Neck Surg 2002; 126:409–414
- 28-** Marchioni D, Grammatica A, Alicandri-Ciuffelli M. Et all. The contribution of selective dysventilation to attic middle ear pathology. Med Hypotheses. 2011 Apr 8 p:32–35
- 29-** Chiarle R, Pagano M, Inghirami G. The cyclin dependent kinase inhibitor p27 and its prognostic role in breast cancer. Breast Cancer Res 2001, 3: 91–94
- 30-** Dale G. Nagle and Yu-Dong Zhou. Natural Product-Derived Small Molecule Activators of Hypoxia- Inducible Factor–1 (HIF–1). Curr Pharm Des. 2006; 12(21): 2673–2688.
- 31-** Duchrow M, Gerdes J, Schluter C. The proliferation-associated Ki–67 protein: definition in molecular terms. Cell Prolif. 1994 May;27: 235–42
- 32-** Aberle H, Schwartz H, Kemler R. Cadherin-catenin complex: protein interactions and their implications for cadherin function. J Cell Biochem. 1996 Jun 15;61(4): 514– 23
- 33-** Karabacak T, Egilmez R. Memenin intraduktal ve infiltratif duktal karsinomlarında  $\beta$ -katenin ekspresyonu. Uzmanlık tezi. Mersin: 2004: 30-35

- 34-** Faux MC, Coates JL, Kershaw NJ, Layton MJ, Burgess AW. Independent interactions of phosphorylated  $\beta$ -catenin with E-cadherin at cell-cell contacts and APC at cell protrusions. *PLoS One*. 2010 Nov 30;5(11):e14127
- 35-** Randall TM, Aimee DK, Giancarlo V. WNT and -catenin signalling: diseases and therapies. *Nature Reviews Genetics* 5, 691–701
- 36-** Jahnke K, Sudhoff H, Hildmann H, et al. *Middle Ear Surgery*. Stuttgart • New York 2004; 76–77
- 37-** Kojima H, Tanaka Y, Tanaka T, et al. Cell proliferation and apoptosis in human middle ear cholesteatoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998;124:261–264
- 38-** Palacios SD, Oehl HJ, Rivkin AZ, Aletsee C, Pak K, Ryan AF. Growth factors influence growth and differentiation of the middle ear mucosa. *Laryngoscope* 2001 May; 111:874–80
- 39-** Larsson C, Von Unge M, Bagger-Sjoberg D. Tympanic membrane changes in experimental cholesteatoma in the gerbil. *Am J Otol* 1999 May;20(3):309–16
- 40-** Jaisinghani VJ, Paparella MM, Schachern PA, Le CT. Tympanic Membrane/Middle Ear Pathologic Correlates in Chronic Otitis Media. *Laryngoscope* 1999;109:712–716
- 41-** Bujda J, Schilling V, Holly A, et al. Hyperproliferation associated keratin expression in human middle ear cholesteatoma. *Acta Otolaryngol* 1993;113:364–368
- 42-** Watt FM. Terminal differentiation of epidermal keratinocytes. *Curr Opin Cell Biol* 1989; 1: 1107–1115
- 43-** Vayısoğlu Y, Ünal M. Kolesteatom. *KBB forum dergisi*. 2006;5(2)
- 44-** Choufani G, Mahillon V, Decaestecker C, et al. Determination of the levels of expression of sarcolectin and calyculin and of the percentages of apoptotic but not proliferating cells to enable distinction between recurrent and nonrecurrent cholesteatoma. *Laryngoscope* 1999; 109:1825–1831.
- 45-** Albino AP, Reed JA, Bogdany JK, Sassoon J, Desloge RB, Parisier SC. Expression of p53 protein in human middle ear cholesteatomas: pathogenetic implications. *Am J Otol*. 1998 Jan;19(1):30–6



- 46-** Yan S, Huang C. Tumor necrosis factor alpha in middle ear cholesteatoma and its effect on keratinocytes in vitro. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1991;100:157–161
- 47-** Durko M, Kaczmarczyk D. Proliferation activity and apoptosis in granulation tissue and cholesteatoma in middle ear reoperations. *Folia Morphol (Warsz)*. 2004 Feb;63(1):119–21
- 48-** Chae SW, Song JJ, Suh HK, et al. Expression Patterns of p27 Kip1 and Ki-67 in Cholesteatoma Epithelium. *Laryngoscope* 2000; 110:1898–1901
- 49-** Chiarle R, Pagano, Inghirami G. The cyclin dependent kinase inhibitor p27 and its prognostic role in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2001;3:91–94
- 50-** Bayazit YA, Karakok M, Ucak R, Kanlikama M. Cyclindependent kinase inhibitor, p27 (KIP1), is associated with cholesteatoma. *Laryngoscope* 2001;111(6): 1037–41
- 51-** Reichert TE, Nagashima S, Kashii Y, et al. Interleukin-2 expression in human carcinoma cell lines and its role in cell cycle progression. *Oncogene* 2000;27:514–52
- 52-** Mayot D, Bene MC, Perrin C, Faure GC. Restricted expression of Ki-67 in cholesteatoma epithelium. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1993;119:656–658
- 53-** Kösem M, Bulut G, Kaya Z. Analysis of Ki-67 immunoreactivity in recurring and nonrecurring nasal polyps. *J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010 Aug;39(4):464–7
- 54-** Bui MHT, Visapaa H, Seligson D, Kim H, Han K, Huang Y et al. Prognostic value of carbonic anhydrase IX and Ki67 as predictors of survival for renal clear cell carcinoma. *Juornal of Urology* 2004;171:2461–2466
- 55-** Sudhoff H, Bujía J, Fisseler-Eckhoff A, et al. Expression of a cell-cycle-associated nuclear antigen (MIB1) in cholesteatoma and auditory meatal skin. *Laryngoscope* 1995;105:1227–31
- 56-** Mallet Y, Nouwen J, Lecomte-Houcke M, Desaulty A. Aggressiveness and Quantification of Epithelial Proliferation of Middle Ear Cholesteatoma by MIB1. *Laryngoscope* 2003;113:328–331
- 57-** Adamczyk M, Sudhoff H, Jahnke K. Immunohistochemical Investigations on External Auditory Canal Cholesteatomas. *Otology & Neurotology* 2003;24: 705–708

- 58-** Bujia J, Holly A, Antoli-Candela F, Guzman Tapia M, Kastenbauer E. Immunobiological peculiarities of cholesteatoma in children: Quantification of epithelial proliferation by MIB1. *Laryngoscope* 1996;106:865–868
- 59-** Liu M, Lawson G, Delos M, Jamart J, Ide C, Coche E. et al. Predictive value of the fraction of cancer cells immunolabelled for proliferating cell nuclear antigen or Ki67 in biopsies of head and neck carcinomas to identify lymph node metastasis: comparison with clinical and radiologic examinations. *Head & Neck* 2003:280–288
- 60-** Koda M, Sulkowski S, Kanczuga-Koda L, Surmacz E, Sulkowska M. Expression of ERalpha, ERbeta and Ki-67 in primary tumors and lymph node metastases in breast cancer. *Oncol Rep.* 2004;11:753–9
- 61-** Naim R, Riedel F, Bran G, Hörmann K. Expression of beta-catenin in external auditory canal cholesteatoma (EACC). *Biofactors.* 2003;19(3–4):189–95.
- 62-** Sauter A, Matharu R, Braun T. et al. Sulindac sulfone modulates beta-catenin in human cholesteatoma cell culture. *Arch Med Res.* 2007 May;38(4):367–71.
- 63-** Naim R, Chang RC, Anders C. et al. Up-regulation of beta-catenin in external auditory canal cholesteatoma. *Int J Mol Med.* 2005 May;15(5):801-4.
- 64-** Huisman MA, De Heer E, Grote JJ. Survival signaling and terminal differentiation in cholesteatoma epithelium. *Acta Otolaryngol.* 2007 Apr; 127(4): 424–9
- 65-** Huisman MA, De Heer E, Grote JJ. Sustained extracellular signal-regulated kinase1/2 mitogen-activated protein kinase signalling is related to increased p21 expression in cholesteatoma epithelium. *Acta Otolaryngol.* 2005 Feb;125(2):134–40
- 66-** Adunka O, Gstoettner W, Knecht R. et al. Expression of hypoxia inducible factor 1 alpha and Von Hippel Lindau protein in human middle ear cholesteatoma. *Laryngoscope.* 2003 Jul;113(7):1210–5
- 67-** Wu XY, Fu ZX, Wang XH. Effect of hypoxia-inducible factor 1- $\alpha$  on Survivin in colorectal cancer. *Mol Med Report.* 2010 May-Jun;3(3):409–15.
- 68-** Wang F, Chang MM, Zhao J, Jiang LL, Shi YH. Impact of hypoxia-inducible factor-1 on tumor invasion and metastasis in breast cancer. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2011 Feb;40(2):99–103

**69-** Gregg LS. Defining the Role of Hypoxia-Inducible Factor 1 in Cancer Biology and Therapeutics. *Oncogene*. 2010 February 4; 29(5): 625–634

**70-** Ioannou M, Sourli F, Mylonis I. et al. Increased HIF-1 alpha immunostaining in psoriasis compared to psoriasiform dermatitides. *J Cutan Pathol*. 2009 Dec;36 (12) :1255–61.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

TP:	Timpanoplasti
TM:	Timpanomastoidektomi
MRM:	Modifiye radikal mastoidektomi
RM:	Radikal mastoidektomi
PORP:	Parsiyel ossiküler rekonstriksiyon protezi
TORP:	Total ossiküler rekonstriksiyon protezi
KOM:	Kronik otitis media
AOM:	Akut otitis media
EOM:	Efüzyonlu otitis media
LPS:	Lipopolisakkarit
DKY:	Dış kulak yolu
RP:	Retraksiyon poşu
BT:	Bilgisayarlı tomografi
ICWT:	İntact canal Wall Technic
TAA:	Transkanal anterior attikotomi
CDK:	Siklin bağımlı kinaz
HIF-1:	Hipoksi ile indüklenen faktör
APC:	Adenomatöz polipoizis koli
GSK 3-β:	Glikojen sentaz kinaz 3-β
PBS:	Phosphate buffer saline
HRP:	Horse Radish Peroksidaz
İ.İ.İ.O:	İnkus interpozisyonu ile işitme onarım
PCNA :	Proliferation cell nuclear antigen
TNF:	Tümör nekrozis faktör-alfa
EACC :	Eksternal kulak kanalı kolestratomu
MAPK:	Mitojen aktive protein kinaz
HIF-1:	Hipoksi-inducible factör

## ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekil 1: Hücre siklusu

Şekil 2:  $\beta$ -katenin/ APC kompleksi

Şekil 3: İmbalance of APC and beta catenin

Fotograf 1: Kolesteatomda p27 boyanması  $\times$  400

Fotograf 2: DKY da 27 boyanması  $\times$  400

## **TABLULAR DİZİNİ**

Tablo 1. Hastaların demografik bulguları

Tablo 2. Hastalara uygulanan cerrahi teknikler

Tablo 3. İşitme rekonstrüksiyonu yapılan vakalar

Tablo 4. İstatistiksel inceleme