



**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
ANKARA İLİ 1. BÖLGE KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ GENEL
SEKRETERLİĞİ
ANKARA EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
KULAK BURUN BOĞAZ KLİNİĞİ**

Klinik Eğitim Sorumlusu: Doç. Dr. Hatice ÇELİK

**İNTRATİMPANİK TACROLİMUS UYGULAMASININ
DENEYSEL KOLESTEATOM GELİŞİMİNE ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Gülay AKTAR UĞURLU

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Zeynep KIZILKAYA KAPTAN

ANKARA

2017



**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
ANKARA İLİ 1. BÖLGE KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ GENEL
SEKRETERLİĞİ
ANKARA EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
KULAK BURUN BOĞAZ KLİNİĞİ**

Klinik Eğitim Sorumlusu: Doç. Dr. Hatice ÇELİK

**İNTRATİMPANİK TACROLİMUS UYGULAMASININ
DENEYSEL KOLESTEATOM GELİŞİMİNE ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Gülay AKTAR UĞURLU

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Zeynep KIZILKAYA KAPTAN

ANKARA

2017

ÖNSÖZ

Asistanlığımın ilk 2 yılında birlikte çalışma onuruna nail olduğum emekli hocam Sayın Op. Dr. Ethem Erdal Samim'e;

Asistanlığım boyunca bilgi ve deneyimlerinin yanı sıra insani olarak da her türlü desteklerini gösteren sayın hocalarım Doç. Dr. Hatice Karadaş, Doç. Dr. Zeynep Kaptan, Doç. Dr. Necmi Arslan, Doç. Dr. Sevim Aslan Felek, Doç.Dr. Hatice Çelik Doç.Dr.Emine Aydın ve Doç. Dr. Arzu Tüzüner'e;

Enerjisi ve bilgisiyle beni ve tüm asistan arkadaşlarımı her zaman motive etmeyi başaran Op. Dr. İlker Akyıldız'a;

Asistanlık eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen kliniğimizin değerli uzman doktorlarına;

Her zorluğu bir olup aştığımız ve çok güzel günler geçirdiğimiz çok değerli asistan arkadaşlarıma;

İşlerimizi her daim kolaylaştıran tüm poliklinik,odioloji,ameliyathane ve servis hemşire ve personellerimize;

Dostluğumuzun 20. yılını doldurduğumuz hayatımızın her aşamasında birbirimize desteğimizi esirgemediğimiz çok değerli dostum İrem Güler Özgür'e;

Bugünlere gelmemi sağlayan,desteklerini her zaman hissettiren çok değerli Aileme;

Ve beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan hep yanımda olan sevgili eşim Burak Numan'a

En içten şükranlarımı sunuyorum.

Dr. Gülay AKTAR UĞURLU

ANKARA, 2017

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----|
| ÖNSÖZ..... | iii |
| İÇİNDEKİLER..... | iv |
| KISALTMALAR..... | vi |
| ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ..... | vii |
| TABLO VE GRAFİKLER LİSTESİ..... | ix |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| 2.1 Kulak Embriyolojisi..... | 3 |
| 2.1.1 Aurikula..... | 3 |
| 2.1.2 Dış Kulak Yolu ve Timpanik Membran..... | 4 |
| 2.1.3. Temporal Kemik..... | 5 |
| 2.1.4. Orta Kulak Kemikçikleri..... | 7 |
| 2.1.5. Östaki Tüpü..... | 7 |
| 2.2. Kulak Anatomisi..... | 7 |
| 2.2.1. Temporal Kemik Anatomisi..... | 8 |
| 2.2.1.1. Skuamöz Kısım..... | 8 |
| 2.2.1.2. Mastoid Kısım..... | 8 |
| 2.2.1.3. Timpanik Kısım..... | 8 |
| 2.2.1.4. Petröz Kısım..... | 9 |
| 2.2.2. Temporal Kemiğin Cerrahi Anatomisi..... | 9 |
| 2.2.3. Dış Kulak..... | 10 |
| 2.2.4. Orta Kulak..... | 11 |
| 2.2.4.1. Kulak Zarı..... | 11 |
| 2.2.4.2. Orta Kulağın Komşulukları..... | 12 |
| 2.2.4.3. Orta Kulak Kemikçikleri..... | 13 |
| 2.2.4.4. Östaki Tüpü..... | 14 |
| 2.2.4.5. Vasküler Anatomisi..... | 14 |
| 2.2.5. İç Kulak..... | 15 |
| 2.3. Kolesteatomanın Tanımı ve Tarihiçesi..... | 16 |

| | |
|--|-----------|
| 2.4. Kolesteatoma Çevresinde Meydana Gelen Reaksiyonlar..... | 18 |
| 2.4.1. Mastoiddeki Değişiklikler..... | 19 |
| 2.4.2. Kemik DKY'deki Değişiklikler..... | 20 |
| 2.4.3. Kolesteatomada Kemikçikler..... | 20 |
| 2.4.4. Kolesteatomada Labirent Değişiklikleri..... | 20 |
| 2.4.5. Kolesteatomada Fasial Sinir..... | 22 |
| 2.4.6. Kolesteatomada Dural Plate ve Lateral Sinüs..... | 22 |
| 2.5. Kolesteatomanın Patogenezi..... | 22 |
| 2.5.1. Edinsel Kolesteatomalar..... | 22 |
| 2.5.1.1. Primer Edinilmiş Kolesteatomalar..... | 23 |
| 2.5.1.2. Sekonder Edinilmiş Kolesteatomalar..... | 24 |
| 2.5.2. Doğumsal Kolesteatomalar..... | 25 |
| 2.6. Kolesteatomalarda Sınıflama..... | 26 |
| 2.6.1. Dış Kulak Kanalı Kolesteatomaları..... | 27 |
| 2.6.2. İatrojenik Kolesteatomalar..... | 28 |
| 2.6.3. Doğumsal Kolesteatoma..... | 28 |
| 2.6.4. Petröz Apeks Kolesteatoması..... | 29 |
| 2.6.5. Edinilmiş Kolesteatomalar..... | 30 |
| 2.6.6. Rezidiv Kolesteatomalar..... | 30 |
| 2.7. Kolesteatomanın Evrelemesi..... | 31 |
| 2.8. Kolesteatoma Gelişimini Etkileyen Mekanizmalar..... | 33 |
| 2.9. Sıçan Kulağı Anatomisi..... | 38 |
| 2.10. Takrolimus..... | 41 |
| 3. MATERYAL VE METOD..... | 45 |
| 4. BULGULAR..... | 50 |
| 5. TARTIŞMA..... | 72 |
| 6. ÖZET..... | 77 |
| 7. ABSTRACT | 78 |
| 8. KAYNAKLAR..... | 79 |

KISALTMALAR

| | |
|--------------|---|
| DKY | : Dış Kulak Yolu |
| Cm | : Santimetre |
| Mm | : Milimetre |
| KOM | : Kronik Otitis Media |
| SSK | : Semisirküler Kanal |
| EGF | : Epidermal Büyüme Faktörü |
| EGF-R | : Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü |
| KGF | : Keratinosit Büyüme Faktörü |
| KGFR | : Keratinosit Büyüme Faktörü Reseptörü |
| IL | : İnterlökin |
| ICAM | : İnterselüler Adezyon Molekülü |
| TGF | : Transforme edici Büyüme Faktörü |
| ELAM | : Endotel Kaynaklı Lökosit Adezyon Molekülü |
| IFN | : İnterferon |
| FGF | : Fibroblast Büyüme Faktörü |
| VEGF | : Vasküler Endotel Büyüme Faktörü |
| PG | : Propilen Glikol |
| SF | : Serum Fizyolojik |
| OK | : Orta Kulak |

ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Şekil 1. Aurikulanın embriyolojik gelişimi..... | 3 |
| Şekil 2. Meatal tıkacın şematik gösterimi..... | 4 |
| Şekil 3. Dış kulak yolunun rekanalizasyonu..... | 5 |
| Şekil 4. Temporal kemiğin cerrahi anatomisi..... | 10 |
| Şekil 5. Normal sağ timpanik membranın endoskopik görüntüsü..... | 12 |
| Şekil 6. İç kulak yapılarının şematik gösterimi..... | 15 |
| Şekil 7. STAM sistemine göre orta kulağın bölümleri..... | 32 |
| Şekil 8. Sıçan orta kulağı. Lateralden timpanik membran kaldırılmış halde..... | 40 |
| Şekil 9. Tacrolimus'un kimyasal formülü..... | 42 |
| Resim 1. Wistar Albino cinsi ratların görünümü..... | 39 |
| Resim 2. Ratın cerrahi işleme hazırlanması | 46 |
| Resim 3-4. Bullanın bistüri ile delinmesi ve 27 G enjektör ile uygulamanın yapılması..... | 47 |
| Resim 5-6. Ratlardan çıkarılan temporal kemik spesmenleri..... | 48 |
| Resim 7. Sadece SF verilen grupta izlenen normal görünümde timpanik membranın görüntüsü (H&E x400)..... | 50 |
| Resim 8. Orta kulakta inflamasyonun gözlenmediği, timpanik membranda hafif fibrozisin eşlik ettiği Propilen glikol+Takrolimus verilen grup. Timpanik membranda epitelin timpanik membran içerisine invajinasyonu ve içerisinde keratinöz materyal birikimi gözlenmektedir (siyah ok) (H&Ex100)..... | 51 |

- Resim 9.** Propilen glikol+Takrolimus verilen grup.Timpanik membranda epitelin timpanik membran içerisine doğru invajinasyonu ve içerisinde keratinöz materyal izlenmektedir (kalın siyah ok). Hafif fibrozis gösteren Timpanik membranda fibroblast proliferasyonu (Siyah ince ok), prolifer damar yapıları (Sarı ince ok) ve inflamasyonun (kalın sarı ok) eşlik ettiği granülasyon dokusu izlenmektedir (H&Ex400).....51
- Resim 10.** Propilen glikol+Takrolimus verilen grupta izlenen kolesteatom. Timpanik membranın orta kulağa doğru ilerleyerek (sarı kalın ok) içerisinde keratinöz materyalin bulunduğu kistik oluşum (yıldız) ve timpanik membranda inflamasyon ve fibrozisin eşlik ettiği granülasyon dokusu (ince sarı ok) gözlenmektedir (H&Ex100)..... 52
- Resim 11.** Sadece propilen glikol verilen grupta timpanik membranda izlenen şiddetli fibrozis (siyah kısa ok) ve orta kulakta yoğun lenfosit, plazma ve nötrofil lökositten oluşan inflamasyon (yıldız) ve kolesterol kleftleri (ince siyah ok) dikkati çekmektedir (H&Ex100)... 52
- Resim 12.** Sadece propilen glikol verilen grupta timpanik membranda epitelyal invajinasyon, keratin lamel (uzun siyah ok) ile timpanik membran ve orta kulakta nötrofil lökosit, lenfosit ve plazma hücrelerinden oluşan yoğun inflamasyon izlenmektedir; H&Ex100..... 53
- Resim 13.** Resim 6'nın yakından görünümü. Timpanik membranda fibrozis (kısa siyah ok), epitelyal invajinasyon, keratin lamel (uzun siyah ok) ile nötrofil lökosit, lenfosit ve plazma hücrelerinden oluşan yoğun akut ve kronik inflamasyon (sarı oklar) izlenmektedir; H&Ex400..... 55
- Resim 14.** Propilen glikol ve takro verilen grupta timpanik membranda keratin lamel (uzun siyah ok), fibrozis (kısa kalın siyah ok) ve hafif lenfosit içeren inflamasyon gözlenmektedir (beyaz ok). (H&E x400)..... 54

TABLO VE GRAFİK LİSTESİ

| | |
|---|----|
| Tablo 1. Deney Grupları..... | 45 |
| Tablo 2. Grup 1 içerisinde sadece Propilen Glikol (PG) yapılan taraf ile PG ve takrolimus uygulanan taraflara göre gözlemlerin histopatoloji sonuçları yönünden frekans dağılımları..... | 56 |
| Tablo 3. Grup 2 içerisinde SF uygulanan ve Takrolimus uygulanan taraflara göre gözlemlerin histopatoloji sonuçları yönünden frekans dağılımları..... | 58 |
| Tablo 4. PG+Takrolimus uygulanan grup ile sadece Takrolimus uygulanan gruba göre gözlemlerin histopatoloji sonuçları yönünden frekans dağılımları... | 60 |
| Tablo 5. Sadece PG verilen grup ile SF uygulanan gruba göre gözlemlerin histopatoloji sonuçları yönünden frekans dağılımları..... | 62 |
| Tablo 6. Sadece PG verilen grup ile sadece Takrolimus verilen gruba göre gözlemlerin histopatoloji sonuçları yönünden frekans dağılımları..... | 64 |
| Grafik 1. Akut Enflamasyon açısından grupların kıyaslanması..... | 65 |
| Grafik 2. Kronik Enflamasyon açısından grupların kıyaslanması..... | 66 |
| Grafik 3. Lamina Propria'da Fibrozis açısından grupların kıyaslanması..... | 67 |
| Grafik 4. Vasküler Yapılanmada Artış açısından grupların kıyaslanması..... | 68 |
| Grafik 5. Epitelyal Hiperplazi açısından grupların kıyaslanması..... | 69 |
| Grafik 6. TM veya Orta Kulakta Kolesterol Klefleri açısından grupların kıyaslanması..... | 70 |
| Grafik 7. TM İçerisinde Keratin Lamel veya Epitelyal İnvajinasyon açısından grupların kıyaslanması..... | 71 |

1. GİRİŞ

Kolesteatom orta kulağın benign, ancak klinik olarak agresif ve invazif potansiyeli olan bir tümördür. Orta ve iç kulak yapılarını destrükte ederek işitmede azalma, vestibüler fonksiyonlarda bozulma, fasiyal paralizi ve ölümcül intrakranial komplikasyonlara neden olabilir (1).

Kolesteatom için pek çok sınıflandırma mevcut olsa da günümüzde yaygın olarak etiyojisine göre sınıflandırılır. Konjenital kolesteatom ve edinilmiş kolesteatom şeklinde temel olarak ikiye ayrılır. Edinilmiş kolesteatom da primer edinilmiş ve sekonder edinilmiş kolesteatom olarak iki başlık altında incelenir (2).

Günümüzde edinilmiş kolesteatom oluşumunda öne sürülen teorilerden en fazla kabul göreni invajinasyon teorisidir. Öne sürülen diğer teoriler, orta kulak mukozasının yassı epitele metaplazisi, bazal keratinositlerin orta kulağa göç etmeleri ve kulak zarındaki bir perforasyon yoluyla epitelin içeriye doğru büyümesidir (2).

Kolesteatom oluşumu ile ilgili olarak öne sürülen tüm teorilerde ortak nokta, artmış inflamasyon ile birlikte hücre proliferasyonu ve farklılaşmasıdır (3). Daha önceki çalışmalarda patogenez, üç ana başlık temelinde araştırılmıştır: 1) hücre farklılaşması, 2) hücre çoğalması, 3) kendi kendine hücre ölümü (apoptozis) mekanizmaları.

İnvajinasyon teorisine göre kolesteatom,östaki disfonksiyonu sonucu kulak zarının pars flaksida bölgesinin retraksiyonu ile oluşmaktadır. Retraksiyon cebi kendini temizleyemediği zaman debrisler (keratin debrisi, intrasellüler debrisler ve bakteriler) birikmekte ve inflamasyon tetiklenmektedir (4). İnflamasyon için önde gelen tetikleyici etken olan orta kulağın bakteriyel enfeksiyonları, aşırı inflamatuvar yanıtı neden olmaktadır. Bu ise farklı bağışıklık yanıtlarıyla sitokin düzeylerini artırmaktadır. Artan sitokinlerin aracılık ettiği inflamasyon ile hücre çoğalması ve kemik yıkımı sonucunda mikro çevrede büyüme teşvik edilmiş olur (5).

Son 10 yılda orta kulak kolesteatomunun patogenezi üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında, süreci neoplastik oluşumlara benzetme ve patogenezi de bu yönde şekillendirme çabalarının artmış olduğu görülmektedir.

Bu deneysel çalışma, kolesteatom oluşumunda önemli yer tutan yoğun inflamasyon aşamalarının kullanacağımız güçlü bir nonsteroidal immünsupresif ajan olan Takrolimus (Prograf) aracılığı ile azaltılması ve/veya engellenmesi amacıyla yapılmıştır.

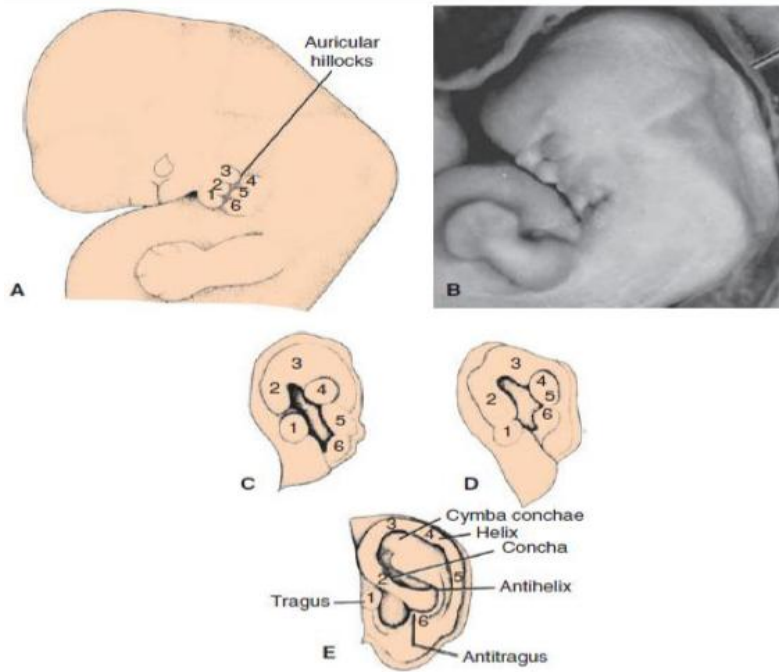


2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kulak Embriyolojisi

2.1.1. Aurikula

Embriyonik yaşamın dördüncü haftasında, birinci brankial yarığın distal bölümünde birinci (mandibuler) ve ikinci (hyoid) brankial ark kaynaklı dokular ortaya çıkmaya başlar. Altıncı haftada bu dokular 'his tepcikleri' adı verilen altı kabartıya dönüşürler. Yedinci haftada, ilk üç tepcik birinci brankial yarığın çevresinde birleşerek mandibuler ark kaynaklı olan anterior auriküler kıvrımı; diğer üç tepcik ise bir araya gelerek hyoid ark kaynaklı olan posterior auriküler kıvrımı oluştururlar. Birinci brankial ark kaynaklı olan ilk üç tepcikten sırasıyla tragus, dış kulak yolunun (DKY) anterior kısmı ve helixin krusu ile helix; ikinci brankial ark kaynaklı olan diğer tepcikten sırasıyla antihelix, antitragus ve lobül gelişir (Şekil 1). Aurikula beşinci ayda erişkin biçimini alır (6).

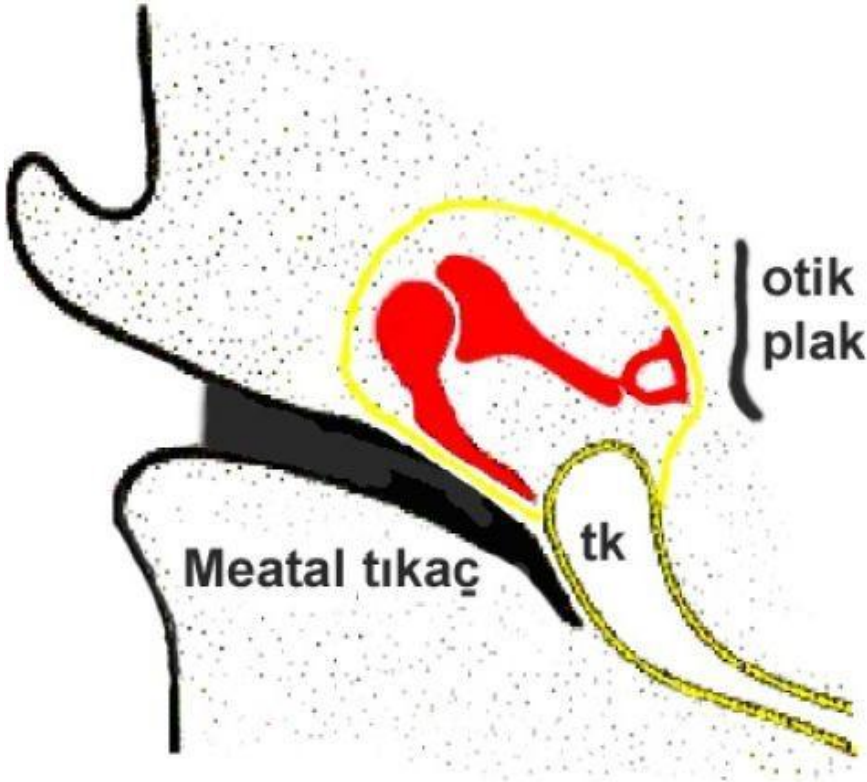


Şekil 1. Aurikulanın embriyolojik gelişimi (17).

2.1.2. Dış Kulak Yolu ve Timpanik Membran

Sekizinci haftada birinci faringeal poş endoderminin faringeal lümenin orta hattından birinci, ikinci ve üçüncü brankial arklara doğru laterale uzanması ile tubotimpanik reses ortaya çıkar. Östaki tüpü ve orta kulak kavitesi tubotimpanik resesden gelişir. Aynı dönemde birinci brankial yarığın dorsal kısmı içe doğru derinleşerek dış kulak yolunun kıkırdak bölümünü oluşturmaya başlar (7). Endoderm kaynaklı tubotimpanik reses ile ektoderm kaynaklı dış kulak yolu arasında bir mezodermal tabaka yer alır. Daha sonraları timpanik kemiğin gelişmesi ile birlikte oluşan dış kulak yolu kemik bölümünün derinindeki epitel timpanik membranın mezoderm kaynaklı orta fibröz tabakasının dış yüzeyini örter; böylece medial yüzü endoderm kaynaklı mukoza ile lateral yüzü ise ektoderm kaynaklı epitel ile kaplı olan üç tabakalı timpanik membran yapısı ortaya çıkar (8).

Dokuzuncu haftada DKY'nin medial kısmındaki epitel hücrelerinin mezodermal tabaka içine doğru ilerlemesi ile meatal tıkaç oluşur (Şekil 2).

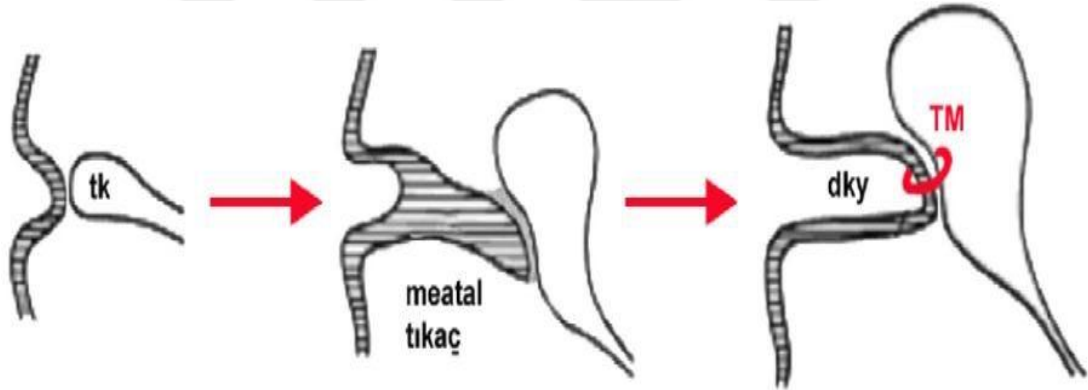


Şekil 2. Meatal tıkaçın şematik gösterimi (tk: primitif timpanik kavite) (6).

Meatal tıkaç beşinci aya kadar lümeni tam olarak kapatır, daha sonra medialden başlayarak yedinci aya dek rekanalize olur (Şekil 3). Meatal tıkaçın çevresindeki mezodermden timpanik membranın orta fibröz tabakası meydana gelir. Manubrium malleinin timpanik membranın fibröz tabakası içine girmesi zarın normal gelişimini sağlamasında önemli bir uyarıdır. Bu nedenle malleus anomalilerinde genellikle timpanik membran da normal değildir (9).

2.1.3. Temporal Kemik

Temporal kemik timpanik, skuamöz, petröz ve mastoid kemiklerin birleşmesi ile meydana gelir. Timpanik kemik dokuzuncu haftada timpanik membranın fibröz tabakası çevresinde yer alan dört membranöz kemikleşme merkezinden oluşur. Petröz kemik ile birleşmesi sekizinci ayda başlar ve doğuma dek sürer.



tk: primitif timpanik kavite, dky: dış kulak yolu, TM: timpanik membran

Şekil 3. Dış kulak yolunun rekanalizasyonu (6).

Onuncu haftada timpanik kemik, superiorda yer alan ve Rivinius çentiği adı verilen bölümü dışında bir halka şeklini almıştır (10). Timpanik kemiğin laterale doğru olan büyümesi doğumdan sonra da devam eder; bu nedenle yenidoğanda horizontale yakın bir yerleşimde olan timpanik membran 4-5 yaşlarında erişkindeki pozisyonunu alır (11).

Skvamöz kemik sekizinci haftada bir membranöz kemikleşme merkezinden gelişmeye başlar; dördüncü ayda timpanik halkanın posterioruna doğru büyüyen skuamöz kemikten mastoidin lateral (skuamöz) kısmı ile antrumun lateral duvarı ve DKY'nin tavanı gelişir. Mastoid kemiğin medial (petröz) kısmı ise petröz kemik içindeki hava hücrelerinin kemik labirentin periosteal tabakasına yayılması ile meydana gelir. Mastoid kemik içinde medialdeki petröz ve lateraldeki skuamöz kemik kaynaklı hava hücrelerinin temas yüzeyi, petroskuamöz lamina adını alan ve temporal kemiğin dış yüzündeki petroskuamöz fissürün devamı olan bir kemik lamel şeklindedir. Petroskuamöz lamina genellikle yaşamın ilk iki yılı içinde ortadan kalkar, ancak bazen sebat edebilir ve bu durumda Körner Septumu adını alır. Bunun önemi, mastoidektomi yapılırken skuamöz hava hücreleri açıldıktan sonra ortaya çıkan Körner Septumu nedeniyle sığ bir antrum ile karşılaştığı yanılgısını ortaya çıkarabilmesindedir. Gerçek antrum ancak petroskuamöz lamina turlanarak açıldıktan sonra ve daha derinde ortaya çıkar (12).

Yenidoğanda mastoid çıkıntı olmadığı için fasiyal sinir stilomastoid foramenden çıktıktan sonra cilt altında yüzeysel seyreder; timpanik ve mastoid kemiklerin gelişmesi ile fasiyal sinir giderek mastoid kemiğin medialinde daha korunaklı bir hale gelir. Gelişim sırasına bakıldığında, önce iç kulak, sonra aurikula ile dış kulak yolu ve en son olarak da orta kulak gelişimi tamamlanır. Bu nedenle orta kulak anomalilerinde normal bir aurikula bulunması mümkün iken mikroti varlığında orta kulağın sağlam olması beklenmemelidir. En sıklıkla dış kulak yolu ve orta kulağın malforme olduğu ve iç kulağın normal yapısını koruduğu anomaliler görülür (13).

Genel bir kural olarak, konjenital kulak anomalilerinde aurikula ve dış kulak yolu deformitesi ne kadar ağır ise orta kulak anomalisi de o derecede ciddidir. Klasik bir klinik kaniya göre de tragusun salim olması orta kulak ve kemikçiklerin fonksiyonel olduğuna işaret eder (6).

2.1.4. Orta Kulak Kemikçikleri

İlkel omurgalılarda birinci brankial arkın (mandibuler ark) mezenkimi (Meckel kıkırdağı) ile ikinci brankial arkın (hyoid ark) mezenkiminden (Reichert kıkırdağı) mastikatör sisteme ait yapılar meydana gelir. Birinci brankial arkın Meckel kıkırdağı malleusun başı ile inkusun gövdesini oluşturur. Meckel kıkırdağının geri kalanının üst bölümü anterior malleoler ligamana, alt bölümü ise sfenomandibular ligamana (Meckel ligamanı) dönüşür. Birinci brankial ark kaynaklı olan diğer yapılar ise trigeminal sinirin mandibular dalı, çiğneme kasları, tensor timpani kası ve tensor veli palatini kasıdır. İkinci brankial arkın Reichert kıkırdağından manibrium mallei, inkusun uzun kolu ve stapes suprastrüktürü gelişir. Reichert kıkırdağının geri kalan bölümünün üst kısmından stiloid çıkıntı, alt kısmından ise hyoidin küçük boynuzu gelişir. İkinci brankial ark mezoderminden ayrıca fasiyal sinir, mimik kasları, stapedius kası, hyoid kemiğin üst bölümü ve stilohyoid ligaman gelişir (14).

2.1.5. Östaki Tüpü

Embriyonik yaşamın üçüncü haftasında birinci faringeal poşun laterale doğru genişlemesi ile endoderm kaynaklı tubotimpanik reses ortaya çıkar. Tubotimpanik reses çevredeki gevşek ve jelatinöz yapıdaki mezenkimin (embriyonik mezenkimal doku) absorpsiyonu ile primitif timpanik kavitenin inferiorundan başlayarak giderek genişler. Yedinci haftada ikinci brankial arkın kraniale doğru büyümesi ile tubotimpanik resesin orta kısmında bir daralma meydana gelir; bu daralmanın medialinden östaki tüpü, lateralinden ise timpanik kavite gelişir. Östaki tüpü gelişim sırasında daha da uzar ve daralır; mezodermal kıkırdaklaşma ile kıkırdak bölümü ortaya çıkar (15).

2.2. Kulak Anatomisi

Kulak, aurikula ve DKY'yi içeren dış kulak, kulak zarı, kemikçikler, mastoid havalı hücreler, östaki tüpünü içeren orta kulak ve vestibüler sistem ile kokleayı içeren iç kulak olmak üzere üç bölümden oluşur (16).

2.2.1. Temporal Kemik Anatomisi

Temporal kemik kafatasının yan ve alt duvarlarının yapımında görev alır, dolayısı ile kafa tabanının bir parçasıdır. Pariyetal, sfenoid ve oksipital kemikler arasına yerleşmiştir. Temporal kemik skuamöz, mastoid, timpanik ve petröz parça olmak üzere dört kısımdan oluşur (17).

2.2.1.1. Skuamöz Kısım

Skuamöz kısım temporal kemiğin en büyük kısmını oluşturan parçasıdır ve anteroinferiora zigomatik ark ile devam etmektedir. Skuamöz kısmın alt yüzünde mandibuler fossa vardır ve çene eklemi yapmaktadır. Temporal kemik zigomatik ark aracılığıyla orta yüz kemiklerine bağlanmaktadır. Skuamöz parçanın medial yüzü orta kafa çukuru ile ilişkilidir (16).

2.2.1.2. Mastoid Kısım

Temporal kemiğin posteroinferiorunu oluşturan kısmın dış yüzüne boynu hareket ettiren kaslar yapışmaktadır. Mastoid apeksin alt ucuna sternokleidomastoid kas yapışmaktadır, mastoid çıkıntının gelişmesinde bu kas tonusunun artmasının büyük önemi vardır. Bu kasın çekim kuvveti ile mastoid apeks uzar ve sivrilir.

Mastoid kısmın medial yüzünde sigmoid sinüsün seyrettiği derin bir oluk bulunur. Mastoid parçada orta kulak havalanması için önemli olan mastoid havalı hücreler de bulunmaktadır (16).

2.2.1.3. Timpanik Kısım

Bu parça DKY'nin ön, alt ve arka kısmını oluşturmaktadır. Ön kısmın ortası çok ince olup bazen foramen Huscke adı verilen delikler bulunabilmektedir. Bu delikler DKY enfeksiyonlarının parotise yayılmasına neden olabilmektedir. Timpanik halkanın üst kısmı açıktır ve bu açıklığa 'Rivinius Çentigi' adı verilir.

Timpanik kemiğin medial kısmında sulkus timpanikus bulunur ve buraya kulak zarının pars tensası yerleşir, açık kalan kısma ise pars flaksida yerleşmiştir (17).

2.2.1.4. Petröz Kısım

Petröz kısım, lateralde skuamöz parçanın alt kenarı ile karışır ve petroskuamözal sütürü yapar. Petröz kısım iç kulağa ait işitme denge yapılarını içermesi açısından önemlidir. Yedinci ve sekizinci kraniyal sinirlerin kafatasına girdikleri internal akustik kanal bu kısımdadır. Petröz parçanın alt yüzünde stiloid çıkıntı vardır ve bu çıkıntının hemen arkasında bulunan deliğe foramen stilomastoideum adı verilir. Bu delik fallop kanalının dış deliğidir ve fasiyal sinirin kranyumu terk ettiği yerdir (17).

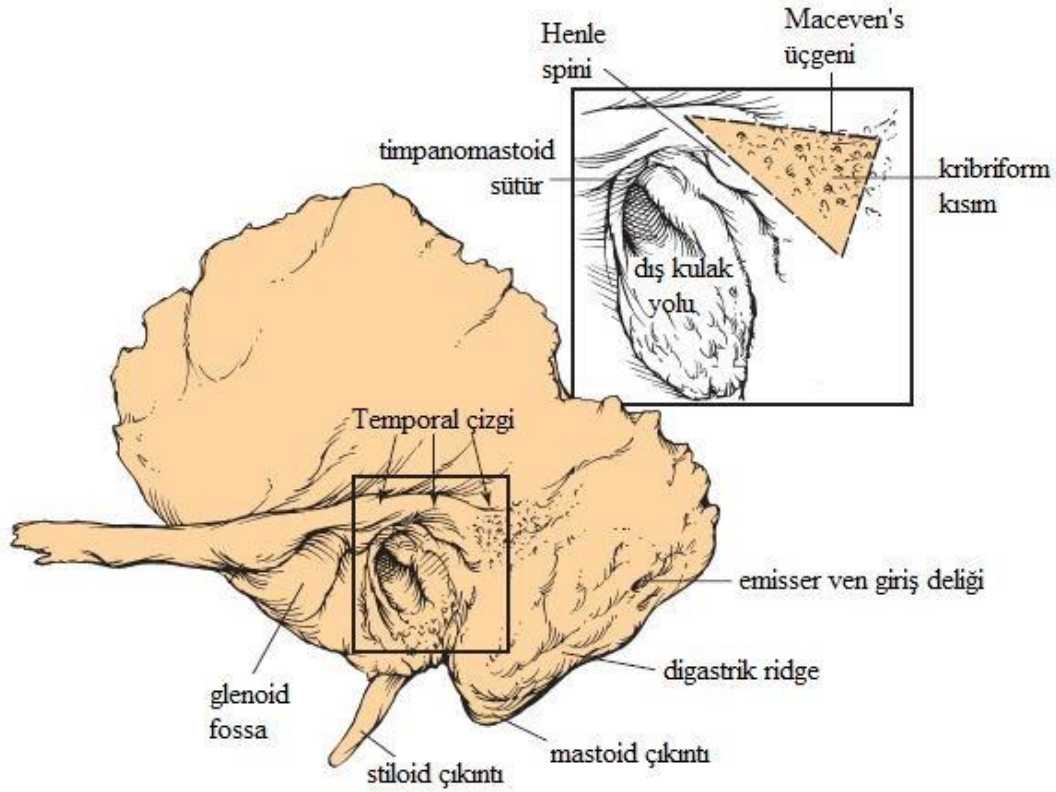
2.2.2. Temporal Kemiğin Cerrahi Anatomisi

Kulak ameliyatlarında temporal kemiğin cerrahi açıdan bilinmesi gereken temel yapıları bulunmaktadır. Bu yapıların bir kısmı kemiğin dış kısmında bulunur ve cerrahi esnasında nirengi noktalarını oluşturur (18).

Dış kulak yolunun hemen posterosuperior kısmındaki küçük çıkıntıya Henle dikenini (spini) veya suprameatal çıkıntı adı verilir. Bu çıkıntının bir santimetre (cm) arkasındaki kısma kribriform alan (fossa mastoidea) adı verilir. Temporal kas inferior kenarının yapıldığı, zigomatik arkın hafif yukarı doğru oluşturduğu çıkıntı temporal çizgi olarak adlandırılır. Bu çizgi tegmen timpaninin temporal kemik üzerindeki izdüşümü olarak kabul edilir (18, 19).

Temporal kemik dış yüzeyinde mastoid antrumun lokalizasyonunu kabaca gösteren hayali üçgene MacEwen Üçgeni adı verilir. Bu üçgenin sınırlarını, superiorda temporal çizgiden çizilen hat, anteroinferiorda dış kulak yolu arka duvardan çizilen hat ve posteriorda DKY'ye teğet olmak koşuluyla temporal çizgiye dik çizilen hat oluşturur. Erişkinlerde mastoid antrum bu üçgenin yaklaşık bir cm derindedir (Şekil 4) (18, 20).

Epitimpaniumun lateral duvarını oluşturan ince kemik plak, skutum adını alır ve skuamöz kemiğin parçasıdır. Attik kolesteatomalarında ilk destrükte olan bölgedir ve radyolojik olarak destrüksiyonu kolesteatoma varlığını düşündürmesi açısından önemlidir (21).



Şekil 4. Temporal kemiğin cerrahi anatomisi (18).

2.2.3. Dış Kulak

Dış kulak kulak kepçesi, DKY ile timpanik membranın lateral yüzünden oluşmaktadır. Kulak kepçesi sesin DKY'ye yönlendirilmesini sağlayan organdır. Kulak kepçesi kafaya, kıkırdak iskeletinin dışında bağlar, kaslar ve deriyle bağlıdır. Kulak kepçesinin lateral yüzündeki konkavitenin en derin bölümü konka aurikula adını alır ve derine doğru DKY olarak devam eder.

Dış kulak yolu girişinde anteriorda bulunan çıkıntıya tragus, hemen alt arka tarafında yer alan daha küçük ikinci çıkıntıya antitragus adı verilir. Kulak kepçesinin diğer kısımları heliks, antiheliks, skafa ve trianguler fossadır (22).

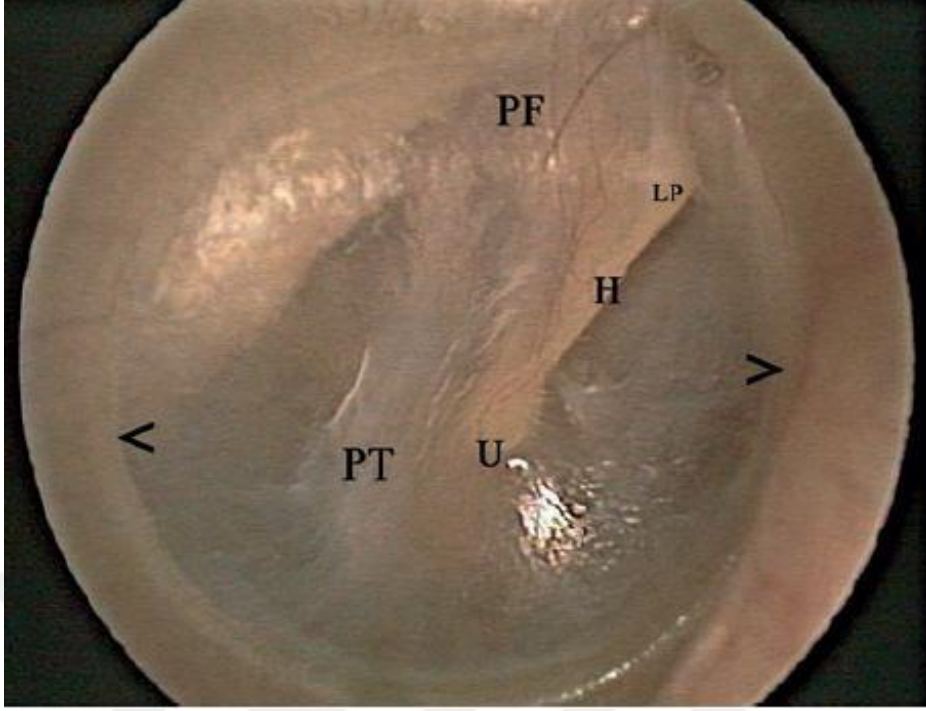
Dış kulak yolu kavum konkadan kulak zarına kadar uzanan kanaldır. Erişkinde arka üst duvarı yaklaşık 25 mm, ön alt duvarı yaklaşık 30 mm uzunluğundadır. Kanaldaki bu uzunluk farkı timpanik membranın oblik yerleşimine neden olmaktadır. DKY'nin 1/3 dış kısmı kıkırdak, 2/3 iç kısmı kemik yapıdadır. Çocuklarda ise kemik gelişimi tamamlanmadığından kıkırdak kısmı daha uzundur. DKY'yi örten deri dokusu kulak zarının dış yüzünü de örter. DKY önde mandibular fossa ve parotis ile arkada ise mastoid hücreler ile komşudur. DKY'de bulunan timpanomastoid ve timpanoskuamöz suturlar arasında kalan bölümde zengin bir vasküler ağ bulunmaktadır (16, 17).

2.2.4. Orta Kulak

Orta kulak, östaki tüpü (tuba auditiva) aracılığıyla nazofarenksle, aditus ad antrum yoluyla da mastoid havalı hücrelerle ilişkilidir. Orta kulak timpanik membran ile dış kulak yolundan ayrılır. Görevi DKY'den gelen ses dalgalarını amplifiye ederek iç kulağa iletmektir. Orta kulak hacmi yaklaşık 2 cc'dir. Orta kulak boşluğu doğumda tam gelişmiştir ve yaklaşık erişkin boyutundadır (16, 17).

2.2.4.1. Kulak Zarı

Orta kulak lateral duvarının büyük çoğunluğunu oluşturan kulak zarı, timpanik kemiğin sulkus timpanikusuna oturmuş, 0.1 mm kalınlığında, eliptik şekilli oblik yerleşimli ve 9-10 mm X 8-9 mm'dir (Şekil 6).



< >: oklar timpanik anulusu göstermektedir, H: malleusun uzun kolu, LP: malleusun lateral proçesi, PF: pars flaksida, PT: pars tensa, U: umbo

Şekil 5. Normal sağ timpanik membranın endoskopik görüntüsü (22).

Timpanik membranın alt bölümü gergindir ve pars tensa adını alır. Küçük olan üst kısmı ise fibröz tabaka içermediğinden gevşektir ve pars flaksida (Shrapnell membranı) olarak adlandırılır. Kulak zarının tamamının yüzeyi 70-80 mm², titreşen bölümü 55 mm²'dir. Kulak zarındaki lezyonları tariflerken standardizasyon sağlamak için manibriumdan geçen dikey çizgi ve umbodan çizilen yatay çizgi kulak zarını arka üst, arka alt, ön üst ve ön alt olmak üzere dört kadrana ayırır (23, 24).

2.2.4.2. Orta Kulağın Komşulukları

Orta kulak medial duvarı, orta kulağı iç kulaktan ayırır. Orta kulak medial duvarda kokleanın bazal kıvrımının yapmış olduğu kabartıya promontorium adı verilir. Promontoriumun arka alt ve arka üst bölümünde iç kulak ile bağlantıyı

sağlayan oval ve yuvarlak pencere nişleri bulunur. Oval pencereye stapes tabanı yerleşir, yuvarlak pencere ise ince bir zarla kaplıdır. Orta kulak üst sınırını tegmen timpani oluşturur. Tegmen timpani orta kafa çukuru ile orta kulağı ayıran ince bir kemik yapıdır (16, 17).

Orta kulak alt sınırı juguler duvar olarak bilinir. Kulak zarından yaklaşık 2-3 mm daha alt kısımdadır ve internal juguler ven ile komşudur. Ön duvar karotid duvar olarak da bilinir. Orta kulak ön kısımda östaki tüpü, tensor timpani ve a.karotis interna ile komşudur (25).

Orta kulak arka duvarda bulunan açıklık aditus ad antrum adını alır. Mastoid havalı hücreler ile orta kulak arasındaki bağlantıyı sağlar. Arka duvarda ayrıca, aditusun hemen altında stapes tendonunun içinden geçtiği piramidal çıkıntı bulunur. Stapes tendonu buradan kaynaklanarak, stapes kemikçığının arka bacağına üst kısmında sonlanmaktadır. Piramidal çıkıntının hemen altında korda timpaninin orta kulağa girdiği küçük delik bulunur (26).

Orta kulak, timpanik membranın orta kulaktaki izdüşümüne göre üç kısma ayrılır. Kulak zarının üst sınırından çizilen çizginin üstünde kalan kısım epitimpanium, zarın alt sınırından çizilen çizginin altındaki kısım hipotimpanium, zarın medial kısmı ise mezotimpanium olarak adlandırılmaktadır (27).

Epitimpaniumun sınırlarını üstte tegmen timpani, medialde lateral semisirküler kanal ile fasiyal sinir, posteriorda fossa inkudis, lateralde skutum oluşturmaktadır. Aditus ad antrum epitimpaniumdan antruma açılmaktadır (26, 27).

2.2.4.3. Orta Kulak Kemikçikleri

Orta kulakta malleus, inkus ve stapes adı verilen üç adet hareketli kemikçik bulunur. Bu kemikler birbirleriyle sinoviyal eklem yaparlar ve eklem yüzeyleri artiküler kartilaj ile kaplıdır (16, 17).

Malleus: Orta kulak kemikçikleri içerisinde en lateralde ve en büyük olanıdır. 8-9 mm uzunluğundadır. Manibrium mallei, baş (caput mallei) ve boyun

(kollum mallei) kısımları vardır. Tensor timpani kası boyun kısmında sonlanmaktadır. Bu kasın kasılması ile kulak zarı medialize olarak gerilmektedir (22).

İnkus: Malleus ile inkudomalleolar eklemi yapmaktadır. Gövde (korpus), uzun kol (krus longum) ve kısa kol (krus breve) kısımları vardır. Uzun kolu stapes başı ile eklem yapmaktadır. Kısa kolu orta kulak arka duvardaki fossa inkudise yerleşir.

Stapesle eklem yapan uzun kolun ucundaki hafif genişleyen kısım lentiküler çıkıntı adını alır (16, 17, 22).

Stapes: Vücuttaki en küçük kemikçiktir. 3-3.5 mm uzunluğundadır. Baş, ön bacak, arka bacak ve taban (footplate) kısımları vardır. Taban kısmı orta kulak medial duvardaki oval pencereye oturmuştur (17).

2.2.4.4. Östaki Tüpü

Östaki tüpü çocuklarda 17 mm, erişkinde ortalama 35 mm uzunluğundadır. Timpanik ağız orta kulak ön duvarına, faringeal ağız alt konkanın hemen arkasındaki Rosenmüller çukuruna açılır. Tensor veli palatini kasının kasılmasıyla, esneme, hapşırma ve yutkunma sırasında açılır (16, 17, 22).

2.2.4.5. Vasküler Anatomisi

Anterior timpanik arter, maksiller arterin dalıdır. Petrotimpanik yarıktan orta kulağa girerek orta kulak ön bölümünü ve kulak zarının medial yüzünü kanlandırır. Posterior timpanik arter, posterior aurikuler arterin stilomastoid dalından kanlanır. Orta kulak mukozasını, kulak zarı arka yarısını, promontoryumu ve mastoid havalı hücreleri besler (16, 17, 22).

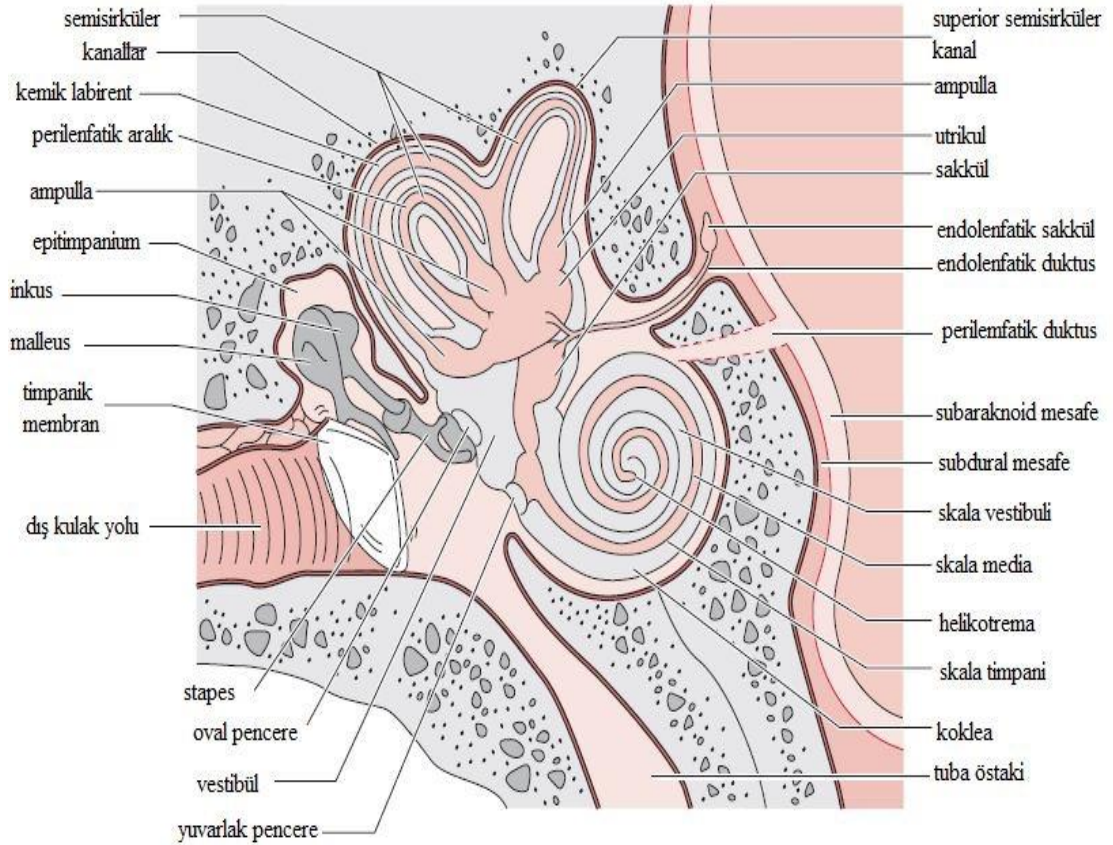
İnferior timpanik arter, asendan faringeal arterin dalıdır ve hipotimpanium ile promontoryumu besler. Superior timpanik arter, orta meningeal arterin dalıdır, tegmen timpaniden orta kulağa girer. Orta kulak venleri pterigoid pleksus veya

superior petrosal sinüse dökülürler. Lenfatikleri retrofaringeal ve parotid lenf nodlarına drene olur (22).

2.2.5. İç Kulak

İç kulak, temporal kemik içinde yerleşmiştir ve fonksiyonel olarak farklı iki alıcı mekanizmaya ayrılmıştır. Bunlar vestibül ile semisirküler kanallar (periferik vestibüler organ) ve periferik işitme organı olan kokleadır.

Yuvarlak ve oval pencereler labirentin orta kulağa açıldıkları kemik ve membranöz kapılardır ve sırasıyla yuvarlak pencere membranı ve stapes tabanı ile örtülüdürler (Şekil 6) (8).



Şekil 6. İç kulak yapılarının şematik gösterimi (18).

2.3. Kolesteatomanın Tanımı ve Tarihçesi

Kolesteatomu kısaca “derinin bulunmaması gereken yerde var olması” şeklinde tarif edebiliriz. Kolesteatoma terimi ilk kez Alman biyokimyacı Johannes Muller tarafından kullanılmıştır (28). Muller, kolesteatomanın safra tuzları ve yağ asitleri içerdiğini saptayarak bu dokuya safra (chole) ve yağ asitleri (stearin) içeren tümör (oma) anlamına gelen “kolesteatoma” adını vermiştir. Oysa kolesteatom, ne gerçek anlamda bir tümördür ne de yağ dokusu ya da safraya ait bir oluşum içerir (29,30). 1962 yılında Gray, kolesteatoma için, “yanlış yerde bulunan deri” tanımını önermiştir. Abramson ve ark. 1977 yılında kolesteatomu, “genelde bir kese şeklinde sıklıkla orta kulak, attik ve mastoid yapılarını tehdit eden üç boyutlu epidermal ve bağ dokusu yapısı” şeklinde tarif etmişlerdir (31).

1993 yılında Strunk bu tanımla kelime olarak biraz değiştirerek anlam olarak klinik patolojiyi daha iyi tanımlayan “Kolesteatoma yanlış yerde gelişen deridir” tanımını yapmıştır. Kolesteatomanın histolojik incelemesi derinin bütün katlarına sahip olduğunu göstermiştir. Ancak bu katların kalınlıkları normal deriden farklıdır (32). Kolesteatoma dokusunu daha iyi anlamak için normal deri dokusunu tanımlamak gerekir. Deri dokusu; epidermis, dermis ve hipodermis olarak üç tabakadan oluşur. Epidermis en ince tabaka olup beş kattan meydana gelir (33).

1. Stratum korneum: En dışıdır, ölü hücrelerden oluşur.
2. Stratum lusidum: İnce, yoğun eozinofilik hücrelerden oluşur.
3. Stratum granulosum: Bazofilik granüller içeren, 2-4 kat halindeki, oval hücrelerden oluşur.
4. Stratum spinosum: Çok kenarlı polihedral hücrelerden oluşur.
5. Stratum germinativum: Bazal tabaka olarak da bilinir. Derinin yenilenmesini sağlayan, mitotik aktivitesi yüksek hücrelerden oluşur (34, 35).

Dermis, epiderminin altında yer alır. Papiller ve retiküler tabakadan oluşur. Hipodermis en derinde olup yağ dokusu, bağ dokusu, vasküler yapılar, sinir ve kıl foliküllerini içerir. DKY kemik duvarı üzerindeki deri, epidermal tabakaların özelliklerini taşıırken dermal ve subkutan tabakaların özelliklerini içermez (36). Epidermis altında çok ince bir bağ dokusu tabakası bulunur ve ince bir periost ile kemiğe yapışır.

Kolesteatomanın yapısı da epidermise yakındır. Dıştan içe doğru dört tabaka içerir (33).

1. Stratum korneum: İnce, çok katlı keratinize çekirdeksiz hücrelerden oluşur.
2. Stratum granulozum: 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. Germinatif tabaka kolesteatomanın matriksi olarak da bilinir. Mitotik aktivitesi yüksek olup derinin yenilenmesini sağlar (doğurgan tabaka). Germinatif tabaka, bazal membran aracılığı ile bağ dokusu ile temastadır. Bağ dokusu tabakası ince retiküler ve esnek liflerle kemik düzleme yapışmıştır (35).

Kolesteatomanın diğer bir özelliği de sürekli keratin üretmesidir. Deride stratum korneum tabakası bu keratinin kaynağıdır. O halde kolesteatomanın özelliklerinden biri de deskuame epiteller yanında keratin de bulundurmasıdır. Kolesteatomanın özelliklerinden biri ve belki de en önemlisi kemik erimesine neden olmasıdır. Kemik erimesi diğer KOM tiplerinde de görülebilir. Ancak kolesteatomada daha geniş ve en az iki kez fazla görülmektedir. Kemik erimesi kolesteatomayı tehlikeli yapan özelliklerden biridir. Kemik erimesi iletim tipi ya da sensörinöral işitme kaybının yanısıra, temporal kemik ve kafa içi komplikasyonlara da neden olan önemli bir süreçtir (32). Yukarıda da belirttiğimiz gibi kolesteatoma, matriks denilen bazal germinatif tabakanın sürekli ürettiği deskuame epitel ve keratinin yaptığı, benign olmasına rağmen destrüktif bir karakter taşımaktadır (32,37). Keratinositlerin büyümesi, kontrollü hücre proliferasyonu ve programlanmış hücre ölümünün birlikteliği sayesinde meydana gelir. Bununla beraber, kolesteatomada bu sürecin dengeli birlikteliği bozulmuştur. Daha önceki çalışmalarda, kolesteatoma epitelindeki proliferasyon gösteren hücrelerin disloke halde oldukları (38) ve proliferasyon marker düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiştir (39). Kolesteatoma histopatogenezi hala tam olarak anlaşılamamıştır.

2.4. Kolesteatoma Çevresinde Meydana Gelen Reaksiyonlar

Kolesteatoma kitlesine temporal kemiğin gösterdiği reaksiyonlar, uzun kemiklerin osteomyeliti ile karşılaştırılabilir. Bu hastalıkta, kemikte meydana gelen harabiyet, yeni kemik dokusu ortaya çıkmasına neden olur. Kolesteatoma için de aynı şeyler söylenebilir. Ancak osteomyelit terimi ancak medullası olan kemikler için kullanılabilir. Kolesteatomaya komşu olan kemiklerde ise önce osteit meydana gelir ve gerek korteks ve gerekse de havalı hücrelerin septaları reaksiyona girer. Kolesteatomanın neden olduğu kemik dokusu reaksiyonları diğer KOM vakalarında da aynıdır. Ancak kolesteatomada kemik doku reaksiyonları daha sıklıkla ve daha geniş bir alanda görülür. Kolesteatoma ile meydana gelen kemik harabiyetinde kolesteatoma kitlesi doğrudan kemikle temasta değildir. Çok ince de olsa kemik ile kolesteatoma matriksi arasında bir bağ dokusu bulunur ve kemik harabiyetini kolesteatoma kitlesinden ayırır. Bu tabaka bazen ileri derecede inflamasyon gösterebilir ve bazı vakalarda granülasyon dokusuna dönüşebilir (40). Kolesteatomaya bağlı kemik reaksiyonları ve harabiyeti mastoidde, DKY’de, kemikçiklerde ve labirentlerde görülebilir.

Kemik erimesi KOM’daki en önemli süreçlerden birisidir. Çünkü tıbbi tedavi ile kontrol altına alınamaz. Ayrıca iletim tipi, sensörinöral tip işitme kayıpları ile temporal kemik ve intrakranyal komplikasyonlarının büyük çoğunluğu kemik erimesi sonucu ortaya çıkar. Kemik erimesinin kolesteatomalı KOM’larda görülme sıklığı diğer KOM’larda görülme sıklığından daha fazladır. Bir çalışmaya göre kemik erimesi kolesteatomalı KOM’ların % 95’inde saptanmıştır.

Bilindiği gibi kemik dokusu, hücreler (osteosit) ve hücreler arası maddelerden oluşur. Osteositler arası maddeler de substantia fundamentalis ile kollajen liflerden oluşmuştur. Substantia fundamentalisin içine çoğunluğu kalsiyum tuzları olan inorganik maddeler çökmüştür. Kemik erimesinde iki faz vardır: İlk devre demineralizasyondur. Bu devrede kollajen liflere bağlı inorganik maddelerin açığa çıkması ve liflerin serbest kalması gerekir. İnorganik maddelerin çoğu kalsiyum tuzlarından oluştuğu için bu devreye dekalsifikasyon adı da verilmektedir. Dekalsifikasyonla kollajen liflerden oluşan organik matriks serbest kalır. İkinci devre

enzimatik devredir. Kolesteatomalarda meydana gelen kemik erimesinin tek nedeni yoktur. Basınç nekrozu, kronik osteomyelit, osteoklastlarla rezorpsiyon, monositer rezorpsiyon, enzimatik rezorpsiyon, lokal Ph değişiklikleri, vasküler proliferasyon gibi mekanizmaların kolesteatoma bağlı kemik erimesinde rolü olduğu düşünülmektedir (40).

2.4.1. Mastoiddeki Değişiklikler

Mastoid havalanmasının gelişimi ve kolesteatom patogenezindeki etkinliğine yönelik başlıca 2 teori vardır:

1. Genetik olarak yetersiz gelişmiş mastoid havalanma sisteminin otit gelişimine ve kolesteatom gelişimine zemin oluşturduğu yönündeki teori. Diamant ve Sade; yapısal olarak yetersiz gelişmiş mastoid volümünün normal şartlarda bir soruna yol açmadığı ancak enflamasyon varlığında timpanik membran ve orta kulağı olumsuz etkileyeceğini vurgulamaktadırlar (41,42).
2. Witmaack ile ortaya atılan Tumarkin tarafından da desteklenen çevre teorisi. Buna göre çocukluk döneminde geçirilmiş enfeksiyonlar mastoid hava hacmini olumsuz etkilemektedir. Tos da bu teoriyi destekleyenlerdendir (43).

Öte yandan eğer kolesteatoma kitlesi enfekte değilse mastoidde herhangi bir reaksiyon görülmez. Ancak bunun için de mastoidde enfeksiyon bulunmaması gereklidir. Eğer kolesteatoma enfekte ise tıpkı diğer KOM'larda olduğu gibi mastoidde osteit gelişir. Pnömatize mastoidlerde osteitin gelişmesi daha hızlı olur. Buna karşılık sekonder olarak yeni ve sklerotik kemik dokusu gelişimi gerçekleşir (44,45). Kolesteatoma kitlesi ile mastoid hücrelerin ağızlarını tıkar ve havalanma bozukluğuna neden olur. Havalanamayan hücrelerde ise kolesterol granulumu gelişir. Hücrelerin içerisinde mavimsi bir renk farkedilir. Bazı vakalarda bu renk, siyah yeşil tondadır. Kolesterol granulumu için önce fibröz bir granülom şarttır. Fibröz dokunun içine kolesterol kristalleri çöker ve çevrelerinde her yabancı cisimde olduğu gibi dev hücreler gelişir (32).

2.4.2. Kemik DKY'deki Değişiklikler

DKY'deki kemik reaksiyonları genellikle attik lateral duvarında gelişir. Skutum eriyerek kemikçikler görünür hale gelir ve bir çeşit attikotomi kolesteatoma tarafından gerçekleştirilir. Bazen bu harabiyet daha da ileri gider ve köprü kısmen yenir ve açık teknik ameliyatına gitmekten başka çare kalmayabilir. Skutum harabiyeti pars flaksidadan gelişen kolesteatomada daha sıktır.

2.4.3. Kolesteatomada Kemikçikler

Kolesteatomada kemikçiklerin harabiyeti çok sık olarak görülen bir durumdur (32,40). Kolesteatomaların yerleşme yerine göre farklı kemikçiklerde harabiyet görülür ve en sık görülen inkusun uzun kolunun harabiyetidir. Buna karşılık lentiküler proses sağlam kalır ve stapesin başına yapışık bulunur. İnkusun uzun kolunun sık olarak harap olmasının nedeni, buradaki kan akımının kolayca etkilenmesidir. Ancak pars flaksida kolesteatomalarında inkusun kısa kolu, gövdesi ve malleusun başı birinci derecede harap olan kemikçiklerken inkusun uzun kolu sağlam kalır. Anterior attiki tutan kolesteatomalarda ise birinci derecede malleusun başı zarar görür ve inkus sıklıkla sağlamdır. Ancak epitelizasyon vakalarında manibriumun alt ucunda harabiyet saptanır. Pars tensadan gelişen kolesteatomalarda ise önce inkusun uzun kolu, daha sonra da stapes suprastriktörü erir. Genellikle stapes tabanı uzun süre sağlam kalır. Histolojik çalışmalar yassı epitelin direk olarak kemikçiklere temas etmediğini, arada ya bağ dokusu ya da granülasyon dokusunun bulunduğunu göstermiştir (32).

2.4.4. Kolesteatomada Labirent Değişiklikleri

Kolesteatomanın labirente yaptığı tahribatın en önemlisi lateral SSK'larda meydana gelen fistüllerdir. Wayoff'a göre fistül olasılığı %11 olarak değerlendirilebilir. Fistül genellikle lateral SSK'nın en çıkıntılı kısmında görülür ve daha çok arka kısmını işgal eder. Ayrıca, superior SSK ve nadiren de bazı vakalarda

posterior SSK'da fistül saptanmıştır. Lateral SSK'daki fistülle birlikte fasial sinirin ikinci parçasında açıklık bulunma olasılığı % 35'tir (32). Lateral SSK'ın beyazlığının kaybolması ve burada mavi bir çizginin oluşması fistül habercisi olarak kabul edilir. Bunun dışında iki tip fistül ile karşılaşılabilir:

1. Dar fistül: Fistülün kenarları düzenlidir. Keskin bir şekilde fistül kenarları farkedilir. Uzunluğu 2 mm den ve genişliği 0.5 mm den azdır.

2. Geniş fistül: Uzunluğu 2 mm'den ve genişliği 0.5 mm'den büyüktür. Kenarları tam farkedilemez çünkü granülasyon dokusu ile kaplıdır.

Wayoff ve Bremond fistüllerde altı değişik evre bulunduğunu bildirmişlerdir (32).

1. Devre: Fistül habercisi

2. Devre: Fistül bölgesinde kemik erimiştir. Fakat endostium sağlamdır.

3. Devre: Küçük fistüldeki gibi kenarlar düzgündür ve endostium erimiştir. Fakat labirent içinde herhangi bir değişiklik yoktur.

4. Devre: Endostium erimiştir ve labirent içinde septalar meydana gelmiştir. Perilenf görülmez hatta stapes basınçla perilenf hareketi elde edilmez ve sınırlı bir labirent hali vardır.

5. Devre: Membranöz kanal yuvarlak hücrelerle doludur. Yaygın bir labirentit söz konusudur. Bu devreye ulaşmış hastalarda sensörinöral işitme kaybı bulunur.

6. Devre: Yarım daire kanalının içinde kolesteatoma vardır.

Bu sınıflamaya göre ilk iki devrede fonksiyonel bakımdan iyi sonuçlar almak mümkündür. Üçüncü devrede dikkatli davranmak ve fistül üzerinde çalışmamak gereklidir. Altıncı devreye ulaşmış fistüllerde ise mutlaka labirentektomi yapılmalıdır. Kolesteatomaya bağlı olarak promontoryumda fistül görülmesi çok nadirdir. Oval pencerede de fistüle çok seyrek rastlanır. Ancak petröz apeks kolesteatomalarında, kokleanın açılması, karotis kanalının ya da fasial sinirin birinci parçasının açığa çıkması sık görülen komplikasyonlardır (32).

2.4.5. Kolesteatomada Fasial Sinir

Kolesteatoma fasial kanalı destrükte ederek timpanik parça boyunca üst ve ön kısımda fasial kanalı açabilir. Büyük kolesteatomalarda ise fasial kanalın mastoid segmenti de açılmış olabilir. Açıklık daha çok ikinci dirseği geçtikten hemen sonra ya da apeks bölgesine yakın kısımlarda daha sıklıkla görülür. Petröz apeks kolesteatomalarında ise genikulat ganglion ve birinci parça, kısmen ikinci parça da açıkta olabilir. Kolesteatomalı KOM'larda diğer bir güçlük de matriksin parçalanıp granülasyon dokusunun geliştiği vakalardır. Bunlarda oval pencere ve fasial sinirin timpanik parçası granülasyon dokuları ile örtülü olabilir. Bunların arasından stapesi ve fasial sinirin ikinci parçasını diseke etmek büyük sorun yaratabilir (32).

2.4.6. Kolesteatomada Dural Plate ve Lateral Sinüs

Büyük kolesteatomalarda dural plate açılabilir. İncelmiş kemik tabakası kolesteatoma matriksini duradan ayırır. Komplikasyonlu vakalarda ise bu bölgede granülasyon dokusuna rastlanır. Bunlar temizlenince dura ortaya çıkar. Genellikle rengi değişmiştir, sedef parlaklığı kaybolur. Mat grimsi bir renk görülür. Bu bölgede pulsasyon da kaybolmuştur. Sinüs lateralisin açık olduğu vakalar için de aynı şeyler söylenebilir. Sinüs üzerindeki granülasyonlara diseksiyon yaparken dikkatli olunmalıdır. Çünkü granülasyonu diseke ederken sinüsü açma olasılığı vardır (32).

2.5. Kolesteatomanın Patogenezi

Patogeneizde, kolesteatom oluşumu edinsel ve doğumsal olmak üzere iki ana grupta toplanabilir.

2.5.1. Edinsel Kolesteatomalar

Edinsel kolesteatomun patogenezi ile ilgili yüzyılı aşkındır spekülasyonlar olmasına karşın günümüzde hala kolesteatom oluşum sürecini tek başına ve tam olarak açıklayabilecek bir mekanizma tanımlanamamıştır.

Edinsel kolesteatomalar primer ve sekonder olmak üzere iki alt gruba ayrılır.

2.5.1.1. Primer Edinilmiş Kolesteatomalar

Burada timpanik membran sağlam, tuba östaki açık, ancak tuba östakinin çalışması yetersizdir. Primer edinilmiş kolesteatomalar, timpanik membranın dış yüzünü örten derinin orta kulak boşluğuna girmesiyle oluşur. Patogeneze ilişkin birkaç görüş vardır.

İnvaginasyon Teorisi: Tuba fonksiyon bozukluğu nedeniyle negatif basınç oluşur. Pars flaksida retraksiyon ve enflamasyon sonucu epitel ile mukoza sınırında bozulma meydana gelir ve skuamöz epitel içeri girer. Attik submukozasında hiperplazi meydana gelir. Attik boşluğu daralarak Shrapnell membranında ilerleyici çökme olduğu Wittmack tarafından ifade edilmiştir. Doğumda orta kulak, attik ve mastoidde embriyonel mezenkimal doku mevcuttur. Doğumdan bir süre sonra kendiliğinden çekilir. Bazen bu olay uzar ve çekilme gecikir. Zamanla steril veya bakteriyel olmayan enfeksiyonlarla bir enflamasyon gelişir. Sonuçta özellikle attikte kalın bir fibrotik doku meydana gelir. Bu fibrotik doku attikte blokaj yapar ve oluşan negatif basınç fibröz dokudan zayıf olan pars flaksidayı eldiven parmağı gibi içeri çeker. Bu kulaklarda mastoid boşluğun havalanması da bozulmuştur. Zamanla cebin içinde keratin toplanır, klirens bozulur ve enfeksiyonlarla kolesteatoma gelişir. Görünüşleri bazen marjinal perforasyon şeklinde aldatıcı olabilir. Gerçekte perforasyon olmayıp bir invaginasyon söz konusudur (46, 47).

Bazal Hücre Hiperplazisi Teorisi: Pars flaksidadaki epitel hücreleri proliferasyon olarak subepiteliyal dokuya invaze olur. Enfeksiyonlarla timpanik membranın fibröz tabakası ve bazal lamina tahrip olursa, bazal hücre artışıyla subepiteliyal boşluğa papiller çıkıntılar şeklinde epitel dokusu girmektedir. Burada da bazal lamina yıkılır ve epiteliyal hücreler subepiteliyal bağ doku içine girerek mikrokolesteatomalara yol açar (48, 49).

Efüzyonlu Otit Teorisi: Uzun süren efüzyonlarda orta kulak ve mastoid havalanması bozulur. Arka kadranda, özellikle attikte negatif basınçla retraksiyon

cepleri oluşur. Zaman içinde klirens bozulur ve keratin toplanır. Enfeksiyonların yardımıyla kolesteatoma gelişir (48-50).

Epiteliyal Göç Teorisi: Göç olayı sırasında stratum korneumun hareketidir. Merkezde hızlı, çevreye doğru yavaştır. Atelektazik zarlarda ve retraksiyon cepleri içinde migrasyon hızı düşer. Bu nedenle cepler içinde zamanla keratin birikir. Cep derinleşir ve enfeksiyon, granülasyon, kemik erimesi ve sonuçta kolesteatoma ortaya çıkar (48-50).

2.5.1.2. Sekonder Edinilmiş Kolesteatomalar

Bunlar timpanik membrandaki perforasyondan, özellikle marjinal veya attik bölgesindeki perforasyonlardan, epitel dokusunun içeri, orta kulağa girmesiyle oluşur.

Oluşumlarıyla ilgili üç değişik görüş vardır (48-50).

Epitel İnvazyon Teorisi: Bu teoriye göre; keratinize skuamöz epitel, timpanik membrandaki perforasyondan içeri girmektedir. Epiteliyal hücreler, buldukları düzlem boyunca ilerler (kontakt ilerleme). Ancak başka tip bir epiteliyal yüzeyle karşılaşıncı (mukoza epiteli) ilerlemeleri durur (kontakt inhibisyon). Normalde DKY'de epitel göçü dışı doğrudur. Epitel dokusu ters yönde ilerleyerek perforasyondan içeri girer. Kolesteatoma matriksindeki epitel göç hızının fazla olduğu bilinmektedir. Enflamasyon nedeniyle mukozal epitel tahrip olmakta ve perforasyon kenarından içeri giren epitel dokusu kolaylıkla mukozal epitelin yerini alarak kolesteatoma oluşturmaktadır (48-50).

Epitel İmplantasyon Teorisi: Epitel implantasyonu daha çok iatrojenik kolesteatomaların oluşumu için geçerlidir. Cerrahi girişimler sırasında zar veya DKY epiteli orta kulağa kaçar. Greft altında kalan epitel artıkları, içeri kıvrılmış DKY deri flepleri ve ventilasyon tüpü uygulamalarından sonra görülen kolesteatomalar bunlara örnektir. Ayrıca; kazalar, travmalar ve benzeri nedenlerle oluşan perforasyonlardan içeri implante olan epitel dokusu da ileride kolesteatoma oluşturabilir (49).

Epiteliyal Metaplazi Teorisi: Bu görüşe göre orta kulaktaki kübik epitel, keratinize skuamöz epitele dönüşmektedir. Kronik ve yineleyici enfeksiyonlar sonucunda orta kulak mukozasında deskuame ve keratinize skuamöz epitel alanları ortaya çıkmaktadır. Aralıklı devam eden enfeksiyon ve enflamasyon, alttan zara temas ettiğinde lizis ve perforasyona neden olarak attik kolesteatoması görünümü verebilir (51).

2.5.2. Doğumsal Kolesteatomalar

Doğumsal kolesteatomun güncel tanımı 1965 yılında Derlacki ve Clemis tarafından yapılmıştır (52). Buna göre doğumsal kolesteatomdan bahsedebilmek için hastanın öyküsünde kulak akıntısı, timpanik membranda perforasyon ve geçirilmiş kulak operasyonu bulunmaması, pars tensa ve pars flaksidanın normal olması ve timpanik membranın medialinde inci renkli beyaz bir kitlenin var olması gerekir. Ancak 1986 yılında Levenson ve ark. geçirilmiş otitis media öyküsünün olmaması kriterinin bu tanımlamada yeri olmayacağını ileri sürmüşlerdir (53).

Kenji Aimi 1983 yılında yayınlanmış 33 olgunun da meta analizini yaparak doğumsal kolesteatomların sıklıkla orta kulak arka üst kadranında yer aldığını ve böbrek tarzında hem attik ve hem de süperior mezotimpanik boşluğa doğru yayılım gösterdiğini belirtmiştir (54). Timpanik halkanın (timpanik anulus) ektodermal dış kulak kanalının medial sınırını oluşturması nedeniyle bu halkanın oluşumu sırasında gelişen duraksamaların doğumsal kolesteatom oluşumunda rol oynayabileceğini belirtmiştir.

Michaels birkaç yıl sonra doğumsal kolesteatomun oluşumunda amniyotik hücrelerin reflüsü,metaplazi teorisi ve aberan embriyonik hücre kalıntılarını sorumlu tutmuştur (55). Buna göre doğumsal kolesteatom, embriyonik dönemden kalan epidermoid formasyonlardan köken almaktadır. Fetal hayatın 10. haftasında ortaya çıkan ve 33. haftasında kaybolan bu epidermoid formasyonlar; Östaki tüpü (psödostratifiye yassı epitel) ile orta kulak mukozası (küboid epitel) birleşim yerinde lokalize olmaktadır. İşte bu formasyonun kalıntılarının doğumsal kolesteatomun nedeni olduğu kabul gören bir teori olmuştur. Aimi'nin ifadesinin aksine doğumsal

kolesteatomların sıklıkla ön üst kadranda görülmesi bu teoriyi destekler bir bulgudur.

Doğumsal kolesteatomun insidansı hakkında fikir belirtmek zordur. Enfeksiyon ve timpanik membran perforasyonu sonrası ortaya çıkması durumunda edinsel kolesteatomdan ayırıcı tanısını yapmak mümkün olmayabilir (56,57).

Ancak bazı kaynaklarda konjenital kolesteatom insidansı 100.000'de 0.12 olarak bildirilmiştir ve orta kulak konjenital kolesteatomlarının tüm kolesteatom vakalarının yaklaşık %2-5'ini oluşturduğu düşünülmektedir. Çocuklarda konjenital kolesteatomun ortalama görülme yaşı 5.6 ± 2.8 iken, çocuklarda edinilmiş kolesteatomun ortalama görülme yaşı 9.7 ± 3.3 'dür (58,59).

Doğumsal kolesteatomaya; brankiyo-oto-renal sendrom, kemikçik zincirine ait minör malformasyonlar, yarı damak ve pilor stenozu gibi patolojilerin eşlik edebileceği unutulmamalıdır (60).

2.6. Kolesteatomlarda Sınıflama

Kolesteatomlar çeşitli özelliklerine göre sınıflandırılabilirler: kulak burun boğaz hekimlerinin karşılaştığı kolesteatomların hemen hepsi DKY derisinden kaynaklanırlar. Ancak topografik olarak farklı yerlerde yerleşirler (32).

Yerleşme yerlerine göre kolesteatomlar;

- Dış kulak kanalı kolesteatomları
- İatrojenik kolesteatomlar (DKY kemik duvarı altında ve kulak zarı içinde yerleşen kolesteatomlar)
- Orta kulak boşluğunda yerleşen kolesteatomlar; bunlar da “konjenital” ve “akkiz” kolesteatomlar olmak üzere iki büyük gruba ayrılırlar.

Konjenital kolesteatomlar da yerleşme yerlerine göre;

- Konjenital orta kulak kolesteatomları
- Petröz apeks kolesteatomları olmak üzere iki büyük gruba ayrılırlar.

Akkiz kolesteatomlar ise ;

- Primer akkiz kolesteatomlar
- Sekonder akkiz kolesteatomlar olmak üzere ikiye ayrılırlar.

Gelişim yollarına göre kolesteatomlar;

- Anterior epitimpanum kolesteatomları
- Posterior epitimpanum kolesteatomları
- Posterior mezotimpanum kolesteatomları olarak sınıflandırılmışlardır.

Morfolojik görünümüne göre kolesteatomlar;

- “Hernial sac” kolesteatomları
- “Finger-like” kolesteatomalar
- Epidermozis şeklinde sınıflandırılmışlardır.

Cerrahi tedavi sonrasında nükslerine göre de;

- Rezidüel kolesteatomalar
- Rekürrent kolesteatomalar olarak sınıflandırılırlar.

2.6.1. Dış Kulak Kanalı Kolesteatomaları

Kemik dış kulak kanalının arka-alt kadranında keratin debrislerinin toplanmasıyla karakterize seyrek görülen bir otolojik tablodur. DKY kolesteatomu primer yada sekonder olarak meydana gelebilmektedir. Primer DKY kolesteatomu çok nadir görülen bir tablo olup insidansının 1000 yeni kulak hastasında 1 olduğu bildirilmiştir. DKY kolesteatomu için; spontan, konjenital (konjenital DKY stenozuna bağlı), iyatrojenik (kulak ameliyatları sonrasında), travma sonrası, obstruksiyona bağlı (obstruksiyon yapan osteoma, fibröz displazi, yabancı cisim gibi nedenlere bağlı) ve enflamasyona bağlı (kronik eksternal otit sonrası) şeklinde

sınıflamalar da yapılmıştır (61). DKY kolesteatomunun etyopatogenezi tam olarak ortaya konulamamıştır. Burada iki temel teori vardır: birincisi, kanal derisine olan minör travmalar sonucu meydana gelen enflamasyon periosta kadar inmekte ve kemik nekrozuna neden olmaktadır. Bu nekrotik kaviteye skuamöz epitel girer ve keratin debrisler toplanmaya başlar. İkinci görüş ise migrasyon hızının azalmasına bağlı olabileceğidir. Migrasyon hızının azalmasının; timpanik membran ve DKY derisinin kanlanması azalmasına bağlı meydana gelen hipoksik durum ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (62,63).

2.6.2. İatrojenik Kolesteatomalar

Genellikle timpanoplasti ameliyatları, parasentez ya da ventilasyon tüpü takılması gibi cerrahi müdahaleler sonrasında ortaya çıkarlar. Greftlerken DKY epitelinin greftin altında kalması, zar kalıntısının içe dönmesi veya dış kulak kanalı epitelinin orta kulağa girip hapsolmesiyle ortaya çıkan ve greftin altında beyaz yuvarlak bir kitle(pearl) olarak görülen kolesteatomlardır. Büyük bir kısmı anulus veya anulusa yakın bölgelerde görülür. Basit bir lokal insizyonla alınabileceği gibi orta kulak boşluğunda yerleşenler için timpanotomi de yapılabilir, çevresi kontrol edilir, gerekirse yeni greftleme yapılır (32).

2.6.3. Doğumsal Kolesteatoma

Orta kulağın embriyolojik gelişmesi sırasında orta kulak, petröz kemik ve mastoidde hapis kalan yassı epitelden gelişen kolesteatomlardır. Literatürde “developmental kolesteatoma” adı da verilmektedir (32).

1986 yılında konjenital kolesteatomalar üzerine Michaels tarafından yapılan en kapsamlı çalışmada şu bulgulara ulaşıldı:

İnsan fetal temporal kemiklerinde timpanik kavitenin ön üst ve dış tarafına rastlayan bölgede, epidermoid yapı adını verdiği yassı epitel kalıntlarına rastlandı. Epidermoid yapıların buldukları yer östaki tüpünün yalancı çok katlı epiteli ile

orta kulak kuboid epitelinin birleşme yeri idi. Yani birinci brankiyal yarığın östaki tüpünü yapıp orta kulağa girdiği ve orta kulak mukozası ile karşılaştığı noktayı (32).

Aimi ise konjenital kolesteatomların patogeneğinde timpanik halkanın önemini vurgulamıştır. Konjenital kolesteatomların meydana geliş yerleri ile timpanik istmusun ilişkili olduğunu saptamıştır (32).

Özetleyecek olursak; fetal hayat sırasında DKY epitelinin annüler halkanın ötesine orta kulağa invaze olması ile ortaya çıkar. Timpanik halkanın gelişmesindeki gecikme bunun nedeni olabilir (32).

Konjenital kolesteatomalar sağlam timpanik membran arkasında beyaz kitle olarak ve çoğu kez belirti vermediği için rastlantıyla saptanır. Bazen de parasentez veya ventilasyon tüpü takılması sırasında tanı konur. Olguların 2/3'ünde orta kulağın ön-üst kısmında yer alır. Geri kalan 1/3'ü ise orta kulak boşluğunun arka-üst kısmına yerleşir ve çoğu zaman kemikçik zincirini etkiler. Olguların çok az bir kısmında ise, ön-alt bölümde yer alır. Kraniumun içinde herhangi bir yerde, ancak özellikle orta kulak, mastoid, petröz apeks ve dış kulak kanalında yerleşir (51).

2.6.4. Petröz Apeks Kolesteatoması

Petröz apeks kolesteatomaları oldukça seyrek görülürler. Konjenital ve edinsel olarak iki gruba ayrılırlar.

Konjenital olanları petröz kemik içinde ve iç kulak yoluna yakın olarak ortaya çıkarlar. Östaki borusu ve A. Carotis Interna çevresindeki hücreler içinde gelişirler ve büyük çaplara erişirler. Bazıları ise infralabirintin olarak gelişir ve orta kulak boşluğunda ve labirent çevresinde yer alırlar (32).

Embriyonel hayatın 7. haftasında DKY epiteli ile orta kulak mukozası aralarında mezenkimal bir doku olmadan karşı karşıya gelmekte ve petröz apeks kolesteatomalarının bu esnada oluşabileceği düşünülmektedir (64).

Gacek'e göre (65); embriyonel hayatın 3. ve 5. haftaları arasında nöral çatı

kapanır ve başın sefalik fleksiyonu esnasında epitelyal kalıntılar foramen laseruma doğru migrasyona uğrayabilir ve bu epitelyal kalıntılardan kolesteatoma meydana gelebilir.

Edinsel petröz apeks kolesteatomaları ise KOM sonucunda ortaya çıkan kolesteatomaların sekonder olarak petröz apeksi tutması ile meydana gelir (64).

2.6.5. Edinilmiş Kolesteatomalar

Kolesteatoma yerleşim yerlerine göre; posterior epitimpanik, anterior epitimpanik ve posterior mezotimpanik olmak üzere üç grupta toplanır.

1. Posterior Epitimpanik Kolesteatoma: Arka attikte yerleşen kolesteatoma, Prussak boşluğunu delerek arkaya doğru, inkusun dış yüzünden geçerek önce aditusa, sonra da antruma girer. Aynı kolesteatoma, Prussak boşluğunun tabanını delerek, Von Troeltsch boşluğunun arka kısmını kullanarak orta kulağa da geçebilir (51).

2. Anterior Epitimpanik Kolesteatoma: Bu bölge, malleus başı ile supratubal bölge arasında kalmaktadır. Kolesteatoma, tüm anterior attiki doldurarak, supratubal resese kadar ulaşabilir. Von Troeltsch cebinin ön kısmından, aşağı doğru orta kulağa kadar uzanabilir (51).

3. Posterior Mezotimpanik Kolesteatoma: Pars tensanın arka kısmı, mezotimpanuma doğru retrakte olarak kolesteatoma kesesi oluşturur. Kese genişledikçe, sinus timpani ve fasial resese doğru ilerler (51).

2.6.6. Rezidiv Kolesteatomalar

Bunlar, rezidüel ve rekürren olmak üzere iki grupta incelenir. Rezidüel kolesteatoma cerrahın ilk ameliyatta bilerek veya hata sonucunda bıraktığı skuamöz epitel dokusunun oluşturduğu kolesteatomadır. Çoğunlukla; anterior attik, timpanik sinüsler ve oval pencere çevresinde oluşur. Daha az sıklıkla stapes tabanı ve

bacakları arasında ve fasial kanal ile lateral SSK çevresinde kalan epitel dokusundan gelişir. Rekürren kolesteatoma cerrahi olarak tamamen temizlenen, orta kulakta, retraksiyon cebinden kaynaklanan yeni bir kolesteatoma oluşumudur. Bu tip kolesteatomalar, posterior attik ve posterior mezotimpanumda oturur.

2.7. Kolesteatomanın Evrelemesi

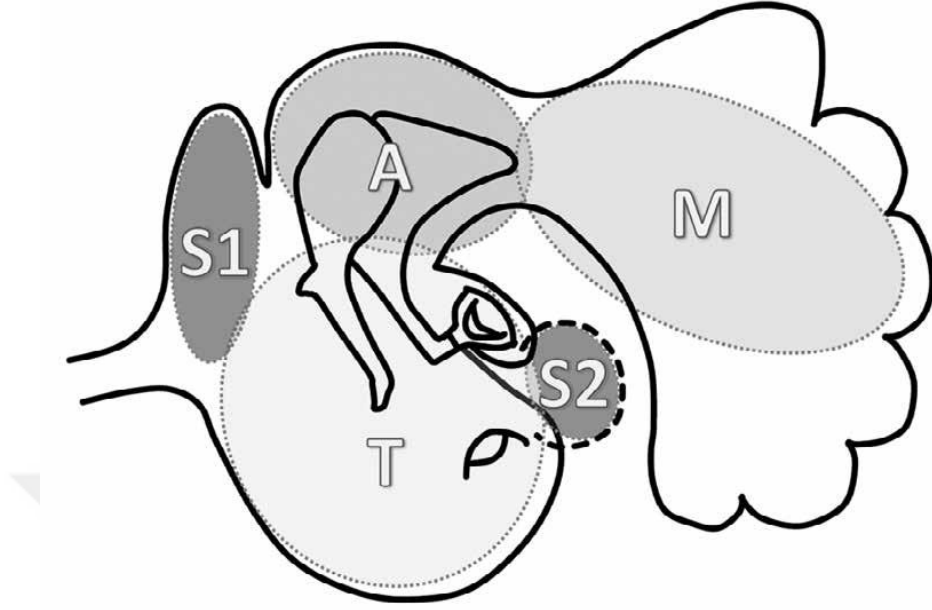
1986 yılında Meyerhoff ve Truelson (66) tarafından oldukça detaylı bir evreleme yapılmış ancak klinik kullanımındaki zorluğu nedeniyle pek kabul görmemiştir. Bu evreleme kolesteatom patofizyolojisini, yerleşimini, östaki tüp fonksiyonunu, kemikçik defektini, komplikasyon varlığı veya yokluğunu içermektedir.

Tos (67) ise 1988 'de klinik otoskopik muayeneye göre sınıflamayı tariflemiştir. Buna göre kolesteatomanın yerleşimi; attik, pars tensa I (marjinal yerleşimli), pars tensa II (santral yerleşimli) olarak ayrılmıştır ve sağlam timpanik membran gerisindeki kolesteatom dördüncü bir kategori olarak tariflenmiştir. Ancak buna göre otoskopik muayenede görülemeyen temporal kemiğin diğer kısımları sınıflanamadığı için bunun üzerine bu sınıflamaya supralabirentin, infralabirentin, masif labirentin, apikal infralabirentin alt kısımlarını eklemiştir (68).

Saleh ve Mills (69) yaptıkları sınıflama ile kolesteatomun yayılabileceği kısımları yediye bölmüşlerdir. Bu kısımlar attik, antrum, orta kulak, mastoid, östaki tüpü, labirent ve orta kafa çukurudur. Eğer kolesteatom bu yedi bölümden birini tutmuş ise evre 1, ikisini tutmuşsa evre 2, üçünü tutmuşsa evre 3, dördünü tutmuşsa evre 4, beş veya daha fazla bölümü tutmuşsa evre 5 olarak kategorize edilmiştir.

2016 yılında Avrupa Otoloji ve Nörootoloji Akademisi (EAONO) ve Japon Otoloji Topluluğu (JOS)'nun ortak çalışmasıyla "kolesteatoma tanımı, sınıflaması ve evrelemesi" sunulmuştur. Konsensusa katılan diğer uluslararası otoloji komitelerinin de oylaması, onayı ve katkılarıyla "kolesteatomanın tanımı" %89 onay ile, "kolesteatomanın sınıflandırılması" %98 katılımı, "kolesteatomanın evrelendirilmesi" de %75 kabul ile büyük oranda onaylanmıştır. Bu güncel evreleme sistemine göre (70):

Orta kulak boşluğunun bölümleri (STAM sistemi)



Şekil 7: STAM sistemine göre orta kulağın bölümleri

Sınıflamayı basitleştirmek amacıyla, orta kulak ve mastoid kavite 4 alana bölünmüş: zor ulaşılan alanlar (S), orta kulak boşluğu (T), attik (A) ve mastoid(M-antrum ve mastoid hücreleri içerir). Ulaşımı zor alanlar(S); S1 supratubal reses(diğer adıyla anterior epitimpanum veya protimpanum) ve S2 sinüs timpani olarak ikiye ayrılmakta.

Bu önerilen evreleme sistemi kolesteatomun 4 tipi için uygulanmaktadır: pars flaksida kolesteatomu, pars tensa kolesteatomu, konjenital kolesteatom ve pars tensa perforasyonuna sekonder gelişmiş kolesteatomlar.

Evre I: Orijin aldığı bölgede lokalize olan kolesteatomlar

Evre II: İki veya daha fazla bölgeyi içeren kolesteatomlar

Evre III: Ekstrakranyal komplikasyonların eşlik ettiği veya fasyal paralizi,labirent fistülü, labirentit, postaurikuler abse veya fistül,zigomatik abse, boyun absesi, dış kulak kanalında destruksiyon, tegmende onarım gerektirecek düzeyde destruksiyon

ve adeziv otit-pars tensada total adezyon durumlarından herhangi birinin eşlik ettiği kolesteatomlar

Evre IV: Intrakranyal komplikasyonların (pürülan menenjit,epidural abse,subdural abse,beyin absesi,sinüs trombozu,mastoid kaviteye beyin herniasyonu) eşlik ettiği kolesteatomlar

Evreleme sisteminin ilgili olduğu kolesteatom tipleri:

1. Pars Flaksida Kolesteatomu (Attik Kolesteatom)

Evre I: Attikte lokalize kolesteatom

Evre II: 2 veya daha fazla STAM bölgesini içeren kolesteatom olması

Evre III: Ekstrakranyal komplikasyonların eşlik ettiği kolesteatom varlığı

Evre IV: Intrakranyal komplikasyonların eşlik ettiği kolesteatom varlığı

2. Pars Tensa Kolesteatomu, Sekonder Edinilmiş Kolesteatom, Konjenital Kolesteatom

Evre I: Timpanik kavitede lokalize kolesteatom

Evre II: 2 veya daha fazla bölgeyi içeren kolesteatom varlığı

Evre III: Ekstrakranyal komplikasyonların eşlik ettiği kolesteatom varlığı

Evre IV: İntrakranyal komplikasyonların eşlik ettiği kolesteatom

2.8. Kolesteatoma Gelişimini Etkileyen Mekanizmalar

Tüm kolesteatom türleri için öne sürülen teorilerle ilgili deneysel ve klinik kanıtlar bulunmakla birlikte, hiçbir teori için kesinleşmiş net bir kanıt yoktur. Bununla birlikte hangi grupta sınıflandırılırsa sınıflandırılınsın tüm kolesteatomlar benzer özellikler gösterir. Bu özellikler invazyon, migrasyon, artmış proliferasyon, değişmiş hücre farklılaşma özellikleri, saldırgan büyüme ve hastalığın tekrarlama eğilimidir (71).

Gerek kazanılmış gerekse konjenital kolesteatomların patogenezi ile ilgili temelde cevaplandırılması gereken iki soru vardır; keratinize yassı epitelin nereden kaynaklandığı ve epidermisin aşırı proliferasyon göstermesini ve invaziv karakterini hangi faktörlerin etkilediği. Kolesteatom büyüme kontrol bozukluğu ile karakterize bir hastalık olarak tanımlanabilir. Bu büyüme kontrol bozukluğunun nedeni olarak ise kolesteatomu oluşturan yassı epitelin DKY ve kulak zarındaki yassı epitelden farklı karakterlere sahip olması ve kolesteatom epitelindeki büyüme kontrol mekanizmalarının bozulması suçlanmaktadır (71). Literatürde kolesteatom epitelinin özelliklerini ortaya koymak için DKY cildi ya da retroauriküler cildin kontrol gurubu olarak kullanıldığı pek çok çalışma yapılmıştır (71-73).

Yapılan çalışmalar sonucunda kolesteatomun hiperproliferatif karakterinin ortaya konması ile birlikte düşük gradeli bir tümör olabileceği öne sürülmüştür. Desloge ve ark. yapmış oldukları çalışmada kolesteatom örnekleri ile postauriküler bölge cildinden aldıkları örnekleri DNA içeriği açısından karşılaştırmışlardır. İncelenen örneklerin hemen hemen tamamında normal öploid hücre içeriği tespit edilmiştir. Sonuç olarak kolesteatomun düşük dereceli bir tümör olmadığı sonucuna varılmıştır (74). Ancak literatürde kolesteatom epitel hücrelerinde anöploidi sıklığının fazla olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. Lavezzi ve ark. inceledikleri kolesteatom örneklerinin %52'sinde trizomi 7 varlığını göstermişler ve kolesteatomun hiperproliferatif özelliğini, epidermal büyüme faktörü reseptör (Epidermal growth factor receptor, EGF-R) geninin 7. kromozomda bulunması ve bu genin fazla ekspresyonu ile açıklamışlardır (75). Bununla birlikte, kolesteatomda meydana gelen genetik değişikliklerin kromozomal düzeyde değil gen düzeyinde olduğu düşünülmektedir.

Tokuriki ve arkadaşları çalışmalarında kolesteatom dokusunda ve postauriküler cilt örneklerinde artışa uğrayan ve azalan genleri araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre kolesteatom dokusunda, hücre çoğalması ve farklılaşması ile ilişkili genlerin düzeylerinde artış olduğu saptanmıştır. Katepsinler intrasellüler ve ekstrasellüler proteinlerin yıkımında rol oynayan lizozomal proteazlardır. Kolesteatom patogenezinde de bazal membranın yıkılmasında rol oynadıkları düşünülmektedir. Bu çalışmada tespit edilmiş olan gen ürünlerindeki artış,

kolesteatomda aşırı keratin üretimine neden olan keratinosit farklılaşmasındaki ve migrasyonundaki değişikliklerin bir nedeni olarak gösterilmektedir (76). Kolesteatom patogenezi ile ilgili olduğu düşünülen 21 gen tekrar ters transkriptaz-PCR (Polymerase chain reaction) yöntemi ile incelenmiş ve artmış gen salınımı teyit edilmiştir (77).

Kolesteatomda, normalde keratinositlerde görülen hücre proliferasyonu ve programlanmış hücre ölümü arasındaki denge bozulmuştur. Hücre ölümü ve hücre canlılığı, hücre ölümü inhibitörleri ve stimülatörlerinden oluşan geniş bir gen ailesinin aktivitelerinin değerlendirilmesi ile tespit edilir (78).

Tümör supresör genlerle ilgili yapılan çalışmalarda kolesteatomda p53 geninin postauriküler cilde göre 9 ile 20 kat artmış salınımının olduğu gösterilmiştir (79). p53, hücre siklusu kontrolünde en önemli genlerden birisidir. p53 gen ürünleri hücre çoğalmasının kontrol edilmesinde, hücre farklılaşmasında ve programlanmış hücre ölümünde rol oynarlar. Artan p53 gen proteinleri salınımının, kolesteatomda çoğalması artmış olan değişime uğramış hücrelerin kontrolsüz çoğalmasını engellediği düşünülmektedir (71,79,80).

Kolesteatomda çalışılan genlerden birisi de c-myc onkogenidir. C-myc, hücre çoğalmasının kontrolünde, hücre farklılaşmasında ve apoptoziste rol oynayan bir genidir (81,82). Holly ve ark. yaptıkları çalışmada c-myc geninin kolesteatomda DKY cildine göre artmış salınım gösterdiğini kanıtlamışlardır (83). Öztürk ve ark. ise, birincil edinilmiş kolesteatomda c-myc geninin yerleşim gösterdiği 8. kromozom anöploidisi ve c-myc kopya sayısında artış olduğunu göstermişlerdir (82).

Kolesteatomda artmış olan hücre proliferasyonu beraberinde artmış hücre ölümünü (apoptozis) getirmektedir. Bu ise keratin debris birikimi ile sonuçlanmaktadır (71,80,84,85). Miyazaki ve ark. kolesteatom epitelindeki terminal farklılaşma ve apoptozis süreçlerinin normal cilt ile benzer olduğunu belirtmişlerdir. Keratin debrislerinin birikimine neden olan faktörün ise artmış olan proliferasyonu dengelemek için artan apoptozis olduğunu savunmaktadırlar (86). Kojima ve ark. ise kolesteatomdaki keratinositlerin çoğalmasının malign tümörlerdeki gibi kontrolsüz olmadığını, çoğalan ve apoptozise uğrayan hücrelerin sadece sayılarında artış

olduğunu belirtmektedirler (87). Bununla birlikte, artmış apoptotik indeksi olan kolesteatomların tekrarlama eğiliminin daha fazla olduğu öne sürülmektedir (88).

Kolesteatomda ise EGF-R (epidermal growth faktör-reseptör) sistemine ait regülasyon bozuklukları ve EGF- R'nin artmış salınımı yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Benzer bulgular keratinosit büyüme faktörü reseptörü (keratinocyte growth factor receptor, KGF-R) için de tespit edilmiştir(71,89,93).

Kolesteatom epitelinin normal dışı fonksiyonlar göstermesinde kolesteatoma eşlik eden inflamasyon dokusundaki immün sistem hücrelerinden salgılanan sitokinler ve büyüme faktörleri de sorumlu tutulmaktadır. Yapılan çalışmalarda kolesteatom dokusunu çevreleyen stromada artmış makrofaj ve lenfosit sayıları ile birlikte interlökin-1 (IL-1), TGF-alfa düzeylerinde artış tespit edilmiştir (91). Yine lenfositler arasında ve lenfositlerle diğer hücreler arasında iletişimde önemli rol oynayan intersellüler adezyon molekülü-1 (intercelluler adhesion molecule-1, ICAM-1) ve intersellüler adezyon molekülü-2 (intercelluler adhesion molecule-2, ICAM-2) düzeyleri kolesteatom dokusunda yüksek bulunmuştur. Bu moleküllerin kolesteatomdaki inflamatuvar olaylarda merkezi rol oynadığı belirtilmektedir (94). İnflamasyon kolesteatomda her zaman için izlenen bir bulgudur. İnflamasyon vücutta doku hasarına karşı gelişen normal bir immün cevaptır. Hasarlanan dokunun tamir edilmesi ve fonksiyonlarını tekrar kazanması için gereklidir. İnflamatuvar cevap akut olabileceği gibi, kolesteatomda olduğu gibi kronik de olabilmektedir. Kolesteatom stromasının aktive olmuş T-lenfositler ve makrofajlar tarafından infiltrasyonu bu kronik inflamatuvar cevabın kanıtıdır (71,95). Ottaviani ve ark. kolesteatom dokusunda immün sistemin oynadığı rolü değerlendirmek amacıyla kolesteatom ile psöriazisin benzer özelliklerinden yola çıkmışlardır. Psöriazis de kolesteatom gibi hücre çoğalması ve inflamasyonun izlendiği bir hastalıktır. Bu nedenle psöriaziste daha önce araştırılmış sitokinlere ve adezyon moleküllerine kolesteatom dokusunun matriks ve perimatiksinde tekrar bakmışlardır. Bu çalışmada kolesteatom dokusunun perimatiks tabakasında T- helper hücreler (CD4+), plazma hücreleri, dağınık olarak bulunan T-süpressör hücreler (CD8+) ve B-hücreleri ile birlikte özellikle epitele yakın bölgelerde mast hücreleri tespit edilmiştir. ICAM-1 ve endotel kaynaklı lökosit adezyon molekülü-1 (endothelial derived leukocyte adhesion molecule-1, ELAM-1)

inflamatuar hücrelerin toplanmasında ve immün cevabın düzenlenmesinde fonksiyon görür. Perimatriksdeki endotelial dokunun ICAM-1 ve ELAM-1 ile yoğun boyandığı tespit edilmiştir. Yine interferon-gamma reseptörünün (IFN-gammaR) ve EGF-R'nin kolestatom matriksinde yoğun boyanma gösterdiği tespit edilmiştir. İnterlökin-4 (IL-4) ve IL-4 reseptörü, interlökin-10 (IL-10) ve IL-10 reseptörünün ise kolestatom matriksinde olmadığı tespit edilmiştir. Bu bulgu ise T- helper1 lenfosit subpopülasyonunun kolestatomdaki inflamatuvar reaksiyonlarda daha baskın rol oynadığını göstermektedir (96).

Kolestatomda inflamasyona bağlı olarak ortaya çıkan uyarılar yara iyileşmesi sırasında organizmada gerçekleşen olaylar zincirini tetiklemektedir. Kolestatomda inflamasyonun sürekli olarak varlığını koruması beraberinde yara iyileşmesinin de süreklilik kazanmasına ve fibroblast ve epitelial hücrelerde proliferasyona neden olmaktadır (71).

Anjiogenezis yeni kan damarlarının oluşumunu ifade etmektedir. Gerek yara iyileşmesi süreci gerekse inflamasyon beraberinde artmış anjiogenezisi getirir. Sudhoff ve ark. yapmış oldukları çalışmada kolestatom dokusunda anjiogenezis ile ilişkili olan fibroblast büyüme faktörü-2 (fibroblast growth factor-2, FGF-2), TGF-alfa, TGF-beta1 ve vasküler endotel büyüme faktörü (vascular endothelial growth factor, VEGF) düzeyleri ile kolestatomdaki vaskülarizasyonun özelliklerini araştırmışlardır. Bu çalışmada perimatrikste vaskülarizasyonun, orta kulak mukozasına göre 4.3 kat, DKY cildine göre ise 2 kat daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. İncelenen büyüme faktörlerinin ise dağılım ve üretiminde değişiklikler tespit etmişlerdir (97). Gerek kolestatom dokusundaki keratinositlerin, gerekse inflamatuvar dokudaki lökositlerin anjiogenetik faktörler salgıladıkları bilinmektedir ve kolestatom dokusundaki endotel hücrelerinin çoğalmasından her iki faktör de sorumlu tutulmaktadır (71).

Ayrıca kolestatomdaki kemik yıkımın önüne geçmek amacıyla, osteoporoz tedavisinde de kullanılan bir ilaç grubu olan bifosfonatlarla ilgili hayvan deneyleri mevcuttur (98,99). Ancak bu çalışmalardan elde edilen sonuçların kliniğe uygulanabilirliği günümüz için olanaklı görünmemektedir.

2.9. Sıçan Kulağı Anatomisi

19. yüzyılda Claude Bernard, deneysel fizyolojik deneyler için canlı hayvan kullanımının gerekliliğinden söz etmiş ve Fransa'da "Fransız Araştırma Okulu"nun kurulmasından sonra da Claude Bernard'ın çalışmaları ile deneysel tıp hız kazanmıştır. Kayıtlara göre sıçanlar 1877'lerden beri laboratuvarlarda yetiştirilmektedir. İlk albino sıçan ise 1906'da koloni standardizasyonu yapılmaya çalışılırken bir Amerikalı tarafından bulunmuştur. Akabinde bu sıçanlardan farklı ırklar oluşturulmuştur.1906 yılında üretilen koloniden bugünkü laboratuvar sıçanlarının ataları ortaya çıkmıştır. Wistar Enstitüsü üretimini sürekli artırarak 1911-1928 yılları arasında A.B.D. içinde ve dışında birçok laboratuvar ve enstitüye satış yapmış ve daha sonra başka isimlerle üretilen koloniler büyük ölçüde Wistar Enstitüsünün kolonilerinin melezlemelerinden ortaya çıkmıştır. Günümüzde 130'dan fazla sıçan soyu sayabiliyoruz. Bunların 50'den fazlası kısmen ya da tamamen Wistarlardan üretilmiştir (100).

Çeşitli sıçan soyları

Wistar albino

Lewis

Sprague Dawley

Brown norvegian

Fisher 344



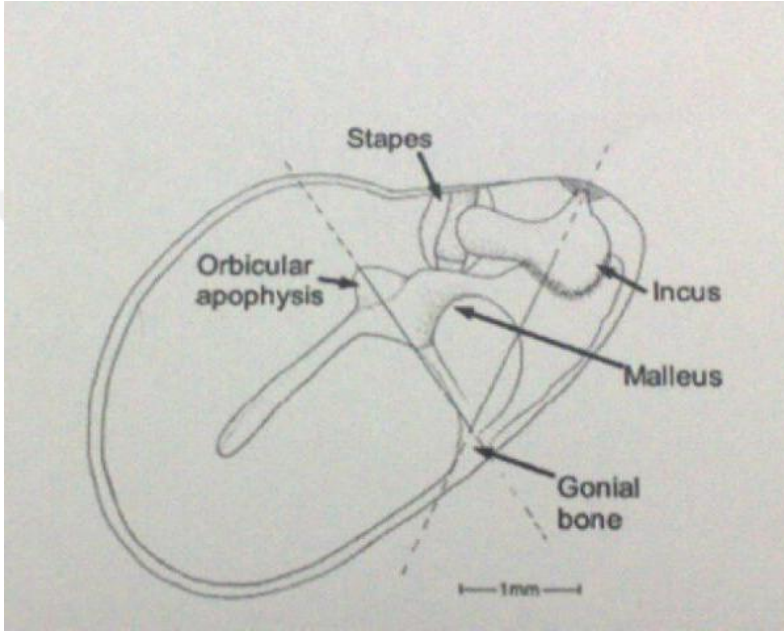
Resim 1. Wistar Albino cinsi ratların görünümü.

Sıçanlarda dış kulak yolu, hilal benzeri yapıda olan tabandaki üç adet kemik halka ve yukarıda aurikular kıkırdağın devamı olan bir adet kıkırdak halka tarafından oluşturulur (100).

İnsan orta kulağındaki tüm anatomik yapılar sıçan orta kulağında da bulunmaktadır. Sıçandaki kemikçikler insandakilere göre çok daha küçük olup boyları neredeyse insandakilerin dörtte biri kadardır (101). Fleischer, sıçan orta kulak morfolojisini ve mikrotip organizasyonunu tanımlamıştır (102). Bu dizaynın iki ayırt edici özelliği vardır:

- 1) Malleus, gonial bone bölgesinde timpanik anulusa yapışıktır.
- 2) Malleus başı üzerinde orbiküler apofiz olarak adlandırılan geniş bir kitle vardır.

İnsanlarda, timpanik membran alanı yaklaşık 66 mm^2 ‘olmasına rağmen bu alan sıçanlarda yaklaşık 11 mm^2 ‘dir (103). Pars tensa ve pars flaksidanın rölatif boyutları da tamamen farklıdır. Timpanik membranın total büyüklüğü ile kıyaslandığında insanlar çok küçük bir pars flaksidaya sahip iken, sıçanlarda pars flaksida timpanik membranın 1/4 ila 1/3’ünü oluşturur.



Şekil 8. Sıçan orta kulağı. Lateralden timpanik membran kaldırılmış halde.

Sıçan orta kulağında insanlardaki antruma karşılık gelen küçük bir bulla ve genellikle kapalı olan, horizontale yakın izlenen östaki tüpü vardır. Östaki tüpü mukozasında, büyük çoğunlukta goblet hücreleri, daha az miktarda da muköz glandlar bulunmaktadır (104). Sıçanlarda östaki tüpü açılma basıncı insandakine benzerlik göstermektedir (105). Sıçan orta kulağı temporal kemikte yerleşmiş ve iyi korunmuştur. Timpanik membrana muayene için sıradan bir otomikroskop ile kolayca ulaşılabilir. Sıçan orta kulağının üç boyutlu yapısı insaninkine benzer. Ancak mastoid hücreler yerine kavite tabanından çıkıntı yapan timpanik bulla mevcuttur (106). Pars tensa ve geniş pars flaksidası ile timpanik membran, lateral duvarın büyük kısmını oluşturur. Medial duvarda promontoryum, yuvarlak pencere, stapes ile

birlikte oval pencere ve östaki tüpünün timpanik ağız yerleşmiştir. Silyalı ve sekretuar iki kanal dışında timpanik kavite, basit, skuamöz küboidal, silyasız epitel ile döşelidir. Patolojik koşullar sırasında bu basit epitel değişip, silyalı ve sekretuar hücreler-kanallar dışında- yüksek sayıda görülür.

İnsanlarda, malleus-inkus kompleksi genellikle, en azından düşük frekanslarda, iki asıcı ligaman doğrultusunda olan rotasyonel aks özelliğine sahiptir. Bu iki ligaman; anterior malleolar ve posterior inkudal ligamanlardır. Fleischer'a göre, mikrotip kulakta, malleusun timpanik anulusa belirgin fiksasyonuna(gonial bone bölgesinde) rağmen kompleks hala rotasyon yapabilir. Bu ilişki ve inkus kısa kolunun bağlantısı insandakine benzer rotasyonel aks oluşturur. Sıçanlar ile insanlar arasındaki farklardan biri, sıçanlarda manubriumun, rotasyon aksına paralele yakın yerleşmesidir. Fleischer genişletilmiş model üzerinde yaptığı çalışmalarda orbiküler apofizin meydana getirdiği ek kitlenin, malleus-inkus kompleksinin yerini değiştirdiğini bulmuştur. Bu da yüksek frekanslarda, malleusun transvers bölümü doğrultusunda ikinci bir rotasyon aksı oluşturmaktadır. Böylece mikrotip kulakların iki tane rotasyon aksı olduğu ve malleusların iki adet net olarak tanımlanmış vibrasyon modu olduğu sonucuna varmıştır (102).

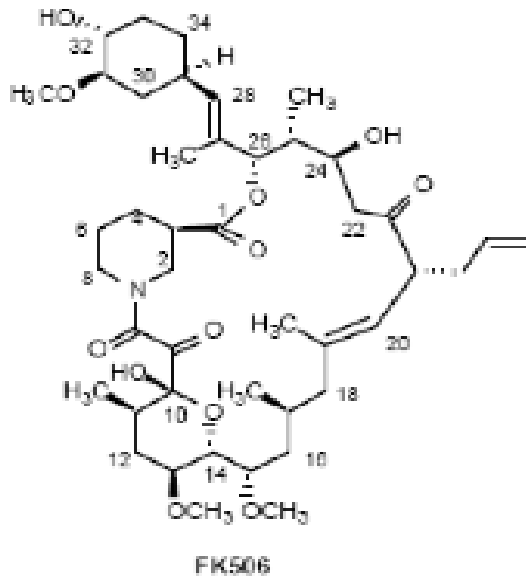
2.10. Takrolimus

İlk defa 1984 yılında *Streptomyces tsukubaensis*'in fermantasyon ürünü olarak tespit edilen Tacrolimus (Prograf®), 822daltonluk lipofilik makrolid grubu bir antibiyotiktir (107). Keşfedildiğinde FK506 olarak kodlanan bu ajan daha sonra, *Tsukuba macrolide* immunosupresi ve kelimelerinden esinlenilerek TACROLİMUS adını almıştır.Klinikte ilk kez 1994 ve 1997'de sırasıyla karaciğer ve böbrek transplantasyonunda akut rejeksiyonu önlemek amacıyla kullanılan Takrolimus,kalsinörin inhibitörü immünsupresif ilaç grubundandır (108). Daha sonraki yıllarda diğer organ transplantasyonlarında ve çeşitli otoimmün hastalıklarda da giderek artan biçimde kullanılmaya başlanmıştır (108,109).

Siklosporin de kalsinörin inhibitörleri grubunda yer alan güçlü immünsupresif ajanlardan olmasına karşın, Takrolimus'un in vitro testlerde CD4+

lenfositler üzerindeki inhibitör etkisinin, siklosporinin etkisinden 50-100 defa daha güçlü olduğu bulunmuştur (110).

Takrolimus'un kimyasal formülü $C_{44}H_{69}NO_{12}$. H_2O 'dur. Suda çözünmez, satüre hidrokarbonlarda az miktarda, lipid ve diğer organik çözücülerde yüksek oranda çözünür (108). Güçlü lipofilik özelliğe sahip olan takrolimus; metanol, kloroform, aseton, etanol ve propilen glikol içerisinde iyi çözünür (111).



Şekil 9. Takrolimus'un kimyasal formülü.

Takrolimus'un emilimi büyük ölçüde değişken olduğundan kan konsantrasyonları çeşitlilik gösterebilir ve biyoyararlanımı %5-67 arasında (ortalama %29) değişir. Pediatrik hastalarda klirensi fazla olduğu için daha yüksek dozlar gerekebilir (112,113). Takrolimus, barsaktan emilimi takiben kana geçtikten sonra öncelikli olarak albumin gibi plazma proteinlerine bağlanır, eritrositler ve lenfositlerde dağılır. Bu nedenle kan konsantrasyonu plazmadan 10-30 kat daha yüksektir. Takrolimus atılmadan önce neredeyse tamamen metabolize edilir. Takrolimus temel olarak CYP3A4 enzim sistemi tarafından metabolize edilir. Ana metabolizma yolları demetilasyon ve hidrosilasyondur (114). Ana metabolizma

ürünü olan 31-O-demetil-Takrolimus immüsupresif etkiye sahiptir. İlacın kan dozunun sadece % 1'i böbreklerden, büyük kısmı ve metabolitleri feçesle atılır (115).

Takrolimus esas olarak T hücrelerinin aktivasyonu ile etkileşime girerek immüsupresif etkisini gösterir ve T hücrelerine girdikten sonra FK506 bağlayıcı proteine (FKBP) bağlanır. Bu kompleks kalsinörin fosfatazı inhibe eder. Kalsinörin fosfataz T hücrelerinin nükleer faktörünün aktivasyonunda görev alır. T hücrelerinin nükleer faktörü, T hücrelerinden sitokin üretilmesi için gerekli transkripsiyon faktörüdür ve kalsinörin Takrolimus tarafından bloke edilmesi IL-2,- 3,-4,-5, İnterferon- γ , TNF- α , Granülosit makrofaj koloni stimulan faktör, IL-2 ve -7 gibi Thüresi kaynaklı sitokinlerin üretimini tamamen durmasına neden olur (116). Takrolimus ayrıca daha az oranda olmakla birlikte, hümmoral immün cevabı (B hücre proliferasyonu) da inhibe etmektedir (117,118). Takrolimus'un IL-2'yi inhibe etme gücü siklosporinden 10-100 kat daha fazladır(119). CYP3A4 enzim sisteminin aktivitesini azaltan ketokonazol, flukonazol, itrakonazol, eritromisin,diltiazem, verapamil, danazol, metilprednizolon Takrolimusun konsantrasyonunda artışa neden olur. Aksine CYP3A4 aktivitesini arttıran fenobarbital, alüminyumhidroksit, deksametazon, rifampin ve sodyum bikarbonat ise Takrolimus konsantrasyonunu azaltır (120). Takrolimus tedavisi alanlarda nefrotoksisite, nörotoksisite, kardiyomiyopati, anemi, kronik diare, diabet, allerjik reaksiyonlar, lenfoproliferatif hastalıklar ve enfeksiyonlar bildirilmiştir.

Takrolimus esas olarak karaciğer ve böbrek gibi solid organ transplantasyonlarında immüsupresan ajan olarak kullanılmaktadır ve özellikle steroide dirençli red reaksiyonlarında etkilidir (121).

Takrolimus'un tedaviye dirençli romatoid artritte de etkili olabileceğine dair kanıtlar vardır (116).

Atopik dermatitte Takrolimus kremin kullanımı onaylanmıştır (122).

Takrolimus'un fokal ve yaygın serebral iskemide nöroprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir (123).

Takrolimusun periferik sinir hasarlarında akson rejenerasyonunun ve sinir iyileşmesi üzerine olumlu etkisinin olduğu gösterilmiştir (124-126).

Oral liken planusta topikal formunun başarılı olduğu çalışmalar yayınlanmıştır (127).

Son yıllarda dirençli kronik otitis eksternanın tedavisinde sıkça çalışmaları yapılmaktadır (128-130).



3. MATERYAL VE METOD

Deney Hayvanları

Çalışma, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanı Etik Kurulu'nun 10.03.2016-003 tarih ve nolu toplantısında, 395 nolu kararı ile "İntratimpanik Tacrolimus uygulamasının deneysel kolesteatom gelişimine etkisi" konulu deneysel tez çalışmasının onayı alındıktan sonra, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuvarında yapılmıştır. Deneye 250-330 gram ağırlığındaki sağlıklı erişkin 23 erkek Wistar Albino cinsi sıçan, yeterli süre gözlemlenildikten sonra başlanmıştır. Deney hayvanları çelik kafesler içinde, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortam sağlanarak ve hayvanlar herhangi bir besin kısıtlaması içermeyen taze yemlerle beslenerek deney sürdürülmüştür.

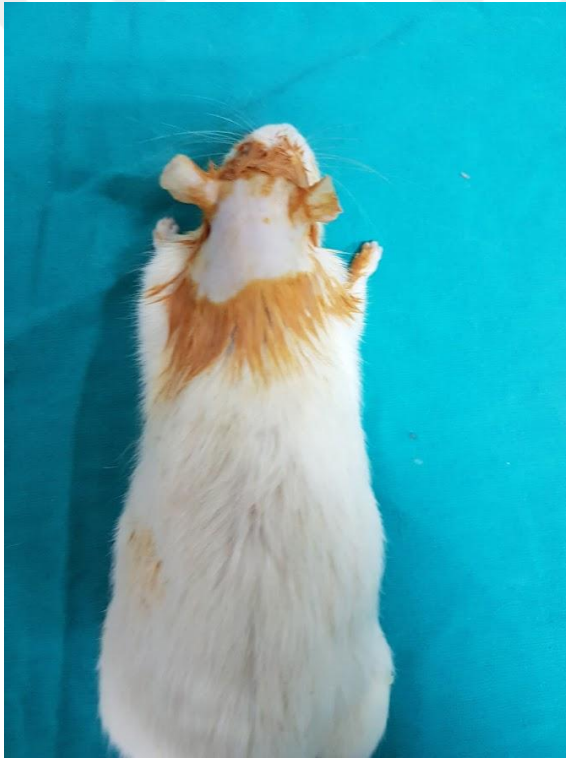
Hayvanların Hazırlanması ve Deneysel İşlem

Çalışmada 15 ve 8'er sıçan olmak üzere iki ana grup oluşturuldu. Ancak her sıçanın diğer kulağı da kontrol grubu olmak üzere ayrıca her gruptan 2 ayrı grup oluşturuldu.

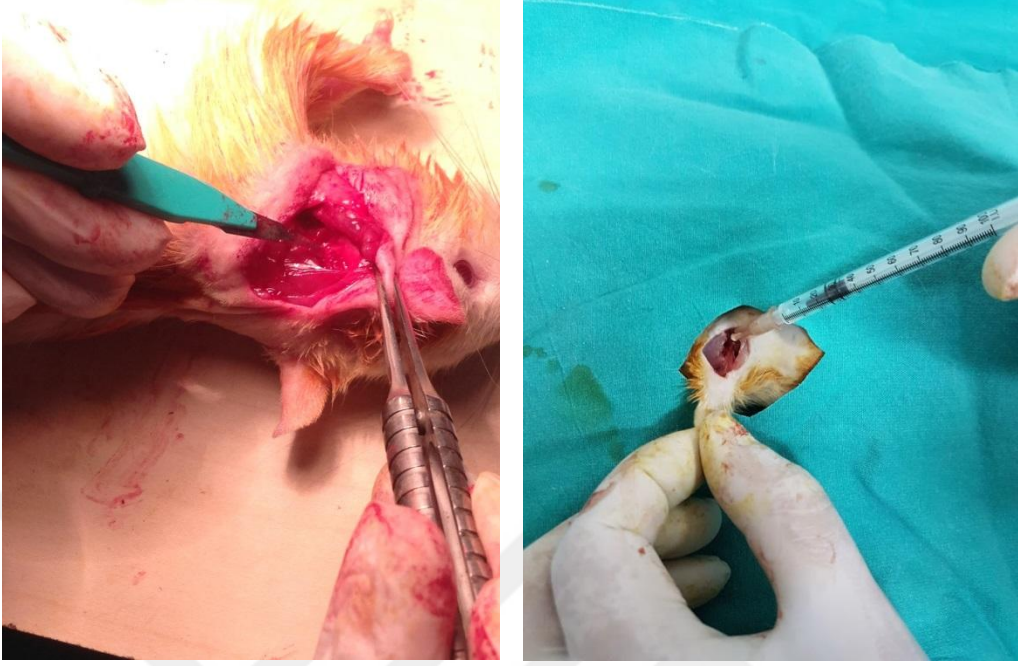
Tablo 1. Deney Grupları.

| Deney ve kontrol grupları | Grup başına hayvan adedi | Tekrar sayısı | Kullanılan toplam hayvan sayısı/grup |
|---|---------------------------------|---------------|--------------------------------------|
| Propilen glikol+gentamisin+serum fizyolojik | 15 | | 15 |
| Propilen glikol+gentamisin+tacrolimus | 15 | | 15 |
| Tacrolimus | 8 | | 8 |
| Serum Fizyolojik | 8 | | 8 |
| | Kullanılan toplam hayvan sayısı | | 23 |

İşlemler tüm deney hayvanları grubunda aynı prosedürle ve aynı cerrah tarafından gerçekleştirildi. Deney hayvanlarına 45mg/kg ketamin hidroklorid ve 10 mg/kg xylazine hidroklorid intramuskuler olarak yapıldı. Anestezi sonrası kulak arkası traşlanıp povidon iyot ile dezenfekte edildi. Kulağın postero-inferioruna retroaurikuler cilt insizyonu yapıldı. Künt diseksiyon ile kaslar geçilip timpanik bulla ortaya kondu. 11 numara bistüri ile timpanik bullada delik açıldı. Açılan delik 27 gauge'luk iğne uçlarından daha genişçe açılarak enjeksiyon sırasında orta kulaktaki havanın dışarı çıkabilmesi ve orta kulak ve timpanik membrana zarar verilmesinden kaçınılması amaçlandı. Enjeksiyon işlemlerinin ardından insizyonlar katlara uygun 3.0 rapid vikril ile suture edildi.



Resim 2: Ratın cerrahi işleme hazırlanması



Resim 3-4: Bullanın bistüri ile delinmesi ve 27G enjektör ile uygulamanın yapılması.

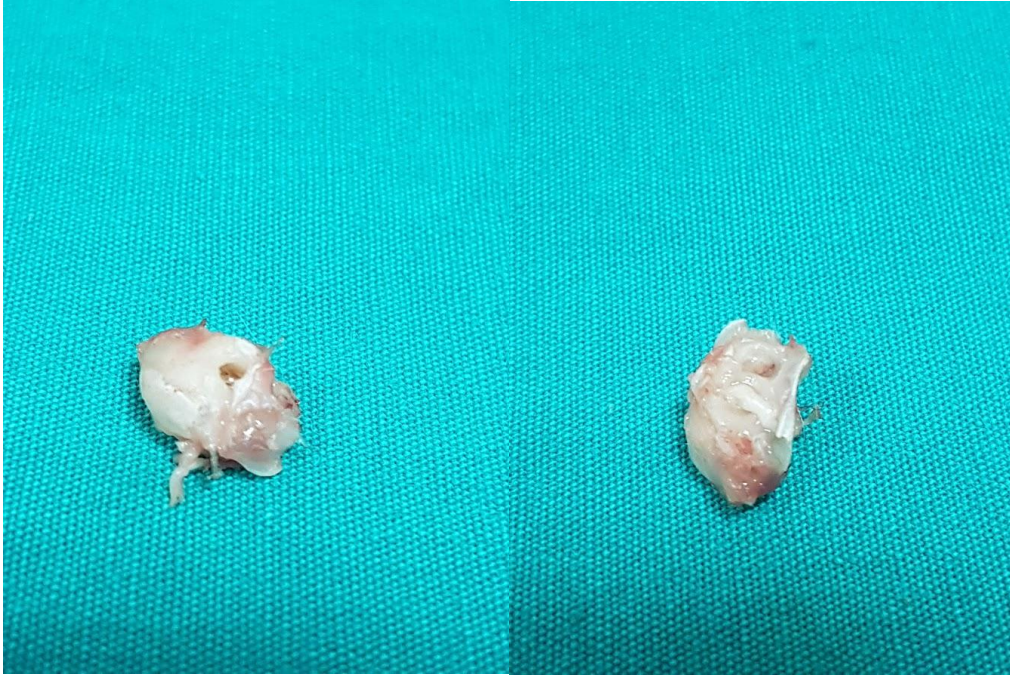
15 ratın olduğu grupta her ratın sağ kulağına 0,2 ml %60'lık konsantrasyonda propilen glikol, 0,1 ml gentamisin, 0,1 ml serum fizyolojik bulla yoluyla enjekte edildi. Aynı gruptaki ratların sol kulaklarına ise 0,2 ml %60'lık konsantrasyonda propilen glikol, 0,1 ml gentamisin, 0,1 ml takrolimus bulla yoluyla enjekte edildi. Solüsyonlara gentamisin konularak olası orta kulak enfeksiyonlarından kaçınılması amaçlandı. Uygulamalar 5 gün arayla aynı konsantrasyonlarda ve aynı yolla 3 defa tekrarlandı. Deney hayvanları son uygulamadan itibaren 8 hafta boyunca takip edildi.

Öte yandan takrolimusun orta kulağa etkilerinin incelenmesi amacıyla 8 ratlık diğer gruptaki hayvanların sağ kulaklarına bulla aracılığıyla 0,2 ml takrolimus ve 0,1 ml gentamisin uygulaması yapıldı. Aynı gruptaki ratların sol kulaklarına ise yine bulla yoluyla olmak üzere 0,2ml serum fizyolojik ve 0,1 ml gentamisin uygulaması yapıldı. Bu gruptaki uygulamalar da 5'er gün arayla toplam 3 defa olmak üzere yapıldı ve ratlar son uygulamadan sonra 8 hafta boyunca takip edildi.

Spesmenlerin elde edilmesi, hazırlanması ve değerlendirilmesi

Son uygulamanın üzerinden 8 hafta geçtikten sonra tüm gruptaki sıçanlar 50 mg/kg ketamin hidroklorid intraperitoneal uygulandıktan sonra dekapitasyon yöntemiyle sakrifiye edildi. Temporal kemiklerin çıkarılması işleminden önce her iki gruptaki hayvanların da mikroskopik kulak muayeneleri yapılarak perfore membran olup olmadığı gözlemlendi. Her iki grupta da perfore timpanik membran gözlemlenmedi. Ancak 15 ratlık gruptaki hayvanların mikroskopik kulak muayenelerinde her iki kulak zarlarında da yoğun hiperemi ve matlık dikkat çekti.

Sakrifiye edilen deney hayvanları önceki insizyon yerlerinden cilt insizyonu yapılarak katlar geçilip temporal kemiklerine ulaşıldı. Temporal kemikleri keskin ve küt diseksiyonlar yardımı ile çıkarılarak %10'luk formaldehid solüsyonlarına konuldu. Ardından %7'lik nitrik asid solüsyonlarında dekalsifikasyon işlemi yapıldı. Spesmenler parafine gömülerek rutin işlemlerin ardından 4 mikron kalınlığında kesilerek hematoxilen eosin ve toluidin boyaları ile boyandı. Toluidin mavisi, lamina proprianın bağ dokusundaki sklerotik değişiklikleri gözlemlemek için kullanıldı.



Resim 5-6: Ratlardan çıkarılan temporal kemik spesmenleri.

Işık mikroskopta polimorfo nükleer lökositlerden oluşan akut enflamasyon, lenfoplazmositik hücrelerden oluşan kronik enflamasyon, lamina propria da fibrozis ve vasküler proliferasyon varlığı semikantitatif olarak; 0:yok, 1: hafif, 2:şiddetli şeklinde değerlendirildi.

Timpanik membran içerisinde keratin lameller ve epitelyal invajinasyon , timpanik membran epitelinde hiperplazi ve orta kulakta kolesterol kleftlerinin varlığı ise 0:yok 1:var olarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi IBM SPSS Statistics 17.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) paket programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler gözlem sayısı ve (%) biçiminde gösterildi. Gruplar içerisinde sağ ve sol kulaklar arasında akut enflamasyon, kronik enflamasyon, lamina propria da fibrozis ve vasküler yapılanma skorlarının şiddeti yönünden farkın önemliliği Marjinal Homojenlik testi ile; orta kulakta kolesterol kleftleri, timpanik membran içerisinde keratin lamel/epitelyal invajinasyon ve epitelyal hiperplazi görülme sıklıkları yönünden farkın önemliliği ise McNemar testi ile araştırıldı.

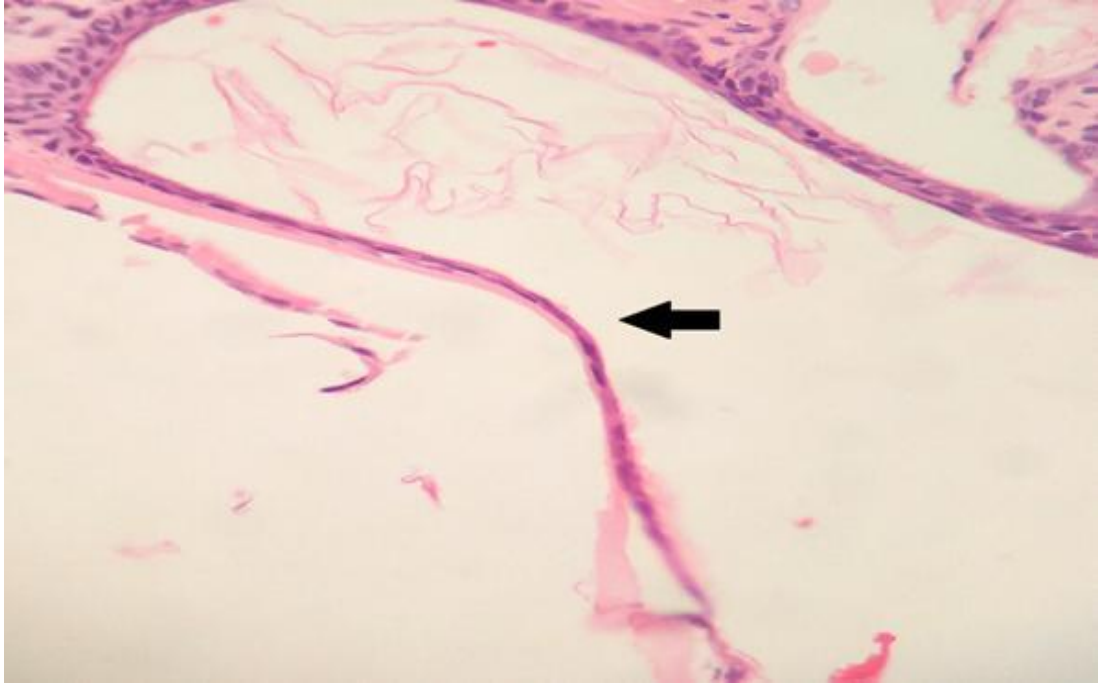
Gruplar arasında akut enflamasyon, kronik enflamasyon, lamina propria da fibrozis ve vasküler yapılanma skorlarının şiddeti yönünden farkın önemliliği Mann Whitney U testi ile değerlendirilirken; orta kulakta kolesterol kleftleri, timpanik membran içerisinde keratin lamel/epitelyal invajinasyon ve epitelyal hiperplazi görülme sıklıkları yönünden farkın önemliliği ise Fisher'in kesin sonuçlu olasılık testi ile incelendi.

$p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

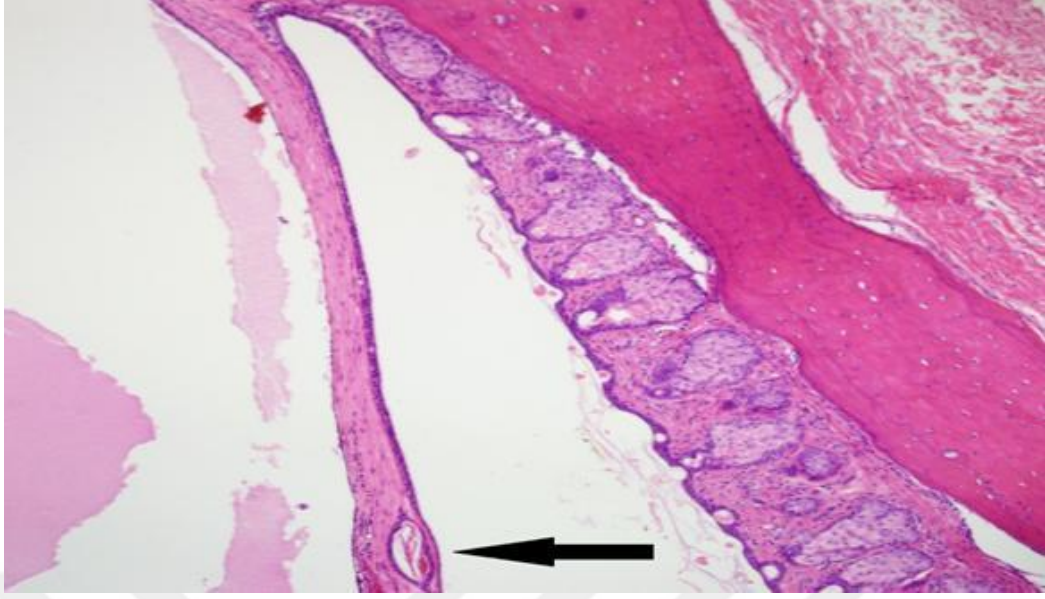
4. BULGULAR

Kolesteatom oluşturduğu birçok çalışmayla kanıtlanan propilen glikol kullanılarak; kolesteatomun gelişmesinin önlenmesi ve/veya azaltılmasının güçlü bir nonsteroidal immunsupresif ajan olan Takrolimus verilerek hedeflendiği çalışmada preparatlar uygun bir şekilde hazırlanıp ışık mikroskopi ile incelemeler yapıldı.

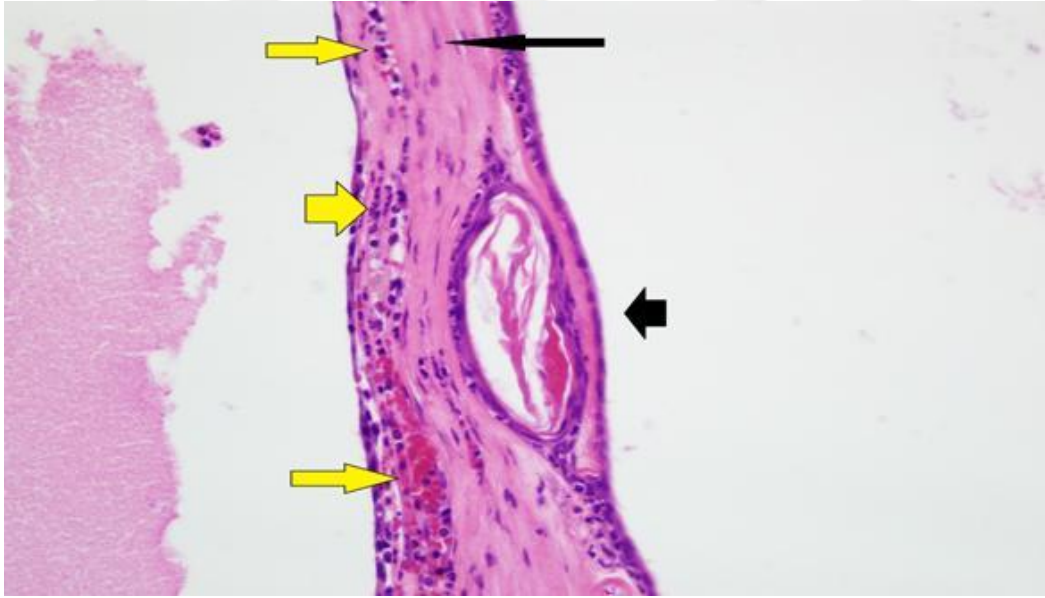
Işık mikroskopik incelemede histopatolojik olarak izlenen çeşitli bulguların görüntüleri aşağıda yer almaktadır.



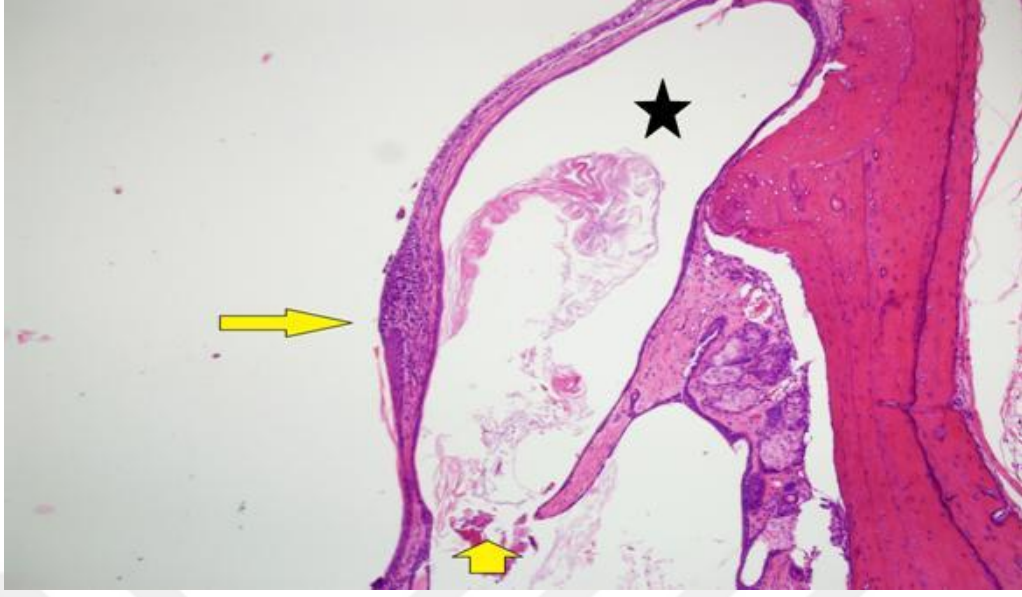
Resim 7: Sadece SF verilen grupta izlenen normal görünümde timpanik membranın görüntüsü (H&E x400).



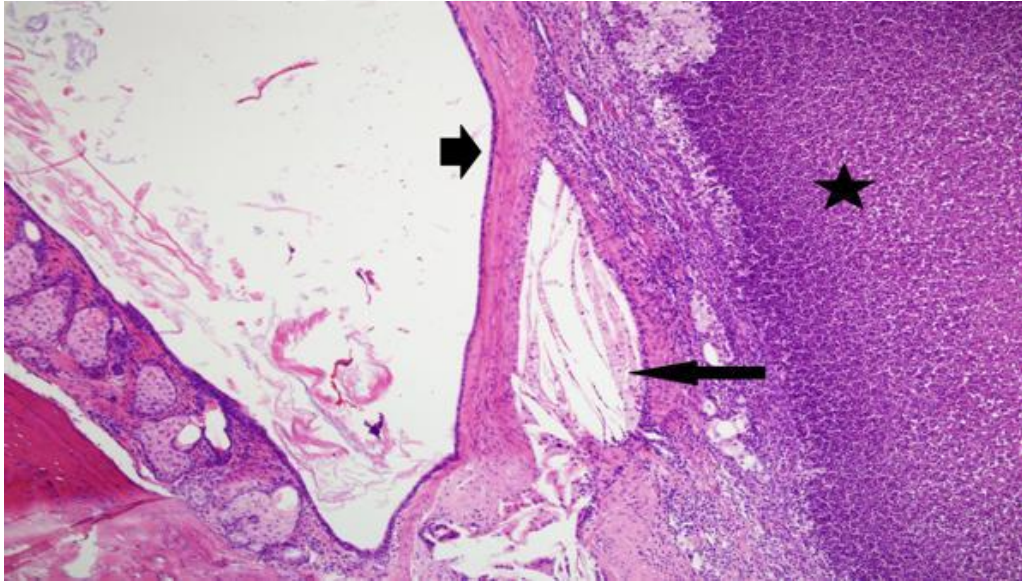
Resim 8: Orta kulakta inflamasyonun gözlenmediği, timpanik membranda hafif fibrozisin eşlik ettiği Propilen glikol+Takrolimus verilen grup. Timpanik membranda epitelin timpanik membran içerisine invajinasyonu ve içerisinde keratinöz materyal birikimi gözlenmektedir (siyah ok) (H&Ex100).



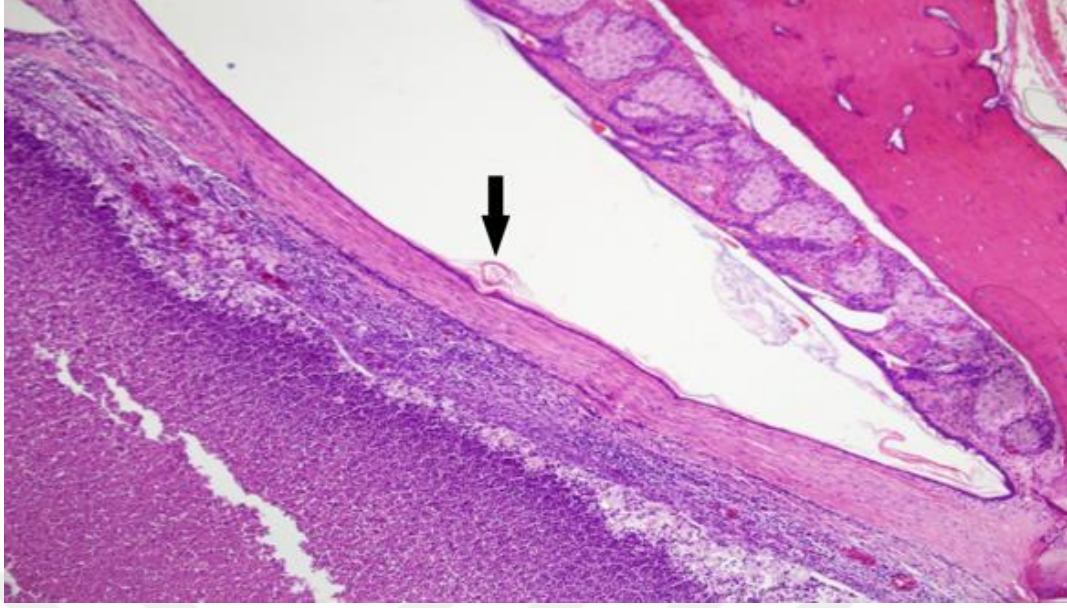
Resim 9: Propilen glikol+Takrolimus verilen grup. Timpanik membranda epitelin timpanik membran içerisine doğru invajinasyonu ve içerisinde keratinöz materyal izlenmektedir (kalın siyah ok). Hafif fibrozis gösteren Timpanik membranda fibroblast proliferasyonu (Siyah ince ok), proliferer damar yapıları (Sarı ince ok) ve inflamasyonun (kalın sarı ok) eşlik ettiği granülasyon dokusu izlenmektedir (H&Ex400).



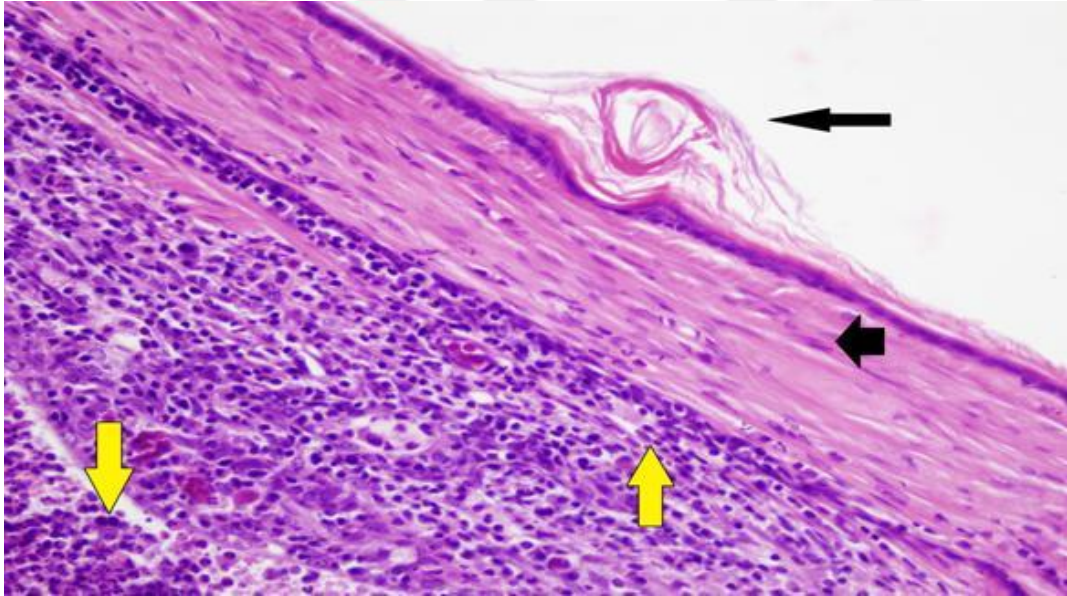
Resim 10: Propilen glikol+Takrolimus verilen grupta izlenen kolesteatom.Timpanik membranın orta kulağa doğru ilerleyerek (sarı kalın ok) içerisinde keratinöz materyalin bulunduğu kistik oluşum (yıldız) ve timpanik membranda inflamasyon ve fibrozisin eşlik ettiği granülasyon dokusu(ince sarı ok) gözlenmektedir (H&Ex100).



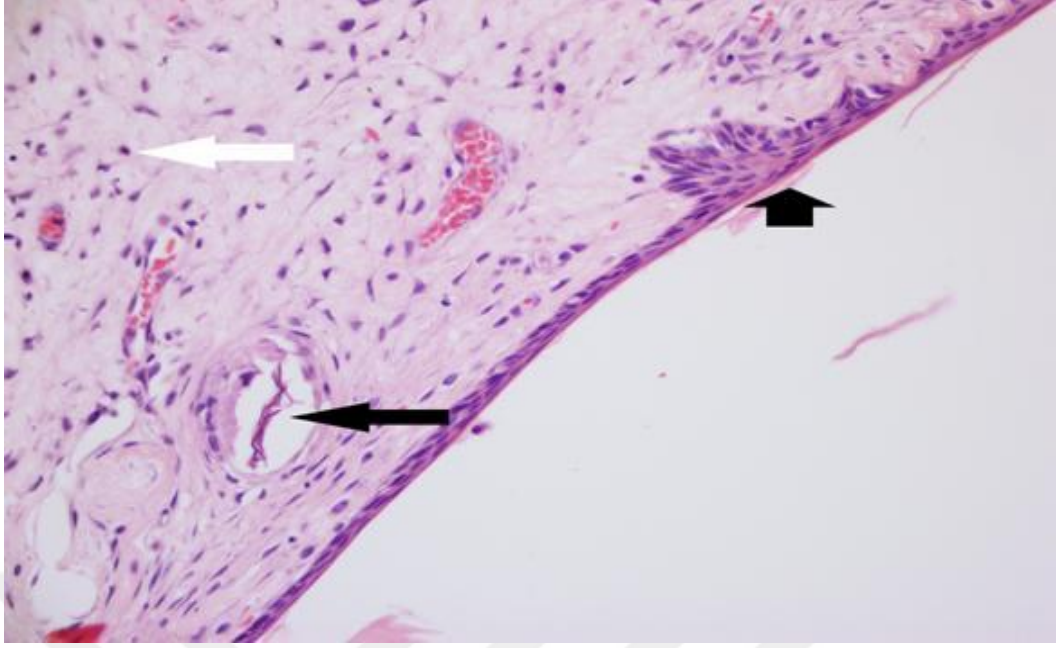
Resim 11: Sadece propilen glikol verilen grupta timpanik membranda izlenen şiddetli fibrozis (siyah kısa ok) ve orta kulakta yoğun lenfosit, plazma ve nötrofil lökositlerden oluşan inflamasyon (yıldız) ve kolesterol kleftleri (ince siyah ok) dikkati çekmektedir (H&Ex100).



Resim 12: Sadece propilen glikol verilen grupta timpanik membranda epitelyal invajinasyon, keratin lamel(uzun siyah ok) ile timpanik membran ve orta kulakta nötrofil lökosit, lenfosit ve plazma hücrelerinden oluşan yoğun inflamasyon izlenmektedir; H&Ex100.



Resim 13: Resim 12'nin yakından görünümü. Timpanik membranda fibrozis (kısa siyah ok), epitelyal invajinasyon, keratin lamel(uzun siyah ok) ile nötrofil lökosit, lenfosit ve plazma hücrelerinden oluşan yoğun akut ve kronik inflamasyon(sarı oklar) izlenmektedir; H&Ex400.



Resim 14: Propilen glikol ve takro verilen grupta timpanik membranda keratin lamel (uzun siyah ok), fibrozis (kısa kalın siyah ok) ve hafif lenfosit içeren inflamasyon gözlenmektedir (beyaz ok). (H&E x400)

İncelen dört grupta da tüm parametrelerden bulgulara rastlandı. Ancak istatistiksel analizlerine bakıldığında;

Grup I içerisinde sadece PG verilen taraf ile PG ile beraber Takrolimus uygulanan taraf arasında akut enflamasyon skorlarının dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.465$).

Grup I içerisinde sadece PG verilen taraf ile PG ile beraber Takrolimus uygulanan taraf arasında kronik enflamasyon skorlarının dağılımı yönünden de istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.088$).

Grup I içerisinde sadece PG verilen taraf ile PG ile beraber Takrolimus uygulanan taraf arasında lamina propriada fibrozis skorlarının dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.197$).

Grup I içerisinde sadece PG verilen taraf ile PG ile beraber Takrolimus uygulanan taraf arasında vasküler yapılanma skorlarının dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.206$).

Grup I içerisinde sadece PG verilen taraf ile PG ile beraber Takrolimus uygulanan taraf arasında kolesterol kleftleri görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=1.000$).

Grup I içerisinde sadece PG verilen taraf ile PG ile beraber Takrolimus uygulanan taraf arasında epitelyal hiperplazi görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=1.000$).

Grup I içerisinde sadece PG verilen tarafa göre PG ile beraber Takrolimus uygulanan tarafta TM içerisinde keratin lamel istatistiksel anlamlı olarak daha az oranda görülmekteydi ($p=0.003$).

Tablo 2. Grup 1 içerisinde sadece Propilen Glikol (PG) yapılan taraf ile PG ve takrolimus uygulanan taraflara göre gözlemlerin histopatoloji sonuçları yönünden frekans dağılımları.

| Değişkenler | Sadece (n=15) | PG | PG+Takrolimus (n=15) | p-değeri |
|------------------------------------|----------------------|-----------|-----------------------------|-----------------|
| Akut enflamasyon | | | | 0,465† |
| <i>Yok</i> | 3 (%20,0) | | 6 (%40,0) | |
| <i>Hafif</i> | 2 (%13,3) | | 0 (%0,0) | |
| <i>Şiddetli</i> | 10 (%66,7) | | 9 (%60,0) | |
| Kronik enflamasyon | | | | 0,088† |
| <i>Yok</i> | 6 (%40,0) | | 0 (%0,0) | |
| <i>Hafif</i> | 1 (%6,7) | | 5 (%33,3) | |
| <i>Şiddetli</i> | 8 (%53,3) | | 10 (%66,7) | |
| Lamina propriada fibrozis | | | | 0,197† |
| <i>Yok</i> | 2 (%13,3) | | 0 (%0,0) | |
| <i>Hafif</i> | 5 (%33,3) | | 4 (%26,7) | |
| <i>Şiddetli</i> | 8 (%53,3) | | 11 (%73,3) | |
| Vasküler yapılanma | | | | 0,206† |
| <i>Yok</i> | 1 (%6,7) | | 0 (%0,0) | |
| <i>Hafif</i> | 6 (%40,0) | | 4 (%26,7) | |
| <i>Şiddetli</i> | 8 (%53,3) | | 11 (%73,3) | |
| Kolesterol kleftleri | | | | 1,000‡ |
| <i>Yok</i> | 8 (%53,3) | | 9 (%60,0) | |
| <i>Var</i> | 7 (%46,7) | | 6 (%40,0) | |
| TM içerisinde keratin lamel | | | | 0,003‡ |
| <i>Yok</i> | 3 (%20,0) | | 14 (%93,3) | |
| <i>Var</i> | 12 (%80,0) | | 1 (%6,7) | |
| Epitelyal hiperplazi | | | | 1,000‡ |
| <i>Yok</i> | 14 (%93,3) | | 15 (%100,0) | |
| <i>Var</i> | 1 (%6,7) | | 0 (%0,0) | |

† Marjinal homojenlik testi, ‡ McNemar testi.

Grup II içerisinde SF verilen taraf ile Takrolimus uygulanan taraf arasında akut enflamasyon skorlarının dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.366$).

Grup II içerisinde SF verilen taraf ile Takrolimus uygulanan taraf arasında kronik enflamasyon skorlarının dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.206$).

Grup II içerisinde SF verilen taraf ile Takrolimus uygulanan taraf arasında lamina propriada fibrozis skorlarının dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.317$).

Grup II içerisinde SF verilen taraf ile Takrolimus uygulanan taraf arasında vasküler yapılanma skorlarının dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.132$).

Grup II içerisinde SF verilen taraf ile Takrolimus uygulanan taraf arasında kolesterol kleftleri görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=1.000$).

Grup II içerisinde SF verilen taraf ile Takrolimus uygulanan taraf arasında TM içerisinde keratin lamel görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=1.000$).

Grup II içerisinde SF verilen taraf ile Takrolimus uygulanan taraf arasında epitelyal hiperplazi görülme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=1.000$).

Tablo 3. Grup 2 içerisinde SF uygulanan ve Takrolimus uygulanan taraflara göre gözlemlerin histopatoloji sonuçları yönünden frekans dağılımları.

| Değişkenler | SF (n=8) | Takrolimus (n=8) | p- değeri |
|------------------------------------|-----------------|-------------------------|----------------------|
| Akut enflamasyon | | | 0,366† |
| <i>Yok</i> | 1 (%12,5) | 3 (%37,5) | |
| <i>Hafif</i> | 4 (%50,0) | 3 (%37,5) | |
| <i>Şiddetli</i> | 3 (%37,5) | 2 (%25,0) | |
| Kronik enflamasyon | | | 0,206† |
| <i>Yok</i> | 1 (%12,5) | 3 (%37,5) | |
| <i>Hafif</i> | 4 (%50,0) | 4 (%50,0) | |
| <i>Şiddetli</i> | 3 (%37,5) | 1 (%12,5) | |
| Lamina propriada fibrozis | | | 0,317† |
| <i>Yok</i> | 1 (%12,5) | 3 (%37,5) | |
| <i>Hafif</i> | 4 (%50,0) | 3 (%37,5) | |
| <i>Şiddetli</i> | 3 (%37,5) | 2 (%25,0) | |
| Vasküler yapılanma | | | 0,132† |
| <i>Yok</i> | 3 (%37,5) | 6 (%75,0) | |
| <i>Hafif</i> | 2 (%25,0) | 1 (%12,5) | |
| <i>Şiddetli</i> | 3 (%37,5) | 1 (%12,5) | |
| Kolesterol kleftleri | | | 1,000‡ |
| <i>Yok</i> | 7 (%87,5) | 8 (%100,0) | |
| <i>Var</i> | 1 (%12,5) | 0 (%0,0) | |
| TM içerisinde keratin lamel | | | 1,000‡ |
| <i>Yok</i> | 6 (%75,0) | 7 (%87,5) | |
| <i>Var</i> | 2 (%25,0) | 1 (%12,5) | |
| Epitelyal hiperplazi | | | 1,000‡ |
| <i>Yok</i> | 6 (%75,0) | 6 (%75,0) | |
| <i>Var</i> | 2 (%25,0) | 2 (%25,0) | |

† Marjinal homojenlik testi, ‡ McNemar testi.

PG ile beraber Takrolimus uygulanan grup (n=15) ile sadece Takrolimus uygulanan grup (n=8) arasında akut enflamasyon skorlarının dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (p=0.466).

Sadece Takrolimus uygulanan gruba (n=8) göre PG ile beraber Takrolimus uygulanan grupta (n=15) kronik enflamasyon skorları istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi (p=0.008).

Sadece Takrolimus uygulanan gruba (n=8) göre PG ile beraber Takrolimus uygulanan grupta (n=15) lamina propriada fibrozis skorları istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi (p=0.023).

Sadece Takrolimus uygulanan gruba (n=8) göre PG ile beraber Takrolimus uygulanan grupta (n=15) vasküler yapılanma skorları istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi (p<0.001).

PG ile beraber Takrolimus uygulanan grup (n=15) ile sadece Takrolimus uygulanan grup (n=8) arasında kolesterol kleftleri görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (p=0.058).

PG ile beraber Takrolimus uygulanan grup (n=15) ile sadece Takrolimus uygulanan grup (n=8) arasında TM içerisinde keratin lamel görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (p=1.000).

PG ile beraber Takrolimus uygulanan grup (n=15) ile sadece Takrolimus uygulanan grup (n=8) arasında epitelyal hiperplazi görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (p=0.111).

Tablo 4. PG+Takrolimus uygulanan grup ile sadece Takrolimus uygulanan gruba göre gözlemlerin histopatoloji sonuçları yönünden frekans dağılımları.

| Değişkenler | PG+Takrolimus (n=15) | Takrolimus (n=8) | p- değeri |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|----------------------|
| Akut enflamasyon | | | 0,466† |
| <i>Yok</i> | 6 (%40,0) | 3 (%37,5) | |
| <i>Hafif</i> | 0 (%0,0) | 3 (%37,5) | |
| <i>Şiddetli</i> | 9 (%60,0) | 2 (%25,0) | |
| Kronik enflamasyon | | | 0,008† |
| <i>Yok</i> | 0 (%0,0) | 3 (%37,5) | |
| <i>Hafif</i> | 5 (%33,3) | 4 (%50,0) | |
| <i>Şiddetli</i> | 10 (%66,7) | 1 (%12,5) | |
| Lamina propriada fibrozis | | | 0,023† |
| <i>Yok</i> | 0 (%0,0) | 3 (%37,5) | |
| <i>Hafif</i> | 4 (%26,7) | 3 (%37,5) | |
| <i>Şiddetli</i> | 11 (%73,3) | 2 (%25,0) | |
| Vasküler yapılanma | | | <0,001† |
| <i>Yok</i> | 0 (%0,0) | 6 (%75,0) | |
| <i>Hafif</i> | 4 (%26,7) | 1 (%12,5) | |
| <i>Şiddetli</i> | 11 (%73,3) | 1 (%12,5) | |
| Kolesterol kleftleri | | | 0,058‡ |
| <i>Yok</i> | 9 (%60,0) | 8 (%100,0) | |
| <i>Var</i> | 6 (%40,0) | 0 (%0,0) | |
| TM içerisinde keratin lamel | | | 1,000‡ |
| <i>Yok</i> | 14 (%93,3) | 7 (%87,5) | |
| <i>Var</i> | 1 (%6,7) | 1 (%12,5) | |
| Epitelyal hiperplazi | | | 0,111‡ |
| <i>Yok</i> | 15 (%100,0) | 6 (%75,0) | |
| <i>Var</i> | 0 (%0,0) | 2 (%25,0) | |

† Mann Whitney U testi, ‡ Fisher'in kesin sonuçlu olasılık testi.

Sadece PG yapılan grup ile SF verilen grup arasında akut enflamasyon skorlarının dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (p=0.428).

Sadece PG yapılan grup ile SF verilen grup arasında kronik enflamasyon skorlarının dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (p=0.925).

Sadece PG yapılan grup ile SF verilen grup arasında lamina propria da fibrozis skorlarının dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (p=0.636).

Sadece PG yapılan grup ile SF verilen grup arasında vasküler yapılanma skorlarının dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (p=0.265).

Sadece PG yapılan grup ile SF verilen grup arasında kolesterol kleftleri görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (p=0.176).

Sadece PG yapılan gruba göre SF verilen grupta TM içerisinde keratin lamel görülme sıklığı istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü (p=0.023).

Sadece PG yapılan grup ile SF verilen grup arasında epitelyal hiperplazi görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (p=0.269).

Tablo 5. Sadece PG verilen grup ile SF uygulanan gruba göre gözlemlerin histopatoloji sonuçları yönünden frekans dağılımları.

| Değişkenler | Sadece (n=15) | PG SF (n=8) | p-değeri |
|------------------------------------|----------------------|--------------------|-----------------|
| Akut enflamasyon | | | 0,428† |
| <i>Yok</i> | 3 (%20,0) | 1 (%12,5) | |
| <i>Hafif</i> | 2 (%13,3) | 4 (%50,0) | |
| <i>Şiddetli</i> | 10 (%66,7) | 3 (%37,5) | |
| Kronik enflamasyon | | | 0,925† |
| <i>Yok</i> | 6 (%40,0) | 1 (%12,5) | |
| <i>Hafif</i> | 1 (%6,7) | 4 (%50,0) | |
| <i>Şiddetli</i> | 8 (%53,3) | 3 (%37,5) | |
| Lamina propriada fibrozis | | | 0,636† |
| <i>Yok</i> | 2 (%13,3) | 1 (%12,5) | |
| <i>Hafif</i> | 5 (%33,3) | 4 (%50,0) | |
| <i>Şiddetli</i> | 8 (%53,3) | 3 (%37,5) | |
| Vasküler yapılanma | | | 0,265† |
| <i>Yok</i> | 1 (%6,7) | 3 (%37,5) | |
| <i>Hafif</i> | 6 (%40,0) | 2 (%25,0) | |
| <i>Şiddetli</i> | 8 (%53,3) | 3 (%37,5) | |
| Kolesterol kleftleri | | | 0,176‡ |
| <i>Yok</i> | 8 (%53,3) | 7 (%87,5) | |
| <i>Var</i> | 7 (%46,7) | 1 (%12,5) | |
| TM içerisinde keratin lamel | | | 0,023‡ |
| <i>Yok</i> | 3 (%20,0) | 6 (%75,0) | |
| <i>Var</i> | 12 (%80,0) | 2 (%25,0) | |
| Epitelyal hiperplazi | | | 0,269‡ |
| <i>Yok</i> | 14 (%93,3) | 6 (%75,0) | |
| <i>Var</i> | 1 (%6,7) | 2 (%25,0) | |

† Mann Whitney U testi, ‡ Fisher'in kesin sonuçlu olasılık testi.

Sadece PG yapılan grup ile sadece Takrolimus verilen grup arasında akut enflamasyon skorlarının dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.131$).

Sadece PG yapılan grup ile sadece Takrolimus verilen grup arasında kronik enflamasyon skorlarının dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.392$).

Sadece PG yapılan grup ile sadece Takrolimus verilen grup arasında lamina propriada fibrozis skorlarının dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.169$).

Sadece PG yapılan gruba göre sadece Takrolimus verilen grupta vasküler yapılanma skorları istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0.005$).

Sadece PG yapılan grup ile sadece Takrolimus verilen grup arasında kolesterol kleftleri görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.052$).

Sadece PG yapılan gruba göre sadece Takrolimus verilen grupta keratin lamel görülme sıklığı istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0.006$).

Sadece PG yapılan grup ile sadece Takrolimus verilen grup arasında epitelyal hiperplazi görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.269$).

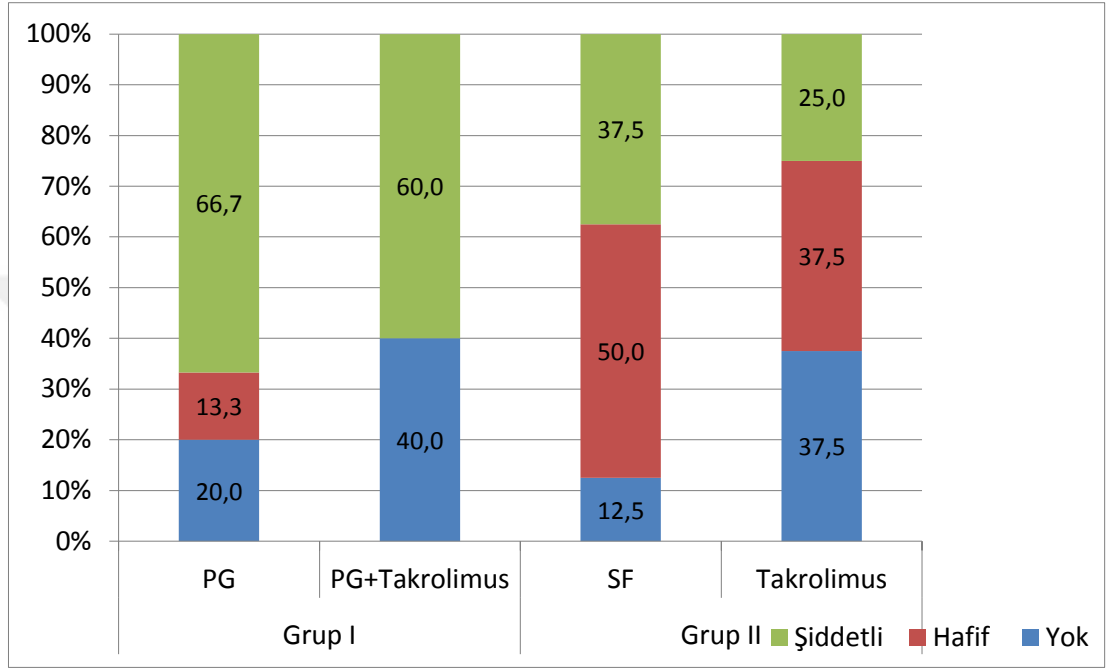
Tablo 6. Sadece PG verilen grup ile sadece Takrolimus verilen gruba göre gözlemlerin histopatoloji sonuçları yönünden frekans dağılımları.

| Değişkenler | Sadece (n=15) | PG Takrolimus (n=8) | p-değeri |
|------------------------------------|----------------------|----------------------------|-----------------|
| Akut enflamasyon | | | 0,131† |
| <i>Yok</i> | 3 (%20,0) | 3 (%37,5) | |
| <i>Hafif</i> | 2 (%13,3) | 3 (%37,5) | |
| <i>Şiddetli</i> | 10 (%66,7) | 2 (%25,0) | |
| Kronik enflamasyon | | | 0,392† |
| <i>Yok</i> | 6 (%40,0) | 3 (%37,5) | |
| <i>Hafif</i> | 1 (%6,7) | 4 (%50,0) | |
| <i>Şiddetli</i> | 8 (%53,3) | 1 (%12,5) | |
| Lamina propriada fibrozis | | | 0,169† |
| <i>Yok</i> | 2 (%13,3) | 3 (%37,5) | |
| <i>Hafif</i> | 5 (%33,3) | 3 (%37,5) | |
| <i>Şiddetli</i> | 8 (%53,3) | 2 (%25,0) | |
| Vasküler yapılanma | | | 0,005† |
| <i>Yok</i> | 1 (%6,7) | 6 (%75,0) | |
| <i>Hafif</i> | 6 (%40,0) | 1 (%12,5) | |
| <i>Şiddetli</i> | 8 (%53,3) | 1 (%12,5) | |
| Kolesterol kleftleri | | | 0,052‡ |
| <i>Yok</i> | 8 (%53,3) | 8 (%100,0) | |
| <i>Var</i> | 7 (%46,7) | 0 (%0,0) | |
| TM içerisinde keratin lamel | | | 0,006‡ |
| <i>Yok</i> | 3 (%20,0) | 7 (%87,5) | |
| <i>Var</i> | 12 (%80,0) | 1 (%12,5) | |
| Epitelyal hiperplazi | | | 0,269‡ |
| <i>Yok</i> | 14 (%93,3) | 6 (%75,0) | |
| <i>Var</i> | 1 (%6,7) | 2 (%25,0) | |

† Mann Whitney U testi, ‡ Fisher'in kesin sonuçlu olasılık testi.

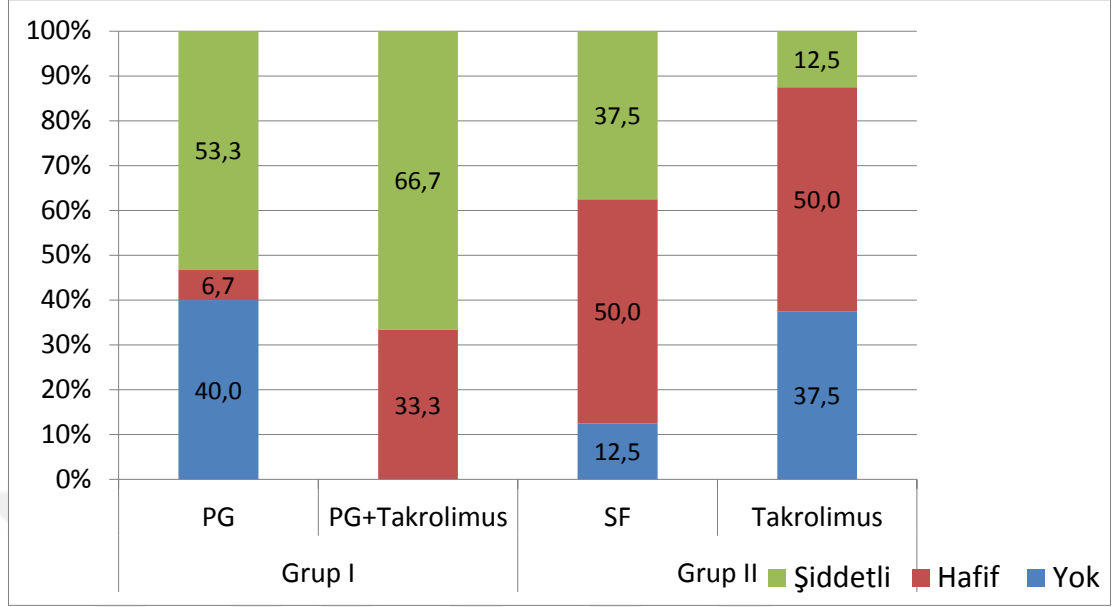
İncelenen yedi parametrenin her biri için gruptaki dağılım oranlarına bakıldığında ortaya çıkan grafikler ise şöyledir:

Grafik 1. Akut Enflamasyon.



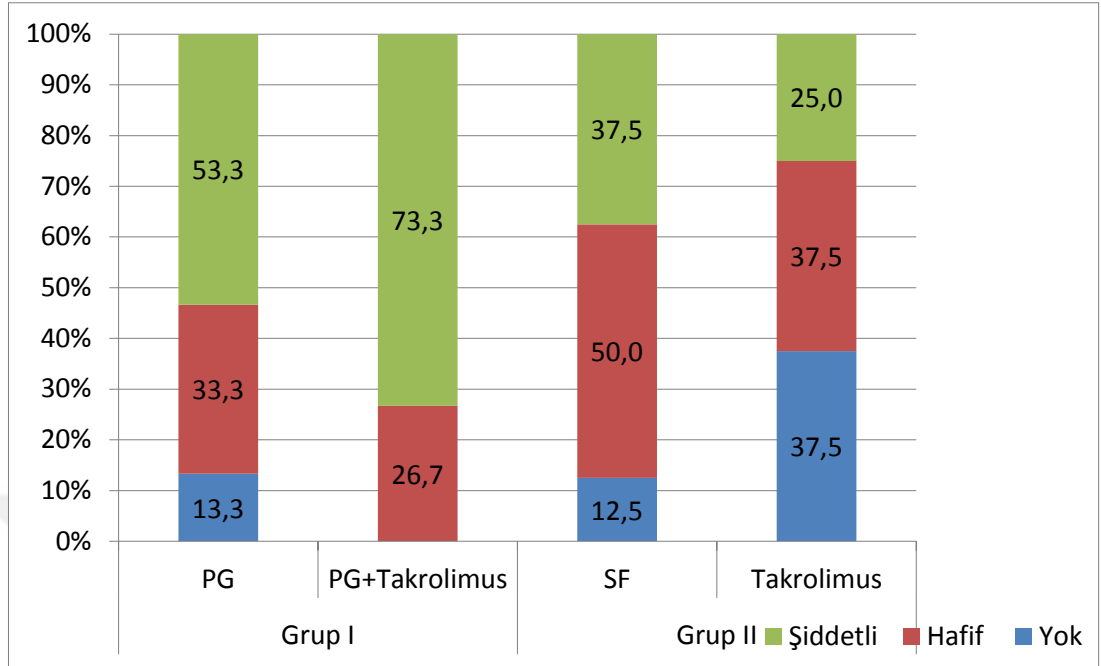
| | Grup I | | Grup II | |
|-----------------|--------|---------------|---------|------------|
| | PG | PG+Takrolimus | SF | Takrolimus |
| Yok | 20,0 | 40,0 | 12,5 | 37,5 |
| Hafif | 13,3 | 0,0 | 50,0 | 37,5 |
| Şiddetli | 66,7 | 60,0 | 37,5 | 25,0 |

Grafik 2. Kronik Enflamasyon.



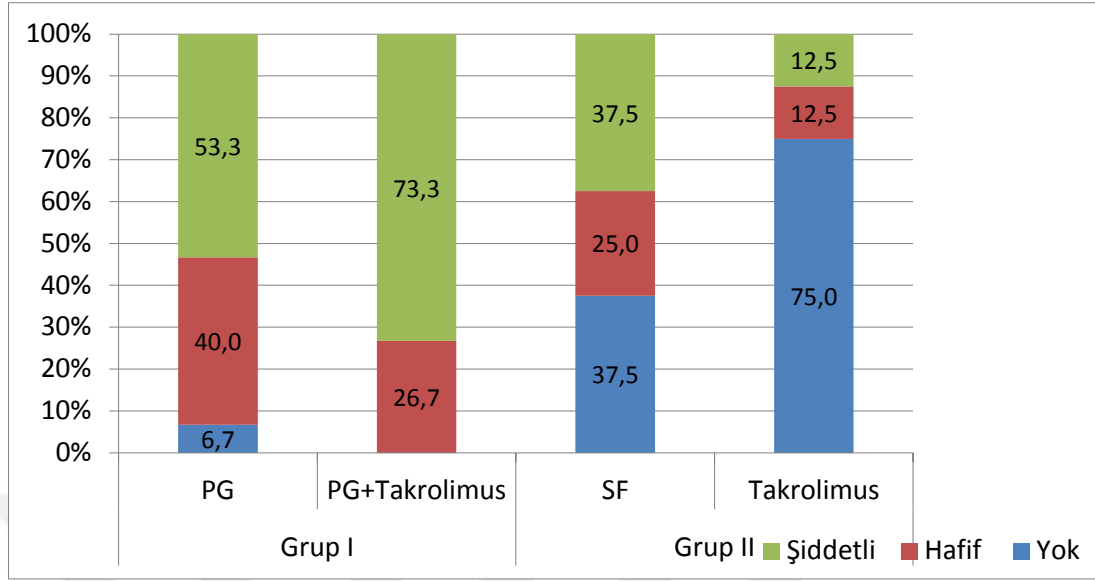
| | Grup I | | Grup II | |
|----------|--------|---------------|---------|------------|
| | PG | PG+Takrolimus | SF | Takrolimus |
| Yok | 40,0 | 0,0 | 12,5 | 37,5 |
| Hafif | 6,7 | 33,3 | 50,0 | 50,0 |
| Şiddetli | 53,3 | 66,7 | 37,5 | 12,5 |

Grafik 3. Lamina Propria'da Fibrozis.



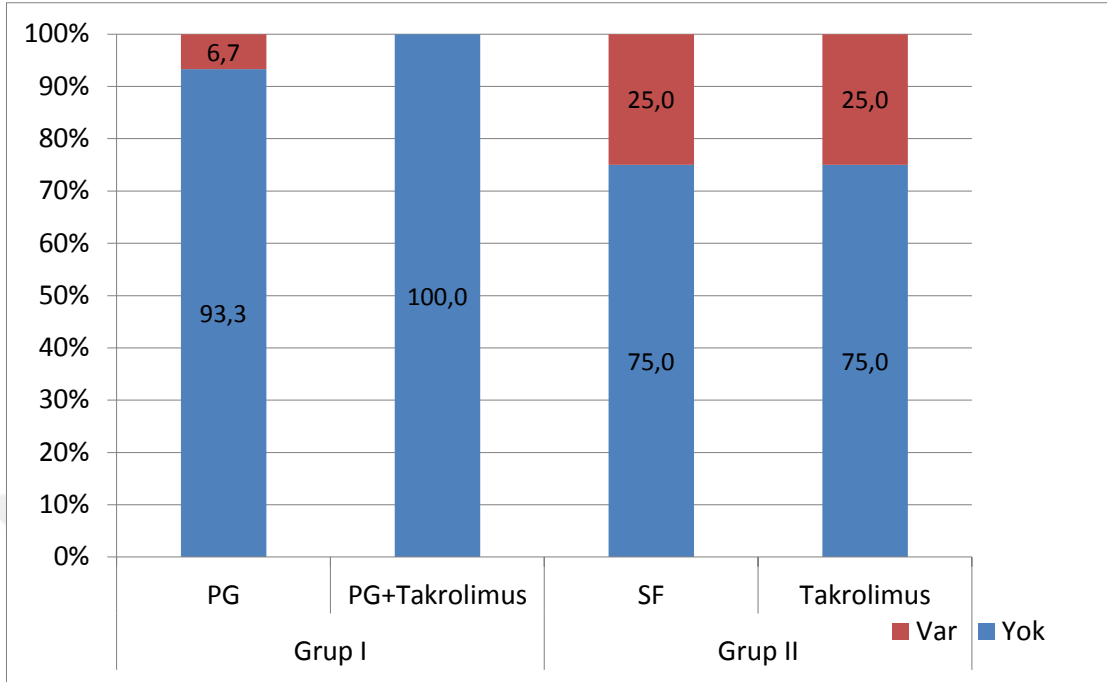
| | Grup I | | Grup II | |
|----------|--------|---------------|---------|------------|
| | PG | PG+Takrolimus | SF | Takrolimus |
| Yok | 13,3 | 0,0 | 12,5 | 37,5 |
| Hafif | 33,3 | 26,7 | 50,0 | 37,5 |
| Şiddetli | 53,3 | 73,3 | 37,5 | 25,0 |

Grafik 4. Vasküler Yapılanmada Artış.



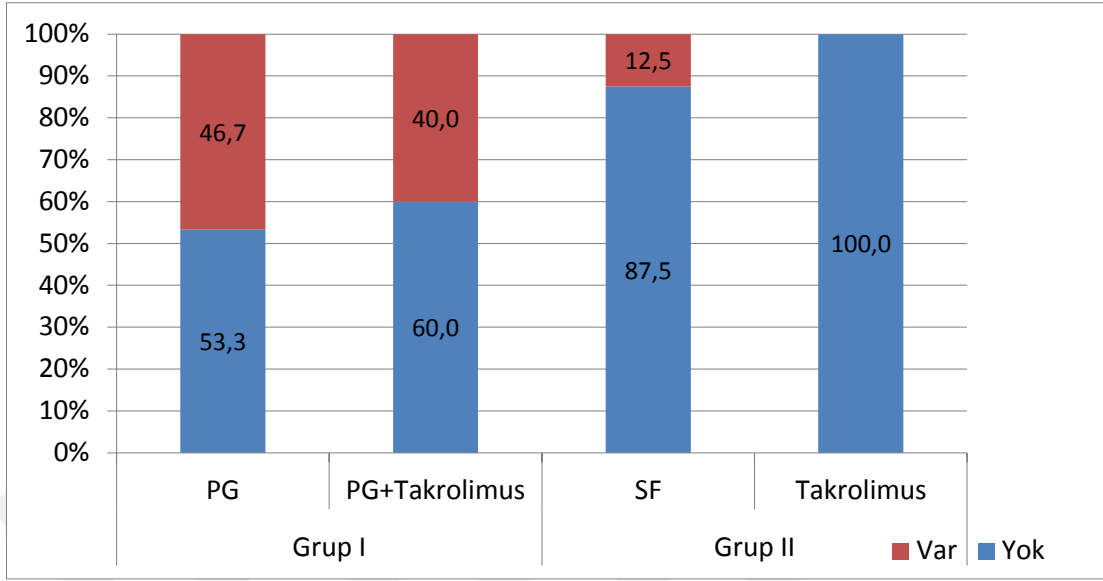
| | Grup I | | Grup II | |
|----------|--------|---------------|---------|------------|
| | PG | PG+Takrolimus | SF | Takrolimus |
| Yok | 6,7 | 0,0 | 37,5 | 75,0 |
| Hafif | 40,0 | 26,7 | 25,0 | 12,5 |
| Şiddetli | 53,3 | 73,3 | 37,5 | 12,5 |

Grafik 5. Epitelyal Hiperplazi.



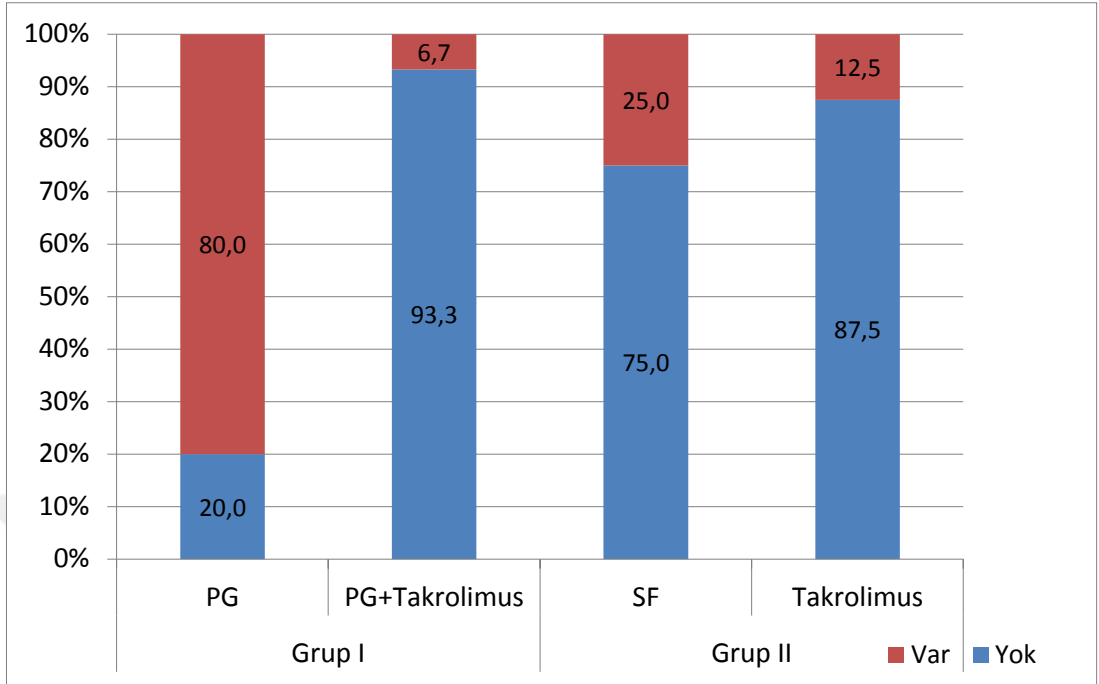
| | Grup I | | Grup II | |
|-----|--------|---------------|---------|------------|
| | PG | PG+Takrolimus | SF | Takrolimus |
| Yok | 93,3 | 100,0 | 75,0 | 75,0 |
| Var | 6,7 | 0,0 | 25,0 | 25,0 |

Grafik 6. TM veya Orta Kulakta Kolesterol Kleftleri.



| | Grup I | | Grup II | |
|-----|--------|---------------|---------|------------|
| | PG | PG+Takrolimus | SF | Takrolimus |
| Yok | 53,3 | 60,0 | 87,5 | 100,0 |
| Var | 46,7 | 40,0 | 12,5 | 0,0 |

Grafik 7. TM İçerisinde Keratin Lamel veya Epitelyal İnvajinasyon.



| | Grup I | | Grup II | |
|-----|--------|---------------|---------|------------|
| | PG | PG+Takrolimus | SF | Takrolimus |
| Yok | 20,0 | 93,3 | 75,0 | 87,5 |
| Var | 80,0 | 6,7 | 25,0 | 12,5 |

5. TARTIŞMA

Kolesteatom; ne yazık ki günümüzde hala oldukça sık karşılaştığımız, kulak hastalıkları içerisinde hayatı tehdit edebilecek komplikasyonlara yol açabilme potansiyeli nedeniyle de önemini koruyan hastalıkların başında gelir. Benign olmasına rağmen agresif ve invazif büyüme paterni nedeniyle oluşum mekanizmalarını aydınlatma çabaları yüzyılı aşkın süredir devam etmektedir. Orta ve iç kulak yapılarını destrükte ederek işitmede azalma, vestibüler fonksiyonlarda bozulma, fasiyal paralizi ve ölümcül intrakranial komplikasyonlara neden olabilmesi (1) nedeniyle patogenezini aydınlatma ve tedavisinde daha etkin yöntemler arama çabası devam etmektedir.

Kolesteatom oluşumu ile ilgili olarak öne sürülen tüm teorilerde ortak nokta, artmış inflamasyon ile birlikte hücre proliferasyonu ve farklılaşmasıdır (3). Bu nedenle biz de çalışmamızda antiproliferatif etkisi bilinen ve güçlü bir nonsteroidal immunsupresif ajan olan Takrolimus kullanarak kolesteatom oluşmasını engelleyici veya azaltıcı etkisini araştırmak istedik.

Uzun süredir çeşitli yollarla deneysel kolesteatom modelleri yaratmanın mümkün olduğu bilinmekte (131-133). Dış kulak kanalının ligasyonu, östaki tüpünün blokajı, orta kulağa kimyasal madde enjeksiyonu, ok'a biyolojik materyal enjeksiyonu, otolog cilt implantasyonu gibi çeşitli yöntemler mevcut (133). Kullanılan yöntemler içinde kimyasal madde enjeksiyonu ile kolesteatom oluşturma oranı oldukça yüksek bulunmuş ve çalışma yapmak için ideal bir yöntem olduğu ortaya konmuştur (133).

Propilen glikol ile deneysel kolesteatom oluşturulması, chinchilla'ların orta kulaklarına içeriğinde PG de bulunan ve topikal bir göz damlası olan Cortisporin'in kullanılmasıyla anlaşılmış. Deney hayvanlarının orta kulaklarında epitelyal migrasyon ve kolesteatomlu kronik otitis media oluşumu gözlenmiş (134).

Edinilmiş kolesteatomların patogenezini anlayabilmek için hayvanlarda yaratılan deneysel kolesteatom modelleri oldukça önemlidir (135-137). Bu amaçla

chinchilla, mongolian gerbil, guinea pig ve ratlar kolesteatom modelleri oluşturmak için sıkça kullanılmakta (138).

Orta kulağa kimyasal madde enjeksiyonu için kullanılan maddelerden talk pudra ve fibrin karışımı (139), karsinojen olduğu bilinen (140) ve Schmid ve Hellstrom (141) tarafından ratlarda kolesteatom oluşturmak için kullanılan dimetil-benzantrasan (DMBA) bunlardan bazıları.

Topikal preparatlarda propilen glikolün dozunun artırılmasıyla ratlarda daha yüksek oranlarda kolesteatom oluşturulduğu gösterilmiştir. Huan ve ark. %10'dan düşük konsantrasyondaki PG solüsyonunun düşük viskoziteye sahip olması sebebiyle kolaylıkla orta kulağı geçerek östaki tüpüne ulaştığını ve timpanik membranın normal kaldığını ifade etmişlerdir. Huang ve ark. ile Vassalli ve ark. en az %50 konsantrasyonda PG kullanımı ile kolesteatom modeli oluşturulabileceğini göstermişler (142,143). Bu oranın %90 konsantrasyonunda kullanılan propilen glikol ile %100'e ulaştığı gösterilen çalışmalar bildirilmiştir (134,144,145).

Wright ve arkadaşlarının orta kulağa ilerleyen keratinize epitelin, perfore timpanik membran yoluyla da olabileceğini göstermelerinden ötürü enjeksiyonların bulla yoluyla yapılması ve perfore timpanik membranı olan deney hayvanlarının grup dışı bırakılması önerilir (146).

Jove ve ark., Vitamin A ve sentetik analoglarının epitelyal dokuların sağlıklı diferansiasyonu için temel maddeler oluşundan yola çıkarak İsoetretinoinin, PG ile oluşturulan kolesteatoma etkisini incelemişler. %90 konsantrasyonunda PG kullandıkları bu çalışmada, deney hayvanlarına oral yoldan Vitamin A verilmiş. 6 hafta sonra kesitler alınarak incelenen spesmenlerde isotretinoinin kolesteatomu engelleyeceğine dair anlamlı bir sonuca varılamamış (147).

Wright ve arkadaşlarının 5-fluorourasil (5-FU) ile yaptığı çalışmada ise 5-FU topikal olarak uygulanmış ve sonuçlara göre kolesteatom oluşumunu inhibe etmediği görülmüş. Ancak bu çalışmada TM'de epitelizasyon ve bağ dokuda artışın 5-FU verilen deney grubunda istatistiksel anlamlı olarak azaldığı gösterilmiş (148).

Pownell ve ark., 3 gün arayla her iki kulaklarına da intratimpanik yolla %60'lık PG verdikleri deney hayvanlarına 14 gün boyunca 20 mg/kg sistemik yolla siklofosfamid vermişler. Ancak bu çalışmada da kolesteatom oluşumunda anlamlı bir azalma gösterilememiş (149).

White ve ark., %60 konsantrasyonda PG kullanarak yaptıkları çalışmada deney gruplarına topikal hyaluronik asid (%1,5) uygulamış ancak her iki grupta da kolesteatom oluşumunu gözlemlemişler (150).

Sennaroğlu ve arkadaşlarının 1998'de yayınlanan çalışmalarında ise her iki kulaklarına da bulla yoluyla uygulama yapılan deney hayvanlarının bir kulağına PG, diğer kulaklarına ise PG+steroid uygulanmış. Yaygın ve sınırlı enflamasyon parametrelerinde anlamlı fark görülen bu deneyde, steroid uygulanan tarafta anlamlı olarak daha az sınırlı ve yaygın enflamasyon oranlarına ulaşılmış. Her iki grup arasında epitelyal hiperplazi, lamina propria da fibrozis ve kolesteatom oluşumunda anlamlı fark bulunan bu deneysel çalışmada; lamina propria ya epitelyal migrasyonda anlamlı fark bulunamamış ve sonuç olarak intratimpanik steroid uygulamasının kolesteatom oluşumunu engelleyici etkisi deneysel olarak ortaya konmuş (151).

Tek seferlik %60 PG uygulaması yapılan deney hayvanlarına tek doz sistemik prednizolon verilerek Kayhan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kontrol grubu olarak SF verilen kulakların histopatolojik incelemesinde anlamlı patolojik değişiklik gözlenmemiş. Deney grubunda da kolesteatom oluşumu gözlenmeyerek sistemik prednizolonun kolesteatom oluşumunu engellediği tezi ortaya konmuş (152).

Antunes ve ark.'ı ise %100'lük PG solüsyonunu bulla yoluyla sağ kulaklarına verdikleri deney hayvanlarına topikal olarak Transretinoik asid solüsyonu uygulamış ve bu uygulamanın yapıldığı tarafta makroskopik olarak %25, topikal uygulamanın yapılmadığı tarafta ise %85 oranında makroskopik olarak görülen kolesteatoma rastladıklarını bildirmişlerdir. Histolojik olarak da aralarında anlamlı fark olacak şekilde topikal uygulamanın yapıldığı tarafta %30, yapılmadığı tarafta ise %75 oranında kolesteatoma rastlamışlar. Sonuç olarak topikal Transretinoik asidin kolesteatom oluşumunu engellediği istatistiksel olarak anlamlı gösterilmiş (153).

Melo ve ark., 24 rata bir hafta arayla üç defa %50 konsantrasyonda PG'i intratimpanik-pars tensa yoluyla uygulayarak yaptıkları çalışmada kolesteatom oluşumunu engellemesi amacıyla intratimpanik mitomisin-c kullanmış ancak TM kalınlığı,eksüda- fibrozis ve kolesteatom varlığı konusunda anlamlı sonuçlara ulaşamamışlardır. Sadece bulla mukoza kalınlığı mit-c uygulanan tarafta anlamlı olarak daha az bulunmuş (131).

Ismi ve arkadaşları 20 rat ile yaptıkları çalışmada daha önce adeziv otitlerde etkili olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konan mesna kullanmış. Bakılan parametreler içinden granülasyon dokusu oluşumu,bullada kist formasyonu, fibrozis ve epitelyal hiperplazi açısından anlamlı fark görülmemiş. Ancak kolesteatom oluşumunu anlamlı olarak azalttığını tespit etmişler (154).

Bizim çalışmamızda ise tüm uygulamalar bulla yoluyla yapılarak orta kulak yapılarına ve timpanik membrana zarar verilmesinden kaçınılmaya çalışıldı. Bulla civarında büyük vasküler yapıların yakınlığı nedeniyle işlemin benzer uygulama deneyimine sahip araştırmacılar tarafından yapılması işleme bağlı kayıpların azalmasını büyük ölçüde engelleyecektir. Nitekim yapılan bazı çalışmalarda kanama nedeniyle işlem sırasında veya hemen sonrasında deney hayvanlarının bir kısmı kaybedilmiştir.

SF verilen grup ile Takrolimus verilen grup arasında herhangi bir parametrede anlamlı fark gözlenmedi. Takrolimus'un da SF gibi kolesteatom oluşumuna, TM'de keratin lamel oluşumu veya epitelyal invajinasyona anlamlı düzeyde neden olmadığı böylece gösterilmiş oldu ($p=1.000$).

Sadece SF ve sadece Takrolimus verilen gruplarda sadece PG verilen gruba göre timpanik membran içerisinde keratin lamel ve epitelyal invajinasyon görülme sıklığı anlamlı olarak sırasıyla $p=0.023$ ve $p=0.006$ olarak daha az görüldü.

Sadece PG verilen grupta vasküler yapılanmada artışın sadece Takrolimus verilen gruba göre $p=0.005$ olarak anlamlı şekilde daha fazla görülmesi, kolesteatom oluşumu sürecindeki vaskülarizasyonda artış bulgusunu destekler niteliktedir.

Sadece SF ve sadece Takrolimus verilen gruplar arasında histopatolojik olarak gözlenen hiçbir parametrede anlamlı fark görülmemesi Takrolimus'un orta kulak ve timpanik membranda yarattığı değişikliklerin SF'in yaptığı değişikliklere yakın olduğunu göstermesi ve kullanımındaki güvenilirliği açısından değerli sonuçlar olarak görüldü.

PG+Takrolimus verilen grupta sadece PG verilen gruba göre anlamlı olarak ($p=0.003$) timpanik membran içerisinde keratin lamel ve epitelyal invajinasyon daha az görüldü. Yani propilen glikolün yanı sıra Takrolimus verilen tarafta kolesteatomun belirteci olan TM içerisinde keratin lameller ve epitelyal invajinasyona daha çok rastlanması Takrolimus'un kolesteatomu engelleyeceği/azaltacağı yönündeki hipotezimizi destekler niteliktedir.

PG+Takrolimus verilen grupta; sadece takrolimus verilen gruba göre daha fazla kronik enflamasyon ($p=0.008$), lamina propria da fibrozis ($p=0.023$) ve vasküler yapılanmada artış ($p<0.001$) olması, Takrolimusun bahsi geçen parametreleri önleyici/azaltıcı etkisini göstermekte.

Sadece propilen glikol verdiğimiz grupta istatistiksel anlamlı olarak fazla olmak üzere timpanik membranda keratin lamel oluşumu ve epitelyal invajinasyon izlenmiştir. Yani takrolimusun deneysel kolesteatom oluşumunu anlamlı şekilde azaltıcı etkisi gösterilmiştir.

Klinikte kullanımını açısından daha geniş serilerle çalışma yapılması ve ayrıca intratimpanik takrolimusun ototoksitesininin araştırılması gerekir.

6. ÖZET

Amaç: Kolesteatom patofizyolojisinde üzerinde çokça çalışılan enflamatuvar süreçlerin kullanacağımız immünsupresif ve antiproliferatif özelliği kanıtlanan bir ajan olan Takrolimus ile baskılanıp baskılanmayacağını araştırmak.

Çalışma Dizaynı: Hayvan deneyi.

Yer: S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuvarı.

Materyal-Metod: 23 adet Wistar Albino cinsi ratın 15'inin sağ kulağına timpanik bulla yoluyla %60 konsantrasyonda 0,2 ml propilen glikol, 0,1 gentamisin ve 0,1 ml serum fizyolojik; sol kulaklarına aynı yolla %60 konsantrasyonda 0,2 ml propilen glikol, 0,1 ml gentamisin ve 0,1 ml takrolimus uygulaması 5 gün arayla 3 defa uygulandı. 8 ratın ise sağ kulağına timpanik bulla yoluyla 0,2 ml takrolimus 0,1 ml gentamisin; sol kulaklarına da aynı yolla 0,2 ml serum fizyolojik ve 0,1 ml gentamisin uygulaması 5 gün arayla 3 defa olmak üzere anestezi altında uygulandı. Deney hayvanları son uygulamadan 8 hafta sonra sakrifiye edilip gerekli işlemlerden geçirilerek inceleme yapıldı.

Sonuçlar: Propilen glikol+takrolimus (n=15) verilen grupta sadece propilen glikol verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (p=0.003) daha az olmak üzere timpanik membranda keratin lamel ve epitelyal invajinasyon izlendi. PG+takrolimus verilen grupta %6,7 oranında timpanik membran içerisinde keratin lamel ve epitelyal invajinasyona rastlanırken, sadece PG verilen grupta bu oran %80 idi.

Tartışma: Bu çalışmayla intratimpanik Takrolimus uygulamasının deneysel kolesteatom üzerine etkisi incelenmiş olup etkili olduğu istatistiksel olarak gösterilmiştir. Klinik kullanıma uygunluğu açısından daha ileri çalışmalarla desteklenmesi gerekir.

7. ABSTRACT

Objective: To investigate whether tacrolimus, an agent with known immunosuppressive and antiproliferative properties, would suppress inflammatory processes that are commonly studied in cholesteatoma pathophysiology.

Study Design: Animal experiment

Location: S.B. Ankara Training and Research Hospital Experimental Research and Animal Laboratory

Methods: 0.2 ml 60 per cent propylene glycol, 0.1 ml gentamycin and 0.1ml saline physiologic were administrated to 15 of 23 Wistar Albino rats by tympanic bullae in the right ears; 0.2 ml 60 per cent propylene glycol, 0.1 ml gentamycin and 0.1 ml tacrolimus were administrated in the same way in the left ears at 3 times with 5-days interval. 0.2 ml tacrolimus, 0.1 ml gentamycin were administrated to 8 rats by tympanic bullae in the right ear; 0.2ml saline physiologic and 0.1ml gentamycin were administrated in the left ears under anesthesia in the same way 3 times with 5-days interval. The experimental animals were sacrificed and examined by the required procedures 8 weeks after the last administration.

Results: In the propylene glycol+tacrolimus (n = 15) group, there was statistically significantly less keratin lamel and epithelial invagination in the tympanic membrane (p = 0.003) as compared to the only propylene glycol group. In the PG + tacrolimus group, 6.7% had keratin lamel and epithelial invagination in the tympanic membrane, this rate was 80% in only PG group.

Discussion: In this study, the effect of intratympanic tacrolimus on experimental cholesteatoma was evaluated and its efficacy was statistically observed. Its clinical use should be supported by further studies.

8. KAYNAKLAR

1. Olszewska E, Chodyncki S, Chyczewski L. Apoptosis in the pathogenesis of cholesteatoma in adults. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2006; 263: 409-13.
2. Semaan MT, Megerian CA. The pathophysiology of cholesteatoma. *Otolaryngol Clin North Am.* 2006; 39(6): 1143-59.
3. Olszewska E, Wagner M, Bernal-Sprekelsen M, Ebmeyer J, Dazert S, Hildmann H, Sudhoff H. Etiopathogenesis of cholesteatoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2004; 261(1): 6-24.
4. Gantz BJ. Epidermal Langerhans cells in cholesteatoma. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1984; 93:150-6.
5. Choufani G, Roper N, Delbrouck C, Hassid S, Gabius HJ. Animal model for cholesteatoma induced in the Gerbil: Will the profiles of differentiation/growth-regulatory markers be similar to the clinical situation? *Laryngoscope.* 2007; 117(4): 706-11.
6. Güneri EA. Kulak embriyolojisi ve doğumsal kulak hastalıkları. *Otoloji ve Nöro-otoloji.* Çelik O (editör). İstanbul: Elit Ofset Matbaacılık, 2013; 1-23.
7. Beahm EK, Walton RL. Auricular reconstruction for microtia: part I. Anatomy, embryology and clinical evaluation. *Plast Reconstr Surg* 2002; 109: 2473-2482.
8. Park C. Lower auricular malformations: their representation, correction and embryologic correlation. *Plast Reconstr Surg* 1999; 104: 29-40.
9. Toth M, Helling K, Baksa G, Mann W. Localization of congenital tegmen tympani defects. *Otol Neurotol* 2007; 28: 1120-1123.
10. Rich PM, Graham J, Phelps PD. Hyrtl's fissure. *Otol Neurotol* 2002; 23: 476-482.
11. Ken K, William PP. Congenital cholesteatoma. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 12: 398-403.49.
12. Miklos T, Jarinratn S, Wolf M. Patterns of anomalies of structures of the middle ear and the facial nerve as revealed in newborn temporal bones. *Otol Neurotol* 2013; 34: 1121-1126.
13. Robert AJ. Embryology of the facial nevre. *Am J Otol* 1988; 5: 423-426.

14. D'Alessandro D, Danti S, De Vito A, Forli F, Bruschini L, Berrettini S. Histologic characterization of human ear ossicles for the development of tissue engineered replacements. *Otol Neurotol* 2012; 33: 1458-1468.
15. Seibert JW, Danner CJ. Eustachian tube function and the middle ear. *Otolaryngol Clin N Am* 2006; 39: 1221-1235.
16. Juliano AF, Ginat DT, Moonis G. Imaging review of the temporal bone: part I anatomy and inflammatory and neoplastic processes. *Radiology* 2013; 269: 17-33.
17. Borin A, Covolan L, Mello LE, Okada DM, Cruz OLM, Testa JRG. Anatomical study of a temporal bone from a non-human primate (*Callithrix* sp). *Rev Bras Otorrinolaringol* 2008; 74: 370-373.
18. Francis HW. Anatomy of the temporal bone, external ear and middle ear. Flint PW, Haughey BH, Lund VJ, Niparko JK, Richardson MA, Robbins KT (editors). *Cummings Otolaryngology Head & Neck Surgery*. Fifth Edition, New York: Mosby Elsevier, 2010; 1821-1830.
19. Gulya AJ, Anatomy of the ear and temporal bone. Glasscock ME, Gulya AJ (editors). *Surgery of the Ear*. Fifth Edition, Spain: WB Saunders Company, 2003: 35-59.
20. Özgirgin ON, Çelik O. Otoskleroz. Çelik O (editör). *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi*. Birinci Basım, İzmir: Asya Tıp Kitapevi, 2007; 220-250.50
21. Kashiwamura M, Fukuda S, Chida E, Matsumura M. Locations of congenital cholesteatoma in the middle ear in Japanese patient. *Am J Otolaryngol* 2005; 26: 372-376.
22. McKinley M, O'Loughlin VD (editors). *Senses: general and special*. Human Anatomy. Third Edition, New York: Mc Graw Hill Lange, 2012; 586-603.
23. Lerut B, Pfammatter A, Moons J, Linder T. Functional correlations of tympanic membrane perforation size. *Otol Neurotol* 2012; 33: 379-386.
24. Rööslı C, Sim JH, Chatzimichalis M, Huber AM. How does closure of tympanic membrane perforations affect hearing and middle ear mechanics? An evaluation in a patient cohort and temporal bone models. *Otol Neurotol* 2012; 33: 371-378.

25. Gulya AJ (Editor). Gulya and Schuknecht's Anatomy of the Temporal Bone with Surgical Implications. Third Edition, New York: Informa Healthcare, 2007; 41-115.
26. Uluğ T. Temporal Kemik Cerrahisi Atlas. İkinci Baskı, İstanbul: A4 Ofset, 2006; 25-75.
27. Fischbein NJ, Ong KC. Radiology. Lalwani AK (editor). Current Diagnosis & Treatment Otolaryngology Head and Neck Surgery. Third Edition, New York: Mc Graw Hill Lange, 2012; 52-176.
28. Ferlito A. A review of the definition, terminology and pathology of aural cholesteatoma. J Laryngol Otol 1993;107(6):483-8.
29. Soldati D, Mudry A. Knowledge about cholesteatoma, from the first description to the modern histopathology. Otol Neurotol. 2001; 22(6): 723-30.
30. Jahn AF. Cholesteatoma: What is it, how it get there, and how do we get rid of it? Otolaryngol Clin North Am. 1989; 22(5): 847-57.
31. Harker LA, Koontz FP. The bacteriology of cholesteatoma. In: McCabe BF, Sade J, Abramson M, editors. Cholesteatoma. First International Conference. Birmingham (AL): Aesculapius; 1977:264-7.
32. Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi 1. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998; 337-451.
33. Paparella S, Gluckman, Meyerhoff. Otolaryngology, Philadelphia: WB Saunders Co, 1991: 2629-2637.
34. Gulya A. Development of anatomy of the temporal bone and Skull Base. Shambaugh GE Jr, Glasscock ME III, editors. Surgery of the ear. ed 5. Philadelphia: WB Saunders; 2003: 3-35.
35. Özbilen S. Kronik Süpüratif Otitis Media. Çelik O (editors). Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. İstanbul: Turgut yayıncılık, 2002: 161-193.
36. Özbilen S, Uslu S: Kolesteatomlu kronik otitis media. Türkiye Klinikleri KBB Dergisi 2001;1:86-98.

37. Huisman MA, De Heer E, Grote JJ. Cholesteatoma epithelium is characterized by increased expression of Ki-67, p53 and p21, with minimal apoptosis. *Acta Otolaryngol* 2003;123: 377-382.
38. Albino AP, Kimmelman CP, Parisier SC. Cholesteatoma: a molecular and cellular puzzle. *Am J Otol* 1998; 19: 7-19.
39. Bernal Sprekelsen M, Ebmeyer J, Buchbinder A, Sudhoff H. Comparative analysis of the proliferative capacity of cholesteatomas. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2000; 51: 299-307.
40. Sade J. Treatment of cholesteatoma. *Am J Otol* 1987; 8: 524-533.
41. Diamant M, Diamant H. The mastoid air cells. In: McCabe BF, Sade J, Abramson M, editors. *Cholesteatoma . First International Conference. Birmingham (AL): Aesculapius; 1977:319-23.*
42. Sade J, Fuchs C. Secretory otitis media in adults: I. The role of mastoid pneumatization as a risk factor. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1996;105(8):643-7.
43. Tos M, Strangerup SE, Hvid G. Mastoid pneumatization. Evidence of the environmental theory. *Arch Otolaryngol* 1984;110(8):502-7.
44. Ojala K, Palva A. Late results of obliterative cholesteatoma surgery. *Arch Otolaryngol* 1982; 108: 1-3.
45. Tumarkin A. On the nature and significance of hypocellularity of the mastoid. *J Laryngol Otol* 1959; 73: 34-44.
46. Sculerati N, Bluestone CD. Pathogenesis of cholesteatoma. *Otolaryngol Clin North Am* 1989; 22: 859-868.
47. Pfaltz CR. Retraction pocket and development of cholesteatoma in children. *Adv Otorhinolaryngol* 1988; 40: 118-123.
48. Johnson AP. The mechanism of migration in external ear canal. *Cholesteatoma and mastoid surgery. Kugler and Ghedin Pub. Amsterdam 1988; 271-273.*
49. Chole RA CM. Chronic otitis media, mastoiditis, and petrositis. Cummings CW, Frederickson JM, Harker LA, Krause AJ, Richardson MA, Schuller DA, eds. *Otolaryngology Head Neck Surgery. St. Louis: Mosby Year Book, 1998: 3026- 3046.*

50. Michaels L. Biology of cholesteatoma. *Otolaryngol Clin North Am* 1989; 22: 869-881.
51. Friedberg J. Congenital cholesteatoma. *Laryngoscope* 1994; 104:1-24.
52. Derlacki EL, Clemis JD. Congenital cholesteatoma of the middle ear and mastoid. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1965;74(3):706-27.
53. Levenson MJ, Parisier SC, Chute P, Wenig S, Juarbe C. A review of twenty congenital cholesteatomas of the middle ear in children. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1986;94(5):560-7.
54. Aimi K. Role of the tympanic ring in the pathogenesis of congenital cholesteatoma. *Laryngoscope* 1983;93(9):1140-6.
55. Michaels L. An epidermoid formation in the developing middle ear: possible source of cholesteatoma. *J Otolaryngol* 1986;15(3):169-74.
56. Nelson M, Roger G, Koltai PJ, et al. Congenital cholesteatoma: classification, management, and outcome. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;128(7):810-4.
57. Potsic WP, Samadi DS, Marsh RR, Wetmore RF. A staging system for congenital cholesteatoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;128(9):1009-12.
58. Nelson M, Roger G, Koltai PJ, Garabedian E-N, Triglia J-M, Roman S, Castellon RJ, Hamel JP. Congenital cholesteatoma: classification, management, and outcome. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2002; 128: 810-4.
59. Tos M. A new pathogenesis of mesotympanic (congenital) cholesteatoma. *Laryngoscope*. 2000; 110 (11): 1890-7.
60. Romanet P. Congenital cholesteatoma. In: Magnan J, Chays A, editors. *Cholesteatoma and Ear Surgery*. Marseille: Label Production; 2001:315-20.
61. Persaud RA, Hajioff D, Thevasagayam MS, Wareing MJ, Wright A. Keratosis obturans and external ear canal cholesteatoma: how and why we should distinguish between these conditions. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 2004; 29: 577-581.
62. Naim R, Linthicum Jr F, Shen T, Bran G, Hormann K. Classification of the external auditory canal cholesteatoma. *Laryngoscope* 2005; 115: 455-460.

63. Farrior J. Cholesteatoma of the external ear canal. *Am J Otol* 1990; 11: 113-116.
64. Arriaga MA, Brackmann DE. Differential diagnosis of primary petrous apex lesions. *Am J Otol* 1991; 12: 470-474.
65. Gacek RR. Evaluation and management of primary petrous apex cholesteatoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1980; 88: 519-523.
66. Meyerhoff WL, Truelson J. Cholesteatoma staging. *Laryngoscope* 1986; 96: 935-939.
67. Tos M. A new pathogenesis of mesotympanic (congenital) cholesteatoma. *Laryngoscope* 2000; 110: 1890–1897.
68. Kim YH, Yoo JC, Lee JH, Oh SH, Chang SO, Koo JW, et al. Stage progression of congenital cholesteatoma in children. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2012; 269: 833-837.
69. Saleh HA, Mills RP. Classification and staging of cholesteatoma. *Clin Otolaryngol* 1999; 24: 355-359.
70. Jung M, Tono T, Olszewska E, Yamamoto Y, et al. EAONO/JOS Joint Consensus Statements on the Definitions, Classification and Staging of Middle Ear Cholesteatoma. *J Int Adv Otol.* 2017 Jan 6. doi:10.5152/iao.2017.3363.
71. Olszewska E, Wagner M, Bernal-Sprekelsen M, Ebmeyer J, Dazert S, Hildmann H, Sudhoff H. Etiopathogenesis of cholesteatoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2004; 261(1): 6-24.
72. Sudhoff H, Bujia J, Fisseler-Eckhoff A, Schulz-Flake C, Holly A, Hildmann H. Expression of the cell cycle related antigen (MIB-1) in cholesteatoma and auditory meatal skin. *Laryngoscope.* 1995; 105(11): 1227-31.
73. Park K, Park HJ, Chun YM. Immunohistochemical study on proliferative activity of experimental cholesteatoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2001; 258(3): 101-5.
74. Desloge RB, Carew JF, Finstad CL, Steiner MG, Sassoon J, Levenson MJ, Staiano-Coico L, Parisier SC, Albino AP. DNA analysis of human cholesteatomas. *Am J Otol.* 1997; 18:155–9.

75. Lavezzi A, Mantovani M, Cazzulo A, Turconi P, Matturri L. Significance of trisomy 7 related to PCNA index in cholestaatoma. *Am J Otolaryngol.* 1998; 19(2): 109-12.
76. Tokuriki M, Noda I, Saito T, Narita N, Sunaga H, Tsuzuki H, Ohtsubo T, Fujieda S, Saito H. Gene expression analysis of human middle ear cholesteatoma using complementary DNA arrays. *Laryngoscope.* 2003; 113(5): 808-14.
77. Kwon KH, Kim SJ, Kim HJ, Jung HH. Analysis of gene expression profiles in cholesteatoma using oligonucleotide microarray. *Acta Otolaryngol.* 2006; 126(7): 691-7.
78. Huisman MA, De Heer E, Grote JJ. Cholesteatoma epithelium is characterized by increased expression of Ki-67, p53 and p21, with minimal apoptosis. *Acta Otolaryngol.* 2003; 123: 377-82.
79. Albino AP, Reed JA, Bogdany JK, Sassoon J, Desloge RB, Parisier SC. Expression of p53 in human middle ear cholesteatomas. *Am J Otol.* 1998; 19: 30-6.
80. Semaan MT, Megerian CA. The pathophysiology of cholesteatoma. *Otolaryngol Clin North Am.* 2006; 39(6): 1143-59.
81. Selim AG, El-Ayat G, Naase M, Wells CA. C-myc oncoprotein expression and gene amplification in apocrine metaplasia and apocrine change within sclerosing adenosis of the breast. *Breast.* 2002; 11: 466-72.
82. Ozturk K, Yildirim MS, Acar H, Cenik Z, Keles B. Evaluation of c-myc status in primary acquired cholesteatoma by using fluorescence in situ hybridization technique. *Otol Neurotol.* 2006; 27: 588-91.
83. Holly A, Sittinger M, Bujia J. Immunohistochemical demonstration of c-myc oncogene product in middle ear cholesteatoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1995; 252: 366-9.
84. Polakowska RP, Placentini M, Bartlett R, Goldsmith LA, Hake AR. Apoptosis in human skin development: morphogenesis periderm and stem cells. *Dev Dynamics.* 1994; 199: 176-88.

85. Miyao M, Shinoda H, Takahashi S. Caspase-3, caspase-8, and nuclear factor-kappaB expression in human cholesteatoma. *Otol Neurotol.* 2006; 27(1): 8-13.
86. Miyazaki H, Kojima H, Tanaka Y, Shiwa M, Koga T, Moriyama H. Terminal differentiation of epithelial cells in middle ear cholesteatoma: investigation of patterns of expression of protein kinase C-delta and protein kinase C-eta. *Laryngoscope.* 1999; 109(11): 1785-92.
87. Kojima H, Tanaka Y, Tanaka T, Miyazaki H, Shiwa M, Kamide Y, Moriyama H. Cell proliferation and apoptosis in human middle ear cholesteatoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998; 124(3): 261-4.
88. Choufani G, Mahillon V, Decaestecker C, Lequeux T, Danguy A, Salmon I, Gabius HJ, Hassid S, Kiss R. 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 cholesteatomas. *Laryngoscope.* 1999; 109(11): 1825-31.
89. Bujia J, Holly A, Schilling V, Negri B, Pitzke P, Schulz P. Aberrant expression of epidermal growth factor receptor in aural cholesteatoma. *Laryngoscope.* 1993; 103: 326-9.
90. Bujia J, Holly A, Kim C, Sudhoff H, Ostos P, Kastenbauer E. Epidermal growth factor receptor (EGF-R) in human middle ear cholesteatoma: An analysis of protein production and gene expression. *Am J Otol.* 1996; 17: 1-4
91. Sudhoff H, Bujia J, Holly A, Kim C, Fisseler-Eckhoff A. Functional characterization of middle ear mucosa residues in cholesteatoma samples. *Am J Otol.* 1994; 15: 217-21.
92. Barbara M, Raffa S, Murè C, Manni V, Ronchetti F, Monini S, Torrisi MR. Keratinocyte growth factor receptor (KGF-R) in cholesteatoma tissue. *Acta Otolaryngol.* 2008; 128(4): 360-4.
93. Ergün S, Zheng X, Carlsöö B. Expression of transforming growth factor-alpha and epidermal growth factor receptor in middle ear cholesteatoma. *Am J Otol.* 1996; 17(3): 393-6.

94. Bujía J, Stammberger M, Holly A, Kastenbauer E. Profile of anti-stratum corneum auto antibodies in patients with aural cholesteatoma. *Am J Otol.* 1994; 15(4): 532-5.
95. Palva T, Taskinen E. Inflammatory cells in chronic middle ear disease. Value of lymphocyte subset determination in ear surgery. *Acta Otolaryngol.* 1990; 109(1-2): 124-9.
96. Ottaviani F, Neglia CB, Berti E. Cytokines and adhesion molecules in middle ear cholesteatoma. A role in epithelial growth? *Acta Otolaryngol.* 1999; 119: 462-7.
97. Sudhoff H, Dazert S, Gonzales AM, Borkowski G, Park SY, Baird A, Hildmann H, Ryan AF. Angiogenesis and angiogenic growth factors in middle ear cholesteatoma. *Am J Otol.* 2000; 21(6): 793-8.
98. Richardson AC, Tinling SP, Chole RA. Risedronate activity in the fetal and neonatal mouse. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1993; 109: 623-33.
99. Yoon TH, Lee SH, Park MH, Chung JW, Kim HJ. Inhibition of cholesteatomatous bone resorption with pamidronate sodium. *Acta Otolaryngol.* 2001; 121: 178-81.
100. Richard F, Judkins, Hongyan LI. Surgical anatomy of the rat middle ear. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997;117:438-447.
101. Judkins RF, Li H. Surgical anatomy of the rat middle ear. *Otolaryngol Head and Neck Surg.* 1997; 117: 438-47.
102. Fleischer G. Evolutionary Principles of the Mammalian middle ear. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 1978; 55: 1-70.
103. Zimmer WM, Deborah FR, Saunders JC. Middle-ear development VI: Structural maturation of the rat conducting apparatus. *Anatomical Record* 1994; 239:475-84.
104. Daniels HJ, Fulgham RS, Brinn JE, Barrett KA. Comparative anatomy of Eustachian tube and middle ear cavity in animal models for otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1982; 91:82-9.
105. Hellström S, Stenfors LE. The pressure equilibrating function of pars flaccida in middle ear mechanics. *Acta Physiol Scand* 1983; 118:337-41.

106. Hellström S, Salen B, Stenfors LE. Anatomy of the rat middle ear. A study under the dissection microscope. *Acta Anat* 1982; 112:346-52.
107. Hooks MA. Tacrolimus, a new immunosuppressant- A review of the literature. *Ann Pharmacy* 1994;28:501–510.
108. Kapturczak MH, Meier-Kriesche HU, Kaplan B. Pharmacology of Calcineurin Antagonists. *Transplantation Proceedings*. 2004 Mar;36 (Suppl 2);25-32.
109. Andoh TF, Burdmann EA, Lindsley J, Houghton DC, Bennett WM. Functional and structural characteristics of experimental FK 506 nephrotoxicity. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1995 sep;22(9):646-54.
110. Almawi WY, Melemedjian OK. (2000). Clinical and mechanistic differences between FK506 (tacrolimus) and cyclosporin A. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 15:1916-1918.
111. Tanaka H, Kuroda A, Marusawa H, et al. Physicochemical properties of FK 506, a novel immunosuppressant isolated from *Streptomyces tsukubaensis*. *Transplant Proc* 1987;19(Suppl6):11-16.
112. Venkataramanan R, Jain A, Warty VW, Abu-Elmaqd K, Furakawa H, Inventerza O, et al. Pharmacokinetics of FK 506 following oral administration: a comparison of FK506 and cyclosporine. *Transplant Proc* 1991; 23: 931-933.
113. Jain AB, Fung JJ, Tzakis AG, Tzakis AG, Venkataramanan R, Abu Elmaqd K, et al. Comparative study of cyclosporine and FK 506 dosage requirements in adult and pediatric orthotopic liver transplant patients. *Transplant Proc* 1991; 23: 2763- 2773.
114. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, Jain A, Zuckerman S, Warty V, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet* 1995; 29: 404- 430.
115. Alak AM, Moy S. Biological activity of tacrolimus (FK506) and its metabolites from whole blood of kidney transplant patients. *Transplant Proc* 1997; 29: 2487- 2490.

116. Miyata S, Ohkuba Y, Mutoh S. A review of the action of tacrolimus (FK506) on experimental models of rheumatoid arthritis. *Inflamm Res* 2005; 54: 1-9.
117. Kay JE, Doe SE, Benzie CR. The mechanism of action of the immunosuppressive drug FK-506. *Cell Immunol.* 1989 Nov;124(1):175-81.
118. Woodle ES, Perdrizet GA, Brunt EM, So SK, et al. FK506: inhibition of humoral mechanisms of hepatic allograft rejection. *Transplantation.* 1992 Aug;54(2):377-81.
119. Wiederrecht G, Lam E, Hung S, Martin M, Sigal N. The mechanism of action of FK-506 and cyclosporin A. *Ann N Y Acad Sci.* 1993 Nov 30;696:9-19.
120. Christians U, Jacobsen W, Benet LZ, Lampen A. Mechanisms of clinically relevant drug interactions associated with tacrolimus. *Clin Pharmacokinet* 2002; 41: 813-851.
121. Jensik SC. Tacrolimus (FK 506) in kidney transplantation: three-year survival results of the US multicenter, randomized, comparative trial. FK 506 Kidney Transplant Study Group. *Transplant Proc* 1998; 30: 1216-1218.
122. Beck LA. The efficacy and safety of tacrolimus ointment: a clinical review. *J Am Acad Dermatol* 2005; 53: 165-170.
123. Takamatsu H, Tsukada H, Noda A, Kakiuchi T, Nishiyama S, Nishimura S, Umemura K. FK506 attenuates early ischemic neuronal death in a monkey model of stroke. *J Nucl Med* 2001; 42: 1833-1840.
124. Chen B, Song Y, Liu Z. Promotion of Nerve Regeneration in Peripheral Nerve by Short-Course FK506 after End-to-Side Neurotomy. *Journal of Surgical Research* 152(2):303–310 (2009) doi:10.1016/j.jss.2008.03.032.
125. Udina E, Rodriguez FJ, VERDÚ E, Espejo M, Gold BG, Navarro X. FK506 Enhances Regeneration of Axons Across Long Peripheral Nerve Gaps Repaired With Collagen Guides Seeded With Allogeneic Schwann Cells. *Glia.* 2004 Aug 1;47(2):120-9.
126. Effect of FK506 on Functional Recovery After Facial Nerve Injury in the Rat. Cory Yeh, MD; Daniel Bowers, BS; Tessa A. Hadlock, MD *Arch Facial Plast Surg.* 2007;9(5):333-339.

127. Caffier PP, Harth W, Mayelzadeh B, Haupt H, Sedlmaier B. Tacrolimus: a new option in therapy-resistant chronic external otitis. *Laryngoscope*. 2007 Jun;117(6):1046-52. Doi: 10.1097/MLG.0b013e31804b1aad
128. Harth W, Caffier PP, Mayelzadeh B, Haupt H, Sedlmaier B, Richard G. Topical tacrolimus treatment for chronic dermatitis of the ear. *Eur J Dermatol*. 2007 Sep-Oct;17(5):405-11. Epub 2007 Aug 2. DOI: 10.1684/ejd.2007.0238
129. Kesser BW1. Assessment and management of chronic otitis externa. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2011 Oct;19(5):341-7. doi: 10.1097/MOO.0b013e328349a125.
130. Kelley LS, Flynn-Lurie AK, House RA, Simpson AC, Marsella R. Safety and tolerability of 0.1% tacrolimus solution applied to the external ear canals of atopic beagle dogs without otitis. *Vet Dermatol*. 2010 Dec;21(6):554-65. doi: 10.1111/j.1365-3164.2009.00786.x.
131. Melo AA, Caldas Neto SS, Leão FS, Campos AJ. Effect of intratympanic mitomycin C on the development of cholesteatoma and otitis media in rats. *J Laryngol Otol*. 2013 Apr;127(4):359-63. doi: 10.1017/S002221511300011X. Epub 2013 Feb 14.
132. Ismi O, Karabulut YY, Bal KK, Vayisoglu Y, Unal M. Single dose intratympanic mesna application inhibits propylene glycol induced cholesteatoma formation. *J Laryngol Otol*. 2016 Dec 20:1-6.
133. Yamamoto-Fukuda T, Takahashi H, Koji T. Animal models of middle ear cholesteatoma. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:394241. doi: 10.1155/2011/394241.
134. Chole RA, Henry KR, McGinn MD. Cholesteatoma:spontaneous occurrence in the Mongolian gerbil *Meriones unguiculatis*. *American Journal of Otolology*, vol.2,no.3,pp.204-10, 1981.
135. McGinn MD, Chole RA, Henry KR. Cholesteatoma: Experimental induction in the Mongolian gerbil, *Meriones unguiculatis*. *Acta Otolaryngologica*, vol.93,pp.61-67, 1982.

136. Wolfman DE, Chole RA. Experimental retraction pocket cholesteatoma. *Annals of Otolaryngology, Rhinology and Laryngology*, vol.95, no.6 I,pp.639-44, 1986.
137. Hueb MM, Goycoolea MV, Muchow D, Duvall AJ, Paparella MM, Sheridan C. In search of missing links in otology. III. Development of a new animal model for cholesteatoma. *Laryngoscope*, vol. 103, no.7,pp.774-84, 1983.
138. Ruedi L. Cholesteatoma formation in the middle ear in animal experiments. *Acta Otolaryngologica*, vol.50,pp.233-42, 1959.
139. Klein-Szanto AJP, Terzaghi M, Mirkin LD. Propagation of normal human epithelial cell populations using an in vivo culture system. Description and applications. *American Journal of Pathology*, vol.108, no.2, pp.231-39, 1982.
140. Schmidt SH and Hellstrom S. Experimental cholesteatoma in the rat. *Acta Otolaryngologica*, vol.114, no.4, pp 430-34, 1994.
141. WrightCG,MeyerhoffWL,BumsDK. Middle ear cholesteatoma: an animal model. *Am J Otolaryngol* 1985;6:327-41.
142. Huang CC, Shi GS, Yi ZZ. Experimental induction of middle ear cholesteatoma in rats. *Am J Otolaryngol* 1988;9:165-72.
143. Vassalli L, Harris MD, Gradini R, Applebaum EL. Propylene glycol-induced cholesteatoma in chinchilla middle ears. *American Journal of Otolaryngology*, vol. 9, no.4, pp.180-88, 1988.
144. Huang CC, Shi GS, Yi ZX. Experimental induction of middle ear cholesteatoma in rats. *American Journal of Otolaryngology*, vol. 9,no. 4, pp. 165-72, 1988.
145. Ismi O, Unal M. Experimental models of cholesteatoma:a review. *World J Otorhinolaryngol* 2014;4:23-27.
146. Wright CG, Bird LL, Meyerhoff WL. Tympanic membrane microstructure in experimental cholesteatoma. *Acta Oto- laryngol (Stockh)* 1991;III:101-11.
147. Jove MA, Vassalli L, Raslan W, Applebaum EL. The effect of isotretinoin on propylene glycol-induced cholesteatoma in chinchilla middle ears. *Am J Otolaryngol*. 1990 Jan-Feb;11(1):5-9.

148. Wright CG, Bird LL, Meyerhoff WL. Effect of 5-fluorouracil in cholesteatoma development in an animal model. *Am J Otolaryngol*. 1991 May-Jun;12(3):133-8.
149. Pownell PH, Wright CG, Robinson KS, Meyerhoff WL. The effect of cyclophosphamide on development of experimental cholesteatoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1994 Oct;120(10):1114-6.
150. White SJ, Wright CG, Robinson KS, Meyerhoff WL. Effect of topical hyaluronic acid on experimental cholesteatoma. *Am J Otolaryngol*. 1995 Sep-Oct;16(5):312-8.
151. Sennaroglu L, Ozkul A, Gedikoglu G, Turan E. Effect of intratympanic steroid application on the development of experimental cholesteatoma. *Laryngoscope*. 1998 Apr;108(4 Pt 1):543-7.
152. Kayhan FT, Algün Z. The effect of systemic prednisolone on propylene glycol-induced otitis media in guinea pig. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg*. 2006;16(5):214-20.
153. Antunes ML, Fukuda Y, Penido Nde O, Ferreira R. Effect of trans-retinoic acid in the inhibition of cholesteatoma in guinea pigs. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2008 Jan-Feb;74(1):53-60.
154. Ismi O, Karabulut YY, Bal KK, Vayisoglu Y, Unal M. Single dose intratympanic mesna application inhibits propylene glycol induced cholesteatoma formation. *J Laryngol Otol*. 2016 Dec 20:1-6.