

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

**KOLESTEATOMANIN KEMİK YIKIM ETKİSİNE BMP-2,
BMP-4 VE BMP-6 VARLIĞININ ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Muzaffer ÖGER**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. H. Cengiz ALPAY**

**ELAZIĞ
2011**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur

Prof. Dr. Şinasi YALÇIN

Kulak Burun Boğaz ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

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

Doç. Dr. H.Cengiz ALPAY

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

..... _____
..... _____
..... _____
..... _____
..... _____
..... _____

TEŞEKKÜR

Kulak Burun Boğaz uzmanlık eğitimim süresince teorik ve pratik anlamda yetişmemde bana her türlü desteği sağlayan, bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan, kendilerinden çok şey öğrendiğim başta tez hocam Doç. Dr. H. Cengiz Alpay olmak üzere, Prof. Dr. Şinasi Yalçın'a, Prof. Dr. Üzeyir Gök'e, Prof. Dr. İrfan Kaygusuz'a, Doç. Dr. Turgut Karlıdağ'a ve Doç. Dr. Erol Keleş'e teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca tez çalışmamdaki katkılarından dolayı Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında görev yapan Yrd. Doç. Dr. Ebru Ethem Önalın'a

Uzmanlık eğitimine başladıktan sonra hayatıma dahil olan ve hayatıma büyük renk katan güzel kızım İsra'ya her zaman desteğini hissettiğim ve gördüğüm sevgili eşim Zeynep'e ve birlikte çalışma fırsatı bulduğum asistan arkadaşlarıma,

Onları tanımaktan ve birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum KBB servis, ameliyathane ve poliklinik hemşireleri ve personeline,

Uzmanlık eğitimim süresince beni sabırla destekleyen sevgili anneme, babama ve kardeşlerime

Teşekkür ederim.

ÖZET

Çalışmamızda edinilmiş kolesteatoma olan hastalarda temporal kemik yapılarındaki yıkım, orta kulak kemikçik yapılarındaki yıkım ve kolesteatoma yaygınlığı ile BMPs, BMP-2, BMP-4 ve BMP-6 ekspresyonu arasındaki ilişkinin saptanmasını amaçlanmıştır.

Çalışma kolesteatomalı ve kolesteatomasız kronik otit nedeni ile opere edilen toplam 80 olgu üzerinde yapılmıştır. Hastalar çalışma ve kontrol grubu olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Çalışma grubu primer edinilmiş kolesteatomalı kronik otitli hastalardan, kontrol grubu kolesteatomasız kronik otitli hastalardan oluşmaktaydı. Çalışma grubu için kolesteatoma dokusundan ve dış kulak yolu cildinden, kontrol grubu için dış kulak yolu cildinden örnekler alınmıştır. BMPs, BMP-2, BMP-4 ve BMP-6 ekspresyonu ölçümünde RT PZR yöntemi kullanılmıştır. Doku örneklerinden RNA izolasyonu yapılmış ve PZR çalışılmıştır.

Çalışma ve kontrol gruplarının dış kulak kanalı cildinde BMP ekspresyonu varlığı ile karşılaşılma oranlarına bakıldığında BMPs, BMP-2 ve BMP-6'da çalışma grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilirken ($p<0.05$), BMP-4'de ise anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir ($p>0.05$). Kolesteatoma dokusunda BMP ekspresyonu varlığı ile karşılaşılma oranlarına bakıldığında çalışma grubunda BMPs, BMP-2 ve BMP-6'da istatistiksel olarak anlamlı bir pozitiflik bulunmuştur ($p<0.05$). BMP-4'de ise anlamlı bir pozitiflik tespit edilememiştir ($p>0.05$). Çalışma grubunda, kolesteatoma dokusunda ve dış kulak kanalı cildinde BMPs, BMP-2, BMP-4 ve BMP-6 ekspresyonu varlığına göre kemik yapılarındaki yıkım, kemikçik yapılarındaki yıkım ve kolesteatoma yaygınlığı değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir ($p>0.05$). İnkus+malleus+stapeste yıkım olan grupta kolesteatoma dokusunda BMPs ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı pozitiflik tespit edilmiştir ($p<0.05$).

BMPs, BMP-2 ve BMP-6 ekspresyonu kolesteatoma dokusunda yüksek bulunmuştur. Ayrıca tüm kemikçiklerin yıkıma uğradığı olgularda BMPs ekspresyonu pozitifliğinin istatistiksel anlamlılıkta olması, bu belirteçlerin kolesteatoma agresifliğini değerlendirmede rolü olabileceği fikrini vermektedir.

Anahtar Kelimeler: Kolesteatoma, Ekspresyon, Bone Morfogenetik Protein

ABSTRACT

THE EFFECT OF BMP-2, BMP-4 AND BMP-6 ON BONE DESTRUCTION OF CHOLESTEATOMA PRESENCE

The aim of our study was to investigate the relation between the destruction of temporal bone structures, ossicular chain destruction, and dissemination of cholesteatoma and the expressions of BMPs, BMP-2, BMP-4 and BMP-6 in patients with acquired cholesteatoma.

This study was performed in total of 80 patients with cholesteatoma and without cholesteatoma who underwent surgery due to chronic otitis media. The patients were grouped as study and control group. The study group was consisted of patients with primary acquired cholesteatoma, and the control group was consisted of chronic otitis media patients without cholesteatoma. The samples were obtained from cholesteatoma tissue and external acoustic meatus skin in study group patients and were obtained from only external acoustic meatus skin in control group patients. The RT PZR method was used to measurement of BMPs, BMP-2, BMP-4 and BMP-6 expressions. PZR was studied by isolation of RNA from the tissue samples.

When the expressions of BMP in external acoustic meatus skin were compared between study and control group, the BMPs, BMP-2 and BMP-6 were statistically significant relation in study group ($p < 0.05$), but BMP-4 was not significant ($p > 0.05$). When the expression of BMP in cholesteatoma tissue was investigated in study group patients, BMPs, BMP-2 and BMP-6 were determined as statistically significant positivity ($p < 0.05$), but no significant positivity for BMP-4 ($p > 0.05$). In study group, there was no statistically significance between the expressions of BMPs, BMP-s, BMP-4 and BMP-6 in cholesteatoma tissue and external acoustic meatus skin, and temporal and ossicular chain destruction and dissemination of cholesteatoma ($p > 0.05$). The statistically significance positivity for BMPs expression in cholesteatoma tissue was determined in patients with destruction of incus+malleus+stapes ($p < 0.05$).

The expressions of BMPs, BMP-2 and BMP-6 were elevated in cholesteatoma tissue. Furthermore, the positivity of BMPs expression were statistically significant in patients with destruction of all ossicles, and we think that this marker can be used to evaluate the aggressiveness of cholesteatoma.

Key words: Cholesteatoma, Expression, Bone morphogenetic proteins

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Kulak Embriyolojisi	2
1.1.1. Dış Kulağın gelişmesi	2
1.1.2. Orta Kulağın Gelişmesi	2
1.1.3. İç Kulağın Gelişmesi	3
1.2. Kulak Anatomisi	3
1.2.1. Temporal Kemik	4
1.2.1.1. Skuamöz Parça	4
1.2.1.2. Mastoid Parça	4
1.2.1.3. Petröz Parça	4
1.2.1.4. Timpanik Parça	5
1.2.2. Dış Kulak	5
1.2.3. Orta Kulak	6
1.2.4. İç Kulak	8
1.3. Kolesteatoma	11
1.3.1. Kolesteatoma Patogenezi	13
1.3.1.1. Edinilmiş Kolesteatomalar	13
1.3.1.1.1. Primer Edinilmiş Kolesteatomalar	13
1.3.1.1.2. Sekonder Edinilmiş Kolesteatomalar	14
1.3.1.2. Doğumsal Kolesteatomalar	15
1.3.1.3. Kolesteatomanın Klinik Tipleri	15
1.3.1.3.1. Edinilmiş Kolesteatomalar	15

1.3.1.3.1.1. Posterior Epitimpanik Kolesteatoma	15
1.3.1.3.1.2. Anterior Epitimpanik Kolesteatoma	15
1.3.1.3.1.3. Posterior Mezotimpanik Kolesteatoma	16
1.3.1.3.2. Doğumsal Kolesteatoma	16
1.3.1.3.3. Petröz Apeks Kolesteatoması	16
1.3.1.3.4. Dış Kulak Kanalı Kolesteatomaları	16
1.3.1.3.5. İatrojenik Kolesteatomalar	16
1.3.1.3.6. Rezidiv Kolesteatomalar	16
1.3.1.3.6.1. Rezidüel Kolesteatoma	16
1.3.1.3.6.2. Rekürren Kolesteatoma	17
1.4. Kronik Süpüratif Otitis Media	17
1.4.1. Kronik Süpüratif Otitis Mediada Histopatoloji	17
1.4.2. Kronik Süpüratif Otitis Mediada Mikrobiyoloji	18
1.4.3. Kronik Süpüratif Otitis Mediada Teşhis	18
1.4.4. Kronik Süpüratif Otitis Mediada Tedavi	19
1.4.5. Süpüratif Otitis Media'nın Komplikasyonları	20
1.4.5.1. Komplikasyonların Gelişmesinde Yayılım Yolları	20
1.4.5.1.1. Preforme Yollardan Yayılım	20
1.4.5.1.2. Kemik Erozyonu ile Yayılım	20
1.4.5.1.3. Venöz tromboflebit yoluyla yayılım:	21
1.4.5.2. İntrakranial Komplikasyonlar	21
1.4.5.2.1. Menenjit	21
1.4.5.2.2. Lateral Sinüs Trombozu	22
1.4.5.2.3. Ekstradural Apse	22
1.4.5.2.4. Subdural apse	22
1.4.5.2.5. Beyin apsesi	22
1.4.5.2.6. Otitik hidrosefali	22
1.4.5.3. İntratemporal Komplikasyonlar	23
1.4.5.3.1. Fasial paralizi	23
1.4.5.3.2. Labirentit	23
1.4.5.3.2.1. Sınırlı labirentit	23
1.4.5.3.2.2. Diffüz seröz labirentit	23

1.4.5.3.2.3. Diffüz süpüratif labirentit	23
1.4.5.3.3. Labirent fistülü	23
1.4.5.3.4. Petrozit	24
1.4.5.3.5. Mastoidit	25
1.4.5.3.6. Subperiostal apse	25
1.5. Bone (Kemik) Morfogenetik Proteinler	25
1.5.1. TGF- β Süperailisi	27
1.5.2. Reseptör Kompleks Oluşumu	28
2. GEREÇ VE YÖNTEM	31
2.1. Denekler	31
2.2. Gruplar	31
2.3. Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyon İnceleme	32
2.3.1. Bone Morfogenetik Proteinlerin Tayininde Kullanılan Gereçler	32
2.3.2. Bone Morfogenetik Proteinlerin Tayininde Kullanılan Kimyasallar	32
2.3.3. Bone Morfogenetik Proteinlerinin Tayininde Kullanılan Çözeltiler	33
2.3.4. Ribonükleik Asit İzolasyon İşlemi	33
2.3.4.1. Kullanılan Solüsyon ve Gereçler	33
2.3.4.2. Dokulardan Ribonükleik Asit İzolasyonunun Yapılması	33
2.3.4.3. İzolasyon Aşamaları	34
2.3.4.4. Ribonükleik Asit Miktar Tayini	35
2.3.5. Bone Morfogenetik Proteinlerin Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyon İle Çalışması	35
2.3.5.1. Komplementar Deoksiribonükleaz Yöntemi	35
2.3.5.2. Polimeraz Zincir Reaksiyon Materyalleri	36
2.3.5.3. Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyon İçin Kullanılan Primerler ve Reaksiyon Koşulları	36
2.3.5.4. Bone Morfogenetik Proteinlerin Tespiti İçin Kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyon Protokolü	37
2.3.6. Agaroz Jel Elektroforezi	37
2.3.7. Gliseraldehid-3 Fosfat Dehidrogenaz Normalizasyonu ve Gen Düzeylerinin Karşılaştırılması	38
2.4. İstatiksel İnceleme	38

3. BULGULAR	39
3.1. Klinik Bulgular	39
3.2. Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyon İnceleme Bulguları	42
4. TARTIŞMA	50
5. KAYNAKLAR	56
6. ÖZGEÇMİŞ	69

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	cDNA sentezi için uygulanan protokol	35
Tablo 2.	RT PZR için kullanılan primerler, primer bağlanma ısıları ve beklenen PZR ürün büyüklükleri.	36
Tablo 3.	Gruplara göre şikâyetlerin dağılımı	40
Tablo 4.	Gruplara göre yapılan operasyonun tipi	40
Tablo 5.	Gruplara göre kemik yapılarıdaki yıkım tipi	41
Tablo 6.	Gruplara göre kemikçik zincir durumu	41
Tablo 7.	Kolesteatomanın yaygınlığı	42
Tablo 8.	Gruplara göre kolesteatoma dokusunda bone morfojenetik protein (BMP) ekspresyon oranları	42
Tablo 9.	Gruplara göre dış kulak kanalı (DKK) cildinde bone morfojenetik protein (BMP) ekspresyon oranları	43
Tablo 11.	Çalışma grubunda kemik yapılarındaki yıkım tipine göre dış kulak kanalı (DKK) cildinde bone morfojenetik protein (BMP) ekspresyon oranları	45
Tablo 12.	Çalışma grubunda kemikçiklerde yıkım tipine göre kolesteatoma dokusunda bone morfojenetik protein (BMP) ekspresyon oranları	46
Tablo 13.	Çalışma grubunda kemikçiklerde yıkım tipine göre dış kulak kanalı (DKK) cildinde bone morfojenetik protein (BMP) ekspresyon oranları	47
Tablo 14.	Çalışma grubunda kolesteatoma yaygınlığına göre kolesteatoma dokusunda bone morfojenetik protein (BMP) ekspresyon oranları	48
Tablo 15.	Çalışma grubunda kolesteatoma yaygınlığına göre dış kulak kanalı (DKK) cildinde bone morfojenetik protein (BMP) ekspresyon oranları	48

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Dış, orta ve iç kulak	7
Şekil 2. İç kulak yapılarının şematik görünümü	10
Şekil 3. SMAD'lar ile TGF- β sinyal iletimi	29
Şekil 4. Tip I ve II TGF- β reseptör aileleri	30
Şekil 5. Gruplara göre cinsiyet dağılımı	39
Şekil 6. BMP gen ekspresyonları için PZR'ye yönelik agaroz jel elektroforez görüntüsü.	44
Şekil 7. Kemik yapılarda yıkım görülen hastalar ile yıkım görülmeyen hastalarda BMP ekspresyon oranları	46
Şekil 8. Kemikçiklerde yıkım tipine göre BMP ekspresyon oranları	47
Şekil 9. Kolesteatoma yaygınlığına göre BMP ekspresyon oranları	49

KISALTMALAR LİSTESİ

AOM	: Akut otitis media
BMP	: Bone Morfogenetik Protein
BMPs	: Genel Bone Morfogenetik Protein
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
DKK	: Dış kulak kanalı
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EGF	: Epidermal Growth Factor
EGFR	: Epidermal Growth Factor Receptor
GAPDH	: Gliseraldehid Fosfat Dehidrogenaz
İKK	: İntrakranial komplikasyon
İL-1α	: İnterlökin-1 Alfa
KHDAK	: Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri
KOM	: Kronik otitis media
KKOM	: Kolestatomalı Kronik Otitis Media
KSOM	: Kronik Süpüratif Otitis Media
KZ	: Kulak Zarı
LST	: Lateral sinüs trombozu
LSSK	: Laterl Semisürküler Kanal
MR	: Manyetik Rezonans
PCNA	: Proliferating Cell Nuclear Antigen
PG	: Prostaglandin
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik Asit
RT	: Revers Transkriptaz
SNİK	: Sensörnöral işitme kaybı
TGF	: Transforming Growth Factor
TNF	: Tumor necrosis factor

1. GİRİŞ

Süpüratif otitis media, sınıflaması 1850'lere dayanan bir hastalıktır. Kramer 1849'da, William Wilde 1853'te, perforasyonun varlığı ve yokluğuna göre kronik otitis mediayı (KOM) tanımlamışlardır. Aynı dönemlerde Joseph Toynbee, akıntının; 1894 yılında Adam Politzer ise süpürasyonun varlığı ve yokluğuna göre sınıflamalar yapmışlardır (1). Kronik süpüratif otitis media (KSOM) komplikasyonları ciddi ve yaşamı tehdit edici bir problemdir.

Petit 1790'da, ilk olarak eksfoliatif mastoidektomi tanımlamıştır. Bilimsel prosedürlü mastoidektomi ilk kez 1873'de Schwartze bildirmiştir. Gowers 1886'da ilk başarılı beyin apsesi cerrahisini gerçekleştirmiştir (2). Lateral sinüs trombozu (LST)'nin cerrahi tedavisi öncesi mortalite %100 iken, erken cerrahinin uygulanmasıyla bu oran çok düşmüştür (2). Otitik hidrosefali orta kulak enfeksiyonunun nadir bir komplikasyonudur ve ilk kez 1931'de Symonds tarafından tanımlanmıştır (2).

Gelişen teknikler ve antibiyoterapiye rağmen otitis media komplikasyonları, günümüzde hala ölümcül seyrettiğinden önemini korumaktadır. Erken tanı, kişinin prognozunu anlamlı derecede etkilediğinden bu konuda dikkatli olmak ve komplikasyon olasılığını her zaman göz önünde tutmak önemlidir (3).

Kolesteatoma ektojik bazal germinatif tabakanın sürekli ürettiği deskuame epitelin ve stratum korneumdan gelen keratinin temporal kemiğin havalı boşlukları ve kulak zarı içinde birikmesidir (4). Kolesteatoma, hiperproliferatif epitelin keratin ile birlikte progresif olarak birikimi ile karakterize, benign olmasına rağmen destrüktif olan bir orta kulak tümörüdür (5). KSOM'ya bağlı gelişen intrakranial ve ekstrakranial komplikasyonların kolesteatomalı kronik otitli olgularda çok daha sık olduğu gösterilmiştir (6).

Bone morfojenetik proteinleri (BMP) ilk defa Marshall Urist tarafından 1960'da tanımlanmış, kemiricilerde ektojik kemik, kartilaj formasyonu ve konnektif doku oluşumunu artırdığı tespit edilmiştir (7). Marianne ve ark.'nın (8) yaptıkları bir çalışmada kolesteatomalarda BMP-2 ekspresyonunun arttığı saptanmıştır.

Çalışmamızda kolesteatoma dokusunda genel BMP (BMPs), BMP-2, BMP-4 ve BMP-6 ekspresyonunun edinilmiş kolesteatoma agresifliğine etkisi araştırılmış, edinilmiş kolesteatomalı hastaların preoperatif görüntülemelerindeki

ve operasyon esnasında direk klinik muayenedeki yayılım dereceleri, kemikçik ve kemik destrüksiyonu ile BMPs, BMP-2, BMP-4 ve BMP-6 ekspresyonu arasındaki ilişkinin saptanması amaçlanmıştır.

1.1. Kulak Embriyolojisi

1.1.1. Dış Kulağın gelişmesi

Dış kulak, kulak kepçesi ve DKK'dan oluşmuştur. Bu yapılar birinci ve ikinci brankial arkuslar ile birinci farengial cepten oluşurlar. Embriyolojik yaşamın üçüncü haftasında birinci ve ikinci arkuslardan His'in tomurcukları diye isimlendirilen altı tomurcuk oluşur. İlk üç tomurcuk birinci brankial arkusdan, son üç tomurcuk ikinci brankial arkustan oluşur. His tomurcuklarının birleşmesi ile 12'nci haftada kulak kepçesi oluşur. Erişkin şeklini 20'nci haftada alır. Dokuz yaşında erişkindeki çaplarına erişir (9).

Birinci arkus birinci tomurcuk - Tragus

İkinci tomurcuk - Krus heliks

Üçüncü tomurcuk - Heliks

İkinci arkus dördüncü tomurcuk - Antiheliks

Beşinci tomurcuk - Antitragus

Altıncı tomurcuk - Kulak kepçesi lobülü

Embriyolojik yaşamın sekizinci haftasında DKK birinci farengial cebin derinleşmesi ile başlar. Epitel doku ile 12'nci haftada doldurulur. Kanal 28'inci haftada rekanalize olur. Rekanalize olmasında bozukluk olduğu takdirde, kanal darlığı veya kanal atrezisi meydana gelir. DKK'nın kemikleşmesi üç yaşında tamamlanır ve dokuz yaşında erişkin şeklini alır. Brankial ektoderm ile farengial endodermin karşı karşıya geldiği bölge timpanik membranı oluşturur. Kulak zarı üç tabakanın birleşmesinden oluşur. En dışta ektodermal epitel, ortada mezodermal fibröz doku, içte endodermal mukoza vardır. 28 haftalık embriyoda kulak zarı belli olur (9).

1.1.2. Orta Kulağın Gelişmesi

Orta kulak ve östaki borusu birinci farengial cebin dışa doğru büyümesinden oluşur. Birinci farengial cep üçüncü haftadan başlayarak dışa doğru bir oluk şeklinde gelişir. Birinci ve ikinci brankial arkuslar arasındaki bu oluk dar ve uzun bir boru halini alır. Burası östaki borusunu yapar. En dıştaki yuvarlak kısım orta kulağı yapar. Dört- altıncı haftalar arasında orta kulak boşluğunun alt kısmı oluşur. Orta kulak

boşluğundaki kasların tendonları, korda timpani ve mukoza plikaları 3-7. aylar arasında oluşur. Orta kulak gelişimi yaklaşık olarak 30'uncu haftada tamamlanır. Orta kulak kemikçikleri birinci ve ikinci brankial arkusların mezoderminin kondanse olmasıyla gelişir. Birinci brankial arkus mezoderminden malleusun baş ve boynu, inkusun gövde ve kısa kolu, anterior malleolar ligament, sfenomandibuler ligaman ve mandibula gelişir. İkinci brankial arkusun mezoderminden manibrium mallei, inkusun uzun kolu, stapes, styloid proses, stylohyoid ligaman ve hyoid kemik gelişir. Stapes tabanının endoteli kulak mukozasını teşkil etmek için kemikçikler etrafını ve orta kulak boşluğunu örter (10).

Antrum 22'nci haftada gelişir ve 34'üncü haftada yaklaşık olarak tamamlanmış olur. Doğumdan sonra pnömatizasyonu tamamlanır. Doğumda, sadece orta kulak boşluğu ve antrum mevcuttur. Doğumdan sonra mastoid kemik ve mastoid hücreler oluşur. Mastoid kemiğin pnömatizasyonu doğumla başlar ve 5-6 yaşlarında tamamlanır (10).

1.1.3. İç Kulağın Gelişmesi

Embriyonal yaşamın 3'üncü haftasında, ektodermden gelişen işitme çukurundan oluşur. Bu işitme çukuru derinleşerek bir kese halini alır. Buna otik vezikül denir. Otik vezikül daha sonra koklea, semisirküler kanallar ve vestibülü meydana getirecek şekilde değişikliğe uğrar. İç kulak taslağı başlangıçtan itibaren bağ dokusu ile çevrilidir. Bu bağ dokusu daha sonra içte jelatinöz, dışta kıkırdak olmak üzere 2 tabakaya ayrılır. Bu iki tabakanın birbirinden ayrılmasıyla perilenfatik aralık oluşur. Jelatinöz tabaka zar labirenti, kıkırdak tabaka kemik labirenti oluşturur. İç kulağın gelişimi embriyonel gelişimin üçüncü haftasında başlayıp, 28'inci haftasında sonlanır. Bu nedenle gebeliğin ilk üç ayında maternal sebeple (toksik veya enfeksiyöz) iç kulağın agenezisine bağlı olarak konjenital sağırılık meydana gelir (10).

1.2. Kulak Anatomisi

İşitme organı, denge organı ile birlikte temporal kemik içinde yerleşmiştir. Üç kısımdan oluşur:

Dış kulak

Orta kulak

İçkulak

1.2.1. Temporal Kemik

Temporal kemik kafatasının yan ve alt duvarlarının bir kısmını oluşturur. Temporal kemiğin petröz parça, mastoid parça, timpanik parça ve skuamöz parça olmak üzere dört ayrı parçası vardır (11).

1.2.1.1. Skuamöz Parça

Kafatasının yan duvarının bir kısmını oluşturur. Düz olan dış yüzeyine temporal kas yapışır. Dış yüzün alt kısmından processus zygomaticus adı verilen bir çıkıntı öne doğru uzar. Bu çıkıntının alt kısmında mandibuler fossa bulunur. Dış yüzün arka kısmında Arteriya Temporalis Media'ya ait bir sulcus bulunur. Skuamöz parçanın iç yüzü orta kafa çukuru ile komşudur (11).

1.2.1.2. Mastoid Parça

Temporal kemiğin arka ve üst kısmında yer alır. Skuamöz parçanın petröz parça ile birleşmesinden meydana gelen petroskuamöz sütür, zigomatik kökten aşağıya doğru uzanır. Buna linea temporalis superior adı verilir. Orta kafa çukurunun alt kısmının sınırını yapar. Dış kulak yolunun arka üst kısmında küçük bir kemik spin bulunur. Bu spine suprameatal spine veya Henle spini denir. Bu spinin arkasında lamina cribrosa adı verilen delikli bir kısım vardır. Mastoidin iç yüzünde bir oluk bulunur, buna sigmoid sulkus denir. Bu sulkusa sigmoid sinüs yerleşir. Mastoid parçanın üst yüzeyinde antrumu örten ince bir kemik tabakası vardır. Buna tegmen mastoideum denir. Arkada, petröz parçanın arka yüzü ile birlikte arka kafa çukurunun ön sınırını yapar. Mastoid kemik hava boşluklarıyla doludur. Bu hava boşluklarının en önemlisi, her zaman bulunan antrumdur (11).

Mastoid pnömatizasyonu antrumdan çevreye doğru yayılır. Pnömatizasyon skuamöz ve petröz kemiklere de yayılır. Bu iki kemik birbirinden petroskuamozal lamina ile ayrılmıştır. Bu lamina zamanla kaybolur, ancak bazen bu lamina yerinde kalarak bu iki kemiği birbirinden ayırır. Buna Körner septumu denir (12, 13).

1.2.1.3. Petröz Parça

Üç yüzlü ve üç kenarlı piramide benzer. Ön üst yüz orta kafa çukurunun bir bölümünü yapar. Ön üst yüzde impressio trigemini adını alan bir çukur alan vardır. Bu çukurda 5'inci sinirin ganglionu "Gasser ganglionu" yer alır. Bu çukur alanın hemen yanında birbirine paralel giden iki ince oluk vardır. Bu arkadaki oluktan nervus petrosus superficialis majoris, önünden nervus petrosus superficialis minoris geçer. Bu olukların dış yan kısmında eminentia arcuata adı verilen bir kabarıklık

vardır. Bu kabarıklığın yanındaki düzgün alana tegmen timpani denir. Burası kavum timpaninin tavanını oluşturur ve malleusun başı ile komşuluk yapar (11). Petröz kemiğin arka üst kısmında meatus acusticus internusun deliği olan porus acusticus internus bulunur. Buradan nervus facialis, nervus cochlearis, nervus vestibularis superior ve nervus vestibularis inferior geçer. Bu deliğin arka kısmında fossa subarcuata ad verilen küçük bir çukur alan vardır. Bu çukur alana apertura externa aquaductus vestibuli açılır (13).

Petröz parçanın alt yüzünde processus styloideus adı verilen bir çıkıntı vardır. Bu çıkıntının hemen arkasında bulunan deliğe foremen stilomastoideum adı verilir. Bu delik fallop kanalının dış deliğidir. Processus stilomastoideusun ön ve iç yan kısmında fossa jugularis adı verilen geniş bir çukur alan vardır. Bu çukur alanın hemen ön kısmında canalis caroticusun deliği vardır (13).

1.2.1.4. Timpanik Parça

Dış kulak yolunun ön ve arka kısmını ve alt kısmının bir bölümünü yapar. Ön alt bölümünün ortası çok incedir, bazen foramen huschke denen küçük delikler ihtiva eder. Timpanik kemik üst kısmı açık kalmış bir halka gibidir. Bu açıklığa Rivinus çentiği denir. Kulak zarının pars tensası sulcus timpanicusa, pars flaccidası ise halkanın açık olan kısmına yerleşir (13). Temporal kemik erişkinlerde lateral pozisyonda, çocuklarda ise lateral-inferior pozisyonundadır. Bebeklerde skuamöz parça diğerlerine oranla daha büyüktür, mastoid parça yoktur. Petröz kısım anulus timpanicus arkasında, skuamöz kısmın altında uzanmaktadır. Cavum timpani dış yanda timpanik kısım, iç yanda petröz kısım ile sınırlıdır. Antrum doğumda iyi gelişmemiştir. Dış tarafta ve önde skuamöz parça, ön ve arkada petröz parça ile komşudur (11).

1.2.2. Dış Kulak

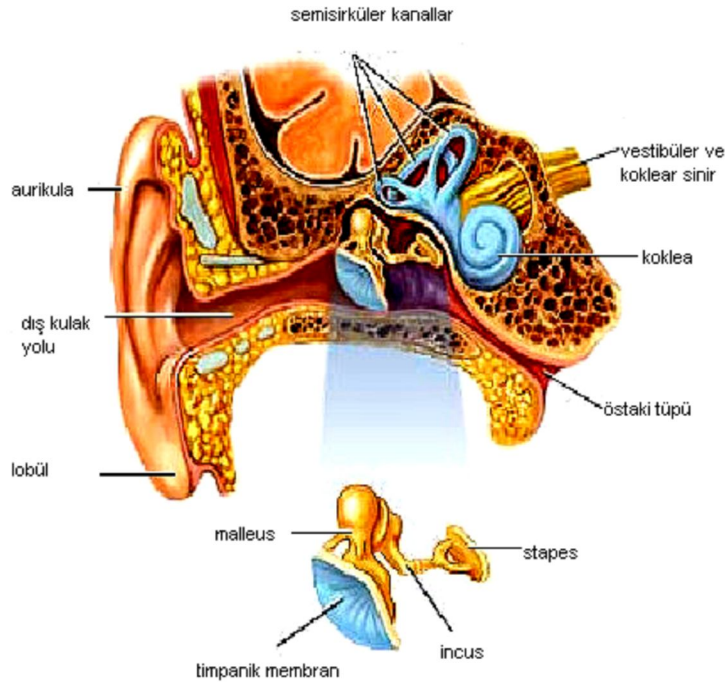
Dış kulak, aurikula (kulak kepçesi) ve DKK'dan oluşur. Aurikula irregüler elastik fibrokartilaj ve bunu kaplayan perikondrium ile ciltten oluşmaktadır. Timpanik kemiğe, fibrokartilajınöz kanalla ve daha zayıf olarak anterior, superior, posterior auriküler ligamentlerle bağlanmıştır (13). Aurikulanın işitsel uyarı alıcı ve artırıcı fonksiyonu vardır. Ayrıca aurikula, atmosferdeki ses dalgalarının uzaklığının ve lokalizasyonunun belirlenmesine katkıda bulunur (14). DKK ön kısmında bulunan çıkıntıya 'tragus' denir (15). DKK, kavum konkadan timpanik zara kadar olan bölümdür. Lateralde kartilaj meatus (DKK'nın 1/3 dış kısmı), medialde

ise kemik meatustan (DKK'nın 2/3 iç kısmı) ibaret olan S şeklinde rezonatör bir kanaldır. DKK'nın arka duvarının uzunluğu 25 mm, ön alt duvarının uzunluğu ise 31 mm dir. Bu fark kulak zarının arkadan öne doğru oblik yerleşmesinden kaynaklanmaktadır. DKK ses dalgalarını sadece yönlendirmez, aynı zamanda şiddetlendirir. 3500 Hz frekansında bir ses dalgası DKK'da yaklaşık olarak 15-20 dB kuvvetlenmektedir (13, 15). Kulak kepçesi ve DKK'nın sensoriyal inervasyonu V, VII, X kranial sinirler ve 2-3. servikal sinirden sağlanır (13, 16). Kulak zarı (KZ), orta kulak boşluğunu DKK'dan ayıran elips şeklinde bir perdedir. Kalınlığı 0.1 mm, uzunluğu 10-11 mm, genişliği ise 8-9 mm dir. KZ, orta kulağın dış duvarının büyük bir kısmını yapar. KZ'nın timpanik kemikte yerleştiği yer olan sulkus timpanikusa "timpanik halka" denir. KZ anulus fibrozus ile timpanik halkaya, santral bir yapışıklıkla da malleusun kısa koluna ve manibrium malleiye bağlıdır (15). Kulak zarı, pars tensa ve pars flaksidadan oluşur. Pars tensa KZ'nın timpanik kemik içindeki parçasıdır. KZ'nın büyük bir kısmını oluşturur ve ses dalgaları ile titreşen kısımdır. Pars flaksida (Sharpnell zarı) ise timpanik kemiğin iki uzantısı arasındaki açıklık olan rivinius çentiğini doldurur. Bu iki parça arasında gerginlik ve histolojik farklar sözkonusudur. Pars tensada bulunan fibröz doku, pars flaksidada yoktur. Ayrıca pars tensa damar ve sinir yönünden daha zengindir. KZ dışta skuamöz epitel, içte mukoza ve ikisi arasında yerleşmiş olan fibröz tabaka olmak üzere üç tabakadan oluşmuştur (17).

1.2.3. Orta Kulak

Orta kulak, KZ ile kemik labirent arasında muköz membran ile kaplanmış kemik mesafedir. Vertikal ve ön arka çapı 15 mm dir. İç derinliği ise yukarı kısımlarda 6 mm, umbo çevresinde ise 2 mm kadardır. Orta kulak boşluğunda dış kulaktan iç kulağa ses dalgalarının iletimini sağlayan malleus, inkus ve stapes denilen üç adet kemikçik vardır. Bu kemikçikler orta kulak boşluğunda kulak zarı ile iç kulağın fonksiyonel girişi olan oval pencere arasında bir köprü oluşturur. Kemikçikleri orta kulak duvarlarına bağlayan iki kas (m. tensor timpani, m. stapedius) ve dört ligament (arka, ön, üst ve dış malleolar ligament) bulunur (15, 17). Tensor timpani kası, malleusun manibriumuna yapışırken, stapes kası ise stapesin boynuna yapışır. Bu kaslar kemikçik sisteminin hareketini kısıtlayarak şiddetli seslere karşı iç kulak yapılarının korunmasında da rol oynar (15, 18).

Orta kulak boşluğunun altı adet duvarı bulunur. Tavanı tegmen timpani oluşturur ve orta kulak boşluğunu orta kafa çukurundan ayırır. Tabanı ise hipotimpanik resesi meydana getirir ve alt ön kısımda arteria karotis interna ile alt arka kısımda juguler bulbusla yakın komşuluktur (15, 18). Orta kulak boşluğunun arka duvarı aditus ad antrum vasıtasıyla mastoid antrum ve havalı hücreler ile devamlılık gösterir. Önde orta kulak boşluğu östaki tüpü aracılığıyla nazofarenks ile ilişkilidir. Orta kulak boşluğunun lateral duvarı kulak zarı ile epitimpanik resesin yan duvarı tarafından oluşturulmuştur. Medial duvarın en önemli yapılarından biri kokleanın bazal turunun yan duvarının yaptığı kabarıklık nedeni ile dışa doğru bombeliği ile oluşan promontoryumdur. Orta kulak boşluğunun medial duvarındaki diğer önemli yapılar stapes tabanının oluşturduğu oval pencere ile koklear kapsülün orta kulak boşluğuna diğer açılım yeri olan yuvarlak penceredir (15, 17, 18). Orta kulağın fonksiyonu, timpanik membrana ulaşan ses dalgalarını koklear sıvıları titreştirecek biçime dönüştürmektir. Kokleaya direkt olarak gelen ses dalgaları kokleadaki sıvıları titreştirmek için çok etkisizdir. Orta kulak, hava ile koklea içi sıvı arasındaki akustik impedans farkını azaltır. Bu mekanizmada başlıca kulak zarı ile stapes tabanı arasındaki oran farkı ve orta kulak kemikçiklerinin kaldıraç fonksiyonu rol oynar (19, 20). Şekil 1’de dış ve orta kulak şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 1. Dış, orta ve iç kulak

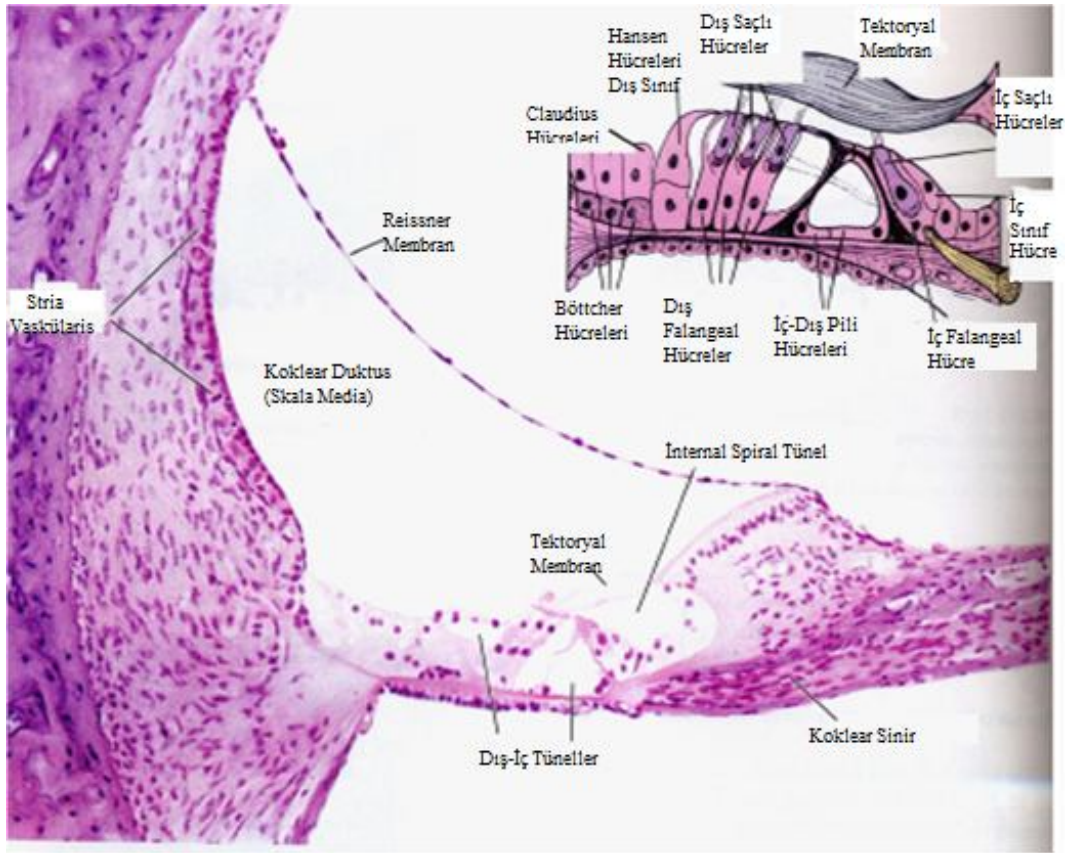
1.2.4. İç Kulak

İç kulak petröz kemikte, kemik labirent içinde yerleşmiş nöromembranöz bir yapıdır. Anatomik olarak labirent terimi posterosüperior yerleşimli semisirküler kanalları, anteroinferior yerleşimli koklea ve vestibülü ifade etmektedir. Her biri yaklaşık 1 mm çapında olan üç kemik semisirküler kanalı (lateral, süperior, inferior) perilenf denen sıvı doldurur. Perilenf vestibül, kokleanın skala vestibülisi ve skala timpanisini de doldurmaktadır. Skala timpanideki perilenf yuvarlak pencere yakınlarından başlayan akuaduktus koklearis denilen ve çoğunlukla ağsı bir fibröz doku ile dolu olan kanal aracılığıyla subaraknoid boşluktaki serebrospinal sıvı ile ilişkidir (17, 18, 20). Vestibül yaklaşık olarak 4 mm çapında oval şekilli bir kavitedir. Timpanik kavitenin medialinde lokalize olmuştur. Timpanik kavite fenestra koklea ve vestibülü ile ilişkilidir (17, 18). Otik kapsül içinde iç kulağın esas yapısı olan otik labirenti çevreleyen periotik labirent vardır. Otik labirent, endolenf içeren ve birbirleriyle devamlılık halinde olan epitel ile döşeli bir takım tüpler ve boşluklar sisteminden oluşmuştur. Otik labirent ayrı fonksiyonlara sahip birbirleriyle bağlantılı süperior parça (vestibüler labirent), inferior parça (koklea), endolenfatik duktus ve kese olmak üzere üç parçadan oluşmuştur (17, 18).

Vestibüler otik labirent sakkulus, utrikulus ve semisirküler duktuslardan oluşur (17, 18). Utriküler duktus, utrikulusun ön yüzünden ayrılır ve ön duvarın çevresinde arkaya doğru kıvrılır. Utriküler duktus, sakkulustan gelen benzeri bir kanal (sakkuler duktus) ile birleşerek endolenfatik duktusu oluşturur. Endolenfatik duktus, vestibüler akuaduktus denilen kemik kanal içinde yerleşmiştir. Vestibüler akuaduktusun terminal parçasında endolenfatik duktus genişler ve endolenfatik keseyi oluşturur. Endolenfatik kese kemik akuaduktusun içinde yerleşmiştir. Endolenfatik duktusun distal eksternal parçası dereceli olarak düz hale gelir ve petröz kemiğin arka yüzünde, sigmoid sinüse çok yakın olarak durada sonlanır (17, 18, 21). Sakkulus, utrikulusa benzer ama utrikulusdan daha küçüktür. Küçük bir duktus, sakkulusun duvarından ayrılarak vestibülün tabanında seyrederek koklear duktusa girer ve duktus reuniens olarak adlandırılır. Duktus reuniens koklea ile labirentin diğer kısımları arasındaki tek bağlantı yeridir (17, 18, 21). Koklea iç kulağın işitme sistemi ile ilgili olan spiral sekilli, yaklaşık olarak 35 mm uzunluğunda, 5 mm yüksekliğinde, en geniş tabanında 9 mm çapında koni şeklinde, iki tam $\frac{3}{4}$ kıvrım

yapmış yapıdır. Koklea skala vestibüli, skala media (duktus koklearis) ve skala timpani olarak üç bölümden oluşur (17, 18, 21). Koklea, koklear kıvrımları ayırmaya yarayan modiulus denilen bir yapı ile desteklenir. Sekizinci sinirin işitsel parçasının fibrilleri modiulus içinde ve kemik spiral lamina içindeki küçük kanallar boyunca ilerleyerek tüylü hücrelerde sonlanırlar. Bu nöronların hücre görevleri spiral lamina tabanında modiulus boyunca gruplanarak spiral ganglionu oluşturur (17, 18). Koklear duktus (skala media) üçgen seklindedir. Skala media ile skala timpani arasındaki sınırı kemik spiral laminanın radial fibröz uzanımı olan baziller membran yapar. Baziller membranın yüzeyinde işitmenin end organı olan korti organı bulunur. Duktus koklearis ve skala vestibüli arasındaki sınırı ise iki hücre tabakasından oluşmuş reissner membranı yapar (16-18). Skala timpani, yuvarlak pencere vasıtasıyla orta kulakla bağlantılıdır. Skala timpaninin sonu ile subaraknoid mesafe arasını bağlayan kemik pasaja “koklear akuaduktus” adı verilir. Bu akuaduktus, spinal sıvı ile perilemf arasındaki değişime izin verir. Skala vestibüli ise direkt olarak vestibüle açılır. Skala vestibuli ile skala timpani arasındaki ilişkiyi sağlayan yapıya ise “helikotrema” adı verilir (16-18). Korti organı destek hücreleri, tüylü hücreler ve tektoryal membran denilen jelatinöz bir yapıyı ihtiva eden kompleks bir yapıdır. Şekil 2’de iç kulak yapıları şematik olarak gösterilmiştir (16, 18). Tüylü hücreler, tek sıra iç tüylü hücreler ve 3-5 sıra dış tüylü hücreler şeklinde yerleşmişlerdir. İç ve dış tüylü hücreleri iç ve dış pillar hücreleri tonofibrilleri ile oluşturulan ters “V” şeklinde yapı ile ayrılmışlardır. Pillar hücreleri arasındaki mesafe korti tüneli olarak adlandırılır ve burada endolenften farklı bir sıvı olan kortilenf bulunur (16-18). Tüylü hücreler falangeal hücreler tarafından desteklenmektedir. Diğer destek hücreleri hensen hücreleri, klaudius hücreleri ve sınır hücreleridir. Tektoryal membran santral olarak limbus tarafından desteklenmektedir. Limbus kemik spiral lamina üzerine yaslanan kalın bir hücre tabakasıdır ve aynı zamanda reissner membranında tutunmasına yardımcı olur. Tektoryal membran serbest kenarında hensen hücrelerine sıkıca tutunarak tüylü hücrelerin silyalarını ihtiva eden tüylü hücreler ile tektoryal membran arasındaki bir mesafe oluşumunu sağlar (16-18). Tüylü hücreler birkaç nöron tarafından innerve edilirler. Tüylü hücrelerde biri afferent, diğeri efferent fonksiyonundan sorumlu iki tip sinir sonlanması vardır. Bazende tek nöron birkaç tüylü hücreyi innerve etmek üzere bölünebilir (17, 18). İç kulak içindeki alıcı

organlar esas olarak aynı yapılardan oluşmuştur. Fakat her biri özel mekanik stimuluslara cevap verecek tarzda organize olmuşlardır (18). Membranöz koklea, korti organını içerir. Utrikulus, semisirküler kanallar ve sakkulus ise durum ve hareket hissi reseptörlerini içermektedir. Duktus ve sakkus endolenfatikusun iç kulaktaki hidrolik basıncın düzenlenmesi ile ilgili oldukları düşünülmektedir (20, 22).



Şekil 2. İç kulak yapılarının şematik görünümü

Nöronlar kemik spiral laminanın kanalcıklarında ilerleyerek laminanın tabanında spiral ganglion hücreleri ile buluşurlar. Daha sonra aksonlar modiolusun merkezindeki kanallar içinde ilerleyerek sekizinci sinirin işitsel parçasını oluştururlar. Bu fibrillerde iki koklear nukleus (dorsal ve ventral) bölgesinde, ponsa girerler (16-18). Perilenfatik sıvı kimyasal ekstrasellüler sıvılarda olduğu gibi düşük potasyum ve yüksek sodyum konsantrasyonuna sahiptir. Endolenfatik sıvı ise hücre

içi sıvı niteliğinde elektrolit yoğunluğuna sahiptir ve yüksek potasyum, düşük sodyum içerir (21). Lawrence (22), insanda toplam 78.3 mm³ perilenf, 2.76 mm³ endolenf olduğunu bildirmiş ve iç kulak sıvılarının fonksiyonlarını şöyle sıralamıştır:

1. İç kulaktaki hücrelerin kanla ilişkisini sağlayarak hücrelere besin temin etmek ve onların katabolik ürünlerini uzaklaştırmak,
2. Enerji değişimi için uygun ortam sağlamak,
3. Titreşimleri stapes tabanından enerji değişimi yapan elemanlara iletmek,
4. Basıncın, sistem içinde dağılmasını sağlamak.

İç kulak sıvılarının kaynağı kesin belli değildir. Ancak büyük olasılıkla perilenf, beyin omurilik sıvısı filtrasyonu ile endolenf ise stria vaskularis ve vestibüler labirentinde bulunan dark hücrelerinden salgılanma ile oluşur. Baziller membran üzerindeki kan damarları kortilenfin kaynağı olarak kabul edilmektedir. Kortilenf ve perilenf yüksek sodyum içermeleri nedeniyle birbirlerine benzemekle beraber, hem kaynaklarının farklı oluşu hemde perilenfin tüylü hücreleri için toksik oluşu bakımından birbirlerinden farklıdır (17, 18, 22).

1.3. Kolesteatoma

Patogenezi ne olursa olsun kolesteatoma, olmaması gereken yerde bulunan deriye ait, yassı epitel dokusudur (23).

Tarihçesine baktığımızda İlk olarak 1638’de Du Verney, kolesteatoma için ‘steatoma’ terimini kullanmıştır (24). 1829’da Cruveilhier kolesteatoma lezyonlarını ‘inci tümör’ (tumeur perlee) adıyla tarif etmiştir. Kolesteatoma ifadesi, patolojinin ortasındaki kolesterol görünümü nedeniyle, ilk kez 1838’de J.Mueller tarafından ‘çok tabakalı yağ tümörü’ şeklinde ve ‘cholesteatoma’ olarak isimlendirilmiştir (24-26). Lezyonun tanımı için Toynbee, 1850’de dış kulak yolu arkasından kaynaklandığını, Virchow, 1853’de kolesteatomanın hiperplastik formasyon gösterdiğini bildirmiştir (27). En kısa tarif 1962 yılında Gray tarafından yanlış yerde gelişen deri şeklinde yapılmıştır (23). 1868’de Von Troeltsch, kolesteatomun orta kulak mukozasının eksüdatif birikintisi olduğunu söylemiştir. 1888 yılında Habermann ve Bezold kolesteatomanın perforasyondan orta kulağa giren skuamöz epitelden kaynaklandığını bildirmişlerdir. 1922 yılında da Critchley ve Ferguson ‘epidermoid’ ifadesini kullanmışlardır (25, 26). Doğumsal kolesteatoma ilk kez 1873’de Luchae tarafından tespit edilmiş ve

1885’de de kendisi tarafından tarif edilmiştir (24, 28). 1965’de Derlacki ve Clemis tarafından bugünkü tanımı yapılmış (28, 29) ve bu tanım 1986’da da Levenson ve ark. (30) tarafından yeniden tanımlanmıştır.

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 (31) ve proliferasyon marker düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiştir (32). Kolesteatoma dokusunu daha iyi anlamak için normal deri dokusunu tanımlamak gerekir. Deri dokusu; epidermis, dermis ve hipodermis olarak 3 tabakadan oluşur. Epidermis en ince tabaka olup 5 kattan meydana gelir. Bunlar (6):

1. Stratum Corneum: En dışıdır, ölü hücrelerden oluşur.
2. Stratum Lucidum: 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 olarakta bilinir. Derinin yenilenmesini sağlayan, mitotik aktivitesi yüksek hücrelerden oluşur (33).

Dermis, epiderminin altında yer alır. Papiller ve retiküler tabakadan oluşur. Hipodermis en derinde olup yağ dokusu, bağ dokusu, vasküler yapılar, sinir ve kıl folikülleri içerir. Dış kulak kanalı (DKK) kemik duvarı üzerindeki deri, epidermal tabakaların özelliklerini taşır. Epidermis altında çok ince bir tabaka bulunur ve ince bir periost ile kemiğe yapışır. Kolesteatomanın yapısı da epidermise yakındır. Dıştan içe doğru 4 tabaka içerir (6):

1. Stratum Corneum: İnce, çok katlı keratinize çekirdeksiz hücrelerden oluşur.
2. Stratum Granulosum: İnce olup dejenerasyon gösteren, sitoplazmaları bazofilik granüller içeren hücrelerden oluşur.
3. Stratum Spinosum: Polihedral, çok kenarlı hücrelerden oluşur. Az sayıdaki keratinositlerin arasında langerhans hücreleri yer alır.

4. Stratum Germinativum: Prizmatik bazofilik çekirdekli hücrelerden oluşur. Arada, küçük Merkel hücreleri bulunur. Germinatif tabaka kolesteatomun 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 (33).

1.3.1. Kolesteatoma Patogenezi

Kolesteatomlar kliniğe göre edinilmiş ve doğumsal olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. Edinilmiş kolesteatomlar da kendi arasında primer ve sekonder edinilmiş kolesteatomlar olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. Patogeneze ilişkin birkaç teori ileri sürülmüştür. Bunlar, invaginasyon, bazal hücre hiperplazisi, efüzyonlu otitler, epitelyal göç, epitel invazyon, epitel implantasyonu ve epitel metaplazi teorileridir (34, 35).

1.3.1.1. Edinilmiş Kolesteatomalar

1.3.1.1.1. Primer Edinilmiş Kolesteatomalar

Burada timpanik membran sağlam, tuba Eustachii açık, ancak çalışması yetersizdir. Primer edinilmiş kolesteatomlar, timpanik membranın dış yüzünü örten derinin orta kulak boşluğuna girmesiyle oluşur. Patogeneze ilişkin birkaç görüş vardır (34,36).

İnvaginasyon Teorisi: Tuba fonksiyon bozukluğu nedeniyle negatif basınç oluşur. Pars flaksidada retraksiyon ve enflamasyon sonucu epitel mukoza sınırında bozulma meydana gelir ve skuamöz epitel içeri girer. Attik submukozasında hiperplazi meydana gelir. Attik boşluk daralarak Shrapnell membranında ilerleyici çökme olduğu Wittmack tarafından ifade edilmiştir. Doğumda orta kulak, attik ve mastoidde embriyonel mezenkimal doku mevcuttur. Bu doku bir süre sonra kendiliğinden kaybolur. Bazen bu olay uzar ve kaybolma 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.

GörünüŖleri bazen marjinal perforasyon Ŗeklinde aldatıcı olabilir. Gerçekte perforasyon olmayıp bir invaginasyon söz konusudur (34, 36, 37).

Bazal Hücre Hiperplazisi Teorisi: Pars flaksidadaki epitel hücreleri proliferasyon olarak subepitelial dokuya invaze olur. Gerçekten de, enfeksiyonlarla timpanik membranın fibröz tabakası ve bazal lamina tahrip edilirse, bazal hücre artışıyla subepitelial boşluğa papiller çıkıntılar Ŗeklinde epitel dokusu girmektedir. Burada da bazal lamina yıkılır ve epitelial hücreler subepitelial bağ doku içine girerek mikrokolesteatomlara yol açar (38, 39).

Efüzyonlu Otitler: 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 (38, 39).

Epitelial Göç Teorisi: Göç olayı sırasında stratum corneumun hareketidir. Merkezde hızlı, çevreye doğru yavaştır. Atektatik 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 (38, 39).

1.3.1.1.2. Sekonder Edinilmiş Kolesteatomlar

Bunlar timpanik membrandaki perforasyondan, özellikle marjinal veya attik bölgesindeki perforasyonlardan, epitel dokusunun içeri, orta kulağa girmesiyle oluşur. Oluşumlarıyla ilgili üç değişik görüş vardır (38, 39).

Epitel İnvazyon Teorisi: Buna göre; keratinize skuamöz epitel, timpanik membrandaki perforasyondan içeri girmektedir. Epitelial hücreler, buldukları düzlem boyunca ilerler (kontakt ilerleme). Ancak başka tip bir epitelial yüzeyle karşılaşınca (mukoza epiteli) ilerlemeleri durur (kontakt inhibisyon). Normalde dış kulak kanalı 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 epitelyumun yerini alarak kolesteatoma oluşturmaktadır (35, 38, 39).

Epitel İmplantasyon Teorisi: Daha çok iyatrojenik kolesteatomaların oluşumu için geçerlidir. Cerrahi girişimler sırasında zar veya dış kulak kanalı epiteli

orta kulağa kaçar. Greft altında kalan epitel artıkları, içeri kıvrılmış dış kulak kanalı deri flepleri ve Ventilasyon tüpü uygulamalarından sonra görülen kolesteatomlar bunlara örnektir. Ayrıca, kazalar, travmalar ve benzeri nedenlerle oluşan perforasyonlardan içeri implante olan epitel dokusu da ileride kolesteatoma oluşturabilir (39).

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 kolesteatoma görünümü verebilir (39).

1.3.1.2. Doğumsal Kolesteatomalar

Kolesteatoma, sağlam timpanik membran arkasında gelişerek belirti vermektedir. Timpanik halka, dış kulak kanalı skuamöz epitelinin orta kulakla ilişkisini sınırlamaktadır (40). Timpanik halkanın oluşması gecikirse, dış kulak kanalı epiteli orta kulak mezenkimine doğru papiller uzantılar gönderir. Timpanik halka kapanıp, zar epiteli ve mukozası arasında bariyer yapsa bile, bu papiller çıkıntılar orta kulakta kalır ve zamanla sağlam timpanik membran arkasında doğumsal kolesteatomaları oluşturur (12).

1.3.1.3. Kolesteatomanın Klinik Tipleri

1.3.1.3.1. Edinilmiş Kolesteatomalar

1.3.1.3.1.1. 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 (40).

1.3.1.3.1.2. 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 (40).

1.3.1.3.1.3. Posterior Mezotimpanik Kolesteatoma

Pars tensanın arka kısmı, mezotimpanuma doğru retrakte olarak kolesteatoma kesesi oluşturur. Kese genişledikçe, sinus timpani ve fasiyal resese doğru ilerler (40).

1.3.1.3.2. Doğumsal Kolesteatoma

Sağlam timpanik membran arkasında beyaz kitle olarak ve çoğu kez belirti vermediği için rastlantıyla saptanır. Olguların 2/3'ünde orta kulağın önüst kısmında yer alır. Bu bölgeye yerleşenler sakın olup kemikçik zincirini bozmaz, 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 (40).

1.3.1.3.3. Petröz Apeks Kolesteatoması

Oldukça nadir görülür. Tanı ve tedavileri sıkıntılıdır. Petröz apeks kolesteatomalarının kökeninin, doğumsal ve edinsel olduğu sanılmaktadır. Doğumsal kolesteatomalar, kraniyumun içinde herhangi bir yerde, ancak özellikle orta kulak, mastoid, petröz apeks ve dış kulak kanalında yerleşir. Edinilmiş kolesteatomalar, bilindiği gibi, kronik otitler sonucunda orta kulak ve mastoidde görülür (40).

1.3.1.3.4. Dış Kulak Kanalı Kolesteatomaları

Kemik dış kulak kanalının arka-alt kadranında keratin debrislerinin toplanmasıyla karakterize nadir bir otolojik tablodur. (40)

1.3.1.3.5. İatrojenik Kolesteatomalar

Otolojik cerrahi girişimler sonucunda skuamöz epitelin bir şekilde implantasyonuna bağlı olarak ortaya çıkar. Greft altından, zar kalıntısının içe dönmesinden veya dış kulak kanalı epitelinin orta kulağa girip hapsolmesiyle timpanik "pearl" kolesteatomalar olabilir; ayrıca kanal cerrahisi sırasında epidermisin alta katlanıp kalmasıyla da oluşabilir. Orta kulak boşluğunda yerleşenler için timpanotomi yapılarak "pearl" alınır, çevresi kontrol edilir, gerekirse yeni greftleme yapılır (40).

1.3.1.3.6. Rezidiv Kolesteatomalar

Bunlar, rezidüel ve rekürren olmak üzere iki grupta incelenir:

1.3.1.3.6.1. Rezidüel Kolesteatoma

Cerrahin 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 fasiyal kanal ile horizontal semisirküler kanal çevresinde kalan epitel dokusundan gelişir (40).

1.3.1.3.6.2. Rekürren Kolesteatoma

Cerrahi olarak tamamen temizlenen, orta kulakta, retraksiyon cebinden kaynaklanan yeni bir kolesteatoma oluşumudur. Bu tip kolesteatomalar, posterior attik ve posterior mezotimpanumda oturur. Kapalı teknik uygulamalarından sonra, özellikle tuba havalanma sorunu olan durumlarda sık görülür. Havalanma yetersizliği nedeniyle arka üst kadranda cep oluşur ve buradan zamanla kolesteatoma gelişir. Kapalı tekniklerin tersine açık teknik uygulamalarından sonra bu sorun çok az görülür veya hiç görülmez (40).

1.4. Kronik Süpüratif Otitis Media

Kronik süpüratif otitis media (KSOM), orta kulağın tekrarlayan, ağrısız, mukopürülan akıntılı, genellikle timpanik membranın kalıcı perforasyonu ve iletim tipi işitme kaybı ile karakterize enflamatuvar bir hastalıktır.

1.4.1. Kronik Süpüratif Otitis Mediada Histopatoloji

Histopatolojik olarak KSOM'lerde kalıcı doku patolojisi vardır. İlk olarak mukozada yer yer ülserasyonlar ortaya çıkar. Bunu granülasyon dokusu izler ve burjonlar meydana gelebilir. Mukoza, yuvarlak hücre infiltrasyonu sonucu ödemlenir. Bazal membrandaki ödeme bağlı olarak polipler gelişebilir. KSOM'da, mukozada goblet hücrelerinin artışı daha fazla mukus oluşumuna ve enflamasyonun artmasına neden olur. Silyalı kolumnar hücrelerin artışıyla mukozal metaplazi gelişebilir (41, 42). KSOM'da olay mukoperiosteumda sınırlıdır. Bunun dışına taşması, osteit ve kemik erimesi komplikasyon olarak kabul edilir. Mukozal ödem, fibrozis ve subepitelial dokunun kalınlaşp skarlaşması kullanılan sistemik antibiyotiklerin penetrasyonuna engel teşkil edebilir. Bu nedenle oral veya parenteral kullanılan ajanların doku konsantrasyonu tedavi için yetersiz kalabilir (43).

KSOM'da diğer bir sorun da orta kulak mukozasında skarlaşma ve küçük kan damarlarındaki trombozis nedeniyle damarsız alanlar oluşmasıdır. Bunun sonucu başta inkusun uzun kolu olmak üzere kemikçik nekrozu meydana gelir. Buna bağlı olarak inkus ile stapes arasındaki bağlantı kaybolup iletim tipi işitme kaybı ortaya çıkar (41, 43).

1.4.2. Kronik Süpüratif Otitis Mediada Mikrobiyoloji

Antibiyotik tedavisi için KSOM'da izole edilen bakteriler önemlidir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda KSOM'da sıklıkla izole edilen bakteriler; gram (+) ve gram (-) bakteriler, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis* ve *Enterobakterilerdir* (44). KSOM'un patogeneğinde anaerob bakterilerin rolü tam olarak tanımlanmamıştır. Ancak KSOM'a bağlı intrakranial enfeksiyonlarda sıklıkla anaerobik bakteriler sorumlu tutulmaktadır. Anaerobik bakterilere az rastlanılmasının nedeni, bu bakterilerin izole edilmesindeki teknik güçlük olduğu düşünülmektedir (45). KSOM'lu kulaklarda gram pozitif ve gram negatif aerobik bakteriler, kolesteatomalı ve polipli KSOM'larda ise anaerobik bakteriler rol oynar (46).

Erkan ve ark. (47), KSOM'lu 183 hastada yaptıkları çalışmada %39 oranında aerobik bakteri, %11 oranında anaerobik bakteri ve %50 oranında ise miks bakteri izole etmişlerdir. Bu çalışmada Aerobik kültürlerde en sık *Pseudomonas aeruginosa* (%26), *Staphylococcus aureus* (%17) ve *Klebsiella pneumonia* (%15), anaerobik kültürlerde ise en sık *Peptostreptokok* (%41) izole edilmiştir. Espasito ve ark. (48), KSOM'da %44 oranında *Pseudomonas aeruginosa* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

1.4.3. Kronik Süpüratif Otitis Mediada Teşhis

Orta kulağın kronik enfeksiyonları genellikle çocukluk yaşlarında başlar. Bu çocuklarda sık sık üst solunum yolu enfeksiyonu geçirme hikayesi vardır (49). Sık tekrarlayan akut otitis media (AOM), KSOM'nin nedeni olabilir. Fakat her AOM, KSOM'ya dönüşmez. KSOM genelde kalabalık ortamlarda yaşayan ve sosyo-kültürel seviyesi düşük kişilerde görülür (50). KSOM'nın en önemli semptomları işitme kaybı ve otoredir. Ağrı, bu hastalıkta görülmez. Ancak kulak kanalındaki iritasyon, kaşıntı ve rahatsızlık hissine neden olabilir. Buna bağlı otitis eksterna gelişebilir. İşitme kaybı iletim tipinde ve orta derecededir. Kemik zincir hasarında işitme kaybı 60 dB'e kadar artabilir. Uzun süre tedavi edilmeyen vakalarda toksinlerin yuvarlak pencere aracılığı ile labirentin sisteme geçişinden dolayı sinirsel tip işitme kaybına rastlanabilir (50, 51).

Kulak zarındaki perforasyon iğne deliği kadar olabileceği gibi, subtotal veya total olabilir. Perforasyonun yeri, marjinal veya santraldir. Perfore zar kenarları kalınlaşır. Zarın geri kalan kısmı ise kollabe olur, incelik ve timpanoskleroz

gelişebilir (52). Bazı kulaklarda, orta kulak mukozasında düzleşme, incelme, skuamoz metaplazi ve subepitelyal timpanoskleroz görülebilir. Bazen de mukoza kalın bir mukusla kaplanır. Granülasyon dokusu sık görülmez. Akıntı genellikle yeşilimsi, mukopürülan ve kötü kokuludur (50). Fazla sık olmamakla birlikte orta kulakta granülasyon dokusu varsa akıntı kanlı vasıfta olabilir. Akıntı araklıklı zamanlarda olur, kulak genellikle aylarca kuru kalır. Akıntının başlaması tipik olarak bir üst solunum yolu enfeksiyonu takiben olur. Yüzme veya banyo yapma sonucu orta kulağın su ile teması da akıntının nedeni olabilir (50). Komplike vakalarda ve cerrahi müdahale düşünülen vakalarda radyolojiden yararlanılabilir. Mastoid kemik ve intrakranial komplikasyonların değerlendirilmesinde bilgisayarlı tomografi oldukça yararlıdır (53).

1.4.4. Kronik Süpüratif Otitis Mediada Tedavi

Kronik süpüratif otitis medianın tedavisi medikal ve tıbbi tedavi olarak iki bölümden oluşur. Her iki durumda da öncelikle enfeksiyonun eradikasyonu amaçlanır. Cerrahi tedavide amaç orta kulak ve mastoiddeki enfeksiyonun eradikasyonu ile birlikte timpanik membran onarılmasıdır. Enfeksiyonun medikal tedavisinde lokal temizlik, antibiyotikli veya antiseptik solüsyonlar ve oral yada parenteral antibiyotikler kullanılır (50). KSOM'nın medikal tedavisinde enfekte mukozal yüzeylerin temizlenmesi gerekir (52). KSOM'nın medikal tedavisinde genelde antibiyotikli ve steroidli damlalar tercih edilir (54). Sistemik olarak uygulanan ve ototoksik etkileri olduğu bilinen polimiksin, neomisin gibi ajanların lokal uygulama ile toksitelerinin azalacağı düşünülmüştür. Siprofloksasin içeren damlalar pseudomonas aeruginosaya etkili olup yan etkisi az olduğu için ilk tercihler arasındadır. Mukozal yüzeylerin aşırı enfeksiyonu ve ödemi olduğu durumlarda topikal tedaviye steroidli damlalarda eklenmelidir (50). Sistemik antibiyotikler oral veya parenteral olarak kullanılır. Beta-laktamaz dirençli penisilin analogları topikal tedaviye eklenmesi iyi bir seçenektir. Oral siprofloksasin pseudomonaslara etkili ilk seçenek antibiyotiktir. Siprofloksasin grubu ilaçlar kartilaj gelişimini olumsuz yönde etkilediği için ancak 17 yaşın altında verilmemelidir. Rezistansı önlemek için antibiyotikler dikkatli seçilmeli ve en az 10 gün kullanılmalıdır (50).

1.4.5. Süperatif Otitis Media'nın Komplikasyonları

1.4.5.1. Komplikasyonların Gelişmesinde Yayılım Yolları

Orta kulak enfeksiyonunun komplikasyona yol açması üç yolla olur (55):

1.4.5.1.1. Preforme Yollardan Yayılım

Orta kulak iltihabı kafa içine geçmek için, önceden var olan açıklıklardan yararlanır. Bunlara preforme yollar denir.

a) Enfeksiyon, orta kulaktan oval veya yuvarlak pencere yoluyla labirente veya meatus acusticus internusa gider. Perilenfatik veya endolenfatik kanal ve kese ile labirentten meninkslere açılır

b) Konjenital açıklıklar: Orta kulak ile kafa içi arasında kemik yapıda doğuştan açıklıklar var olabilir. Hipotimpaniumda juguler bulb üzerinde, tegmen timpanide, petroskuamozal ve petrotimpanik sütün hatlarında, fasial kanalın horizontal parçası üzerinde açıklıklar olabilir.

c) Cerrahi müdahale ya da travma sonucu oluşan açıklıklar.

1.4.5.1.2. Kemik Erozyonu ile Yayılım

Bu yolla yayılım, iyi pnömatisize olmuş temporal kemikte, akut ve kronik otit vakalarında en sık görülen yayılma yoludur. AOM' de kemik erozyonu, bir koelasan mastoidit sonucu oluşur. KOM'da kemik erozyonu kolesteatoma sonucu, bazen de osteomyelit sonucu oluşur. Kolesteatomanın aşırı büyümesi sadece klinik bir özelliğidir. Sağlıklı dokuya invazyon, migrasyon, agresiflik ve düzenli olmayan farklılaşması diğer klinik özellikleridir. Temporal kemiğin proteolitik erozyonu kolesteatomanın klinik progresyonu ile bağlantılıdır (55).

Kolesteatomanın progresyonu sırasında proteolitik enzimlerin rolü hakkında çeşitli yayınlar bulunmaktadır. Bu proteolitik enzimler, çeşitli peptidazlar, mast spesifik proteazlar, serin proteazlar, metalloproteinazlar, katepsinlerdir. Schönermark ve ark. (55) matriks metalloproteinaz ailesi üyelerinin kolesteatoma dokusunda yüksek oranda bulunduğunu, buna karşın normal timpanik membran ve orta kulak mukozasında metalloproteinaz aktivitesi saptanmadığını ifade etmişlerdir (55).

Bu proteazların ekspresyonunun sadece kolesteatomun rezorpsiyon yapma özelliğine sahip olmayıp ilave olarak proliferatif stimülusta rol oynadığı ifade edilmiştir. Kemik erozyonu en çok mastoid kemiğin havalı boşlukları, mastoid kemik

korteksi, petröz piramid, tegmen timpani, sigmoid sinus ön ve arkasındaki havalı boşluk bölgelerinde görülür (55).

1.4.5.1.3. Venöz tromboflebit yoluyla yayılım:

Normalde orta kulak, petröz piramid, mastoid proçes ve kulak arkası cilt dokusundaki venler veya venüller, kemik dokusu içinden beyin dokusu ve subaraknoid boşluktaki venlerle bağlantı halindedir (55).

AOM sonucu oluşan komplikasyonlar daha çok;

- Preforme yollar
- Tromboflebit aracılığıyla yayılım sonucu,

KOM sonucu oluşan komplikasyonlar daha çok;

- Kemik erozyonu yoluyla oluşurlar.

Östaki tüp disfonksiyonunun KOM patogenezinde önemli rolü vardır. Orta kulak havalanmasının östaki tüp disfonksiyonu nedeni ile azalması timpanik membran retraksiyonu, atelektazi, kronik perforasyona neden olarak kolesteatoma gelişimine yol açabilir. Yapılan bir çalışmada östaki tüp endoskopisi ile KOM'lu hastalarda östaki tüp fonksiyonlarına bakılmış ve kolesteatomalı hastaların %89'unda anormal mukoza, %88 hastada östaki tüpünün kapalı olduğu izlenmiştir. KOM'lu hastalarda ise %53 oranında anormal mukoza ile %73 oranında kapalılık izlenmiştir. Kemikçik zincir rekonstrüksiyonun başarısı tüp mukozası normal olanlarda, olmayanlara göre daha yüksek oranda bulunmuş ve uzun dönem KOM'u olan hastalarda anormal östaki tüp mukozası görülme ihtimali daha yüksek olarak saptanmıştır (56). Supuratif otitis media komplikasyonları intrakranial ve ekstrakranial olarak ikiye ayrılabilir (57).

1.4.5.2. İntrakranial Komplikasyonlar

1.4.5.2.1. Menenjit

En sık rastlanan intrakranial komplikasyon (İKK)'dur (57). KOM'lu hastalarda daha sıktır ve kemik erozyonu yoluyla İKK komplikasyon oluşturur. AOM'da bazen hematojen yol, bazen de temporal kemik açıklıklarından yayılarak menenjit oluşur. AOM' a bağlı menenjit geliştiğinde, tedavi geniş parasentez ve paranteral antibiyotik olmalıdır. KOM sonucu gelişirse, genel durum cerrahiye uygun hale getirilerek, komplet mastoidektomi veya radikal mastoidektomi uygulanır (3, 58).

1.4.5.2.2. Lateral Sinüs Trombozu

Duramater ven sinüsleri içinde, temporal kemik enfeksiyonlarından en sık etkileneni sigmoid sinüstür. AOM ile birlikte görülüyorsa, mastoid emisser venler; KOM sonucu oluşuyorsa kemik lamina erozyonu öncelikli olarak düşünülür. Perisinüs enfiamasyonu, mural trombüse yol açarak, trombüsün intraluminal büyümesi yoluyla lümeni tıkamasına neden olur. Bu trombüs enfekte olduğunda, septik emboliye yol açar. Trombüs yukarıya doğru ilerlerse superior sagittal sinüs; aşağıya doğru uzanırsa, internal juguler ven ve subclavian ven tıkanır. Tipik olarak, mastoid emisser venin trombozuna bağlı olarak postauriküler ödem görülmesine, Greisinger belirtisi denir. Bu ödem mastoid kemik üzerinde daha arkada yerleşmesiyle koelasan mastoidite bağlı subperiosteal ödem ve abseden ayrılır (3).

1.4.5.2.3. Ekstradural Apse

Kolesteatomalı KOM ve koelasan mastoiditin kemik destrüksiyonuna yol açması sonucu oluşur. Bulgu ve semptomları olmayabilir. Tanı, bilgisayarlı tomografi (BT) veya manyetik rezonans (MR) görüntüleme veya operasyon esnasında tesadüfen konur. Tedavisi, antibiyoterapi ve cerrahidir (3).

1.4.5.2.4. Subdural apse

Duramater ile araknoid arasında oluşur. Otitis medianın nadir bir komplikasyonudur. Daha sıklıkla frontal sinüzitin bir komplikasyonudur. Tanıda kontrastlı BT veya MR kullanılır. Başlangıç tedavisi, ampiyemin boşaltılmasıdır (3).

1.4.5.2.5. Beyin apsesi

Beyin apseleri en sık 3-4' üncü dekattaki erkeklerde görülür ve otojenik kaynaklıdır. Sıklıkla tromboflebit ve periflebit yoluyla oluşur. En sık temporal lob daha sonra serebellumda görülür. Tanı BT veya MR ile konulur. Parenteral, topikal ilaç kullanımı ve antiödem tedavi uygulanır. Cerrahi tedavide, beyin cerrahisi ile beraber çalışılır (3).

1.4.5.2.6. Otitik hidrosefali

Beyin apsesi veya menenjit olmaksızın intrakranial basınç artışı ile karakterizedir. Lateral sinüs trombozu (LST) ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Beyin omirilik sıvı (BOS) basıncını kontrol altında tutmak esastır (3).

1.4.5.3. İntratemporal Komplikasyonlar

1.4.5.3.1. Fasyal paralizi

Fasyal paralizi aynı kulakta, AOM veya KOM' un alevlenme döneminde olmalıdır. Çocuklarda sıklıkla AOM sonucu gelişir, bu durum kanalın konjenital açıklığını düşündürür (2). AOM' den 2 hafta veya daha sonra olan fasyal paralizi, kemik destrüksiyonunu düşündürür (2). KOM sonucu oluşmuşsa, %80 oranında kolesteatomlu KOM sonucudur ve fasyal kanal açılmıştır (1). Fasyal kanalın en sık tutulduğu bölüm, timpanik segmenttir. Cerrahinin erken dönemde yapılması önemlidir. AOM' de parasentez ve parenteral antibiyotik; KOM' da mastoidektomi ve dekompresyon, parenteral antibiyotik ve lokal bakım gereklidir. Perinorium asıl bariyer olduğundan, sinir sürekliliği var ise kılıf açılmamalıdır (1).

1.4.5.3.2. Labirentit

İç kulağın mikrobik ve enflamatuvar hastalıklarının tümünü kapsar. Unilateral olduğunda timpanojenik, bilateral olduğunda meningojenik menenjitte bahsedilir (3).

1.4.5.3.2.1. Sınırlı labirentit

Lateral semisürküler kanal (LSSK) kolesteatomalarında sıklıkla görülür (3).

1.4.5.3.2.2. Diffüz seröz labirentit

Vertigo, bulantı, kusma tariflenir. Hasta kulağa spontan vuran nistagmus ve işitme kaybı mevcuttur. Genellikle yuvarlak pencereden toksinlerin geçişi söz konusudur. Fistüla testi pozitifdir. Bu, labirentin hala fonksiyon gördüğünü gösterir. İşitme kaybı geçicidir (3).

1.4.5.3.2.3. Diffüz süperatif labirentit

İç kulakta, inflamatuvar hücre ve pürülan mayi mevcuttur. Kalıcı ve total işitme kaybı vardır. Hızlı ve yoğun medikal tedavi uygulanır (3).

1.4.5.3.3. Labirent fistülü

Kolesteatomalı labirentin fistülü kemik ve membranöz labirenti erode eden geniş fistül, sadece kemik labirenti etkileyen kemik fistülü olmak üzere iki tiptir. KOM nedeni ile opere olan hastalarda yaklaşık olarak %7 oranında labirentin fistül varlığı saptanmıştır. Kemik tipi fistül %66 oranında, yaygın tip fistül ise yaklaşık olarak %33 oranında izlenir. LSSK tutulumu %61 oranında izlenir (59). Labirentin fistül kolesteatoma dışında granülatöz KOM'da da oluşabilir. Canal walldown

mastoidektomi sonrasında da enfeksiyon varlığında gelişebilir. Labirent fistülü olgularda yapılan temporal kemik çalışmasında kolesteatoma matriks veya inflamatuvar doku genelde endosteum veya membranöz labirentin üzerinde izlendiği saptanmış, çoğu vakada iç kulak değişimleri fistül bölgesinde izlenmemiştir. Sadece endosteumda kalınlaşma ve kronik lokalize labirentit tablosu izlenmiş, çoğu vakada vestibüler ve koklear duyu organlarında değişiklik saptanmamış, seröz labirentit izlenen vakalarda parsiyel sensörinöral işitme kaybı (SNİK) saptanmıştır (60). Fistül tanısı pozitif fistüle testi, nistagmusun varlığı ve baş dönmesi ile konur. Kitle etkisi ile fistül testi negatif sonuç verebilir. Tanıda, kemik dehisansının BT ile gösterilmesi faydalıdır. Tedavide mastoidektomi ile kolesteatomanın eradikasyonu ve fistülün tedavisine dikkat edilmelidir (60).

Kronik süpuratif otitis media, SNİK ile bağlantılı olabilir. İç kulak KSOM'ya karşı hassastır. İleri yaş bu hassasiyeti artırır. SNİK değişik yollarla meydana gelebilir. İnflamatuvar mediatörler iç kulağa yuvarlak pencere membranından geçebilir. Bu geçirgenlik KOM'da artmıştır. Bu maddeler kokleadaki kan akım hızını azaltırlar. Bu mediatörlerden histamin; dış tüylü hücrelerin efferent innervasyonunu engeller. Histamin asetil kolin reseptörlerine bağlanarak efferent innervasyonu azaltır. Serbest radikaller hücre cevaplı immün cevap sırasında direk olarak tüylü hücrelerinde hasara neden olur. Endotoksinler Na-K ATP-azı bloke ederek endolenfteki iyon konsantrasyonunu değiştirir (61). Otite bağlı işitme azlığı yüksek frekanslarda daha yüksek oranda saptanmış. Bunun nedenin yüksek frekans işitmeyi sağlayan tüylü hücrelerin kokleanın tabanında olması ve yuvarlak pencereye yakınlığı olduğu öne sürülmüş. Sensörial hücrelere potansiyel olarak zarar verebilecek olan inflame orta kulağın yuvarlak pencere düzeyinde yakınlığı nedeni ile yüksek frekanslardaki hücreler ciddi hasar görmektedir. SNİK 4 kHz de konuşma frekanslarına göre daha fazla olduğu saptanmış (61).

1.4.5.3.4. Petrozit

Petrozit aslında kliniği özellik gösteren bir mastoidit tipidir. Her zaman mastoidit vardır. Seyrek görülen bir komplikasyondur. Labirent çevresindeki ve apeksteki havalı hücrelerin kronik enfeksiyonudur. Klinik olarak; Gradenigo sendromu (5'inci kranial sinir irritasyonuna bağlı retroorbital ağrı, otore, 6'ıncı

kranial sinir paralizisine bağlı diplopi), ateş, SNİK, aralıklı fasial paralizi, aralıklı vertigo görülebilir. Tedavisi komplet mastoidektomidir (61).

1.4.5.3.5. Mastoidit

Mastoid kemikteki hücreler arasındaki septaların erimesine neden olan enfeksiyona, koalesan mastoidit denir. Sıklıkla AOM'de, az oranda da KOM'da görülür. Kulak arkası sulkusunu içine alan ve sulkusu kaybeden şişlik, ödem ve kızarıklık dikkati çeker. Prognoz iyidir. Tedaviye kolay cevap verir. Tedavi, tıbbi ve cerrahi olabilir. Parasentez yapılır. Tıbbi tedaviye cevap vermiyorsa kortikal mastoidektomi gereklidir (61).

1.4.5.3.6. Subperiostal apse

Akut koalesan mastoiditte, korteks destrüksiyona uğrayıp periosta ulaşırsa, subperiostal apsedan bahsedilir. Postauriküler bölgede oluşursa mastoid apse, aurikula ön ve üstünde oluşursa zigomatik apse, mastoid tipten boyna yayılırsa Bezold apsesi olarak isimlendirilir. Mastoid apsenin, diffüz external otit ile klinik ayırımında; external otitte timpanik membranın intakt olduğu ve kulak arkası sulkusun silinmediği göz önünde bulundurulmalıdır. Tedavisi, subperiostal apsenin drenajı ve kortikal mastoidektomidir (61).

1.5. Bone (Kemik) Morfogenetik Proteinler

Kemik morfogenetik proteinler, transforming growth factor- β (TGF- β) ailesi üyeleri içinde bulunan büyüme ve farklılaşma faktörleridir. Hücre proliferasyonu, diferansiasyonu, hücre adezyonu ve motilitesini düzenlediği çeşitli türlerde tanımlanmıştır (62). BMP-2 – BMP-9 arasındaki türevler TGF- β süper ailesine bağlı olup TGF- β ile benzerlik gösterir (63). BMP'ler embiyolojik gelişmede mezoderm indüksiyonunda görev alırlar (64). Böbrek, göz, sinir, beyin, testis, cilt, kalp ve diş gelişiminde önemli fonksiyonlar üstlenirler (65, 66). BMP'lerin in vitro verilmesi ile mezenşimal hücrelerden matriks üretimi oluşur. İnsan osteoblastları ve insan kemik iliği osteoprogenitor hücreleri üzerinde kemotaktik etkileri vardır (67). BMP'ler ayrıca osteojenik olmayan yapıların gelişimine katkıda bulunur. Nöral indüksiyon ile ektodermal hücrelerin farklılaşmasının belirlenmesinde ilk adımı temsil etmektedirler (68). BMP'ler 30 kDa ağırlığındaki homodimerik proteinlerdir (69).

Kemik iyileşmesi ve kemik büyümesi, uygun bir matrikse mezenşimal hücrelerin kemotaksisi ve bağlanması, progenitor hücrelerin proliferasyonu ve

takiben kemik, kartilaj, hematopoetik hücrelerin oluşması ile çok basamaklı bir şelale şeklinde meydana gelmektedir. Kemik büyümesi başladıktan sonra çok sayıdaki büyüme ve diferansiyasyon faktörü, olayın ilerlemesini gerçekleştirmektedir. (70, 71) 1965 yılında Marshal Urist, iskelet dışı bölgelere yerleştirilen dekalsifiye kemik matriksinin (Demineralized Bone Matriks, DBM) kemik formasyonu induksiyonu yaptığını göstermiştir. Daha sonra 1979 yılında yine Urist tarafından ilk kez BMP elde edilmiştir. BMP'in diğer adı Osteojenik proteindir. BMP'ler memelilerde bulunan gerçek morfogendirler. Embriyojenik ve doğum sonrası dönemde kemik ve birçok dokuda var oldukları belirlenmiştir. Yaşam sürecinde BMP'lerin hedef organı diferansiye olmamış perivasküler bağ dokusu hücreleriyken, büyüme faktörlerinin hedefi diferansiye olmuş hücrelerdir. BMP kemik gelişimi için bazı genleri aktive etmekte ve kırık iyileşmesinde induksiyon ile yeni kemik formasyonunu sağlamaktadır (72). Erişkin memelilerde BMP osteoblastlar ve osteositler tarafından sentez edilmekte ve primer olarak kemik ve dentinde bulunmaktadır (73). BMP'ler bir grup protein growth faktör içeren TGF- β süper ailesinin üyesidir. Bu ailenin 40'dan fazla üyesi tanımlanmıştır. BMP'ler, büyüme ve diferansiyasyon faktörleri, inhibin ve aktivinler bunlardan bazılarıdır. BMP'ler 7 adet disülfid bağ ile bağlanmış dimerler içerirler. BMP'ler iki benzer zincir içeren homodimer olarak veya iki farklı zincir içeren heterodimer olarak iki şekilde aktiftir. Günümüzde 15 adet BMP tanımlanmıştır. Aminoasit diziliş benzerliklerine göre alt gruplara ayrılmışlardır. BMP-2 ve 4 birinci alt grubu, BMP- 5 ve 8 ikinci alt grubu, BMP-3 ve GDF-10 üçüncü alt grubu oluşturmaktadır. BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7'ler BMP-2 'ye benzer şekilde kemik induksiyonu yapmaktadırlar. Bu proteinler arasında BMP-2' nin osteoindüktif özelliği en fazla olan protein olduğu görülmüştür (74- 76). BMP genellikle endokondral yol ile yeni kemik oluştururlar. Taşıyıcıdan salınan BMP başlangıçta taşıyıcı etrafında kartilaj doku induksiyonunu gerçekleştirmektedir. İndükte edilen kartilaj dereceli olarak taşıyıcı konak doku tarafından resorbe edilmekte ve kemik doku ile yer değiştirmektedir. İntramembranöz kemikleşme olabilmesi için zengin vaskülarize mezenşimal doku varlığı gerekmektedir. (77)

Embriyojenik hücrelerin BMP'lere cevap vererek kartilaj ve kemik hücrelerine diferansiye olmaları da, BMP'lerin embriyojenik iskelet sisteminin oluşmasında rol oynadıklarını göstermektedir. Primitif hücre popülasyonunun içinde

bulunduğu diferansiyasyon safhası BMP'lerin etkisinde önemli bir belirleyicidir. Kemik iliği BMP'ye cevap veren hücreleri sağlamaktadır. BMP'nin kemik iliği hücrelerini indükleyerek kemik formasyonu sağladığı bilinmektedir. Çok sayıda primitif hücrenin bölgede bulunduğu iyileşen fraktürlerde doğal olarak BMP'lerin salgılandığı, kırık iyileşmesi sırasında bu proteinlerin lokal olarak düzenleyici rol oynadığı düşünülmektedir. İyileşme olmayan fraktürlerden elde edilen hücrelerin BMP'ye cevap verdikleri ve kırık iyileşmesinin olmamasının nedeninin eksik miktarda BMP varlığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (74).

BMP'ler kemik iç dengesi üzerinde birden fazla mekanizma ile etkili olmaktadır;

- 1) Farklılaşmamış mezenkimal hücreler ve osteoblastik öncül hücreler üzerinde mitojenik etki yaparlar,
- 2) Kemik hücrelerinde alkalın fosfataz aktivitesini arttırmaları,
- 3) Mezenkimal hücreler ve monositler için kemotaktik hücre gibi davranırlar.

1.5.1. TGF- β Süperailisi

TGF- β ailesi, gelişimi çok yönlü kontrol eden ekstrasellüler büyüme faktörlerinin büyük bir grubudur. Organizmanın tüm dokularının gelişiminde, homeostazisinde ve onarımında çok önemli rol oynayan TGF- β ailesi, yapısal olarak ilişkili çok sayıda polipeptid büyüme faktörleri içerir, bunların her biri hücre proliferasyonu, farklılaşması, motilitesi, adezyonu ve ölümü gibi hücresel süreçleri düzenleme yeteneğine sahiptir (78). TGF- β ailesi, hedef hücrenin uyarıya verdiği yanıtın çeşidine bağlı etkileri olan çok fonksiyonlu agonistlerdir. Örneğin, bu ailenin bir üyesi olan TGF- β 1, mezenşimal gelişimin düzenleyicisi olarak tanımlanmış ve bundan farklı olarak epitel hücrelerde antimitojen olduğu gözlenmiştir. Aktivinler, hipofiz fonksiyonunun hormonal düzenleyicileridir, bunun yanında kurbağalarda mezodermin oluşumuna katılırlar (78, 79). TGF- β ve ilgili faktörler, 2 tip reseptör olan serin/treonin protein kinazları bir araya getirerek gen ekspresyonunu düzenlerler. Bu kinazlardan biri diğerini fosforlar, bu fosforlanan kinaz SMAD proteinlerine dönüşür. SMAD'lar, hücre çekirdeği içine sinyal taşıyan ve özel olarak deoksiribonükleik asit (DNA)' e bağlanma kabiliyeti ile transkripsiyonel kompleks oluşturan orijinal bir protein ailesidir (78, 80). TGF- β ailesi üyeleri serin/treonin kinaz aktivitesine sahip reseptörlere bağlanarak hücresel hareketlerini başlatırlar. TGF- β ailesi üyeleri, transmembran protein ailesinden olan serin/treonin kinaz

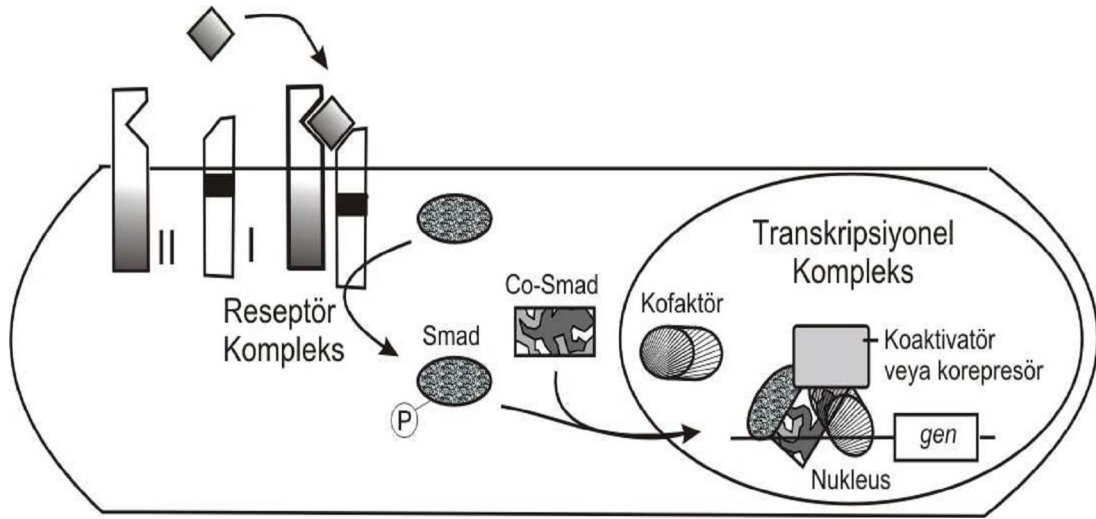
aktivitesine sahip TGF- β reseptör ailesine sinyal iletirler. TGF- β reseptör ailesi, yapısal ve fonksiyonel özellikleri göz önünde tutularak tip I ve tip II reseptörler olmak üzere 2 alt gruba ayrılmıştır (Şekil 3) (81).

Protein kinaz bölgesinin hemen önünde çok iyi korunmuş 30 amino asitlik bölge tip I reseptörü diğerlerinden ayırır. Sahip olduğu SGSGSG dizileri nedeni ile bu bölge GS bölgesi olarak adlandırılır. GS bölgesi, muhtemelen tip I reseptör kinazların katalitik aktivitelerini veya substratlarla etkileşimini kontrol edebilen önemli bir düzenleyici bölgedir (82). Tip I ve tip II reseptörlerin kinaz bölgeleri, serin/ treonin protein kinaz bölgesinin dizileri ile uygunluk gösterir. Buna bağlı olarak, tip I reseptörleri kendi substratlarını fosforlarken serin rezidüleri üzerindeki SMAD proteinlerini de fosforlar, tip II reseptörler ise kendi substratlarını ve serin-treonin rezidüleri üzerindeki tip I reseptörlerini de fosforlar fakat tirozin rezidülerini fosforlamazlar (83, 84).

1.5.2. Reseptör Kompleks Oluşumu

TGF- β ve ilgili faktörler, tip I ve tip II reseptör çiftlerine bağlanır ve bunları birleştirerek sinyalin aktivasyonunu sağlarlar. İki farklı ligand bağlanma çeşidi gözlenmiştir. TGF- β ve aktivin reseptörleri için karakteristik olan 1. bağlanma çeşidi ligandın tip II reseptöre direkt bağlanması suretiyle gerçekleşir, daha sonra tip I reseptör ile bu kompleks (ligand-tip II reseptör) arasında etkileşim olur. Tip I reseptörler ligandı tanır ve tip II reseptöre bağlanır (85). İkinci bağlanma çeşidi ise BMP reseptörleri ve bu gruba dahil olanlar için tipiktir, tip I ve tip II BMP reseptörleri liganda beraber bağlanırlar (86). Öncelikle aktif, ligand-tip I/tip II reseptör kompleksi oluşur, tip II reseptör fosforilasyon ile tip I reseptörü aktive eder, daha sonra tip I reseptör sitoplazmadan hücre çekirdeğine sinyal ileten SMAD proteinlerini fosforlar (Şekil 3) (78, 79, 87). Sinyaller, aktivatörü olan tip II reseptör (T β RII) tarafından fosforlanmış TGF- β tip I reseptörlerinden (T β R-I) ortama verilir. Ligandın bağlanması tip I ve tip II reseptörlerinin heteromerik kompleks oluşturmasına yol açar (82, 88, 89). Ligandların dimerik yapısında, monomerlerden biri tip I reseptörlerden biri ile diğer monomer ise tip II reseptörle birleşir, sonuçta heterotetramerik reseptör kompleksi oluşturulur (89). Bu kompleksin oluşması için sinyal gereklidir. T β R-I ve T β R-II kinazları içeren kimerik reseptörler farklı konfigürasyonlar oluşturabilirler, sinyal sadece tip I ve tip II reseptör kinazların bir araya gelmesiyle elde edilir (90). Reseptör aktivasyonundaki en önemli basamak

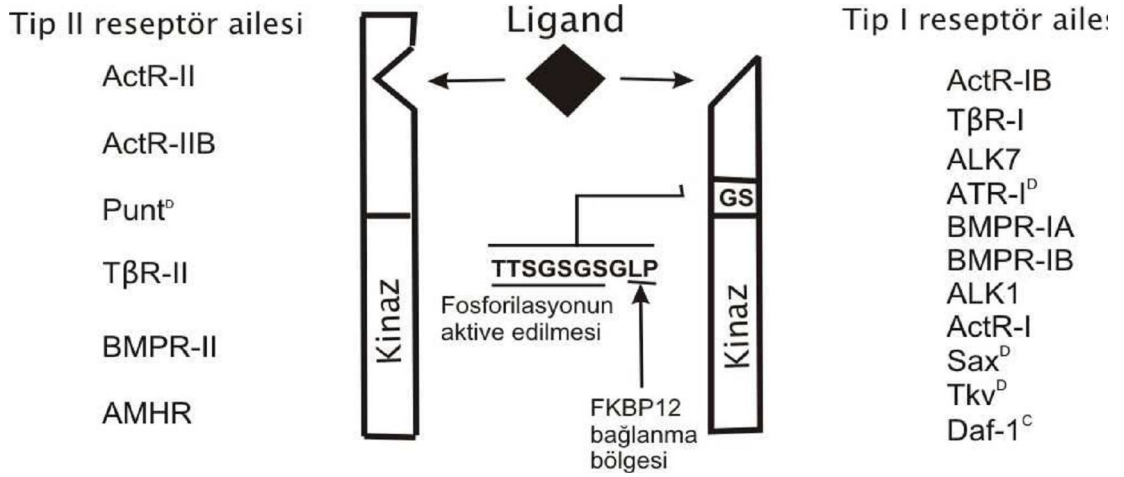
tetramerik reseptör kompleksin fosforilasyonudur. T β R-II'deki belirli fosforilasyon bölgeleri reseptörün sinyal aktivitesini düzenler; Ser 213 ve Ser 409'un fosforilasyonu T β R-II aktivitesi için gereklidir, bunun yanında Ser 416'nın fosforilasyonu T β R-II sinyal iletimini inhibe eder (91). T β R-II ve aktivin tip IIB reseptörü özellikle tirozin rezidüleri üzerinde otoposforile olabildiği kadar serin ve treonin rezidüleri üzerinde de otoposforile olabilir ve dolayısıyla çift özellikli kinazlar gibi fonksiyon görebilirler. T β R-I, T β R-II tarafından GS yapısı içindeki çeşitli rezidülerden fosforlanır, bu fosforlanma T β R-I kinazın aktivasyonunu sağlar (Şekil 4) (82). T β R-I, GS yapısının N-terminal bölümüne lokalize olmuş Ser 165 üzerinden fosforile olur. Ser 165'teki herhangi bir mutasyon tip I reseptörün daha güçlü sinyal vermesine yol açar, güçlü sinyallerde büyümenin inhibisyonunu ve matris birikimini etkiler. Buna göre, Ser 165'in fosforilasyonu TGF- β sinyal iletimini düzenleyebilir (87).



Şekil 3. SMAD'lar ile TGF- β sinyal iletimi: Temel sinyal mekanizması; Ligand reseptör kompleksle birleşir SMAD'ları fosforile eder ve SMAD'lar transkripsiyonel kompleksle birleşerek hedef genin sentezini kontrol ederler.

Kolesteatomanın lokal infiltrasyonu ve kemik destrüksiyonu gibi karakteristik özellikleri vardır. Kolesteatoma bazı hastalarda daha agresif seyretmektedir. Çalışmamızda kolesteatoma dokusunda Genel BMP (BMPs), BMP-2, BMP-4 ve

BMP-6 ekspresyonunun edinilmiş kolesteatoma agresifliğine etkisi incelenmiştir. Edinilmiş kolesteatomalı hastaların preoperatif görüntülemelerindeki ve operasyon esnasında direk klinik muayenedeki yayılım dereceleri, kemikçik ve kemik destrüksiyonu ile BMPs, BMP-2, BMP-4 ve BMP-6 ekspresyonu arasındaki ilişkinin saptanması amaçlanmıştır. Böylece bir ilişki saptanırsa hücre proliferasyonu ve agresif seyreden kolesteatomalar hakkında bilgi sahibi olmaya, rekürrens ve kemik destrüksiyonu gibi risklerin daha önceden saptanmasına yardımcı olabilir. Cerrahi tekniğe bağlı kolesteatoma tedavi başarısızlığı, kolesteatoma dokusundan preoperatif alınan örneklerde BMP ekspresyonunun fazla olduğu vakalarda daha agresif cerrahi teknikler uygulanarak azaltılabilir.



Şekil 4. Tip I ve II TGF-β reseptör aileleri. Tip I reseptörde protein kinaz bölgesi GS bölgesinden önde gelir. TβR-I'in karakteristik GS dizisi motifi üzerinde, fosforilasyon bölgesi ve FKBP12 bağlanma bölgesi. Omurgalılardaki üyeleri listelenmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Denekler

Bu çalışma T.C. Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü Elazığ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun ve çalışmaya alınacak bireylerin onayı alınarak Kasım 2009- Eylül 2010 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi KBB servisinde, kolesteatomalı ve kolesteatomasız kronik otit nedeni ile opere edilen erişkin 80 hasta üzerinde yapıldı. Çalışmaya alınan tüm hastaların yaşı, cinsiyeti, hastaneye geliş nedeni, şikâyetlerinin süresi, kulak akıntısının varlığı ve süresi, kulak ağrısı, baş dönmesi, bulantı, kusma ve kulak çınlaması gibi şikâyetlerinin varlığının yanında fizik muayene bulguları, preoperatif işitme düzeyleri, var ise kolesteatomanın yaygınlığı, yapılan operasyonunun tipi, operasyon esnasındaki kolesteatomanın yayılım derecesi, kemik yapılarıdaki yıkım (tegment kemik, sino dural açığı, kemik fasyal kanal) ve kemikçik yapılarıdaki yıkım (inkus, inkus+malleus, inkus+stapes, malleus+inkus+stapes) derecesi bilgileri kaydedildi. Daha önce aynı kulaktan opere olan hastalar çalışmaya alınmadı.

Operasyon esnasında çalışma grubu için kolesteatoma dokusundan ve dış kulak yolu cildinden, kontrol grubu için dış kulak yolu cildinden doku örnekleri alınıp -80 °C'de seri tamamlanincaya kadar saklandı. Seri tamamlanınca örnekler Tıbbi Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'nda değerlendirildi.

2.2. Gruplar

Hastalar çalışma grubu ve kontrol grubu olmak üzere iki gruba ayrıldı.

1. Çalışma Grubu (n=40): Primer edinilmiş kolesteatomalı kronik otitli hastalar
2. Kontrol Grubu (n=40): Kolesteatoması olmayan kronik otitli hastalar

KKOM nedeni ile opere edilen hastalarda kolesteatomanın yaygınlığı Saleh ve Mills (92) sınıflamasına göre evrelendi. Bu sınıflama; attik, antrum, orta kulak, mastoid, tuba östaki, labirent ve orta fossa olmak üzere yedi bölgeye ayrılmıştır.

Evre 1: Kolesteatoma başladığı bölgede lokalizedir.

Evre 2: Hastalık diğer bir bölgeye yayılmış.

Evre 3: Hastalık üç bölgeye yayılmış.

Evre 4: Hastalık dört bölgeye yayılmış.

Evre 5: Primer alana ek olarak dört veya daha fazla bölgeye yayılmış.

2.3. Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyon İnceleme

Hastalardan revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyon (RT PZR) inceleme için alınan biopsi materyalleri seri tamamlanıncaya kadar uygun koşullarda (-80°C'de) saklandı. BMP-2, BMP-4 ve BMP-6 ekspresyonu ölçümünde RT PZR yöntemi kullanıldı. Doku örneklerinden ribonükleik asit (RNA) izolasyonu yapılarak belirtilen primerler kullanılarak PZR çalışıldı.

2.3.1. Bone Morfogenetik Proteinlerin Tayininde Kullanılan Gereçler

Agaroz Jel Elektroforez Güç Kaynağı, Agaroz Jel Tankı ve Düzeneği (Consort N.V. Parklaan 36 B-2300 Turnhout, Belgium)

Eppendorf Mastercycler Gradient (Netheler Mlnz GmbH, 23331 Hamburg, Germany)

UV lambası ve ilgili okuma, kaydetme, fotoğraflama ünitesi (TCP-20-M, Vilber Lourmat, Cedex, France)

Mikropipetler, Eppendorf (France)

Soğutmalı Mikrosantrifüj (Ole Dich Intrumentmakers APS, type 157.MP, Germany)

Elektronik Hassas Terazî (Shimadzu Corporation Libror AEG-320, Japan)

Etüv, Nüve (NP 400, Türkiye)

Elektro-Mag (Türkiye)

Ph Metre (Hana Intruments HI8521 pH meter, Italy)

Otoklav, Nüve (Türkiye)

Buzdolabı, Arçelik (Türkiye)

Derin Dondurucu -20 °C, Uğur (Türkiye)

Su Banyosu (Kötterman labortechnic type 3643, Germany)

Vorteks (Labinco L46, The Netherlands)

2.3.2. Bone Morfogenetik Proteinlerin Tayininde Kullanılan Kimyasallar

Borik asit (Merck, Frankfurt, Germany)

Etilen daimin tetra asetik asit (EDTA) (Sigma, Germany)

Tris HCL (Sigma, Germany)

Etidium Bromide (Sigma, Germany)

Fikol (Serva, Germany)

Bromofenol Mavisi (Sigma, Germany)

Xylene Cyanol (Sigma, Germany)
Mutlak Etanol (Kimetsan, Türkiye)
100 bç'lik DNA Markırı (Fermentas, Litvanya)
Agaroz (Sigma, Germany)

2.3.3. Bone Morfogenetik Proteinlerinin Tayininde Kullanılan Çözeltiler

Agaroz jel yükleme tamponu (6X)

%15 fikol
%0.05 bromofenol mavi
%0.05 ksilen siyanol

Tris-borik asit-EDTA tamponu (TBE) (10 X) (1L)

108 g Tris HCl
55 g Borik asit
20 ml 0.5 M EDTA
1000 ml ddH₂O ile tamamlanır.

EDTA Çözeltisi (0.5 M, 50 ml)

18.6gr EDTA tartılır. pH=8.0'e EDTA çözülünceye kadar NaOH eklenerek ayarlanır.

Etidium bromüd (EtBr) çözeltisi (10mg/ml)

10 mg EtBr tartılır, üzerine 1 ml ddH₂O eklenir. Karanlıkta +4°C'de saklanır.

2.3.4. Ribonükleik Asit İzolasyon İşlemi

2.3.4.1. Kullanılan Solüsyon ve Gereçler

RNA purifikasyon kiti (Vivantis, Marsiya), 1.5 ml'lik tüpler (Axygen scientific MCT-150-A), 100 ve 1000 µl'lik pipet (Eppendorf research series 2100 pipettes, Germany), otomatik homojenizatör, pipet uçları (Deltalab 327-17), mikrosantrifüj, vorteks, etil alkol.

RNA izolasyonu için Vivantis marka RNA izolasyon kiti kullanıldı. Kit lizis tampon, yıkama solusyonu 1, yıkama solusyonu 2, DNase ve ddH₂O içermektedir.

2.3.4.2. Dokulardan Ribonükleik Asit İzolasyonunun Yapılması

Alınan doku örnekleri kullanılıncaya kadar deoksiribonükleaz (DNase), ribonükleaz (RNase) ve pirojen içermeyen 1.5 ml'lik ependorf tüpler içinde -80 °C'de saklandı. Dokulardan RNA izolasyonu Vivantis marka total RNA izolasyonu

kiti kullanılarak (GF-RT-100, Vivantis, Malaysia) üretici firmanın yöntemine göre yapıldı. Tüm işlemler oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Buz kalıplara üzerinde yaklaşık 30 mg doku örneği yeni bir DNase, RNase ve prirojen içermeyen 1.5 ml'lik ependorf tüpe alındı.

2.3.4.3. İzolasyon Aşamaları

1. İçerisinde doku bulunan 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpü içerisine 700 µl Buffer TR solüsyonu eklendi.

2. Dokular 700 µl lizis tamponu içerisinde otomatik homojenizatörde homojenizasyon sağlanıncaya kadar işleme tabi tutuldu.

3. Tüpler 14.000xg'de 3 dk santrifüj edildi ve üstteki sıvı kısım homojenizasyon kolonuna alındı.

4. 14.000xg'de de 2 dk santrifüj edildi. Toplama tüpünün altında kalan sıvı kısma 650 µl saf alkol ilave edilerek homojen bir solüsyon elde edilinceye kadar pipetaj yapıldı.

5. Homojen hale gelen örnek RNA bağlayıcı kolona aktarıldı.

6. Kolonlar 10.000xg'de 1 dk santrifüj edildi.

7. Koleksiyon tüpünün dibinde kalan kısım atılır ve yıkama tamponu 1'den 500 µl ilave edildi.

8. 10.000xg'de 1dk santrifüj edildi.

9. Koleksiyon tüpünün dibinde kalan sıvı atıldı. Kolon içerisindeki membran üzerine DNase I eklenerek örnekler oda sıcaklığında 15dk bekletildikten sonra 500 µl DNase I inhibitor tamponu kolon içerisine ilave edildi.

10. 14.000g'de 1dk santrifüj edilir.

11. Koleksiyon tüpünün dibinde kalan sıvı atıldı. Yıkama tamponu 2'den 500 µl kolon içerisine ilave edildi.

12. Örnekler 10.000xg'de 1dk santrifüj edildi. Bu aşama tekrarlandı. Koleksiyon tüpünün dibinde kalan sıvı atıldı.

13. Kolon içerisinde kalan çok az miktardaki yıkama solüsyonunun uzaklaştırılması için örnekler 10.000xg'de 1dk santrifüj edildi.

14. Kolonlar yeni bir toplama tüpü içersine yerleştirildi. 60 µl DNase, RNase ve prirojen içermeyen ddH₂O kolonun içerisindeki membran üzerine kondu ve 1 dk beklendi.

15. 10.000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Filtre edildi ve RNA buz üzerinde saklandı. RNA içeren süpernatant kullanılıncaya kadar -80°C'de saklandı (Bu yöntemle 1-5 µg RNA elde edildi.)

2.3.4.4. Ribonükleik Asit Miktar Tayini

-80 °C'den çıkarılan RNA'lar buz içerisinde eritilerek, 10 mM pH: 8.0 Tris solusyonu içerisinde 1: 1000 oranında seyreltildi. Örnekler ve kör için, UV geçirgen quartz küvetler içinde spektrofotometrik olarak 260 ve 280 nm'de optikal dansite (Absorbance (A)) ölçümleri yapıldı (Pharmacia Biotech, Ultraspec 2000). Aşağıdaki formül kullanılarak, RNA miktar tayinleri ve A260/A280 değerleri kullanılarak ise RNA kalitesinin değerlendirilmesi yapıldı. $A_{260} \times 44 \times (\text{dilüsyon faktörü}) = \mu\text{g}/\text{mL}$

2.3.5. Bone Morfogenetik Proteinlerin Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyon İle Çalışması

BMP genlerinin transkripsiyon ürünlerinin tespiti için öncelikle RNA'dan komplementar deoksiribonükleaz (cDNA) elde edildi ve daha sonra cDNA kullanılarak PZR ile BMP transkriptleri çoğaltıldı.

2.3.5.1. Komplementar Deoksiribonükleaz Yöntemi

Total RNA elde edildikten sonra RNA'dan DNA'ya çevirim için cDNA protokolü uygulandı. 4µg total RNA'dan, MBI Fermentas RevertAid® First Strand cDNA Sentezi kit (K1622)'inde önerilen şekilde, "random hexamer" ve MMLV tersten transkriptaz enzimi kullanılarak cDNA elde edildi. cDNA sentezi için tablo 1'deki protokol uygulandı.

Tablo 1. cDNA sentezi için uygulanan protokol

Reaktifler	1 örnek için miktar
Örnek RNA'sı	5 µl
5X Revers Transkripsiyon buffer	4 µl
10mM dNTP	2 µl
Random Hekzamer	1 µl
RNAaz inhibitor	1 µl
Multiscribe Revers transkriptaz,	1 µl
ddH2O	6 µl
Toplam hacim	20 µl

Aşağıdaki siklus ve derecelerde Eppendorf Thermal Cycler cihazında cDNA elde etme işlemi gerçekleştirilmiştir.

Sıcaklık	Süre
25°C’de	5dk
42 °C’de	60dk
70 °C’de	5dk
+4 °C’de	Sonsuz

Çalışma gerçekleşene kadar örnekler -20°C’ de saklanmıştır.

2.3.5.2. Polimeraz Zincir Reaksiyon Materyalleri

Taq DNA polimeraz (5U/μl)	Fermentas EP0402
10XPZR buffer (10mM)	Fermentas EP0402
MgCl ₂ (25mM)	Fermentas EP0402
100mM dNTP set	Fermentas R0186
Primerler	İontek, İstanbul, Türkiye

2.3.5.3. Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyon İçin Kullanılan Primerler ve Reaksiyon Koşulları

Hedef genlerde transkript düzeyinde ekspresyon değişimi olup olmadığını değerlendirmek amacıyla RT PZR yöntemi kullanıldı. Bunun için kullanılan genler ve primer çiftleri Tablo 2’de görülmektedir.

Tablo 2. RT PZR için kullanılan primerler, primer bağlanma ısıları ve beklenen PZR ürün büyüklükleri.

Gen Sembolü	İleri ve geri primer	Primer Bağlanma Isısı	PZR ürün Büyüklüğü
BMPs	5’-GGITGG(C/A)AIGA(C/T)TGGAT(A/C/T)(A/G)TI GC(A/C/G/T)CCCC-3’ [GW(Q/N)DWI(I/V)AP] 5’-(A/G)(A/G)GT(C/T)TG(A/C/G/T)AC(A/G)AT(A/G)GC(A/G)TG (A/G)TT-3’ [NHAI VQTL]	53-58 °C	120 bç
BMP-2	5’-GGAAGA AACTACCAGAAACGAG-3’ AGATGATCAGCCAGAGGAAAA-3’	55°C	657 bç
BMP-4	5’- GATTCCTGGTAACCGAATGCT -3’ 5’- TCTCGTGTCCAGTAGTCGTGTGAT-3’	55°C	606 bç
BMP-6	5’- CGGGTCTCCAGTGCTTACAGATT-3’ 5’- GCATCCACAAGCTCTTACAACC-3’	55°C	351bç
GAPDH	5’-ACGCATTTGGTCGTATTGGG-3’ 5’-TGATTTTGGAGGGATCTCGC-3’	55°C	231 bç

2.3.5.4. Bone Morfogenetik Proteinlerin Tespiti İçin Kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyon Protokolü

Çalışılan tüm primerler için aynı PZR protokolü uygulandı. Aşağıdaki reaksiyon karışımı

uygulanarak PZR gerçekleştirildi.

Reaksiyon Karışımı

cDNA	2 µl
10 x PCR Buffer	3 µl
MgCl ₂ (25mM)	3 µl
dNTP karışımı (10mM)	3 µl
Taq DNA polimeraz	0,5 µl
İleri ve Geri primer (10 pmol)	1,5 µl
Steril distile su	17 µl
Toplam Hacim	30 µl

Değerlendirilen BMP'lerin PZR koşulları.

Sıcaklık	Süre	
94 °C de	5 dakika	
55 °C de	1 dakika	1 döngü
72 °C de	1 dakika	
94 °C de	1 dakika (denatürasyon)	
58 °C de	1 dakika (eşleşme)	35 döngü
72 °C de	1 dakika (sentez)	
94 °C de	1 dakika	
55 °C de	1 dakika	1 döngü
72 °C de	7 dakika	
4°C de	Sonsuz	

2.3.6. Agaroz Jel Elektroforezi

Yapılan bu çalışmada PZR ile çoğaltılmış ürünlerin tanımlanması için agaroz jel elektroforezi uygulandı. Elde edilen ürünlerin büyüklüklerini tanımlayabilmek için %4'lük jel kullanıldı. Kullanılan elektroferez düzeneğine uygun hacim; toz halindeki agarozun 0.5X TBE tamponunda manyetik karıştırıcılı bir mikrodalga fırında kaynatılarak çözülmesi ile oluşturuldu. Ardından kaynamış çözelti 55–60

°C'ye soğutulmuş 0.25 µg/ml EtBr ilave edildi. Kuyuları oluşturacak olan tarak, tabağına yerleştirildikten sonra hazırlanan jel, hava kabarcığı kalmayacak şekilde buraya döküldü. Jelin polimerizasyonu sonrası tarak dikkatlice çıkarılarak jel platformu 0.5XTBE tamponu ile dolu olan elektroforez tankına yerleştirildi. Bu tampondan jelin üzerini 1–2 mm geçecek kadar eklendi. Örnekler ve belirteç DNA, 6X yükleme boyası ile 5: 1 oranında karıştırılarak kuyulara 15'er µl yüklendi. Güç kaynağı açılarak 90 V'a ayarlandı. Yaklaşık yarım saat sonra güç kaynağı kapatıldı. Jel görüntüleme sisteminde UV ışını altında incelendi.

2.3.7. Gliseraldehid-3 Fosfat Dehidrogenaz Normalizasyonu ve Gen Düzeylerinin Karşılaştırılması

Gen düzeyleri karşılaştırılacak örneklerde cDNA havuzunun aynı olup olmadığını anlamak için, her hücrede aynı miktarda olduğu bilinen geni için tabloda belirtilen primer dizileri ve ısı kullanılarak PZR yapıldı. Sonrasında incelenecek özgül genler için gliseraldehid-3 fosfat dehidrogenaz (GAPDH) PZR'nunda kullanılan ile aynı cDNA örnekleri kullanılarak Tablo 2'de belirtilen şekilde PZR'ler yapıldı ve PZR ürünlerinin agaroz jelindeki band kalınlıkları densitometrik olarak karşılaştırıldı.

2.4. İstatiksel İnceleme

Hasta takip formları aracılığı ile toplanan veriler, SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 11.5 paket programı kullanılarak veri tabanı oluşturulduktan sonra, veriler elektronik ortama aktarıldı ve verilerin değerlendirilmesi yapıldı.

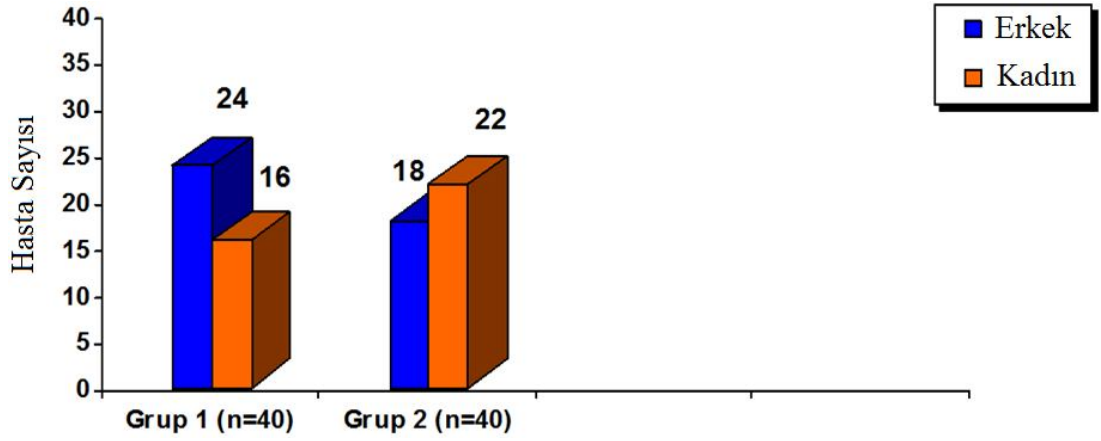
İstatistiksel karşılaştırmalarda anlamlılık düzeyi olarak 0.05 kullanıldı. Bağımlı ve bağımsız değişkenin iki kategoriden oluştuğu durumlarda dağılımın analize uygunluğuna göre Person'un Kikare testi veya Fisher'in Kesin Kikare testi; bağımsız değişkenin iki kategoriden, bağımsız değişkenin beş kategoriden oluştuğu durumlarda ise dağılımın Kikare analizine uygun olmamasından dolayı Kolmogorov-Smirnov Z testi kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Klinik Bulgular

Çalışma kolesteatoması olan ve kolesteatoması olmayan KOM nedeni ile opere edilen erişkin 80 olgu üzerinde yapılmıştır. Daha önce ameliyat olan hastalar, iki yıldan daha kısa süre önce tanı almış hastalar, timpanik membrandaki perforasyondan; özellikle marjinal veya attik bölgesindeki perforasyonlardan, epitel dokusunun orta kulağa girmesiyle oluşan sekonder edinilmiş kolesteatomalı hastalar ve konjenital kolesteatoması olanlar çalışma dışı bırakıldı.

Hastaların 42'si (%52,5) erkek, 38'i (%47,5) kadındı (Şekil 5).



Şekil 5. Gruplara göre cinsiyet dağılımı

Çalışmaya alınan hastaların yaşları 18-61 (yaş ortalaması 33.46 ± 14.14) arasında değişmekteydi. Gruplara göre yaş dağılımları grup 1 ve grup 2 için sırası ile 18-59 (yaş ortalaması 35.07 ± 12.98), 18-61 (yaş ortalaması 31.85 ± 15.20) idi.

Hastaların geliş şikayetlerine bakıldığında grup 1'de tüm hastalarda işitme azlığı şikayeti mevcuttu. Akıntı 34 (%85) hastada, baş dönmesi dört (%10) hastada, çınlama iki (%5) hastada, ağrı üç (%7,5) hastada mevcuttu. Grup 2'ye bakıldığında işitme azlığı 40 (%100) hastada, akıntı 30 (%75) hastada, baş dönmesi iki (%5) hastada, çınlama iki (%5) hastada, ağrı bir (%2,5) hastada mevcuttu. (Tablo 3)

Tablo 3. Gruplara göre şikâyetlerin dağılımı

Şikâyet	Grup 1 (Kolesteatoması olan)	Grup 2 (Kolesteatoması olmayan)
	n (%)	n (%)
İşitme azlığı	40 (%100)	40 (%100)
Akıntı	34 (%85)	30 (%75)
Çınlama	2 (%5)	2 (%5)
Ağrı	3 (%7,5)	2 (%5)
Baş dönmesi	4 (%10)	1 (%2,5)

n=hasta sayısı

Hastaların şikâyetlerinin başlama süresine bakıldığında grup 1 için 2-30 yıl (ortalama $9,32 \pm 6,94$), grup 2 için 2-20 yıl (ortalama $7,15 \pm 4,87$) arasında değişmekteydi.

Hastaların işitme düzeyleri pür ton odyodgram ile değerlendirildiğinde grup 1 için 25-92 dB (ortalama $58,32 \pm 16,00$) ve hava kemik aralığı 10-63 dB (ortalama $38,24 \pm 12,41$), grup 2 için 28-92 (ortalama $50,05 \pm 18,43$) ve hava kemik aralığı 14-56 (ortalama $42 \pm 16,18$), arasında değişmekteydi.

Gruplara göre yapılan operasyonun tipine bakıldığında grup 1’de iki (%5) hastaya timpanomastoidektomi, 22 (%55) hastaya radikal mastoidektomi, 15 (%37,5) hastaya modifiye radikal mastoidektomi yapıldı. Grup 2’de 38 (%95) hastaya timpanomastoidektomi, iki (%5) hastaya modifiye radikal mastoidektomi yapıldı. (Tablo 4)

Tablo 4. Gruplara göre yapılan operasyonun tipi

Operasyonun Tipi	Grup 1	Grup 2
	(Kolesteatoması olan) n (%)	(Kolesteatoması olmayan) n (%)
Timpanomastoidektomi	2 (%5)	38 (%95)
Radikal mastoidektomi	22 (%55)	-
Modifiye radikal mastoidektomi	15(%37,5)	2 (%5)

n=hasta sayısı

Yapılan operasyonlar sırasında kemik yapılarıdaki yıkım değerlendirildiğinde grup 1’de dört (%10) hastada sigmoid sinüs duvarında yıkım, beş (%12,5) hastada

tegment kemikte (tegment antri ve tegment timpani) yıkım, dokuz (%22.5) hastada fasyal kanalda yıkım, dokuz (%22.5) hastada DKK duvarında yıkım mevcuttu. 13 (%32.5) hastada ise yıkım mevcut değildi. Grup 2’de ise herhangi bir yıkıma rastlanmadı (Tablo 5).

Tablo 5. Gruplara göre kemik yapılarıdaki yıkım tipi

Kemik yapılarıdaki yıkım tipi	Grup 1	Grup 2
	(Kolesteatoması olan) n (%)	(Kolesteatoması olmayan) n (%)
Sigmoid sinüs duvarında yıkım	4 (%10)	-
Tegment kemikte yıkım	5 (%12.5)	-
Fasyal kanalda yıkım	9 (%22.5)	-
DKK duvarında yıkım	9 (%22.5)	-
Kemik yapılarında yıkım görülmeyen	25 (%62.5)	40(%100)

n= hasta sayısı

Yapılan operasyonlar sırasında tüm hastaların kemikçik zinciri değerlendirildi. Grup 1’de hastaların 30’unda (%75) kemikçiklerde yıkım gözlemlendi. Hastaların yedisinde (%17.5) inkusta, beşinde (%12.5) malleus+ inkusta, dördünde (%10) inkus+ stapeste, 14’ünde (%35) malleus+inkus+stapeste yıkım mevcuttu. Grup 2’de 10 (%25) hastada kemikçik yıkımı görüldü. Hastaların ikisinde (%10) inkus, altısında (%15) inkus+stapes, ikisinde (%10) malleus+inkus+stapeste yıkım mevcuttu (Tablo 6).

Tablo 6. Gruplara göre kemikçik zincir durumu

Kemikçik zincirde yıkım tipi	Grup 1	Grup 2
İnkus	7 (%17.5)	2 (%10)
Malleus+İnkus	5 (%12.5)	-
İnkusun+Stapes	4 (%10)	6 (%15)
Malleus+İnkus+Stapes	14 (%35)	2 (%10)
Erezyon yok	10 (%25)	30 (%75)

n=hasta sayısı

Kolesteatomanın yaygınlığı değerlendirildiğinde, hastalar en sık hastalığın diğer bir bölgeye yayıldığı evre 2 (n=12) (%30) ve primer alana ek olarak dört veya daha fazla bölgeye yayıldığı evre 5 (n=11) (%27.5)'te idi. (Tablo 7).

Tablo 7. Kolesteatomanın yaygınlığı

	Evre				
	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4	Evre 5
Grup 1 (n=40)	4 (%10)	12 (%30)	6 (%15)	7 (%17.5)	11 (%27.5)

3.2. Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyon İnceleme Bulguları

Hastalar BMP ekspresyon varlığına göre değerlendirildiğinde primer kolesteatomalı kronik otiti olan Grup 1'de DKK cildinde 30 (%75) hastada BMPs, 19 (%47.5) hastada BMP-2, üç (%7.5) hastada BMP-4 ve 20 (%50) hastada BMP-6 ekspresyon varlığı saptandı. Kolesteatoma dokusunda ise 24 (%60) hastada BMPs, 10 (%25) hastada BMP-2, üç (%7.5) hastada BMP-4 ve 12 (%30) hastada BMP-6 ekspresyon varlığı saptandı. Kolesteatoma dokusunda pozitiflik saptanan tüm hastalar DKK cildinde pozitiflik saptanan hastalardan oluşmaktaydı. Grup 2'deki DKK cildi değerlendirildiğinde dört (%10) hastada BMPs, iki (%5) hastada BMP-2 ve iki (%5) hastada BMP-6 ekspresyon varlığı saptandı. BMP-4 için ise ekspresyon varlığı saptanmadı (Tablo 8 ve 9).

Tablo 8. Gruplara göre kolesteatoma dokusunda bone morfojenetik protein (BMP) ekspresyon oranları

Gruplar	n (%)	BMPs	BMP-2	BMP-4	BMP-6
Grup 1	40(%100)	24 (%60)	10 (%25)	3 (%7.5)	12 (%30)
Grup 2	40(%100)	-	-	-	-
		$\chi^2=34,286$ p= ,000	$\chi^2= 11,429$ p= ,001	p= ,241	p= ,005

n=hasta sayısı

Not: Tablodaki istatistiksel karşılaştırmalar her iki durumun pozitif olduğu durumların verilmesi şeklinde özetlenmiştir.

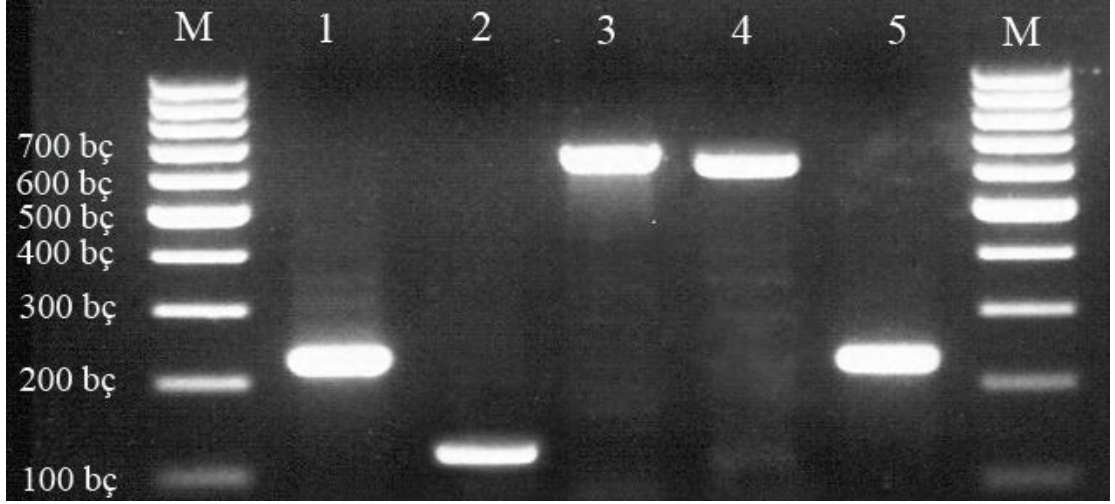
Tablo 9. Gruplara göre dış kulak kanalı (DKK) cildinde bone morfogenetik protein (BMP) ekspresyon oranları

Gruplar	n(%)	BMPs	BMP-2	BMP-4	BMP-6
Grup 1	40 (%100)	30 (%75)	19 (%47.5)	3 (%7.5)	20 (%50)
Grup 2	40 (%100)	4 (%10)	2 (%5)	0 (%0)	2 (%5)
		$\chi^2= 34,578$ p= ,000	$\chi^2= 18,660$ p= ,000	p= ,241	$\chi^2= 20,313$ p= ,000

n=hasta sayısı

Not: Tablodaki istatistiksel karşılaştırmalar her iki durumun pozitif olduğu durumların verilmesi şeklinde özetlenmiştir.

Çalışma grubunda kemik yapılarındaki yıkım tipine göre BMP ekspresyon oranları değerlendirildiğinde BMPs ve BMP-2 için en yüksek oran DKK duvarında yıkım olan hastalarda (%88 ve %44), BMP-6 için ise sigmoid sinüs duvarında yıkım olan hastalarda (%50) görüldü. Kemik yapılarındaki yıkım tipine bakılmaksızın herhangi bir yıkım mevcudiyeti göz önünde bulundurularak değerlendirildiğinde yıkım görülen hastalarda pozitiflik oranı BMPs'te en yüksek (%80), BMP-4'te en düşük (%6) oranda görüldü. BMP-2'de %33 ve BMP-6'da %40 oranında pozitiflik saptandı. Kemik yapılarında yıkım olmayan hasta gurubuna bakıldığında ise en yüksek pozitiflik BMPs'te görüldü (%72). BMP-2'de %56, BMP-4'de %4 ve BMP-6'da %56 oranında pozitiflik saptandı (Şekil 7). Kemik yapılarındaki yıkım tipine göre BMP ekspresyon oranları tablo 10 ve tablo 11'da gösterilmiştir. BMP gen ekspresyonları şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6. BMP gen ekspresyonları için PZR'ye yönelik agaroz jel elektroforez görüntüsü. M: DNA boyut markırı. Sütun1: GAPDH ait 231bç'lik PZR bandı, Sütun 2: Genel BMP'ye ait 120 bç'lik PZR bandı, Sütun 3: BMP-2'ye ait 657bç'lik PZR bandı, Sütun4: BMP-4'e ait 606 bç'lik PZR bandı, Sütun 5: BMP-6'ya ait 351 bç'lik PZR bandı. (BMP: Bone morphogenic protein, PZR: polimeraz zincir reaksiyonu, GAPDH: Gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenaz)

Çalışma grubunda kemikçiklerde yıkım tipine göre BMP ekspresyon oranları değerlendirildiğinde BMPs ve BMP-2 için en yüksek oran inkus + malleusta yıkım olan hastalarda (%100 ve %80), BMP-6 için ise inkus + malleus + stapeste yıkım olan hastalarda (%64) görüldü. Kemikçik yapılarında yıkım olmayan hasta gurubuna bakıldığında ise en yüksek pozitiflik BMPs'te görüldü (%60). BMP-2'de %40, BMP-4'de %0 ve BMP-6'da %40 oranında pozitiflik saptandı (Tablo 12 ve 13) (Şekil 8).

Tablo 10. Çalışma grubunda kemik yapılarındaki yıkım tipine göre kolesteatoma dokusunda bone morfojenetik protein (BMP) ekspresyon oranları (n=40)

Yıkım Tipi	n* (%)	BMPs	BMP-2	BMP-4	BMP-6
Sigmoid Sinüs Duvarında Yıkım	4 (%100)	2 (%50) p= 1,000	1 (%25) p= 1,000	1 (%25) p= ,277	1 (%25) p= 1,000
Tegment Kemikte Yıkım	5 (%100)	3 (%60) p= 1,000	1 (%20) p= 1,000	1 (%20) p= ,338	1 (%20) p= 1,000
Fasyal Kanalda Yıkım	9 (%100)	4 (%44) $\chi^2= 1,171$ p= ,279	1 (%11) $\chi^2= 1,195$ p= ,274	- p= 1,000	2 (%22) $\chi^2= ,036$ p= ,850
DKK Duvarında Yıkım	9 (%100)	6 (%66) $\chi^2= ,215$ p= ,643	3 (%33) $\chi^2= ,430$ p= ,512	- p= 1,000	2 (%22) $\chi^2= ,036$ p= ,850
Toplam Yıkım Görülen Hasta	15 (%100)	9 (%60) $\chi^2= ,000$ p= 1,000	4 (%26) $\chi^2= ,036$ p= ,850	1 (%6) p= 1,000	4 (%26) $\chi^2= ,667$ p= ,414
Yıkım Görülmeyen	25 (%100)	15 (%60)	6 (%24)	2 (%8)	8 (%32)

n*=belirtilen kemik yapılarda yıkım görülen hasta sayısı

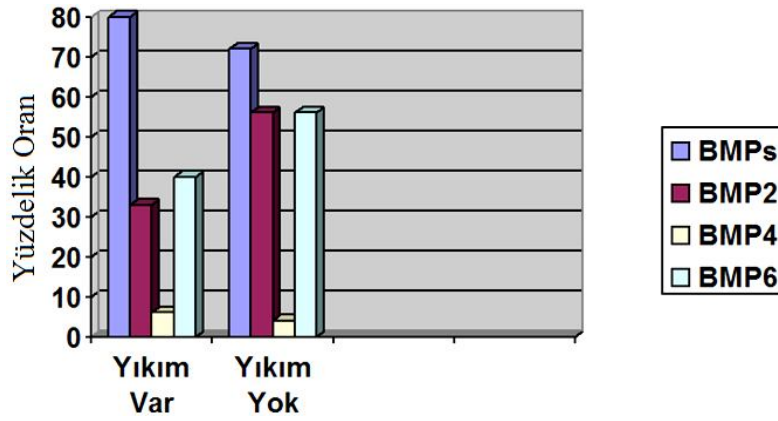
Not: Tablodaki istatistiksel karşılaştırmalar her iki durumun pozitif olduğu durumların verilmesi şeklinde özetlenmiştir.

Tablo 11. Çalışma grubunda kemik yapılarındaki yıkım tipine göre dış kulak kanalı (DKK) cildinde bone morfojenetik protein (BMP) ekspresyon oranları (n=40)

Yıkım tipi	n* (%)	BMPs	BMP-2	BMP-4	BMP-6
Sigmoid Sinüs Duvarında Yıkım	4 (%100)	2 (%50) p= 1,000	1 (%25) p= ,607	1 (%25) p= ,277	2 (%50) p= 1,000
Tegment Kemikte Yıkım	5 (%100)	4 (%80) p= 1,000	1 (%20) p= ,345	1 (%20) p= ,338	2 (%40) p= 1,000
Fasyal Kanalda Yıkım	9 (%100)	6 (%66) $\chi^2= ,430$	2 (%22) p= ,133	- p= 1,000	3 (%33) p= ,451
DKK Duvarında Yıkım	9 (%100)	8 (%88) $\chi^2= 1,195$	4 (%44) p= 1,000	- p= 1,000	4 (%44) p= 1,000
Toplamda Yıkım Görülen Hasta	15 (%100)	12 (%80) $\chi^2= ,320$	5 (%33) $\chi^2= 1,931$	1 (%6) p= 1,000	6 (%40) $\chi^2= ,960$
Yıkım Görülmeyen	25 (%100)	18 (%72)	14 (%56)	1 (%4)	14 (%56)

n*=belirtilen kemik yapılarda yıkım görülen hasta sayısı

Not: Tablodaki istatistiksel karşılaştırmalar her iki durumun pozitif olduğu durumların verilmesi şeklinde özetlenmiştir.



Şekil 7. Kemik yapılarında yıkım görülen hastalar ile yıkım görülmeyen hastalarda BMP ekspresyon oranları

Tablo 12. Çalışma grubunda kemikçiklerde yıkım tipine göre kolesteatoma dokusunda bone morfogenetik protein (BMP) ekspresyon oranları (n=40)

Kemikçiklerde Yıkım Tipi	n* (%)	BMPs	BMP-2	BMP-4	BMP-6
İnkus	7 (%100)	2 (%28)	1 (%14)	-	1 (%14)
		p= ,094	$\chi^2= ,519$ p= ,471	p= 1,000	$\chi^2= ,173$ p= ,677
İnkus+Malleus	5 (%100)	3 (%60)	2 (%40)	-	1 (%20)
		p= 1,000	p= ,584	p= 1,000	p= 1,000
İnkus+Stapes	4 (%100)	1 (%25)	1 (%25)	1 (%25)	1 (%25)
		p= ,283	p= 1,000	p= ,277	p= 1,000
İnkus+Malleus+Stapes	14 (%100)	11 (%78)	3 (%21)	1 (%7)	5 (%36)
		$\chi^2= 5,934$ p= ,015	$\chi^2= ,147$ p= ,702	p= 1,000	$\chi^2= ,440$ p= ,507
Kemikçiklerde Yıkım Yok	10 (%100)	6 (%60)	3 (%30)	1 (%10)	4 (%40)
		$\chi^2= ,000$ p= 1,000	$\chi^2= ,178$ p= ,673	p= 1,000	$\chi^2= ,833$ p= ,361

n*=belirtilen kemikçik yapılarında yıkım görülen hasta sayısı

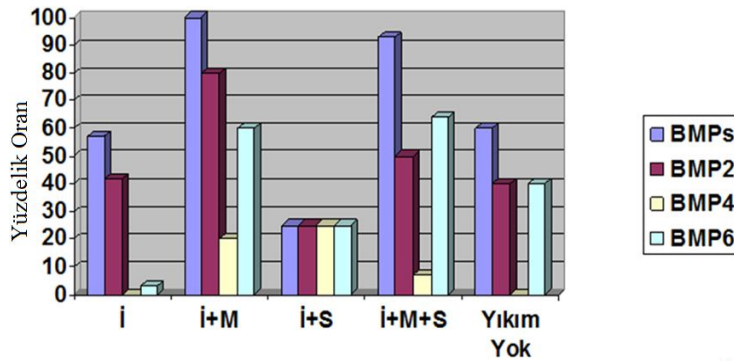
Not: Tablodaki istatistiksel karşılaştırmalar her iki durumun pozitif olduğu durumların verilmesi şeklinde özetlenmiştir.

Tablo 13. Çalışma grubunda kemikçiklerde yıkım tipine göre dış kulak kanalı (DKK) cildinde bone morfogenetik protein (BMP) ekspresyon oranları (n=40)

Kemikçiklerde	n* (%)	BMPs	BMP-2	BMP-4	BMP-6
İnkus	7 (%100)	4 (%57) $\chi^2= 1,443$ p= ,230	3 (%42) p= 1,000	- p= 1,000	3 (%42) p= 1,000
İnkus+Malleus	5 (%100)	5 (%100) p= ,306	4 (%80) p= ,172	1 (%20) p= ,338	3 (%60) p= 1,000
İnkus+Stapes	4 (%100)	1 (%25) p= ,042	1 (%25) p= ,607	- p= 1,000	1 (%25) p= ,605
İnkus+Malleus+Stapes	14 (%100)	13(%93) $\chi^2= 7,179$ p= ,007	7 (%50) $\chi^2= ,054$ p= ,816	1 (%7) p= 1,000	9 (%64) $\chi^2= 1,758$ p= ,185
Kemikçiklerde Yıkım	10 (%100)	6 (%60) $\chi^2= 1,600$ p= ,206	4 (%40) $\chi^2= ,301$ p= ,583	- p= 1,000	4 (%40) $\chi^2= ,533$ p= ,465
Yok					

n*=belirtilen kemikçik yapılarında yıkım görülen hasta sayısı

Not: Tablodaki istatistiksel karşılaştırmalar her iki durumun pozitif olduğu durumların verilmesi şeklinde özetlenmiştir.



Şekil 8. Kemikçiklerde yıkım tipine göre BMP ekspresyon oranları (İ=inkus, M=malleus, S=stapes)

Çalışma grubunda kolesteatoma yaygınlığına göre BMP ekspresyon oranları değerlendirildiğinde BMPs için en yüksek oran Evre 5'te (%90), BMP-2 için en yüksek oran Evre 3'te (%67), BMP-6 için ise Evre 4'te olan hastalarda (%71) görüldü (Tablo 14 ve 15).

Tablo 14. Çalışma grubunda kolesteatoma yaygınlığına göre kolesteatoma dokusunda bone morfojenetik protein (BMP) ekspresyon oranları (n=40)

Yaygınlık	n* (%)	BMPs	BMP-2	BMP-4	BMP-6
Evre 1	4 (%100)	1 (%25)	1 (%25)	1 (%25)	1 (%25)
Evre 2	12 (%100)	7 (%58)	5 (%42)	1 (%8)	3 (%25)
Evre 3	6 (%100)	3 (%50)	2 (%33)	-	1 (%17)
Evre 4	7 (%100)	5 (%71)	1 (%14)	-	3 (%43)
Evre 5	11 (%100)	8 (%73)	3 (%27)	1 (%9)	4 (%36)
		Z= ,516	Z= ,274	Z= ,495	Z= ,316
		p= ,952	p= 1,000	p= ,967	p= 1,000

n*=belirtilen evredeki hasta sayısı

Not: Tablodaki istatistiksel karşılaştırmalar her iki durumun pozitif olduğu durumların verilmesi şeklinde özetlenmiştir.

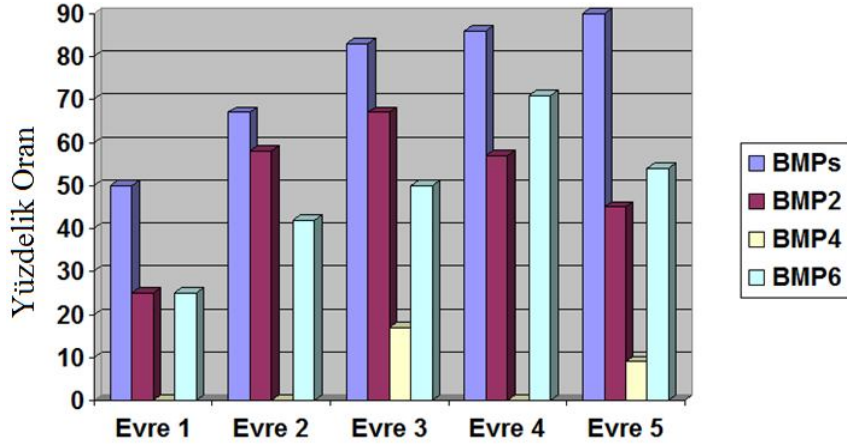
Tablo 15. Çalışma grubunda kolesteatoma yaygınlığına göre dış kulak kanalı (DKK) cildinde bone morfojenetik protein (BMP) ekspresyon oranları (n=40)

Yaygınlık	n* (%)	BMPs	BMP-2	BMP-4	BMP-6
Evre 1	4 (%100)	2 (%50)	1 (%25)	-	1 (%25)
Evre 2	12 (%100)	8 (%67)	7 (%58)	-	5 (%42)
Evre 3	6 (%100)	5 (%83)	4 (%67)	1 (%17)	3 (%50)
Evre 4	7 (%100)	6 (%86)	4 (%57)	-	5 (%71)
Evre 5	11 (%100)	10 (%90)	5 (%45)	1 (%9)	6 (%54)
		Z= ,730	Z= ,507	Z= ,495	Z= ,632
		p= ,660	p= ,960	p= ,967	p= ,819

n*=belirtilen evredeki hasta sayısı

Not: Tablodaki istatistiksel karşılaştırmalar her iki durumun pozitif olduğu durumların verilmesi şeklinde özetlenmiştir.

Kolesteatoma yaygınlığına göre yapılan evrelemeye göre BMP ekspresyon oranları değerlendirildiğinde bütün evrelerde BMPs ekspresyon oranının yüksek olduğu görüldü ve sırasıyla Evre 1’de %50, Evre 2’de %67, Evre 3’te %83, Evre 4’de %86 ve Evre 5’te %90 oranında pozitiflik saptandı (Şekil 9).



Şekil 9. Kolesteatoma yaygınlığına göre BMP ekspresyon oranları

Hastalar BMP ekspresyon varlığına göre değerlendirildiğinde Grup 1’de DKK cildinde 30 (%75) hastada BMPs, 19 (%47.5) hastada BMP-2, üç (%7.5) hastada BMP-4 ve 20 (%50) hastada BMP-6 ekspresyon varlığı saptandı. Kolesteatoma dokusunda ise 24 (%60) hastada BMPs, 10 (%25) hastada BMP-2, üç (%7.5) hastada BMP-4 ve 12 (%30) hastada BMP-6 ekspresyon varlığı saptandı. Çalışma grubunda kemik yapılarındaki yıkım mevcudiyeti göz önünde bulundurularak değerlendirildiğinde yıkım görülen hastalarda pozitiflik oranı BMPs’te en yüksek (%80), BMP-4’te en düşük (%6) oranda görüldü. Kemikçiklerde yıkım tipine göre BMP ekspresyon oranları değerlendirildiğinde BMPs ve BMP-2 için en yüksek oran inkus + malleusta yıkım olan hastalarda (%100 ve %80), BMP-6 için ise inkus + malleus + stapeste yıkım olan hastalarda (%64) görüldü. Çalışma grubunda kolesteatoma yaygınlığına göre BMP ekspresyon oranları değerlendirildiğinde BMPs için en yüksek oran Evre 5’te (%90), BMP-2 için en yüksek oran Evre 3’te (%67), BMP-6 için ise Evre 4’te olan hastalarda (%71) görüldü.

4. TARTIŞMA

Normal epitel ile karşılaştırıldığı zaman kolesteatoma dokusunun artmış proliferasyon varlığı yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Artmış proliferasyonun ise çeşitli faktörlere bağlı olduğu gösterilmiştir. Büyüme faktörleri, mitotik ve inflamatuvar faktörlerin ve sitokinlerdeki artışın, kolesteatomadaki hiperproliferasyonun nedeni olabileceği ifade edilmiştir. Kolesteatoma keratinositlerinin, hiperproliferatif karakteri ve farklılaşmasındaki değişiklikler araştırmalar sonucunda gösterilmiştir (93-95).

Yapılan araştırmalarda lokal infiltrasyon, kemik destrüksiyonu ve inflamatuvar parametreler gibi çeşitli faktörler çalışılmıştır. Lokal infiltrasyon, ve kemik destrüksiyonu için telomeraz ve e-kadherin, inflamatuvar parametreler için interlökinler, epidermal groft faktör (EGF) ve TGF- β gibi büyüme faktörleri, mitotik faktörler (Ki-67, PCNA, P27, P21, P53, aktif caspase 3, kollejen 4) ve epitelyal markerler (filaggrin, sirokeratin, BerEp4, EMA) araştırılmıştır (5, 96-98). Ayrıca sarkolektin, İCAM-1 kalsisiklin (23), fosfolipaz C γ 1, ısı şok proteinleri, fas/APO1 protein (24) gibi moleküler düzeyde oluşan değişimler ve bunların etkileri de araştırılmıştır.

Kolesteatomanın lokal infiltrasyon ve kemik destrüksiyonu gibi karakteristik özellikleri vardır. Kuczkowski ve ark. (99) kolesteatomada telomeraz ile artmış proliferasyon indeksi arasında ilişki olduğunu saptayarak proliferatif kapasitenin artmasıyla tahribatın artabileceği fikrini ileri sürmüşlerdir. Lee ve ark. (100) kolesteatomada Telomeraz aktivitesi ve hücre proliferasyon indeksi ile klinik olarak işitme kaybı, kolesteatoma yaygınlığı ve kemik destrüksiyon derecesini karşılaştırmışlar fakat anlamlı bir farklılık bulamamışlardır.

E kadherin; embriyonun preimplantasyonu döneminde morula ve blastosist, hücre-hücre bağlanma bölgelerinde yoğun olarak izlenir. Epitel bütünlüğünü sağlayan interselüler bir yapıştırıcı olarak işlev görür. Zonula adherenslerde yoğun olarak bulunur ve kateninlerin bağlandığı sitoplazmik bölgeleriyle aktin filamentlerine yapışmayı sağlarlar (101). E kadherin eksikliğinde, tümör hücrelerinin invazif olarak yayılma eğiliminde oldukları ileri sürülmektedir. Böylece, E kadherinin metastazı baskılayıcı bir görev yaptığı düşünülmektedir (102). β -catenin

Cadherin-catenin kompleksinin önemli bir bağlayıcı faktörü olarak tanımlanmaktadır (103). β -catenin epitelyal dokunun devamlılığı ve onarımında kritik rol oynayan hücre-hücre adezyon kompleksinin önemli bir parçasıdır (104). Naim ve ark. (105) β -catenin kolesteatoma epitelindeki rolünü bulmak ve kolesteatoma dokusundaki invaziv büyüme sağlayan hücre-hücre adezyonundaki muhtemel kaybın immünohistokimyasal dağılımını göstermek amacıyla kolesteatoma dokusunda e-kadherini tespit etmişler fakat dış kulak yolu cildi ile aralarında istatistiksel bir fark bulamamışlardır.

Hans ve ark. (106) çocuk yaş gurubundaki kolesteatomların erişkin yaş gurubundaki kolesteatomlara kıyasla neden daha agresif seyrettiğini saptamak için iki grup arasındaki e-kadherin seviyelerini karşılaştıran bir çalışma yapmışlardır. Çocuk yaş gurubu ile erişkin yaş gurubu arasında proliferasyonda farklılık görülürken hücre yüzey belirleyicilerinde bir farklılık görülmemiştir.

Kolesteatomada epitelinde DKK cildine nazaran yüksek EGFR ve TGF- α ekspresyonu gösterilmiştir. Kolesteatomada keratinositlerin %75'i EGFR eksprese ederken normal DKK'da bu oran sadece % 10'dur (107). Yetişer ve ark. (108), kolesteatoma epitelinin yüksek oranda EGF içerdiğini ve normal deriye göre daha invazif özellik gösterdiğini saptamışlardır. Bu bulgular, aşırı EGFR ve TGF- α sentezinin, kolesteatomada hiperproliferasyon için rol oynadığını düşündürmektedir.

Monoklonal antikor olan Ki-67, proliferen olan hücrelerde görülen bir nükleer proteindir (109). Bu antikor, normal ve neoplastik hücre popülasyonlarının büyüme oranlarının hızlı ve kolay yolla değerlendirilmesini sağlar (110). Sudhoff ve ark. (93), yaptıkları çalışmada Ki-67'nin normal DKK cildinde %7, kolesteatomada ise %17 oranında eksprese edildiğini bildirmişlerdir. Kolesteatoma keratinositlerinde proliferasyon oranının normal DKK ile karşılaştırıldığında önemli derecede yüksek olduğu saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda da kolesteatoma stroması ve suprabazal tabakasında yüksek oranda Ki-67 bulunmuştur (111). Ayrıca Ki-67 ekspresyonunun çocuk kolesteatomalarında daha fazla olduğu ve çocuklarda kolesteatomanın daha agresif seyretmesinde rol aldığı da bildirilmiştir (112).

Yine çeşitli yayınlarda apoptotik etkenler çalışılmış ve kolesteatomayla ilişkisi araştırılmıştır.

ErbB gen ailesi üyelerinin aktivasyonu hücrel proliferasyona yol açar. Bunun yanında belirli durumlarda, bir ErbB reseptörünün aktivasyonu hücre diferansiasyonu, hücre siklusunun durması ve hatta apoptozu uyarabilir (113). Sakamoto ve ark. (114), C-erbB-2'nin artmış ekspresyonu ile artan apoptozun keratin debrislerinin birikimine neden olarak kolesteatomanın patogeneğinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir.

Solid ve hematolojik malignansilerde eksprese edilen survivin, apoptoz inhibitörüdür (115). Ayrıca çoğalan hücrelerde yüksek oranda eksprese edilmektedir (116). Park ve ark. (117), yaptıkları çalışmada kolesteatomada survivinin belirgin şekilde artmış olduğunu, dolayısıyla kolesteatomada apoptozun baskılanmış olduğunu saptamıştır.

Nükleer fosfoprotein p53 tümör supressör geni hücre siklusunda ve apoptozda rol almaktadır (118-122). Albino ve ark. (123), tüm kolesteatoma formlarında p53 gen ekspresyonunu incelemiş ve kolesteatomada normal postaurikuler cilt yada kulak zarına göre 9-20 kat daha fazla eksprese edildiğini bildirmiş ve normal ciltle kıyaslandığında kolesteatoma epitelinde apoptotik hücre oranları daha yüksek olarak saptamıştır.

Bcl-xL, bcl-2 ile ilişkili bir genidir ve bcl-2 proteini gibi DNA hasarında tümör hücrelerinin apoptozunu inhibe eder (124, 125). Kojima ve ark. (126), kolesteatoma epitelinde diferansiasyon ve apoptozda bcl-xL proteinin rolünü araştırdılar ve çalışmalarının sonunda apoptotik hücrelerin ortak şekilde süperfisyal epidermal tabakalarda olduğunu fakat bazal hücrelerde olmadığını ve ayrıca kolesteatoma epiteli ile normal DKK cildi arasında fark olmadığını gördüler.

Kronik otitis medialı hastalarda proinflamatuvar ve immun sitokinlerin kemik destrüksiyonu üzerine etkisi yapılan çalışmalarla değerlendirmiştir. Kuczkowski ve ark. (127) yaptıkları çalışmada KOM'lu hastalarda bu sitokin düzeyleri ile kemik yıkım derecesi arasında güçlü bir pozitif korelasyon tespit etmişlerdir. tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), interlökin-1 alfa (IL-1 α) ve IL-6 artışı ile kolesteatoma veya granülasyon dokusunda yıkıcı davranış gösterdiklerini saptamışlardır.

Yetiser ve ark. (108) yaptıkları bir çalışmada kolesteatoma olan ve kolesteatoma olmayan KOM'lu hastalarda IL-1 α , TNF- α ve EGF düzeylerini karşılaştırmışlardır. Kolesteatoma olan grubun doku örneklerinde IL-1 α , TNF- α ve

EGF düzeylerinin kolesteatoma olmayan guruba ve kontrol grubuna göre daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir ve kolesteatomanın daha yıkıcı davranışına sitokinlerin ve EGF'ün aracılık ettiği sonucuna varmışlardır.

Hastaların yaşından, hastaların cinsiyetinden ve hastalığın süresinden bağımsız olarak kolesteatoma bazı hastalarda daha agresif seyretmektedir. Literatürde kolesteatomanın destriktif etkisini artıran etmenler incelenmiş ve özellikle TNF- α , İL-1 α ve EGF'ün bunda rol aldığı belirtilmiştir (108, 127). Çalışmamızda TGF- β subtipi olan BMP'lerin bu olaydaki rolü araştırılmıştır.

Literatürü taradığımızda kolesteatomalı hastalarda BMP'ler ile ilgi sadece bir çalışmaya rastladık. Bu çalışmada, Marianne ve ark (8), BMP-2 nin kolesteatoma patolojisindeki rolünü saptamak için dış kulak kanalı ve kolesteatoma dokularının epitelyal ve stromal hücrelerinde BMP-2 salınımını araştırmışlar, DKK cildi ve kolesteatoma dokusunun fibroblastlarından ve keratinositlerinden BMP-2 salınımını göstermişlerdir. Çalışmalarında BMP-2'nin artışında ana sorumlu etkenin keratinin kendisi olmakla birlikte debris artıklarının da rol oynayabileceği fikrine varmışlardır. Elde ettikleri bulgular ile orta kulakta kolesteatoma gelişiminde BMP-2'nin İL-1 α ve potansiyel olarak PGE2 ile beraber osteoklast formasyonunda etkiye yol açarak etki ettiğini söylemişlerdir. İL-1 α 'nın tek başına osteoklast formasyonuna ve kemik rezorpsiyonuna neden olabileceği, osteoblastlar tarafından yapılan kemik rejenerasyonu ve osteoklastlar tarafından yapılan kemik yıkımı keskin bir dengede tutulacağı bilisinden yola çıkarak inflamatuvar süreçlerde bu dengenin yıkım tarafına kaydığını ve İL-1 α 'nın varlığında BMP-2'nin yıkımda etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmada Marianne ve ark. kolesteatomalı hastalarda yalnızca BMP-2'yi değerlendirmişlerdir fakat diğer BMP'lerin kolesteatomadaki rolünü değerlendirmemişlerdir. Ayrıca yaptıkları çalışmada tüm kolesteatomalı hastalar tek bir grupta değerlendirilmiş, hastalar kolesteatomanın yayılım derecesine, kemik ve kemikçik yapılarıdaki yıkım derecesine göre değerlendirilmemiştir. Bizim çalışmamızda tüm edinilmiş kolesteatomalı hastalar kolesteatomanın yayılım derecesine, kemik ve kemikçik yapılarıdaki yıkım derecesine göre gruplandırılarak değerlendirilmiştir. Yayılım derecesi ve kemik ve kemikçik yapılarıdaki yıkım derecesi fazla olan hastalar ile az olan veya yıkım olmayan hastalar karşılaştırılmıştır. Böylece BMP

ekspresyonunun kolesteatoma agresifliği üzerine etkileri objektif bulgular ışığında değerlendirilmeye çalışılmıştır.

Çalışmamızda elde edilen bulguların istatistiksel yorumu yapıldığında; Çalışma ve kontrol gruplarının DKK cildinde BMP ekspresyonu varlığı ile karşılaşılma oranlarına bakıldığında BMPs, BMP-2 ve BMP-6'da çalışma grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ya da farklılık tespit edilirken ($p<0.05$), BMP-4'de ise anlamlı bir ilişki ya da farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Çalışma ve kontrol gruplarının kolesteatoma dokusunda BMP ekspresyonu varlığı ile karşılaşılma oranlarına bakıldığında BMPs, BMP-2 ve BMP-6'da çalışma grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğu tespit edilirken ($p<0.05$), BMP-4'de ise anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Çalışma grubunda, kolesteatoma dokusunda ve DKK cildinde BMPs, BMP-2, BMP-4 ve BMP-6 ekspresyonu varlığına göre kemik yapılarıdaki yıkım değerlendirildiğinde, sigmoid sinüs duvarında yıkım, fasyal kanalda yıkım, DKK duvarında yıkım, tegment kemikte yıkım ve kemik yapılarda yıkım görülmeyen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ya da farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Çalışma grubunda, kolesteatoma dokusunda ve DKK cildinde BMPs, BMP-2, BMP-4 ve BMP-6 ekspresyonu varlığına göre kemikçik yapılarındaki yıkım değerlendirildiğinde, inkus, inkus+malleus, inkus+stapes ve kemikçik yapılarda yıkım görülmeyen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ya da farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$). İnkus+malleus+stapeste yıkım olan grupta kolesteatoma dokusunda ve DKK cildinde BMPs ekspresyonu varlığına göre istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ya da farklılık tespit edilmiş olup ($p<0.05$) BMP-2, BMP-4 ve BMP-6 ekspresyonu varlığına göre ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ya da farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Çalışma grubunda, kolesteatoma dokusunda ve DKK cildinde BMPs, BMP-2, BMP-4 ve BMP-6 ekspresyonu varlığına göre kolesteatoma yaygınlığı değerlendirildiğinde, Evre 1, Evre 2, Evre 3, Evre 4 ve Evre 5 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ya da farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Kolesteatoması olan kronik otitlerde BMPs, BMP-2 ve BMP-6 ekspresyonuna rastlanmıştır. BMP-4 ekspresyonunun ise anlamlı olmadığı

görülmüştür. Bulgular göstermektedirki BMPs, BMP-2 ve BMP-6 ekspresyonu seviyesinin kolesteatomanın etyopatogenezinde rol oynayan faktörlerden biri olabileceğini düşündürmektedir. Bu hastalarda ekspresyonunun hem DKK cildinde hemde kolesteatoma dokusunda istatistiksel olarak anlamlı olarak çıkması yassı epitel invaginasyonunu kolaylaştırdığını göstermektedir. Ayrıca inkus + malleus ve inkus + malleus + stapes kemikçik yıkım gruplarında yüksek oranda BMPs ekspresyonunda pozitiflik saptanmıştır. Kemikçik yapılarıdaki yıkım ile BMPs ekspresyonu arasında pozitif korelasyon olabilir. Bu durumun istatistiksel yorumunun daha net yapılabilmesi için daha geniş vaka serilerine ihtiyaç vardır. Toplam kemikçik yapılarıdaki yıkım olan hastalar ile yıkım olmayan hastalar ekspresyon oranı açısından karşılaştırıldığında kolesteatomanın bazı hastalarda neden daha agresif seyrettiği, daha fazla komplikasyon meydana getirdiği, neden daha fazla yaygın olduğu ve neden rekürenslerin daha fazla görüldüğü gibi sorulara net cevap verememektedir. Bu soruların cevaplarının net olarak ortaya konabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Harkness P, Topham J. Classification of otitis media. *Laryngoscope* 1998; 108: 1539-1543.
2. Canter R. Acute suppurative otitis media. Booth JB (editor). *Otology*, in Kerr AG ed Scott Brown's *Otolaryngology*, ed. 6. Oxford. Butterworth-Heinemann, 1997: 1-15.
3. Albers FW. Complications of otitis media. The importance of early recognition. *Am J Otol* 1999; 20: 9-12.
4. Ars B, Creamer W. Tympanic membrane lamina propria and middle ear cholesteatoma. In Tos M. ed. *Cholesteatoma and mastoid surgery*. Amsterdam. Kugler and Ghedini Pub. 1989; 19-31.
5. 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.
6. Paparella MM, Shumrick KA, Gluckman JL, Meyerhoff WL. *Otolaryngology*, Philadelphia: WB Saunders Co. 1991: 2629-2637
7. Bauer H. The type I serine/threonine kinase receptor Alk8/Lost-a-fin is required for BMP-2b/7 signal transduction during dorsoventral patterning of the zebrafish embryo. *Development* 2001; 128: 849-858
8. Marianne S, Gabriele S, Petra G, and Florian H. Expression of bone morphogenetic protein-2 messenger ribonucleic acid in cholesteatoma fibroblasts. *Otol Neurotol* 2002; 23: 267-270
9. 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.

10. Pearson AA. Development of anatomy of the ear. In: English GM, editor. Otolaryngology. Philadelphia: Harper and Row Publishers; 1984. 1-68
11. Gulya AJ. Anatomy of the temporal bone.. Shambaugh GE Jr, Glasscock ME III, editors. Surgery of the ear. Ed 5 Philadelphia. WB Saunders; 2003; 35-49
12. Jackler RK. The surgical anatomy of cholesteatoma. Otolaryngol Clin North Am, 1989; 22: 883-896
13. Duckart LG. Anatomy of the skull base, temporal bone, external ear and middle ear. In. Cummings CW, Fredrickson JM, Krause CJ, Richardson MA, Harker LA, Schüller DE eds. Otolaryngology Head and Neck Surgery. St. Louis. Mosby-Year Book, 1998: 2533- 2546.
14. Abbas PJ. Physiology of the Auditory System. In. Cumming CW, Fredrickson JM, Harker LA, Krause CJ, Schuller DE Editors. Otolaryngology-Head Neck Surgery. St. Louis. Mosby Publication, 1993: 2566-2603.
15. Akyıldız AN. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi I. Ankara Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 2002: 77-99
16. Akyıldız AN. İsitme ve denge fizyolojisi. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi. Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara. 1998; 75-129.
17. Austin D. Anatomy of the ear. In. Ballenger JJ. Ed. Disease of the Nose, Throat, Ear, Head Neck. Philadelphia, Lea-Febiger, 1991; 922-947.
18. Donaldson JA, Duckert LG. Anatomy of the ear. In. Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WZ, eds. Otolaryngology. Philadelphia. Saunders, 1991: 23-58.
19. Moller AR. Auditory neurophysiology. J Clin Nuerophysiol 1994; 11: 284-305.
20. Gelfand SA. Hearing: An introduction to psychological and physiological acoustics. New York. Marcel Dekker, 1981: 1-38.

21. Santi PA, Mancini P. Cochlear anatomy and central auditory pathways. In. Cummings SW, Frederickson JM, Harker LA, Krause CJ, Schuller DE, eds. *Otolaryngology Head Neck Surgery*. St. Louis. Mosby Year Book, 1993: 2885-2900.
22. Lawrence M. Inner ear physiology. In. Paparella MM, Shumrick DA, eds. *Otolaryngology*, Philadelphia. Saunders, 1980: 216-240.
23. Jahn AF. Cholesteatoma: what is it, how did it get there, and how do we get rid of it? *Otolaryngol Clin North Am* 1989; 22: 847-857.
24. Olszewska E, Wagner M, Bernal-Sprekelsen M, Ebmeyer J, Dazert S, Hildmann H, Sudhoff H. Etiopathogenesis of cholesteatoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2004; 261: 6-24.
25. Ferlito A, Devaney KO, Rinaldo A, Milroy CM, Wenig BM, Iurato S, et al. Clinicopathological consultation. Ear cholesteatoma versus cholesterol granuloma. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1997; 106: 79-85.
26. Magnan J. Natural History of Cholesteatoma. European Academy of Otology and Neuro-Otology Resource Center 2004. (http://www.eaono.org/pop_up/texte_scientifique.php?article=13)
27. Özbilen S, Uslu SS. Kolesteatomlu Otitis Media. *Türkiye Klinikleri KBB Dergisi* 2001; 1: 86-98.
28. Kazahaya K, Potsic WP. Congenital cholesteatoma. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 12: 398-403.
29. Derlacki EL, Clemis JD. Congenital cholesteatoma of the middle ear and mastoid. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1965; 74: 706-727.
30. Levenson MJ, Michaels L, Parisier SC. Congenital cholesteatomas of the middle ear in children: origin and management. *Otolaryngol Clin North Am* 1989; 22: 941-954.

31. Albino AP, Kimmelman CP, Parisier SC. Cholesteatoma: a molecular and cellular puzzle. *Am J Otol* 1998; 19: 7-19.
32. Bernal Sprekelsen M, Ebmeyer J, Buchbinder A, Sudhoff H. Comparative analysis of the proliferative capacity of cholesteatomas. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2000; 51: 299-307.
33. Özbilen S. Kronik Süpuratif Otitis Media. In: Çelik O, editors. *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi*: Turgut Yayıncılık; 2002; 161-93
34. Sculeati N, Bluestone CD. Pathogenesis of cholesteatoma. *Otolaryngol Clin North America* 1989; 22: 859-868.
35. Michaels L. Biology of cholesteatoma. *Otolaryngol Clin North America* 1989; 22: 869-881
36. Pfaltz CR, Retraction pocket and decolopment of cholesteatoma in children. *Adv Otorhinolaryngol* 1988; 40: 118-123
37. Sculerati N, Bluestone CD. Pathogenesis of cholesteatoma. *Otolaryngol Clin North Am* 1989; 22: 859-868
38. Johnson AP, The mechanism of migration in eksternal ear canal. *Cholesteatoma and mastoid surgery*. Kugler and Ghedin Pub. Amsterdam 1988; 271-73
39. Chole RA, Choo MJ. Chronic otitis media, mastoiditis, and petrositis. In: Cummings CW, Frederickson JM, Harker LA, Krause AJ, Richardson MA, Schuller DA, ed. 3 *Otoalryngology Head Neak Surgery*. St Louis: Mosby Year Book, 1998: 3026-3046
40. Friedberg J. Congenital cholesteatoma. *Laryngoscope* 1994; 104: 1-24
41. Goodman L S, Rill T W, Murad F. *The pharmalogical basis of therapeutics*. 7. edition. Steawart C. Horway *Antiseptics and Disinfectants, Fungicides*.

Ectoparasiticides. Chapter 41, Macmillan Publishing Company. New York. 1996; 961-962.

42. Bernstein V. Middle ear mucosa histological, histochemical immunochemical and immunologic aspects In: John AF, Sontos-Sacchi J, eds. Physiology of the ear. New York, Raven Press. 1988; 59-80.
43. John AF, Farkeshidy N. New perspectives of pathology of chronic otitis media. *Can J Otolaryngol* 1980; 9: 131-142.
44. Gehonna P, French study group. Multicenter study of the efficacy and safety of oral ciprofloxacin in the treatment of CSOM in adults. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 117: 83-90.
45. Dincer AD, Tekeli A, Ozturk S, Turgut S. Microorganisms isolated from chronic suppurative otitis media and their antimicrobial sensitivities. *Mikrobiyolojik Bulgular* 1992; 26: 131-138.
46. Attallah MS. Microbiology of chronic suppurative otitis media with cholesteatoma. *Saudi Med J* 2000; 21: 924- 927.
47. Erkan M, Asian T, Sevuk E, Guney E. Bacteriology of chronic suppurative otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1994; 103: 771-774.
48. Espesito S, Noviello S, D'errico G, Mantonora C. Topical ciprofloxacin vs. intramuscular gentamycin for chronic otitis media. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1992; 118: 842-844.
49. Bluestone CD. Management on therapy of otitis media. In: Atberti PW, Ruben RJ, eds. *Otology Medicine and Surgery*. New York. Churchill Livingstone, 1988; 173-201.
50. Anthony F. Chronic otitis media; Diagnosis and treatment. *Med Clin North Am* 75: 1277-1291.

51. Hawke M, Jahn AF. Diseases of the Ear. M. Hawke and A.F. Jahn, Editors. Clinical and Pathologic Aspects. Philadelphia. Gower, New York, NY 1987; 421–428.
52. Jahn AF, Abramson M. Medical management of chronic otitis media. *Otolaryngol Clin North America* 1984; 17: 673-677.
53. Liu DCP, Bergeron RT. Contemporary radiological imaging in the evolution of middle ear attic- antral complex cholesteatomas. *Otolaryngol North Am* 1989; 22: 897-909.
54. John A, Simpson D. Medical treatment of chronic otitis media; steroid or antibiotic with steroid ear drops. *Clin Otolaryngol* 1991; 16: 142-144.
55. Choufani G, Ghanooni R, Decaestecker C, Delbrouck K, Simon P, Schuring MP, et al. Detection of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in human cholesteatomas and functional implications of correlations to recurrence status and to expression of matrix metalloproteinases-3/9, retinoic acid receptor-beta, and anti-apoptotic galectin-3. *Laryngoscope* 2001; 111: 1656-1662.
56. Linstrom CJ, Silverman CA, Rosen A, Meiteles LZ. Eustachian tube endoscopy in patients with chronic ear disease. *Laryngoscope* 2000; 110: 1884-1889.
57. Kangsanarak J, Fooanant S, Ruckphaopunt K. Extracranial and Intracranial complications of suppurative otitis media. Report of 102 cases. *J Laryngol Otol* 1993; 107: 999-1004.
58. Dew LA, Shelton C. Complications of temporal bone infection. In: Cummings CW, Fredericson JM, Harker LA et al, eds. *Otolaryngol Head and Neck Surgery*, ed. 3 St Louis: Mosby Year Book 1998: 3047-3073.
59. Gersdorff MCH, Nouwen J, Decat M, Degols JC, Bosch P. Labyrinthine fistula after cholesteatomatous chronic otitis media [Middle Ear and Mastoid Disease] *Laryngoscope* 2000; 21: 32-35

60. Jang CH, Merchant SN. Histopathology of labyrinthine fistulae in chronic otitis media with clinical implications. *Am J Otolaryngology* 1997; 18: 15-25.
61. Papp Z, Rezes S, Jokay I, Sziklai I. Sensorineural hearing loss in chronic otitis media. *Otol Neurotol* 2003; 24: 141-144.
62. Tanja R, Simone B, Anja-Katrin B. Bone morphogenetic proteins induce expression of metalloproteinases in melanoma cells and fibroblasts. *Eur J Cancer* 2008; 44: 2526–2534.
63. Kübler NR. Osteoinduktion undreparation. *Mund Kiefer Gesichtschirurgie*, 1997; 1: 2-25.
64. Dale L, Jones CM. BMP signalling in early *Xenopus* development. *Bioessays* 1999; 21: 751–760.
65. Mehler MF, Mabie PC, Zhang D, Kessler JA. Bone morphogenetic proteins in the nervous system. *Trends Neurosci* 1997; 20: 309–317.
66. Reddi AH. Bone morphogenetic proteins: an conventional approach to isolation of first mammalian morphogens. *Cytokine Growth Factor Rev* 1997; 8: 11–20.
67. Lind M. Growth factor stimulation of bone healing. Effects on osteoblasts, osteotomies, and implant fixation. *Acta Orthop Scand Suppl* 1998; 283: 2-37.
68. Chen D, Zhao M, Mundy GR. Bone Morphogenetic Proteins. *Growth Factors* 2004; 22: 233–241
69. Miyazono K. Positive and negative regulation of TGF- β signalling. *J Cell Sci* 2000; 113: 1101–1109.
70. Li G, Bouxsein ML, Luppen C, Li XJ, Wood M, Seeherman HJ et al. Bone consolidation is enhanced by rhBMP-2 in a rabbit model of distraction osteogenesis. *J Orthop Res* 2002 20: 779-788.

71. Ripamonti U, Duneas N. Tissue morphogenesis and regeneration by bone morphogenetic proteins. *Plast Reconstr Surg* 1998; 101: 227-239
72. Suzuki T, Bessho K, Segami N, Lizuka T, Nojima T. Immunohistochemical localization of bone morphogenetic protein-2 in the oral and maxillofacial area of the human embryo. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2001; 39: 289-293
73. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitsock LM, Whitters MJ, Kriz RW, et al. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science* 1988; 242: 1528-1534.
74. Gronoveld EH, Burger EH. Bone morphogenetic proteins in human bone regeneration. *Eur J Endocrinol* 2000; 142: 9-21
75. Yamamoto M, Jabata Y, Ikada Y. Ectopic bone formation induced by biodegradable hydrogels incorporating bone morphogenetic protein. *J. Biomater Sci Polymer Edn* 1998; 9: 439-458
76. Yokota S, Sonohra S, Yoshida M, Morai M, Shimokawa S, Fujimoto R et al. New recombinant human bone morphogenetic protein -2 carrier for bone regeneration. *Int. J.Pharm* 2001; 69-79
77. Omura S, Mizuki N, Kawabe R, Ota S, Kobayashi S, Fujita KA. Carrier for clinical use of fibrillar and denatured atelocollagen sponge. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1998; 27: 129-134
78. Massague J. TGF-beta signal transduction. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 753-791.
79. Shi Y, Massague J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell* 2003; 113: 685-700.
80. Liu F. Smad3 phosphorylation by cyclin-dependent kinases. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006; 17: 9-17.

81. Mathews LS, Vale WW. Expression cloning of an activin receptor, a predicted transmembrane serine kinase. *Cell* 1991; 65: 973-982.
82. Wrana JL, Attisano L, Wieser R, Ventura F, Massague J. Mechanism of activation of the TGF-beta receptor. *Nature* 1994; 370: 341-347.
83. Kretzschmar M, Liu F, Hata A, Doody J, Massague J. The TGF-beta family mediator Smad1 is phosphorylated directly and activated functionally by the BMP receptor kinase. *Genes Dev* 1997; 11: 984-995.
84. Souchelnytskyi S, ten Dijke P, Miyazono K, Heldin CH. Phosphorylation of Ser165 in TGF-beta type I receptor modulates TGF-beta1-induced cellular responses. *EMBO J* 1996; 15: 6231-6240.
85. Bassing CH, Yingling JM, Howe DJ, Wang T, He WW, Gustafson ML, et al. A transforming growth factor beta type I receptor that signals to activate gene expression. *Science* 1994; 263: 87-89.
86. Nishitoh H, Ichijo H, Kimura M, Matsumoto T, Makishima F, Yamaguchi A, et al. Identification of type I and type II serine/threonine kinase receptors for growth/differentiation factor-5. *J Biol Chem* 1996; 271: 21345-21352.
87. Heldin CH, Miyazono K, Dijke P. TGF-beta signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature* 1997; 390: 465-471.
88. Liu F, Ventura F, Doody J, Massague J. Human type II receptor for bone morphogenic proteins (BMPs): extension of the two-kinase receptor model to the BMPs. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 3479-3486.
89. Yamashita H, Dijke P, Franzen P, Miyazono K, Heldin CH. Formation of hetero oligomeric complexes of type I and type II receptors for transforming growth factor-beta. *J Biol Chem* 1994; 269: 20172-20178.
90. Luo K, Lodish HF. Signaling by chimeric erythropoietin- TGF-beta receptors: homodimerization of the cytoplasmic domain of the type I TGF-beta receptor

and heterodimerization with the type II receptor are both required for intracellular signal transduction. *EMBO J* 1996; 15: 4485-4496.

91. Luo K, Lodish HF. Positive and negative regulation of type II TGF-beta receptor signal transduction by autophosphorylation on multiple serine residues. *EMBO J* 1997; 16: 1970-1981.
92. Saleh HA, Mills RP. Classification and staging of cholesteatoma. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 1999; 24: 355-359.
93. Sudhoff H, Bujia J, Fisseler-Eckhoff A, Holly A, Schulz-Flake C, Hildmann H. Expression of a cell-cycle-associated nuclear antigen (MIB 1) in cholesteatoma and auditory meatal skin. *Laryngoscope* 1995; 105: 1227-1231.
94. Stammberger M, Bujia J, Kastenbauer E. Alteration of epidermal differentiation in middle ear cholesteatoma. *Am J Otolaryngol* 1995; 16: 527-531.
95. Tanaka Y, Shiwa M, Kojima H, Miyazaki H, Kamide Y, Moriyama H. A study on epidermal proliferation ability in cholesteatoma. *Laryngoscope* 1998; 108: 537-542.
96. Lavezzi A, Mantovani M, Cazzulo A, Turconi P, Matturri L. Significance of trisomy 7 related to PCNA index in cholesteatoma. *Am J Otolaryngol* 1998; 19: 109-112.
97. Bayazit YA, Karakok M, Ucak R, Kanlikama M. Cycline-dependent kinase inhibitor, p27 (KIP1), is associated with cholesteatoma. *Laryngoscope* 2001; 111: 1037-1041.
98. Ergun S, Zheng X, Carlsoo B. Antigen expression of epithelial markers, collagen IV and Ki67 in middle ear cholesteatoma. An immunohistochemical Study. *Acta Otolaryngol* 1994; 114: 295-302.
99. Kuczkowski J, Pawelczyk T, Bakowska A, Narozny W, Mikaszewski B. Expression patterns of Ki-67 and telomerase activity in middle ear cholesteatoma. *Otol Neurotol* 2007; 28: 204-207.

100. Lee SH, Jang YH, Tae K, Park YW, Kang MJ, Kim KR, Park CW. *Acta Oto-Laryngologica* 2005; 125: 707-712
101. Nathke IS, Hinck L, Swedlow JR, Rapkoff J, Nelson WJ. Defining interactions and distributions of cadherin and catenin complexes in polarized epithelial cells. *J Cell Biol* 1994; 125: 1341-1352.
102. Ozawa M, Kemler R. Altered cell adhesion activity by pervanadate due to the dissociation of alpha-catenin from the E-Cadherin. Catenin complex. *J, Biol, Chem* 1998; 273: 6166–6170.
103. Takeichi M, Hatta K, Nose A, Nagafuchi A. Identification of a gene family of cadherin cell adhesion molecules. *Cell Differentiation and Development* 1988; 25: 91–94.
104. Aberle H, Schwartz H, Kemler R. Cadherin-catenin complex: protein interactions and their implications for cadherin function. *J Cell Biochem* 1996; 61: 514-523.
105. Naim R, Riedel F, Bran G, Sadick H, Hormann K. Cell adhesion proteins in external auditory canal cholesteatoma. *HNO* 2004; 52: 1083-1087.
106. Hans JW, Roland SJ, Mike LH. Comparative analysis of the epithelium stroma interaction of acquired middle ear cholesteatoma in children and adults. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007; 264: 841–848
107. Bujia J, Kim C, Holly A, 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: 203-206.
108. Yetiser S, Satar B, Aydin N. Expression of epidermal growth factor, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-1alpha in chronic otitis media with or without cholesteatoma. *Otol Neurotol* 2002; 23: 647-652.
109. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000; 182: 311-322.

110. Bujia J, Holly A, Sudhoff H, Antoli-Candela F, Tapia MG, Kastenbauer E. Identification of proliferating keratinocytes in middle ear cholesteatoma using the monoclonal antibody Ki-67. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1996; 58: 23-26.
111. Mallet Y, Nouwen J, Lecomte-Houcke M, Desautly A. Aggressiveness and quantification of epithelial proliferation of middle ear cholesteatoma by MIB1. *Laryngoscope* 2003; 113: 328-331.
112. Hildmann H, Sudhoff H. Cholesteatoma in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1999; 49: 81-86.
113. Davina AL, Bryan Z, Steven AH, Dan FS. Inhibition of erbB receptor family members protects HaCaT keratinocytes from ultraviolet-B-induced apoptosis. *J Invest Dermatol* 2003; 120: 483-488.
114. Sakamoto T, Kondo K, Yamasoba T, Suzuki M, Sugawara M, Kaga K. Overexpression of ErbB-2 protein in human middle ear cholesteatomas. *Laryngoscope* 2004; 114: 1988-1991.
115. Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997; 3: 917-921.
116. Li F, Ambrosini G, Chu EY, Plescia J, Tognin S, Marchisio PC, Altieri DC. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin. *Nature* 1998; 396: 580-584.
117. Park HR, Min SK, Min K, Jun SY, Seo J, Kim HJ. Increased expression of p63 and survivin in cholesteatomas. *Acta Otolaryngol* 2009; 129: 268-272.
118. Maltzman W, Czyzyk L. UV irradiation stimulates levels of p53 cellular tumor antigen in nontransformed mouse cells. *Mol Cell Biol* 1984; 4: 1689-1694.
119. Yonish-Rouach E, Resnitzky D, Lotem J, Sachs L, Kimchi A, Oren M. Wild-type p53 induces apoptosis of myeloid leukaemic cells that is inhibited by interleukin-6. *Nature* 1991; 352: 345-347.

120. Ryan JJ, Danish R, Gottlieb CA, Clarke MF. Cell cycle analysis of p53-induced cell death in murine erythroleukemia cells. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 711-719.
121. Kuerbitz SJ, Plunkett BS, Walsh WV, Kastan MB. Wild-type p53 is a cell cycle checkpoint determinant following irradiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 7491-7495.
122. Meyn MS. Ataxia-telangiectasia and cellular responses to DNA damage. *Cancer Res* 1995; 55: 5991-6001.
123. Albino AP, Reed JA, Bogdany JK, Sassoon J, Desloge RB, Parisier SC. Expression of p53 protein in human middle ear cholesteatomas: pathogenetic implications. *Am J Otol* 1998; 19: 30-36.
124. Datta R, Manome Y, Taneja N, Boise LH, Weichselbaum R, Thompson CB, et al. Overexpression of Bcl-XL by cytotoxic drug exposure confers resistance to ionizing radiation-induced internucleosomal DNA fragmentation. *Cell Growth Differ* 1995; 6: 363-370.
125. Kojima H, Endo K, Moriyama H, Tanaka Y, Alnemri ES, Slapak CA, et al. Abrogation of mitochondrial cytochrome c release and caspase-3 activation in acquired multidrug resistance. *J Biol Chem* 1998; 273: 16647-16650.
126. Kojima H, Miyazaki H, Tanaka Y, Shiwa M, Koga T, Moriyama H. Role of Bcl-xL protein in differentiation and apoptosis of human middle ear cholesteatoma epithelium. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 125: 738-742.
127. Kuczkowski J, Sakowicz-Burkiewicz M, Iżycka-Świeszewska E, Mikaszewski B, Pawełczyk T. Expression of tumor necrosis factor- α , interleukin-1 α , interleukin-6 and interleukin-10 in chronic otitis media with bone osteolysis. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2011; 73: 93-99

6. ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Bingöl'de doğdum. İlkokulu Bingöl'ün Solhan ilçesindeki Aksakal köyünde okudum. Ortaokulu Solhan Yatılı İlköğretim Bölge Okulunda, liseyi Diyarbakır Ziya Gökalp Lisesi'nde okudum. 1996 yılında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yüksek öğrenimime başlayıp 2002 yılında mezun oldum. Bingöl ili Genç ilçesi sağlık ocağında meslek hayatıma başladım. Daha sonra girdiğim Tıpta Uzmanlık Sınavında (TUS) Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz bölümünü kazandım ve ihtisasa başladım. Halen bu klinikte araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk babasıyım.