

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

**KOLESTEATOMALI KRONİK OTİTLİ HASTALARDA
KOLESTEATOMADA BCL-2, BAX VE C-ERBB-2
DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Özgür IŞIK**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Turgut KARLIDAĞ**

**ELAZIĞ
2011**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur

Prof. Dr. Şinasi YALÇIN

Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

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

Doç. Dr. Turgut KARLIDAĞ

Danışman

Uzmanlık Sınav Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Şinasi YALÇIN

Prof. Dr. İrfan KAYGUSUZ

Doç. Dr. Turgut KARLIDAĞ

Doç. Dr. Tamer DEMİR

Yard. Doç. Dr. Ayşe Belin ÖZER

TEŞEKKÜR

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

Tezimin histopatoloji incelemesini yapan Doç. Dr. Bengü Çobanoğlu'na ve tezimin istatistiki değerlendirmesini yapan Doç. Dr. Murat Ögetürk'e,

Kendileri ile çok şey paylaştığım, her zaman desteklerini hissettiğim ve gördüğüm Uz. Dr. Hakan Dabak'a, Uz. Dr. Emrah Sapmaz'a, Oğuzhan Akçelik'e ve birlikte çalışma fırsatı bulduğum asistan arkadaşlarıma,

Birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum, acı tatlı çok şeyi paylaştığım KBB servis, ameliyathane ve poliklinik hemşireleri ve personeline,

Uzmanlık eğitimim süresince beni sabırla destekleyen sevgili anne ve babama,

Gerek uzmanlık eğitimim gerekse tezimin hazırlanması sırasında göstermiş olduğu sonsuz anlayış ve fedakarlıklarından dolayı sevgili eşim Ece Işık'a

Teşekkür ederim.

ÖZET

Bu çalışma ile primer ve sekonder akkiz kolesteatomalardaki bcl-2, bax ve c-erbB-2 ekspresyonlarını değerlendirmeyi, buna bağlı olarak kolesteatomanın patogenezinde apoptozun, dolayısıyla da artmış hücresel proliferasyonun rolünü ortaya koymayı amaçladık.

Çalışma, kolesteatomalı ve kolesteatomasız kronik otitis media nedeni ile opere edilen toplam 60 olgu üzerinde yapıldı. Çalışmada hastalar dört gruba ayrıldı. Kolesteatomasız KOM nedeniyle opere edilen hastaların dış kulak yolu cildinden alınan örnekler grup 1; kolesteatomalı KOM nedeniyle opere edilen grup 3 ve grup 4'deki hastaların DKY cildinden alınan örnekler grup 2; primer akkiz kolesteatomalı KOM nedeniyle opere edilen hastaların kolesteatoma matriksinden alınan örnekler grup 3; sekonder akkiz kolesteatomalı KOM nedeniyle opere edilen hastaların kolesteatoma matriksinden alınan örnekler grup 4'ü oluşturdu. Pozitif hücrelerin oranı semikantitatif olarak dört grupta sınıflandı: 0- boyama yok; + hücre boyanması (hafif derecede boyanma: %1-33); ++ hücre boyanması (orta derecede boyanma: %34-66); +++ hücre boyanması (iyi derecede boyanma: %67-100) varlığı olarak değerlendirildi.

Bcl-2, bax ve c-erbB-2 boyanma skorları karşılaştırıldığında; DKY cildinden alınan örneklerin boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Primer ve sekonder akkiz kolesteatoma epiteli arasında bcl-2, bax ve c-erbB-2 ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Primer ve sekonder akkiz kolesteatoma epitelinde kolesteatomalı KOM nedeniyle opere edilen hastaların DKY cildine göre bcl-2 ekspresyonunun azalmış, bax ve c-erbB-2 ekspresyonunun artmış olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0,05$). Bu durum primer ve sekonder akkiz kolesteatoma epitelinde DKY cildine göre daha yüksek oranda apoptoz olduğunu göstermektedir.

Bulgularımız hücresel proliferasyon ve apoptozdaki artışın kolesteatomanın patogenezinde önemli rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kolesteatoma, apoptoz, proliferasyon, bcl-2, bax, c-erbB-2

ABSTRACT

EVALUATING Bcl-2, Bax AND C-erbB-2 LEVELS IN CHOLESTEATOMA IN PATIENTS WITH CHRONIC OTITIS MEDIA WITH CHOLESTEATOMA

In this study our goal to evaluate the expressions of bcl-2, bax and c-erbB-2 in primary acquired and secondary acquired cholesteatomas and accordingly to reveal the role of apoptosis in the pathogenesis of cholesteatoma and the role of the increased cellular proliferation.

The study was conducted on 60 patients who were operated due to COM with and without cholesteatoma. The patients were divided into four groups. The samples collected in the external ear canal of the patients who were operated due to COM without cholesteatoma constituted group 1. The samples collected in the external ear canal of the patients in group 3 and 4 who were operated due to COM with cholesteatoma constituted group 2. The samples collected in cholesteatoma matrix of the patients who were operated due to COM with primary acquired cholesteatoma constituted group 3. The samples collected in cholesteatoma matrix of the patients who were operated due to COM with secondary acquired cholesteatoma constituted group 4. The rate of positive cells were semi-quantitatively classified into four groups. The groups were defined as the following: 0- no staining, + cell staining (low degree staining: 1-33%), ++ cell staining (medium degree staining: 34-66%), +++ cell staining (high degree staining: 67-100%)

There was statistically no difference in staining the samples collected in external ear canal of the patients who were operated due to COM with and without cholesteatomas when the staining scores of bcl-2, bax and c-erbB-2 compared ($p>0.05$). There was statistically no difference between primary and secondary acquired cholesteatoma epithelium in terms of bcl-2, bax and c-erbB-2 expressions. In primary and secondary acquired cholesteatoma epithelium bcl-2 expression decreased, on the other hand, bax and c-erbB-2 expressions increased when it was compared to the patients who were operated due to Com with cholesteatoma, and it was statistically significant ($p<0,05$). It was shown that there were higher rates of apoptosis in primary and secondary acquired cholesteatoma epithelium when compared with the external ear canal.

Bcl-2 expression decreased, but bax and c-erbB-2 expressions increased in acquired cholesteatoma epithelium compared to external ear canal skin. We concluded that both cellular proliferation and the increase in apoptosis may play an important role in pathogenesis of cholesteatoma.

Key Words: Cholesteatoma, apoptosis, proliferation, bcl-2, bax, c-erbB-2

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1. 1. Kulak Embriyolojisi	3
1.1.1. Dış Kulağın Gelişmesi	3
1.1.2. Orta Kulağın Gelişmesi	3
1.1.3. İç Kulağın Gelişmesi	4
1.2. Temporal Kemik Anatomisi	4
1.2.1. Skuamöz Parça	4
1.2.2. Mastoid Parça	5
1.2.3. Petröz Parça	5
1.2.4. Timpanik Parça	6
1.3. Kulak Anatomisi	6
1.3.1. Dış Kulak	6
1.3.2. Orta Kulak	6
1.3.2.1. Kulak Zarı	7
1.3.2.2. Orta Kulak Boşluğu	7
1.3.2.3. Orta Kulak Kemikçikleri	8
1.3.2.4. Tuba Östaki	8
1.3.3. İç Kulak	9
1.4. Kronik Otitis Media	9
1.5. Süperatif Otitis Medianın Komplikasyonları	10
1.5.1. İntrakranial Komplikasyonlar	10
1.5.1.1. Menenjit	10

1.5.1.2. Lateral Sinüs Trombozu (LST)	10
1.5.1.3. Ekstradural Apse	11
1.5.1.4. Subdural Apse	11
1.5.1.5. Beyin Apsesi	11
1.5.1.6. Otitik Hidrosefali	11
1.5.2. İntratemoral Komplikasyonlar	11
1.5.2.1. Mastoidit	11
1.5.2.2. Subperiostal Apse	12
1.5.2.3. Petrozit	12
1.5.2.4. Labirentit	12
1.5.2.4.1. Sınırlı Labirentit	12
1.5.2.4.2. Diffüz Seröz Labirentit	13
1.5.2.4.3. Diffüz Süpüratif Labirentit	13
1.5.2.5. Labirent Fistülü	13
1.5.2.6. Fasial Paralizi	14
1.6. Komplikasyonların Gelişmesinde Yayılım Yolları	14
1.6.1. Preforme Yollardan Yayılım	14
1.6.2. Kemik Erozyonu ile Yayılım	15
1.6.3. Venöz Tromboflebit Yoluyla Yayılım	15
1.7. Kolesteatomanın Tanımı Ve Tarihçesi	15
1.8. Kolesteatoma Çevresinde Meydana Gelen Reaksiyonlar	17
1.8.1. Mastoiddeki Değişiklikler	18
1.8.2. Kemik DKY'deki Değişiklikler	18
1.8.3. Kolesteatomada Kemikçikler	18
1.8.4. Kolesteatomada Labirent Değişiklikleri	19
1.8.5. Kolesteatomada Fasial Sinir	20
1.8.6. Kolesteatomada Dural Plate ve Lateral Sinüs	20
1.9. Kolesteatomanın Patogenezi	20
1.9.1. Edinilmiş Kolesteatomalar	20
1.9.1.1. Primer Edinilmiş Kolesteatomalar	21
1.9.1.2. Sekonder Edinilmiş Kolesteatomalar	22
1.9.2. Doğumsal Kolesteatomalar	22

1.10. Kolesteatomanın Klinik Tipleri	23
1.10.1. Edinilmiş Kolesteatomalar	23
1.10.2. Doğumsal Kolesteatoma	23
1.10.3. Petröz Apeks Kolesteatoması	23
1.10.4. Dış Kulak Kanalı Kolesteatomaları	24
1.10.5. İatrojenik Kolesteatomalar	24
1.10.6. Rezidiv Kolesteatomalar	25
1.11. Kolesteatoma Gelişimini Etkileyen Mekanizmalar	25
1.12. Apoptoz	27
1.12.1. Apoptotik Hücre Ölümünün Aşamaları	28
1.12.1.1. Apoptozun Başlatılması (Sinyal Üretici Yollar)	28
1.12.1.1.1. Hücre Dışından Kaynaklanan Sinyaller	29
1.12.1.1.2. Hücre İçinden Kaynaklanan Sinyaller	30
1.12.1.2. Hücre İçi Proteazların Aktivasyonu	30
1.12.1.3. Hücrede Oluşan Biyokimyasal Değişiklikler	31
1.12.1.4. Morfolojik Değişiklikler	31
1.13. Bcl-2 Proteini ve Ailesi	32
1.14. EGFR Ailesi ve ErbB-2	34
2. GEREÇ VE YÖNTEM	35
2.1. Çalışma Grupları	35
2.2. İmmünohistokimyasal İnceleme	36
2.3. İmmünreaktivitenin Değerlendirilmesi	36
2.4. İstatistiksel Yöntemler	36
3. BULGULAR	37
3.1. Klinik Bulgular	37
3.2. Histopatolojik Bulgular	39
4. TARTIŞMA	48
5. KAYNAKLAR	55
6. ÖZGEÇMİŞ	71

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Gruplara göre hastaların şikâyetlerinin dağılımı	38
Tablo 2. Gruplara göre yapılan operasyonun tipi	38
Tablo 3. Gruplara göre kemikçik zincir durumu	39
Tablo 4. Kolesteatomanın yaygınlığı	39
Tablo 5. Grupların imünohistokimyasal boyanma skorları	40
Tablo 6. Gruplara göre bcl-2, bax ve c-erbB-2 skor değerlerinin dağılımı ve karşılaştırılması	41

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Gruplara göre cinsiyet dağılımı	37
Şekil 2.	Gruplara göre bcl-2, bax ve c-erbB-2 skor değerlerinin dağılım yüzdesi	41
Şekil 3.	Kolesteatomasız KOM grubunda (grup 1) DKY cildinin hematoksilen eozin boyanması (X 200) (Beyaz ok epidermisi göstermektedir.)	42
Şekil 4.	Kolesteatomalı KOM grubunda (grup 2) DKY cildinin hematoksilen eozin boyanması (X 100) (Beyaz ok epidermisi göstermektedir.)	43
Şekil 5.	Primer akkiz kolesteatoma grubunda (grup 3) hematoksilen eozin boyanması (X 100) (Beyaz ok epidermisi göstermektedir.)	43
Şekil 6.	Kolesteatomasız KOM grubunda (grup 1) DKY cildinin +++ nükleer ve stoplazmik bcl-2 boyanması (beyaz ok) (X 400)	44
Şekil 7.	Kolesteatomalı KOM grubunda (grup 2) DKY cildinin +++ nükleer ve stoplazmik bcl-2 boyanması (beyaz ok) (X 400)	44
Şekil 8.	Sekonder akkiz kolesteatoma grubunda (grup 4) ++ nükleer ve stoplazmik bcl-2 boyanması (beyaz ok) (X 200)	45
Şekil 9.	Kolesteatomalı KOM grubunda (grup 2) DKY cildinin + nükleer ve stoplazmik bax boyanması (beyaz ok) (X 400)	46
Şekil 10.	Primer akkiz kolesteatoma grubunda (grup 3) +++ nükleer ve stoplazmik bax boyanması (beyaz ok) (X 400)	46
Şekil 11.	Kolesteatomasız KOM grubunda (grup 1) DKY cildinin + nükleer ve stoplazmik c-erbB-2 boyanması (beyaz ok) (X 400)	47
Şekil 12.	Primer akkiz kolesteatoma grubunda (grup 3) + nükleer ve stoplazmik c-erbB-2 boyanması (beyaz ok) (X 400)	47

KISALTMALAR LİSTESİ

AOM	: Akut otitis media
BT	: Bilgisayarlı tomografi
DKY	: Dış kulak yolu
EGF	: Epidermal Growth Factor
EGFR	: Epidermal Growth Factor Receptor
İK	: İntrakranial
KOM	: Kronik otitis media
LST	: Lateral sinüs trombozu
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
OM	: Otitis media
PCNA	: Proliferating Cell Nuclear Antigen
SBK	: Siklin bağımlı kinaz
SK	: Sitokeratin
SNİK	: Sensörneral işitme kaybı
SSK	: Semisirküler kanal
TGF-α	: Transforming Growth Factor-alpha
TNF	: Tumor Necrosis Factor
TNFR	: Tumor Necrosis Factor Receptor
TUNEL	: Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-Mediated dUTP-X Nick end Labelling Assay

1. GİRİŞ

Kronik otitis media (KOM) üç aydan daha uzun süreli ve medikal tedavi ile tamamen düzelmeyen orta kulak inflamasyonu olarak tanımlanmaktadır. Sıklıkla şu üç karakteristik özelliğe sahiptir: timpanik membran perforasyonu, kulak akıntısı ve işitme kaybı (1). Kolesteatomalı KOM ise KOM'un bir alt tipidir.

Kolesteatoma, hiperproliferatif epitelin keratin ile birlikte progresif olarak birikimi ile karakterize, benign olmasına rağmen destrüktif bir orta kulak tümörüdür (2). İlk olarak "çok tabakalı yağ tümörü" şeklinde ve "cholesteatoma" olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra kolesteatomanın konsantrik lamellar görünümünden hareket ederek, kitlenin hiperplastik formasyon gösterdiğini bildirmiştir (3). En kısa, kesin ve doğru tarif, yanlış yerde gelişen deri şeklinde yapılmıştır. Patogenezi ne olursa olsun kolesteatoma, olmaması gereken yerde bulunan deriye ait, yassı epitel dokusudur (4).

Kolesteatoma histopatogenezi hala tam olarak anlayamamıştır. Epitelyal hücre migrasyonu, proliferasyonu, diferensiasyonu ve apoptozun patogenezi rol oynadığı düşünülmektedir (5). Bu konu hakkında yapılan araştırmalar sırasında çeşitli faktörler üzerinde çalışılmıştır. Epidermal Growth Factor (EGF) ve Transforming Growth Factor-alpha (TGF- α) gibi büyüme faktörleri, Ki-67, Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) (6), P27 (7), aktif kaspaz 3 ve 9 (2), sirokeratin (8), kalsisiklin (9), fas/APO1 protein (10), galektinler (11), telomeraz (12), p53 tümör supressör geni (13), APO2.7 (14), bcl-xL (15), c-erbB-2 geni (16) başta olmak üzere birçok faktördeki değişimler ve bunların etkileri de araştırılmıştır. Son yıllarda kolesteatoma patogenezi özellikle apoptozun oynadığı rol üzerinde durulmaya başlanmıştır.

Apoptoz Yunanca'da apo (ayrı) ve ptosis (düşmek) kelimelerinden oluşan ve ilk olarak Kerr, Wyllie ve Currie adlı patologlar tarafından kullanılan bir terimdir (4). Embriyonal dönemde, doğum sonrası birçok fizyolojik olayda ve yaşlılıkta rol oynamaktadır (17-19). Proliferasiyona uğrayan hücre topluluklarında rol oynayarak dokulardaki hücre homeostazının sağlanmasında, tümörlerin regresyona gittikleri dönemlerde de apoptoz görülmektedir.

Kojima ve ark. (20), PCNA'yı kullanarak yaptıkları çalışmada apoptotik hücre ölüm hızının, normal dış kulak yolu (DKY) cildi ile aynı olduğunu, ancak

epidermal hücre seviyelerinde hiperprolifere olan hücrelerin sayısının kolesteatomada belirgin şekilde yüksek olduğunu saptamışlardır. Huisman ve ark. (2) ise, kolesteatoma dokusunda apoptozis oranını tespit etmekte kullanılan kaspaz 3 aktivitesi ve DNA kırıklarının insitu olarak tanınmasını sağlayan TUNEL (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-Mediated dUTP-X Nick end Labelling Assay) metodunda tespit edilen pozitif hücre sayılarını düşük olarak saptamıştır. Bu sonuçlara göre kolesteatoma örneklerinde apoptozis oranında bir artış olmadığını ileri sürmüşlerdir.

Albino ve ark. (13), tüm kolesteatoma formlarında p53 gen ekspresyonunu incelemiş ve normal ciltle kıyaslandığında kolesteatoma epitelinde apoptotik hücre oranları daha yüksek olarak saptamıştır. Olszewska ve ark. (14), apoptoz belirleyicisi olan APO2.7'yi kolesteatoma epitelinde çalışmışlar ve apoptotik hücre oranlarının kolesteatoma epitelinde, DKY cildine nazaran daha yüksek olarak saptanmıştır. Davinave ark. (16), keratinositlerde oluşan apoptoz oranının DKY cildine göre istatistiksel olarak anlamlı olmasada, c-erbB-2 inhibisyonunun apoptoz oranını azalttığını belirtmişlerdir.

Apoptozis intrinsik (bcl-2 rol oynar), ekstrinsik ve oksijen radikalleri ile olmak üzere üç farklı mekanizma ile ortaya çıkar (21). Bcl-2 ailesi (bcl-2, bcl-xL, bax, bak, bad), bir kısmı anti-apoptotik ve bir kısmı pro-apoptotik olan proteinlerin geniş bir ailesidir. Bunların esas etki mekanizmalarının mitokondrial membran geçirgenliğinin regülasyonu olduğu düşünülür. Pro-apoptotik üyeler mitokondrial membran geçirgenliğini artırırken anti-apoptotik üyeler bu artışa engel olurlar (22).

Bcl-2 proteininin hücresel fonksiyonunun ilk tanımı Park ve ark. (23) tarafından bcl-2'nin transfeksiyon çalışmaları için faktör bağımlı hücre sıraları kullanılarak yapılmıştır. Hücre ölümü ve sürvisini regüle etmesinin yanısıra epitelyal diferansiyasyon, morfogenezis ve tümörgenezisde rol oynamaktadır (24) Bax, apoptozu indükleyen bcl-2 ailesine ait bir gendir (25). Bcl-2/bax dengesinin bcl-2 lehine olmasıyla hücre yaşarken, bax lehine bozulması apoptozisle sonuçlanır (26).

C-erbB-2 (HER2), epidermal büyüme faktörü reseptör ailesinin ikinci üyesidir (27). C-erbB-2 protoonkogeni, tirozin kinaz aktivitesi gösteren, büyüme faktörü reseptörü olarak fonksiyon gören bir transmembran glikoproteinini kodlar (27-29).

ErbB gen ailesi üyelerinin aktivasyonu hücresele proliferasyonu, hücre diferansiasyonu, hücre siklusunun durması ve hatta apoptozu uyarabilir (16).

Bu çalışma ile primer ve sekonder akkiz kolesteatomalardaki bcl-2, bax ve c-erbB-2 ekspresyonlarını değerlendirmeyi ve buna bağılı olarak kolesteatomanın patogeneğinde apoptozun ve dolayısı ile artmış hücresele proliferasyonun rolünü ortaya koymayı amaçladık.

1. 1. Kulak Embriyolojisi

1.1.1. Dış Kulağın Gelişmesi

Dış kulak, kulak kepçesi ve dış kulak yolundan oluşur. Bu yapılar birinci ve ikinci brankial arkuslar ile birinci farengeal cepten oluşurlar. Embriyolojik yaşamın üçüncü haftasında birinci ve ikinci arkuslardan His'in tomurcukları diye isimlendirilen 6 tomurcuk oluşur. İlk üçü birinci, son üçü ikinci brankial arkustan oluşur. His tomurcuklarının birleşmesi ile 12. haftada kulak kepçesi oluşur. Erişkin şeklini 20. haftada alır ve dokuz yaşında erişkindeki çaplarına erişir (30).

Birinci arkus 1. tomurcuk - Tragus

2. tomurcuk - Krus heliks

3. tomurcuk – Heliks

İkinci arkus 4. tomurcuk - Antiheliks

5. tomurcuk – Antitragus

6. tomurcuk - Kulak kepçesi lobülü oluşur.

DKY, embriyolojik yaşamın 8. haftasında birinci farengeal cebin derinleşmesi ile başlar. Epitel doku ile 12. haftada doldurulur ve kanal 28. haftada rekanalize olur. Rekanalize olmasında bozukluk olduğu taktirde, kanal darlığı veya kanal atrezisi meydana gelir. DKY'nin kemikleşmesi üç yaşında tamamlanır ve dokuz yaşında erişkin şeklini alır. Brankial ektoderm ile farengeal endodermin karşı karşıya geldiği bölge timpanik membranı oluşturur (30). Kulak zarı üç tabakanın birleşmesinden oluşur. En dışta ektodermal epitel, ortada mezodermal fibröz doku, içte endodermal mukoza vardır ve 28 haftalık embriyoda kulak zarı belli olur.

1.1.2. Orta Kulağın Gelişmesi

Orta kulak ve tuba östaki birinci farengeal cebin dışı doğru büyümesinden oluşur. Birinci farengeal cep üçüncü haftadan başlayarak dışı doğru bir oluk şeklinde gelişir. Birinci ve ikinci brankial arkuslar arasındaki bu oluk dar ve uzun bir boru

halini alır. Burası tuba östakiyi oluşturur. 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. 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 ligaman, sfenomandibuler ligaman ve mandibula gelişir. İkinci brankial arkusun mezoderminden; manibrium mallei, inkusun uzun kolu, stapes, stiloid proses, stilohyoid ligaman ve hyoid kemik gelişir. Stapes tabanının endoteli kulak mukozasını teşkil etmek için kemikçikler etrafını ve orta kulak boşluğunu örter. Antrum 22. haftada gelişir ve 34. 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 (31).

1.1.3. İç Kulağın Gelişmesi

Embriyonal yaşamın üçüncü 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 (SSK) 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 iki 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. haftada sonlanır (31).

1.2. Temporal Kemik Anatomisi

Temporal kemik kafatasının yan ve alt duvarlarının bir kısmını oluşturur. Temporal kemiğin skuamöz, mastoid, petröz, timpanik parça olmak üzere dört parçası vardır. İşitme organı, denge organı ile birlikte temporal kemik içinde yerleşmiştir.

1.2.1. 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 a. temporalis media'ya ait bir sulkus bulunur. Skuamöz parçanın iç yüzü orta kafa çukuru ile komşudur (32).

1.2.2. 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. DKY'nin arka üst kısmında küçük bir kemik spin bulunur. Bu spine suprameatal spine veya Henle spini denir. Bu spinin arkasında area kibrosa 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 ve en büyüğü her zaman bulunan antrumdur (32). Mastoid pnömatizasyonu antrumdan çevreye doğru yayılır. Pnömatizasyon skuamöz ve petröz kemiklere de yayılır. Bu iki kemik birbirinden petroskuamöz lamina ile ayrılmıştır. Bu lamina zamanla kaybolur, ancak bazen bu lamina yerinde kalarak bu iki kemiği birbirinden ayırır. Buna Körner septumu denir (33, 34).

1.2.3. 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 kranial sinirin ganglionu "Gasser ganglionu" yer alır. Bu çukur alanın hemen yanında birbirine paralel giden iki ince oluk vardır. Bu arkadaki oluktan n. petrosus superficialis major, önünden n. petrosus superficialis minor geçer. Bu olukların dış yan kısmında eminentia arkuata adı verilen bir kabarıklık vardır. Bu kabarıklığın yanındaki düzgün alana tegmen timpani denir. Burası kavum timpaninin tavanını oluşturur ve malleusun başı ile komşuluk yapar (32). Petröz kemiğin arka üst kısmında meatus akustikus internusun deliği olan porus akustikus internus bulunur. Buradan n. fasialis, n. kohlearis, n. vestibularis superior ve n. vestibularis inferior geçer. Bu deliğin arka kısmında fossa subarkuata adı verilen küçük bir çukur alan vardır. Bu çukur alana apertura eksterna aquaduktus vestibuli açılır. Petröz parçanın

alt yüzünde proçessus stiloideus adı verilen bir çıkıntı vardır. Bu çıkıntının hemen arkasında bulunan deliğe foremen stilomastoideum adı verilir. Bu delik fallop kanalının dış deliğidir. Proçessus stilomastoideusun n ve iç yan kısmında fossa jugularis adı verilen geniş bir çukur alan vardır. Bu ukur alanın hemen n kısmında kanalis karotikum deliği vardır (34).

1.2.4. Timpanik Parça

DKY'nin n ve arka kısmı ile alt kısmının bir bölümünü yapar. n alt bölümünün ortası çok incedir, bazen foramen huschke denen kk delikler ihtiva eder. Timpanik kemik st kısmı açık kalmış bir halka gibidir. Bu açıklığa Rivinus entiği denir. Kulak zarının pars tensası sulkus timpanikusa; pars flaksidası ise halkanın açık olan kısmına yerleşir (34). Temporal kemik erişkinlerde lateral pozisyonda, çocuklarda ise lateral-inferior pozisyonudadır. Bebeklerde skuamöz parça diğerlerine oranla daha büyüktür ve mastoid parça yoktur. Petröz kısım anulus timpanikus arkasında, skuamöz kısmın altında uzanmaktadır. Kavum timpani dış yanda timpanik kısım, iç yanda petröz kısım ile sınırlıdır. Antrum doğumda iyi gelişmemiştir. Dış tarafta ve nde skuamöz parça, n ve arkada petröz parça ile komşudur (32).

1.3. Kulak Anatomisi

Kulak; dış, orta ve iç kulak olmak üzere üç kısımdan oluşur.

1.3.1. Dış Kulak

Başın her iki yanındaki aurikula ile DKY'den oluşur. Kulak kepçesi dışta deri, ite elastik bir kıkırdaktan oluşmuştur. DKY, aurikuladan kulak zarına kadar olan uzunluğu içine alır. İki parçadan oluşur; 1/3 dış kısmı kıkırdak, 2/3 iç kısmı kemikten meydana gelir (32).

1.3.2. Orta Kulak

Dışta timpan membran, ite ise i kulakla sınırlı düzensiz dikdörtgen prizmayı andıran bir boşluktur. Orta kulak boşluğu, tuba östaki aracılığı ile nazofarenkse ve aditus aracılığı ile mastoidin havalı boşluklarıyla bağlantılıdır. Orta kulak boşluğu topografik olarak üç kısıma ayrılır: Mezo­timpanium, hipotimpanium ve epitimpanium. Timpanik membranın alt ve st ucundan çekilen hattın arasındaki boşluğa mezo­timpanium, altındaki kısma hipotimpanium, üstündeki kısma da epitimpanium denir.

1.3.2.1. Kulak Zarı

DKY'nin sonunda, orta kulak boşluğunu dış kulaktan ayıran, 8-9 mm çapında fibröz bir tabakadır. Timpanik parçanın sulkus timpanikusu içine oturur. Üst kısmında, halkanın iki ucu arasında bir açıklık bulunur. Bu açıklığa Rivinus çentiği adı verilir. Sulkus timpanikus içine kulak zarı Gerlach halkası ile tespit edilir. Kulak zarının bu bölümü gergindir ve pars tensa adını alır. Rivinus çentiğini dolduran kısım ise gevşektir ve pars flaksida adını alır. Kulak zarı tam düz bir yüzey değildir. Orta kısmında, yukarıdan aşağıya ve önden arkaya uzanan manibrium mallei görülür. Manibrium mallei'nin ucu içe doğru çökük olduğundan kulak zarı konkav bir biçime sahiptir. Kulak zarının en derin noktası manibrium malleinin ucuna rastlar, buna umbo denir (31). Kulak zarı üç ayrı tabakadan meydana gelmiştir. En dışta DKY cildi, içte orta kulak mukozası, bu ikisinin arasında ise fibröz tabaka bulunur. Fibröz tabaka dışta stratum radiale ve içte stratum sirkulare adı verilen liflerden oluşur. Pars flaksida bölgesinde ise fibröz tabaka bulunmaz. Bu bölge retraksiyonların ve kolesteatomaların en sık bulunduğu bölgedir (31).

1.3.2.2. Orta Kulak Boşluğu

Alt Duvar: Bu duvar enliğine daralmıştır. Bu darlık arkada daha belirgindir, ince bir kemik duvarla bulbus vena jugularisten ayrılır. Alt duvarın ön kısmı biraz daha geniştir ve a. karotis interna ile komşudur. Hipotimpaniumda Jacobson sinirinin orta kulağa girdiği kanalikuli timpani adı verilen bir delik bulunur (35).

Ön duvar: Karotisin yaptığı çıkıntı nedeniyle daralmıştır. Üstte tensor timpani kasının çıkıntısı bunun altında ise tubanın timpanik orifisi bulunur (35).

Üst duvar: Buraya tegmen timpani adı verilir. Orta kulak boşluğunu orta kafa çukurundan ayırır. Yer yer dehissanslar gösterebilir (35).

İç duvar: Bu duvar iç kulakla komşudur. Promontorium, kokleanın bazal helezonunun çıkıntısına uyar (36). Promontoriumun arka ve alt kısmında fossula fenestra koklea adı verilen bir çıkıntı bulunur. İki çukurluğun tabanında, orta kulak boşluğunu iç kulaktan ayıran ikinci bir kulak zarı (yuvarlak pencere) bulunur. Promontorium arka ve üst kısmında üç önemli nokta bulunur. Fenestra vestibüli veya oval pencere skala vestibüliye açılır. Stapesin tabanı bu pencereye yerleşir. Oval pencerenin arkasında pencereyi bir kaş gibi arka ve üstten örten fasial çıkıntı içinde fasial sinirin ikinci yatay parçası bulunur. Bunun da arka ve üstünde ise lateral SSK

yerleşmiştir (36). Promontoryumun üstünde, arkada, tensor timpani kasının yapıştığı processus kokleiformis adlı kemik çıkıntı bulunur. Bu çıkıntı fasial sinirin birinci ve ikinci parçalarının birleşme noktasıdır (35).

Arka duvar: Bölgenin en önemli anatomik noktası, stapes tendonunun yapıştığı eminentia piramidarum adlı çıkıntıdır. Bu çıkıntıdan kulak zarına paralel giden dik bir düzlemlerle orta kulağı ikiye ayırdığımızda; içteki bölümde oval pencere, yuvarlak pencere ve sınıs timpani adında üç önemli oluşum vardır. Eminentia'nın dışında fasial reses adı verilen bir çukurluk vardır, bu çukurun dış tarafını ve korda timpani, arka ve üstünü ise fossa inkudus sınırlar. Bu komşuluk timpanotomi posterior yaklaşımında önemlidir (35).

1.3.2.3. Orta Kulak Kemikçikleri

Orta kulak boşluğunda, kulak zarı ile iç kulak arasında üç tane hareketli kemikçik vardır. Bunlar dıştan içe doğru malleus, inkus ve stapeştir. Malleus; kapitulum ve manibriumdan oluşur. Ayrıca ön ve arkada iki çıkıntısı vardır ve 8-9 mm uzunluğundadır. Manibrium, sıkıca kulak zarına bağlıdır ve zarı içe doğru çeker. Kapitulum, yuvarlaktır ve epitimpanik reses'de inkus ile eklem yapar. Tensor timpani kası, manibriumun hemen üstünde kollumun altında malleusa bağlanır. Malleusu içe ve arkaya çekerek kulak zarını tespit eder. Inkus; korpus ile biri uzun, diğeri kısa iki koldan oluşur. Korpusta malleus başıyla eklem yapan bir yüz vardır. Kısa kol 5 mm uzunluğunda, manibrium malleinin arka ve iç tarafında ve manibriuma paraleldir. Ucunda processus lentikularis denen ve stapes başı ile eklem yapan bir kısım bulunur. Stapes; bir baş, iki bacak ve bir tabandan meydana gelir. Taban, ligamentum annulare ile oval pencere kenarlarına bağlanır. Arka bacağın üstünde stapes tendonunun yapıştığı bir yüzey vardır.

Kemikçikler manibrium ile kulak zarına, ligamentum annulare ile oval pencereye, inkudomalleolar ve inkudostapedial eklemlerle birbirlerine bağlanırlar. Kemikçikleri orta kulak duvarlarına bağlayan dört bağ vardır; bunlardan üç tanesi malleusa, bir tanesi de stapese aittir (37).

1.3.2.4. Tuba Östaki

Orta kulak boşluğu ve mastoid havalı boşlukların dış ortamla ilişkisini sağlar. Ortalama uzunluğu 3,5 cm' dir. Üst ucu orta kulak ön duvarına, alt ucu ise nazofarenks yan duvarına açılır. Tuba östaki 2/3 alt kısmı kıkırdak, 1/3 üst kısmı

kemik olmak üzere iki kısımdan oluşur. Osseöz kanal timpanik bölüm ağzında en geniş çapındadır, gittikçe daralır ve en dar yeri istmus bölümüdür. İstmusda kıkırdak kemiğe sıkı bir şekilde yapışır ve 160 derecelik geniş bir açı yapar. Bu noktadan itibaren tubanın kıkırdak bölümü nazofarenkse kadar gittikçe genişler. M. tensor veli palatini ve m. levator veli palatini tuba östakinin açılmasını sağlarlar. Çocuklarda erişkinlere nazaran daha yatay, geniş ve kısadır. Erişkinlerde ise, arkadan öne, dıştan içe ve yukarıdan aşağıya bir doğrultu izler.

1.3.3. İç Kulak

İç kulak petröz kemiğin derinliğinde yerleşmiştir. Yuvarlak ve oval pencereler yoluyla orta kulak ile koklear ve vestibüler duktuslar aracılığıyla kafa içi ile ilişkilidir. İşitme ve denge organlarını içerir. Kemik ve zar labirent olmak üzere iki kısımdan oluşur. Otik kapsül, kemik labirentin çevresini sarar. Zar labirent, kemik labirentin içine yerleşmiştir. İçi endolenf ile doludur. Önde bulunan koklea, işitme organını içerir. Denge organını içeren kısım; yarım daire kanalları, utriculus ve sakkulustan ibarettir (35).

1.4. Kronik Otitis Media

Otitis media (OM), orta kulak ve temporal kemiğin havalı boşlukları ile tuba östakiyi kaplayan mukozanın enfeksiyon ve enflamasyonudur. Orta kulak ve bununla irtibat halinde bulunan boşlukların enfeksiyon ve/veya enflamasyonu ile karakterize olan pek çok klinik tablo vardır ve bu tablolar zaman içinde birbirlerine dönebilirler. Bu hastalıklar bugüne kadar farklı şekillerde sınıflandırılmış ve adlandırılmışlardır. Hastalığın başlangıç tarzına ve süresine göre OM'leri akut, subakut ve kronik olarak sınıflandırmak mümkündür (38).

Akut: Üç haftaya kadar uzayan OM'ler bu gruba girerler. Üç hafta içinde iyileşen akut otitleri kapsar.

Subakut: Üç hafta ile üç ay arasında devam eden OM'ler bu gruba dahil edilmelidir. Bu gruba giren olguların hemen tamamı üç hafta içinde iyileşmeyen akut otitis media (AOM) olgularıdır. Süpüre olan bir AOM'de kulaktaki bir akıntı ve perforasyon üç hafta içinde sona ermezse, bu olgu bir subakut OM olarak kabul edilir. Bir AOM atağı sonrasında devam eden ve üçüncü haftadan sonra da hala devam eden orta kulak effüyonları da bu grupta değerlendirilmelidir.

Kronik: Orta kulak ve diğer boşlukların mukozasının üç aydan daha uzun süren enfeksiyon ve enflamasyonlarını ifade eder. Kronik karakterdeki OM'ler iki ana gruba ayrılırlar.

Kronik effüzyonlu otitis media: Bir AOM atağının ardından ortaya çıkan effüzyon, eğer üç ay içerisinde ortadan kaybolmuyorsa bu olgular kronik effüzyonlu otitis media olarak adlandırılırlar. Ancak bu tür OM'ler için pratikte daha çok sekretuar otitis media tanımı kullanılır (38).

Kronik süpuratif otitis media: Bir AOM atağı sonrasında perforasyonun ve enfeksiyon-enflamasyon bulgularının üç aydan fazla devam etmesi KOM olarak adlandırılır. Kolesteatom varlığına göre de kolesteatomlu ve kolesteatomsuz olarak iki alt gruba ayrılabilir (39). Kolesteatomalı KOM' larda intrakranial ve intratemporal komplikasyon görülme oranı çok yüksektir (1).

1.5. Süpuratif Otitis Medianın Komplikasyonları

Süpuratif otitis media komplikasyonları intrakranial (İK) ve intratemporal olarak ikiye ayrılabilir (37).

1.5.1. İntrakranial Komplikasyonlar

1.5.1.1. Menenjit

En sık rastlanan İK komplikasyondur (4). KOM'lu hastalarda daha sıktır ve kemik erozyonu yoluyla İK komplikasyon oluşturur. AOM'de bazen hematojen yol, bazen de temporal kemik açıklıklarından yayılarak menenjit oluşur. AOM'ye bağlı menenjit geliştiğinde; tedavi parasentez ve paranteral antibiyotik olmalıdır. KOM sonucu gelişirse, öncelikle menenjit tedavi edilmeli ve kontrol altına alınmalıdır. Daha sonra KOM için cerrahi uygulanmalıdır (35, 40).

1.5.1.2. Lateral Sinüs Trombozu (LST)

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 enflamasyonu, 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 subklavian 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 apsenden ayrılır (40).

1.5.1.3. Ekstradural Apse

Kolesteatomalı KOM ve koelasan mastoiditin kemik destrüksiyonuna yol açması sonucu oluşur. Bulgu ve semptomları olmayabilir. Tanı, bilgisayarlı tomografi (BT) veya bazen operasyon esnasında tesadüfen konur. Tedavisi antibiyoterapi ve cerrahi olarak drenajdır (40).

1.5.1.4. Subdural Apse

Duramater ile araknoid arasında oluşur. Otitis medianın nadir bir komplikasyonudur. Sıklıkla frontal sinüzitin bir komplikasyonudur (40). Tanıda kontrastlı BT veya manyetik rezonans görüntüleme (MRG) kullanılır. Başlangıç tedavisi, ampiyemin boşaltılmasıdır.

1.5.1.5. Beyin Apsesi

Beyin apseleri en sık 3-4. dekattaki erkeklerde görülür ve otojenik kaynaklıdır. Sıklıkla tromboflebit ve periflebit yoluyla oluşur. En sık temporal lob daha sonra serebellumda görülür. Tanı BT ve/veya MRG ile konulur. Parenteral antibiyotik kullanımı ve antiödem tedavi uygulanır. Cerrahi tedavide, beyin cerrahisi ile beraber çalışılır (40).

1.5.1.6. Otitik Hidrosefali

Beyin apsesi veya menenjit olmaksızın İK basınç artışı ile karakterizedir. LST ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Beyin omurilik sıvısı basıncını kontrol altında tutmak esastır (40).

1.5.2. İntratemporal Komplikasyonlar

1.5.2.1. Mastoidit

Mastoid kemikteki hücreler arasındaki septaların erimesi ile karakterize 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, medikal ve cerrahi olabilir. Medikal tedaviye cevap vermiyorsa kortikal mastoidektomi gereklidir (40).

1.5.2.2. 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 eksternal otit ile klinik ayırımında; eksternal otitte timpanik membranın intakt olduğu ve kulak arkası sulkusun silinmediği göz önünde bulundurulmalıdır. Tedavide, subperiostal apsenin drenajı ve kortikal mastoidektomi yapılması önerilmektedir (40).

1.5.2.3. Petrozit

Petrozit aslında kliniği özellik gösteren bir mastoidit tipidir. Her zaman mastoidit vardır. Seyrek görülen bir komplikasyondur. Labirent çevresindeki ve apekteki havalı hücrelerin kronik enfeksiyonudur. Klinik olarak; Gradenigo sendromu (5. kranial sinir irritasyonuna bağlı retroorbital ağrı, otore, 6. kranial sinir paralizisine bağlı diplopi), ateş, sensöröral işitme kaybı (SNİK), aralıklı fasial parali, aralıklı vertigo görülebilir. Tedavisinde enfeksiyonun kontrol altına alınması için topikal ve sistemik antibiyotik tedavisi uygulanır. Tedaviye yanıt alınamayan olgularda komplet mastoidektomi önerilmektedir (40).

1.5.2.4. Labirentit

Labirentin mikrobik ve enflamatuvar hastalıklarıdır. Sıklıkla enfeksiyonun orta kulaktan koklea ve vestibüle yayılması sonucu oluşurlar. Timpanojen yolun yanısıra hematojen yol ve meningojenik yolla da labirentitler gelişebilir. Labirentitler; sınırlı labirentit, seröz labirentit, süpuratif labirentit başlıkları altında toplanmaktadır (1).

1.5.2.4.1. Sınırlı Labirentit

Labirentin bir bölümünün enfeksiyonu veya enflamasyonudur. Bu genellikle lateral semisirküler kanalın eksternal ucudur. Sınırlı labirentitin en sık sebebi, fistül oluşumu ile birlikte lateral kanala erode olmuş bir kolesteatomdur. Oval veya yuvarlak pencere yoluyla da toksinler labirente ulaşabilir. Tedavi birincil olarak, KOM ve/veya kolesteatomaya bağlıdır. Cerrahi tedavi altta yatan hastalık sürecine yönelik olmalıdır. Erode olmuş labirentten kolesteatomanın matriksi temizlenerek, fistül ağzı bağ dokusu ile kapatılır. Eğer sınırlı labirentit ameliyattan önce veya sonra akut safhaya gelirse yeterli antibiyotik tedavisi uygulanmalıdır (1, 35).

1.5.2.4.2. Diffüz Seröz Labirentit

İç kulağın enfeksiyon ürünleri ve enflamasyon süreci ile irritasyondur. Daha çok kolesteatomlu KOM'un komplikasyonu olarak gelişir. Seröz labirentit sınırlı labirentit ile süpüratif labirentit arasında bir tablodur. Seröz labirentitler, orta kulaktaki toksinlerin veya bakterilerin preforme yollar (yuvarlak veya oval pencere) veya kemik labirentteki bir fistül aracılığıyla iç kulağa ulaşması şeklinde gelişirler. Özellikle yuvarlak pencere yarı geçirgen bir zarla iç kulağı ayırdığı için, toksinlerin geçmesine elverişli bir yol görevi yapar (35). Esas patoloji labirentin non-pürülan bir enflamasyondur. Seröz labirentit olduğu sürece intrakraniyal invazyon tehlikesi yoktur. Seröz labirentteki enflamasyonun tedavisi direkt olarak etyolojik faktöre yöneliktir. Seröz labirentit AOM'ye bağlı ise, miringotomi ve antibiyotik tedavisi yapılır. Kolesteatom veya perilabirentin osteitis varlığında ise mastoidektomi ile birlikte hastalıklı kemiklerin çıkarılması ve antibiyotik tedavisi uygulanır. Akut devrede kesin yatak istirahati endikedir. Hastaya yüksek dozda geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi başlanır. Kusmayı önlemek için antiemetik verilir. Kusmaya bağlı sıvı ve elektrolit açığını kapatmak için intravenöz hidrasyon uygulanır (1, 41)

1.5.2.4.3. Diffüz Süpüratif Labirentit

Akut seröz labirentitlere göre daha az görülür. Bakteriyal enfeksiyonun labirente yayılması seröz labirentitlere benzerdir, fakat doku yıkımı kalıcı ve daha şiddetlidir. Otojenik süpüratif labirentitin tedavisinde hastanın hastaneye yatırılarak yakından izlenmesi ve intrakraniyal yayılımın başlangıcının semptom ve bulguları açısından devamlı gözlenmesi en önemli unsurdur. Labirentitin tedavisinden ziyade intrakraniyal yayılımı önlemek için geniş spektrumlu antibiyotikler verilir. Başağrısı (genellikle oksipital), ense sertliği, Kernig bulgusu, ateş ve fasial paralizi gibi semptom ve bulguların saatlik takibi yapılmalıdır. Eğer işitme total olarak kaybolmuş ve iltihap menenklere ulaşmışsa ameliyat endikedir. Ameliyatta radikal mastoidektomi ve bunun ardından labirent drenajı yapılmalıdır (1, 42, 43).

1.5.2.5. Labirent Fistülü

Kemik ve membranöz labirenti erode eden geniş fistül ve sadece kemik labirenti etkileyen kemik fistülü olmak üzere iki tiptir. KOM nedeni ile opere olan hastalarda yaklaşık olarak % 7 oranında labirent fistülü saptanmıştır. Lateral SSK tutulumu % 61 oranında izlenir (44).

Labirentin fistül kolesteatoma dışında granülamatöz KOM'da da oluşabilir. Canal wall-down 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. Sadece endosteumda kalınlaşma ve kronik lokalize labirentit tablosu izlenmiş (45). Labirent fistülü tanısı fistül testinde nistagmusun ve baş dönmesinin varlığı ile konur. Kitle etkisi ile fistül testi negatif sonuç verebilir. Fistülü tespit etmek için aksiyel ve koronal kesitler birlikte alınmalıdır. Özellikle aksiyel kesitlerde fistülü değerlendirmenin daha doğru olacağı belirtilmektedir. Tedavide parenteral antibiyotik başlanmalı, mastoidektomi ile kolesteatoma eradike edilmeli ve fistül cerrahi olarak kapatılmalıdır (46).

1.5.2.6. Fasial Paralizi

Çocuklarda sıklıkla AOM sonucu gelişir, bu durum kanalın konjenital açıklığını düşündürür (47). AOM'den iki hafta veya daha sonra olan fasial paralizi, kemik destrüksiyonunu düşündürür (47). KOM sonucu oluşmuşsa % 80 oranında kolesteatomalı KOM sonucudur ve fasial kanal açılmıştır. Fasial 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 (48).

1.6. Komplikasyonların Gelişmesinde Yayılım Yolları

Orta kulak enfeksiyonunun komplikasyona yol açması 3 yolla olur:

1.6.1. Preforme Yollardan Yayılım

Orta kulak iltihabı kafa içine geçmek için, önceden var olan açıklıklardan yararlanır. Bunlara preforme yollar denir. Bunlar; oval ve yuvarlak pencere, konjenital açıklıkları ve cerrahi müdahale yada travma sonucu oluşan açıklıklardır. Enfeksiyon, orta kulaktan oval veya yuvarlak pencere yoluyla labirente veya meatus acusticus internusa gider. Perilenfatik veya endolenfatik kanal ve kese ile labirentten meninkslere açılır. Orta kulak ile kafa içi arasında kemik yapıda doğuştan açıklıklar var olabilir. Hipotimpaniumda juguler bulb üzerinde, tegmen timpanide, petroskuamozal ve petrotimpanik sütür hatlarında, fasial kanalın horizontal parçası üzerinde açıklıklar olabilir (49).

1.6.2. Kemik Erozyonu ile Yayılım

Bu yolla yayılım, iyi pnömatize 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. En çok mastoid kemiğin havalı boşlukları, mastoid kemik korteksi, petröz piramid, tegmen timpani, sigmoid sinus ön ve arkasındaki havalı boşluk bölgelerinde görülür (49).

1.6.3. 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. AOM sonucu oluşan komplikasyonlar daha çok preforme yollar, tromboflebit aracılığıyla yayılım sonucu, KOM sonucu oluşan komplikasyonlar daha çok kemik erozyonu yoluyla oluşur (49).

1.7. Kolesteatomanın Tanımı Ve Tarihçesi

Kolesteatoma deyimini Alman biyokimyacı J. Muller'e aittir. Muller, kolesteatomanın safra tuzları ve yağ asitleri içerdiğini saptayarak bu dokuya safra ve yağ asitleri içeren tümör anlamına gelen "kolesteatoma" adını vermiştir. 1962 yılında Gray, kolesteatoma için, yanlış yerde bulunan deri tanımını önermiştir. 1993 yılında Strunk bu tanımlı kelime olarak biraz değiştirerek anlam olarak klinik patolojiyi daha iyi tanımlayan "Kolesteatoma yanlış yerde gelişen deridir" tanımını yapmıştır. Kolesteatomanın histolojik incelemesi derinin bütün katlarına sahip olduğunu göstermiştir. Ancak bu katların kalınlıkları normal deriden farklıdır (1). Kolesteatoma dokusunu daha iyi anlamak için normal deri dokusunu tanımlamak gerekir. Deri dokusu; epidermis, dermis ve hipodermis olarak üç tabakadan oluşur. Epidermis en ince tabaka olup beş kattan meydana gelir (50).

1. Stratum korneum: En dışıdır, ölü hücrelerden oluşur.
2. Stratum lusidum: İnce, yoğun eozinofilik hücrelerden oluşur.
3. Stratum granulosum: Bazofilik granüller içeren, 2-4 kat halindeki, oval hücrelerden oluşur.
4. Stratum spinosum: Çok kenarlı polihedral hücrelerden oluşur.

5. Stratum germinativum: Bazal tabaka olarak da bilinir. Derinin yenilenmesini sağlayan, mitotik aktivitesi yüksek hücrelerden oluşur (30, 51).

Dermis, epidermisin altında yer alır. Papiller ve retiküler tabakadan oluşur. Hipodermis en derinde olup yağ dokusu, bağ dokusu, vasküler yapılar, sinir ve kıl foliküllerini içerir. DKY kemik duvarı üzerindeki deri, epidermal tabakaların özelliklerini taşır. Epidermis altında çok ince bir tabaka bulunur ve ince bir periost ile kemiğe yapışır.

Kolesteatomanın yapısı da epidermise yakındır. Dıştan içe doğru dört tabaka içerir (50).

1. Stratum korneum: İnce, çok katlı keratinize çekirdeksiz hücrelerden oluşur.
2. Stratum granulozum: İnce olup dejenerasyon gösteren, sitoplazmaları bazofilik granüller içeren hücrelerden oluşur.
3. Stratum spinozum: Polihedral, çok kenarlı hücrelerden oluşur. Az sayıdaki keratinositlerin arasında langerhans hücreleri yer alır.
4. Stratum germinativum: Prizmatik bazofilik çekirdekli hücrelerden oluşur. Arada, küçük Merkel hücreleri bulunur. Germinatif tabaka kolesteatomanın matriksi olarak da bilinir. Mitotik aktivitesi yüksek olup derinin yenilenmesini sağlar (doğurgan tabaka). Germinatif tabaka, bazal membran aracılığı ile bağ dokusu ile temastadır. Bağ dokusu tabakası ince retiküler ve esnek liflerle kemik düzleme yapışmıştır (51).

Kolesteatomanın diğer bir özelliği de sürekli keratin üretmesidir. Deride stratum korneum tabakası bu keratinin kaynağıdır. O halde kolesteatomanın özelliklerinden biride deskuame epiteller yanında keratin de bulundurmasıdır. Kolesteatomanın özelliklerinden biri ve belki de en önemlisi kemik erimesine neden olmasıdır. Kemik erimesi diğer KOM tiplerinde de görülebilir. Ancak kolesteatomada daha geniş ve en az iki kez fazla görülmektedir. Kemik erimesi kolesteatomayı tehlikeli yapan özelliklerden biridir. Kemik erimesi iletim tipi ya da SNİK'nın yanısıra, temporal kemik ve kafa içi komplikasyonlara da neden olan önemli bir süreçtir (1). Yukarıda da belirttiğimiz gibi kolesteatoma, matriks denilen bazal germinatif tabakanın sürekli ürettiği deskuame epitel ve keratinin yaptığı, benign olmasına rağmen destrüktif bir karakter taşımaktadır (1, 2). 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 (52) ve proliferasyon marker düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiştir (53). Kolesteatoma histopatogenezi hala tam olarak anlaşılammıştır. Oluşumu konusunda teoriler olmakla birlikte tam olarak yanıt verilebilmiş değildir.

1.8. Kolesteatoma Çevresinde Meydana Gelen Reaksiyonlar

Kolesteatoma kitlesine temporal kemiğin gösterdiği reaksiyonlar, uzun kemiklerin osteomyeliti ile karşılaştırılabilir. Bu hastalıkta, kemikte meydana gelen harabiyet, yeni kemik dokusu ortaya çıkmasına neden olur. Kolesteatoma için de aynı şeyler söylenebilir. Ancak osteomyelit terimi ancak medullası olan kemikler için kullanılabilir. Kolesteatomaya komşu olan kemiklerde ise önce osteit meydana gelir ve gerek korteks ve gerekse de havalı hücrelerin septaları reaksiyona girer. Kolesteatomanın neden olduğu kemik dokusu reaksiyonları diğer KOM vakalarında da aynıdır. Ancak kolesteatomada kemik doku reaksiyonları daha sıklıkla ve daha geniş bir alanda görülür. Kolesteatoma ile meydana gelen kemik harabiyetinde kolesteatoma kitlesi doğrudan kemikle temasta değildir. Çok ince de olsa kemik ile kolesteatoma matriksi arasında bir bağ dokusu bulunur ve kemik harabiyetini kolesteatoma kitlesinden ayırır. Bu tabaka bazen ileri derecede inflamasyon gösterebilir ve bazı vakalarda granülasyon dokusuna dönüşebilir (54). Kolesteatomaya bağlı kemik reaksiyonları ve harabiyeti mastoidde, DKY'de, kemikçiklerde ve labirentlerde görülebilir.

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

Bilindiği gibi kemik dokusu, hücreler (osteosit) ve hücreler arası maddelerden oluşur. Osteositler arası maddeleride substantia fundamentalis ile kollojen liflerden oluşmuştur. Substantia fundamentalisin içine çoğunluğu kalsiyum tuzları olan

inorganik maddeler çökmüştür. Kemik erimesinde iki faz vardır: İlk devre demineralizasyondur. Bu devrede kollojen liflere bağlı inorganik maddelerin açığa çıkması ve liflerin serbest kalması gerektir. İnorganik maddelerin çoğu kalsiyum tuzlarından oluştuğu için bu devreye dekalsifikasyon adı da verilmektedir. Dekalsifikasyonla kollojen liflerden oluşan organik matriks serbest kalır. İkinci devre enzimatik devredir. Kolesteatomalarda meydana gelen kemik erimesinin tek nedeni yoktur. Basınç nekrozu, kronik osteomyelit, osteoklastlarla rezorpsiyon, monositer rezorpsiyon, enzimatik rezorpsiyon, lokal Ph değişiklikleri, vasküler proliferasyon gibi mekanizmaların kolesteatoma bağlı kemik erimesinde rolü olduğu düşünülmektedir (54).

1.8.1. Mastoiddeki Değişiklikler

Eğer kolesteatoma kitlesi enfekte değilse mastoidde herhangi bir reaksiyon görülmez. Ancak bunun için de mastoidde enfeksiyon bulunmaması gereklidir. Eğer kolesteatoma enfekte ise tıpkı diğer KOM'larda olduğu gibi mastoidde osteit gelişir. Pnömatize mastoidlerde osteitin gelişmesi daha hızlı olur. Buna karşılık sekonder olarak yeni ve sklerotik kemik dokusu gelişimi gerçekleşir (55, 56). Kolesteatoma kitlesi ile mastoid hücrelerin ağızlarını tıkar ve havalanma bozukluğuna neden olur. Havalanamayan hücrelerde ise kolesterol granulumu gelişir. Hücrelerin içerisinde mavimsi bir renk farkedilir. Bazı vakalarda bu renk, siyah yeşil tondadır. Kolesterol granulumu için önce fibröz bir granülom şarttır. Fibröz dokunun içine kolesterol kristalleri çöker ve çevrelerinde her yabancı cisimde olduğu gibi dev hücreler gelişir.

1.8.2. Kemik DKY'deki Değişiklikler

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

1.8.3. Kolesteatomada Kemikçikler

Kolesteatomada kemikçiklerin harabiyeti çok sık olarak görülen bir durumdur (1, 54). Kolesteatomaların yerleşme yerine göre farklı kemikçiklerde harabiyet görülür ve en sıklıkla görülen inkusun uzun kolunun harabiyetidir. Buna karşılık lentiküler proses sağlam kalır ve stapesin başına yapışık bulunur. İnkusun uzun

kolunun sık olarak harap olmasının nedeni, buradaki kan akımının kolayca etkilenmesidir. Ancak pars flaksida kolesteatomalarında inkusun kısa kolu, gövdesi ve malleusun başı birinci derecede harap olan kemikçiklerken inkusun uzun kolu sağlam kalır. Anterior attiki tutan kolesteatomalarda ise birinci derecede malleusun başı zarar görür ve inkus sıklıkla sağlamdır. Ancak epitelizasyon vakalarında manibriumun alt ucunda harabiyet saptanır. Pars tensadan gelişen kolesteatomalarda ise önce inkusun uzun kolu, daha sonra da stapes suprastriktürü erir. Genellikle stapes tabanı uzun süre sağlam kalır. Histolojik çalışmalar yassı epitelin direk olarak kemikçiklere temas etmediğini, arada ya bağ dokusu ya da granülasyon dokusunun bulunduğunu göstermiştir.

1.8.4. Kolesteatomada Labirent Değişiklikleri

Kolesteatomanın labirente yaptığı tahribatın en önemlisi lateral SSK'larda meydana gelen fistüllerdir. Akyıldız'a (1) göre fistül olasılığı % 11 olarak değerlendirilebilir. Fistül genellikle lateral SSK'nın en çıkıntılı kısmında görülür ve daha çok arka kısmını işgal eder. Ayrıca, superior SSK ve nadiren de bazı vakalarda posterior SSK'da fistül saptanmıştır. Lateral SSK'daki fistülle birlikte fasial sinirin ikinci parça açıklık bulunma olasılığı % 35'tir (1). Lateral SSK'nın beyazlığının kaybolması ve burada mavi bir çizginin oluşması fistül habercisi olarak kabul edilir. Bunun dışında iki tip fistül ile karşılaşılabilir:

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

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

Akyıldız fistüllerde altı değişik evre bulunduğunu bildirmişlerdir (1) .

1. Devre: Fistül habercisi

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

3. Devre: Küçük fistüldeki gibi kenarlar düzgündür ve endostium erimiştir.

Fakat labirent içinde herhangi bir değişiklik yoktur.

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

5. Devre: Membranöz kanal yuvarlak hücrelerle doludur. Yaygın bir labirentit

söz konusudur. Bu devreye ulaşmış hastalarda sensörinöral işitme kaybı bulunur.

6. Devre: Yarım daire kanalının içinde kolesteatoma vardır.

Bu sınıflamaya göre ilk iki devrede fonksiyonel bakımdan iyi sonuçlar almak mümkündür. Üçüncü devrede dikkatli davranmak ve fistül üzerinde çalışmamak gereklidir. Altıncı devreye ulaşmış fistüllerde ise mutlaka labirentektomi yapılmalıdır. Kolesteatomaya bağlı olarak promontoryumda fistül görülmesi çok nadirdir. Oval pencerede de fistüle çok seyrek rastlanır. Ancak petröz apeks kolesteatomalarında, kokleanın açılması, karotis kanalının ya da fasial sinirin birinci parçasının açığa çıkması sık görülen komplikasyonlardandır (1).

1.8.5. Kolesteatomada Fasial Sinir

Kolesteatoma fasial kanalı destrükte ederek timpanik parça boyunca üst ve ön kısımda fasial siniri açabilir. Büyük kolesteatomalarda ise fasial sinirin mastoid segmenti de açılmış olabilir. Açıklık daha çok ikinci dirseği geçtikten hemen sonra ya da apeks bölgesine yakın kısımlarda daha sıklıkla görülür. Petröz apeks kolesteatomalarında ise genikulat ganglion ve birinci parça, kısmen ikinci parça da açıkta olabilir. Kolesteatomalı KOM'larda diğer bir güçlük de matriksin parçalanıp granülasyon dokusunun geliştiği vakalardır. Bunlarda oval pencere ve fasial sinirin timpanik parçası granülasyon dokuları ile örtülü olabilir. Bunların arasından stapesi ve fasial sinirin ikinci parçasını diseke etmek büyük sorun yaratabilir (1).

1.8.6. Kolesteatomada Dural Plate ve Lateral Sinüs

Büyük kolesteatomalarda dural plate açılabilir. İncelmiş kemik tabakası kolesteatoma matriksini duradan ayırır. Komplikasyonlu vakalarda ise bu bölgede granülasyon dokusuna rastlanır. Bunlar temizlenince dura ortaya çıkar. Genellikle rengi değişmiştir, sedef parlaklığı kaybolur. Mat grimsi bir renk görülür. Bu bölgede pulsasyon da kaybolmuştur. Sinüs lateralisin açık olduğu vakalar için de aynı şeyler söylenebilir. Sinüs üzerindeki granülasyonlara diseksiyon yaparken dikkatli olunmalıdır. Çünkü granülasyonu diseke ederken sinüsü açma olasılığı vardır (1).

1.9. Kolesteatomanın Patogenezi

Patogeneizde, kolesteatoma oluşumu edinilmiş ve doğumsal olmak üzere iki ana grupta toplanabilir.

1.9.1. Edinilmiş Kolesteatomalar

Primer ve sekonder olmak üzere iki alt gruba ayrılır.

1.9.1.1. Primer Edinilmiş Kolesteatomalar

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

İnvaginasyon Teorisi: Tuba fonksiyon bozukluğu nedeniyle negatif basınç oluşur. Pars flaksida retraksiyon ve enflamasyon sonucu epitel ile mukoza sınırında bozulma meydana gelir ve skuamöz epitel içeri girer. Attik submukozasında hiperplazi meydana gelir. Attik boşluğu daralarak Shrapnell membranında ilerleyici çökme olduğu Wittmack tarafından ifade edilmiştir. Doğumda orta kulak, attik ve mastoidde embriyonel mezenkimal doku mevcuttur. Doğumdan bir süre sonra kendiliğinden çekilir. Bazen bu olay uzar ve çekilme gecikir. Zamanla steril veya bakteriyel olmayan enfeksiyonlarla bir enflamasyon gelişir. Sonuçta özellikle attikte kalın bir fibrotik doku meydana gelir. Bu fibrotik doku attikte blokaj yapar ve oluşan negatif basınç fibröz dokudan zayıf olan pars flaksidayı eldiven parmağı gibi içeri çeker. Bu kulaklarda mastoid boşluğun havalanması da bozulmuştur. Zamanla cebin içinde keratin toplanır, klirens bozulur ve enfeksiyonlarla kolesteatoma gelişir. Görünüşleri bazen marjinal perforasyon şeklinde aldatıcı olabilir. Gerçekte perforasyon olmayıp bir invaginasyon söz konusudur (57, 58).

Bazal Hücre Hiperplazisi Teorisi: Pars flaksidadaki epitel hücreleri proliferasyon olarak subepitelial dokuya invaze olur. Enfeksiyonlarla timpanik membranın fibröz tabakası ve bazal lamina tahrip olursa, bazal hücre artışıyla subepitelial boşluğa papiller çıkıntılar şeklinde epitel dokusu girmektedir. Burada da bazal lamina yıkılır ve epitelial hücreler subepitelial bağ doku içine girerek mikrokolesteatomalara yol açar (59, 60).

Efüzyonlu Otit Teorisi: Uzun süren efüzyonlarda orta kulak ve mastoid havalanması bozulur. Arka kadranda, özellikle attikte negatif basınçla retraksiyon cepleri oluşur. Zaman içinde klirens bozulur ve keratin toplanır. Enfeksiyonların yardımıyla kolesteatoma gelişir (59-61).

Epitelial Göç Teorisi: Göç olayı sırasında stratum korneumun hareketidir. Merkezde hızlı, çevreye doğru yavaştır. Atektazik 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 (59-61).

1.9.1.2. Sekonder Edinilmiş Kolesteatomalar

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

Oluşumlarıyla ilgili üç değişik görüş vardır (59-61).

Epitel İnvazyon Teorisi: Buna teoriye göre; keratinize skuamöz epitel, timpanik membrandaki perforasyondan içeri girmektedir. Epiteliyal hücreler, buldukları düzlem boyunca ilerler (kontakt ilerleme). Ancak başka tip bir epiteliyal yüzeyle karşılaşınca (mukoza epiteli) ilerlemeleri durur (kontakt inhibisyon). Normalde DKY'de epitel göçü dışı doğrudur. Epitel dokusu ters yönde ilerleyerek perforasyondan içeri girer. Kolesteatoma matriksindeki epitel göç hızının fazla olduğu bilinmektedir. Enflamasyon nedeniyle mukozal epitel tahrip olmakta ve perforasyon kenarından içeri giren epitel dokusu kolaylıkla mukozal epitelin yerini alarak kolesteatoma oluşturmaktadır (59-61).

Epitel İmplantasyon Teorisi: Epitel implantasyonu daha çok iatrojenik kolesteatomaların oluşumu için geçerlidir. Cerrahi girişimler sırasında zar veya DKY epiteli orta kulağa kaçar. Greft altında kalan epitel artıkları, içeri kıvrılmış DKY deri flepleri ve ventilasyon tüpü uygulamalarından sonra görülen kolesteatomalar bunlara örnektir. Ayrıca; kazalar, travmalar ve benzeri nedenlerle oluşan perforasyonlardan içeri implante olan epitel dokusu da ileride kolesteatoma oluşturabilir (60).

Epiteliyal Metaplazi Teorisi: Bu görüşe göre orta kulaktaki kübik epitel, keratinize skuamöz epitele dönüşmektedir. Kronik ve yineleyici enfeksiyonlar sonucunda orta kulak mukozasında deskuame ve keratinize skuamöz epitel alanları ortaya çıkmaktadır. Aralıklı devam eden enfeksiyon ve enflamasyon, alttan zara temas ettiğinde lizis ve perforasyona neden olarak attik kolesteatoması görünümü verebilir (62).

1.9.2. Doğumsal Kolesteatomalar

Kolesteatoma, sağlam timpanik membran arkasında gelişerek belirti vermektedir. Timpanik halka, DKY skuamöz epitelinin orta kulakla ilişkisini sınırlamaktadır (62). Timpanik halkanın oluşması gecikirse, DKY 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 (33).

1.10. Kolesteatomanın Klinik Tipleri

1.10.1. Edinilmiş Kolesteatomalar

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

1. Posterior Epitimpanik Kolesteatoma: Arka attikte yerleşen kolesteatoma, Prussak boşluğunu delerek arkaya doğru, inkusun dış yüzünden geçerek önce aditusa, sonra da antruma girer. Aynı kolesteatoma, Prussak boşluğunun tabanını delerek, Von Troeltsch boşluğunun arka kısmını kullanarak orta kulağa da geçebilir (62).

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 (62).

3. Posterior Mezotimpanik Kolesteatoma: Pars tensanın arka kısmı, mezotimpanuma doğru retrakte olarak kolesteatoma kesesi oluşturur. Kese genişledikçe, sinus timpani ve fasial resese doğru ilerler (62).

1.10.2. Doğumsal Kolesteatoma

Sağlam timpanik membran arkasında beyaz kitle olarak ve çoğu kez belirti vermediği için rastlantıyla saptanır. Olguların 2/3'ünde orta kulağın ön-üst 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. Kraniyumun içinde herhangi bir yerde, ancak özellikle orta kulak, mastoid, petröz apeks ve dış kulak kanalında yerleşir (62).

1.10.3. Petröz Apeks Kolesteatoması

Petröz apeks kolesteatomaları oldukça seyrek görülürler. Konjenital ve edinsel olarak iki gruba ayrılırlar. Embriyonel hayatın 7. haftasında DKY epitelini ile orta kulak mukozası aralarında mezenkimal bir doku olmadan karşı karşıya gelmekte ve petröz apeks kolesteatomalarının bu esnada oluşabileceği düşünülmektedir (63).

Gacek'e göre (64); embriyonel hayatın 3. ve 5. haftaları arasında nöral çatı kapanır ve başın sefalik fleksiyonu esnasında epitelyal kalıntılar foramen laseruma doğru migrasyona uğrayabilir ve bu epitelyal kalıntılardan kolesteatom meydana gelebilir. Edinsel petröz apeks kolesteatomları ise KOM sonucunda ortaya çıkan kolesteatomların sekonder olarak petröz apeksi tutması ile meydana gelir (63).

1.10.4. Dış Kulak Kanalı Kolesteatomaları

Kemik dış kulak kanalının arka-alt kadranında keratin debrislerinin toplanmasıyla karakterize nadir bir otolojik tablodur. DKY kolesteatomu primer yada sekonder olarak meydana gelebilmektedir. Primer DKY kolesteatomu çok nadir görülen bir tablo olup insidansının 1000 yeni kulak hastasında 1 olduğu bildirilmiştir. DKY kolesteatomu için; spontan, konjenital (konjenital DKY stenozuna bağlı), iyatrojenik (kulak ameliyatları sonrasında), travma sonrası, obstruksiyon bağlı (obstruksiyon yapan osteoma, fibröz displazi, yabancı cisim gibi nedenlere bağlı) ve enflamasyona bağlı (kronik eksternal otit sonrası) şeklinde sınıflamalar da yapılmıştır (65). DKY kolesteatomunun etyopatogenezi tam olarak ortaya konulamamıştır. Burada iki temel teori vardır: birincisi, kanal derisine olan minör travmalar sonucu meydana gelen enflamasyon periosta kadar inmekte ve kemik nekrozuna neden olmaktadır. Bu nekrotik kaviteye skuamöz epitel girer ve keratin debrisler toplanmaya başlar. İkinci görüş ise migrasyon hızının azalmasına bağlı olabileceğidir. Migrasyon hızının azalması timpanik membran ve DKY derisinin kanlanmasıyla azalmasına bağlı meydana gelen hipoksik durum ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (66, 67).

1.10.5. 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 epiderminin alta katlanıp kalmasıyla da oluşabilir. Orta kulak boşluğunda yerleşenler için timpanotomi yapılarak "pearl" alınır, çevresi kontrol edilir, gerekirse yeni greftleme yapılır (1).

1.10.6. Rezidiv Kolesteatomalar

Bunlar, rezidüel ve rekürren olmak üzere iki grupta incelenir. Rezidüel kolesteatoma cerrahın ilk ameliyatta bilerek veya hata sonucunda bıraktığı skuamöz epitel dokusunun oluşturduğu kolesteatomadır. Çoğunlukla; anterior attik, timpanik sinüsler ve oval pencere çevresinde oluşur. Daha az sıklıkla stapes tabanı ve bacakları arasında ve fasial kanal ile lateral SSK çevresinde kalan epitel dokusundan gelişir. Rekürren kolesteatoma cerrahi olarak tamamen temizlenen, orta kulakta, retraksiyon cebinden kaynaklanan yeni bir kolesteatoma oluşumudur. Bu tip kolesteatomalar, posterior attik ve posterior mezotimpanumda oturur.

1.11. Kolesteatoma Gelişimini Etkileyen Mekanizmalar

Kolesteatoma gelişimini tetikleyen mekanizmalar hala net olarak bilinmemektedir. Bu konu hakkında yapılan araştırmalar sırasında çeşitli faktörler üzerinde çalışılmıştır. Büyüme faktörleri (EGF ve TGF- α), Ki-67, PCNA (6), P27 (7), aktif kaspaz 3 ve 9, (2), sirokeratin (8), kalsisiklin (9), fas/APO1 protein (10), galektinler (11), telomeraz (12), p53 tümör supressör geni (13), APO2.7 (14), bcl-xL (15) başta olmak üzere birçok faktördeki değişimler ve bunların etkileride araştırılmıştır.

EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor), 170 kD ağırlığında EGF ve TGF- α ile uyarılan hücre proliferasyonu için bir reseptör olarak görev alır (68). Kolesteatoma epitelinde ayrıca artmış EGFR ve TGF- α ekspresyonu gösterilmiştir (69). Kolesteatomada keratinositlerin %75'i EGFR ekspresyona ederken normal DKY'de bu oran sadece %10'dur (70). Yetişer ve ark. (71), kolesteatoma epitelinin yüksek oranda EGF içerdiğini ve normal deriye göre daha invazif özellik gösterdiğini saptamışlardır (71). Bu bulgular, aşırı EGFR ve TGF- α sentezinin kolesteatomada hiperproliferasyon hali için bir rol oynadığını düşündürmektedir.

Monoklonal antikor olan Ki-67, proliferasyon yapan hücrelerde görülen bir nükleer proteindir (72). Sudhoff ve ark. (73), yaptıkları çalışmada normal DKY cildinde %7, kolesteatomada ise %17 oranında ekspresyona edildiğini bildirmişlerdir. Kolesteatoma keratinositlerinde proliferasyon oranının normal DKY ile karşılaştırıldığında önemli derecede yüksek olduğu saptanmıştır.

Sitokeratinler (SK) epitelyal hücrelerde bulunan intermediate bir filament proteindir. Farklı tipleri tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda SK 10 maddesinin

DKY epitel ve kolesteatoma matriksi içinde orta kulak mukozasına göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu gözlem kolesteatomanın DKY cildinden kaynaklanabileceğini desteklemiştir (74). Bujia ve ark. (75), jel elektroforezi ve immünohistokimyasal boyama teknikleri ile kolesteatomada SK 16 varlığını göstermişlerdir. SK 13/16 DKY ve retroauriküler deride sadece bazal tabakada boyanma gösterir iken kolesteatomada suprabazal tabakada pozitif boyanma göstermekte ve suprabazal hücre hiperproliferasyonu için bir marker olduğu belirtilmektedir.

PCNA, hücre siklusunda S ve G1 fazında ortaya çıkan bir nükleer antijendir. Normal cilt ile karşılaştırıldığında, kolesteatoma epitelinde yüksek oranda PCNA pozitif hücre bulunmakta, bazal ve suprabazal tabakadaki artmış mitotik indeksin bir göstergesi olduğu bildirilmiş ve buna göre kolesteatoma epitelinin normal deriye göre daha çok proliferatif aktivite gösterdiği sonucuna varılmıştır (68).

Siklin ve siklin bağımlı kinaz (SBK) kompleksi hücre siklusunda önemli rol oynamaktadır (76). Tanaka ve ark. (76), SBK'ların epitel proliferasyonunda etkili olabileceğini bildirmişlerdir. SBK inhibitörü olan P27 tümör baskılayıcı gen olarak bilinir. Pozitif boyanan hücre sayısı kolesteatomada normal DKY cildine göre anlamlı şekilde düşük saptanmıştır. Bu nedenle, kolesteatomadaki hücre siklus kontrolünün kaybına, epiteldeki hiperproliferasyon yeteneğindeki artışın neden olabileceği öne sürülmüştür (7). Fakat literatürde bu konu ile ilgili zıt sonuçlarda vardır. Chae ve ark. (77), kolesteatoma dokusunda P27 ve Ki-67 antikorlarını ekspresyonlarını değerlendirmiş ve her ikisinde de artış saptamıştır. Ki-67 ile boyanan hücreler bazal ve suprabazal tabakada olmasına rağmen, P27 ile boyanan hücreler daha üst tabakalarda izlenmiş. Kolesteatoma epitelinde izlenen hiperproliferasyona rağmen, epitel hücrelerde hücre siklusu durdurma yeteneğinin P27 aktivasyonu sayesinde sürmesi, buradaki proliferasyonun kontrollü olduğunun göstergesi olarak ifade edilmiştir. Bu şekilde malign tümörlerdeki kontrolsüz hücre çoğalmasından ayrıldığı belirtilmiştir.

Olszewska ve ark. (14), apoptoz belirleyicisi olan APO2.7'yi kolesteatoma epitelinde çalışmışlar ve APO2.7 (+) hücre oranını normal cilt ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olarak bulmuş ve apoptotik hücre

oranlarının kolesteatoma epitelinde, DKY cildine nazaran daha yüksek olarak saptanmıştır.

Nükleer fosfoprotein p53 tümör supressör geni hücre siklusunda ve apoptozda rol almaktadır (78-82). Albino ve ark. (13), 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 saptanmıştır.

Bcl-xL, bcl-2 ile ilişkili bir gen dir ve bcl-2 proteini gibi DNA hasarında tümör hücrelerinin apoptozunu inhibe eder (83, 84). Hiromi ve ark. (15), kolesteatoma epitelinde diferansiyasyon ve apoptozda bcl-xL proteinin rolünü araştırmışlardır. Bu çalışmada, apoptotik hücrelerin ortak şekilde süperfisyal epidermal tabakalarda olduğunu fakat bazal hücrelerde olmadığını ve ayrıca kolesteatoma epiteli ile normal DKY cildi arasında fark olmadığını rapor etmişlerdir.

Son yıllarda özellikle apoptozun kolesteatoma patogenezinde oynadığı rol üzerinde durulmaya başlanmış ve çalışmalar bu yönde hız kazanmıştır.

1.12. Apoptoz

Hücreden bir canlı oluşmasında, hücrelerin bölünmesi sonucu çoğalması, yani proliferasyonu çok önem taşımaktadır. Aslında tüm hücre proliferasyonu gen transkripsiyonu, protein oluşturulması, organel hareketi ve hücre hareketinden ibaret bir süreçtir. Tüm bu süreçlerin yanında yaşamakta olan hücreler nekroz ve apoptoz olmak üzere iki farklı mekanizma ile ölürlere (17). Nekroz patolojik bir olay olmasına karşın apoptoz ise fizyolojik veya patolojik uyarılarla oluşabilir (85).

Apoptoz Yunanca'da apo (ayrı) ve ptosis (düşmek) kelimelerinden oluşur. İlk olarak Kerr, Wyllie ve Currie adlı patologlar tarafından 1972 yılında kullanılan bir terimdir (4). 1983 yılında jel elektroforezi ile apoptozda endonükleazların aktive olarak DNA (Deoksiribonükleik asit) kırıklarına neden olduğunu göstermesi ile hücre ölümünün ilk biyokimyasal kanıtı elde edilmiş ve apoptoz ile ilgili çalışmalar hızlanmıştır (86, 87). Apoptozu nekroza ayıran en önemli özellikler apoptozda hücrelerin toplu olarak değil teker teker ölmesi, aktif protein sentezinin gerekmesi, fagositoz sırasında proteolitik enzimlerin ortaya yayılmaması, hücre zarının ve organellerin bütünlüklerinin korunması ve inflamatuvar bir yanıt oluşmamasıdır (17).

Hüresel şişme yoktur. Hücre içi Ca⁺⁺ miktarları düşüktür. DNA da internükleozomal tam kırılma ve mitokondride etkilenme meydana gelir.

Apopitoz embriyonal ve fütal dönemde, özellikle sinir sisteminin ve immün sistemin normal gelişiminde önemli görev almaktadır. Bu, sinir sisteminin gelişim sırasında oluşan çok fazla sayıdaki nöronların hedef sayıya indirilmesi, aksonları hedeflerine ulaşmayan nöronların ortadan kaldırılarak nöronlarla hedef organlar arasında oluşan bağlantı hatalarının onarılması, immün sistemde oluşan fazla ve otoreaktif hücrelerin ortadan kaldırılarak bunların embriyoya ve fütüse zararının engellenmesi şeklinde olur (18). Apopitoz erişkinlerde hormonal yetmezliğe bağlı organ gerilemelerinde, özellikle mensturasyonda endometriyal hücre yıkımında, menopozda over folliküllerinin atrezisinde, laktasyon sonrasında meme bezi gerilemesi ve orşiyektomi sonrasında prostat atrofisinin gelişmesinde rol oynamaktadır (19). Proliferasyona uğrayan hücre topluluklarında rol oynayarak dokulardaki hücre homeostazının sağlanmasında, tümörlerin regresyona gittikleri dönemlerde de apopitoz görülmektedir. Ayrıca T ve B lenfositlerdeki sitokin yetersizliğinde hücreler apopitozla ortadan kaldırılabilir. Hüresel immün red ve graft versus host reaksiyonlarında sitotoksik T lenfositleri aracılığıyla apopitoz oluşmaktadır. Pankreas, parotis ve böbrek gibi organlarda kanal tıkanıklıklarına bağlı gelişen atrofilerde, viral hepatit gibi çeşitli viral hastalıklarda, hücrelerdeki hasarlanma durumlarında (ısı, radyasyon, antikanser ilaçlar, hipoksi vb.) ve yaşlılıkta apopitoz izlenmektedir (17-19).

1.12.1. Apopitotik Hücre Ölümünün Aşamaları

Apopitoz hücre içinden veya dışından gelen sinyallerle başlatılan ve birbirini takip eden bir olaylar zinciri olarak seyreder. Bu aşamalar apopitozun başlatılması, hücre içi proteazların (kaspazların) aktivasyonu, hücrede çeşitli morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerin oluşması ve fagositoz olarak özetlenebilir (85).

1.12.1.1. Apopitozun Başlatılması (Sinyal Üretici Yollar)

Hücrenin apopitoza gidebilmesi için ilk önce, ilgili genetik mekanizmayı harekete geçirecek bir sinyal ile karşılaşması gerekir. Bu sinyal hücre içinden veya dışından gelebilir (18, 85).

1.12.1.1.1. Hücre Dışından Kaynaklanan Sinyaller

Çevresel Yaşam Sinyallerinin ve Büyüme Faktörlerinin Yetersizliği:

Hücreler çevre hücrelerden ve ekstrasellüler matriksden gelen yaşam sinyallerine, büyüme faktörlerine ihtiyaç duyarlar. Bu sinyaller düzenli bir şekilde ve yeterli miktarda olmazsa hücreler apoptoza giderler. Çevreden gelen sinyallerin kesilmesi ile hücre ölümünün nasıl başladığı tam olarak bilinmemektedir. Büyüme faktörüne bağımlı hücrelerin kültürlerinde, büyüme faktörleri çekildiği zaman, hücrelerin metabolizmalarında ani bozulmalar ve hücre siklusunda duraklama olduğu izlenmiştir (18).

Ölüm Reseptörlerinin Aktivasyonu (Reseptör-Ligand etkileşmesi):

Bazı sitokinler hücre membranında bulunan reseptörlere bağlanarak ölüm programını harekete geçiren sinyaller üretebilirler (18, 88). Apoptozda rol alan membran reseptörleri içinde en önemli grup “tumor necrosis factor receptor (TNFR)” ailesidir. Bu reseptör grubunun en az 19 üyesi vardır. Bu reseptörlerin biyolojik etkileri çeşitlidir ve apoptoz ile sınırlı değildir (85). Bir kısmı apoptoz oluştururken, bir kısmı proliferasyona neden olur. Bir kısmı ise her ikisini de oluşturur. TNFR içinde apoptoz oluşturan reseptörlerden en önemlileri Fas ve TNFR1'dir. Bu reseptörler uyarıldıklarında, hücrenin sitoplazmasında bulunan parçaları, “adaptör proteinlere” bağlanır. Adaptör proteinlerin ölüm efektör parçaları vardır. Bunlar da apoptoz için başlatıcı olan kaspazlara bağlanırlar (18, 89).

Fas-Fas ligand Aracılı Apoptoz:

Bu tip apoptoz hücre yüzey reseptörü Fas (CD95, APO-1) aracılığı ile oluşur. Fas ligandın Fas reseptörüne bağlanması ile Fas reseptörünün hücre içinde bulunan parçası, Fas adaptör proteinle birleşerek ölüm başlatan sinyal kompleksini oluşturur. Bu da prokaspaz 8 in aktifleşmesini sağlar. Fas ligand membrana bağlı veya solubl olabilir. Solubl fas ligand immun sistem hücreleri tarafından oluşturulur. Bu ligandın T hücreleri membranında bulunan Fas reseptörüne bağlanmasıyla, immün reaksiyonla aktive olmuş ve görevlerini tamamlamış olan lenfositlerin apoptoz ile yok edilmeleri sağlanmış olur (18, 90).

Tümör Nekroz Faktör (TNF) Aracılı Apoptoz:

Bir sitokin olan TNF'nin TNFR'leri ile birleşmesi sonucunda reseptörün hücre içinde bulunan parçası, TNFR adaptör protein ile etkileşir. Bu protein daha sonra FADD ile birleşerek prokaspaz 8'i aktiveleştirerek apoptoza neden olur (18).

Sitotoksik T Lenfosit Aracılı Apoptoz:

Sitotoksik T lenfositler infekte olmuş olan konakçı hücrelerin yüzeyinde bulunan yabancı antijenleri tanırlar. Sitotoksik T lenfositlerin ana görevi malign ve/veya virus ile infekte olmuş olan hücrelerin öldürülmesidir (18, 91). Yabancı antijenleri tanıdıklarında yüzeylerinde Fas ligand oluşur. Hedef hücrelerin Fas reseptörlerine tutunurlar. Sitotoksik T lenfositler sitoplazmalarında granzyme B (serin proteaz) ve perforin adı verilen ve apoptoz oluşmasını sağlayan proteinler içeren sitoplazmik granüllere sahiptirler (91). Perforin, transmembran por oluşturucu bir proteindir. Sitotoksik T lenfositler hedef hücrelerin membranlarında perforin ile porlar oluşturarak, sitoplazmalarına granzyme B salgırlar. Granzyme B hedef hücrelere girerek kaspazları aktive eder (18).

Hücrelerin Maruz Kaldığı Dış Etkenler:

Hipoksi, ısı, antikanser ilaçlar, radyasyon, gamma ve ultraviyole ışınlar gibi etkenler apoptoza neden olabilirler. Bu etkenler DNA hasarı oluşturarak apoptoz meydana getirirler (18, 92).

1.12.1.1.2. Hücre İçinden Kaynaklanan Sinyaller

DNA hasarı, hücre içi Ca^{++} seviyesinde artış, hücre içi pH'da düşme, metabolik ve/veya hücre siklus bozuklukları hücreyi apoptoza götüren merkezi hücre ölüm sinyallerini başlatabilmektedir (92).

1.12.1.2. Hücre İçi Proteazların Aktivasyonu

İç ve dış sinyallerle hücre içinde bulunan bir grup proteaz aktive olur. Bu proteazlara kaspaz ("caspase"= cysteine –containing aspartate specific proteases) adı verilmektedir. İnsan hücrelerinde 10'dan fazla kaspaz tespit edilmiştir. Sağlıklı hücrelerde kaspazlar, enzimatik olarak inaktif ve aktif forma göre daha uzun bir polipeptid zincir olarak bulunurlar. Buna zimogen form denir. Kaspazlar başlatıcı ve sonlandırıcı kaspazlar olarak ikiye ayrılırlar. Ölüm reseptörleri adaptör proteinler aracılığı ile iç sinyaller ise mitokondri aracılığı ile başlatıcı kaspazları aktive ederler. Aktive olan başlatıcı kaspazlar da, zincirleme olarak diğer kaspazları aktive ederler

(18). İç sinyallerle oluşan apoptozda mitokondri önemli rol oynamaktadır. Sinyaller dış mitokondri zarında geçirgenlik artışına neden olurlar. Geçirgenliğin artması, mitokondrinin iki zarı arasında bulunan sitokrom c'nin sitozole çıkmasına neden olur. Sitokrom c sitoplazmada apaf 1, kaspaz 9 ve ATP ile birleşir. Oluşan yapıya apoptozom denir. Apoptozom sonlandırıcı kaspaz olan kaspaz 3' ü aktive ederek apoptoza neden olur (93, 94). Hücrede iç veya dış nedenlerle DNA hasarı olduğunda aktive olan bazı genler, hücrenin apoptozuna neden olabilir. Bu genlerden en önemlisi p53 genidir. İnsan tümörlerinin %50'den fazlasında mutasyona uğradığı tespit edilen p53 geninin, kanser oluşumunu önlemede kritik rol oynadığı kabul edilmektedir. Normalde inaktif durumda bulunan p53 geni, DNA hasarı olduğunda aktifleşerek p21 genini harekete geçirir. p21 geni hücrenin geç G1 fazında kalarak, S fazına geçmesini engeller. Böylece hücre siklusu durdurularak oluşmuş olan DNA hasarlı hücrenin çoğalması engellenir (18, 95, 96).

1.12.1.3. Hücrede Oluşan Biyokimyasal Değişiklikler

Sonlandırıcı kaspazlar aktive olduktan sonra sitoplazmada ve çekirdek içinde hedef proteinleri yıkarlar.

DNA Kırıklarının Oluşması: Çekirdek içine giren Ca^{++} - Mg^{++} bağımlı endonükleaz, DNA kırıkları oluşturur. 180 baz çifti ve katları şeklinde kırılma oluşur (18, 97).

Hücre İskeletinin Yıkılması: Kaspazların aktifleştirdiği bir başka protein ise hücre iskeletinin ana bileşenlerinden olan aktini yıkan bir proteindir. Aktin filamanlarının yıkılması ile hücre normal şeklini kaybeder (97).

Hücre Membran Değişiklikleri: Kaspazların etkisiyle hücre membranının asimetrisi bozular. Plazmalemmmanın iç yüzünde bulunan fosfatidilserin yer değiştirerek membranın dış yüzüne yerleşir. Bütün bu membran değişiklikleri apoptotik hücrelerin çevre fagositler tarafından farkedilmelerini ve fagositozlarını sağlamaktadır (18, 85). Transglutaminaz aktivasyonu ile membran proteinlerde oluşan çapraz bağlanmalar, membranların parçalanmasını ve apoptotik cisimlerin oluşmasını sağlar (18).

1.12.1.4. Morfolojik Değişiklikler

Hücreler özelleşmiş yüzeysel yapılarını ve diğer hücrelerle olan temas yüzeylerini kaybederler. Su kaybederek küçülürler, büzülürler. Sitoplazmanın

yoğunlaştığı, organellerin birbirlerine yakınlaştığı izlenir. Membranlar bütünlüklerini korurlar. Organeller genel olarak sağlamdır. Sitoplazmada yüzeye paralel yerleşmiş mikrofilaman kümeleşmeleri ve endoplazmik retikulumda geçici genişlemeler görülür. Bu genişlemelerin sitoplazmadaki suyun endoplazmik retikuluma geçmesi ile oluştuğu sanılmaktadır. Dilatasyona uğrayan sisternalar hücrenin yüzeyi ile birleşerek yüzeyde krater manzarası oluşturur. Mitokondriler genellikle normal yapılarını korurlar (18). En önemli değişiklikler çekirdekte izlenir. Kromatin çekirdek membranına yakın kısımlarda yoğunlaşarak, değişik şekil ve büyüklüklerde çöker. Elektron mikroskop ile bakıldığında kromatinin yoğun granüler yarım ay, hilal veya yüzük şeklinde çekirdek membranının iç yüzünde yerleştiği izlenir. Çekirdek de hücre gibi büzülür. Bazen membranla sarılı olarak birkaç parçaya ayrılabilir. Nükleer porlar kromatinin membrana komşu olmadığı bölgelerde yoğunlaşırlar (18). Apoptotik süreç ilerledikçe hücrelerde sitoplazmik çıkıntılar oluşur. Hücre daha sonra membranla çevrili küçük parçalara bölünür. Bunlara “apoptotik cisim” adı verilir. İçlerinde sitoplazma ve sıkıca paketlenmiş organeller bulunur. Bazılarında çekirdek parçaları da mevcuttur. Apoptotik cisimler çevredeki parenkim hücreleri ve fagositler tarafından fagosite edilerek dokudan temizlenir (18).

1.13. Bcl-2 Proteini ve Ailesi

Bcl-2 ile ilgili proteinler yapısal ve işlevsel durumlarına göre üç grup altında sınıflandırılırlar (98, 99). Bcl-2 alt grubu, bcl-2, bcl-XL ve bcl-w'den oluşur. Dört bölgeleri (BH1, BH2, BH3, BH4) kuvvetli benzerlik gösterir. Hepsinin antiapoptotik aktivitesi vardır. Mitokondri dış zarına yerleşirler. Bax alt grubu bax ve bak'dan oluşur. BH1, BH2 ve BH3 bölgelerinde bcl-2'ye benzerlik gösterirler ve hepsi proapoptotiktir. Yapı olarak bazı bakteriyel toksinlerin por oluşturan proteinlerine benzerlik göstermeleri en azından kısmen hücre içi zarlarda (mitokondri, endoplazmik retikulum ve çekirdek zarı) kanallar oluşturma potansiyelleri olabileceğini düşündürür. Bik alt grubu proapoptotik bik, bid ve bim'den oluşur. Bunlar yalnız BH3 bölgeleri bcl-2'ye benzerlik gösterdiği için BH3 proteinler olarak da adlandırılırlar. Belirgin özellikleri heterodimerler oluşturmaları ve böylece eşlerinin aktivitelerinin düzenlenmesini sağlamalarıdır (100).

Bcl-2 dağılımı hücre tipine bağlı olarak değişen bir hücre içi zar proteinidir. Bcl- 2'nin en fazla yerleştiği yerler mitokondri, düz endoplazmik retikulum ve

çekirdek çevresindeki zardır. Mitokondri dış zarı, endoplazmik retikulum ve çekirdek zarı reaktif oksijen türlerinin yapıldığı yerlerdir. Bcl-2 geni 18. kromozomda yerleşen bir onkogendir 24 kDa bir proteini kodlar (101, 102). İlk kez B-hücreli lösemi ve folliküler lenfomalarda t(14;18) translokasyon çalışmalarında tanımlanmıştır (103, 104). Bu translokasyon sırasında bcl-2 geni 18. kromozomdaki normal lokalizasyonundan hareket ederek 14. kromozomdaki immüoglobülin ağır zincir lokusuna bağlanır. Sonuç olarak bcl-2 geninin yeniden düzenlenen ekspresyonu neoplastik süreçte önemli bir adım olarak görülür (103). Bcl-2 her hücre ölümünü önlemez. Timositlerin negatif seçiminde etkisi yoktur. Sitotoksik T hücreye bağlı apoptozu bazen önleyebilmesi sonuçların doza bağlı olabileceğini düşündürür. Ancak bcl-2'nin hematopoetik (105), lenfoid ve fibroblastik hücrelerde büyüme kaybı, nöronlarda nörotropik faktörlerin olmaması (106), ultraviyole ve γ -radyasyon (107), ısı-şok proteinlerinin (heat-shock) (108), bazı sitotoksik lenfokin tipleri (TNF) (109), kalsiyum iyonoforları (110), L-glutamat gibi uyarıcı nörotransmitterler (111) ve serbest radikal yapımını uyaran ajanlar (112) ile oluşan hücre ölümlerini engellediği gösterilmiştir. Çok farklı uyarılar ve hücre içi yollardan oluşan apoptozu baskılayabilmesi bcl-2'nin bu yolların birbirine yaklaşmasından sonra işlev gördüğünü düşündürmektedir. Bcl-2 hücre ölümü ve sürvisini regüle etmesinin yanısıra epitelyal diferansiyasyon, morfogenez ve tümörgenezde rol oynamaktadır (24). Bcl-2 hücre siklusunun herhangi bir evresinde apoptozu engeller. Aşırı ekspresyonu ile DNA fragmentasyonunun baskılanması, azalmış hücre içi Ca düzeyi ve artmış mitokondrial Ca düzeyi ile birlikte. Yani bcl-2, intrasellüler Ca dağılımının regülasyonundan sorumludur ve antioksidan olarak görev yapar (113).

Bcl-2'nin fazla ekspresyonu folliküler lenfoma, yüksek dereceli B hücreli neoplazmlar, hodgkin lenfoma, küçük hücreli ve küçük hücreli dışı akciğer karsinomları, EBV ile ilişkili nazofarenks karsinomu ve prostat karsinomunda gösterilmiştir (114). Bax, 19. kromozomda yerleşmiş olan apoptozu indükleyen bcl-2 ailesine ait bir genidir (25). Bax/bcl-2 oranı p53 tümör supresör geni tarafından düzenlenmektedir (114). p53, bcl-2'yi inhibe ederek ya da bax genini stimüle ederek apoptozu tetikler (115, 116). Bcl-2/bax dengesinin bcl-2 lehine olmasıyla hücre yaşarken, bax lehine bozulması apoptozisle sonuçlanır (26).

1.14. EGFR Ailesi ve ErbB-2

EGFR ailesi ErbB-1 (EGFR), ErbB-2, ErbB-3, ErbB-4 olmak üzere dört reseptörden oluşur. Tüm bu transmembran reseptörler intrinsik tirozin kinaz aktivitelere sahiptir (117). C-erbB-2 (HER2), epidermal büyüme faktörü reseptör ailesinin ikinci üyesidir (27). C-erbB-2 protoonkogeni, kromozom 17q21'de bulunur ve HER2 protein veya reseptörü olarak tanımlanan (p185), tirozin kinaz aktivitesi gösteren, büyüme faktörü reseptörü olarak fonksiyon gören, 185 kDa ağırlığında bir transmembran glikoproteinini kodlar (27-29). Bu protein epidermal büyüme faktör reseptörünün (EBFR) intrasitoplazmik kısmına yapısal benzerlik gösterir (118, 119).

C-erbB-2 onkogeninin hücre proliferasyon ve diferansiasyonunun önemli bir medyatörü olduğunu göstermiştir (120). Neoplastik transformasyon etkisini ise EBFR'leri üzerinden gösterir. Mutant reseptörlerin hücreye devamlı mitojenik uyarı yolladığı yada mutasyondan daha sık olarak bu protoonkogenlerin düzenleyici fonksiyonlarının bozulmasının büyüme faktörü reseptörlerinin aşırı ekspresyonu ile sonuçlandığı ileri sürülmektedir (121). ErbB reseptörünün aktivasyonu hücre diferansiasyonu, hücre siklusunun durması ve hatta apoptozu uyurabilir (16). C-erbB-2 aşırı ekspresyonu ise meme, over, akciğer, mide ve tükürük bezi tümörlerinde saptanmıştır (122). Yapılan araştırmalarda, çeşitli kanser türlerinde c-erbB-2 geninin aşırı ekspresyonu ile kötü prognoz arasında bir paralellik bulunduğu bildirilmiştir (123, 124).

Bu çalışma ile primer ve sekonder akkiz kolesteatomalardaki bcl-2, bax ve c-erbB-2 ekspresyonlarını değerlendirmeyi ve buna bağlı olarak kolesteatomanın patogeneğinde apoptozun ve dolayısı ile artmış hücresel proliferasyonun rolünü ortaya koymayı amaçladık.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Çalışma Grupları

Çalışma, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalında kolesteatomalı ve kolesteatomasız KOM nedeni ile Ekim 2008- Eylül 2009 tarihleri arasında opere edilen toplam 60 olgu üzerinde yapıldı. Hastalara çalışma hakkında bilgi verildi, gerekli izin alındı ve etik kurul onayı alındı. Çalışmaya alınan tüm hastaların yaşı, cinsiyeti, hastaneye geliş nedeni, şikayetlerinin süresi, kulak akıntısının varlığı ve süresi, kulak ağrısı, baş dönmesi, bulantı, kusma ve kulak çınlaması gibi şikayetlerinin varlığının yanında fizik muayene bulguları, preoperatif işitme düzeyleri, yapılan operasyonunun tipi, kolesteatomanın yaygınlığı, kemikcik zincir durumu kaydedildi. Daha önce aynı kulaktan opere olan hastalar çalışmaya alınmadı.

Çalışmada hastalar dört gruba ayrıldı.

Grup 1 (n=20): Kolesteatomasız KOM nedeni ile opere edilen hastaların dış kulak yolu cildinden örnek alınan grup.

Grup 2 (n=20): Kolesteatomalı KOM nedeni ile opere edilen, grup 3 ve grup 4'deki hastaların dış kulak yolu cildinden örnek alınan grup.

Grup 3 (n=20): Primer akkiz kolesteatomalı KOM nedeni ile opere edilen hastaların orta kulaktaki ve/veya mastoiddeki kolesteatoma matriksinden örnek alınan grup.

Grup 4 (n=20): Sekonder akkiz kolesteatomalı KOM nedeni ile opere edilen hastaların orta kulaktaki ve/veya mastoiddeki kolesteatoma matriksinden örnek alınan grup.

Grup 2'deki hastalar kolesteatomalı KOM nedeni ile opere edilen grup 3 ve grup 4'ten rastgele seçilen 10'ar hasta olmak üzere toplam 20 hastadan oluşturuldu. Operasyon esnasında alınan örnekler formolle fikse edilerek bcl-2, bax ve c-erbB-2 için immünohistokimyasal değerlendirme amacıyla patoloji bölümüne gönderildi.

Kolesteatomalı KOM nedeni ile opere edilen hastalarda kolesteatomanın yaygınlığı Saleh ve Mills (125) 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.

2.2. İmmünohistokimyasal İnceleme

Çalışmadaki tüm gruplardan alınan örneklerden 4 mikron kalınlığında elde edilen kesitler poly-l-lysine kaplı lam üzerine alındı. Lamalar ilk olarak 37 °C'de 15 dakika etüvde bekletildi. Daha sonra bcl-2 (DBS anti bcl-2 antibody, 1 ml, clone 100/D5, 1/100), bax (Invitrogen, antibax 1 ml, clone 2D2, 1/100) ve c-erbB-2 (Invitrogen, mause anti-HER, Clone CB11) boyalamaları otomatik boyama cihazında (Ventana Medical System, SN: 712299, Ref: 750-700, Arizona, USA) yapıldı. Primer antikörlerle işlemde sonra musluk suyunda yıkanarak ultramount ile kapatıldı.

2.3. İmmünreaktivitenin Değerlendirilmesi

İmmünohistokimyasal bcl-2, bax ve c-erbB-2 boyaları Olympus marka BX51 ışık mikroskopunda değerlendirildi. Değerlendirme bcl-2, bax ve c-erbB-2 antikörleri için nükleer ve stoplazmik boyanma dikkate alındı. Pozitif hücrelerin oranı semikantitatif olarak dört grupta sınıflandı: 0- boyama yok; + hücre boyanması (hafif derecede boyanma: %1-33); ++ hücre boyanması (orta derecede boyanma: %34-66); +++ hücre boyanması (iyi derecede boyanma: %67-100) olarak değerlendirildi.

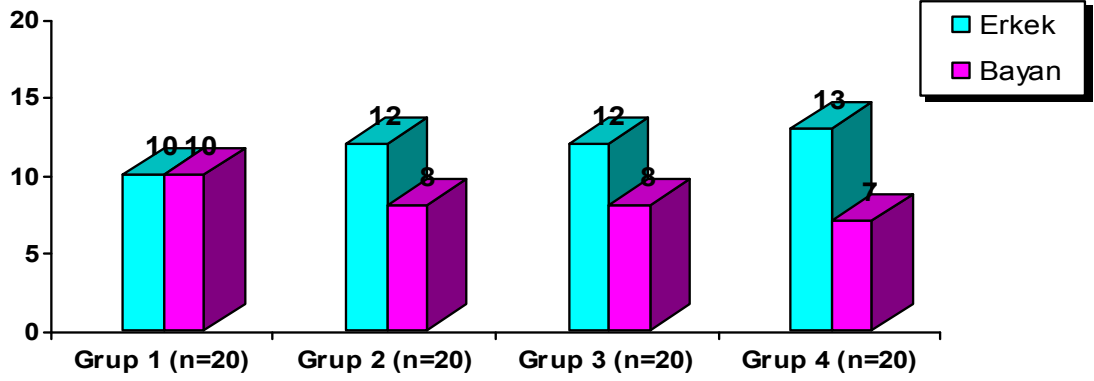
2.4. İstatistiksel Yöntemler

Bu çalışmada, SPSS 11.5 paket programı kullanıldı. Bcl-2, bax ve c-erbB-2 skorlarının gruplar arası karşılaştırılmasında Fisher Ki Kare (exact KI Kare) analizi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi olarak 0.05 kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Klinik Bulgular

Çalışma kolesteatomalı ve kolesteatomasız KOM nedeni ile opere edilen toplam 60 olgu üzerinde yapılmıştır. Hastaların 35'i (%58.3) erkek, 25'i (%41.6) bayandı (Şekil 1).



Şekil 1. Gruplara göre cinsiyet dağılımı

Çalışmaya alınan hastaların yaşları 19-64 (yaş ortalaması 29.5 ± 13.93) arasında değişmekteydi. Gruplara göre yaş dağılımları grup 1, grup 2, grup 3 ve grup 4 için sırası ile 19-64 (yaş ortalaması 27.6 ± 9.01), 23-58 (yaş ortalaması 32.4 ± 11.53), 23-61 (yaş ortalaması 30.5 ± 10.55) ve 28-58 (yaş ortalaması 30.4 ± 12.36) idi.

Gruplara göre hastaların şikayetlerinin başlama süresi grup 1 için 1 yıl ile 15 yıl arasında (ortalama 6 ± 4.81 yıl), grup 2 için 1 yıl ile 20 yıl arasında (ortalama 11.25 ± 8.58), grup 3 için 1 yıl ile 25 yıl arasında (ortalama 8 ± 8.06 yıl), grup 4 için 1 yıl ile 21 yıl arasında değişmekte (ortalama 12.9 ± 8.29 yıl) idi. Kulak akıntısı şikayetinin gruplara göre başlama süresi grup 1 için 1 yıl ile 15 yıl arasında (ortalama 5.2 ± 3.67 yıl), grup 2 için 1 yıl ile 20 yıl arasında (ortalama 7.5 ± 5.9 yıl), grup 3 için 1 yıl ile 25 yıl arasında (ortalama 5.5 ± 6.59 yıl), grup 4 için 1 yıl ile 20 yıl arasında değişmekte (ortalama 9.5 ± 5.31 yıl) idi.

Hastaların şikayetleri arasında en sık işitme azlığı %100 ve akıntı %96.9 saptandı (Tablo 1).

Tablo 1. Gruplara göre hastaların şikâyetlerinin dağılımı

Şikâyet	Grup 1 n (%)	Grup 2 n (%)	Grup 3 n (%)	Grup 4 n (%)	Toplam n (%)
İşitme azlığı	20 (%100)	20 (%100)	20 (%100)	20 (%100)	60 (%100)
Akıntı	18 (%90)	20 (%100)	20 (%100)	20 (%100)	58 (%96.9)
Çınlama	4 (%20)	12 (%60)	11 (%55)	11 (%55)	26 (%43)
Ağrı	2 (%10)	12 (%60)	7 (%35)	12 (%60)	21 (%35)
Uğultu	2 (%10)	11 (%55)	7 (%35)	11 (%55)	20 (%33.3)
Baş dönmesi	2 (%10)	11 (%55)	6 (%30)	12 (%60)	20 (%33.3)
Bulantı	2 (%10)	7 (%35)	6 (%30)	9 (%45)	17 (%28.3)

n=hasta sayısı (Grup 2'deki hastalar grup 3 ve 4'deki hastalardan oluşturulduğundan toplam hesaplama katılmamıştır.)

Uygulanan cerrahi operasyonlar sıklık sırasına göre 23 hastaya (%38.3) timpanomastoidektomi, 21 hastaya (%35) radikal mastoidektomi, 13 hastaya (%21.6) modifiye radikal mastoidektomi, 3 hastaya (%5) intakt kanal wall mastoidektomi şeklinde sıralanmaktaydı (Tablo 2).

Tablo 2. Gruplara göre yapılan operasyonun tipi

Operasyonun Tipi	Grup 1 n (%)	Grup 2 n (%)	Grup 3 n (%)	Grup 4 n (%)	Toplam n (%)
Timpanomastoidektomi	20 (%100)	1 (%5)	2 (%8.6)	1 (%5)	23 (%38.3)
Radikal mastoidektomi	-	13 (%65)	7 (%35)	14 (%70)	21 (%35)
Modifiye radikal mastoidektomi	-	6 (%30)	8 (%40)	5 (%25)	13 (%21.6)
İntakt kanal wall mastoidektomi	-	-	3 (%15)	-	3 (%5)

n=hasta sayısı (Grup 2'deki hastalar grup 3 ve 4'deki hastalardan oluşturulduğundan toplam hesaplama katılmamıştır.)

Yapılan operasyonlar sırasında tüm hastaların kemikçik zinciri değerlendirildi. Hastaların 29 (%48.3)'unda kemikçik erozyonu gözlenmedi. Bunların 19 (%31.6)'u grup1'de, 10 (%16.6)'u grup 3'te yer almaktaydı. Grup 1'deki 1 (%1.6) hastada ise erozyon saptanmadı ancak inkudostapedial eklem dislokasyonu saptandı ve rekonstrüksiyon amacı ile kemik çimento kullanıldı. Toplam 31 (%51.6) hastada ise kemikçik zincir erozyonu saptandı. Kemikçik zincirdeki erozyonun tipi sıklık

sırasında göre 30 (%50) hastada inkusun uzun kolunda, 19 (%31.6) hastada inkusun gövdesinde, 18 (%30) hastada inkusun kısa kolunda, 15 (%25) hastada stapeste ve 13 (%21.6) hastada ise malleusta izlendi (Tablo 3).

Tablo 3. Gruplara göre kemikçik zincir durumu

Erozyonun tipi	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Toplam
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Malleus	-	10 (%50)	2 (%10)	11 (%55)	13 (%21)
İnkusun uzun kolu	1 (%5)	16 (%80)	10 (%50)	19 (%95)	30 (%50)
İnkusun gövdesi	-	11 (%55)	4 (%20)	15 (%75)	19 (%31)
İnkusun kısa kolu	-	14 (%70)	4 (%20)	14 (%70)	18 (%30)
Stapes	1 (%5)	9 (%45)	4 (%20)	10 (%50)	15 (%25)

n=hasta sayısı (Grup 2'deki hastalar grup 3 ve 4'deki hastalardan oluşturulduğundan toplam hesaplamaya katılmamıştır.)

Kolesteatomanın yaygınlığı değerlendirildiğinde grup 3'deki hastalar en sık evre 1 (n=9; %45), grup 4'teki hastalar en sık evre 3 (n=9; %45) idi (Tablo 4).

Tablo 4. Kolesteatomanın yaygınlığı

	Evre				
	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4	Evre 5
Grup 3 (n=20)	9	5	6	-	-
Grup 4 (n=20)	-	2	9	8	1

3.2. Histopatolojik Bulgular

İmmünohistokimyasal skorlamada nükleer ve sitoplazmik boyanma dikkate alındı (Tablo 5). Hastaların gruplara göre skor dağılımı ve karşılaştırması tablo 6'da, gruplara göre bcl-2, bax ve c-erbB-2 skor değerlerinin dağılım yüzdesi şekil 2'de verilmiştir. Grup 1'deki hastaların DKY cildinden alınan örneklerde en iyi boyanma bcl-2'de gözlemlendi. Bcl-2 ile hastaların büyük çoğunluğunda orta ve iyi derecede (boyanma skoru ++ ve +++), çok az hastada ise hafif derecede boyanma (boyanma skoru +) izlendi. Bax ve c-erbB-2 ile hastaların büyük çoğunluğunda DKY cildinden alınan örneklerde boyanma olmadı (boyanma skoru 0). Grup 2'de de grup 1'e benzer şekilde hastaların DKY cildinden alınan örneklerde en iyi boyanma bcl-2'de

gözlendi. Bcl-2 ile hastaların büyük çoğunluğunda orta ve iyi derecede (boyanma skoru ++ ve +++), çok az hastada ise hafif derecede boyanma (boyanma skoru +) izlendi. Bax ve c-erbB-2 ile hastaların büyük çoğunluğunda DKY cildinden alınan örneklerde boyanma olmadı (boyanma skoru 0). Grup 3'teki hastaların kolesteatoma epitelinden alınan örneklerde en iyi boyanma bax'da gözlendi. Bax ile hastaların büyük çoğunluğunda orta ve iyi derecede boyanma (boyanma skoru ++ ve +++)) izlendi. Bu gruptaki ikinci en iyi boyanma c-erbB-2'de saptandı. C-erbB-2 ile hastaların büyük çoğunluğunda kolesteatoma epitelinden alınan örnekler orta ve iyi derecede boyanma (boyanma skoru ++, +++) izlendi. Bcl-2 ile yarısına yakınında boyanma olmadı (boyanma skoru 0) veya az bir kısmında hafif ve orta derecede (boyanma skoru +, ++) boyanma izlendi. Grup 4'deki hastaların kolesteatoma epitelinden grup 3'e benzer şekilde boyanma izlendi. En iyi boyanma bax'da gözlendi. Bax ile hastaların büyük çoğunluğunda orta ve iyi derecede boyanma (boyanma skoru ++ ve +++)) izlendi. C-erbB-2 ile çoğunda orta derecede boyanma (boyanma skoru ++)) izlendi. Bcl-2 ile boyanma olmadı (boyanma skoru 0) veya hastaların geriye kalan kısmında hafif derecede (boyanma skoru +) boyanma izlendi.

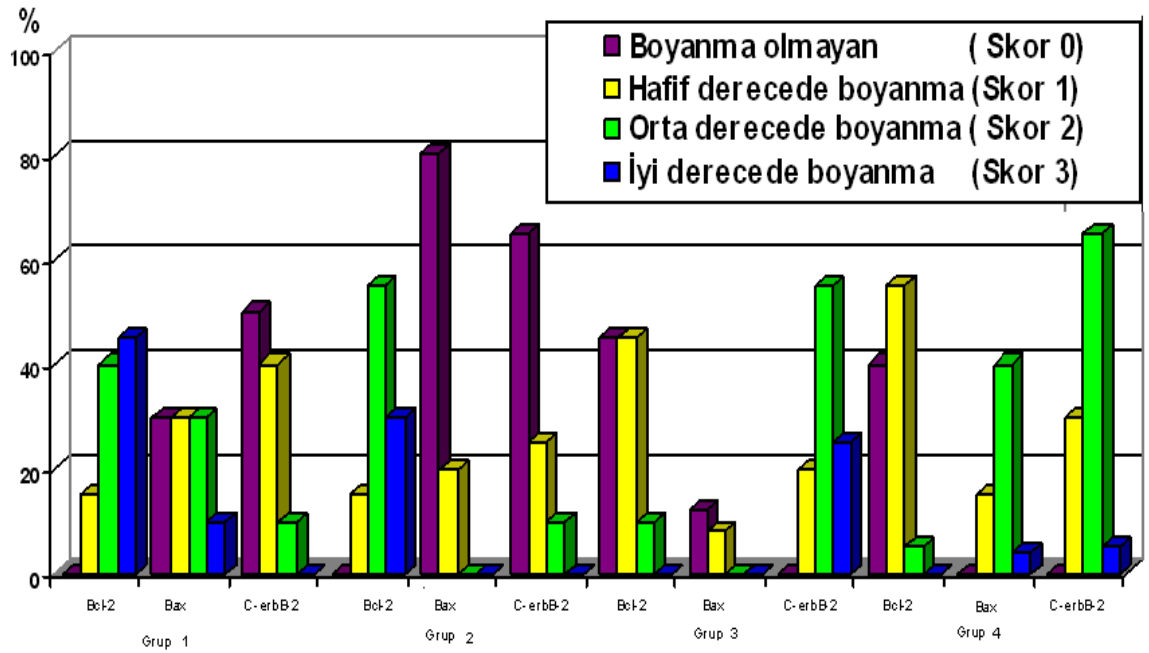
Tablo 5. Grupların imünohistokimyasal boyanma skorları

Olgu No	Grup 1			Grup 2			Grup 3			Grup 4		
	Bcl-2	Bax	C-erbB-2	Bcl-2	Bax	C-erbB-2	Bcl-2	Bax	C-erbB-2	Bcl-2	Bax	C-erbB-2
1	++	-	-	++	-	-	-	+++	++	+	+++	++
2	++	-	+	++	-	-	+	++	+++	+	+++	++
3	++	-	+	++	-	-	-	++	+	-	+++	+++
4	+++	-	++	+++	+	-	++	+++	++	+	++	+
5	++	-	-	++	-	+	+	++	++	-	+++	++
6	+++	-	-	++	+	+	+	+++	+++	-	+++	++
7	+++	-	-	++	-	-	-	+++	+	+	++	++
8	+++	-	+	+++	+	-	++	+++	++	+	+	+
9	+	-	-	+++	+	-	+	++	++	-	++	++
10	++	+	-	+++	-	++	+	++	++	+	+	+
11	+++	-	+	++	-	+	-	+++	++	-	++	++
12	+++	+	-	+++	+	-	-	+++	++	+	++	++
13	+++	+	+	+	+	-	-	++	+++	-	++	++
14	++	-	-	+	-	-	-	+++	++	+	+	++
15	++	-	+	+	-	-	++	+++	+	++	+++	++
16	+++	+	-	++	+	-	-	+++	+++	+	++	+
17	++	-	++	++	-	+	+	++	++	-	++	+
18	+	-	-	++	-	+	+	++	++	-	+++	+
19	+	-	+	++	-	-	-	++	+	+	+++	++
20	+++	-	+	+++	+	++	+	+++	+++	+	+++	++

Tablo 6. Gruplara göre bcl-2, bax ve c-erbB-2 skor değerlerinin dağılımı ve karşılaştırılması

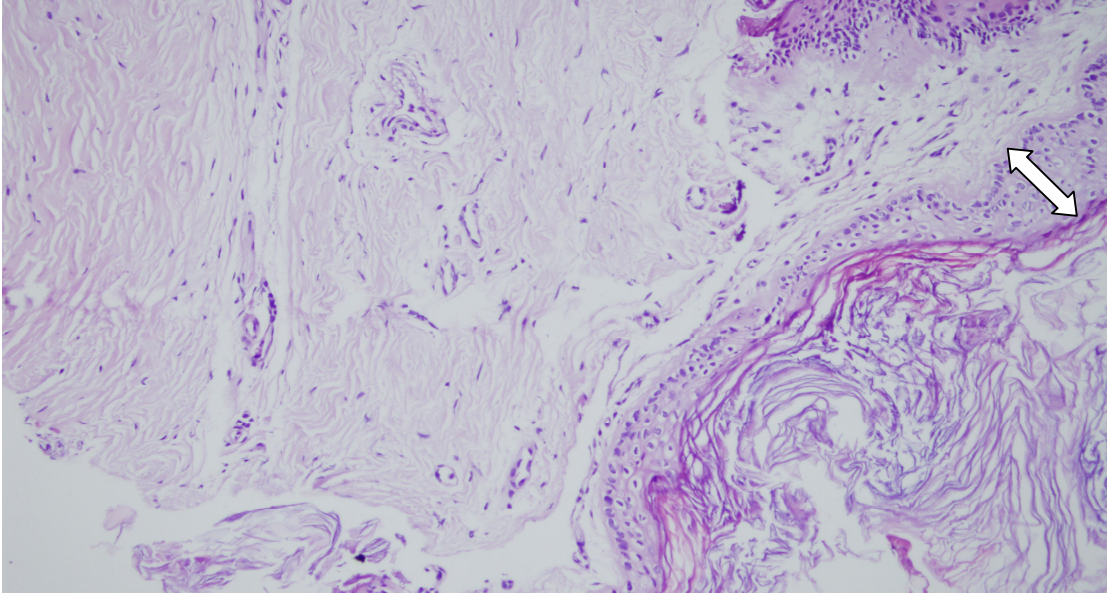
Boyanma skoru	Grup 1		Grup 2		Grup3		Grup 4		Toplam	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Bcl-2										
0	0	.0	0	.0	9	45.0	8	40.0	17	21.3
1	3	15.0	3	15.0	9	45.0	11	55.0	26	32.5
2	8	40.0	11	55.0	2	10.0	1	5.0	22	27.5
3	9	45.0	6	30.0	0	.0	0	.0	15	18.8
Bax										
0	16	80.0	12	60.0	0	.0	0	.0	28	35.0
1	4	20.0	8	40.0	0	.0	3	15.0	15	18.8
2	0	.0	0	.0	9	45.0	8	40.0	17	21.3
3	0	.0	0	.0	11	55.0	9	45.0	20	25.0
C-erbB-2										
0	10	50.0	13	65.0	0	.0	0	.0	23	28.8
1	8	40.0	5	25.0	4	20.0	6	30.0	23	28.8
2	2	10.0	2	10.0	11	55.0	13	65.0	28	35.0
3	0	.0	0	.0	5	25.0	1	5.0	6	7.5

Bcl-2 $\chi^2= 33.818$ (p<0.05) (Grup 1- 3, 4), (p<0.05) (Grup 2- 3, 4), (p>0.05) (Grup 1-2 ve 3-4)
 Bax $\chi^2= 52.793$ (p<0.05) (Grup 1- 3, 4), (p<0.05) (Grup 2- 3, 4), (p>0.05) (Grup 1-2 ve 3-4)
 C-erbB-2 $\chi^2= 51.209$ (p<0.05) (Grup 1- 3, 4), (p<0.05) (Grup 2- 3, 4), (p>0.05) (Grup 1-2 ve 3-4)



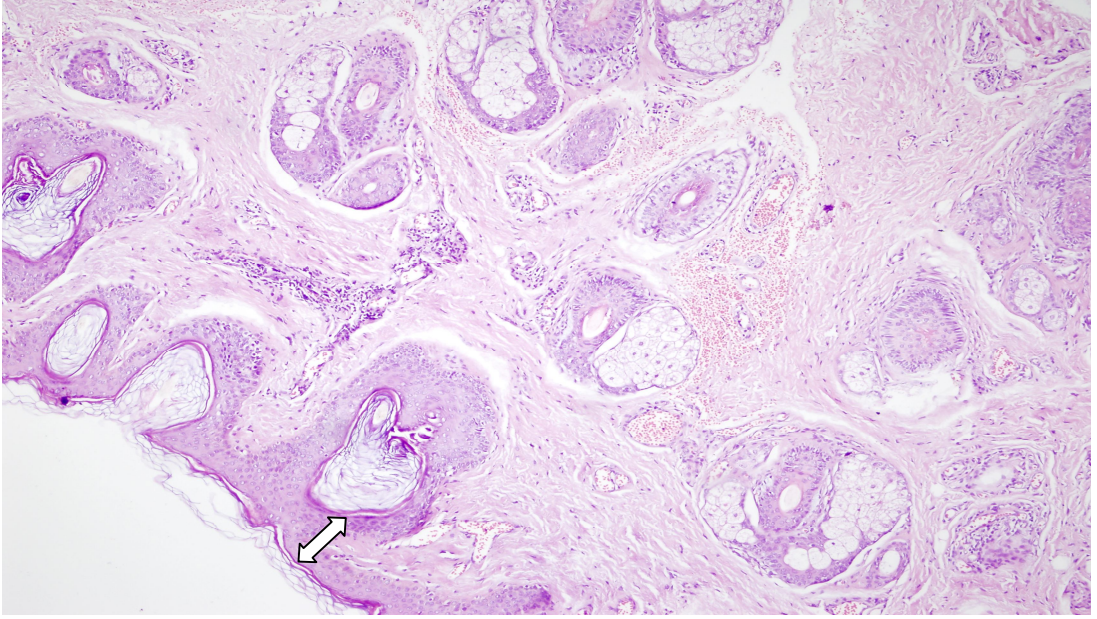
Şekil 2. Gruplara göre bcl-2, bax ve c-erbB-2 skor değerlerinin dağılım yüzdesi

Hematoksilen eozin ile boyanmış preparatlar incelendiğinde grup 1'de yüzeyde hiperkeratoz, epidermiste spongiöz ve dermiste lenfosit infiltrasyonunun yanında iki olguda; perivasküler lenfosit ve nötrofil infiltrasyonu, bir olguda yüzey epitelinde aktif dermatit, bir olguda ise kronik inflamasyona ait bulgular saptandı (Şekil 3).

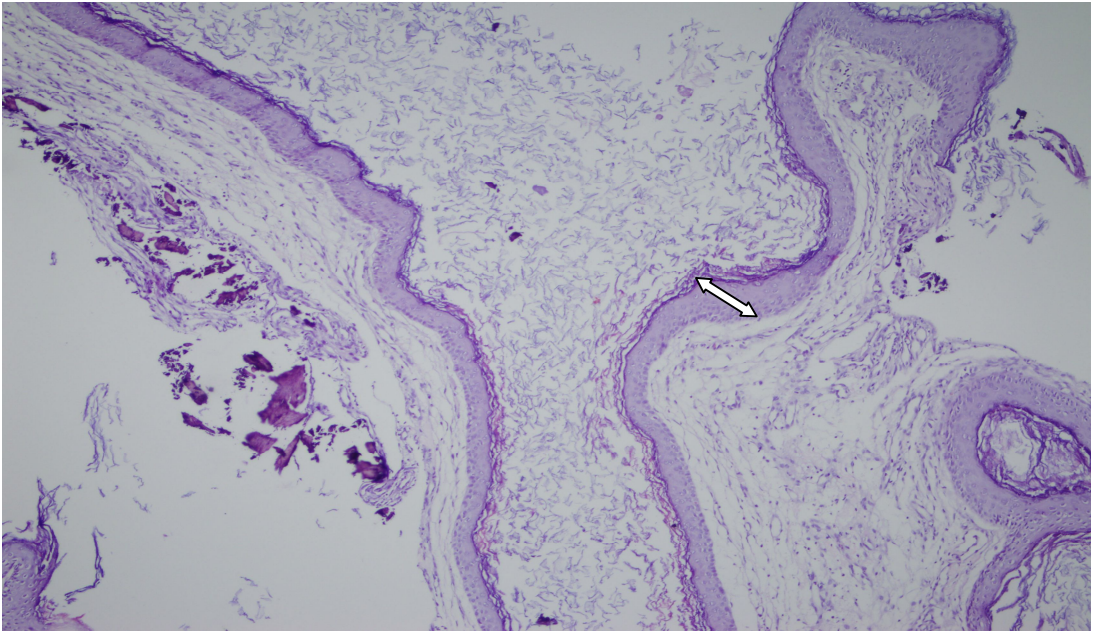


Şekil 3. Kolesteatomasız KOM grubunda (grup 1) DKY cildinin hematoxilen eozin boyanması (X 200) (Beyaz ok epidermisi göstermektedir.)

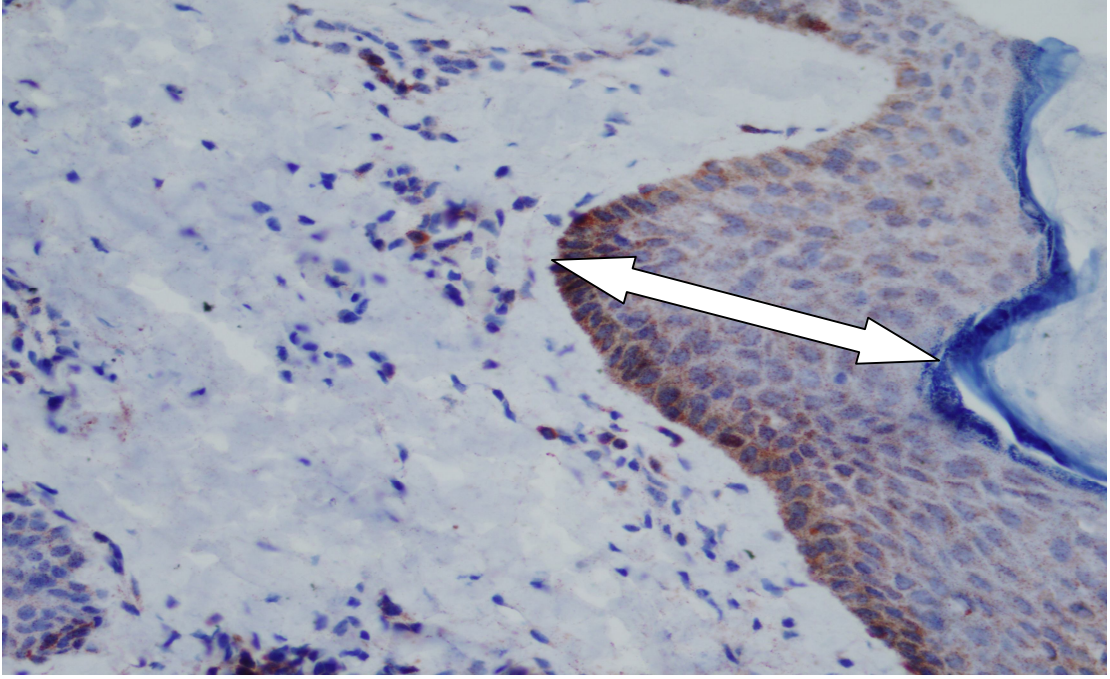
Grup 2’de yüzey epitelinde hiperkeratoz, epidermiste spongioz, dermiste perivasküler ve periadneksial lenfosit infiltrasyonunun yanında iki olguda psöriaziform hiperplazi, bir olguda ise inflamasyonda eozinofil varlığı saptandı (Şekil 4). Grup 3 ve 4’de skuamoz epitel, kalsifikasyon ve lamellar keratinizasyonun yanında beş olguda yoğun iltihabi infiltrasyon saptandı (Şekil 5). Bcl-2 ile boyanmış preparatlar incelendiğinde hematoxilen eozin incelemesine ek olarak grup 1’de inflamasyonun artmış olduğu alanlarda daha yoğun nükleer ve stoplazmik boyanma izlendi (Şekil 6). Grup 2’de psöriaziform hiperplazinin olduğu alanlarda bcl-2 ile azalmış nükleer ve stoplazmik boyanma izlendi (Şekil 7).



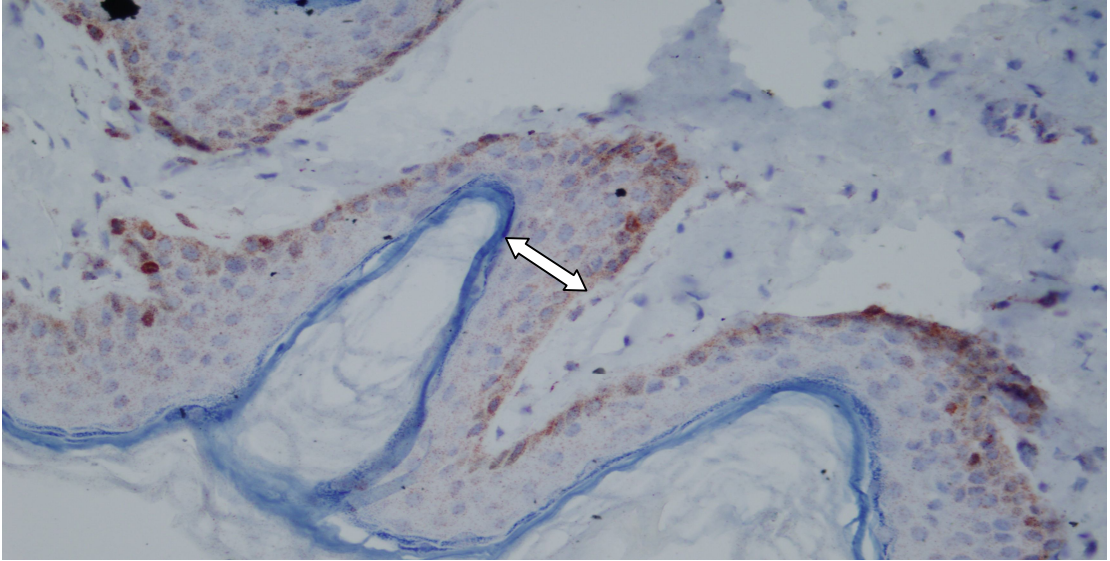
Şekil 4. Kolesteatomalı KOM grubunda (grup 2) DKY cildinin hematoksilen eozin boyanması (X 100) (Beyaz ok epidermisi göstermektedir.)



Şekil 5. Primer akkiz kolesteatoma grubunda (grup 3) hematoksilen eozin boyanması (X 100) (Beyaz ok epidermisi göstermektedir.)

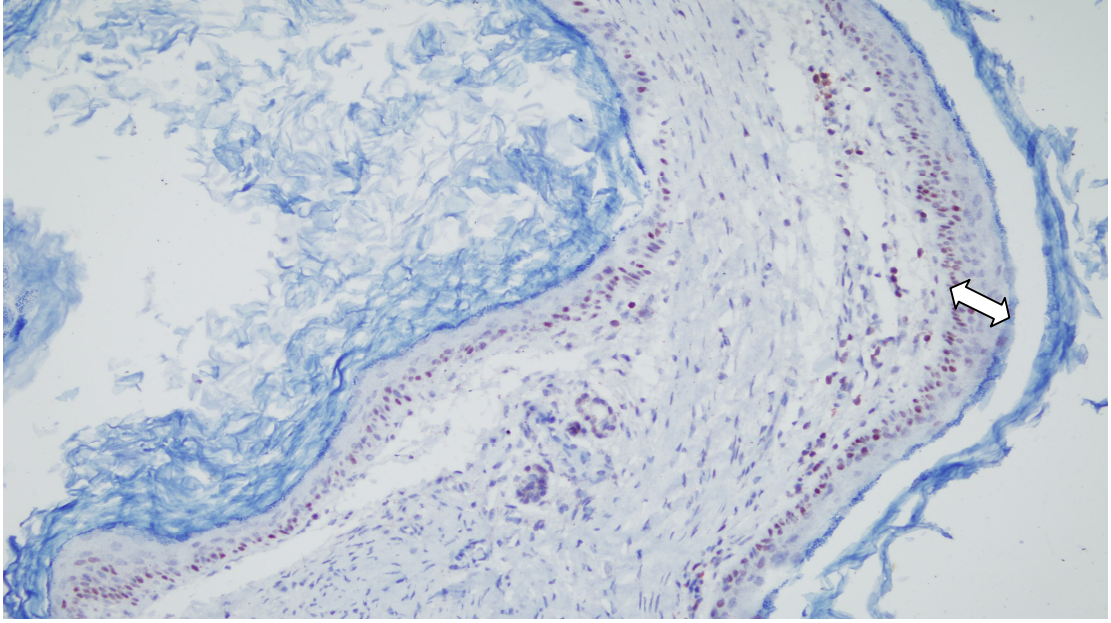


Şekil 6. Kolestomatolı KOM grubunda (grup 1) DKY cildinin +++ nükleer ve stoplazmik bcl-2 boyanması (beyaz ok) (X 400)



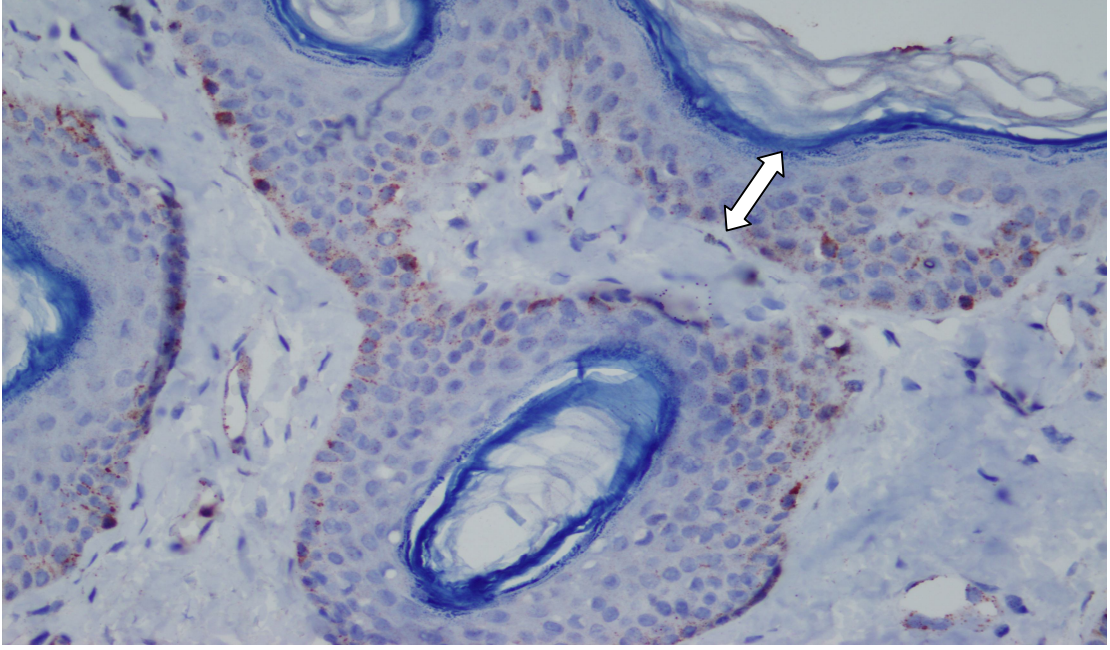
Şekil 7. Kolestomatolı KOM grubunda (grup 2) DKY cildinin +++ nükleer ve stoplazmik bcl-2 boyanması (beyaz ok) (X 400)

Grup 3 ve 4'te ise hematoksilin eozin incelemesine ek olarak bazal tabakada daha yoğun nükleer ve stoplazmik boyanma izlendi (Şekil 8).

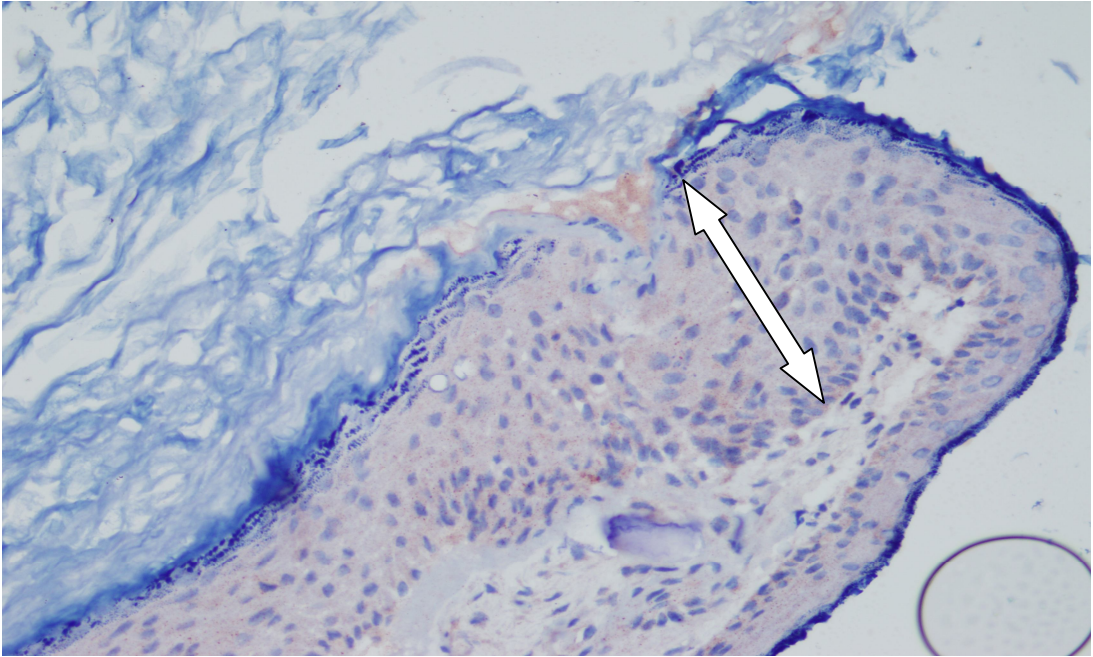


Şekil 8. Sekonder akkiz kolesteatoma grubunda (grup 4) ++ nükleer ve stoplazmik bcl-2 boyanması (beyaz ok) (X 200)

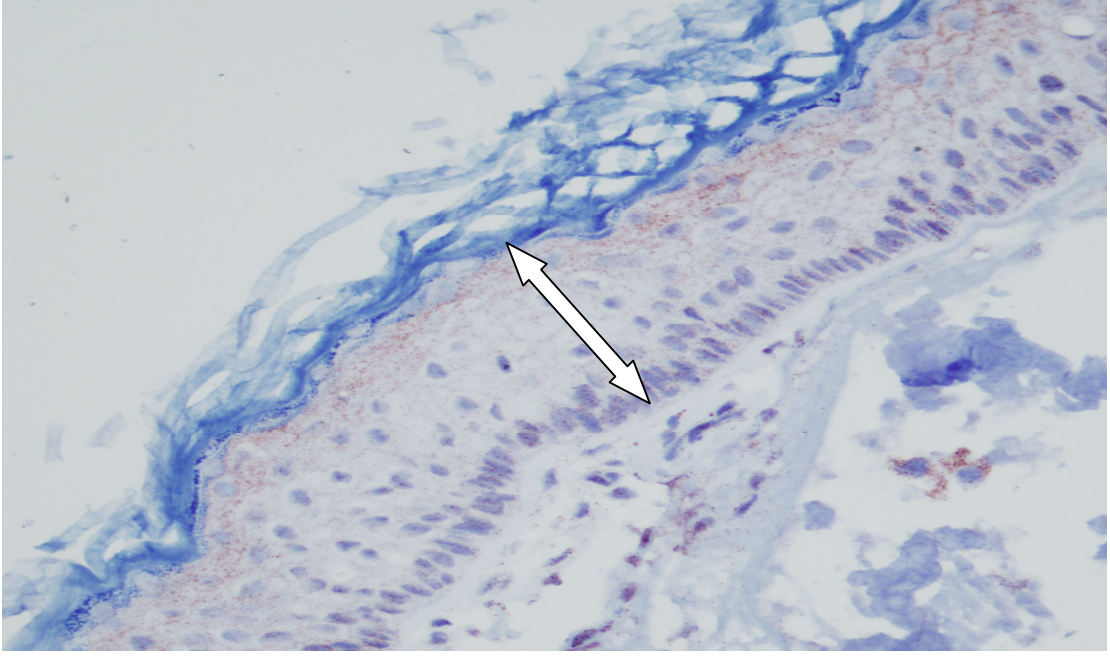
Bax ile boyanmış preparatlar incelendiğinde grup 1 ve grup 2’de çoğu hastanın DKY cildinde boyanma izlenmezken çok az hastada bazal tabaka ve deri ekleri çevresinde + yoğunlukta nükleer ve stoplazmik boyanma izlendi (Şekil 9). Grup 3 ve 4’deki hastalarda kolesteatoma örneklerinde bax ile hematoxilen eozin incelemesine ek olarak yoğun nükleer ve stoplazmik boyanma izlendi (Şekil 10). C-erbB-2 ile boyanmış preparatlar incelendiğinde grup 1 ve grup 2’de artmış inflamasyonun olduğu alanlarda nükleer ve stoplazmik boyanmada azalma izlendi (Şekil 11). Grup 3 ve 4’de ise hematoxilen eozin incelemesine ek olarak yoğun nükleer ve stoplazmik boyanma izlendi (Şekil 12).



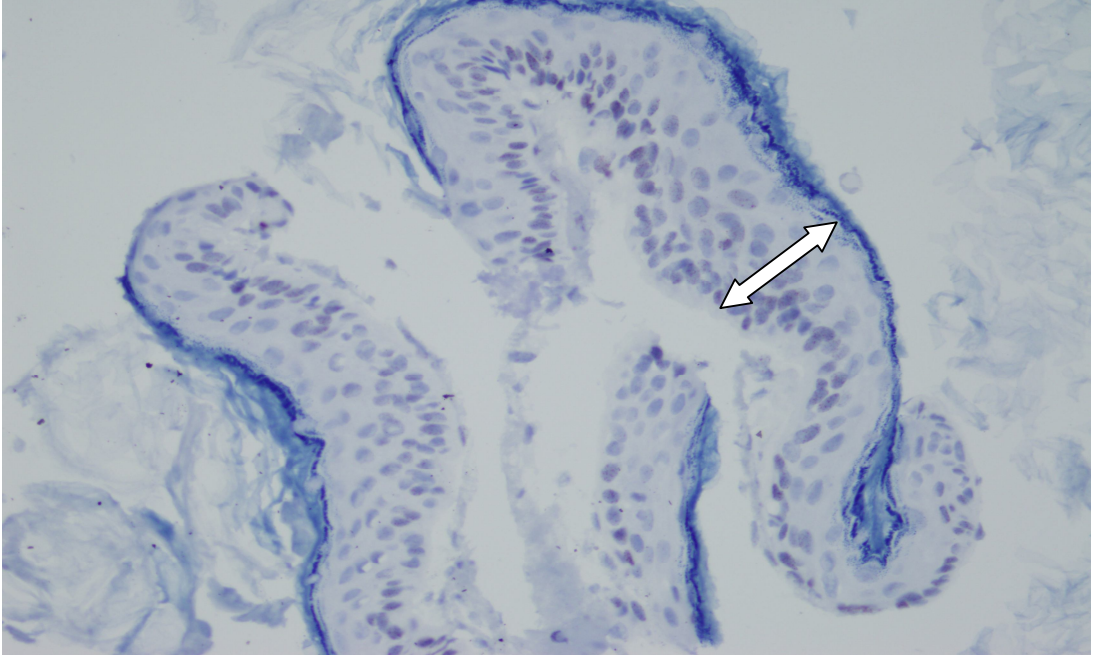
Şekil 9. Kolesteatomalı KOM grubunda (grup 2) DKY cildinin + nükleer ve stoplazmik bax boyanması (beyaz ok) (X 400)



Şekil 10. Primer akkiz kolesteatoma grubunda (grup 3) +++ nükleer ve stoplazmik bax boyanması (beyaz ok) (X 400)



Şekil 11. Kolesteatomasız KOM grubunda (grup 1) DKY cildinin + nükleer ve stoplazmik c-erbB-2 boyanması (beyaz ok) (X 400)



Şekil 12. Primer akkiz kolesteatoma grubunda (grup 3) + nükleer ve stoplazmik c-erbB-2 boyanması (beyaz ok) (X 400)

4. TARTIŞMA

Kolesteatoma, patogenezi ne olursa olsun, olmaması gereken yerde bulunan deriye ait yassı epitel dokusudur (4). Kolesteatoma ile ilgili ülkemizde yapılan epidemiyolojik çalışmalar yetersizdir. Finlandiya’da kolesteatoma insidansının 100.000’de 9.2 olduğu ve erkeklerde daha sık görüldüğü bildirilmiştir (126). İsrail’de yapılan bir çalışmada KOM prevalansı %0.95, kolesteatoma prevalansı ise %0.4 olarak bulunmuştur. KOM’lu hastaların %41’inde kolesteatoma geliştiği bildirilmiştir (127). Ortalama görülme yaşı konjenital kolesteatomada 5.6 ve edinilmiş kolesteatomada ise 9.7 olduğu bildirilmiştir (128).

Kolesteatoma histopatogenezi hala tam olarak anlaşılamamıştır. Epitelyal hücre migrasyonu, proliferasyonu, diferensiasyonu ve apoptozunun patogenezi rol oynadığı düşünülmektedir (5). Epidermis hızlı proliferasyon ve desquame olan stratifiye squamoz epitelidir. Keratinositler epidermal hücrelerin %95’inden fazlasını oluşturur. Normal deri ile karşılaştırıldığında, kolesteatomada bazal ve suprabazal tabakalardaki keratinositlerde artmış proliferasyon mevcuttur (75). Normal deride bazal tabakadaki keratinositlerin, yüzeysel spinöz tabakaya göç etmeleri sırasında, stratifiye epidermis içinde çoğalma yeteneklerini kaybettikleri gösterilmiştir (129). Buna karşın bazal ve suprabazal tabakalarda hücre gruplarının yüksek oranda proliferasyon olma yeteneğine sahip olması ve bu çoğalmanın genetik olarak yatkınlık göstermemesi kolesteatomanın en büyük özelliğidir (13).

Kolesteatomada epidermin hiperproliferasyon mekanizması hala net olarak bilinmemektedir. Bu konu hakkında yapılan araştırmalar sırasında çeşitli faktörler üzerinde çalışılmıştır. İnflamatuvar parametreler için interlökinler, EGF ve TGF- α gibi büyüme faktörleri, mitotik faktörler (Ki-67, PCNA, P27, P21, P53, aktif caspase 3, kollejen 4) ve epitelyal markerler (filaggrin, sirokeratin, BerEp4, EMA) araştırılmıştır (2, 6-8). Ayrıca sarkolektin, ICAM-1 kalsisiklin (9), fosfolipaz C γ 1, ısı şok proteinleri (130), fas/APO1 protein (10) gibi moleküler düzeyde oluşan değişimler ve bunların etkileri de araştırılmıştır.

EGFR 170 kD ağırlığında EGF ve TGF- α ile uyarılan hücre proliferasyonu için bir reseptör olarak görev alır (68). Kolesteatoma epitelinde ayrıca artmış EGFR ve TGF- α ekspresyonu gösterilmiştir (69). Kolesteatomada, DKY cildine nazaran yüksek EGFR ekspresyonu (bazal keratinositlerde sınırlı olmayıp stratum spinosum ve

granulozumdaki suprabazal keratinositlerde) gösterilmiştir. Kolesteatomada keratinositlerin %75'i EGFR ekspresyona ederken normal DKY'de bu oran sadece %10'dur (70). Yetişer ve ark. (71), kolesteatoma epitelinin yüksek oranda EGF içerdiğini ve normal deriye göre daha invazif özellik gösterdiğini saptamışlardır (71). Daha önce yapılan çalışmalarda, EGFR'nin haberci RNA'sının, normal DKY cildinin sadece bazal tabakasında ekspresyona edildiği gösterilmiştir. Ancak kolesteatomada tüm epidermal seviyelerde ekspresyonu artmıştır. Kolesteatomanın tüm tabakalarında saptanan EGFR'nin mesenger RNA'sı, kolesteatomadaki hücre proliferasyonunun normal ciltten farklı olarak tüm tabakalarda devam ettiği izlenimini kuvvetlendirir (20, 77). Bu bulgular, aşırı EGFR ve TGF- α sentezinin, kolesteatomada hiperproliferasyon için rol oynadığını düşündürmektedir.

Monoklonal antikor olan Ki-67, proliferasyon yapan hücrelerde görülen bir nükleer proteindir (72). Bu antikor, normal ve neoplastik hücre popülasyonlarının büyüme oranlarının hızlı ve kolay yolla değerlendirilmesini sağlar (131). Sudhoff ve ark. (73), yaptıkları çalışmada Ki-67'nin normal DKY cildinde %7, kolesteatomada ise %17 oranında ekspresyona edildiğini bildirmişlerdir. Kolesteatoma keratinositlerinde proliferasyon oranının normal DKY ile karşılaştırıldığında önemli derecede yüksek olduğu saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda da kolesteatoma stroması ve suprabazal tabakasında yüksek oranda Ki-67 bulunmuştur (132). Ayrıca Ki-67 ekspresyonunun çocuk kolesteatomalarında daha fazla olduğu ve çocuklarda kolesteatomanın daha agresif seyretmesinde rol aldığı da bildirilmiştir (133).

SK'ler epitelyal hücrelerde bulunan intermediate bir filament proteindir ve farklı tipleri (1–20) tanımlanmıştır. Sitokeratinler kolesteatomada normal DKY'de ve timpanik membranda gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda SK 10 maddesinin DKY epitel ve kolesteatoma matriksi içinde orta kulak mukozasına göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu gözlem kolesteatomanın DKY cildinden kaynaklanabileceğini desteklemiştir (74). Kim ve ark. (134), DKY kapatıldığında pars tensa çevresinde, tuba östaki kapatıldığında ise pars tensanın hem çevresinde hem de merkezinde SK 10 aktivitesinin arttığını göstermişlerdir. Bujia ve ark. (75), jel elektroforezi ve immünohistokimyasal boyama teknikleri ile kolesteatomada SK 16 varlığını göstermişlerdir. SK 13/16 DKY ve retroauriküler deride sadece bazal tabakada boyanma gösterirken kolesteatomada suprabazal tabakada pozitif boyanma

göstermekte ve suprabazal hücre hiperproliferasyonu için bir marker olduğu belirtilmektedir.

PCNA, 36 kD ağırlığında hücre siklusunda S ve G1 fazında ortaya çıkan bir nükleer antijendir. PCNA pozitif hücreler, kolesteatoma epitelinin bazal tabakasında, suprabazal ve subbazal düzeyde tanımlanmışlardır. Normal cilt ile karşılaştırıldığında, kolesteatoma epitelinde yüksek oranda PCNA pozitif hücre bulunmakta, bazal ve suprabazal tabakadaki artmış mitotik indeksin bir göstergesi olduğu bildirilmiştir. Buna göre kolesteatoma epitelinin normal deriye göre daha çok proliferatif aktivite gösterdiği sonucuna varılmıştır (68).

Park ve ark. (135), kolesteatoma epitelinde fosfolipaz C γ 1 ekspresyonunda artış saptamışlar ve keratinositlerdeki artmış büyüme sinyali iletiminde rol oynadığını bildirmişlerdir. Shinado ve ark. (130), ısı şok proteinlerinin (HSP 60 ve 70) kolesteatomanın patogeneğinde rol oynadığını, interlökin-1 ve TNF- α gibi sitokinler aracılığı ile etkisini gösterdiğini bildirmişlerdir.

Survivin, solid ve hematolojik malignansilerde eksprese edilen apoptoz inhibitörüdür (136). Antiapoptotik etkisini kaspaz 9 üzerinden göstermektedir (137). Ayrıca çoğalan hücrelerde yüksek oranda eksprese edilmektedir (138). Park ve ark. (139), yaptıkları çalışmada kolesteatomada survivinin belirgin şekilde artmış olduğunu, dolayısıyla kolesteatomada apoptozun baskılanmış olduğunu saptamıştır.

Hayvan lektin ailesini oluşturan galektinler, hücre adezyonu ve apoptozda önemli modülatör role sahiptir (140, 141). Bu ailenin üyesi olan galektin-3 antiapoptotik etkiye sahiptir ve kolesteatoma epitelinde tespit edilmiştir (11). Sheikholeslam-Zadeh ve ark. (142), bu proteinin antiapoptotik etkileri başlattığını ve böylece koruyucu bir rol oynadığını bildirmişlerdir. Olszewska ve ark. (14), apoptoz belirleyicisi olan APO2.7'yi kolesteatoma epitelinde çalışmışlar ve APO2.7 (+) hücre oranını normal cilt ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olarak bulmuş ve apoptotik hücre oranlarının kolesteatoma epitelinde, DKY cildine nazaran daha yüksek olarak saptanmıştır.

Park ve ark. (10), kolesteatoma epitelinde ve retroaurikular ciltte Fas/APO-1 proteininin ekspresyonunu değerlendirmiştir. Fas/APO-1 proteinini apoptoz sırasında ekspresyonu artmaktadır. Normal retroaurikular cilt ile karşılaştırıldığında kolesteatoma epitelinde çok daha fazla sayıda apoptotik hücre olduğu belirlenmiştir.

Bu artışın keratin debrislerinin birikimine neden olduğunu bildirmişlerdir.

Ergun ve ark. (143), TUNEL metodunu kullanarak yaptıkları çalışmada kolesteatomadaki apoptoz oranının ciltle kıyaslandığında belirgin bir şekilde daha yüksek olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda proliferasyon/apoptozis oranının prognostik değeri olduğunu bildirmişlerdir.

Siklin ve SBK kompleksi hücre siklusunda önemli rol oynamaktadır (76). Ayrıca kolesteatoma, SBK'lar tarafından oluşturulan veya SBK inhibitörlerinin azalması ile oluşan epitel hiperproliferasyonu ile karakterizedir (7). Tanaka ve ark. (76), SBK'ların epitel proliferasyonunda etkili olabileceğini bildirmişlerdir. SBK inhibitörü olan P27 tümör baskılayıcı gen olarak bilinir.

Beyazıt ve ark. (7), yaptıkları çalışmada P27 seviyesindeki değişikliklerin keratinosit proliferasyonunu etkileyebileceğini bildirmişlerdir. P27 aktivitesi, granüler tabakada baskın olarak saptanmış, fakat spinöz tabakada saptanmamıştır. Bu bakımdan, spinöz tabakanın proliferatif aktiviteye sahip olma yeteneğinin olduğu ifade edilmiştir. Kolesteatoma ve DKY cildi arasında P27 değerleri bakımından anlamlı olarak farklılık saptanmıştır. Pozitif boyanan hücre sayısı kolesteatomada normal DKY cildine göre anlamlı şekilde düşük saptanmıştır. Bu nedenle, kolesteatomadaki hücre siklus kontrolünün kaybına, epiteldeki hiperproliferasyon yeteneğindeki artışın neden olabileceği öne sürülmüştür (7). Fakat literatürde bu konu ile ilgili zıt sonuçlarda vardır. Chae ve ark. (77), kolesteatoma dokusunda P27 ve Ki-67 antikorlarını ekspresyonlarını değerlendirmiş ve her ikisinde de artış saptamıştır. Ki-67 ile boyanan hücreler bazal ve suprabazal tabakada olmasına rağmen, P27 ile boyanan hücreler daha üst tabakalarda izlenmiş. Kolesteatoma epitelinde izlenen hiperproliferasyona rağmen, epitelyal hücrelerde hücre siklusu durdurma yeteneğinin P27 aktivasyonu sayesinde sürmesi, buradaki proliferasyonun kontrollü olduğunun göstergesi olarak ifade edilmiştir. Bu şekilde malign tümörlerdeki kontrolsüz hücre çoğalmasından ayrıldığı belirtilmiştir.

Chole (144), normal rat orta kulak mukozasında aşırı vitamin A eksikliğinde keratinize skuamöz epitele metaplazi olduğunu gözlemlemişlerdir. Vitamin A eksikliğine ek olarak, sigara kullanımı, progesteron ve ortamdaki CO₂ ve O₂ oranlarının değişmesinin de metaplazi sürecinde rol aldığı bildirilmektedir (145, 146). Ancak yapılan çalışmalarda, çeşitli etkenler ile orta kulak mukozasında metaplazik

değişiklikler olduğu, ancak epidermoid karakterdeki bu hücrelerin keratin oluşturmadığı ve bu nedenle gerçek bir kolesteatoma oluşumunun söz konusu olmadığı belirlenmiştir (1). Neticede, kolesteatoma nedeni olarak kesin bir kanıtla metaplazi teorisi gösterilememiştir.

Jel elektroforezi ile 1983 yılında apopitozda endonükleazların aktive olarak DNA kırıklarına neden olduğunun gösterilmesi ile hücre ölümünün ilk biyokimyasal kanıtı elde edilmiş ve apopitoz ile ilgili çalışmalar hızlanmıştır. (86, 87). Apopitozun kolesteatoma patogenezinde oynadığı rolü ortaya koymak için yapılan araştırmalar sırasında bir çok parametre kullanılmıştır.

Chae ve ark. (77), Ki-67 ve P27 kullanarak yaptıkları çalışma da epidermal hücre seviyelerinde hiperprolifere olan hücrelerin sayısının kolesteatomada belirgin şekilde yüksek olduğu saptanmıştır. Miyazaki ve ark.'na (147) göre, kolesteatomada çeşitli sitokin seviyelerinin yükselmesine bağlı keratinosit hiperproliferasyonu olmasına rağmen apopitoz süreci DKY cildi ile farklılık göstermemektedir. Buda orta kulak kolesteatomasının karakteristik özelliği olan aşırı keratin debris birikimine neden olmakta ve sonuç olarak kolesteatoma genişlemektedir.

Bcl-xL, bcl-2 ile ilişkili bir gen dir ve bcl-2 proteini gibi DNA hasarında tümör hücrelerinin apopitozunu inhibe eder (83, 84). Hiromi ve ark. (15), kolesteatoma epitelinde diferansiyasyon ve apopitozda bcl-xL proteinin rolünü araştırdılar ve çalışmalarının sonunda apopitotik hücrelerin ortak şekilde süperfisyal epidermal tabakalarda olduğunu fakat bazal hücrelerde olmadığını ve ayrıca kolesteatoma epiteli ile normal DKY cildi arasında fark olmadığını gördüler.

Hücrelerde her bölünme ile telomerlerde kısalma meydana gelmektedir. Telomeraz aktivitesindeki azalma telomer kısalmasına neden olarak hücre büyümesini durdurmaktadır. Telomer kısalmasını engelleyen telomeraz aktivitesine sahip olan kanser hücreleri ölümsüz hücrelerdir. Normal hücrelere telomeraz geni eklenmesi bu hücrelere ölümsüzlük kazandırmaktadır (148). Goh ve ark. (12), kolesteatomada telomeraz aktivasyonunu değerlendirerek yaptıkları çalışmada telomeraz aktivasyonunu yüksek olarak bulmuştur ve bu sonuca göre kolesteatomada apopitozun azaldığı kanısına varmışlardır. Rudolph ve ark. (149) ise, yaptıkları çalışmada kolesteatomada telomeraz aktivasyonunu düşük olarak bulmuşlardır ve buna göre kolesteatomada apopitozun artmış olduğu kanısına varmışlardır.

Nükleer fosfoprotein p53 tümör supressör geni hücre siklusunda ve apoptozda rol almaktadır (78-82). Albino ve ark. (13), 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.

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 (16). Lewis ve ark. (16), keratinositlerde oluşan apoptoz oranının istatistiksel olarak anlamsız olmasına rağmen, c-erbB-2 inhibisyonunun apoptoz oranını azalttığını belirtmişlerdir. Elde edilen bu sonuç c-erbB-2 ekspresyonu ve apoptoz arasındaki ilişkiyi destekler niteliktedir. Sakamoto ve ark. (150), kolesteatoma dokusunda c-erbB-2 ekspresyonunu ve ssDNA'ya (Single stranded deoksiribonükleik asit) karşı kullandıkları poliklonal antikolarla apoptotik hücreleri tanımlamışlardır. Kolesteatoma dokusu tüm hücre tabakalarındaki keratinositlerde ssDNA antikoru immunreaktivitesi göstermiştir. Retroauriküler cilt ile karşılaştırıldığında immun boyanma paterni benzer olmasına rağmen, kolesteatomada anti ssDNA immunreaktivitesi çok daha yüksek olarak saptanmıştır. Bu bulgular kolesteatomada apoptoz ve hücrel farklılaşmanın arttığını göstermiştir. C-erbB-2'nin artmış ekspresyonu ile artan apoptozun keratin debrislerinin birikimine neden olarak kolesteatomanın patogenezinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir (150).

Bcl-2'nin aşırı ekspresyonu daha önce yapılan çalışmalarda folliküler lenfoma, yüksek dereceli B hücreli neoplazmlar, hodgkin lenfoma, küçük hücreli ve küçük hücreli dışı akciğer karsinomları, meme, karaciğer, EBV ile ilişkili nazofarenks karsinomu ve prostat karsinomunda gösterilmiştir (114, 151). Bazı çalışmalarda bazal hücreli karsinom ile normal cilt bcl-2, bax ekspresyonları açısından karşılaştırma yapılmıştır. Bazal hücreli karsinomda yüksek seviyelerde bcl-2 pozitifliği bildirilirken, bax ile ilgili değişik sonuçlar elde edilmiştir (101, 152, 153).

C-erbB-2 ekspresyonu (meme, over, mide, özefagus, akciğer adenokarsinomu, endometrium, baş boyun squamöz hücreli karsinomu, prostat,

pankreas, nazofareks kanseri) gibi farklı kanser türlerinde araştırılmıştır (154-160). Bu kanserlerde saptanan aşırı ekspresyonun kötü prognozla ilişkili olduğu saptanmıştır. Roychowdhury ve ark. (161), yaptığı çalışmada nazofarenks karsinomlarında c-erbB-2 ekspresyonunun artmış olduğunu saptamışlar ve agresiv davranışla korelasyonunu vurgulamışlardır.

Kolesteatomanın patogenezinde apoptozun ve dolayısı ile artmış hücresel proliferasyonun rolünü ortaya koymak amacıyla anti-apoptotik gen olan bcl-2, aynı gen ailesinden ancak pro-apoptotik etkinliğe sahip olan bax ve hücre proliferasyonu ile apoptozda rolü olan c-erbB-2 onkogeninin ekspresyonunu değerlendirildi. Bcl-2, bax ve c-erbB-2 boyanma skorları karşılaştırıldığında; kolesteatomasız ve kolesteatomalı KOM nedeni ile opere edilen hastaların DKY cildinden alınan örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Bu sonuca göre kolesteatomasız ve kolesteatomalı KOM nedeni ile opere edilen hastaların DKY cildi apoptoz oranları arasında fark olmadığını söyleyebiliriz. Primer ve sekonder akkiz kolesteatoma epiteli arasında bcl-2, bax ve c-erbB-2 ekspresyonları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Bu bulgular farklı akkiz kolesteatoma epitelinde apoptoz oranları arasında fark olmadığını göstermektedir.

Kolesteatomalı KOM nedeni ile opere edilen hastaların DKY cildine göre primer ve sekonder akkiz kolesteatoma epitelinde bcl-2 ekspresyonunun azalmış, bax ve c-erbB-2 ekspresyonunun artmış olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0.05$). Bcl-2 ekspresyonunun azalmış, bax ve c-erbB-2 ekspresyonunun artmış olması primer ve sekonder akkiz kolesteatoma epitelide DKY cildine göre daha yüksek oranda apoptoz olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda özellikle c-erbB-2' nin primer ve sekonder akkiz kolesteatoma epitelinde DKY cildine göre daha fazla eksprese edilmesi kolesteatoma epitelindeki artmış proliferasyonun da göstergesidir.

Sonuçlarımıza göre hem hücresel proliferasyon hemde apoptozun artmış olmasının kolesteatomanın ilerlemesinden sorumlu olan keratin debrislerinin birikimine neden olarak kolesteatomanın patogenezinde önemli rol oynayabilir. Tüm bu sonuçlar kolesteatomanın patogenezinde artmış proliferasyon ve apoptozun önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir. Ancak patogenezin net olarak ortaya konabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Akyıldız N. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi 1. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998; 337-451.
2. 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.
3. Özbilen S. Kolesteatomlu Otitis Media. *Türkiye Klinikleri KBB dergisi* 2001; 1: 86-98.
4. 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.
5. Choufani G, Roper N, Delbrouck C, Hassid S, Gabius HJ. Animal model for cholesteatoma induced in the gerbil: will the profiles of differentiation/growth-regulatory markers be similar to the clinical situation? *Laryngoscope* 2007; 117: 706-711.
6. 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.
7. Bayazit YA, Karakok M, Ucak R, Kanlikama M. Cycline-dependent kinase inhibitor, p27 (KIP1), is associated with cholesteatoma. *Laryngoscope* 2001; 111: 1037-1041.
8. 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.
9. Choufani G, Mahillon V, Decaestecker C, Lequeux T, Danguy A, Salmon I, et al. Determination of the levels of expression of sarcolectin and calcyclin and of the percentages of apoptotic but not proliferating cells to enable distinction between recurrent and nonrecurrent cholesteatomas. *Laryngoscope* 1999; 109: 1825-1831.

10. Park HJ, Park K. Expression of Fas/APO-1 and apoptosis of keratinocytes in human cholesteatoma. *Laryngoscope* 1999; 109: 613-616.
11. Akahani S, Nangia-Makker P, Inohara H, Kim HR, Raz A. Galectin-3: a novel antiapoptotic molecule with a functional BH1 (NWGR) domain of Bcl-2 family. *Cancer Res* 1997; 57: 5272-5276.
12. Goh EK, Lee BJ, Wang SG, Chon KM, Kim CM. Expression of telomerase activity in cholesteatoma otitis media. *J Laryngol Otol* 2001; 115: 881-884.
13. 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.
14. Olszewska E, Chodynicky S, Chyczewski L. Apoptosis in the pathogenesis of cholesteatoma in adults. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2006; 263: 409-413.
15. 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.
16. 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.
17. Bosman FT, Visser BC, Van Oeveren J. Apoptosis: pathophysiology of programmed cell death. *Pathol Res Pract* 1996; 192: 676-683.
18. Mountz JD ZT. Apoptosis and autoimmunity. Kopman WJ (editor). *A Textbook of Rheumatology: Arthritis and allied conditions*. Philadelphia: Lippincott-Williams&Wilkins, 2001: 635-661.
19. Wyllie AH DH. Cell death. Mc Gee JOD, Iseacson PG, Wright M (editors). *Oxford Textbook of Pathology*. Oxford University Press, 1992: 141-147.

20. Kojima H, Tanaka Y, Tanaka T, Miyazaki H, Shiwa M, Kamide Y, et al. Cell proliferation and apoptosis in human middle ear cholesteatoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 124: 261-264.
21. Chiarugi V, Magnelli L, Cinelli M. Complex interplay among apoptosis factors: RB, p53, E2F, TGF-beta, cell cycle inhibitors and the bcl2 gene family. *Pharmacol Res* 1997; 35: 257-261.
22. Strasser A, O'Connor L, Dixit VM. Apoptosis signaling. *Annu Rev Biochem* 2000; 69: 217-245.
23. Park JR, Hockenbery DM. BCL-2, a novel regulator of apoptosis. *J Cell Biochem* 1996; 60: 12-17.
24. Lu QL, Poulson R, Wong L, Hanby AM. Bcl-2 expression in adult and embryonic non-haematopoietic tissues. *J Pathol* 1993; 169: 431-437.
25. Oltvai ZN, Milliman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 1993; 74: 609-619.
26. Marzo I, Brenner C, Zamzami N, Susin SA, Beutner G, Brdiczka D, et al. The permeability transition pore complex: a target for apoptosis regulation by caspases and bcl-2-related proteins. *J Exp Med* 1998; 187: 1261-1271.
27. Yarden Y. Biology of HER2 and its importance in breast cancer. *Oncology* 2001; 61: 1-13.
28. Kono K, Takahashi A, Ichihara F, Sugai H, Fujii H, Matsumoto Y. Impaired antibody-dependent cellular cytotoxicity mediated by herceptin in patients with gastric cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 5813-5817.
29. Ross JS, Fletcher JA. HER-2/neu (c-erb-B2) gene and protein in breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1999; 112: 53-67.

30. 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.
31. Pearson A. Development of anatomy of the ear In: English GM (editor) Otolaryngology Philadelphia: Harper and Row Publishers; 1984: 1-68.
32. Gulya A. Anatomy of the temporal bone. Shambaugh GE Jr, Glasscock ME III (editors). Surgery of the ear. Ed 5. Philadelphia: WB Saunders, 2003: 35-49.
33. Jackler RK. The surgical anatomy of cholesteatoma. Otolaryngol Clin North Am 1989; 22: 883-896.
34. Duckert. L. Anatomy of the skull base, temporal bone, external ear and middle ear. Complications of temporal bone infection. Cummings CW, Fredericson JM, Harker LA et al,(editors). Otolaryngol Head and Neck Surgery, 3rd ed., St. Louis: Mosby Year Book, 1998: 2533-2546.
35. Dew LA SC. Complications of temporal bone infection. Cummings CW, Fredericson JM, Harker LA et al, (editors). Otolaryngol Head and Neck Surgery, 3rd ed., St. Louis: Mosby Year Book, 1998: 3047-3073.
36. Klein CL, Wagner M, Kirkpatrick CJ, Van Kooten TG. A new quantitative test method for cell proliferation based on detection of the Ki-67 protein. J Mater Sci Mater Med 2000; 11: 125-132.
37. Kangsanarak J, Fooanant S, Ruckphaopunt K, Navacharoen N, Teotrakul S. Extracranial and intracranial complications of suppurative otitis media. Report of 102 cases. J Laryngol Otol 1993; 107: 999-1004.
38. Bluestone CD. Epidemiology and pathogenesis of chronic suppurative otitis media: implications for prevention and treatment. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 1998; 42: 207-223.
39. Meyerhoff WL, Kim CS, Paparella MM. Pathology of chronic otitis media. Ann Otol Rhinol Laryngol 1978; 87: 749-760.

40. Albers FW. Complications of otitis media: the importance of early recognition. *Am J Otol* 1999; 20: 9-12.
41. Shambaugh GE. Aural complications of otitis media. Shambaugh GE, 4th ed. *Surgery of the ear*. Philadelphia: WB. Saunders Company, 1990: 277-284.
42. Igarashi M, Schuknecht HF. Pneumococccic otitis media, meningitis and labyrinthitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1962; 76: 126-138.
43. Austin DF. Complications of acute and chronic otitis media. Ballenger JJ, Snow JB, 15th ed. *Otorhinolaryngology Head & Neck Surgery*. Williams & Wilkins, 1996: 1043-1052.
44. Gersdorff MC, Nouwen J, Decat M, Degols JC, Bosch P. Labyrinthine fistula after cholesteatomatous chronic otitis media. *Am J Otol* 2000; 21: 32-35.
45. Jang CH, Merchant SN. Histopathology of labyrinthine fistulae in chronic otitis media with clinical implications. *Am J Otol* 1997; 18: 15-25.
46. Papp Z, Rezes S, Jokay I, Sziklai I. Sensorineural hearing loss in chronic otitis media. *Otol Neurotol* 2003; 24: 141-144.
47. Canter R. Acute suppurative otitis media. Booth JB (editor). *Otology*, in Kerr AG ed *Scott Brown's Otolaryngology*, ed. 6. Oxword: Buittenworth-Heinemann, 1997: 1-15.
48. Harkness P, Topham J. Classification of otitis media. *Laryngoscope* 1998; 108: 1539-1543.
49. 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.
50. Paparella S, Gluckman, Meyerhoff. *Otolaryngology*, Philadelphia: WB Saunders Co, 1991: 2629-2637.

51. Özbilen S. Kronik Süpüratif Otitis Media. Çelik O (editors). Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. İstanbul: Turgut yayıncılık, 2002: 161-193.
52. Albino AP, Kimmelman CP, Parisier SC. Cholesteatoma: a molecular and cellular puzzle. Am J Otol 1998; 19: 7-19.
53. Bernal Sprekelsen M, Ebmeyer J, Buchbinder A, Sudhoff H. Comparative analysis of the proliferative capacity of cholesteatomas. Acta Otorrinolaringol Esp 2000; 51: 299-307.
54. Sade J. Treatment of cholesteatoma. Am J Otol 1987; 8: 524-533.
55. Ojala K, Palva A. Late results of obliterative cholesteatoma surgery. Arch Otolaryngol 1982; 108: 1-3.
56. Tumarkin A. On the nature and significance of hypocellularity of the mastoid. J Laryngol Otol 1959; 73: 34-44.
57. Sculerati N, Bluestone CD. Pathogenesis of cholesteatoma. Otolaryngol Clin North Am 1989; 22: 859-868.
58. Pfaltz CR. Retraction pocket and development of cholesteatoma in children. Adv Otorhinolaryngol 1988; 40: 118-123.
59. Johnson AP. The mechanism of migration in external ear canal. Cholesteatoma and mastoid surgery. Kugler and Ghedin Pub. Amsterdam 1988; 271-273.
60. Chole RA CM. Chronic otitis media, mastoiditis, and petrositis. Cummings CW, Frederickson JM, Harker LA, Krause AJ, Richardson MA, Schuller DA, eds. Otolaryngology Head Neck Surgery. St. Louis: Mosby Year Book, 1998: 3026-3046.
61. Michaels L. Biology of cholesteatoma. Otolaryngol Clin North Am 1989; 22: 869-881.
62. Friedberg J. Congenital cholesteatoma. Laryngoscope 1994; 104:1-24.

63. Arriaga MA, Brackmann DE. Differential diagnosis of primary petrous apex lesions. *Am J Otol* 1991; 12: 470-474.
64. Gacek RR. Evaluation and management of primary petrous apex cholesteatoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1980; 88: 519-523.
65. Persaud RA, Hajioff D, Thevasagayam MS, Wareing MJ, Wright A. Keratosis obturans and external ear canal cholesteatoma: how and why we should distinguish between these conditions. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 2004; 29: 577-581.
66. Naim R, Linthicum Jr F, Shen T, Bran G, Hormann K. Classification of the external auditory canal cholesteatoma. *Laryngoscope* 2005; 115: 455-460.
67. Fariior J. Cholesteatoma of the external ear canal. *Am J Otol* 1990; 11: 113-116.
68. Park K, Park HJ, Chun YM. Immunohistochemical study on proliferative activity of experimental cholesteatoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2001; 258: 101-105.
69. Adamczyk M, Sudhoff H, Jahnke K. Immunohistochemical investigations on external auditory canal cholesteatomas. *Otol Neurotol* 2003; 24: 705-708.
70. 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.
71. 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.
72. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000; 182: 311-322.
73. 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.

74. 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.
75. Bujia J, Schilling V, Holly A, Stammberger M, Kastenbauer E. Hyperproliferation-associated keratin expression in human middle ear cholesteatoma. *Acta Otolaryngol* 1993; 113: 364-368.
76. Tanaka Y, Kojima H, Miyazaki H, Koga T, Moriyama H. Roles of cytokines and cell cycle regulating substances in proliferation of cholesteatoma epithelium. *Laryngoscope* 1999; 109: 1102-1107.
77. Chae SW, Song JJ, Suh HK, Jung HH, Lim HH, Hwang SJ. Expression patterns of p27Kip1 and Ki-67 in cholesteatoma epithelium. *Laryngoscope* 2000; 110: 1898-1901.
78. Maltzman W, Czyzyk L. UV irradiation stimulates levels of p53 cellular tumor antigen in nontransformed mouse cells. *Mol Cell Biol* 1984; 4: 1689-1694.
79. 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.
80. 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.
81. Kuerbitz SJ, Plunkett BS, Walsh WV, Kastan MB. Wild-type p53 is a cell cycle checkpoint determinant following irradiation. *Proc Natl Acad Sci* 1992; 89: 7491-7495.
82. Meyn MS. Ataxia-telangiectasia and cellular responses to DNA damage. *Cancer Res* 1995; 55: 5991-6001.
83. 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.

84. 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.
85. Thompson C. Apoptosis. In: Paul WE, ed. *Fundamental Immunology*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1999: 813-828.
86. Quigley HA. Neuronal death in glaucoma. *Prog Retin Eye Res* 1999; 18: 39-57.
87. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-257.
88. Fox CK, Furtwaengler A, Nepomuceno RR, Martinez OM, Krams SM. Apoptotic pathways in primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis. *Liver* 2001;21:272-279.
89. Jerzak M, Bischof P. Apoptosis in the first trimester human placenta: the role in maintaining immune privilege at the maternal-foetal interface and in the trophoblast remodelling. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002; 100: 138-142.
90. Jones BA, Gores GJ. Physiology and pathophysiology of apoptosis in epithelial cells of the liver, pancreas, and intestine. *Am J Physiol* 1997; 273: 1174-1188.
91. Budd RC. Death receptors couple to both cell proliferation and apoptosis. *J Clin Invest* 2002; 109: 437-441.
92. Afford S, Randhawa S. Apoptosis. *Mol Pathol* 2000; 53: 55-63.
93. Rodenburg RJ, Raats JM, Pruijn GJ, van Venrooij WJ. Cell death: a trigger of autoimmunity? *Bioessays* 2000; 22: 627-636.
94. Gobe G, Zhang XJ, Cuttle L, Pat B, Willgoss D, Hancock J, et al. Bcl-2 genes and growth factors in the pathology of ischaemic acute renal failure. *Immunol Cell Biol* 1999; 77: 279-286.
95. Ferri KF, Kroemer G. Mitochondria--the suicide organelles. *Bioessays* 2001; 23: 111-115.

96. Hatton J. Pharmacological treatment of traumatic brain injury: a review of agents in development. *CNS Drugs* 2001; 15: 553-581.
97. Sheikh MS, Fornace AJ, Jr. Role of p53 family members in apoptosis. *J Cell Physiol* 2000; 182: 171-181.
98. Yang E, Korsmeyer SJ. Molecular thanatopsis: a discourse on the BCL2 family and cell death. *Blood* 1996; 88: 386-401.
99. Wickremasinghe RG, Hoffbrand AV. Biochemical and genetic control of apoptosis: relevance to normal hematopoiesis and hematological malignancies. *Blood* 1999; 93: 3587-3600.
100. Rosse T, Olivier R, Monney L, Rager M, Conus S, Fellay I, et al. Bcl-2 prolongs cell survival after Bax-induced release of cytochrome c. *Nature* 1998; 391: 496-499.
101. Ramdial PK, Madaree A, Reddy R, Chetty R. bcl-2 protein expression in aggressive and non-aggressive basal cell carcinomas. *J Cutan Pathol* 2000; 27: 283-291.
102. Mustonen M, Raunio H, Paakko P, Soini Y. The extent of apoptosis is inversely associated with bcl-2 expression in premalignant and malignant breast lesions. *Histopathology* 1997; 31: 347-354.
103. Staibano S, Lo Muzio L, Pannone G, Scalvenzi M, Salvatore G, Errico ME, et al. Interaction between bcl-2 and P53 in neoplastic progression of basal cell carcinoma of the head and neck. *Anticancer Res* 2001; 21: 3757-3764.
104. Petros AM, Medek A, Nettesheim DG, Kim DH, Yoon HS, Swift K, et al. Solution structure of the antiapoptotic protein bcl-2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 3012-3017.
105. Sentman CL, Shutter JR, Hockenbery D, Kanagawa O, Korsmeyer SJ. bcl-2 inhibits multiple forms of apoptosis but not negative selection in thymocytes. *Cell* 1991; 67: 879-888.

106. Kluck RM, Bossy-Wetzel E, Green DR, Newmeyer DD. The release of cytochrome c from mitochondria: a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis. *Science* 1997; 275: 1132-1136.
107. Yang J, Liu X, Bhalla K, Kim CN, Ibrado AM, Cai J, et al. Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science* 1997; 275: 1129-1132.
108. Cheng EH, Wei MC, Weiler S, Flavell RA, Mak TW, Lindsten T, Korsmeyer SJ. BCL-2, BCL-X(L) sequester BH3 domain-only molecules preventing BAX- and BAK-mediated mitochondrial apoptosis. *Mol Cell* 2001; 8: 705-711.
109. Kulms D, Schwarz T. Independent contribution of three different pathways to ultraviolet-B-induced apoptosis. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 837-841.
110. Adler V, Schaffer A, Kim J, Dolan L, Ronai Z. UV irradiation and heat shock mediate JNK activation via alternate pathways. *J Biol Chem* 1995; 270: 26071-26077.
111. Manome Y, Weichselbaum RR, Kufe DW, Fine HA. Effect of Bcl-2 on ionizing radiation and 1-beta-D-arabinofuranosylecytosine-induced internucleosomal DNA fragmentation and cell survival in human myeloid leukemia cells. *Oncol Res* 1993; 5: 139-144.
112. Ito T, Deng X, Carr B, May WS. Bcl-2 phosphorylation required for anti-apoptosis function. *J Biol Chem* 1997; 272: 11671-11673.
113. Jacobson MD, Burne JF, King MP, Miyashita T, Reed JC, Raff MC. Bcl-2 blocks apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA. *Nature* 1993; 361: 365-369.
114. Crowson AN, Magro CM, Kadin ME, Stranc M. Differential expression of the bcl-2 oncogene in human basal cell carcinoma. *Hum Pathol* 1996; 27: 355-359.
115. Zhang GJ, Kimijima I, Abe R, Kanno M, Katagata N, Hara K, et al. Correlation between the expression of apoptosis-related bcl-2 and p53 oncoproteins and the carcinogenesis and progression of breast carcinomas. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 2329-2335.

- 116.** Krajewski S, Thor AD, Edgerton SM, Moore DH, 2nd, Krajewska M, Reed JC. Analysis of Bax and Bcl-2 expression in p53-immunopositive breast cancers. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 199-208.
- 117.** Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* 2000; 103: 211-225.
- 118.** Kern J.A MLG. Genetic and molecular changes in human lung cancer. Fishman A. Ped. Fishman A.P. (editor) *Pulmonary Diseases and Disorders*. New York: McGraw-Hill, 1997; 107: 1695-1705.
- 119.** Fishman A.P KJA. Dominant oncogenes and tumor suppressor genes in human lung cancer. Fishman A.P. (editor) *Update: Pulmonary Diseases and Disorders*. New York: McGraw-Hill, 1992; 30: 433-451.
- 120.** Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989; 244: 707-712.
- 121.** Cotran R. Kumar V, Robbins SL (editors). *Robbins Pathologic basis of disease*, 5th. ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1994: 260-261.
- 122.** Baretton GB, Diebold J, Christoforis G, Vogt M, Muller C, Dopfer K, et al. Apoptosis and immunohistochemical bcl-2 expression in colorectal adenomas and carcinomas. Aspects of carcinogenesis and prognostic significance. *Cancer* 1996; 77: 255-264.
- 123.** Seshadri Firgai FA HD, Mc Caul K. Clinical significance of HER-2/neu oncogene amplification in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 1993; 11: 1936-1942.
- 124.** Lee EY, Cibull ML, Strodel WE, Haley JV. Expression of HER-2/neu oncoprotein and epidermal growth factor receptor and prognosis in gastric carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 1994; 118: 235-239.

125. Saleh HA, Mills RP. Classification and staging of cholesteatoma. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 1999; 24: 355-359.
126. Kemppainen HO, Puhakka HJ, Laippala PJ, Sipila MM, Manninen MP, Karma PH. Epidemiology and aetiology of middle ear cholesteatoma. *Acta Otolaryngol* 1999; 119: 568-572.
127. Podoshin L, Fradis M, Ben-David Y, Margalit A, Tamir A, Epstein L. Cholesteatoma: an epidemiologic study among members of kibbutzim in northern Israel. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1986; 95: 365-368.
128. Nelson M, Roger G, Koltai PJ, Garabedian EN, Triglia JM, Roman S, et al. Congenital cholesteatoma: classification, management, and outcome. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 128: 810-814.
129. Watt FM. Terminal differentiation of epidermal keratinocytes. *Curr Opin Cell Biol* 1989; 1: 1107-1115.
130. Shinoda H, Huang CC. Heat shock proteins in middle ear cholesteatoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1996; 114: 77-83.
131. 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.
132. Mallet Y, Nouwen J, Lecomte-Houcke M, Desaulty A. Aggressiveness and quantification of epithelial proliferation of middle ear cholesteatoma by MIB1. *Laryngoscope* 2003; 113: 328-331.
133. Hildmann H, Sudhoff H. Cholesteatoma in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1999; 49: 81-86.
134. Kim HJ, Tinling SP, Chole RA. Increased proliferation and migration of epithelium in advancing experimental cholesteatomas. *Otol Neurotol* 2002; 23: 840-844.

135. Park K, Chun YM, Lee DH. Expression of phospholipase C-gamma1 in experimental cholesteatoma using Mongolian gerbils. *Acta Otolaryngol* 2001; 121: 477-480.
136. Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997; 3: 917-921.
137. O'Connor DS, Grossman D, Plescia J, Li F, Zhang H, Villa A, et al. Regulation of apoptosis at cell division by p34cdc2 phosphorylation of survivin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 13103-13107.
138. 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.
139. 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.
140. Barondes SH, Cooper DN, Gitt MA, Leffler H. Galectins. Structure and function of a large family of animal lectins. *J Biol Chem* 1994; 269: 20807-20810.
141. Perillo NL, Marcus ME, Baum LG. Galectins: versatile modulators of cell adhesion, cell proliferation, and cell death. *J Mol Med* 1998; 76: 402-412.
142. Sheikholeslam-Zadeh R, Decaestecker C, Delbrouck C, Danguy A, Salmon I, Zick Y, et al. The levels of expression of galectin-3, but not of galectin-1 and galectin-8, correlate with apoptosis in human cholesteatomas. *Laryngoscope* 2001; 111: 1042-1047.
143. Ergun S, Carlsoo B, Zheng X. Apoptosis in meatal skin, cholesteatoma and squamous cell carcinoma of the ear. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 1999; 24: 280-285.
144. Choo Y. End effects in DNA recognition by zinc finger arrays. *Nucleic Acids Res* 1998; 26: 554-557.

145. Massuda ET, Oliveira JA. A new experimental model of acquired cholesteatoma. *Laryngoscope* 2005; 115: 481-485.
146. Schousboe LP, Ovesen T, Ledet T. Influence of hyperoxia on in vitro growth of rabbit middle ear epithelium and auditory meatal epithelium. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1997; 41: 279-290.
147. Miyazaki H, Kojima H, Tanaka Y, Shiwa M, Koga T, Moriyama H. Terminal differentiation of epithelial cells in middle ear cholesteatoma: investigation of patterns of expression of protein kinase C-delta and protein kinase C-eta. *Laryngoscope* 1999; 109: 1785-1792.
148. Von Zglinicki T, Saretzki G, Docke W, Lotze C. Mild hyperoxia shortens telomeres and inhibits proliferation of fibroblasts: a model for senescence? *Exp Cell Res* 1995; 220: 186-193.
149. Watabe-Rudolph M, Rudolph KL, Averbeck T, Buhr T, Lenarz T, Stover T. Telomerase activity, telomere length, and apoptosis: a comparison between acquired cholesteatoma and squamous cell carcinoma. *Otol Neurotol* 2002; 23: 793-798.
150. 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.
151. Hermine O, Haioun C, Lepage E, d'Agay MF, Briere J, Lavignac C, et al. Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). *Blood* 1996; 87: 265-272.
152. Tilli CM, Stavast-Koey AJ, Ramaekers FC, Neumann HA. Bax expression and growth behavior of basal cell carcinomas. *J Cutan Pathol* 2002; 29: 79-87.
153. Delehedde M, Cho SH, Sarkiss M, Brisbay S, Davies M, El-Naggar AK, McDonnell TJ. Altered expression of bcl-2 family member proteins in nonmelanoma skin cancer. *Cancer* 1999; 85: 1514-1522.

- 154.** Seidman JD, Frisman DM, Norris HJ. Expression of the HER-2/neu proto-oncogene in serous ovarian neoplasms. *Cancer* 1992; 70: 2857-2860.
- 155.** Day JD, Digiuseppe JA, Yeo C, Lai-Goldman M, Anderson SM, Goodman SN, et al. Immunohistochemical evaluation of HER-2/neu expression in pancreatic adenocarcinoma and pancreatic intraepithelial neoplasms. *Hum Pathol* 1996; 27: 119-124.
- 156.** Apple SK, Hecht JR, Lewin DN, Jahromi SA, Grody WW, Nieberg RK. Immunohistochemical evaluation of K-ras, p53, and HER-2/neu expression in hyperplastic, dysplastic, and carcinomatous lesions of the pancreas: evidence for multistep carcinogenesis. *Hum Pathol* 1999; 30: 123-129.
- 157.** Kern JA, Schwartz DA, Nordberg JE, Weiner DB, Greene MI, Torney L, Robinson RA. p185neu expression in human lung adenocarcinomas predicts shortened survival. *Cancer Res* 1990; 50: 5184-5187.
- 158.** Sato K, Moriyama M, Mori S, Saito M, Watanuki T, Terada K, et al. An immunohistologic evaluation of C-erbB-2 gene product in patients with urinary bladder carcinoma. *Cancer* 1992; 70: 2493-2498.
- 159.** Mellon JK, Lunec J, Wright C, Horne CH, Kelly P, Neal DE. C-erbB-2 in bladder cancer: molecular biology, correlation with epidermal growth factor receptors and prognostic value. *J Urol* 1996; 155: 321-326.
- 160.** Ross JS, Sheehan C, Hayner-Buchan AM, Ambros RA, Kallakury BV, Kaufman R, et al. HER-2/neu gene amplification status in prostate cancer by fluorescence in situ hybridization. *Hum Pathol* 1997; 28: 827-833.
- 161.** Roychowdhury DF, Tseng Jr A, Fu KK, Weinburg V, Weidner N. New prognostic factors in nasopharyngeal carcinoma. Tumor angiogenesis and C-erbB2 expression. *Cancer* 1996; 77: 1419-1426.

6. ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Bayburt'ta doğdum. İlkokul 1. sınıfı Siirt'in Eruh ilçesindeki YİBO'da, 2. ve 3. sınıfı Kütahya Atatük İlkokulunda, 4 ve 5. sınıfı Antalya Naciye Havva Manavuşak İlkokulunda, ortaokulu Antalya Merkez Ortaokulu'nda, liseyi Antalya Lisesi'nde tamamladım. 1998 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yüksek öğrenimime başlayıp 2005 yılında mezun oldum. Daha sonra girdiğim Tıpta Uzmanlık Sınavında (TUS) Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz ve Hastalıkları bölümünü kazandım ve ihtisasa başladım. Halen bu klinikte araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.