

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

**TİMPANOSKLEROZLU KRONİK OTİTİS MEDİALI
HASTALARDAKİ ANTİOKSİDAN ENZİMLERİN GENETİK
POLİMORFİZMİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Abdulvahap AKYİĞİT**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Şinasi YALÇIN**

**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.

Prof. Dr. Şinasi YALÇIN

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Şinasi YALÇIN

.....
Prof. Dr. İrfan KAYGUSUZ

.....
Prof. Dr. Turgut KARLIDAĞ

.....

TEŞEKKÜR

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

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

Uzmanlık eğitimine başladıktan sonra hayatıma dahil olan ve hayatıma büyük renk katan oğlum Mehmet Tuğrul' a, her zaman desteğini hissettiğim ve gördüğüm sevgili eşim Sibel' e, birlikte çalışma fırsatı bulduğum asistan arkadaşlarıma,

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

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

Teşekkür ederim.

ÖZET

Bu çalışmada timpanosklerozlu (TS) kronik otitis medialı (KOM) hastalarda indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz enzimlerinin genetik polimorfizmi değerlendirilerek, TS etiolojisinde genetik yatkınlığın rolü araştırılmıştır.

Çalışmaya KOM nedeniyle opere edilen 64 hasta ve kulak problemi veya bilinen kronik sistemik bir hastalığı olmayan 32 birey alınmıştır. Timpanosklerozlu KOM, timpanosklerozsuz KOM ve kontrol grubu olmak üzere üç grup oluşturulmuştur. Hastalardan ve kontrol grubundan alınan venöz kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılmış, revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyon (RT PZR) incelemesi ile de genetik polimorfizm değerlendirilmiştir.

İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz genindeki (-277) A/G polimorfizm için GG genotip dağılımı timpanosklerozlu KOM, timpanosklerozsuz KOM ve kontrol grubunda sırasıyla 13 (%40), 7 (%22) ve 4 (%12) olarak bulunmuştur. Timpanosklerozlu KOM grubu ile kontrol grubu arasında GG genotip dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.008$).

Süperoksit dismutaz (mn-SOD) A16V (C/T) polimorfizmi için CC genotip dağılımı timpanosklerozlu KOM, timpanosklerozsuz KOM ve kontrol grubunda sırasıyla 8 (%25), 7 (%22) ve 4 (%12) olarak bulunmuştur. Timpanosklerozlu KOM grubu ve timpanosklerozsuz KOM grubunda, kontrol grubuna göre CC genotip sayısında artış görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

Katalaz geninde -21 pozisyonundaki A/T değişim polimorfizmi için TT genotip dağılımı timpanosklerozlu KOM, timpanosklerozsuz KOM ve kontrol grubunda sırasıyla 6 (%20), 2 (%6) ve 3 (%9) olarak bulunmuştur. Timpanosklerozlu KOM grubunda, kontrol grubuna göre TT genotip sayısında artış görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlılık belirlenmemiştir ($p>0.05$).

Bu çalışmada sağlıklı bireylere göre timpanosklerozlu KOM' lu hastalarda, iNOS geninde (-277) GG genotipinin anlamlı düzeyde artmış olduğu tespit edilmiş ve timpanosklerozun etyopatogenezinde genetik yatkınlığın rol oynayabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Timpanoskleroz, İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz, Süperoksit Dismutaz, Katalaz, Genetik Polimorfizm

ABSTRACT

GENETIC POLYMORPHISM OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN PATIENT WITH THYMPANOSCLEROSIS CHRONICAL OTITIS MEDIA

In this study, genetic polymorphism of inducible nitric oxide synthetase (iNOS), superoxide dysmutase (SOD) and catalase enzymes were analyzed in patients with thympanosclerosis (TS) chronical otitis media (COM), therefore role of genetic predisposition in TS etiology was researched.

32 persons who did not have any ear problem or known chronical systemic disease, and 64 patients who were operated because of COM were included in this study. Three groups were created: COM with thympanosclerosis, COM without thympanosclerosis and the control group. DNA insulation was performed from venous blood samples taken from the patients and the control group. Genetic polymorphism was evaluated through the examination of reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT PCR).

GG genotype dispersion was found as 13 (40%), 7 (22%) and 4 (12%) in COM with thympanosclerosis, COM without thympanosclerosis and the control group respectively, for A/G polymorphism in inducible nitric oxide synthetase (NOS2) gene (-277). GG genotype dispersion between COM with thympanosclerosis group and the control group was statistically meaningful ($p=.008$).

CC genotype dispersion was found as 8 (25%), 7 (22%) and 4 (12%) in the group of KOM with thympanosclerosis, COM without thympanosclerosis and the control group respectively, for superoxide dysmutase (mn-SOD) A16V (C/T) polymorphism. Even though CC genotype number increased in the group of COM with thympanosclerosis and thympanosclerosis without COM compared to the control group, no meaningful difference was found statistically.

TT genotype dispersion was found as 6 (20%), 2 (6%) and 3 (9%) for COM with thympanosclerosis, COM without thympanosclerosis and the control group respectively, for A/T variation polymorphism in -21 position in catalase gene. Even though TT genotype number increased in the group of COM with thympanosclerosis compared to the control group, no statistical relevance was identified.

In this study, it was identified that GG genotype of iNOS (NOS2) gene (-277) was significantly increased in patients with thympanosclerosis COM, compared to the healthy individuals. Consequently; it was concluded that genetic predisposition could play a big role in etiopathogenesis of thympanosclerosis.

Keywords: Thympanosclerosis, inducible nitric oxide synthetase, superoxide dysmutase, catalase, genetic polymorphism

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Kulak Embriyolojisi	2
1.1.1. Dış Kulağın Gelişmesi	2
1.1.2. Orta Kulağın Gelişmesi	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	4
1.2.3. Petröz Parça	5
1.2.4. Timpanik Parça	5
1.3. Kulak Anatomisi	6
1.3.1. Dış Kulak	6
1.3.2. Orta Kulak	6
1.3.2.1. Kulak Zarı	6
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. Otitis Media	9
1.5. Timpanoskleroz	10
1.5.1. Tanım ve Tarihçe	10
1.5.2. Timpanosklerozun Histopatolojisi	11

1.5.2.1. Timpanosklerozun Histopatolojik Tipleri	15
1.5.3. Timpanosklerozda Etiyopatogenez	15
1.5.3.1 Enflamasyon	16
1.5.3.2. Doku Travması	17
1.5.3.3. Otoimmün ve Allerjik Faktörler	18
1.5.3.4. Serbest Oksijen Radikalleri	18
1.5.3.4.1. Nitrik Oksit ve İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz (İNOS)	20
1.5.3.4.2. Antioksidan Savunma Sistemleri	20
1.5.3.4.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	20
1.5.3.4.2.2. Katalaz	22
1.5.4. Timpanosklerozun Klinik Tipleri ve Özellikleri	22
1.5.4.1. Kulak Zarı Timpanosklerozu	22
1.5.4.2. Orta Kulak Timpanosklerozu	23
1.5.5. Timpanosklerozun Tedavisi	25
1.5.5.1. Koruyucu Tedavi	25
1.5.5.2. Medikal Tedavi	26
1.5.5.3. Cerrahi Tedavi	26
2. GEREÇ VE YÖNTEM	29
2.1. Denekler	29
2.2. Gruplar	29
2.3. Polimorfizmlerin Tayininde Kullanılan Gereçler	29
2.4. Polimorfizmlerin Tayininde Kullanılan Kimyasallar	30
2.5. Polimorfizmlerin Tayininde Kullanılan Çözeltiler	30
2.6. DNA İzolasyon İşlemi	31
2.6.1. Kullanılan Solüsyon ve Gereçler	31
2.6.2. İzolasyon Aşamaları	31
2.6.3. DNA Konsantrasyonu ve Saflık Derecesinin Ölçülmesi	32
2.7. Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) Çalışması	33
2.7.1. PZR Materyalleri	33
2.7.2. Restriksiyon Enzimleri	33
2.7.3. Polimorfizmlerin PZR ve Restriksiyon Enzim Kesim Yöntemiyle Belirlenmesi	33

2.7.4. PZR Kurulması İşlemi	34
2.7.5. PZR Koşulları	34
2.8. Agaroz Jel Elektroforezi	35
2.9. İstatistiksel Değerlendirme	35
3. BULGULAR	36
3.1. Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyon İnceleme Bulguları	36
4. TARTIŞMA	41
5. KAYNAKLAR	48
6. ÖZGEÇMİŞ	58

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. iNOS (NOS2) genindeki (-277) A/G polimorfizminin genotipleri ve HW p değerleri	37
Tablo 2. SOD2 (Mn-SOD) genindeki A16V (C/T) polimorfizminin genotipleri ve HW p değerleri	39
Tablo 3. Katalaz genindeki -21 pozisyonundaki A/T değişim polimorfizminin genotipleri ve HW p değerleri	40

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Dış, orta ve iç kulak	9
Şekil 2. Timpanosklerotik plak oluşumunun iki farklı mekanizması	14
Şekil 3. Gruplara göre cinsiyet dağılımı	36
Şekil 4. iNOS -277 A/G polimorfizmi için heterozigot (A/G) bir örneğe DNA dizileme görüntüsü	37
Şekil 5. SOD2 (Mn-SOD) genindeki A16V (C/T) polimorfizminin agaroz jel elektroforez görüntüsü	38
Şekil 6. Katalaz genindeki -21 pozisyonundaki A/T değişim polimorfizminin agaroz jel elektroforez görüntüsü	39

KISALTMALAR LİSTESİ

A	: Adenin
bç	: Baz çifti
BsaWI	: Bacillus stearothermophilus W1718
C	: Sitozin
Cu	: Bakır
DKY	: Dış kulak yolu
dB	: Desibel
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
EtBr	: Etidium bromüd
HCL	: Hidroklorik asit
Hinfl	: Haemophilus influenzae
HLA	: Human lökosit antijen
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HW	: Hardy Weinberg
iNOS	: İndüklenen nitrik oksit sentetaz
KOM	: Kronik otitis media
KZ	: Kulak zarı
mg	: Miligram
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
Mn	: Mangan
MS	: Miringoskleroz
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat-oksidad
nm	: Nanometre
NO	: Nitrik oksit
O₂	: Oksijen
OH	: Hidroksil
PMNL	: Polimorf nüveli lökositler
RNA	: Ribonükleik asit
RT PZR	: Revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu

ROT	: Reaktif oksijen türevleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
SSK	: Semisirküler kanal
T	: Timin
TBE	: Tris-Borik asit-EDTA
TLR4	: Toll-like reseptör 4
TNF	: Tümör nekroz faktör
TORP	: Total osiküler replasman protezi
TS	: Timpanoskleroz
UV	: Ultraviyole
VT	: Ventilasyon tüpü
Zn	: Çinko

1. GİRİŞ

Timpanoskleroz (TS) orta kulak ve mastoid hücrelerinin hyalen dejenerasyonu ile karakterize bir hastalıdır (1,2). Bu dejeneratif süreç submukoza konnektif dokuda başlar ve tüm konnektif doku tabakalarına yayılır (1). Bu konu ile ilgili birçok çalışma olmasına rağmen, etyolojisi ve patogenezi halen tam olarak bilinmemektedir. Timpanosklerozun olası nedenleri arasında, immunolojik reaksiyonlar, genetik yatkınlık, enfeksiyon, travma ve serbest oksijen radikalleri (SOD) suçlanmıştır (3).

Nitrik oksit ve diğer serbest oksijen radikalleri, sitokinler ve enflamatuar mediatörlerin intrasellüler ve ekstrasellüler etkileri sonucu üretilirler. Başta polimorf nüveli lökositler (PMNL) ve makrofajlar olmak üzere, pek çok enflamatuar hücre serbest oksijen radikalleri üretir (4). İnsanda orta kulak kavitesi normal şartlarda %5-10 arasında oksijen içerir. Kulak zarı (KZ) perforasyonu veya ventilasyon tüpü uygulaması sonrası bu oran artar (5, 6). Kulak zarı perforasyonu ve ventilasyon tüpü uygulaması, dış havanın orta kulak kavitesine ulaşmasına ve sonuçta hiperoksiye neden olur. Bu hiperoksiye bağlı olarak serbest oksijen radikallerinin üretimini artırması, sklerotik plak oluşumunda rol oynayan süreci başlatır (4, 5).

Karlıdağ ve ark. (4) yaptıkları çalışmada kronik otitis medialı (KOM) hastalarda timpanoskleroz gelişiminde nitrik oksit, serbest oksijen radikalleri ve katalazın rol oynayabileceğini belirtmişlerdir. Özel ve ark. (7) miringotomi yapılan ve hidrojenperoksit (H_2O_2) uygulanan timpanik membranlarda, H_2O_2 'nin hem kulak zarı perforasyonu kapanmasını geciktirdiği, hem de sklerotik lezyon oluşumunu arttırdığını bildirmişlerdir.

Spratley ve ark. (8) bir antioksidan ajan olan askorbik asitin topikal uygulanmasının ratların perforat kulak zarlarında miringoskleroz gelişimini azalttığını göstermişlerdir.

Kronik otitis medialı hastalarda kulak zarı perforasyonu nedeniyle hiperoksik bir ortam ve enflamasyon olmasına rağmen, timpanoskleroz bazı hastalarda gelişip bazı hastalarda ise gelişmemektedir. Bu durum, timpanoskleroz oluşumunda genetik olarak farklılık gösteren moleküler nedenlerin de etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Koç ve ark. (9) timpanosklerozun ve aterosklerozun genetik predispozisyonunu araştırmış, bazı bireylerin genetik olarak vücutta sklerotik dejenerasyona yatkın olabileceğini bildirmişlerdir.

Alpay ve ark. (10) KOM olup TS bulunan ve yine KOM olup TS olmayan hastalarda TLR4 genindeki TLR4 Asp299Gly polimorfizm sıklıklarını belirlemişlerdir. TS olan hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılıkta olmasa da daha yüksek oranda TLR4 genindeki Asp299Gly polimorfizmi saptamışlardır. Kronik otitis media olup TS olanlarla, TS olmayanlar karşılaştırıldığında ise istatistiksel anlamlılıkta TLR4 genindeki Asp299Gly polimorfizmi olduğu görülmüştür. TLR4 bakteriyel lipopolisakkaritleri tanıyarak inflamatuvar sitokinlerin salınmasını sağlamaktadır. Polimorfizm olduğunda inflamatuvar sitokinlerin salınması kontrolsüz olmaktadır. Bu durum TS gelişiminde tetikleyici bir faktör gibi gözükmektedir. TS etyolojisinde genetik anormalliklerin rolünün araştırıldığı bu çalışma TS oluşumunda, konakçı immün yanıtında farklıklara neden olan bazı genlerdeki polimorfizmlerin etkili olabileceğini düşündürmüştür.

Bu çalışmada timpanosklerozlu kronik otitis medialı hastalarda indüklenebilir nitrik oksit sentetaz, süperoksit dismutaz ve katalaz enzimlerinin genetik polimorfizmi değerlendirilerek, TS ile genetik yatkınlık arasındaki ilişki araştırılmıştır.

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 (11).

- 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.

Dış kulak yolu (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 takdirde, 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 (11). 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 dışa doğru büyümesinden oluşur. Birinci farengeal cep üçüncü haftadan başlayarak dışa doğru bir oluk şeklinde gelişir. Birinci ve ikinci brankial arkuslar arasındaki bu oluk dar ve uzun bir boru halini alır. Burası 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, stilohipoid 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 (12).

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. haftasında sonlanır (12).

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 (13).

1.2.1. Skuamöz Parça

Kafatasının yan duvarının bir kısmını oluşturur. Düz olan dış yüzeyine temporal kas yapışır. Dış yüzün alt kısmından processus zigomatikus 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 (13).

1.2.2. Mastoid Parça

Temporal kemiğin arka ve üst kısmında yer alır. Skuamöz parçanın petröz parça ile birleşmesinden meydana gelen petroskuamöz sütün, 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 spine 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 (13). Mastoid pnömatizasyonu antrumdan çevreye doğru yayılır. Pnömatizasyon skuamöz ve petröz kemiklere de yayılır. Bu iki kemik birbirinden petroskuamoz lamina ile ayrılmıştır. Bu lamina zamanla kaybolur, ancak bazen bu lamina yerinde kalarak bu iki kemiği birbirinden ayırır. Buna Körner septumu denir (14, 15).

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 superfisialis major, önünden n. petrosus superfisialis 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 (13). 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 proçesus stiloideus adı verilen bir çıkıntı vardır. Bu çıkıntının hemen arkasında bulunan deliğe foremen stilomastoideum adı verilir. Bu delik fallop kanalının dış deliğidir. Proçesus stilomastoideusun ön ve iç yan kısmında fossa jugularis adı verilen geniş bir çukur alan vardır. Bu çukur alanın hemen ön kısmında kanalis karotikum deliği vardır (15).

1.2.4. Timpanik Parça

Dış kulak yolunun ön ve arka kısmı ile alt kısmının bir bölümünü yapar. Ön alt bölümünün ortası çok incedir, bazen foramen huschke denen küçük delikler ihtiva eder. Timpanik kemik üst kısmı açık kalmış bir halka gibidir. Bu açıklığa Rivinus çentiği denir. Kulak zarının pars tensası sulkus timpanikusa; pars flaksidası ise halkanın açık olan kısmına yerleşir (15). Temporal kemik erişkinlerde lateral

pozisyonda, çocuklarda ise lateral-inferior pozisyonundadır. 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 önde skuamöz parça, ön ve arkada petröz parça ile komşudur (13).

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, içte 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 (13).

1.3.2. Orta Kulak

Dışta timpan membran, içte ise iç kulakla sınırlı düzensiz dikdörtgen prizmayı andıran bir boşluktur. Orta kulak boşluğu, tuba östaki aracılığı ile nazofarenksle ve aditus aracılığı ile mastoidin havalı boşluklarıyla bağlantılıdır. Orta kulak boşluğu topografik olarak üç kısma ayrılır: Meztimpanium, hipotimpanium ve epitimpanium. Timpanik membranın alt ve üst ucundan çekilen hattın arasındaki boşluğa meztimpanium, altındaki kısma hipotimpanium, üstündeki kısma da epitimpanium denir (13).

1.3.2.1. Kulak Zarı

Dış kulak yolunun sonunda, orta kulak boşluğunu dış kulaktan ayıran, 8-9 mm çapında fibröz bir tabakadır. Timpanik parçanın sulkus timpanikusuna 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 (12). 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 (12).

1.3.2.2. Orta Kulak Boşluğu

Alt Duvar: Bu duvar enine 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 (16).

Ön Duvar: Karotisin yaptığı çıkıntı nedeniyle daralmıştır. Üstte tensor timpani kasının çıkıntısı bunun altında ise tubanın timpanik orifisi bulunur (16).

Üst Duvar: Buraya tegmen timpani adı verilir. Orta kulak boşluğunu orta kafa çukurundan ayırır. Yer yer dehissanslar gösterebilir (16).

İç Duvar: Bu duvar iç kulakla komşudur. Promontorium, kokleanın bazal helezonunun çıkıntısına uyar (17). 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. Promontoriumun 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 (17). Promontoryumun üstünde, arkada, tensor timpani kasının yapıştığı prosessus kokleiformis adlı kemik çıkıntı bulunur. Bu çıkıntı fasial sinirin birinci ve ikinci parçalarının birleşme noktasıdır (16).

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 sinüs timpani adında üç önemli oluşum vardır. Eminentia'nın dışında fasial reses adı verilen bir çukurluk vardır, bu çukurun dış tarafını korda

timpani, arka ve üstünü ise fossa inkudus sınırlar. Bu komşuluk timpanotomi posterior yaklaşımında önemlidir (16).

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. İnkus, 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 proses 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 stapeşe aittir (18).

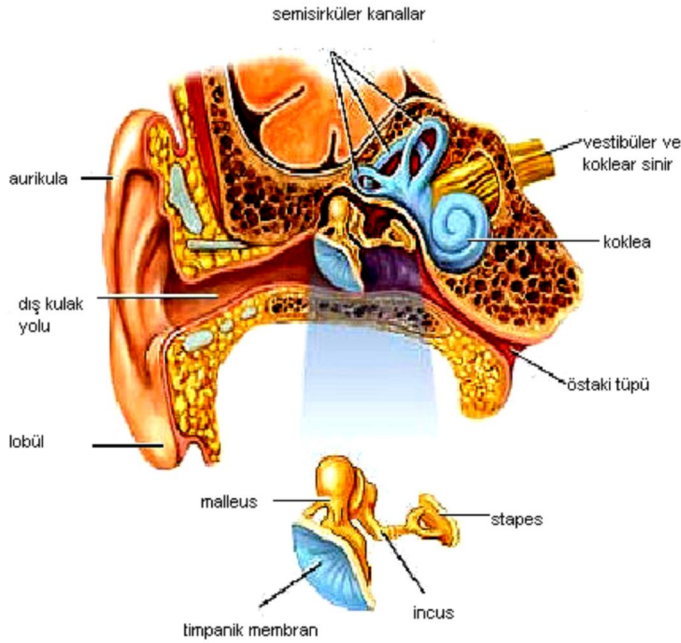
1.3.2.4. Tuba Östaki

Orta kulak boşluğu ve mastoid havalı boşluklarının 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 (18).

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, utrikulus ve sakkulustan ibarettir. Şekil 1’de dış, orta ve iç kulak şematik olarak gösterilmiştir (16).



Şekil 1. Dış, orta ve iç kulak.

1.4. 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 dönüşebilirler. Bu hastalıklar bugüne kadar farklı şekillerde sınıflandırılmış ve adlandırılmışlardır. Hastalığın başlangıç tarzına ve süresine göre OM' leri akut, subakut ve kronik olarak sınıflandırmak mümkündür (19).

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 effüzyonları 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.

Kronik süpüratif 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 (20).

1.5. Timpanoskleroz

1.5.1. Tanım ve Tarihçe

Timpanoskleroz, kronik otitis medianın iyileşme süreci sonunda ortaya çıkan, mukoza altında hyalen ve kalsifiye birikimler toplanması ile karakterizedir. Kronik orta kulak enfeksiyonunun inaktif sekeli olarak kabul edilir (21).

Plester'in 3000 vakalık serisinde TS sıklığı kabaca %10 olarak bulunmuştur (1). Histolojik olarak tespit edilse bile klinik tespiti zor olabilir. Friedmann 60 tane vakayı histolojik olarak tespit etmiş fakat 32 tanesi klinikte tesbit edilebilmiştir. Bu

da gerçek insidansı tespitinin zor olduğunu gösterir. Timpanosklerozlu vakaların %40 ile %60' ında karşı kulak da tutulmuştur. Irksal olarak fark olmasa da efüzyonlu otitin çok olduğu yerlerde insidansı artmaktadır (22). Yaş olarak ise vakaların %80 ve yukarısı otuz yaş üstüdür. Bu dönemler genelde ameliyat olma dönemleri olduğu için bu genelleme de aşağılara çekilebilir. Çünkü çocuklarda da görülebilmektedir (23). Seksüel farklılık daha çok bayanlar tarafına kaymaktadır; serilerde %57 ile %71 arasında bayanlarda daha fazla saptanmıştır ki bu da timpanoskleroz üzerine hormonal etki olabileceğini gösterir (22).

Kulak zarındaki (KZ) kalker birikimleri, ilk kez 1734 yılında Cassebohm tarafından tanımlanmıştır (21). Orta kulak enfeksiyonları sonrasında oluşan sklerotik değişiklikleri ilk olarak Von Troeltsch 1878 yılında tanımlamıştır (21). Histolojik yapısını ise ilk olarak 1878'de Walb ortaya koymuştur (21). Timpanosklerozu bu günkü anlamda ilk tanımlayan 1883 yılında Politzer olmuştur (21). Zollner ve Beck 1955 yılında kulak mikroskopunu kullanarak TS' nin orta kulak ve kemikçik zincirinde meydana getirdiği patolojileri tanımlamışlardır (24). Bundan sonraki yıllarda teknolojik gelişmelerin kulak muayenesinde rutin kullanıma girmesi ile TS yerleşim yerleri, klinik bulguları ve cerrahi tedavisi ile ilgili çalışmalar hızla artmıştır (21).

1.5.2. Timpanosklerozun Histopatolojisi

Timpanosklerozda, kulak zarı ve orta kulak mukozası lamina propriasında hyalen değişiklikler vardır (21, 25-27). Öyle ki timpanosklerotik plaklar, çoğunlukla lamina propria tabakasında lokalize olurlar (28). Lamina propria fibroblast, kollajen lifleri ve kapiller yapılardan oluşan bir bağ dokusu tabakasıdır. Timpanoskleroz oluşum sürecinde, başlangıçta lamina propriadaki bağ dokusu liflerinde dejenerasyon olur. Daha sonra fibroblastların sayı ve aktivitelerinde artışla birlikte, anormal kollajen lifleri yapımı olur. Bu durum daha da ilerleyerek hyalinizasyon ve kalsifikasyonla sonuçlanır (21, 25, 26, 29)).

Timpanoskleroz gelişiminde üç evre tanımlanmaktadır:

- **Başlangıç evresi:** Enflamatuar olaylar, kollajen liflerini hasara uğratar. Akut enflamasyon sırasında orta kulak mukozası ve submukozal doku ödemli hal alır ve enflamatuar hücrelerle infiltre olur. Tekrarlayan akut ve uzun süreli kronik

enflamasyon ile granülasyon dokusu oluşur. Bu faz genellikle geri dönüşümlü kabul edilir (30, 31).

- **Onarım evresi:** Fibroblast invazyonu ile karakterizedir. Yoğun kollajen birikimi ve hyalinizasyon sonucu lifler belirsiz hal alarak homojen bir kitle oluşturur. Makroskopik olarak bu doku düzgün yüzeyli, beyaz renkte, yüzeyden hafif kabarıklık yapan kırırdağımsı yoğun bir doku şeklinde görülür. Birçok otöre göre bu faz geri dönüşümsüz olarak kabul edilir (30, 31).

- **Son evre:** Kalsifikasyon, nadiren de kemikleşme oluşabilir (30, 31).

Santos ve arkadaşları (32) ise timpanosklerozu neden olan enflamatuvar sürecin 5 evrede geliştiğini belirtmiştir.

1. Evre-Eksudasyon: Enflamasyon alanına PMNL infiltrasyonu ile karakterizedir.

2. Evre-Granülasyon: Neovaskülarizasyonla birlikte makrofaj, lenfosit ve fibroblastlar izlenir.

3. Evre-Fibrozis: Normal dokudaki hücresel yapılar azalır. Fibroblastların proliferasyonu ve kollajen liflerinin yapımı, vaskülarizasyonun azalması gibi değişiklikler olur.

4. Evre-Hyalinizasyon: Fibroblastların sayısı azalır, normal dokunun yerini kollajen liflerinden zengin fibrotik doku alır. Sonuçta hyalinizasyon gelişir.

5. Evre-Kalsifikasyon: Fibrozis ve skleroz izlenen alanlarda kalsiyum ve fosfor depositlerinin birikmesi sonucunda kalsifik plaklar oluşur.

Timpanosklerozun nasıl bir histolojik seyir gösterdiği, Chang (1969) ve Kerr (1989) tarafından yapılan elektron mikroskopi çalışmasında ortaya konmuştur (33, 34). Buna göre kollajen liflerinde artış, mineralize çökeltilerin olması ve laküner boşlukların oluşması gibi değişiklikler tariflenmiştir.

Kollajen lifleri tabloya hakimdir. İçlerinde mitokondriler ve lizozomlar bulunur. Lifler, genellikle kalsifiye lifler ve kalsifiye olmamış lifler olarak iki ayrı şekildedir. Kalsifiye olmamış lifler daha sıktır ve aralarında boşluk bırakmazlar. Buna karşılık kalsifiye birikimlerin toplanmaya başladığı lifler ise aralarında boşluklar gösterir. Bu lifler düzensizdir, boyutları değişiktir ve dağınık bir yapı gösterirler. Laküner boşluklar ise özellikle, kalsiyum içeren kollajen lif bölgesinde daha sıktır. Mineralize çökeltilerin en önemlisi kalsiyumdur. Bundan sonra başta fosfat olmak üzere düşük oranda diğer mineraller de saptanır (21, 33).

Kısaca, bir timpanosklerotik plağın oluşumu çeşitli basamaklardan sonra olur;

- Bağ dokusu dejenerasyonu
- Fibroliz
- Hücre kaybı ve kalsiyum birikmesi
- Distrofik kalsifikasyon (35, 36).

Öncelikle, başta enfeksiyon ve travma olmak üzere çeşitli patolojik etmenlerin etkisi ile bağ dokusu dejenerasyonu meydana gelir. Enflamasyonun kronik ya da rekürren karakter alması ile ağırlaşan enflamatuvar reaksiyon, bu sırada ortaya çıkan immünolojik değişiklikler, parasentez veya fiziksel travmaların etkisi ile fibrositlerde fibroliz olayı başlar. Fibrositler dejenere olurlar. Eğer fibrositlerde dejenerasyon başlamışsa bu fazın en önemli bulgusu, mitokondrilerin çevresinde veziküllerin oluşmasıdır. Bu veziküllerde kalsiyum ve fosfat toplanması belirgin hal alır. Fibroliz olayını izleyen zaman içinde, lezyon sahasında pH değişiklikleri ve kan akımında azalma olur. Buna bağlı olarak, hücrelerin yavaş yavaş kaybolması sonucunda hücresel yapılar azalır. Bu evrede lifler içine kalsiyum fosfat çökmesi görülür. Çöken kalsiyum distrofik kalsifikasyona uğrar ve timpanosklerotik odaklar oluşur. Bu olay, mitokondriler etrafında toplanan veziküllerin kalsifikasyonu olarak da düşünülmektedir (35, 36).

Timpanoskleroz oluşumundaki önemli basamaklardan biri olan mineralizasyon dört evrede gelişmektedir;

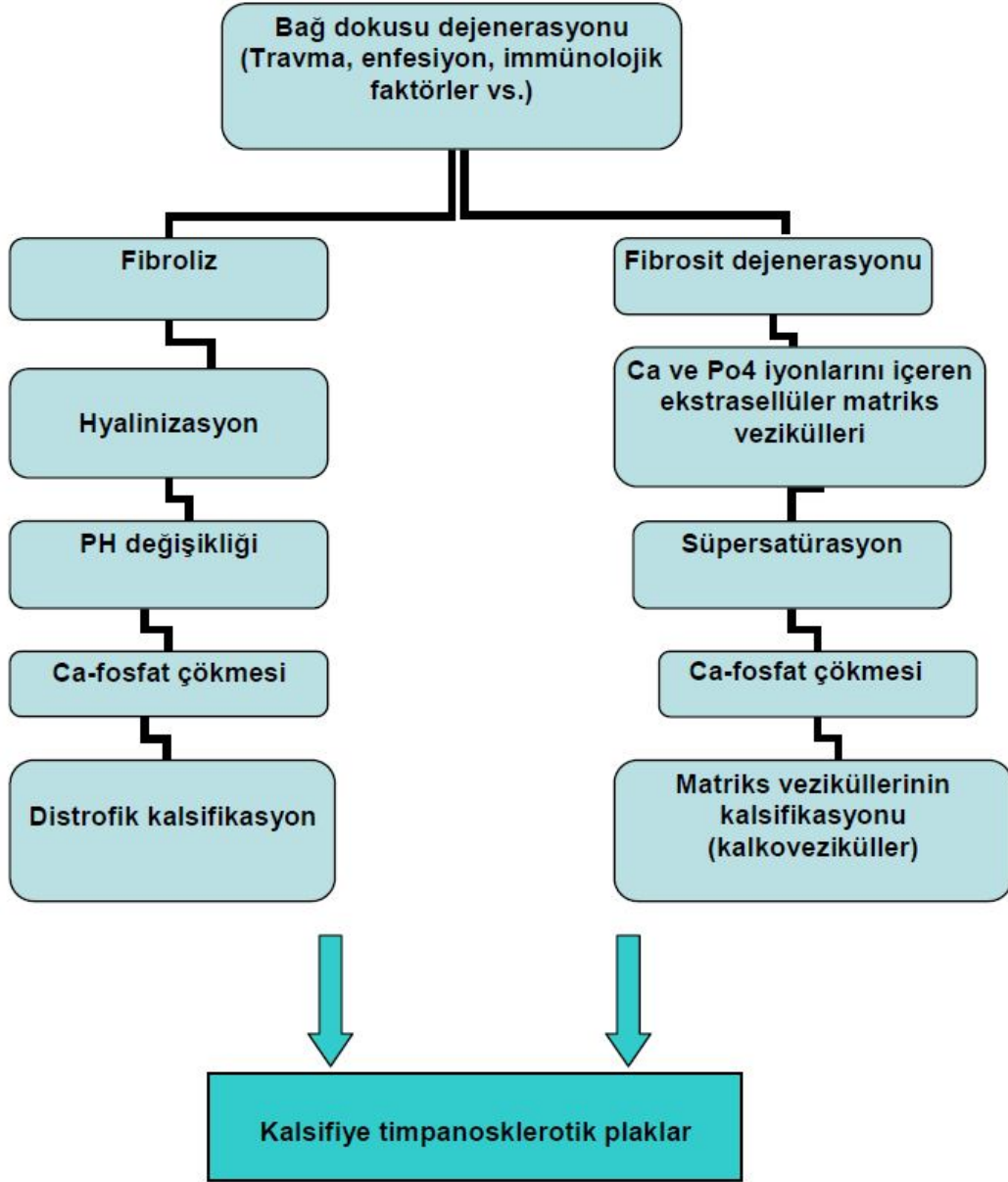
Evre-1: Matriks veziküllerinin görülmesi

Evre-2: Kalsiferüllerin oluşması

Evre-3: İlerleyici mineralizasyon

Evre-4: Büyük kalsifiye kollajen kitlelerinin oluşmasıdır (37).

Yapılan elektron mikroskopik çalışmalarda, kalsifikasyonun fibroblastların mitokondri ve lizozomlarındaki matriks veziküllerinde başladığı, daha sonra hücre dışına ilerleyerek çevre bağ dokusu içinde kalsiferülleri oluşturmak üzere füzyon yaptığı gösterilmiştir. Bu kalsiferüller, makroskopik olarak tebeşirimsi yamalar şeklinde görülen amorf hyalen kitleleri oluştururlar (38). Biriken kalsiyum oranı ile oluşan fibrozisin şiddeti, effüzyonun ve enflamasyonun süresi ile yakından ilişkilidir (39).



Şekil 2. Timpanosklerotik plak oluşumunun iki farklı mekanizması (36).

Sonuç olarak, timpanoskleroz uygun bir zeminde çeşitli etmenlerle başlayan dejeneratif bir hastalıktır. Hastalığın başlamasında ve gelişmesinde, gerek hücre içinde mitokondrilerde ve gerekse hücre dışında matriks veziküllerinde kalsiyum birikmesi rol oynar. Kalsiyumla doymuş dokularda distrofik kalsifikasyon ile birlikte timpanosklerotik odaklar ortaya çıkar (21). Timpanoskleroz, kulak zarı veya orta kulakta beyaz kalker plakları şeklinde görülür. Sklerotik materyal başlangıçta peynirimsi kitle şeklinde izlenirken, daha sonra kalsiyumun çökmesi sonucunda sert

kemiksi bir hal alır (40). Timpanosklerotik plakların ağırlıklı olarak kollajen lifleri ile kalsiyum depositlerinden oluştuğu gösterilmiştir (33).

1.5.2.1. Timpanosklerozun Histopatolojik Tipleri

1. Fibröz Sklerozis

Submukozal, süperfisyonel bir skleroz şeklinde seyreder. Orta kulak boşluğunda fibröz doku gelişiminde artış vardır. Dolayısıyla mukozada kalınlaşma olur. Kemikçik hareketlerinde kısıtlanma olabilir, hatta orta kulak havalanması etkilenebilir. Bu patolojik bulgular, intakt veya perfore kulak zarı, kulak zarı retraksiyonu veya submukozal hyalenize kollajen birikimi (timpanoskleroz) ile beraber olabilir. Artmış olan fibrozis, kemikçiklerin kan desteğini zayıflamasına ve dolayısıyla kemikçik erozyonuna neden olabilir (41).

2. Fibrokistik Sklerozis

Fibröz sklerozdaki fibröz lezyonların arasında kistik boşlukların varlığı ile karakterizedir. Kistik boşluklar, sekresyon yapmayan yassı veya küboidal epitelle döşeli olup protein veya kolesterol içerebilir (41).

3. Fibroosseöz Sklerozis (Kalsifik Sklerozis)

İnvaziv mukoperiostit ile seyreden agresif bir tablo hakimdir (41). Fibrozis izlenen alanlara kalsiyum ve fosfat partiküllerinin çökmesi sonucu, sklerotik plak ve hatta yeni kemik doku oluşumu vardır (42).

1.5.3. Timpanosklerozda Etiyopatogenez

Timpanoskleroz patogenezi halen net olarak ortaya konamamıştır. TS, diğer orta kulak patolojilerinden farklı bir lamina propria patolojisidir. Tos' a göre orta kulakta dört çeşit hücre olmasına karşın lamina propria orta kulağın her yerinde aynıdır (21).

Lamina propria fibrositlerden, kollajen liflerinden ve kapillerden oluşur ve kalınlığı azdır. Lamina propria, embriyonel hayatta orta kulak boşluğu ve mastoidi dolduran jelatinöz kıvamlı mezenşimal dokudan gelişmiştir. Mezenşimal dokunun çekilmesi ile orta kulak ve mastoid boşluklar oluşur. Bu olay doğumdan sonra da devam eder. Jelatinöz dokunun çekilmesinin gecikmesi, bazı araştırmacılara göre rekürren otitis mediaların, adeziv otitlerin ve timpanosklerozun nedenidir (21).

Jelatinöz mezenşimal doku multipotent bir özelliğe sahip olup, enfeksiyon ve enflamasyonun etkisi altında metaplaziye uğrar. Özellikle kolesteatom ve adeziv otitlerin gelişmesinde bu dokunun rol oynadığı düşünülmektedir (21). Ancak mezenkimal dokunun çekilmesindeki gecikmenin, timpanoskleroz gelişmesine olan katkısı konusunda henüz kesin bir kanıt yoktur. Lamina propria timpanosklerozun nasıl geliştiği de tam olarak bilinmemektedir. TS'nin gelişmesinde bazı ön koşulların oluşması gerektiği bilinmektedir. Bu ön koşulların başında orta kulak mukozasının rekürren veya kronik enflamasyonu gelmektedir. TS gelişmesinde vücudun iyileşme reaksiyonunun da büyük önemi vardır. Ayrıca vücudun immün sistemindeki bazı faktörlerin ve allerjinin de TS oluşumunda önemli olduğu söylenmektedir (35, 43, 44). Otitis mediada 1,94:1 olan erkek/kadın oranının TS'de 1,6:1'ye gerilemesi, TS oluşumunda bir takım endokrinolojik faktörlerin de rol oynayabileceği şeklinde yorumlanmıştır (23). TS insidansının, genetik yatkınlığın önemli bir risk faktörü olduğu koroner arterosklerozlu hastalarda daha yüksek olması (9), erkek ve kadınlarda farklı oranlarda görülmesi (23, 45) etyolojide genetik yatkınlığın da rolü olduğunu düşündürmektedir. TS'nin etiyopatogenezinde suçlanan pek çok faktör olup, bunlardan önemli olanları şu şekilde sıralanabilir:

1.5.3.1 Enflamasyon

Timpanoskleroz oluşumunu başlatan en önemli faktörlerden biri enflamasyondur. Timpanoskleroz, pürülan veya seröz özellikte gelişen uzun süreli orta kulak enflamasyonuna bağlı olarak ortaya çıkabilir (38, 46). Timpanoskleroz saptanan hastaların çoğunda, genellikle otitis media öyküsü vardır (39). Otitis medianın, timpanosklerozun başlangıcı bir süreç olduğu kabul edilmektedir (30). Oluşan enflamatuvar yanıt, bir takım biyoaktif moleküllerin orta kulak mukozası hücrelerini ve vaskülaritesini dolaylı olarak etkilemesi sonucu ortaya çıkar. Timpanosklerozu başlattığı kabul edilen enflamatuvar yanıt, ilk olarak submukozal bağ dokusu tabakasında başlar ve zamanla lamina propriaya doğru yayılır (39). Kronik veya rekürren orta kulak enfeksiyonları sonrasında orta kulakta granülasyon dokusu gelişir. Bu granülasyon dokusunun gelişmesi, timpanoskleroz oluşum sürecindeki ilk adımdır. Çünkü oluşan granülasyon dokusunda, lamina propriadaki kollajen liflerinin çevresinde eksüda birikimi olur. Bu eksüdanın organize olmasının timpanosklerozu zemin hazırladığı düşünülmektedir. Uzun süreli effüzyonlu

vakalarda submukozada ödem ve enflamasyona bağlı oluşan postenflamatuvar olaylar, fibröz tabakanın dejenerasyonuna yol açar. Lamina propriadaki fibröz doku hasarı, kollajen liflerinin hasarına yol açan bazı faktörler aracılığı ile oluşur. İkinci neden lamina propria üzerine seröz sıvıdaki hidrolitik enzimlerin etkisidir (28, 40, 47, 48). Tekrarlayan veya kronikleşen orta kulak enfleksiyonları, mukozada metaplazilere yol açar. Bunun sonucunda, orta kulak mukozasında yer alan salgı bezlerinin sayısı ve yaptıkları salgının kalitesi ile mukozadaki titrete tüylerin sayısı azalır. Orta kulak ve mastoidde ortaya çıkan debrislere silier aktivite olmayan bölgelere toplanması ile granülasyon dokusu ve fibrozis meydana gelir. Devam eden sürecin sonunda, bu alanlarda timpanoskleroz gelişir. Kronik otitis media ve effüzyonlu otitis medianın iyileşme süresinin uzunluğu ile timpanoskleroz gelişimi arasında belirgin bir ilişki vardır. Öyle ki iyileşme süreci uzun olan kronik otitis media ve effüzyonlu otitis mediada timpanoskleroz gelişme olasılığı daha fazladır (21).

1.5.3.2. Doku Travması

Günümüzdeki veriler, doku travmasının timpanoskleroz gelişimde önemli bir faktör olduğunu göstermektedir. TS gelişimi ile ilişkili travma, sıklıkla miringotomi ve ventilasyon tüpü insersiyonu esnasında olur. Ventilasyon tüpü uygulaması, özellikle çocukluk yaş grubunda yaygın bir şekilde yapılan ve timpanoskleroza en sık neden olan otolojik cerrahidir (49). En basit formu olan kulak zarı orta kısmını oluşturan liflerin aşırı gerilmesinden, ağır bir form olan kulak zarı perforasyonuna kadar olan her türlü travma, miringoskleroz gelişimine katkıda bulunabilir. Östaki tüpünün basınç düzenleme mekanizmasında aksama olduğunda, kulak zarı üzerine artmış bir basınç yükü binmekte ve sonuçta kulak zarının orta tabakasını oluşturan liflerde aşırı gerilme, hatta yırtılmalar olmaktadır. Bu liflerdeki aşırı gerilme ve yırtılmalar kulak zarında atrofi, retraksiyon ve sklerotik plakların oluşumuna yol açabilmektedir (46, 50-52). Miringotomi ve ventilasyon tüpü insersiyonundan sonra fibrozise yol açan intraepitelial kanama olabilir. Kulak zarı içine kanamanın uzun vadede miringoskleroz gelişimi ile sonuçlanabileceğini belirten çalışmalar vardır (53, 54). Miringotomi sırasında oluşan kanamanın azaltılması, uzun dönemde miringoskleroz gelişimini azaltabilmektedir (55). Hangi nedenle olursa olsun kulak zarına uygulanmış olan ventilasyon tüpleri, timpanoskleroz insidansında artışa sebep olurlar. Ventilasyon tüpü, kulak zarı orta kısmındaki lifleri sürekli fiziksel ve

enflamatuar travmaya maruz bırakmakta ve membranın gerilim yükünde artışa sebep olmaktadır. Kulak zarının hasar gören lifleri, anormal iyileşme ile sonuçlanıp timpanosklerotik plak oluşumuna neden olurlar (51).

1.5.3.3. Otoimmün ve Allerjik Faktörler

Timpanoskleroz etyolojisinde, otoimmünite ve allerji gibi bünyesel faktörlerin de rolü olduğu düşünülmektedir. TS'nin, daha önce geçirilmiş enflamatuar atağa bağlı sensitize olmuş kulakta ortaya çıkan otitis mediaya bağlı olarak gelişen bir immün kompleks reaksiyonu olduğu vurgulanmıştır (35). Enfeksiyonun, otolitik enzim üretimi ve ödeme bağlı kulak zarı lamina propriasını hasara uğrattığı belirtilmiştir. Yıkım ürünleri, dokuyu sensitize eden antijenik uyarılar şeklinde davranırlar. Bir sonraki enfeksiyonda komplemanın rol aldığı güçlü bir immün yanıt oluşur. Önceden bir antijene karşı duyarlaşmış organizmanın yeniden antijenle karşılaşması sonucu gelişen immünolojik yanıtın, bu şekilde timpanoskleroz gelişimine neden olabileceği belirtilmiştir (35). Human lökosit antijenlerinin (HLA) bazı tiplerinin de patogeneizde endikatör veya mediatör olarak rol oynayabilecekleri de gösterilmiştir (56). TS gelişmesinde rol oynadığı düşünülen bir diğer neden de allerjidir. Zöllner (57), TS'nin embriyolojik mezenşimal doku artıklarının allerjik insanlarda gösterdiği değişik bir reaksiyon olduğunu belirtmiştir. Operasyon sırasında alınan mukoza biopsilerinde, eozinofilik infiltrasyon gösterilmiştir. Ayrıca timpanosklerotik hastalarda kutanöz ve mukozal allerjik hastalıklara sık rastlanmaktadır (44, 58). Bu konuda bir görüş birliği olmamakla birlikte, effüzyonlu otitis medialı çocuklarda allerji belirteçlerinin yüksek bulunması ve timpanoskleroz görülme sıklığı, effüzyonlu otitis media etyolojisinde de allerjik mekanizmaların rolü olduğunu düşündürmektedir. Effüzyonlu otitis medialı olguların en azından bir kısmında, allerjik etyoloji olabileceği ve bu olgularda ventilasyon tüpü uygulamasını takiben miringoskleroz görülme ihtimalinin de yüksek olduğu bildirilmiştir (44).

1.5.3.4. Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest oksijen radikalleri, oldukça reaktif moleküller olup dokulardaki lipitlerin, proteinlerin, karbonhidratların kimyasal yapısını ve DNA'yı hasara uğratırlar. Serbest oksijen radikalleri, normal oksidatif metabolizma sırasında ortaya

çıkabildikleri gibi enflamasyon, oksijen toksisitesi, perfüzyon iskemisi, radyasyona maruziyet ve fagositik hücrelerin aktive olmaları gibi durumlarda da üretilirler (59, 60). Nitrik oksit ve diğer serbest oksijen radikalleri, sitokinler ve enflamatuar mediatörlerin intrasellüler ve ekstrasellüler etkileri sonucu üretilirler. Başta PMNL ve makrofajlar olmak üzere, pek çok enflamatuar hücre serbest oksijen radikalleri üretir (4). İnsanda orta kulak kavitesi normal şartlarda %5-10 arasında oksijen içerir. Kulak zarı perforasyonu veya ventilasyon tüpü uygulaması sonrası bu oran artar (5, 6). Kulak zarı perforasyonu ve ventilasyon tüpü uygulaması, dış havanın orta kulak kavitesine ulaşmasına ve sonuçta hiperoksiye neden olur. Bu hiperoksiye bağlı olarak serbest oksijen radikallerinin üretiminin artması, sklerotik plak oluşumunda rol oynayan süreci başlatır (4, 5). Dikkat çekici diğer bir durum da, KOM' lu hastalardaki kulak zarı perforasyonu nedeniyle hiperoksik bir ortam ve enflamasyon olmasına rağmen, timpanosklerozun bazı hastalarda gelişip diğerlerinde gelişmemesidir. Bu durumun, vücut ve orta kulaktaki serbest radikal antioksidan seviyesi oranı ile ilgili olabileceği bildirilmiştir (4). Vücuttaki oksijenin büyük bir kısmı, mitokondrilerdeki sitokrom oksidaz enzimi tarafından suya indirgenir. Bazı dokularda bu enzim yeterli miktarda bulunmadığından indirgenme olmaz ve ortama serbest oksijen radikalleri salınır (59). Normal koşullarda koruyucu enzim sistemleri ve antioksidanlar, vücutta hazır halde bulunup serbest oksijen radikallerinin oluşturacağı doku hasarına karşı koruyuculuk görevi görürler. Ancak hastalık durumunda vücuttaki antioksidan savunma sistemi zayıfladığında, serbest oksijen radikallerinin seviyesi artar ve doku hasarına katkıda bulunurlar (61). Bilinen en önemli serbest oksijen radikalleri, normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^\cdot)'dir. Süperoksit radikalinin fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleşmesi sonucu, bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitrit azot dioksit, hidroksil radikali ve nitronyum iyonu gibi toksik ürünlere dönüşebilir ki nitrik oksitin zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur (62). Dokularda geri dönüşümsüz hasarları önlemek, bunları onarmak veya çeşitli mekanizmalar tarafından onarılabilecek düzeyde tutmak, serbest oksijen radikallerinin veya reaktif moleküllerin kontrol altında tutulmasına bağlıdır. Böylece kulak zarı ve orta kulağın fibröz tabakasındaki hasar engellenebilir. Bu amaçla, TS

oluşumunu önlemeye yönelik pek çok ilaç ve antioksidanın kullanıldığı çalışmalar yapılmıştır (63).

1.5.3.4.1. Nitrik oksit ve indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (İNOS)

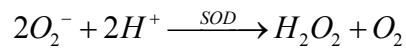
Nitrik oksit sentetaz, patojenleri öldürme yeteneğine sahip radikal moleküllerden biri olan nitrik oksiti üreten bir enzimdir. Bu enzimin üç izoformu vardır. Bunlardan biri, indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (İNOS) olarak adlandırılır. İNOS; aktive olmuş makrofajlar, PMNL ve Tümör Nekroz Faktör alfa (TNF-alfa) ile interleükin-1 tarafından uyarılan vasküler düz kas hücreleri tarafından salgılanır. Diğer subtipleri ise, nöronal doku tarafından salgılanan nöronal nitrik oksit sentetaz ve endotel hücreleri tarafından salgılanan endotelial nitrik oksit sentetazdır (64). Nitrik oksit; PMNL, makrofajlar, endotel hücreleri ve sitokinlerin uyardığı osteoblastlar tarafından salgılanır (64). Salgılanan nitrik oksit, düz kas hücreleri içerisine diffüze olarak vazodilatasyona neden olur. Ayrıca, gastrointestinal, kardiyovasküler ve ürogenital sistemdeki immün regülasyonda da rol oynar. Fizyolojik fonksiyonları yanında, septik şok, hipertansiyon, serebrovasküler olaylar, epilepsi ve nörodejeneratif hastalıklar gibi durumlarda da görev alır (65). Ancak nitrik oksitin bilinen en önemli fonksiyonu, enflamatuvar yanıtta rol oynamasıdır (64).

1.5.3.4.2. Antioksidan savunma sistemleri

Antioksidan savunma elemanları, hücre içi ve hücre dışı ortamda farklıdır. İnsanda başlıca hücre içi antioksidanlar; süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleridir. Hücre içi ortamın aksine hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan E ve C vitamini, transferrin, haptoglobin, seruloplazmin, albümin, bilirubin, P-karoten ve alfa-1 antitripsin sorumludur (66).

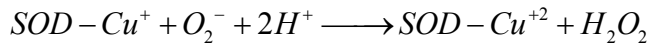
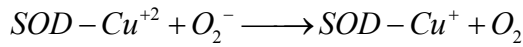
1.5.3.4.2.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, 1968 yılında oksijenli solunum yapan canlılarda belirlenmiştir. Bu enzim; süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Hidrojen peroksit daha sonra glutatyon peroksidaz ve katalaz enzimi aracılığı ile etkisiz hale getirilmektedir. Hücre bölünmelerindeki süperoksit düzeylerini kontrol etmede önemli bir rol oynar (67).



İnsanda SOD' un iki tipi bulunmaktadır. Bunlar, sitozolde bulunan dimerik, bakır (Cu) ve çinko (Zn) ihtiva eden izomer (Cu-Zn SOD) ile mitokondride bulunan tetramerik mangan (Mn) ihtiva eden izomerlerdir (Mn SOD). Genel olarak hücrede bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD' dur (68). Enzimin fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO₂ artışı ile artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde hücre içi süperoksit düzeyi düşük tutulur. SOD' un hücre dışı aktivitesi çok düşüktür.

Süperoksit dismutazın, süperoksit anyonuna olan etkisi şu şekildedir. Süperoksit anyonu, Cu⁺² ve bir arginin rezidüsünün guanido grubuna bağlanır. Bu bağlanma sonucunda süperoksitten bir elektron Cu⁺² ye transfer olurken Cu⁺ ve moleküler oksijen meydana gelir. İkinci bir süperoksit anyonu Cu⁺ dan bir elektron, bağlanma ortağından ise iki proton alarak hidrojen peroksiti oluştururken, enzim tekrar Cu⁺² formuna dönmüş olur.



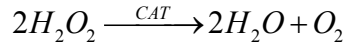
Süperoksit dismutaz, fagosite edilmiş bakterilerin hücre içinde etkisiz hale getirilmesinde de rol oynar. Bu yüzden SOD, granülosit fonksiyonu için çok önemlidir. Lenfositlerde de granülositlerden daha fazla miktarda SOD bulunmaktadır. Süperoksit dismutaz enziminin yüksek katalitik aktivitesi nedeniyle hücrelerde süperoksit birikimine izin verilmez. Ancak çeşitli patolojik durumlarda süperoksit yapımının artması durumunda, süperoksit'e özgü tepkimeler görülmeye başlar. Süperoksit metal iyonlarını indirgeyerek bağlı oldukları proteinlerden salınımına neden olur, kofaktörlerin oksidasyon düzeylerini bozar, metal iyonlarının katıldığı hidroksil radikali yapım tepkimelerini hızlandırır. Diğer radikallere göre daha az reaktif olsa da, süperoksit, indirgenmiş nükleotidleri, bazı amino asitleri ve antioksidan bileşikleri (glutatyon, askorbik asit, tokoferol) oksitler (69).

Süperoksit, hücre zarlarının hidrofobik ortamlarında daha uzun ömürlü ve çözünürlüğü daha fazladır. Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca bir proton alarak hidroperoksit radikalini

(H₂O₂) oluşturur. Bu radikal de çok reaktif olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilir ve tokoferol gibi antioksidanları oksitleyebilir (69).

1.5.3.4.2.2. Katalaz

Katalaz dört tane hem grubu bulunduran hemoproteindir. Her alt birim ayrıca bir molekül NADPH içerir. Bu molekül enzimin kararlılığında rol oynamaktadır. Enzim sitokrom sistemi içeren tüm oksijenli solunum yapan hücrelerde mevcuttur. Katalaz esas olarak peroksisomlarda olmak üzere endoplazmik retikulum ve sitozolde yoğunur. Aktivitesi karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositlerde yüksektir. Görevi, hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalamaktır. Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak; bu enzim bir molekül hidrojen peroksiti elektron verici bir substrat olarak, diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir (69).



Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ve metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine etki etmez (70).

1.5.4. Timpanosklerozun Klinik Tipleri ve Özellikleri

1.5.4.1. Kulak Zarı Timpanosklerozu

Kulak zarında TS odaklar ya kendi başına ya da orta kulak TS'sinin bir belirtisi olarak bulunabilir. Bu duruma miringoskleroz (MS) adı verilir. MS genellikle kulak zarı ön kadranda, bundan daha az sıklıkla arka kadranda yerleşir. Bazı olgularda ise at nalı biçiminde alt kadranı da içine alan odaklara rastlanır (21). KZ'de timpanosklerotik odakların işitme üzerine çok kötü bir etkisi olmadığı anlaşılmıştır. At nalı şeklinde olan MS' de daha fazla iletim tipi işitme kaybına rastlanır (21).

Miringoskleroz' un neden geliştiği halen tam olarak ortaya konamamıştır. Tos, ventilasyon tüpü (VT) takılması ile MS gelişmesi arasında bir ilişki olduğunu düşünmüştür. Yaptığı çalışmalarda VT takılma sayısının değil kalma süresinin daha önemli olduğunu vurgulamıştır (71). Aynı çalışmada kulak zarının retrakte olmasının veya efüzyonun kıvamının MS gelişmesi ile bağlantılı olmadığı ortaya konmuştur.

VT takılmasından sonra kulak akıntısının olması MS gelişme olasılığını arttırmaktadır.

Parker ve ark. (53) yaptığı çalışmada parasentez sırasında meydana gelen lokal travmanın ve bu sırada membran içine olan kanamanın önemine işaret etmiştir. Ventilasyon tüpü takıldıktan sonra tüpün kenarında bir enflamatuvar reaksiyonun ortaya çıktığı ve bunun üç haftada kaybolduğu gösterilmiştir. Ventilasyon tüpü atıldıktan sonra genellikle perforasyon kapanır ve atrofik bir skar oluşturmaz. Miringoskleroz, VT' nin atılması ve zardaki perforasyonun kapanması sırasında ve sonrasında ortaya çıkar.

Schiff ve ark. (35) ise VT'nin kitle etkisi ile kulak zarındaki mikrofibrillerin gerilmesine ve kırılmasına neden olduğu ve dokunun onarma reaksiyonu sırasında MS' nin geliştiğini düşünmektedir. Histopatolojik olarak TS odaklarında, mikrofibrillerin ve prokollajen filamentlerin düzensiz olarak arttığını göstermişlerdir. Lamina propriadaki artmış olan fibrosit ve kollajen fibriller VT takılması ile hasar görür ve onarılma sırasında ilk olarak fibrogeniz başlar. Fibroblastların dejenerasyonu ve yuvarlak hücrelerin vezikülleşmesi kalsifikasyonu stimüle eder. Kollajen fibrillerin normal düzeni bozulur. Hyalen dejenerasyon ile amorf bir kitle haline dönüşür (35).

1.5.4.2. Orta Kulak Timpanosklerozu

Efüzyonlu otitis medialis ve KOM' un iyileşme sürecinde, orta kulak mukozasının lamina propriası içinde kalsifiye birikimler ve dejenerasyonla karakterize bir inaktif otit sekolidir. Orta kulak TS vakaların çoğunun çift taraflı olması ve ileri derecede iletim ya da mikst tip işitme kayıpları meydana getirebilmesi bakımından sosyal ve tedavi sorunlarına sebep olan önemli bir hastalıktır (21).

Akyıldız ve ark. (72) yaptığı çalışmada TS rastlanma oranı %16 olarak bildirilmiştir. Çalışmada 10 yıl içerisinde TS nedeni ile ameliyat olan 325 TS' li hastanın %61' i kadın, %39' u erkek, hastalığın görülme yaşı ise 7-83 olarak bildirmişlerdir. Aynı çalışmada %6' sı kolesteatomla birlikte olmak üzere %27 vakada aktif KOM ile birliktelik bulunmuştur.

Orta kulak TS' sini klinik olarak kulak zarının sağlam ya da perfore olmasına göre iki gruba ayırarak incelemek gerekir.

Kapalı tip: Bu tipte KZ sağlamdır. Kapalı tip TS vakalarının %9'unu oluşturur (21). Bu olgularda genellikle, KZ arka üst kadranda timpanosklerotik plak vardır. Daha az sayıda olguda hem arka hem ön kadranda timpanosklerotik odak bulunur. Ancak pars flaksidada bu odaklara rastlanmaz. Bu olguların MS'den en önemli farkı iletim veya mikst tip işitme kaybı ile birlikte olmasıdır (21).

Orta kulakta TS olup da kulak zarının atrofik ve opak cam gibi olduğu olgular da vardır. Bu durumda ayırıcı tanıda güçlükler görülür. Sağlam bir kulak zarı olmasına rağmen iletim veya mikst tip işitme kaybı görülmesi nedeniyle, ayırıcı tanıda orta kulak TS' si ile birlikte pek çok başka olasılık da düşünülmelidir (21).

Açık tip: Orta kulak TS olgularının büyük kısmında KZ perforedir. Perforasyon görülen orta kulak mukozası soluktur, promontoryum üzerinde ve manibrium çevresinde timpanosklerotik plaklara rastlanır. Eğer perforasyonda oval pencere nişi görülebiliyorsa, burada timpanosklerotik odakların olduğu görülür. Genellikle inkudostapedial eklem ve stapes timpanosklerotik odakların içerisinde kaldığı için fark edilmez. Akıntı ve kolesteatomaya rastlanma olasılığı da vardır. Ancak bunlar vakaların % 27' sinde görülür (7).

Orta kulakta timpanosklerotik odaklar üç noktada yoğunlaşmıştır. Buralar attik, inkudostapedial eklem etrafı ve promontoryumdur (21).

Attikteki timpanosklerotik plaklar kemikçikleri bir zarf gibi sarar ve malleus ile inkusu fikse eder. Bu bölgedeki oluşumların ve cerrahi işaret noktalarının görülmesini engeller. Lateral yarım daire kanalı ve fasial kanal ile kemikçiklerin arası ve epitimpanum timpanosklerotik plaklar ile doludur. Bu plaklar arkada inkusun kısa kolu boyunca ve önde supratubal resese doğru da uzanabilir (21).

İnkudostapedial eklem çevresinde toplanan plaklar inkusun uzun kolu ve stapesi örter ve görülmelerini önler. Oval pencere de sıklıkla tutulmuştur. Stapes ile fasial kanal ve stapes ile promontoryum arası doludur. Ayrıca önde ön bacak ve fasial kanal, arkada fasial kanal, eminentia piramidarum ve stapes arası timpanosklerotik plaklarla işgal edilir. Çok nadiren TS tek başına ligamentum anulareyi de tutabilir. Fasial reses, eminentia piramidarum ve sinüs timpani tutulmuştur. Yuvarlak pencere vakaların çoğunda serbesttir (21). Akyıldız ve ark. (72) yaptığı çalışmada vakaların %71'inde stapes etrafında ve oval pencerede TS saptanmıştır. Bu bölgede TS olmamasına karşın, attikte malleus ve inkusun tutulmuş

olduğu vaka sayısı sadece %10 olarak bulunmuştur. Yani kemikçik zincir hem orta kulakta hem de atikte timpanosklerotik plaklar tarafından fiks edilmiştir. Bu nedenle orta kulak TS' si olan vakalarda ciddi iletim tipi bazende mikst tip işitme kayıpları vardır. İşitme kaybı genellikle 60 dB civarındadır ve kemikçiklerin fiksasyonuna bağlıdır (72).

Timpanosklerotik odaklara sıklıkla promontoryum üzerinde de rastlansa da bu bölgedeki plakların işitme üzerine olumsuz bir etkisi yoktur (21).

Timpanosklerozda iki tip odağa rastlanır. Birinci tip lameller şeklindedir. Dokunmakla esnek ve pikle kolayca kaldırılabilen odaklardır. Bunlarda genellikle kalsiyum birikimi azdır. İkinci tipte ise plaklar beyaz ve sert olup altındaki kemiğe yapışıktır. Bunlar serttir ve kırılmak suretiyle çıkarılır. Bu tip odaklarda kalsiyum birikimi fazladır ve daha sık görülürler (21).

Timpanoskleroz temizlendikten sonra kemikçikler mukoza örtüsünden yoksun çıplak olarak ortaya çıkar. Gerek tensor timpani ve gerekse stapes kası tendonları odakların içinde sağlam olarak bulunur. Kemikçiklerin erimesi ise çok seyrekdir. Bu erimelerin enfeksiyon sürecinde meydana geldiği düşünülmektedir. Genellikle TS plaklarının altından kemikçikler sağlam olarak çıkarlar (21).

1.5.5. Timpanosklerozun Tedavisi

Timpanosklerozun henüz etkinliği kanıtlanmış tedavi yöntemi bildirilmemiştir. Cerrahi dışında kesin küratif tedavisi yoktur. Ancak cerrahi sonrası hastalığın nüks etme olasılığı yüksektir ve işitme kazancı da azdır (4, 28). Timpanosklerozun tedavi yaklaşımı üç ana başlık altında toplanmaktadır.

1.5.5.1. Koruyucu Tedavi

Koruyucu tedavideki amaç, timpanoskleroz oluşmasını engellemektir. Bu amaçla akut ve effüzyonlu otitis media atakları çok etkili bir şekilde hiç vakit kaybedilmeden tedavi edilmelidir. Akut otitis medianın yetersiz tedavisi, timpanoskleroz gelişiminde önemli etkenlerden biridir. Ayrıca adenoid hiperplazisi, yarık damak, allerji vb. otitis media oluşmasını kolaylaştıran risk faktörleri ortadan kaldırılmalıdır. Bilindiđi gibi kulak zarı içine olan intraepitelyal kanamalar, miringoskleroz gelişiminde suçlanmaktadır (53, 54). Bu nedenle ventilasyon tüpü uygulaması esnasında, miringotomi bölgesi çok gerekmedikçe aspire edilmemelidir.

1.5.5.2. Medikal Tedavi

Timpanosklerotik odalarda distrofik kalsifikasyonun önlenmesi amacıyla kalsiyum kanal blokörleri kullanılabilir. Bu amaç için en sık ‘‘diltiazem’’ kullanılmaktadır. Bağ dokusunun fibrilleri, son derece aktif ve çoğu zaman hastalıklarda en fazla reaksiyon veren dokulardır. Prostaglandinlerin ve kortikosteroidlerin, bu dokunun patolojik gelişimini yavaşlattığı düşünölmektedir (73). Yapılan çalışmalarda, E vitamini (61, 74), N-asetilsistein (75), selenyum (76), askorbik asit (8), bakır çinko superoksit dismutaz ile katalaz karışımının ve deferroksaminin (5), TS gelişimini önledikleri gösterilmiştir. Ancak bunlar henüz çalışma aşamasında olup, klinik etkinlikleri açısından kapsamlı çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Medikal tedavinin etkinliği henüz tam olarak ortaya konulamamış olup, TS ile birlikte kronik otitis media varlığında gerekli olabilir.

1.5.5.3. Cerrahi Tedavi

Timpanosklerozun önerilen en etkili tedavi yöntemi cerrahidir. Ancak TS cerrahisinin işitme kaybının artması ve hastalığın tekrarlaması gibi riskleri vardır (77). Ayrıca cerrahi esnasında iatrojenik sensörinöral işitme kaybı gelişme olasılığı da akılda tutulmalıdır. Wielinga ve Kerr’ e (37) göre, bu hastalarda cerrahinin faydası şüphelidir. Özellikle epitimpanum etkilendiğinde, sıklıkla malleus başı ve inkus gövdesi fiksasyonu olur. Böyle bir olguda, cerrahi olarak timpanosklerotik plakları kemikçiklerden serbestleştirmek ve işitme kazancı sağlamak zordur (28).

Timpanoskleroz cerrahisindeki amaç, ileri derece iletim tipi işitme kayıplarını cerrahi yöntemlerle ortadan kaldırmak ya da hastaya sosyal hayatı için gerekli olan işitme fonksiyonunu kazandırmaktır. TS cerrahisi, şunları amaçlamalıdır (37):

- Geri dönüşümsüz olan hastalığın ortadan kaldırılması,
- Ses iletim mekanizmalarının yeniden yapılandırılması,
- Primer hastalığın nüksünün önlenmesi,

Wielinga ve Kerr (37), timpanosklerozu cerrahi girişim ve tedavi seçimi yönünden 4 tipte incelemiştir:

Tip 1: Sağlam veya perfore, sadece kulak zarı tutulmuştur (miringoskleroz). Kemikçik zincir intaktır.

Tip 2: İnkus-malleus kompleksi attik bölgesinde tutulmuş, fakat stapes hareketlidir.

Tip 3: Stapes fiksedir. Malleus-inkus kompleksi varsa hareketlidir.

Tip 4: Kemikçiklerin tümü fiksedir.

Timpanoskleroz cerrahisinde, iki aşamalı timpanoplasti önerilir. Çünkü kemikçik zincirini hareketli hale getirebilmek için vakaların çoğunda stapesi kaldırmak ve tabanı açmak gerekmektedir (21). Özellikle stapes ve stapes tendonunu ileri derecede fikse eden timpanosklerotik plakların varlığında, bunların temizlenmesi zordur ve bu tür olgularda stapedektomi yapmak gerekebilir (78). Cerrahi esnasında, bazen stapes etrafındaki timpanosklerotik plaklar kaldırıldıktan sonra stapesin mobilizasyonu sağlanabilir.

Tos (79), stapedektominin yerine plakların kaldırılmasını ve sonrasında mümkünse stapesin mobilize hale getirilmesini önermektedir.

Perfore kulaklarda labirentin açılması labirentizasyon ve nörosensorial işitme kaybı riskini yükseltir. Bu nedenle perfore timpanosklerozlu hastalarda önce kulak zarının greftlenmesi ile kapalı bir boşluk oluşturulmalı, bundan altı ay sonra stapedektomi yapılmalıdır (21, 80). Fikse malleus varlığı durumunda, kulak zarının greftlenmesinden sonra plaklar çıkarılarak malleus mobilizasyonu yapılabilir. Erode inkus ve stapes fiksasyonu durumunda, yine iki evreli tedavi önerilir. İlk evrede plaklar temizlenir, kulak zarı greftlenir. İkinci evrede stapes başı ile malleus ya da kulak zarı arasına protez konulur (80). Stapesi hareketli hale getirmek için teflon piston protez ya da arka yarısı çıkarılmış ve greftlenmiş bir taban ile ameliyattaki başarı şansı yükseltilmeye çalışılır. Eğer inkusun uzun kolu eksik veya kullanılamaz durumda ise total ossiküler replasman protezi (TORP) uygulaması yapılır (21).

Timpanoskleroz saptanan hastalarda hücreler ve kan damarları büyük ölçüde kaybolmuştur. Greftlerin beslenme şansı normal timpanoplastilere göre düşüktür. Bu durumu düşünerek temporal fasia grefti yerine perikondriumlu kıkırdak greftler tercih edilmelidir. Greft tutma şansını arttırmak için on-lay tekniği tercih edilmelidir. Çünkü alttan konulan greftin beslenme olasılığı düşüktür (21).

İki taraflı ve ileri derecede iletim tipi işitme kaybı olan santral perforasyonlu olgularda ya da timpanoplasti ameliyatlarının başarısız olduğu olgularda, kemik yolu implantları kullanılabilir. Bu implantlar, perkutan ve transkutan olmak üzere iki

tiptir. Perkutan tipte implant doğrudan temporal kemiğe implante edilir. Transkutan tipte ise implant kulak arkasına vidalanır. Kemik yolu kaybı perkutan tipte 25 dB'i geçmemelidir. Transkutan tipte ise 35- 40 dB olabilir (21). TS cerrahisindeki tedavi sonuçları, diğer ossiküloplasti (otoskleroz cerrahisi dahil) sonuçları ile karşılaştırıldığında oldukça kötüdür. Sadece Tip 1 TS olan olguların cerrahi sonuçları iyidir. İatrojenik sensorinöral işitme kaybının da olabileceği düşünülürse, Tip 3 ve Tip 4 TS'si olan olgularda cerrahi tedaviye alternatif hatta öncelikli olarak işitme amplifikasyonu düşünülmelidir (37).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Denekler

Bu çalışma, T.C. Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü Elazığ Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun ve çalışmaya alınacak bireylerin veya ailelerinin onayı alınarak Kasım 2009- Eylül 2010 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları servisine KOM nedeniyle müracaat eden ve opere edilen 64 hastada gerçekleştirilmiştir. Kulak problemi ve bilinen kronik bir sistemik hastalığı olmayan bireylerden 32 kişilik kontrol grubu oluşturulmuştur.

2.2. Gruplar

Hastalar timpanosklerozlu KOM, timpanosklerozsuz KOM ve kontrol grubu olmak üzere üç gruba ayrılmıştır.

1. Grup (n=32): Timpanosklerozlu kronik otitis media nedeniyle operasyon planlanan 32 hastadan 3 cc venöz kan alınmıştır.

2. Grup (n=32): Kronik otitis media nedeniyle opere edilen ve timpanosklerozu olmayan 32 hastadan 3 cc venöz kan alınmıştır

3. Grup (n=32, Kontrol Grubu): Herhangi bir kulak problemi ve bilinen kronik sistemik hastalığı olmayan 32 bireyden oluşturularak, bu bireylerden 3 cc venöz kan alınmıştır.

Hasta ve kontrol bireylerinden alınan venöz kanlar -20 °C'de seri tamamlanincaya kadar saklandı. Seri tamamlanınca örnekler Tıbbi Biyoloji ve Genetik laboratuvarında değerlendirildi.

Cerrahiden önceki üç ay içerisinde otoresisi olan; kolestatomalı kronik otitis media, orta kulakta granülasyon dokusu veya polip nedeniyle operasyon planlanan; efüzyonlu otitis mediası bulunan veya bu nedenle ventilasyon tüpü takılan; miringosklerozu ve kronik sistemik hastalığı bulunan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.

2.3. Polimorfizmlerin Tayininde Kullanılan Gereçler

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

Gradient (Netheler Mlnz GmbH, 23331 Hamburg, Germany), Ultraviole (UV) lambası ve ilgili okuma, kaydetme, fotoğraflama ünitesi (TCP-20-M, Vilber Lourmat, Cedex, France), Otomomatik Mikropipetler, Eppendorf (France)

Soğutmalı mikrosantrifüj (Ole Dich Instrumentmakers APS, type 157.MP, Germany)

Elektronik hassas terazi (Shimadzu Corporation Libror AEG-320, Japan)

Etüv, Nüve (NP 400, Türkiye)

Elektro-mag (Türkiye)

Ph metre (Hana Intruments HI8521 pH meter, Italy)

Otoklav, Nüve (Türkiye)

Buzdolabı, Arçelik (Türkiye)

Derin dondurucu -20 °C, Uğur (Türkiye)

Su banyosu (Kötterman labortechnik type 3643, Germany)

Vorteks (Labinco L46, The Netherlands)

2.4. Polimorfizmlerin Tayininde Kullanılan Kimyasallar

Borik asit (Merck, Frankfurt, Germany)

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

Tris HCL (Sigma, Germany)

Etidium bromide (Sigma, Germany)

Fikol (Serva, Germany)

Bromofenol mavisi (Sigma, Germany)

Xylene cyanol (Sigma, Germany)

Mutlak etanol (Kimetsan, Türkiye)

100bç'lik DNA boyut markırı (Fermentas, Litvanya)

Agaroz (Sigma, Germany)

2.5. Polimorfizmlerin Tayininde Kullanılan Çözeltiler

Agaroz jel yükleme tamponu (6X)

%15 fikol

%0.05 bromofenol mavi

%0.05 ksilen siyanol

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

108 g Tris HCl

55 g Borik asit

20 ml 0.5 M EDTA

1000 ml ddH₂O ile tamamlanır.

EDTA Çözeltisi (0.5 M, 50 ml)

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

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

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

2.6. DNA İzolasyon İşlemi

2.6.1. Kullanılan Solüsyon ve Gereçler

DNA purifikasyon kiti (Promega Cat.#1125), 1.5 ml'lik tüpler (Axygen scientific MCT-150-A), 100 ve 1000 µl'lik pipet (Eppendorf research series 2100 pipettes, Germany), pipet uçları (Deltalab 327-17), mikrosantrifüj, vorteks, izopropil alkol, % 70'lik etil alkol

2.6.2. İzolasyon Aşamaları

1. 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne 900 µl cell lizis solüsyonu eklendi.
2. Kan tüpü kanın tamamen karışması sağlanana kadar hafifçe sallandı, sonra 300 µl kan cell lysis solüsyonu içeren mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Karışması için tüp 5-6 kez alt-üst edildi.
3. Kırmızı kan hücrelerinin lizisi için 10 dakika oda ısısında bekletildi. Bu esnada tüp 2-3 defa alt-üst edildi. 13 000-16 000 rpm'de 20 saniye santrifüj edildi.
4. Görünen beyaz pellete dokunmaksızın süpernatant yaklaşık 10-20 µl residüel sıvı bırakacak şekilde atıldı.
5. Beyaz kan hücreleri resüspanse olana dek tüp 10-15 saniye kadar hafifçe vortekslendi.
6. 300 µl nuclei lysis solüsyonu resüspanse hücrelerin bulunduğu tüpe eklendi. Beyaz kan hücrelerinin lizisi için solüsyon 5-6 kere pipetlendi. Solüsyonun visküz bir hale geldiği gözlemlendi. Karıştırma sonunda hücre

çökeltileri görünürse bunlar çözülene kadar solüsyon 37°C de inkübe edildi. Eğer 1 saat sonra hala çökeltiler görülüyorsa ek olarak 100 µl nuclei lysis solüsyonu ilave edilip inkübasyon tekrarlandı.

7. 1.5 µl RNase solüsyonu eklendi ve tüp 25 defa alt-üst edilerek karıştırıldı. Karışım 37 °C de 15 dakika inkübe edildi. Devam etmeden önce karışımın oda sıcaklığına gelmesi beklendi.
8. Nükleer pellete 100 µl protein presipitasyon solüsyonu eklendi. 10-20 saniye vorteksledi. Vortekslemeden sonra küçük protein çökeltileri görüldü.
9. 13 000-16 000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Koyu kahverengi protein pelleti görüldü.
10. İçinde DNA bulunan süpernatant, 300 µl isopropanol konulmuş temiz 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılarak karıştırıldı.
11. Solüsyon alt-üst edilerek ağ şeklinde DNA kütlesi görülene kadar karıştırıldı.
12. 13 000-16 000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. DNA küçük beyaz bir pellet şeklinde görüldü.
13. Süpernatant atılarak 300 µl %70'lik etanol eklendi ve -20 °C'de saklandı.

2.6.3. DNA Konsantrasyonu ve Saflık Derecesinin Ölçülmesi

DNA konsantrasyonu ve saflık derecesinin belirlenmesi UV spektrofotometresi ile yapılabilmektedir. DNA örneğinin içerisinde bulunduğu solüsyon tarafından absorbe edilen UV miktarı örnekteki DNA miktarı ile doğru orantılıdır. Absorbans genellikle 260 nm dalga boyunda ölçülür. Bu dalga boyundaki ölçümlerde çift iplikli DNA için absorbans değeri 50 µg/ml'lik konsantrasyon değerlerine karşılık gelir. UV absorbansı DNA'nın saflığının belirlenmesinde de kullanılabilir (260 nm'de nükleik asitler, 280 nm' de de proteinler pik verir). Saf bir DNA örneğinin 260 ve 280 nm' deki absorbans oranı (A₂₆₀ nm/A₂₈₀ nm) 1.8' dir. Bu değer elimizdeki DNA örneğinin verimini gösterir. Dolayısıyla bulduğumuz değer 1.8' e ne kadar yakınsa verim o kadar yüksektir. 1.8' den düşük değerler örnekte fenol ya da protein kontaminasyonu, 1.8' den büyük değerler ise RNA kontaminasyonu varlığını gösterir (81). Hasta ve kontrol grubuna ait DNA örnekleri ölçülerek konsantrasyonları ve

safliklari belirlenmistir. 1.8'e yakin olmayan degerlere sahip orneklerin DNA'larini tekrar izole edilmiştir.

2.7. Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) Çalışması

2.7.1. PZR Materyalleri

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

2.7.2. Restriksiyon Enzimleri

Hinfl (10 u/μl)	Fermentas ER0911
BsaWI (10 u/μl)	NEB R0567

2.7.3. Polimorfizmlerin PZR ve Restriksiyon Enzim Kesim Yöntemiyle Belirlenmesi

iNOS (NOS2) genindeki (-277) polimorfizmi için Cai I restriksiyon enzimiyle kesim yapılmıştır (22).

iNOS -277 A/G polimorfizmi,

Sense primer: 5-TGGACTCCTGTCACAAGCTGGAAA-3'

Antisense primer: 5'-CTCAgTTTTTCgACTCgCTACAA-3'

PZR sonrası 446 bç'lik ürün elde edilmiştir. Elde edilen ürünlere DNA dizileme yapılarak polimorfik genotip tespit edilmiştir (82).

SOD2 (mn-SOD) için A16V (C/T) polimorfizmi;

Sense primer: 5'-GCTGTGCTTTCTCGTCTTCAG-3'

Antisense primer: 5'-TGGTACTTCTCCTCGGTGACG-3'

PZR sonrası 267bç'lik ürün elde edilmiştir. BsaWI enzimiyle kesim sonucu C alleli için 267 bç ve T alleli için 183 bç ve 84 bç'lik ürünler elde edilmiştir (83).

Katalaz enzimindeki -21 pozisyonundaki A/T değişimi;

Sense primer: 5'-AATCAGAAGGCAGTCCTCCC-3'

Antisense primer: 5'-TCGGGGAGCACAGAGTGAC-3'

HinfI enzimiyle kesim sonucu A alleli için 203 bç ve 47 bç, T alleli için ise 250 bç'lik ürünler elde edilmiştir (83).

2.7.4. PZR Kurulması İşlemi

PZR 0.5 ml'lik tüplerde toplam hacim 30 µl olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Her bir tüpe 6 µl hasta DNA'sı ve üzerine 3 µl MgCl₂, 3 µl 10X buffer, 3 µl dNTP (2.5 mM), 1 µl primer 1 (30 pmol), 1 µl primer 2 (30 pmol), 0.1 U Taq DNA polimeraz ve 13 µl ddH₂O konuldu. Hazırlanan tüpler vorteksenerek PZR cihazına önceden girilmiş olan programda PZR işlemi gerçekleştirilmiştir. PZR sonrası ürünler agaroz jel elektroforezi ile analiz edilmiştir.

2.7.5. PZR Koşulları

Değerlendirilen tüm polimorfizmler için aynı PZR koşulları kullanılmıştır.

94 °C'de 5 dakika		
58 °C'de 1 dakika		1 döngü
72 °C'de 1 dakika		
94 °C'de 1 dakika	(denatürasyon)	
58 °C'de 1 dakika	(eşleşme)	35 döngü
72 °C'de 1 dakika	(sentez)	
94 °C'de 1 dakika		
58 °C'de 1 dakika		1 döngü
72 °C'de 7 dakika		

PZR Ürünlerinin Restriksiyon Enzimleriyle Kesilmesi

Kesim 25 µl üzerinden yapılmıştır. 20 µl PZR ürünü, 2,5 µl 10Xbuffer, 0.5 U restriksiyon enzimiyle toplam hacim çift distile su ile 25 µl'ye tamamlanmıştır. Kesim işlemi Hinf I enzimi için 37°C'de ve BsaWI enzim için 60°C'de 16 saat bekletilmek suretiyle gerçekleştirilmiştir. Tüm enzimler için aynı kesim protokolü uygulanmıştır. Kısaca 25 µl PZR ürünü, 1 µl restriksiyon enzimi ve 2,5 µl 10X buffer kullanılarak yapılmıştır.

PZR sonrası oluşan ürünler agaroz jelde yürütülen örnekler UV ışık altında değerlendirilerek genotipleme yapılmıştır.

2.8. Agaroz Jel Elektrofrez

Yapılan bu çalışmada PZR ile çoğaltılmış ürünlerin tanımlanması için agaroz jel elektrofrez uygulanmıştır. Elde edilen ürünlerin büyüklüklerini tanımlayabilmek için %4'lük jel kullanılmıştır. Kullanılan elektrofrez düzeneğine uygun hacim; toz halindeki agarozun 0.5X TBE tamponunda manyetik karıştırıcılı bir mikrodalga fırında kaynatılarak çözülmesi ile oluşturulmuştur. Ardından kaynamış çözelti 55–60 °C'ye soğutulurak 0.25 µg/ml EtBr ilave edilmiştir. Kuyuları oluşturacak olan tarak, tabağına yerleştirildikten sonra hazırlanan jel, hava kabarcığı kalmayacak şekilde buraya dökülmüştür. Jelin polimerizasyonu sonrası tarak dikkatlice çıkarılarak jel platformu 0.5X TBE tamponu ile dolu olan elektrofrez tankına yerleştirilmiştir. Bu tampondan jelin üzerini 1–2 mm geçecek kadar eklenmiştir. Örnekler ve belirteç DNA, 6X yükleme boyası ile 5:1 oranında karıştırılarak kuyulara 15'er µl yüklenmiştir. Güç kaynağı açılarak 90 V'a ayarlanmıştır. Yaklaşık yarım saat sonra güç kaynağı kapatılmıştır. Jel görüntüleme sisteminde UV ışını altında incelenmiştir (84, 85)

2.9. İstatistiksel Değerlendirme

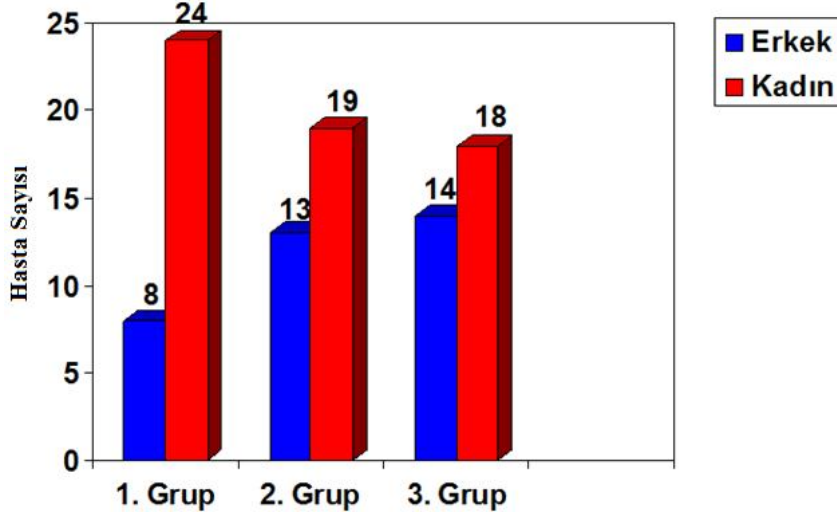
Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 11.5 paket programı kullanılarak veri tabanı oluşturulduktan sonra, veriler elektronik ortama aktarılmıştır.

Parametreler arası ilişkiler Pearson korelasyon analizi kullanılarak değerlendirilmiştir. Hasta ve kontroller genotip ve allel sıklıklarının dağılımı Ki-kare analizi ile yapılmıştır. Değerlendirmelerde $p < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Çalışmanın ekonomik giderleri Fırat Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP, proje no: 1965) desteği ile sağlanmıştır.

3. BULGULAR

Çalışma timpanosklerozlu ve timpanosklerozsuz KOM nedeni ile opere edilen 64 hasta ve 32 sağlıklı birey üzerinde yapılmıştır. Hastaların 61' i (%64) bayan, 35' i (%36) ise erkekti (Şekil 3).

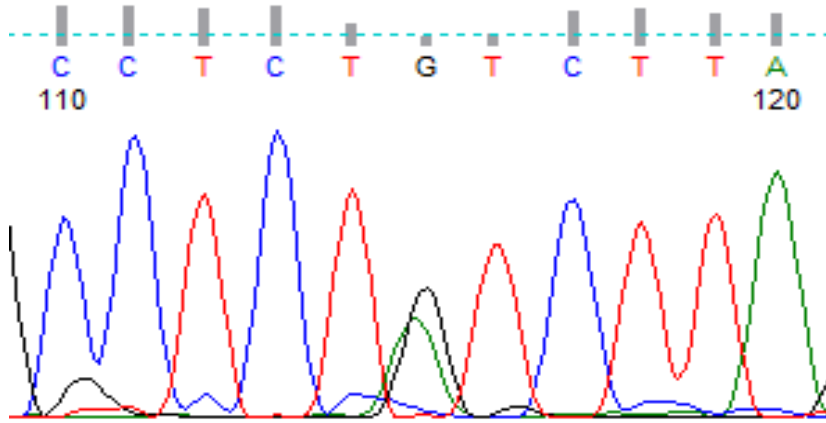


Şekil 3. Gruplara göre cinsiyet dağılımı.

Çalışmaya alınan hastaların yaşları 11-55 (yaş ortalaması 30.65 ± 10.50) arasında değişmekteydi. Gruplara göre yaş dağılımları grup 1, grup 2 ve grup 3 için sırası ile 11-55 (yaş ortalaması 27.37 ± 12.61), 15-50 (yaş ortalaması 32.06 ± 9.38), 19-48 (yaş ortalaması 32.53 ± 8.61) idi.

3.1. Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyon İnceleme Bulguları

iNOS (NOS2) genindeki (-277) A/G polimorfizmi için DNA dizileme yapılmıştır (Şekil 4).



Şekil 4. iNOS -277 A/G polimorfizmi için heterozigot (A/G) bir örneğe DNA dizileme görüntüsü. DNA dizileme sonucunda CCTCTA/GTCTT dizinde A ve G nükleotidlerinin her ikisi için pik oluştuğundan örnek heterozigot olarak değerlendirilmiştir.

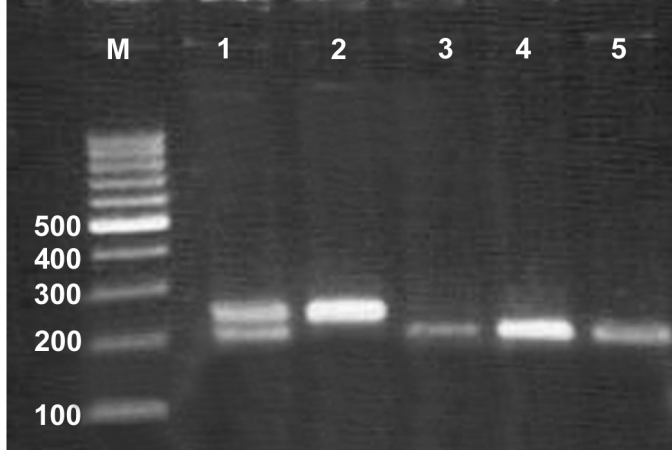
Gruplar arasında GG, GA, AA genotipleri istatistiksel olarak karşılaştırılarak, Hardy Weinberg (HW) eşitliği için uyumlu genotip dağılımı belirlenmiştir (Tablo 1). Grup 1 ile grup 2 arasında istatistiksel anlamlılık olmadığı ($p=.079$), grup 1 ile grup 3 arasında ise istatistiksel anlamlılık olduğu ($p=.008$) tespit edilmiştir. Grup 2 ile grup 3 karşılaştırıldığında ise istatistiksel anlamlılık tespit edilmemiştir ($p=.601$). Gruplar arasında GG genotip dağılımına baktığımızda grup 1, grup 2 ve grup 3' te sırasıyla 13 (%40), 7 (%22), 4 (%12) olarak bulunmuştur. Grup 1 ile grup 3 arasındaki GG genotip dağılımı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Tablo 1. iNOS (NOS2) genindeki (-277) A/G polimorfizminin genotipleri ve HW p değerleri.

İNOS	GG	GA	AA	HW p DEĞERİ
Grup 1 (n=32)	13 (%40)	12 (%38)	7 (%22)	0.207
Grup 2 (n=32)	7 (%22)	21 (%66)	4 (%12)	0.066
Grup 3 (n=32)	4 (%12)	24 (%76)	4 (%12)	0.0046

AA: vahşi tip, GA: heterozigot GG: polimorfik allel
 Not : Hardy Weinberg (HW) eşitliği için
 $p>.05$ ise HW ile uyumlu genotip dağılımı,
 $p<.05$ ise HW ile uyumsuz genotip dağılımı.

SOD2 (mn-SOD) için A16V (C/T) polimorfizmi değerlendirilmesi agaroz jel elektroforezi yöntemi ile yapıldı (Şekil 5).



Şekil 5. SOD2 (Mn-SOD) genindeki A16V (C/T) polimorfizminin agaroz jel elektroforez görüntüsü. M: 100bç'lik DNA Boyut Markırı, Sütun 1: C alleli için 267 bç ve T alleli için 183 bç ve 84 bç'lik BsaWI kesim ürünü, Sütun2: C alleli için 267 bç'lik BsaWI kesim ürünü, Sütun 3-5: T alleli için 183 bç ve 84 bç'lik BsaWI kesim ürünleri.

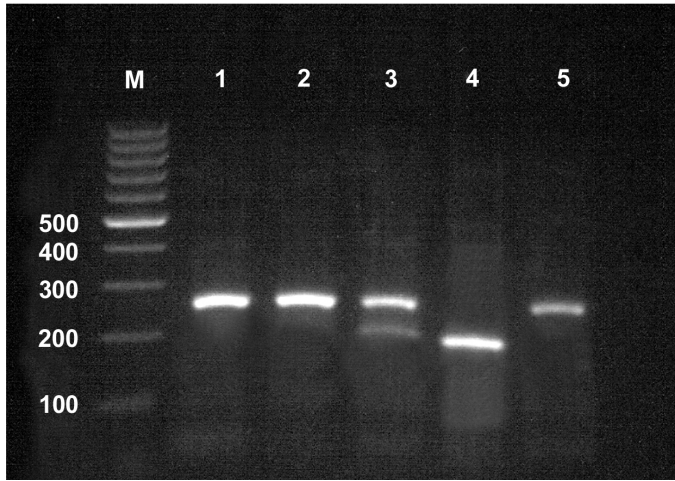
Gruplar arasında CC, CT, TT genotipleri istatistiksel olarak karşılaştırılarak, Hardy Weinberg (HW) eşitliği için uyumlu genotip dağılımı belirlenmiştir (Tablo 2). Grup 1 ile grup 2 arasında ($p=.282$), grup 1 ile grup 3 arasında ($p=.406$) ve grup 2 ile grup 3 arasında ($p=.412$) istatistiksel anlamlılık tespit edilmemiştir. Gruplar arasında polimorfik CC genotip dağılımına baktığımızda grup 1, grup 2 ve grup 3' te sırasıyla 8 (%25), 7 (%22), 4 (%12) olarak bulunmuştur. Grup 1' de ve grup 2' de, grup 3'e göre CC genotip sayısında artış görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlılık belirlenmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 2. SOD2 (Mn-SOD) genindeki A16V (C/T) polimorfizminin genotipleri ve HW p değerleri.

SOD	CC	CT	TT	HW p DEĞERİ
Grup 1 (n=32)	8 (%25)	15 (%47)	9 (%28)	0.727
Grup 2 (n=32)	7 (%22)	14 (%44)	11 (%34)	0.529
Grup 3 (n=32)	4 (%12)	19 (%60)	9 (%28)	0.219

TT: vahşi tip, TC: heterozigot, CC: polimorfik allel.

Katalaz genindeki -21 pozisyonundaki A/T değişim polimorfizmi agaroz jel elektroforezi yöntemi ile belirlenmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Katalaz genindeki -21 pozisyonundaki A/T değişim polimorfizminin agaroz jel elektroforez görüntüsü. M: 100bç'lik DNA Boyut Markırı, Sütun 1,2,5: T alleli için ise 250 bç'lik HinfI kesim ürünleri, Sütun3: A alleli için 203 bç ve 47 bç, T alleli için ise 250 bç'lik HinfI kesim ürünü, Sütun4: A alleli için 203 bç ve 47 bç'lik HinfI kesim ürünü.

Gruplar arasında TT, TA, AA genotipleri istatistiksel olarak karşılaştırılarak, Hardy-Weinberg (HW) eşitliği için uyumlu genotip dağılımı belirlenmiştir (Tablo 3). Grup 1 ile grup 2 arasında ($p=.282$), grup 1 ile grup 3 arasında ($p=.284$) ve grup 2 ile grup 3 arasında ($p=.713$) istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmemiştir. Gruplar arasında polimorfik TT genotip dağılımına baktığımızda grup 1, grup 2 ve grup 3' te sırasıyla 6 (%20), 2 (%6), 3 (%9) olarak bulunmuştur. Grup 1' de, grup 3'e göre TT

genotip sayısında artış görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlılık belirlenmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 3. Katalaz genindeki -21 pozisyonundaki A/T değişim polimorfizminin genotipleri ve HW p değerleri.

Katalaz	AA	TA	TT	HW p DEğERİ
Grup 1 (n=32)	13 (%40)	13 (%40)	6 (%20)	0.406
Grup 2 (n=32)	13 (%40)	17 (%53)	2 (%6)	0.246
Grup 3 (n=32)	10 (%31)	19 (%59)	3 (%9)	0.162

AA: vahşi tip, AT: heterozigot, TT: polimorfik allel

4. TARTIŞMA

Timpanosklerozun morfolojisi oldukça iyi bilinmesine rağmen, etiopatogenezi tam olarak açıklanamamıştır. Bugüne kadar timpanoskleroz oluşumunu açıklamak için birçok teori ortaya atılmış, fakat hiçbirinin geçerliliği tam olarak kanıtlanamamıştır. TS' nin sıklığı, değişik çalışmalarda %3-62,9 arasında bildirilmiştir (44, 86-89).

Morgan (43), TS' yi Tip III immün kompleks hastalığı olarak nitelendirmiştir. Schiff ve ark. (35) ise tavşan ve kobaylarda yaptıkları çalışmada, tavşandan elde edilen serum ile kobayın kulak zarı lamina propriasında pasif bir duyarlılık oluşturmuştur. Bundan sonra parasentez, fiziksel travma ve ağır enfeksiyonla pasif duyarlılık elde edilmiş otoantikörlara yeni aktif otoantikörlar eklenmiştir. Bu devrede Tip III hipersensitivite reaksiyonuyla doku harabiyeti meydana gelmiştir. Kulak zarı ve orta kulak mukozasında meydana gelen yaygın ülserasyon ve nekrozdan arta kalan bol miktardaki lokal dejenere elementlerin timpanosklerotik değişiklikleri başlattığı bildirilmiştir. Forseni ve ark. (28) immünolojik reaksiyonların, TS oluşumunu tetikleyici faktör olabileceğini söylemiştir.

Timpanoskleroz gelişiminde suçlanan diğer bir neden de allerjidir. Olgay ve ark. (44), ventilasyon tüpü uygulaması yaptıkları 62 hastada işlemden sonraki üçüncü ayda %62,9 oranında miringoskleroz geliştiğini saptamıştır. Miringoskleroz gelişen ve gelişmeyen gruplar serum IgE seviyeleri ve nazal smearde eozinofil oranı açısından karşılaştırıldığında, miringoskleroz gelişen grubun ortalama değerleri, miringoskleroz gelişmeyen gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak, alerjisi olan olgularda miringoskleroz görülme oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Timpanosklerozun etiopatogenezinde hiperkalseminin rolü de araştırılmıştır. Neto ve ark. (90), kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda kalsiyum metabolizmasının bozulması sonucunda miringoskleroz görülme oranının arttığını ileri sürmüştür. Yaptıkları çalışmada, kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda %11,7, sağlıklı insanlardan oluşan kontrol grubunda ise %5,1 oranında miringoskleroz saptanmış olup, aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Leal ve ark. (91) ise akut otitis media oluşturdukları kobayları iki gruba ayırmışlardır. Birinci gruba yüksek oranda kalsiyum verilerek hiperkalsemi

oluşturulmuş, ikinci gruba ise normokalsemik diyet verilmiştir. Yedi hafta sonra kobaylar TS gelişimi açısından incelenmiştir. Birinci grupta %25 oranında TS rastlanırken, ikinci grupta %16,7 oranında TS geliştiği bulunmuş ve aralarında istatistiksel anlamda fark saptanmamıştır.

Timpanoskleroz gelişiminde rol oynayan diğer bir faktör de orta kulak enfeksiyonlarıdır. TS, genellikle orta kulağın kronik veya rekürren enflamasyonlarının son evresinde gelişir (92). Çeşitli serilerde farklı otitis media çeşitlerinde gelişen TS oranı, %20-43 arasında bildirilmiştir (3, 86, 87, 93). Enflamasyonun erken döneminde kulak zarı ve orta kulak mukozası, zedelenmeye yanıt olarak makrofajlar gibi pek çok enflamatuvar hücreler tarafından infiltre edilir. Bu hücreler, enflamasyonun son dönemlerinde fibröz doku ile organize olup, hyalinizasyon ve kalsifikasyonla karakterize TS' ye neden olurlar (94). Kronik otitis mediada %24,3, effüzyonlu otitis mediada %16,6 ve pürülan akut otitis mediada %5 oranında TS geliştiği rapor edilmiştir (23). Başka bir çalışmada ise TS oranı, kulak zarı perforasyonu olan KOM'lu hastalarda %43, kulak zarı perforasyonu olmayan KOM'lu hastalarda %19,6 olarak bildirilmiştir (93). Akyıldız ve ark. (72)' nin yaptığı çalışmada TS' nin, %6' sı kolesteatomlu olmak üzere, %27' sinde aktif KOM ile birliktelik saptanmıştır.

Ortamdaki oksijen konsantrasyonu, TS patogenezinde önemli bir faktördür. Orta kulak kavitesindeki oksijen konsantrasyonu çevre oksijen konsantrasyonundan oldukça düşük olup yaklaşık %5-10 civarındadır (5).

Effüzyonlu otitis medianın tedavisinde parasentez yapılmasının ya da ventilasyon tüpü uygulamasının, TS' yi artırdığı bilinmektedir. Ventilasyon tüpü uygulaması sonrası kulak zarı ve orta kulak kavitesindeki oksijen konsantrasyonu artar, sonuçta hiperoksik bir ortam oluşur. Oksijen konsantrasyonu artmış olan orta kulak ve kulak zarında, herhangi bir travma geliştiği zaman serbest oksijen radikallerinin üretimi artar. Serbest oksijen radikallerinin seviyesinin artması fibrozis ve hyalen dejenerasyonu içeren doku hasarının başlamasına neden olur (61).

Turrens ve ark. (95) havadaki oksijen konsantrasyonunun yükselmesinin orta kulakta serbest oksijen radikallerinin üretimini artırdığını ve oksijen konsantrasyonundaki bu artışın, sonuçta TS gelişimine neden olduğunu göstermiştir.

Mattsson ve ark. (5) TS' nin, ortamda oluşan reaktif oksijen türevlerine (ROT) bağlı olarak gelişebileceğini 1995 yılında öne sürmüşlerdir. Yaptıkları çalışmada hayvanları üç gruba ayırıp miringotomi uygulamış ve bu hayvanlar sırasıyla %10, %15 ve %40 konsantrasyonda oksijen içeren ortamlarda bir hafta kadar tutulmuştur. Kulak zarlarının yapılan histopatolojik incelemesinde hiperoksik ortamda bulunan hayvanlarda daha fazla oranda sklerotik odağa rastlamışlardır. Bu çalışmalarında ortamdaki oksijen miktarı ile oluşan ROT arasında bir ilişki kurmuşlar ve yine aynı grup bunun üzerine 1998 yılında otuz tane Sprague Dawley cinsi ratlar üzerinde yeni bir çalışma başlatmışlardır. Önce hayvanların sol kulaklarını *Streptococcus pneumoniae* ile enfekte edip miringotomi uygulayarak, 1. ve 3. aylarında timpanik membranlarını incelemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda miringotomi uyguladıkları enfekte ve enfekte olmayan kulaklarda yoğun şekilde TS saptamışlardır. Miringotomi uygulanmayan grupta ise sklerotik lezyonlara rastlamamışlardır (96).

Reaktif oksijen türevleri ve TS arasında kurulan bu ilişki sonrasında, bir takım kimyasal maddeler sistemik ve lokal olarak uygulanarak ROT' un bu yıkıcı etkilerinden korunmaya çalışılmıştır. Bu tarihten sonra çalışmalar hız kazanmış, 1998 yılında yine Mattsson ve ark. (97) antioksidan birtakım maddeleri (Bakır-çinko-süperoksit dismutaz-bakır sülfat-demir klorid) lokal olarak perforasyon bölgesine uygulamışlar ve sklerotik odakların oluşmadığını görmüşlerdir. Bu tarihten iki yıl sonra ise intraperitoneal olarak deksametazon vererek TS gelişimini engellemişlerdir.

Polat ve ark. (98) yaptıkları çalışmada serbest O_2^- radikal düzeyini miringotomize timpanik membranda ölçtüktan sonra topikal olarak uygulanan vitamin E' nin oksijen seviyesini anlamlı olarak düşürdüğünü bulmuşlardır.

Spratley ve ark. (8) yaptıkları çalışmada sıçanların kulaklarına miringotomi uygulamasını takiben gelfoamla emdirilmiş 28 mmol/litre askorbik asit uygulamışlardır. Serbest radikallerin yıkıcı etkisine karşı koruyucu olan askorbik asit uygulanan grupta, kontrol gruplarına göre miringoskleroz oluşumunun anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır.

Özcan ve ark. (75) miringotomili sıçanlara 0.6 mg ve 1.2 mg N-asetil sistein uyguladıklarında TS gelişimini istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttığını görmüşlerdir.

Özel ve ark. (7) miringotomi yapılan ve H₂O₂' nin uygulanan timpanik membranlarda, H₂O₂'in hem kulak zarı perforasyonu kapanmasını geciktirdiği, hem de sklerotik lezyon oluşumunu arttırdığını belirlemişlerdir.

Birçok deneysel ve klinik çalışmada, TS oluşumunda otitis media atakları sırasında ortaya çıkan enflamatuvar hücrelerin ve bakterilerin ürettiği serbest oksijen radikallerinin önemli bir rolü olduğu ileri sürülmektedir (4-6, 61, 74-76). TS' nin oluşması için doku hasarının olması gerekmektedir. Orta kulak enfeksiyonları sırasında doku hasarı iki yolla oluşmaktadır. Bunlardan biri aşırı miktarda serbest oksijen radikali üretilmesi, diğeri nötrofil ve bakterilerin direkt etkisidir. Akut orta kulak enfeksiyonuna en sık neden olan patojenin *Streptococcus pneumoniae* olduğu bilinmektedir (75). *Streptococcus pneumoniae*, enfeksiyon ortamında önemli miktarda hidrojen peroksit üretmektedir. Hidrojen peroksit önemli bir serbest oksijen radikalidir. Serbest oksijen radikalleri özellikle bağ dokusundaki makrofajlar tarafından üretildiği için, en önemli hasar da bu bölgede olmaktadır (75).

Nitrik oksitin, damarlarda vazodilatasyon ve patojenleri öldürme işlevinin yanında, orta kulaktaki enflamatuvar yanıtta görev alarak TS gelişiminde rol oynadığı bildirilmiştir. Nitrik oksit sentezinde görev alan İNOS'un da TS oluşumunda rolü olduğu savunulmaktadır (4, 28, 64). Nitrik oksitin, sitokinlerin uyarısına bağlı olarak salgılandığı ve osteoklastların aktivitesini azaltıp, osteoblastların aktivitesini artırarak TS' ye yol açtığı düşünülmektedir (99).

Pirodda ve ark. (100) ateroskleroz nedeniyle karotis endarterektomi yapılan 50 hastayı ve 50 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubunu TS açısından karşılaştırmışlardır. Çalışma grubunda 18 hastada (%36), kontrol grubunda ise 6 hastada (%12) TS belirlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.005). TS ile ateroskleroz arasında benzerlik olduğunu tespit etmişlerdir.

Koç ve ark. (9) TS' nin ve aterosklerozun genetik predispozisyonunu araştırmıştır. Bu çalışmada aterosklerotik hastalardaki TS yaygınlığı, normal popülasyon ile karşılaştırılmıştır. 1024 aterosklerotik hasta otoskopik muayene ile değerlendirilmiş ve bu vakaların %66,6'sında miringoskleroza rastlamıştır. Non-aterosklerotik popülasyondan seçilen 300 hastanın ise 36'sında (% 12) miringoskleroza rastlanmıştır. Aterosklerotik grupta önceden geçirilen orta kulak enfeksiyon öyküsü bulunan 174 kişiden 147'sinde (% 84,5) muayene sırasında

miringoskleroza rastlanmıştır. Non aterosklerotik grupta 637 kişide daha önceden geçirilen orta kulak enfeksiyon öyküsü pozitif bulunmuş, bunlarında 114'ünde (17.7%) miringoskleroza rastlanmıştır. Aterosklerotik bireylerde yüksek oranda rastlanan TS insidansı, normal popülasyonla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu bulgular eşliğinde bazı bireylerin genetik olarak vücutta sklerotik dejenerasyona yatkın olabileceği düşünülmüştür.

Alpay ve ark. (10) KOM olup TS bulunan 50 hastada ve yine KOM olup TS olmayan 50 hasta ve kontrol grubunu oluşturan 100 sağlıklı bireyde TLR4 genindeki TLR4 Asp299Gly polimorfizm sıklıklarını belirlemişlerdir. TS olan hasta grubundan toplam beş örnekte TLR4 Asp299Gly polimorfizmi bulunmuştur (%10). TS olmayan grupta yalnız bir hastada TLR4 Asp299Gly polimorfizmi pozitif bulunmuştur (%2). Kontrol grubundaki 100 olgudan altısında (%6) TLR4 Asp299Gly polimorfizmi pozitif bulunmuştur. İstatistiksel açıdan TS' li olgulardaki polimorfizm pozitifliği, TS'si olmayan gruba göre anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Ancak TS grubundaki polimorfizm oranları kontrol grubuna göre yüksek olmakla birlikte istatistiksel anlamlılık tespit edilmemiştir ($p > 0.05$). TLR4 bakteriyel lipopolisakkaritleri tanıyarak inflamatuvar sitokinlerin salınmasını sağlamaktadır. Polimorfizm olduğunda inflamatuvar sitokinlerin salınması kontrolsüz olmaktadır. Bu durum TS gelişiminde tetikleyici bir faktör gibi gözükmektedir. TS etyolojisinde genetik anormalliklerin rolünün araştırıldığı bu çalışma TS oluşumunda, konakçı immün yanıtında farklılıklara neden olan bazı genlerdeki polimorfizmlerin etkili olabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızda iNOS (NOS2) genindeki (-277) A/G polimorfizmi için GG genotipi istatistiksel olarak gruplar arasında karşılaştırıldığında TS' li KOM' lu hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p = .008$). TS' li KOM grubu ile TS' siz KOM grupları genetik polimorfizm açısından istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı farklılığın olmadığı görülmüştür ($p = .079$). TS' siz KOM grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılık tespit edilmemiştir ($p = .601$).

Koç ve ark. (9) ile Alpay ve ark. (10) yapmış oldukları çalışmalarda TS ile genetik arasında bir ilişki olabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda iNOS (NOS2) genindeki (-277) GG genotipinin TS' li KOM' lu grupta, kontrol grubuna göre

anlamalı düzeyde artmış olduğunu tespit ettiğimizden timpanosklerozun etyopatogenezinde genetik yatkınlığın rol oynayabileceği düşünülmüştür.

Forseni ve ark. (64) B lenfositler, makrofajlar ve interlökin-6' nın effüzyonlu otitis medialı hastalarda, İNOS'un ise TS' li hastalarda daha yüksek oranda saptandığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, interlökin-6 ve İNOS'un daha çok mukozal epitel gibi yüzeyel hücrelerde, makrofaj ve B lenfositlerin ise mukozal epitelin derininde özellikle bağ dokusu ve sklerotik plakların etrafında lokalize oldukları gösterilmiştir.

Atmaca ve ark. (65), miringotomi yaparak sağ orta kulaklarına serum fizyolojik, sol orta kulaklarına ise nitrik oksit verdikleri ratların orta kulak bullalarının histopatolojik incelenmesinde, TS oluşumu açısından önemli bir fark izlememişlerdir. Sonuçta nitrik oksitin tek başına TS' ye neden olan bir faktör olmadığını, bir grup sitokin ile birlikte enflamatuvar bir reaksiyon oluşturarak TS' ye yol açabileceği belirtilmiştir.

Forseni ve ark. (64), Atmaca ve ark. (65)'nin yorumuna benzer şekilde, nitrik oksitin diğer serbest oksijen radikalleri ve sitokinler ile birlikte ardışık bir takım reaksiyonları tetikleyerek orta kulakta histopatolojik değişikliklere neden olduğunu ve bu değişikliklerin de TS oluşum sürecini başlattığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda, Forseni ve ark. (64) TS' li hastalarda iNOS'un daha yüksek seviyede bulunmasının nedeninin genetik polimorfizm olabileceği gösterilmiştir. Yüksek seviyede bulunan iNOS' un, nitrik oksit yapımını arttırarak TS oluşum sürecinde rol oynadığı düşünülebilir.

Süperoksit Dismutaz (mn-SOD) A16V (C/T) polimorfizmi için CC genotipinde gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında sırasıyla TS' li KOM grubu ile TS' siz KOM grubu, TS' li KOM grubu ile kontrol grubu ve TS' siz KOM grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılığın olmadığı görülmüştür (p=.282) (p=.406) (p=.412).

Katalaz genindeki -21 pozisyonundaki A/T değişim polimorfizmi için TT, TA, AA genotipleri açısından gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında sırasıyla TS' li KOM grubu ile TS' siz KOM grubu, TS' li KOM grubu ile kontrol grubu ve TS' siz KOM grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılığın olmadığı görülmüştür (p=.282) (p=.284) (p=.713).

Karlıdağ ve ark. (4) timpanoplasti veya timpanoplasti ile birlikte mastoidektomi yaptıkları hastaların kulak zarı ve orta kulak materyallerinde malondialdehit ve nitrik oksit seviyeleri ile plazma malondialdehit seviyesini, TS saptanan grupta, saptanmayan gruba göre yüksek olarak saptamıştır. Antioksidan olan superoksit dismutaz ve katalazın plazma seviyelerini ise TS olan grupta olmayan gruba göre düşük olarak bulmuşlardır. Ancak iki grup arasındaki farkın katalaz seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı, superoksit dismutaz seviyeleri açısından anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda SOD ve katalaz genlerinde istatistiksel olarak anlamlı polimorfik genotip düzeyleri tespit edilmemesine rağmen, her iki gende de polimorfik genotipin grup I' de, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları ışığında sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında grup I' de, iNOS (NOS2) geninde (-277) GG polimorfik genotipin anlamlı düzeyde artmış olduğu tespit edilerek, TS' nin etyopatogenezinde genetik yatkınlığın rol oynayabileceği düşünülmüştür.

Katalaz ve SOD genlerinde promoter polimorfizmlere ilaveten genlerin ekspresyonunu ve protein aktivitelerini etkileyebilen pek çok polimorfizm bulunmaktadır. Bu nedenle daha fazla hasta sayısı ile yapılacak katalaz ve SOD genlerindeki önemli polimorfizmlerin tamamının analiz edilebileceği yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Plester D. Tympanosclerosis. *J Otolaryngol Soc Aust* 1972; 5: 325-326.
2. House WF, Sheehy JL. Tympanosclerosis. *Acta Otolaryngol* 1960; 72: 38-43.
3. Tos M, Stangerup SE. Hearing loss in tympanosclerosis caused by grommets. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1989; 115: 931-935.
4. Karlidag T, Ilhan N, Kaygusuz I, Keles E, Yalcin S. Comparison of free radicals and antioxidant enzymes in chronic otitis media with and without tympanosclerosis. *Laryngoscope* 2004; 114: 85-89.
5. Mattsson C, Magnusson K, Hellstrom S. Myringosclerosis caused by increased oxygen concentration in traumatized tympanic membranes, experimental study. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995; 104: 625-632.
6. Mattsson C, Marklund SL, Hellstrom S. Application of oxygen free radical scavengers to diminish the occurrence of myringosclerosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1997; 106: 513-518.
7. Ozel BF, Yasan H, Ciris M, Dogru H, Candır O. The effects of different agents on the development of myringosclerosis and healing of tympanic membrane perforation. *Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi* 2005; 4: 4-5.
8. Spratley JE, Hellstrom S, Mattson C, Pais-Clemente M. Topical ascorbic acid reduces myringosclerosis in perforated tympanic membranes a study in the rat. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001; 110: 585-591.
9. Koc A, Uneri C. Genetic predisposition for tympanosclerotic degeneration. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2002; 259: 180-183.
10. Alpay HC, Etem E, Kaygusuz I, Yüce H, Karlidag T, Keles E, Orhan I, Yalcin S. Evaluation of the polymorphism in the Toll-like receptor 4 (TLR4) genes of tympanosclerosis patients. *Auris Nasus Larynx* 2010; 37: 29-32.

11. Gulya A. Development of anatomy of the temporal bone and Skull Base. Shambaugh GE Jr, Glasscock ME III (editors). Surgery of the Ear. 5th Ed Philadelphia: WB Saunders, 2003: 3-35.
12. Pearson A. Development of anatomy of the ear. English GM (editor). Otolaryngology. Philadelphia: Harper and Row Publishers, 1984: 1-68.
13. Gulya A. Anatomy of the temporal bone. Shambaugh GE Jr, Glasscock ME III, (editors). Surgery of the Ear. 5th Ed Philadelphia: WB Saunders, 2003: 35-49.
14. Jackler RK. The surgical anatomy of cholesteatoma. Otolaryngol Clin North Am 1989; 22: 883-896.
15. 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 (editors). Otolaryngol Head and Neck Surgery, 3rd Ed St Louis: Mosby Year Book, 1998:2533-2546.
16. Dew LA, Shelton C. Complications of temporal bone infection. Cummings CW, Fredericson JM, Harker LA (editors). Otolaryngol Head and Neck Surgery, 3rd Ed St Louis: Mosby Year Book, 1998: 3047-3073.
17. 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.
18. 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.
19. Bluestone CD. Epidemiology and pathogenesis of chronic suppurative otitis media: implications for prevention and treatment. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 1998; 42: 207-223.

20. Meyerhoff WL, Kim CS, Paparella MM. Pathology of chronic otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1978; 87: 749-760.
21. Akyıldız AN. Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi 1. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 337-451.
22. Gibb AG, Pang YT. Current considerations in the etiology and diagnosis of tympanosclerosis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1994; 251: 439-451.
23. Bhaya MH, Schachern PA, Morizono T, Paparella MM. Pathogenesis of tympanosclerosis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1993; 109: 413-420.
24. Zöllner F, Beck C. Die Paukensklerose. *Laryngol Rhinol Otol* 1963; 34: 137-138.
25. Selçuk A, Ensari S, Sargın AK, Can B, Dere H. Histopathological classification of tympanosclerotic plaques. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2008; 265: 409-413.
26. Raustyte G, Caye-Thomasen P, Hermansson A, Andersen H, Thomsen J. Calcium deposition and expression of bone modelling markers in the tympanic membrane following acute otitis media. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2006; 70: 529-539.
27. Akbaş Y, Pata YS, Görür K, Polat G, Polat A, Özcan C, Ünal M. The effect of L-carnitine on the prevention of experimentally induced myringosclerosis in rats. *Hear Res* 2003; 184: 107-112.
28. Forseni M, Bagger-Sjöback D, Hultcrantz M. A study of inflammatory mediators in the human tympanosclerotic middle ear. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 127: 559-564.
29. Alzamil KS, Linthicum FH. Pathology case of month; tympanosclerosis. *Am J Otol* 1999; 20: 686-687.

30. Igarashi M, Konishi S, Alford BR, Guilford FR. The pathology of tympanosclerosis. *Laryngoscope* 1970; 80: 233-243.
31. Sorensen H, True O. Histology of tympanosclerosis. *Acta Otolaryngol* 1971; 73: 18-26.
32. Santos PF, Leal MC, Peixoto C, Neto SC, Rosas STP. Otomicroscopic and histologic findings of induced myringosclerosis in rats: a critical study of an experimental model. *Brazilian J Otorhinolaryngol* 2005; 71: 668-674.
33. Chang IW. Tympanosclerosis: Electron microscopic study. *Acta Otolaryngol* 1969; 68: 62-67.
34. McKee GJ, Kerr AG. Tympanosclerosis: a scanning electron microscopic study. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 1989; 14: 11-16.
35. Schiff M, Poliquin JF, Catanzaro A, Ryan AF. Tympanosclerosis. A theory of pathogenesis. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 1980; 89: 1-16.
36. Chole RA, Choo MJ. Chronic otitis media, mastoiditis and petrositis. CW, Harker LA, Krause CJ, Richardson (editors). *Otolaryngology Head & Neck Surgery Cummings*. St. Louis, Mosby, 1998: 450-455.
37. Wielinga EWJ, Kerr AG. Tympanosclerosis. *Clin Otolaryngol* 1993; 18: 341-349.
38. Asiri S, Hahsam A, Anazy FA, Zakzouk S, Banjar A, Tympanosclerosis: review of literature and incidence among patients with middle-ear infection. *J Laryngol Otol* 1999; 113: 1076-1080.
39. Russell JD, Giles JJ. Tympanosclerosis in the rat tympanic membrane: an experimental study. *Laryngoscope* 2002; 112: 1663-1666.
40. Forseni M, Hultcrantz M. Possible inflammatory mediators in tympanosclerosis development. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2002; 63: 149-154.

41. Hızalan İM. Tympanoskleroz. Türkiye Klinikleri Kulak Burun Boğaz Dergisi 2005; 1: 54-59.
42. Proctor B. Chronic otitis media and mastoiditis. Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL, (editors). Otolaryngology, 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1991; 1349-1376.
43. Morgan WC. Tympanosclerosis. Laryngoscope 1977; 87: 1821-1825.
44. Olgay RG, Işık AÜ, Berçin AS, Çalgüner M. Timpanoskleroz etyolojisinde alerjinin yeri. Ankara Tıp Mecmuası 1994; 47: 235-240.
45. Koc A, Uneri C. Sex distribution in children with tympanosclerosis after insertion of a tympanostomy tube. Eur Arch Otorhinolaryngol 2001; 258: 16-19.
46. Tos M, Stangerup SE, Holm-Jensen S, Sorensen CH. Spontaneous course of secretory otitis and changes of the eardrum. Arch Otolaryngol 1984; 110: 281-289.
47. Hampal S, Flood LM, Kumar BU. The mini-grommet and tympanosclerosis. J Laryngol Otol 1991; 105: 161-164.
48. Mattsson C, Johansson C, Hellström S. Myringosclerosis develops within 9 h of myringotomy. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec 1999; 61: 31-36.
49. Friedman EM, Sprecher RC, Simon S, Kay DJ. Quantitation and prevalence of tympanosclerosis in a pediatric otolaryngology clinic. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 2001; 60: 205-211.
50. Lesser THJ, Williams KR, Skinner DW. Tympanosclerosis, grommets and shear stresses. Clin Otolaryngol 1988; 13: 375-380.
51. Williams KR, Blayney AW, Lesser HJ. Mode shapes of a damaged and repaired tympanic membrane as analysed by the finite element method. Clin Otolaryngol 1997; 22: 126-131.

52. Elnor A, Ingelsledt S, Ivarsson A. The elastic properties of the tympanic membrane system. *Acta Otolaryngol* 1971; 72: 397-403.
53. Parker AJ, Maw AR, Powell JE. Intra-tympanic membrane bleeding after grommet insertion and tympanosclerosis. *Clin Otolaryngol* 1990; 15: 203-207.
54. Dawes PJD, Bingham BJ, Griffiths MV. Aspiration middle ear effusions when inserting ventilation tubes: does it influence post-operative otorrhoea, tube obstruction or the development of tympanosclerosis? *Clin Otolaryngol* 1991; 16: 457-461.
55. Banerjee AR, Jennings C, Marshall JN, Narula AA. The effect of topical adrenaline on the development of myringosclerosis after tympanostomy tube insertion. *Am J Otol* 2000; 21: 482-484.
56. Dursun G, Acar A, Turga M, Çalgüler M. Human leucocyte antigens in tympanosclerosis. *Clin Otolaryngol* 1997; 22: 62-64.
57. Zöllner F. Tympanosclerosis. *Arc Otolaryngol* 1969; 89: 207-210.
58. Ferlito AF. Histopathogenesis of tympanosclerosis. *J Laryngol Otol* 1979; 93: 25-26.
59. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-426.
60. Farber J, Kyle EM, Coleman JB. Biology of disease. Mechanism of cell injury by activated oxygen species. *Lab Invest* 1990; 62: 670-679.
61. Uneri C, Sarı M, Akboga J, Yüksel M. Vitamin E-coated tympanostomy tube insertion decreases the quantity of free radicals in tympanic membrane. *Laryngoscope* 2006; 116: 140-143.
62. Takoudes TG, Haddad J. Lipid peroxides in middle ear fluid after acute otitis media in guinea pigs. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1999; 108: 564-568.

63. Görür K. Timpanoskleroz ve miringosklerozun etiopatogenezi. *Otoscope* 2004; 4: 125-129.
64. Forseni M, Hansson GK, Bagger-Sjöback D, Hulcrantz M. An immunohistochemical study of inducible nitric oxide synthase in the rat middle ear, with reference to tympanosclerosis. *Acta Otolaryngol* 1999; 119: 577-582.
65. Atmaca S, Erol Y, Çoban AY, Yıldız L, Çengel S, Koyuncu M. Does exogenous nitric oxide influence tympanosclerosis? An experimental study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2008; 72: 1845-1848.
66. Dawn BM, Allan DM, Colleen MS. *Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach*, ed. Baltimore, Maryland: LW. Wilkins. 1996: 166-180.
67. Fridovich I. Superoxide Radical: An Endogenous Toxicant. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1983; 23: 239-257.
68. Helle RA, Jesper BN, Fleming N. Antioxidative Enzyme Activities in Human Erythrocytes. *Clinical Chemistry* 1997; 43: 562-568.
69. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı Konya: Mimoza Yayınları, 1995: 180-184.
70. Jenkins RR, Tengı J. Catalase Activity in Skeletal Muscle of Varying Fiber Types. *Experimentia* 1981; 37: 67-68.
71. Tos M, Bonding P, Poulsen G. Tympanosclerosis of the drum in secretory otitis after insertion of grommets. *J Laryngol Otol* 1983; 97: 489-496.
72. Özbilen S, Akyıldız N. Timpanosklerozda Cerrahi Tedavi: Türk Otorinolaringoloji XXI. Ulusal kongresi, Devranoğlu Eİ (editor). 1994: 373-374.

73. Mattsson C, Stierna P, Hellström S. Treatment with dexamethasone arrests the development of myringosclerosis after myringotomy. *Am J Otol* 2000; 21: 804-808.
74. Uneri C, Baglam T, Yazıcı M. The effect of Vitamin E treatment on the development of myringosclerosis after ventilation tube insertion. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2006; 70: 1045-1048.
75. Ozcan C, Görür K, Cinel L, Talas DU, Unal M, Cinel I. The inhibitory effect of topical N-acetylcysteine application on myringosclerosis in perforated rat tympanic membrane. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2002; 63: 179-84.
76. Görür K, Ozcan C, Polat A, Unal M, Tamer L, Cinel I. The antioxidant and antiapoptotic activities of selenium in the prevention of myringosclerosis in rats. *J Laryngol Otol* 2002; 116: 426-429.
77. Yetiser S, Hıdır Y, Karatas E, Karapınar U. Management of tympanosclerosis with ossicular fixation: review and presentation of longterm results of 30 new cases. *J Otolaryngol* 2007; 36: 303-308.
78. Gibb AG. Tympanosclerosis. *Proc Roy Soc Med* 1976; 69: 155-162.
79. Tos M, Lau T, Arndal H, Plate S. Tympanosclerosis of the middle ear: Late results of surgical treatments. *J Laryngol Otol* 1990; 104: 685-689.
80. Katılmış H, Öztürkcan S, Özdemir İ, Özturan Ş, İlknur AE, Aslan HA. Timpanosklerozisin cerrahi tedavisinde postoperatif işitme sonuçları. *Otoscope* 2004; 3: 104-107.
81. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*, 2. baskı, NewYork: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor. 1989: 142-143.
82. Holla LI, Stejskalova A, Znojil V, Vasku A. Analysis of the inducible nitric oxide synthase gene polymorphisms in Czech patients with atopic diseases. *Clin Exp Allergy* 2006; 36: 1592-601.

83. Flekac M, Lee SJ, Hilgertova J, Lacinova Z, Jarolimkova M. Gene polymorphisms of superoxide dismutases and catalase in diabetes mellitus. *BMC Med Genet* 2008; 21: 9-30.
84. Andrews AT, *Electrophoresis*. 2nd ed. UK: Clarendon press, Oxford, 1986: 120-122.
85. Bottema CD, Sommer SS. PCR amplification of specific alleles: rapid detection of known mutations and polymorphisms. *Mutat Res* 1993; 288: 93-102.
86. Sheehy JL, House WF. Tympanosclerosis. *Arch Otolaryngol* 1962; 76: 151-157.
87. Tos M, Bak-Pedersen K. Middle-ear mucosa in tympanosclerosis. *J Laryngol Otol* 1974; 88: 119-126.
88. Beckman JS, Beckman TW, Chen J. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 1620-1624.
89. Austin DF. Reconstructive techniques for tympanosclerosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1988; 97: 670-674.
90. Neto SSC, Lessa FJD, Alves G, Caldas N, de Carvalho LM. Myringosclerosis in patient with chronic renal failure: Comparative analysis with a control grup. *Brazilian J Otorhinolaryngol* 2008; 74: 494-502.
91. Leal MC, Neto SSC, Caldas N, Peixoto CA, Lessa FJD, Leao BT, et al. Influence of hypercalcemia in the formation of tympanosclerosis in rat. *Otol Neurotol* 2005; 27: 27-32.
92. Selcuk A, Akdoğan Ö, Özcan İ, Giray SG, Dere H, Özoğul C. Topical application of calcium channel blockers to reduce the progression of experimentally induced myringosclerosis and tympanosclerosis. *Laryngoscope* 2008; 118: 697-705.

93. da Costa SS, Paparella MM, Schachern PA, Yoon TH, Kimberley BP. Temporal bone histopathology in chronically infected ears with intact and perforated tympanic membranes. *Laryngoscope* 1992; 102: 1229-1236.
94. Makiishi-Shimobayashi C, Tsujimura T, Sugihara A, Iwasaki T, Yamada N, Terada N, Sakagami M. Expression of osteopontin by exudate macrophages in inflammatory tissues of the middle ear: a possible association with development of tympanosclerosis. *Hear Res* 2001; 153: 100-107.
95. Turrens JF, Freeman BA, Crapo JD. Hyperoxia increases H₂O₂ release by mitochondria and microsomes. *Arch Biochem Biophys* 1982; 217: 411-421.
96. Mattsson C, Church MK, Hellström S. Myringotomy: a prerequisite for the development of myringosclerosis? *Laryngoscope* 1998; 108: 102-106.
97. Mattsson C, Hellström S. Application of oxygen free radical scavengers to diminish the occurrence of myringosclerosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1998; 106: 513-518.
98. Polat S, Öztürk Ö, Üneri C, Yüksel M, Haklar G, Bozkurt S, Küllü, S. Determination of reactive oxygen species in myringotomized tympanic membranes: Effect of vitamin E treatment. *Laryngoscope* 2004; 114: 720-725.
99. Hukkanen M, Hughes FJ, Buttery LD. Cytokine-stimulated expression of inducible nitric oxide synthase by mouse, rat, and human osteoblast-like cells and its functional role in osteoblast metabolic activity. *Endocrinology* 1995; 136: 5445-5453.
100. Pirodda A, Ferri GG, Bruzzi C, Marini M, Faggioli G. Possible relationship between tympanosclerosis and atherosclerosis. *Acta Otolaryngol* 2004; 124: 574-576.

6. ÖZGEÇMİŞ

Elazığ'da 1981 yılında doğdum. İlköğrenimimi İsmetpaşa İ.Ö.O'da orta öğrenimimi Yüzüncü Yıl Ortaokulu'nda ve liseyi ise Balakgazi Süper Lisesi'nde tamamladım. 1999 yılında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yüksek lisans öğrenimime başlayıp 2006 yılında mezun oldum. Ardından yaklaşık 3 ay süresince Mardin Midyat'ta pratisyen hekim olarak görev yaptım. Daha sonra 2006 Eylül döneminde girdiğim Tıpta Uzmanlık Sınavında (TUS) Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nı kazandım ve ihtisasa başladım. Halen bu klinikte araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk babasıyım.