

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

**KOLESTEATOMALI KRONİK OTİTTE  
PCNA VE KI-67 EKSPRESYONU**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Koray YÜKSEL**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Turgut KARLIDAĞ**

**ELAZIĞ  
2014**

**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. Turgut KARLIDAĞ

**Danışman**

**Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri**

..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_

## TEŞEKKÜR

Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince pratik ve teorik anlamda yetişmemde her türlü desteği sağlayan, deneyim ve bilgilerini paylaşan başta tez hocam Prof. Dr. Turgut Karlıdağ'a olmak üzere Prof. Dr. Şinasi Yalçın'a, Prof. Dr. İrfan Kaygusuz'a, Prof. Dr. Erol Keleş'e ve Doç. Dr. H. Cengiz Alpay'a tek tek teşekkürü borç bilirim.

Hastane ortamının samimi bir ortama dönüşmesine katkısı olan asistan arkadaşlarıma, servis, poliklinik ve ameliyathane hemşire ile personellerine de teşekkür ederim. Desteklerinin sınırsız olduğu eşim Sibel ve aileme elbette minnettarım.

## ÖZET

Bu çalışmada, erişkin ve çocuk yaş gruplarında kolesteatoma dokusunda proliferasyon markırları olan Ki-67 ve PCNA ekspresyonu değerlendirilerek, bu markırların kolesteatomanın radyolojik ve intraoperatif evrelemesi ile ilişkisinin olup olmadığının ortaya konması amaçlanmıştır.

Çalışma kolesteatomalı ve kolesteatomasız kronik otitis media nedeniyle opere edilen toplam 100 hasta üzerinde yapıldı. Çalışmada hastalar dört gruba ayrıldı. Kolesteatomalı kronik otit nedeniyle opere edilen 19-55 yaş hastalardan grup 1, kolesteatomalı kronik otit nedeniyle opere edilen 6-18 yaş hastalardan grup 2, kolesteatomasız kronik otit nedeniyle opere edilen 19-55 yaş hastalardan grup 3 ve kolesteatomasız kronik otit nedeniyle opere edilen 6-18 yaş hastalardan grup 4 oluşturdu. Grup 1 ve grup 2'den kolesteatoma matriksi ve dış kulak yolu cildinden, grup 3 ve grup 4'ten ise dış kulak kanalı cildinden doku örnekleri alınarak immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. Pozitif hücrelerin boyanma oranı semikantitatif olarak dört gruba ayrılarak skorlandı: 0-boyanma yok, 1-hücrelerin %1-25'inde boyanma, 2- hücrelerin %26-50'sinde boyanma, 3-hücrelerin %51-75'inde boyanma ve 4- hücrelerin %76-100'ünde boyanma olarak değerlendirildi.

Tüm gruplarda PCNA ve Ki-67 boyanma skorlarına bakıldığında en yüksek boyanma skoru çocuk kolesteatoma grubunda olduğu görüldü. Grup 1 ve grup 2'de kolesteatomanın radyolojik ve intraoperatif evresi ile PCNA, Ki-67 ekspresyonu arasında pozitif korelasyon saptandı. Grup 3 ve grup 4'de PCNA ve Ki-67 ekspresyonu karşılaştırıldığında grup 4'te boyanma skorlarının daha yüksek olduğu görüldü ( $p<0.05$ ). Grup 4'deki bu farkın pediatrik yaş grubundaki mitotik aktivitenin daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünüldü.

Çalışmada kolesteatomanın yaygınlığının artması ile PCNA ve Ki-67 ekspresyonunun arttığı gözlemlendi. PCNA ve Ki-67 ekspresyonunun değerlendirilmesi, kolesteatomalı hastaların prognozunun değerlendirilmesinde faydalı olabilir. Bu ilişkinin tam olarak ortaya konulması için daha fazla vaka sayısını içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Kolesteatoma, PCNA, Ki-67

## ABSTRACT

### PCNA AND KI-67 EXPRESSION IN CHRONIC OTITIS MEDIA WITH CHOLESTEATOMA

The aim of this study is investigating relationship between proliferative markers Ki-67, PCNA expression in cholesteatoma matrix and cholesteatomas radiographic, intraoperative stage.

The study was conducted on 100 patient who were operated due to chronic otitis media (COM) with and without cholesteatoma. The patients were divided into four groups. Group 1 consist of 19-55 age patients who were operated due to the COM with cholesteatoma and group 2 consist of 6-18 age patients who were also operated due to the COM with cholesteatoma. Group 3 consist of 19-55 age patients who were operated due to the COM without cholesteatoma and group 4 consist of 6-18 age patients who were operated due to the COM without cholesteatoma. The samples were obtained from cholesteatoma matrix and external ear canal skin for group 1 and group 2. However, for goup 3 and group 4, samples were obtained from only external ear canal skin. The samples were determined immunohistochemically. The rates of positive cells were semi-quantitatively classified into four groups. The groups were defined as the following: 0- no staining, 1-cell staining ( %1-25 staining of cells), 2-cell staining ( %26-50 staining of cells), 3-cell staining ( %51-75 staining of cells), 4-cell staining ( %76-100 staining of cells).

According to the PCNA and Ki-67 staining scores among the whole groups , the highest staining score is observed from the pediatric cholesteatoma group. When the correlation was evaluated from the cholesteatomas radiographic and intraoperative stage of the group 1 and group 2 with PCNA and Ki-67 expression, expression increase of proliferation markers and advanced stage of cholesteatoma have a significant interaction statistically. When compared the PCNA and Ki-67 expressions from group 3 and group 4, investigation shows that staining scores are more higher in group 4 ( $p < 0.05$ ). Furthermore, it is thought that this differentiation in group 4 is caused by the mitotic activities of pediatric age group.

Consequently, findings suggest that PCNA and Ki-67 expression is increasing by the increase in spread of cholesteatoma. PCNA and Ki-67 expression may useful for estimate prognosis at choronic otitis media with cholesteatoma. In addition, to make this relationship more clear, next researches in which more circumstances are investigated are required.

**Keywords:** Cholesteatoma, PCNA, Ki-67

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
<b>BAŞLIK SAYFASI</b>	<b>i</b>
<b>ONAY SAYFASI</b>	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>vi</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>ix</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>x</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b>	<b>xi</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Kulak Embriyolojisi	2
1.1.1. Aurikula	2
1.1.2. Dış Kulak Yolu ve Timpanik Membran	2
1.1.3. Temporal Kemik	3
1.1.4. Orta Kulak Kemikçikleri	5
1.1. 5. Östaki Tüpü	5
1.2. Kulak Anatomisi	6
1.2.1. Temporal Kemik Anatomisi	6
1.2.1.1. Skuamöz Kısım	6
1.2.1.2. Mastoid Kısım	6
1.2.1.3. Timpanik Kısım	7
1.2.1.4. Petröz Kısım	7
1.2.2. Temporal Kemiğin Cerrahi Anatomisi	7
1.2.3. Dış Kulak	8
1.2.4. Orta Kulak	9
1.2.4.1. Kulak Zarı	10
1.2.4.2. Orta Kulağın Komşulukları	10
1.2.4.3. Orta Kulak Kemikçikleri	11
1.2.4.4. Östaki Tüpü	12
1.2.4.5. Damar ve Sinirleri	12
1.2.5. İç Kulak	12

1.3. Kronik Süpüratif Otitis Media	13
1.3.1. Epidemiyoloji	13
1.3.2. Mikrobiyoloji	13
1.3.3. Patogenez ve Patoloji	14
1.3.4. Kronik Süpüratif Otitis Media Tipleri	15
1.3.4.1 Kronik Basit Otitis Media	15
1.3.4.2 Kronik Mukozal Otitis Media	15
1.3.4.3. Kolesteatomalı Kronik Otitis Media	15
1.3.5. Klinik Belirtiler	16
1.3.6. Kronik Otitis Media Komplikasyonları	16
1.4. Kolesteatoma	17
1.4.1. Epidemiyoloji	17
1.4.2. Sınıflama	17
1.4.2.1. Edinilmiş Kolesteatoma	18
1.4.2.2. Konjenital Kolesteatoma	19
1.4.3. Etyopatogenez	20
1.4.4. Kolesteatomanın Evrelemesi	22
1.5. Temporal Kemik Radyolojisi	23
1.5.1. Dış Kulak Kanalı	23
1.5.2. Orta Kulak ve Mastoid Havalı Hücreler	23
1.5.3. İç Kulak	25
1.5.4. Petröz Apeks	25
1.5.5. Fasiyal Sinir	25
1.6. Proliferasyon Markırları	26
1.6.1. Ki-67	26
1.6.2. Proliferatif Hücre Nükleer Antijeni (PCNA)	27
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>28</b>
2.1. Çalışma Grupları	28
2.2. İmmünohistokimyasal İnceleme	29
2.3. İmmünreaktivitenin Değerlendirilmesi	29
2.4. İstatistiksel Yöntemler	30
<b>3. BULGULAR</b>	<b>31</b>
3.1. Klinik Bulgular	31
3.2. Histopatolojik Bulgular	34

<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>42</b>
<b>5. KAYNAKLAR</b>	<b>48</b>
<b>6. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>63</b>

## TABLO LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1.</b> Kronik otitis media komplikasyonları	17
<b>Tablo 2.</b> Gruplara göre hastaların şikayetlerinin dağılımı	32
<b>Tablo 3.</b> Hastaların odyometrik ölçüm sonuçları	32
<b>Tablo 4.</b> Hastaların radyolojik ve intraoperatif evreleri ile immünohistokimyasal boyanma oranları	33
<b>Tablo 5.</b> Gruplar arası immünohistokimyasal ortalama boyanma değerleri	35
<b>Tablo 6.</b> Grup 1 ve grup 2’de kolesteatomanın klinik evresi ile immünohistokimyasal boyama analizlerin karşılaştırılması	36

## ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. Aurikulanın embriyolojik gelişimi	2
Şekil 2. Meatal tıkaçın şematik gösterimi	3
Şekil 3. Dış kulak yolunun rekanalizasyonu	4
Şekil 4. Temporal kemiğin cerrahi anatomisi	8
Şekil 5. Dış kulak, orta kulak ve iç kulağın şematik gösterimi	9
Şekil 6. Normal sağ timpanik membranın endoskopik görüntüsü.	10
Şekil 7. İç kulak yapılarının şematik gösterimi	13
Şekil 8. Koronal kesit temporal kemik BT’de orta kulak ve mastoid hücrelerin görünümü	24
Şekil 9. PCNA ve Ki-67’nin mitoz bölünme esnasında dağılımları.	27
Şekil 10. Gruplara göre cinsiyet dağılımı.	31
Şekil 11. Kolestomatlı grupların radyolojik ve intraoperatif yaygınlık evreleri.	34
Şekil 12. Kolestatoma matriksinin hematoksilin eozin boyası ile boyanma görüntüsü	36
Şekil 13. Kolestatoma matriks epitelini ve üzerindeki keratin debrisler	37
Şekil 14. Dış kulak yolu cildinin HE boyanma görüntüsü	37
Şekil 15. Dış kulak yolu cildi HE boyanma görüntüsü	38
Şekil 16. Kolestatoma dokusunun Ki-67 ile boyanma görüntüsü	38
Şekil 17. Kolestatoma dokusunun Ki-67 ile boyanma görüntüsü	39
Şekil 18. Koleteatomalı hastanın dış kulak yolu cildi Ki-67 ile boyanma görüntüsü	39
Şekil 19. Kolestatoma epitelinin (beyaz ok) PCNA ile boyanma görüntüsü.	40
Şekil 20. Kolestomatlı hastanın dış kulak yolu cildinin PCNA ile boyanma görüntüsü	40
Şekil 21. Kontrol grubu kolesteatomasız hastanın dış kulak yolu cildi Ki-67 boyanma görüntüsü	41
Şekil 22. Kontrol grubu kolesteatomasız hastanın dış kulak yolu cildi PCNA boyanma görüntüsü	41

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>AOM</b>	: Akut otitis media
<b>BOS</b>	: Beyin omurilik sıvısı
<b>BT</b>	: Bilgisayarlı tomografi
<b>cm</b>	: Santimetre
<b>DKY</b>	: Dış kulak yolu
<b>EGRF</b>	: Epidermal büyüme faktör reseptörü
<b>IAK</b>	: İnternal akustik kanal
<b>KOM</b>	: Kronik otitis media
<b>LST</b>	: Lateral sinüs trombozu
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>MRG</b>	: Manyetik rezonans görüntüleme
<b>PCNA</b>	: Prolifere hücre nükleer antijeni
<b>SKM</b>	: Sternokleoidomastoid
<b>TK</b>	: Timpanik kavite
<b>TM</b>	: Timpanik membran
<b>TT</b>	: Tegmen timpani

## 1. GİRİŞ

Kolesteatoma yüzyıllardan beri bilinen, keratinizasyon gösteren çok katlı yassı epitelin olmaması gereken orta kulakta veya temporal kemiğin diğer pnömatize yerlerinde birikimi olarak tariflenmektedir (1). Benign olmasına rağmen lokal destrüktif seyretmesi nedeniyle kolesteatoma ile yapılan birçok immünohistokimyasal çalışma bulunmaktadır.

Kolesteatoma hem pediatrik hem de erişkin yaş grubunda görülebilmektedir. Genel kanı pediatrik yaş grubunda görülen kolesteatomaların klinik olarak daha agresif seyrettikleridir. Bunun nedeni olarak gösterilen etkenlerden biri kolesteatoma matriksindeki mitotik aktivitenin yüksek oluşu diğer bu yaş grubunda mezenkimal kökenli destek hücrelerin tam olmayan organizasyonudur (2).

Ki-67 proteini hücresel proliferasyon ile sıkı ilişkisi olan bir markırdır. Bu protein hücre döngüsünün G1, S, G2 ve mitoz gibi tüm aktif fazlarında bulunması, G0 fazında ise olmaması nedeniyle büyüyen ve çoğalan hücrelerde eşsiz bir markır olmaktadır. İmmünohistokimyasal olarak Ki-67'nin tümörlerdeki boyanma indeksi hastalığın klinik gidişini tahmin etmede kullanılmaktadır ve bu hastalıkların başında prostat ve meme kanseri gelmektedir. Özellikle prostat kanserlerinde Ki-67'nin immünohistokimyasal düzeyine göre hastalığın progresyonu ile ilgili yorum yapılabilinmektedir (3).

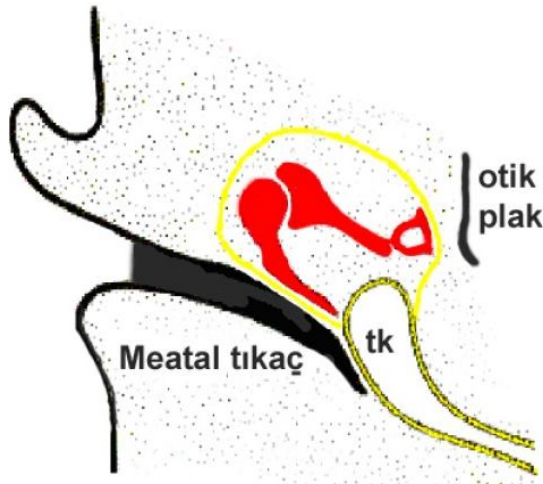
Prolifere hücre nükleer antijeni (PCNA) ise Ki-67'den daha sonra kullanıma giren ve özellikle tümörlerin değerlendirilmesinde Ki-67 ile birlikte kullanılan bir immünohistokimyasal markırdır. Ki-67 G1, S, G2 ve M fazlarında eşit oranda bulunurken PCNA hücresel döngünün daha çok S fazına spesifiktir. PCNA başlarda endometriyum, meme ve mide tümörlerinde mitoz derecesini değerlendirmek için kullanılmıştır. Özellikle kolesteatoma proliferasyonunun değerlendirilmesinde literatürde çoğunlukla Ki-67 ile birlikte kullanılmaktadır (4).

Literatürde Ki-67 ve/veya PCNA ile yapılan birçok kolesteatoma çalışması vardır ancak bu iki markırın düzeyini hem pediatrik, hem erişkin yaş grubunda kolesteatoma evresi ile karşılaştıran çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma hücre kolesteatomalı kronik otitte proliferasyon markırları olan PCNA ve Ki-67'nin,



resesden gelişir. Aynı dönemde birinci brankial yarığın dorsal kısmı içe doğru derinleşerek dış kulak yolunun kıkırdak bölümünü oluşturmaya başlar (6). Endoderm kaynaklı tubotimpanik reses ile ektoderm kaynaklı dış kulak yolu arasında bir mezodermal tabaka yer alır. Daha sonraları timpanik kemiğin gelişmesi ile birlikte oluşan dış kulak yolu kemik bölümünün derinindeki epitel timpanik membranın mezoderm kaynaklı orta fibröz tabakasının dış yüzeyini örter; böylece medial yüzü endoderm kaynaklı mukoza ile lateral yüzü ise ektoderm kaynaklı epitel ile kaplı olan üç tabakalı timpanik membran yapısı ortaya çıkar (7).

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



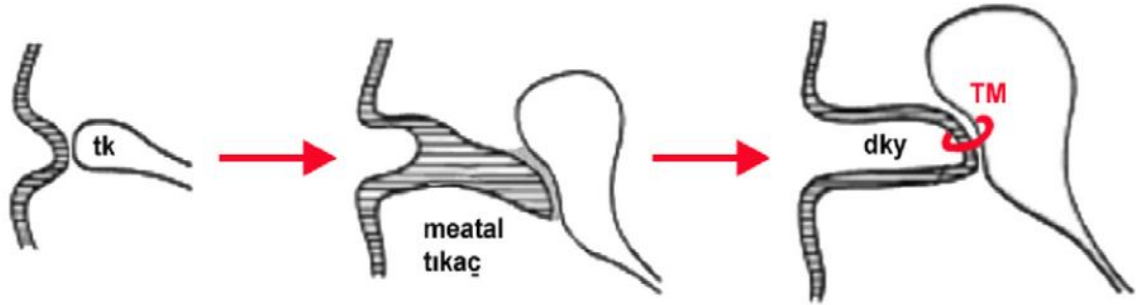
Şekil 2. Meatal tıkaçın şematik gösterimi (tk: primitif timpanik kavite) (5)

Meatal tıkaç beşinci aya kadar lümeni tam olarak kapatır, daha sonra medialden başlayarak yedinci aya dek rekanalize olur (Şekil 3). Meatal tıkaçın çevresindeki mezodermden timpanik membranın orta fibröz tabakası meydana gelir. Manubrium malleinin timpanik membranın fibröz tabakası içine girmesi zarın normal gelişimini sağlamasında önemli bir uyarıdır. Bu nedenle malleus anomalilerinde genellikle timpanik membran da normal değildir (8).

### 1.1.3. Temporal Kemik

Temporal kemik timpanik, skuamöz, petröz ve styloid kemiklerin birleşmesi ile meydana gelir. Timpanik kemik dokuzuncu haftada timpanik membranın fibröz

tabakası çevresinde yer alan dört membranöz kemikleşme merkezinden oluşur. Petröz kemik ile birleşmesi sekizinci ayda başlar ve doğuma dek sürer.



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

**Şekil 3.** Dış kulak yolunun rekanalizasyonu (5)

Onuncu haftada timpanik kemik superiorıda yer alan ve Rivinius çentiği adı verilen bölümü dışında bir halka şeklini almıştır (9). Timpanik kemiğin laterale doğru olan büyümesi doğumdan sonra da devam eder; bu nedenle yenidoğanda horizontale yakın bir yerleşimde olan timpanik membran 4-5 yaşlarında erişkindeki pozisyonunu alır (10).

Skvamöz kemik sekizinci haftada bir membranöz kemikleşme merkezinden gelişmeye başlar; dördüncü ayda timpanik halkanın posterioruna doğru büyüyen skuamöz kemikten mastoidin lateral (skuamöz) kısmı ile antrumun lateral duvarı ve DKY'nin tavanı gelişir. Mastoid kemiğin medial (petröz) kısmı ise petröz kemik içindeki hava hücrelerinin kemik labirentin periosteal tabakasına yayılması ile meydana gelir. Mastoid kemik içinde medialdeki petröz ve lateraldeki skuamöz kemik kaynaklı hava hücrelerinin temas yüzeyi, petroskuamöz lamina adını alan ve temporal kemiğin dış yüzündeki petroskuamöz fissürün devamı olan bir kemik lamel şeklindedir. Petroskuamöz lamina genellikle yaşamın ilk iki yılı içinde ortadan kalkar, ancak bazen sebat edebilir ve bu durumda Körner Septumu adını alır. Bunun önemi, mastoidektomi yapılırken skuamöz hava hücreleri açıldıktan sonra ortaya çıkan Körner Septumu nedeniyle sığ bir antrum ile karşılaşıldığı yanlışlığını ortaya çıkarabilmesindedir. Gerçek antrum ancak petroskuamöz lamina turlanarak açıldıktan sonra ve daha derinde ortaya çıkar (11).

Yenidoğanda mastoid çıkıntısı olmadığı için fasiyal sinir stilomastoid forameninden çıktıktan sonra cilt altında yüzeysel seyrederek; timpanik ve mastoid kemiklerin gelişmesi ile fasiyal sinir giderek mastoid kemiğin medialinde daha

korunaklı bir hale gelir. Gelişim sırasına bakıldığında, önce iç kulak, sonra aurikula ile dış kulak yolu ve en son olarak da orta kulak gelişimi tamamlanır. Bu nedenle orta kulak anomalilerinde normal bir aurikula bulunması mümkün iken mikroti varlığında orta kulağın sağlam olması beklenmemelidir. En sıklıkla dış kulak yolu ve orta kulağın malforme olduğu ve iç kulağın normal yapısını koruduğu anomaliler görülür (12).

Genel bir kural olarak, konjenital kulak anomalilerinde aurikula ve dış kulak yolu deformitesi ne kadar ağır ise orta kulak anomalisi de o derecede ciddidir. Klasik bir klinik kaniya göre de tragusun salim olması orta kulak ve kemikçiklerin fonksiyonel olduğuna işaret eder (5).

#### **1.1.4. Orta Kulak Kemikçikleri**

İlkel omurgalılarda birinci brankial arkın (mandibuler ark) mezenkimi (Meckel kıkırdağı) ile ikinci brankial arkın (hyoid ark) mezenkiminden (Reichert kıkırdağı) mastikatör sisteme ait yapılar meydana gelir. Birinci brankial arkın Meckel kıkırdağı malleusun başı ile inkusun gövdesini oluşturur. Meckel kıkırdağının geri kalanının üst bölümü anterior malleoler ligamana, alt bölümü ise sfenomandibular ligamana (Meckel ligamanı) dönüşür. Birinci brankial ark kaynaklı olan diğer yapılar ise trigeminal sinirin mandibular dalı, çiğneme kasları, tensor timpani kası ve tensor veli palatini kasıdır. İkinci brankial arkın Reichert kıkırdağından manibrium mallei, inkusun uzun kolu ve stapes suprastrüktürü gelişir. Reichert kıkırdağının geri kalan bölümünün üst kısmından stiloid çıkıntı, alt kısmından ise hyoidin küçük boynuzu gelişir. İkinci brankial ark mezoderminden ayrıca fasiyal sinir, mimik kasları, stapedius kası, hyoid kemiğin üst bölümü ve stilohyoid ligaman gelişir (13).

#### **1.1. 5. Östaki Tüpü**

Embriyonik yaşamın üçüncü haftasında birinci faringeal poşun laterale doğru genişlemesi ile endoderm kaynaklı tubotimpanik reses ortaya çıkar. Tubotimpanik reses çevredeki gevşek ve jelatinöz yapıdaki mezenkimin (embriyonik mezenkimal doku) absorpsiyonu ile primitif timpanik kavitenin inferiorundan başlayarak giderek genişler.

Yedinci haftada ikinci brankial arkın kraniale doğru büyümesi ile tubotimpanik resesin orta kısmında bir daralma meydana gelir; bu daralmanın medialinden östaki tüpü, lateralinden ise timpanik kavite gelişir. Östaki tüpü gelişim sırasında daha da uzar ve daralır; mezodermal kıkırdaklaşma ile kıkırdak bölümü ortaya çıkar (14).

## **1.2. Kulak Anatomisi**

Kulak, aurikula ve DKY'yi içeren dış kulak, kulak zarı, kemikçikler, mastoid havalı hücreler, östaki tüpünü içeren orta kulak ve vestibüler sistem ile kokleayı içeren iç kulak olmak üzere üç bölümden oluşur (15).

### **1.2.1. Temporal Kemik Anatomisi**

Temporal kemik kafatasının yan ve alt duvarlarının yapımında görev alır, dolayısı ile kafa tabanının bir parçasıdır. Pariyetal, sfenoid ve oksipital kemikler arasına yerleşmiştir. Temporal kemik skuamöz, mastoid, timpanik ve petröz parça olmak üzere dört kısımdan oluşur (16).

#### **1.2.1.1. Skuamöz Kısım**

Skuamöz kısım temporal kemiğin en büyük kısmını oluşturan parçasıdır ve anteroinferiora zigomatik ark ile devam etmektedir. Skuamöz kısmın alt yüzünde mandibuler fossa vardır ve çene eklemine yapmaktadır. Temporal kemik zigomatik ark aracılığıyla orta yüz kemiklerine bağlanmaktadır. Skuamöz parçanın medial yüzü orta kafa çukuru ile ilişkilidir (15).

#### **1.2.1.2. Mastoid Kısım**

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

Mastoid kısmın medial yüzünde sigmoid sinüsün seyrettiği derin bir oluk bulunur. Mastoid parçada orta kulak havalanması için önemli olan mastoid havalı hücreler de bulunmaktadır (15).

### **1.2.1.3. Timpanik Kısım**

Bu parça DKY'nin ön, alt ve arka kısmını oluşturmaktadır. Ön kısmın ortası çok ince olup bazen foramen Huscke adı verilen delikler bulunabilmektedir. Bu delikler DKY enfeksiyonlarının parotise yayılmasına neden olabilmektedir. Timpanik halkanın üst kısmı açıktır ve bu açıklığa 'Rivinius Çentiği' adı verilir. Timpanik kemiğin medial kısmında sulkus timpanikus bulunur ve buraya kulak zarının pars tensası yerleşir, açık kalan kısma ise pars flaksida yerleşmiştir (16).

### **1.2.1.4. Petröz Kısım**

Petröz kısım, lateralde skuamöz parçanın alt kenarı ile karışır ve petroskuamözal sütürü yapar. Petröz kısım iç kulağa ait işitme denge yapılarını içermesi açısından önemlidir. Yedinci ve sekizinci kraniyal sinirlerin kafatasına girdikleri internal akustik kanal bu kısımdadır. Petröz parçanın alt yüzünde stiloid çıkıntı vardır ve bu çıkıntının hemen arkasında bulunan deliğe foramen stilomastoideum adı verilir. Bu delik fallop kanalının dış deliğidir ve fasiyal sinirin kranyumu terk ettiği yerdir (16).

### **1.2.2. Temporal Kemiğin Cerrahi Anatomisi**

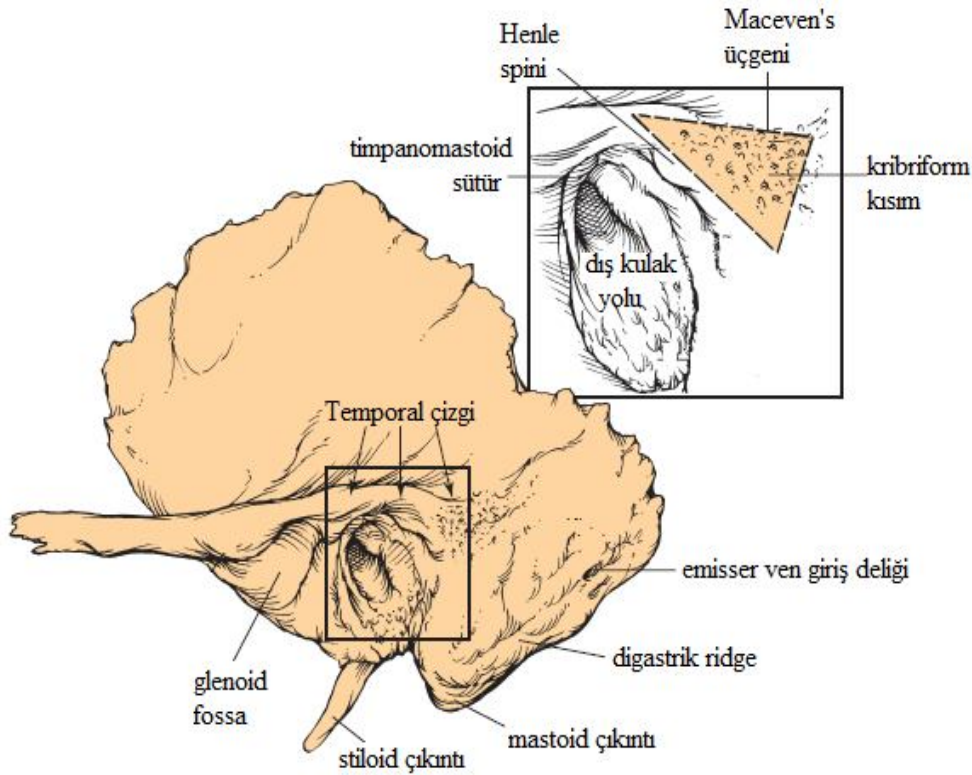
Kulak ameliyatlarında temporal kemiğin cerrahi açıdan bilinmesi gereken temel yapıları bulunmaktadır. Bu yapıların bir kısmı kemiğin dış kısmında bulunur ve cerrahi esnasında nirengi noktalarını oluşturur (17).

Dış kulak yolunun hemen posterosuperior kısmındaki küçük çıkıntıya Henle dikenini (spini) veya suprameatal çıkıntı adı verilir. Bu çıkıntının bir santimetre (cm) arkasındaki kısma kribriiform alan (fossa mastoidea) adı verilir. Temporal kas inferior kenarının yapıştığı, zigomatik arkın hafif yukarı doğru oluşturduğu çıkıntı temporal çizgi olarak adlandırılır. Bu çizgi tegmen timpaninin temporal kemik üzerindeki izdüşümü olarak kabul edilir (17, 18).

Temporal kemik dış yüzeyinde mastoid antrumun lokalizasyonunu kabaca gösteren hayali üçgene MacEwen Üçgeni adı verilir. Bu üçgenin sınırlarını, superiorda temporal çizgiden çizilen hat, anteroinferiorda dış kulak yolu arka duvardan çizilen hat ve posteriorda DKY'ye teğet olmak koşuluyla temporal çizgiye

dik çizilen hat oluşturur. Erişkinlerde mastoid antrum bu üçgenin yaklaşık bir cm derindedir (Şekil 4) (17, 19).

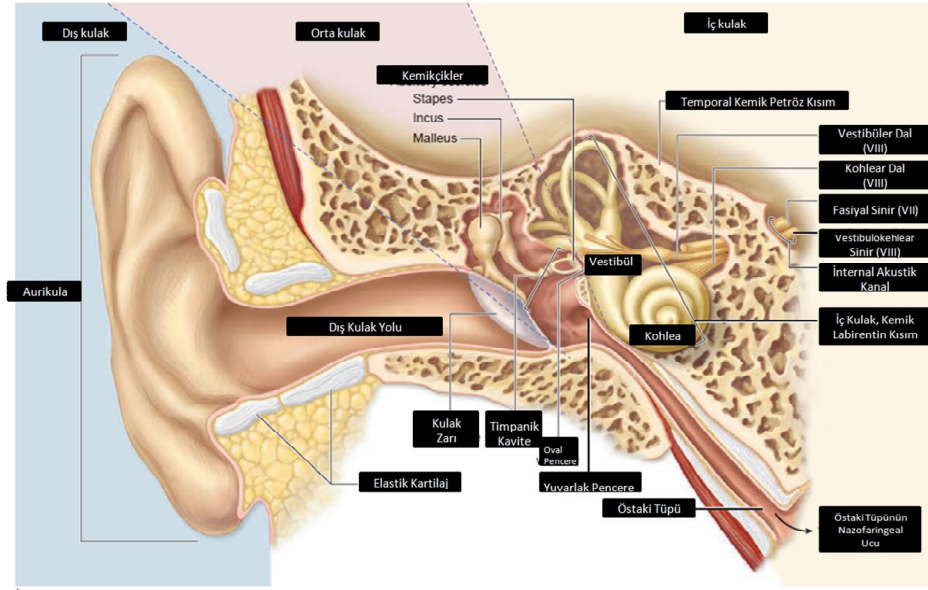
Epitimpaniumun lateral duvarını oluşturan ince kemik plak, skutum adını alır ve skuamöz kemiğin parçasıdır. Attik kolesteatomalarında ilk destrükte olan bölgedir ve radyolojik olarak destrüksiyonu kolesteatoma varlığını düşündürmesi açısından önemlidir (20).



Şekil 4. Temporal kemiğin cerrahi anatomisi (17)

### 1.2.3. Dış Kulak

Dış kulak kulak kepçesi, DKY ile timpanik membranın lateral yüzünden oluşmaktadır. Kulak kepçesi sesin DKY'ye yönlendirilmesini sağlayan organdır. Kulak kepçesi kafaya, kıkırdak iskeletinin dışında bağlar, kaslar ve deriyle bağlıdır. Kulak kepçesinin lateral yüzündeki konkavitenin en derin bölümü konka aurikula adını alır ve derine doğru DKY olarak devam eder (Şekil 5).



**Şekil 5.** Dış kulak, orta kulak ve iç kulağın şematik gösterimi (21)

Dış kulak yolu girişinde anteriorda bulunan çıkıntıya tragus, hemen alt arka tarafında yer alan daha küçük ikinci çıkıntıya antitragus adı verilir. Kulak kepçesinin diğer kısımları heliks, antiheliks, skafa ve trianguler fossadır (21).

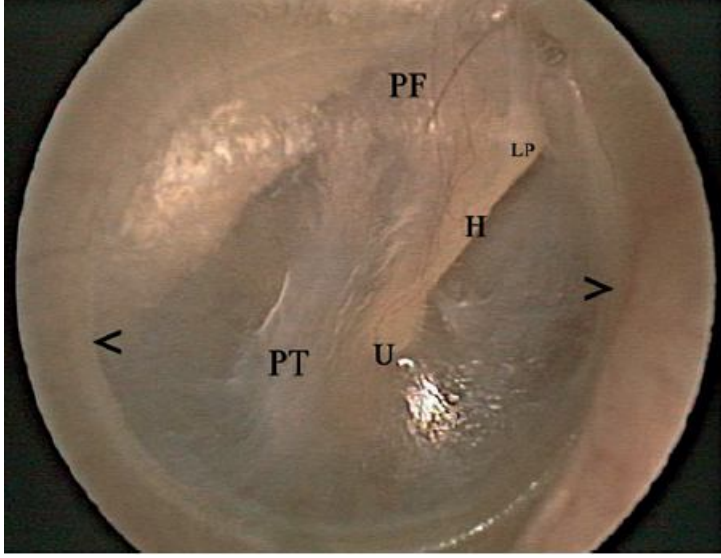
Dış kulak yolu kavum konkadan kulak zarına kadar uzanan kanaldır. Erişkinde arka üst duvarı yaklaşık 25 mm, ön alt duvarı yaklaşık 30 mm uzunluğundadır. Kanaldaki bu uzunluk farkı timpanik membranın oblik yerleşimine neden olmaktadır. DKY'nin 1/3 dış kısmı kıkırdak, 2/3 iç kısmı kemik yapıdadır. Çocuklarda ise kemik gelişimi tamamlanmadığından kıkırdak kısmı daha uzundur. DKY'yi örten deri dokusu kulak zarının dış yüzünü de örter. DKY önde mandibular fossa ve parotis ile arkada ise mastoid hücreler ile komşudur. DKY'de bulunan timpanomastoid ve timpanoskuamöz suturalar arasında kalan bölümde zengin bir vasküler ağ bulunmaktadır (15, 16).

#### 1.2.4. Orta Kulak

Orta kulak, östaki tüpü (tuba auditiva) aracılığıyla nazofareksle, aditus ad antrum yoluyla da mastoid havalı hücrelerle ilişkilidir. Orta kulak timpanik membran ile dış kulak yolundan ayrılır. Görevi DKY'den gelen ses dalgalarını amplifiye ederek iç kulağa iletmektir. Orta kulak hacmi yaklaşık 2 cc'dir. Orta kulak boşluğu doğumda tam gelişmiştir ve yaklaşık erişkin boyutundadır (15, 16).

#### 1.2.4.1. Kulak Zarı

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



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

**Şekil 6.** Normal sağ timpanik membranın endoskopik görüntüsü (21)

Timpanik membranın alt bölümü gergindir ve pars tensa adını alır. Küçük olan üst kısmı ise fibröz tabaka içermediğinden gevşektir ve pars flaksida (Schrapnell zarı) olarak adlandırılır. Kulak zarının tamamının yüzeyi 70-80 mm<sup>2</sup>, titreşen bölümü 55 mm<sup>2</sup> 'dir. Kulak zarındaki lezyonları tariflerken standardizasyon sağlamak için manibriumdan geçen dikey çizgi ve umbodan çizilen yatay çizgi kulak zarını arka üst, arka alt, ön üst ve ön alt olmak üzere dört kısma (kadrana) ayırır (22, 23).

#### 1.2.4.2. Orta Kulağın Komşulukları

Orta kulak medial duvarı, orta kulağı iç kulaktan ayırır. Orta kulak medial duvarda kokleanın bazal kıvrımının yapmış olduğu kabartıya promontorium adı verilir. Promontoriumun arka alt ve arka üst bölümünde iç kulak ile bağlantıyı sağlayan oval ve yuvarlak pencere nişleri bulunur. Oval pencereye stapes tabanı yerleşir, yuvarlak pencere ise ince bir zarla kaplıdır. Orta kulak üst sınırını tegmen

timpani oluşturur. Tegmen timpani orta kafa çukuru ile orta kulağı ayıran ince bir kemik yapıdır (15, 16).

Orta kulak alt sınırı juguler duvar olarak bilinir. Kulak zarından yaklaşık 2-3 mm daha alt kısımdadır ve internal juguler ven ile komşudur. Ön duvar karotid duvar olarak da bilinir. Orta kulak ön kısımda östaki tüpü, tensor timpani ve a.karotis interna ile komşudur (24).

Orta kulak arka duvarda bulunan açıklık aditus ad antrum adını alır. Mastoid havalı hücreler ile orta kulak arasındaki bağlantıyı sağlar. Arka duvarda ayrıca, aditusun hemen altında stapes tendonunun içinden geçtiği piramidal çıkıntı bulunur. Stapes tendonu buradan kaynaklanarak, stapes kemikçığının arka bacağına üst kısmında sonlanmaktadır. Piramidal çıkıntının hemen altında korda timpaninin orta kulağa girdiği küçük delik bulunur (25).

Orta kulak, timpanik membranın orta kulaktaki izdüşümüne göre üç kısma ayrılır. Kulak zarının üst sınırından çizilen çizginin üstünde kalan kısım epitimpanium, zarın alt sınırından çizilen çizginin altındaki kısım hipotimpanium, zarın medial kısmı ise mezotimpanium olarak adlandırılmaktadır (26).

Epitimpaniumun sınırlarını üstte tegmen timpani, medialde lateral semisirküler kanal ile fasiyal sinir, posteriorda fossa inkudis, lateralde skutum oluşturmaktadır. Aditus ad antrum epitimpaniumdan antruma açılmaktadır (25, 26).

#### 1.2.4.3. Orta Kulak Kemikçikleri

Orta kulakta malleus, inkus ve stapes adı verilen üç adet hareketli kemikçik bulunur. Bu kemikler birbirleriyle sinoviyal eklem yaparlar ve eklem yüzeyleri artiküler kartilaj ile kaplıdır (15, 16).

**Malleus:** Orta kulak kemikçikleri içerisinde en lateralde ve en büyük olanıdır. 8-9 mm uzunluğundadır. Manibrium mallei, baş (caput mallei) ve boyun (kollum mallei) kısımları vardır. Tensor timpani boyun kısmında sonlanmaktadır. Bu kasın kasılması ile kulak zarı medialize olarak gerilmektedir (21).

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

Stapesle eklem yapan uzun kolun ucundaki hafif genişleyen kısım lentiküler çıkıntı adını alır (15, 16, 21).

**Stapes:** Vücuttaki en küçük kemikçiktir. 3-3.5 mm uzunluğundadır. Baş, ön bacak, arka bacak ve taban (footplate) kısımları vardır. Taban kısmı orta kulak medial duvardaki oval pencereye oturmaktadır (Şekil 14) (16).

#### **1.2.4.4. Östaki Tüpü**

Östaki tüpü çocuklarda 17 mm, erişkinde ortalama 35 mm uzunluktadır. Timpanik ağız orta kulak ön duvarına, faringeal ağız alt konkanın hemen arkasındaki Rosenmüller çukuruna açılır. Tensör veli palatini kasının kasılmasıyla, esneme, hapşırma ve yutkunma sırasında açılır (15, 16, 21).

#### **1.2.4.5. Damar ve Sinirleri**

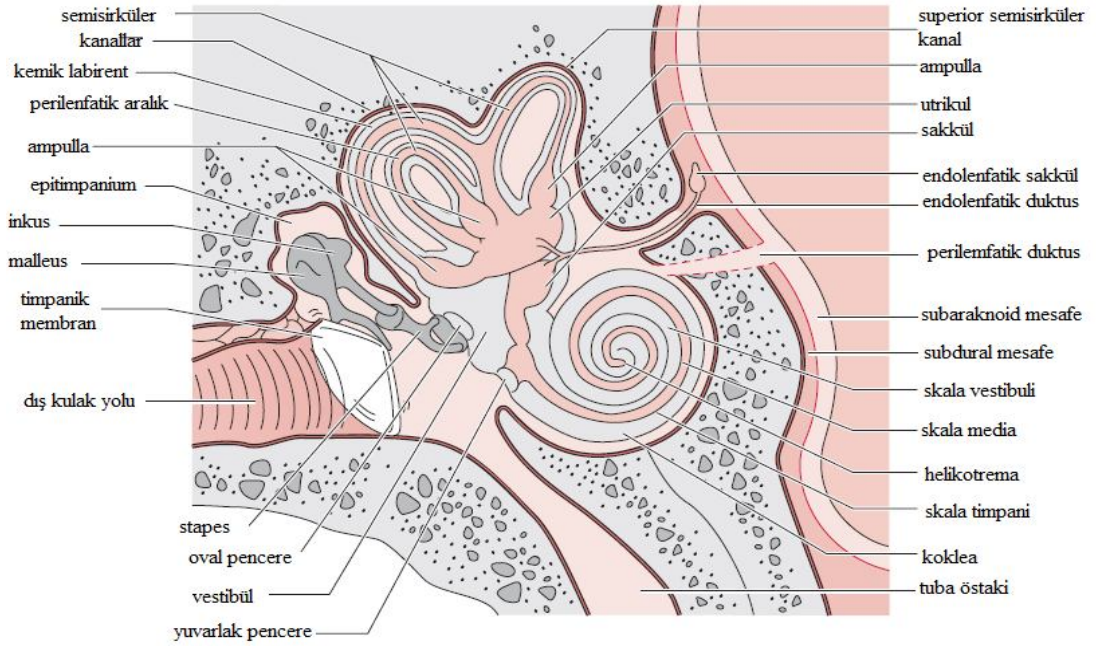
Anterior timpanik arter, maksiller arterin dalıdır. Petrotimpanik yarıktan orta kulağa girerek orta kulak ön bölümünü ve kulak zarının medial yüzünü kanlandırır. Posterior timpanik arter, posterior aurikuler arterin stilomastoid dalından kanlanır. Orta kulak mukozasını, kulak zarı arka yarısını, promontoryumu ve mastoid havalı hücreleri besler (15, 16, 21).

Inferior timpanik arter, asendan faringeal arterin dalıdır ve hipotimpanium ile promontoryumu besler. Superior timpanik arter, orta maningeal arterin dalıdır, tegmen timpaniden orta kulağa girer. Orta kulak venleri pterigoid pleksus veya superior petrosal sinüse dökülürler. Lenfatikleri retrofaringeal ve parotid lenf nodlarına drene olur (21).

#### **1.2.5. İç Kulak**

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

Yuvarlak ve oval pencereler labirentin orta kulağa açıldıkları kemik ve membranöz kapılardır ve sırasıyla stapes tabanı ve yuvarlak pencere membranı ile örtülüdürler (Şekil 15) (7).



Şekil 7. İç kulak yapılarının şematik gösterimi (17)

### 1.3. Kronik Süpüratif Otitis Media

Kronik otitis media (KOM), kulak zarı perforasyonu, kulak akıntısı ve işitme kaybı ile karakterize, üç aydan uzun süren ve medikal tedavi ile tamamen düzelmeyen orta kulaktaki enflamatuvar süreçtir. KOM genellikle tekrarlayan akut otit atakları ve/veya kronik efüzyonlu otitis media sonucunda oluşur. Ayrıca bir akut otitis media (AOM) atağının ardından üç aydan uzun süre medikal tedaviye yanıt vermeyen süpüratif akıntılı otitis medialisler de KOM olarak kabul edilirler (28-32).

#### 1.3.1. Epidemiyoloji

Kronik otitis media insidansı ırk ve sosyoekonomik faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Kötü yaşam koşulları, kalabalık aile ortamları, bozuk hijyen ve beslenme durumlarında daha sık görülmektedir. İnsidans çalışmalarında pediatrik yaş grubunda 3/100.000, erişkin yaş grubunda 9/100.000 oranında görüldüğü raporlanmış ve erişkinlerde erkek popülasyonda daha sık olduğu belirtilmiştir (30).

#### 1.3.2. Mikrobiyoloji

Kronik otitis mediada bakteri inokülasyonu nazofarenksten östaki tüpü yoluyla veya DKY'den perfore timpanik membran vasıtasıyla olmaktadır. KOM

mikrobiyolojisinde en sık izole edilen bakteriyel ajanlar *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. mirabilis*, *Klepsiella* gibi aerobik organizmalar ve *Peptostreptococcus*, *Propriobacterium* gibi anaerobik organizmalardır. Tüm bu bakteriyel ajanlar içerisinde en sık izole edilen %33.3 ile %65 arasında değişen sıklıkla *P. aeruginosa*'dır. *Psödomonas*'lar normalde orta kulak florasında bulunmamaktadır (33, 34).

### 1.3.3. Patogenez ve Patoloji

Otitis mediayı kronikleştiren önemli dört predispozan faktör vardır:

1. Östaki tüpünün orta kulağı ventile etme fonksiyonunun çeşitli nedenlerle bozulması,
2. Orta kulak ve mastoid hücrelerde havalanma yetersizliğine neden olacak ödem, granülasyon dokusu gibi patolojilerin varlığı,
3. Tekrarlayan akut otitis media ve effüzyonlu otitis media ataklarının varlığı,
4. Orta kulaktaki anatomik ligament ve foldların havalanma yetersizliği sonrası etkilenmeleri ve adezyon, perforasyon, kolesteatomaya neden olmaları.

Bu sayılanlar dışında KOM'a neden olan ve bilinmeyen birçok faktör olduğu tahmin edilmektedir. Timpanik membran perforasyonu sonrası iyileşme skuamöz epitelin orta kulağa doğru büyümesi ile sonuçlanabilir. Bu durumda büyüme sadece perforasyonun içine olabilir veya tüm orta kulağı doldurabilir.

Histopatolojik olarak KOM'larda kalıcı doku patolojisi vardır. İlk olarak mukozada yer yer ülserasyonlar ortaya çıkar, bunu granülasyon dokusu izler. Mukoza inflamatuvar hücre infiltrasyonu sonucu ödemlenir. Bazal membrandaki ödeme bağlı olarak polipler gelişebilir. Granülasyon dokusu, iltihabi mediyatörler ve tahrip edici enzimler yapmaya başlar ve mekanik olarak mastoid ile orta kulak arasında geçişi engeller. KOM'da olay mukoperiosteuma sınırlıdır, bunun dışına taşması osteit ve kemik erimesi komplikasyon olarak kabul edilir (19, 30).

Kronik süpüratif otitis mediada diğer bir sorun da orta kulak mukozasında skarlaşma ve küçük kan damarlarındaki trombozis nedeniyle damarsız alanlar oluşmasıdır. Bunun sonucu başta inkusun uzun kolu olmak üzere kemikçik nekrozu

meydana gelir. Malleus ve stapes tabanı az sıklıkla nekroze olmaktadır. Bazen subepitelyal osteolitik enzimler nedeniyle inkus ile stapes arasındaki bağlantı kaybolup iletim tipi işitme kaybı ortaya çıkabilmektedir. Kronik enfeksiyon ve enflamasyon sürdükçe mastoid skleroze olur ve antrum küçülür. Mastoid havalanma, antrumun hemen yakınındaki birkaç hava hücresi ile sınırlı kalır (30).

#### **1.3.4. Kronik Süpüratif Otitis Media Tipleri**

Kronik süpüratif otitis mediada klinik tipler hastalığın tubotimpanik ve attikoantral özelliklerine göre değerlendirilir.

##### **1.3.4.1 Kronik Basit Otitis Media**

Bu tip temelde tubotimpanik özellikler taşır. Pars tensa da farklı boyutlarda perforasyonlar görülebilir. Hastalığın kuru ve akıntısız dönemleri olabilir. Akıntılı dönemlerinde pulsatil, kokusuz, mukoid veya mukopürülan akıntı görülür. İşitme kaybının derecesi perforasyonun yerine ve boyutuna, kemikçik tahribatına ve iç kulağın etkilenmesine göre değişir. Çoğunlukla hafif derecede işitme kaybı vardır (19, 30).

##### **1.3.4.2 Kronik Mukozal Otitis Media**

Bu klinik form da tubotimpanik gruba girse de basit tipe göre daha agresif özellikler taşımaktadır. Perforasyon çoğunlukla geniş ve totale yakındır. Manibrium kısalmış, orta kulak mukozası hiperemik, ödemli ve hipertroftiktir. Mukozal kökenli granülasyon dokusu, polipler ve kemikçik nekrozları görülebilir. Uzun süren kokusuz mukoid ve mukopürülan akıntılarla karakterizedir. İşitme kaybı çoğunlukla hafif veya orta derecededir (19, 30).

##### **1.3.4.3. Kolesteatomalı Kronik Otitis Media**

Bu klinik form attikoantral yayılım özellikleri taşır ve kolesteatom varlığı ile karakterizedir. Hastalık diğer formlara göre kolesteatom varlığı nedeniyle daha destrüktif seyretmektedir. Kolestatom oluşumu ve patogenezinin ilerleyen kısımda ayrıntılı bahsedilecektir.

### 1.3.5. Klinik Belirtiler

**Kulak akıntısı:** Hastayı doktora getiren önemli bir yakınmadır. Tubotimpanik tip otitlerde orta kulak mukozası hiperemik, ödemli ve hiperplazik olup sekretuar özellikleri de artmıştır. Alerjik ve tubal kaynaklı akıntılar visköz özellik gösterir. Sekonder enfekte olgularda akıntı pürülan görünüm alır. Uzun süren, tedaviye rağmen kesilmeyen kötü kokulu akıntılar mastoiddeki osteiti işaret eder.

**İşitme kaybı:** KOM'da iletim tipi işitme kaybı bulunur. Perforasyonların lokalizasyonları, akıntının miktarı ve özelliği, granülasyon ve polipler, kemikçik patolojileri, kolesteatoma varlığı ve timpanoskleroz işitme kaybı miktarını belirler. Ancak orta kulaktaki bazı patolojiler (polip, burjon, kolesteatom gibi) iletime yalancı katkıda bulunabilirler. Attik perforasyonları kemikçik destrüksiyonu yapmadıkça işitmeyi pek bozmaz. Orta genişlikteki perforasyonlar yaklaşık 30 dB, totale yakın ve pencereleri gören perforasyonlarda 50 dB'e varan kayıplar beklenir. KOM'da sensörinöral tip kayıp da görülebilir. Mekanizma tam aydınlatılamamış olsa da enfeksiyon sırasında pencere membranlarının geçirgenliği artmaktadır.

**Ağrı:** Kronik otitlerde ağrı oluşmaz, ağrının oluşması komplikasyonların habercisidir. Diyabetik, yaşlı ve immüsupresif kişilerde malign eksternal otit açısından dikkatli olunmalıdır.

**Baş dönmesi:** Enfeksiyonlar sırasında yuvarlak pencere membranının geçirgenliği artar ve bakteriyel toksinler labirente sızarak baş dönmesine yol açabilir (32).

### 1.3.6. Kronik Otitis Media Komplikasyonları

Orta kulak enfeksiyonunun orta kulağı döşeyen mukozanın dışına yayılması ile komplikasyonların gelişimi başlamaktadır. Antibiyotiklerin kullanıma girmesi öncesi dönemde kronik otitis mediaya bağlı komplikasyonlarda mortalite %75'leri bulurken günümüzde bu oran modernize operasyon tekniklerinin de kullanımı ile dramatik olarak düşmüştür (35, 36).

Akut otitis medialis hastalarda görülen komplikasyonlar, genellikle hematojen veya doğumda var olan doğal yollar üzerinden yayılımla meydana gelirken, KOM'lu hastalarda görülen komplikasyonlar genellikle granülasyon dokusu veya

kolesteatoma nedeniyle meydana gelen kemik erozyonları üzerinden yayılım ile oluşmaktadır (19, 30, 35, 36). Kronik otitis media komplikasyonları ekstrakraniyal ve intrakraniyal olarak sınıflanmıştır (Tablo 1).

**Tablo 1.** Kronik otitis media komplikasyonları

<b>Ekstrakraniyal (intratemporal) komplikasyonlar</b>	<b>İntrakraniyal (ekstratemporal) komplikasyonlar</b>
Akut mastoidit	Menenjit
Koalesan mastoidit	Beyin apsesi
Subperiostal apse	Epidural apse
Petrozit	Subdural apse
Labirentit	Lateral sinüs trombozu
Fasiyal sinir paralizisi	Otitik hidrocefali

#### **1.4. Kolesteatoma**

Kolesteatoma, keratinizasyon gösteren çok katlı yassı epitelin olmaması gereken orta kulakta veya temporal kemiğin diğer pnömatisize bölgelerinde olması olarak tanımlanır. Histolojik olarak benign fakat klinik olarak destrüktif bir lezyondur. Çok katlı yassı epitelin orta kulağa nasıl geldiği ve hiperkeratinize olmaya nasıl başladığı yapılan çok sayıdaki çalışmalara rağmen halen tartışmalı bir konudur (30, 37, 38).

##### **1.4.1. Epidemiyoloji**

Kolesteatoma ile ilgili ülkemizde yapılan epidemiyolojik çalışmalar yetersizdir. Finlandiya'da kolesteatoma insidansı 100.000 de 9.2 olup erkeklerde daha sık görülmektedir. İsrail'de yapılan bir çalışmada KOM prevalansı %0,95 ve kolesteatoma prevalansı %0,4 olduğu bildirilmiştir (30, 37, 39).

##### **1.4.2. Sınıflama**

Kolesteatomanın sınıflandırılması hakkında fikir birliği yoktur. Bu konu daha çok teorilerle izah edilmeye çalışılmaktadır. Günümüzde en fazla kabul edilen sınıflandırmaya göre kolesteatomalar konjenital ve akkiz olmak üzere iki gruba

ayrılmıştır. Akkiz kolesteatomalar da primer akkiz ve sekonder akkiz olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır (40).

Tos (41), yapılacak cerrahi müdahale ve hastalığın prognozunda asıl önemli olanın kolesteatomun kaynaklandığı yer olduğunu belirtmiş ve ona göre sınıflandırmayı yapmıştır:

**1) Attik kolesteatoması:** Pars flaksida yada Shrapnell membranında retraksiyon ile karakterizedir ve attik yada aditusa uzanır. Kolesteatoma antrum, mastoid yada timpanik kaviteye yayılır.

**2) Sinüs kolesteatoması:** Pars tensada arka-üst kadranda retraksiyon yada perforasyon vardır. Kolesteatoma timpanik sinüse ve posterior timpanuma yayılır.

**3) Tensa kolesteatoması:** Pars tensadaki retraksiyon ve adezyon tuba östakinin timpanik ağzına kadar uzanmakta ve buradan attığe kadar yayılabilmektedir.

**4) Dış kulak yolu kolesteatoması:** Genellikle DKY inferiorundan kaynaklanır ve temporal kemiği rezorbe eder.

**5) Posttravmatik kolesteatoma:** Travma sonrasında keratinize epitelin orta kulağa girmesi ile meydana gelir.

**6) Konjenital kolesteatoma:** Sağlam kulak zarı arkasında mezotimpanumda yada temporal kemikte herhangi bir yerde meydana gelen kolesteatomdur.

**7) Rezidüel kolesteatoma:** Genellikle sağlam kulak zarı arkasında timpanik kavitede posteriorda yada attik bölgesinde beyaz bir kitle olarak görülür.

**8) Rekürren kolesteatoma:** DKY arka duvarı korunan operasyonlar sonrasında retraksiyon cebinden meydana gelen kolesteatomlardır.

**9) İyatrojenik kolesteatoma:** Daha öncesinde kolesteatom olmayan vakalarda timpanoplasti gibi operasyonlardan sonra meydana gelen kolesteatomlardır.

#### **1.4.2.1. Edinilmiş Kolesteatoma**

Edinilmiş kolesteatoma için temel olarak dört farklı mekanizma tanımlanmıştır:

**1) Skuamöz metaplazi teorisi:** Orta kulaktaki alçak küboidal epitelin ve basit yassı epitelin, rekürren ve kronik kulak enfeksiyonları nedeni ile keratinize yassı epitele dönüşmesi ile kolesteatoma meydana geldiği görüşüne dayanır. Yapılan

tüm çalışmalara rağmen kolesteatoma nedeni olarak kesin bir kanıtla metaplazi teorisi gösterilememiştir (19, 30, 38).

**2) Epitelyal invazyon teorisi:** Kolesteatoma gelişiminde timpanik membrandaki perforasyon kenarlarından skuamöz epitelin orta kulağa migrasyonu ile meydana gelen epitelyal invazyon teorisini ortaya atılmıştır (42). Kobaylarda yapılan bir çalışmada enfekte perforasyon kenarlarından giren epitelin kolesteatoma ile sonuçlandığını göstermiştir (43). Normalde dış kulak yolu epitel migrasyonu dışa doğru olmaktadır. Bu epitel dokusunun ters yönde hareket ederek perforasyon kenarlarından orta kulağa nasıl girdiği tam olarak anlaşılamamıştır. Burada enfeksiyon ortamının kolesteatoma matriksi için uygun koşullar hazırladığı sanılmaktadır (32).

**3) Bazal hücre hiperplazisi teorisi:** Bazal hücre tabakasından meydana gelen psödopodlar ile bazal laminada meydana gelen kırılmalardan epidermal keratinositler lamina propriaya invaze olmaktadır. Bu hücreler daha sonra keratinize olmakta ve inklüzyon kistleri meydana gelmekte ve neticede kolesteatoma ile sonuçlanmaktadır (44). Akyıldız ve ark. (45) retraksiyon ceplerinde önce fibröz tabakanın kaybolduğunu, epitelin mukoza içine papiller uzantılar göndererek kolesteatoma oluşturduğunu elektron mikroskopik çalışmalar ile göstermişlerdir.

**4) Retraksiyon cebi teorisi:** Orta kulaktaki negatif basınca bağlı olarak pars flaksida yada nadiren de olsa pars tensa orta kulağa doğru retrakte olur. Bu retraksiyon ceplerinde toplanan keratin debrisler kolesteatoma oluşumuyla sonuçlanır. Bu teori yapılan hayvan deneylerinde dış kulak yolu ligasyonu ve östaki tüpü kapatılması ile elde edilen retraksiyon cepleri ile desteklenmiştir (46).

#### **1.4.2.2. Konjenital Kolesteatoma**

Orta kulağın embriyolojik gelişimi sırasında orta kulak, petröz kemik ve mastoid kemikte kalan yassı epitelden gelişen kolesteatomalar konjenital kolesteatoma olarak adlandırılırlar. Tüm kolesteatomaların yaklaşık %2-5'ini meydana getirmektedirler (46). Konjenital kolesteatoma sağlam kulak zarı arkasındaki beyaz renkli kitle olarak tanımlanmıştır ve hastalarda kulak zarında perforasyon, daha öncesinde kulak akıntısı yada geçirilmiş kulak cerrahisi öyküsü olmaması gerekmektedir (30, 38, 47, 48).

Konjenital kolesteatomanın oluşumu ile ilgili teoriler şunlardır:

**1) İmplantasyon teorisi:** Konjenital kolesteatoma için birinci ve ikinci brankial arkların füzyon hatlarında ektodermal implantasyona bağlı meydana geldiği söylenmiştir (49). Amniyon sıvısından köken alan skuamöz epitelyal hücreler yenidoğan orta kulağında görülebilirler (50).

**2) İnvajinasyon teorisi:** Yapılan çalışmalarda fetus timpanik membranında meydana gelen enflamatuar travmanın timpanik membranda mikroskopik perforasyonlara neden olduğu ve proliferatif bazal epidermal tabakanın orta kulağa invajinasyonu ile konjenital kolesteatomun meydana geldiğini öne sürmüştür (49).

**3) Epidermal migrasyon teorisi:** Konjenital kolesteatomanın oluşmasında timpanik halkanın önemli bir rolü vardır. Timpanik isthmus birinci ve ikinci brankiyal arkların birleşme hattı üzerinde yer alır ve bu hat pars flaksida ve pars tensanın birleştiği yere uymaktadır. Timpanik halka DKY yassı epitelinin orta kulak ile ilişkisini sınırlamaktadır. Bu halkanın oluşumu gecikirse DKY epiteli orta kulak mezenşimine doğru papiller uzantılar gönderir ve timpanik halka kapansa bile bu papiller uzantılardan zamanla kulak zarı arkasında kolesteatoma gelişebilir (51).

**4) Metaplazi teorisi:** Bu teoriye göre otitis mediaya cevap olarak orta kulakta meydana gelen keratinizasyon gösteren skuamöz metaplazi konjenital kolesteatomaya neden olmaktadır (48, 51).

**5) Edinilmiş inklüzyon teorisi:** Bu teoriye göre tekrarlayan retraksiyonlar ile kulak zarı malleus yada inkusa fikse olmakta sonra tekrar düzelmektedir. Ardından orta kulakta keratinize skuamöz epitel inklüzyonları meydana gelmekte ve sonucunda da kolesteatoma oluşmaktadır (41).

### **1.4.3. Etyopatogenez**

Kolesteatoma örneklerinde daima bir enflamasyon gözlenmektedir. Bu enflamasyon farklı uyaranlarla tetiklenen immün cevaplar ile meydana gelmektedir. Hasarlı dokuda yapısal ve fonksiyonel hasarın tamirinde enflamatuar bir cevap gereklidir. Erken ya da akut enflamasyon fazında fibroblast ve endotelyal hücre proliferasyonu ile karakterize bir proliferatif faz vardır. Sonuçta matriks sentezi ve skar formasyonu meydana gelir. Kolesteatoma gibi persistan enflamatuar stimülasyonun olduğu durumlarda cevap kronikleşebilir ve doku davranışında patolojik değişikliklere neden olabilir. Kolesteatoma patogenezi bakteriyel

enfeksiyon ve enflamasyon geçiren migratuar epitelin reaksiyonu olarak düşünülebilir. Çünkü kolesteatoma orta kulak kavitesindeki enflamatuar reaksiyonlarla ilişkilidir ve sıklıkla enflamatuar granülasyon dokusu aktif kolesteatomda tutulan epitel boyunca görülebilmektedir (38).

Kolesteatoma yağ dokusu içermez ancak matriks yüksek oranda kolesterol ve kolesterol esteri içerir. Kolesterol histolojik olarak gösterilebilir. İntraselüler lipidler, stratum granulozumdaki keratinositler arasında bulunmaktadır Odland Cisimleri tarafından sentez ve depo edilirler. Kolesteatomada ekstraselüler lipidler Odland Cisimleri tarafından yağ asidi, seramid ve kolesterole metabolize edilir. Kolesteatomada lipid sentezi ve yıkımı arasındaki denge bozulmuştur. Kolesteatomada lipopolisakkaritlerin yüksek oranda bulunduğu ve kemik erozyonunda rol oynadığını bildirilmiştir (52).

Kolesteatoma keratinize çok katlı yassı epitelin orta kulak, mastoid veya petröz apekte bulunması ile karakterizedir. Günümüzdeki tedavisi cerrahidir ve kimi zaman rekürrensleri görülmektedir. Yapılan moleküler çalışmalar kolesteatomanın nasıl geliştiği konusunda tek bir cevabın olmadığını göstermiştir (53). Günümüzde kolesteatoma ile ilgili yapılan moleküler çalışmalar ile sarkolektin, Ki-67, p53, ısı şok proteinleri, fas/APO1 proteini, proliferasyon hücre nükleer antijeni (PCNA), transformasyon büyüme faktörü ve siklin ailesi gibi birçok markır araştırılmıştır. Tüm bu çalışmalardan çıkan ortak sonuç kolesteatomadaki proliferasyon özelliğinin kontrolünü yitirdiğidir (54-59).

Tokuriki ve ark. (60) kolesteatoma üzerinde yaptıkları genetik çalışmada hücre döngüsünü tetikleyen yirmi kadar gen tespit etmişlerdir. Bu genlerin de özellikle hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu ve invazyonundan sorumlu oldukları raporlanmıştır. Adunka ve ark. (61) kolesteatomada immünohistokimyasal olarak hipoksi indükleyici faktör 1 $\alpha$  ve Von Hippel Lindau proteinini değerlendirmişlerdir. Bu markırları dış kulak yolu ile karşılaştırarak kolesteatomada istatistiksel olarak düzeylerinin arttığını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak bu düzey artışının kolesteatomadaki hipoksik ortam nedeniyle olduğunu raporlamışlardır.

Sistin proteaz ailesinden olan kaspazlar hücre içerisinde fizyolojik hücre ölümünden, inflamasyon ve diferansiyasyondan sorumludur (62). James ve ark. (63) yaptıkları çalışmada kolesteatomada kaspaz-14 düzeyinin artmış olduğunu, bunun

terminal diferansiyasyonu etkileyebileceği ve kolesteatoma matriksindeki keratin debris birikiminden sorumlu olabileceğini raporlamışlardır.

Kolesteatoma proliferasyonunun değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan markırlar Ki-67 ve PCNA'dır. Mallet ve ark. (64) yaptıkları çalışmada Ki-67'nin monoklonal antikoru olan MIB1 düzeyi ile kolesteatoma agresifliği hakkında fikir edinilebileceğini raporlamışlardır.

#### **1.4.4. Kolesteatomanın Evrelemesi**

Kolesteatoma geleneksel olarak kazanılmış ve konjenital olarak iki grupta sınıflandırılmaktadır. Ancak bu sınıflama klinik olarak kullanışlı değildir ve alternatif sınıflamaların doğmasına neden olmuştur. Austin (65) kronik otitis mediayı evreleyerek kolesteatoma yaygınlığını dört gruba ayırmıştır.

En ayrıntılı evreleme Meyerhoff ve Truelson (66) tarafından 1986 yılında yapılmıştır. Bu evreleme kolesteatoma patofizyolojisini, yerleşimini, östaki tüp fonksiyonunu, kemikçik defektini, komplikasyon varlığı veya yokluğunu içermektedir. Bu sınıflama klinik kullanımdaki zorluğu nedeniyle genellikle kabul görmemiştir.

Tos (41) 1988 'de klinik otoskopik muayene ile sınıflamayı tariflemiştir. Buna göre kolesteatomanın yerleşimi attik, pars tensa I (marjinal yerleşimli), pars tensa II (santral yerleşimli) olarak ayrılmıştır ve sağlam timpanik zar gerisindeki kolesteatoma dördüncü bir kategori olarak tariflenmiştir. Ancak bu sınıflamada otoskopik muayenede görülemeyen temporal kemiğin diğer kısımları sınıflanamamaktaydı. Bunun üzerine bu sınıflamaya supralabirentin, infralabirentin, masif labirentin, apikal infralabirentin alt kısımlarını eklemiştir (67).

Saleh ve Mills (68) yaptıkları sınıflama ile kolesteatomun yayılabileceği kısımları yediye ayırmışlardır. Bu kısımlar attik, antrum, orta kulak, mastoid, östaki tüpü, labirent ve orta kafa çukurudur. Şayet kolesteatoma bu yedi bölümden birini tutmuş ise evre 1, ikisini tutmuşsa evre 2, üçünü tutmuşsa evre 3, dördünü tutmuşsa evre 4, beş veya daha fazla bölümü tutmuşsa evre 5 olarak kategorize edilmiştir. Bu sınıflandırma kolesteatomanın yaygınlığını tariflediğinden bizim çalışmamızda da radyolojik ve klinik evreleme yapılırken Saleh ile Mills'in tarifledikleri kolesteatoma evreleme sistemi kullanılmıştır.

## **1.5. Temporal Kemik Radyolojisi**

Temporal kemik anatomi ve patolojileri bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile ayrıntılı olarak değerlendirilebilir. Direkt grafiler ve konvansiyonel görüntüleme teknikleri bugün için önemini kaybetmiştir. İletim tipi işitme kaybı ve enfeksiyöz durumlarda çoğunlukla BT tercih edilirken, sensörinöral işitme kaybı, baş dönmesi ve tinnitus gibi durumlarda MRG'ye ihtiyaç duyulmaktadır. Konjenital anomali, petröz apeks lezyonları ve mikst tip işitme kaybı ile koklear implant planlanan hastalarda ise hem BT hem MRG'nin birlikte kullanılması çok önemli anatomik ve lezyona ait bilgiler sağlamaktadır (26).

Temporal kemik radyolojik olarak değerlendirilirken DKY, orta kulak ve mastoid havalı hücreler, iç kulak, petröz apeks ile fasiyal sinir belirli sistematik içerisinde değerlendirilmelidir (26).

### **1.5.1. Dış Kulak Kanalı**

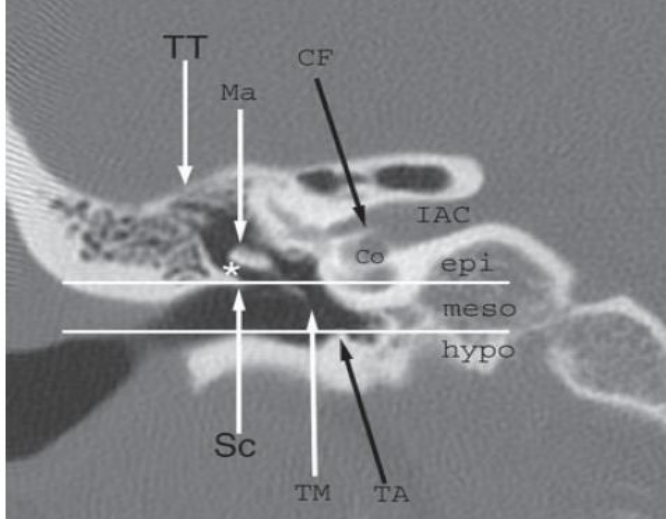
Dış kulak kanalının lateral kısmı kartilaj, medial kısmı kemik yapıdadır ve medial sınırını timpanik membran oluşturmaktadır. DKY en iyi koronal ve aksiyal kesitler ile değerlendirilmektedir. Malign hastalıklarından kuşkulandığında lenfatik drenajı parotid nodlarına olduğundan değerlendirilmelidir (28).

Dış kulak kanalı patolojileri radyolojik olarak değerlendirilirken; nekrotizan eksternal otit, DKY atrezisi, egzositozları, osteomu, skuamöz hücreli tümör, DKY kolesteatomu, keratosis obturans tanıları açısından değerlendirilmelidir (29).

### **1.5.2. Orta Kulak ve Mastoid Havalı Hücreler**

Orta kulak, dış kulak yolunun üst ve alt sınırından çekilen hayali çizgi ile epitimpanium, mezotimpanium ve hipotimpanium olarak üç bölüme ayrılarak değerlendirilmektedir (Şekil 8) (29).

Dış kulak yolunun superiorundan geçen hayali çizginin üstünde kalan kısım epitimpanium veya diğer adıyla attiktir. Epitimpaniumu orta kraniyal fossadan tegmen timpani ayırmaktadır ve orta kulağın superior sınırınıdır. Attikte ayrıca lateral epitimpanik reses olarak da bilinen Prussak Boşluğu vardır. Buranın sınırlarını lateral malleolar ligaman, malleus boynu ve pars flaksida oluşturmaktadır (30).



(TT: tegmen timpani, Ma: malleus, CF: krista falciformis, IAC: internal akustik kanal, Co: koklea, epi:epitimpanium, meso: mezo-timpanium, hypo: hipotimpanium, Sc: skutum, TM:timpanik membran, TA: timpanik anulus).

**Şekil 8.** Koronal kesit temporal kemik BT’de orta kulak ve mastoid hücrelerin görünümü (26)

Skutum ve timpanik anulustan geçen hayali çizgi arasında kalan kısım mezo-timpanium olarak adlandırılır. Mezo-timpaniumun arka duvarında fasiyal reses ve piramidal eminens gibi önemli yapılar vardır. Medial duvarında ise lateral semisirküler kanal, fasiyal sinirin timpanik segmenti ile oval ve yuvarlak pencere bulunmaktadır (26).

Hipotimpanium DKY tabanından geçen hayali çizginin altındaki kısımdır ve orta kulak tabanını oluşturmaktadır (29).

Mastoid havalı hücreler değerlendirilirken aditus ad antrum, mastoid antrum ve Körner Septumu değerlendirilmelidir. Aditus ad antrum epitimpaniuma açılmaktadır. Mastoid antrum mastoid havalı hücrelerin en büyüğüdür. Körner Septumu petroskuamöz sütür olarak da bilinmektedir ve cerrahi esnasında yetersiz mastoidektomiye neden olabileceğinden preoperatif tespiti önem arz etmektedir (31).

Temporal kemik havalanma durumuna göre mastoid hücreler pnömatik (tam havalanan), sklerotik (havalanması çok az) ve diploik (hiç hava hücresi bulunmayan) olarak üç tiptir (31, 69).

Radyolojik patolojiler arasında konjenital kolesteatomalar, orta kulak atrezisi, lateralize internal karotid arter, aberran internal karotid arter, persistan stapediale arter, kazanılmış kolesteatomalar, kolesterol granülomu, orta kulakta adenom,

schwannom ve glomus timpanikum bulunmaktadır. Ayrıca postoperatif orta kulak protezleri de değerlendirilebilir (26).

### **1.5.3. İç Kulak**

İç kulak yapılarının değerlendirilmesinde BT ve MRG ayrı öneme sahiptir. Kemik labirent BT ile değerlendirilirken membranöz labirent MRG ile değerlendirilebilir. Ayrıca iç kulak yapılarından kokleanan 2.5 tur dönen spiral yapısı değerlendirilmelidir. Semisirküler kanallar superior, lateral ve posterior olarak ayrı ayrı değerlendirilmelidir. Superior semisirküler kanal beyine, lateral semisirküler kanal orta kulağa uzanmaktadır. Posterior semisirküler kanal posteriora petröz apekse uzanmaktadır (26, 31).

Radyolojik patolojilerini labrintin aplazi, koklear aplazi, semisirküler kanal displazisi, dev endolenfatik sakkül, labrintin schwannoma, semisirküler kanal dehissans, endolenfatik kese tümörü oluşturmaktadır. Ayrıca günümüzde koklear implant adayı olan hastaların değerlendirilmesinde de kullanılmaktadır (26).

### **1.5.4. Petröz Apeks**

İç kulağın anteromedialinde bulunmaktadır. Yaklaşık %33 normal pnömatize hücrelerden oluşur. İnternal karotis arterin vertikal ve horizontal segmenti petröz kemik içerisindedir. İnternal karotis arterin seyri BT ile takip edilmeli dehissans, anevrizma ve aberran karotis arter klinik durumları açısından dikkatli olunmalıdır (70, 71).

### **1.5.5. Fasiyal Sinir**

İnternal akustik kanal, labrintin segment, genikulat ganglion, timpanik segment, mastoid segment ile stilomastoid forameni terk ettiği kısımlar radyolojik olarak değerlendirilir. Fasiyal sinirin tüm bu segmentler içerisindeki herhangi bir yerdeki hasarı periferik fasiyal paralizi ile sonuçlanır. Orta kulak içerisinde m. stapedius'a motor dal, korda timpaniye de duysal dal vermektedir. Motor dalları tüm yüz mimik kaslarını, stapedial kası, platismayı ve digastrik kasın posterior karnını inerve eder (26, 69, 72).

## 1.6. Proliferasyon Markırları

### 1.6.1. Ki-67

Ki-67, 1983 yılında Gerdes ve ark. (73) tarafından hücre siklus bağımlı nükleer proliferasyon belirleyicisi olarak tanımlanmıştır. Protein kodunun başındaki 'Ki' harfleri tanımlandığı Kuzey Almanya şehri olan Kiel'den köken almaktadır. İlk olarak Hodgkin Lenfoma'da kortikal foliküllerin germinal merkez hücrelerinde, kortikal timositlerde, gastrointestinal mukozadaki boyun hücrelerinde, epidermisin bazal hücreleri gibi proliferatif hücrelerde eksprese edildiği gösterilmiştir. Bu antikor başta sadece taze frozen kesitlerinde çalışılmıştır, fakat ilk tanımlanmasından yaklaşık on yıl sonra formaline dirençli epitoplara tespit eden monoklonal antikorları olan MIB-1 ve MIB-3 geliştirilmiştir (74, 75).

Ki-67, 345 ve 395 kilo dalton ağırlığında iki molekülden oluşan, 10. kromozom üzerinde yerleşmiş, nonhiston bir proteindir. Ki-67 direkt hücre proliferasyonu ile ilişkili bir proteindir. Ki-67 proteini G1, S, G2 ve mitoz gibi hücre döngüsünün tüm fazlarında bulunup hücrenin G0 evresinde bulunmaması nedeniyle büyüyen ve çoğalan hücre popülasyonunda eşsiz bir markır olmaktadır. Molekül G1 fazının ortasında eksprese olmaya başlayarak, S ve G2 fazı boyunca düzeyinde artış olur. M fazında pik yapar ve M fazı sonunda çok hızlı katabolize olur (Şekil 22) (73).

Ki-67 ile yapılan çalışmalarda DNA sentezinin mitoz esnasında hidroksiüre ile bloke edilmesi veya nocodazol yada siklin bağımlı kinaz inhibitör p21 ile mitozun inhibe edildiği durumlarda dahi hücrenin ki-67 ile pozitif boyandığı gösterilmiştir (76). Ki-67 ile yapılan ve günümüzde prognoz tahmininde kullanılan hastalıklar prostat ve akciğer kanserleridir. Radikal prostatektomi yapılan hastalarla yapılan çalışmada Ki-67 ekspresyonunun rekürrensi ve progresyonu göstermede anlamlı olduğu gösterilmiştir (77, 78).

Ki-67 boyanma indeksinin hastalığın klinik korelasyonunda kullanıldığı hastalıklar arasında multipl myeloma, yumuşak doku sarkomları da gelmektedir. Tümörlerde Ki-67 ile büyüme fraksiyonlarını göstermenin sadece diagnostik bir önemi yoktur, aynı zamanda birçok kanserde bağımsız prognostik değere sahiptir (74, 79).

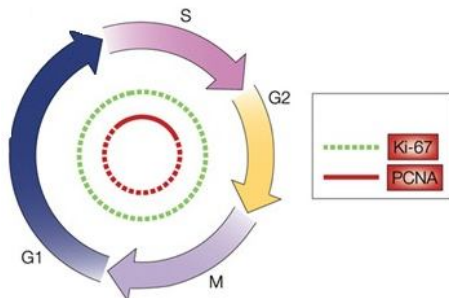
### 1.6.2. Proliferatif Hücre Nükleer Antijeni (PCNA)

İmmünohistokimyasal olarak çalışılan ve cyclin adı ile de bilinen PCNA, DNA replikasyonu ve hücre proliferasyonunda yer alan DNA polimeraz deltaya kofaktör olarak görev yapan 36 kD'luk, 262 aminoasit içeren nükleer proteindir. DNA polimeraz delta S fazında, DNA'nın replikasyonu sırasında rol alır. DNA sentezi, tamiri ve hücre siklusu kontrolünde görevli birçok protein, PCNA'ya bağlanarak görev yapar. Böylece PCNA, DNA sentezi, tamiri ve hücre siklusu düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. DNA polimeraz deltanın, DNA replikasyonunda rolü bulunduğu ve hücre siklusunda düzenleyici bir protein olduğu kabul edilmektedir. Nükleusun G1 fazında salınımı başlar, S fazında maksimuma ulaşır ve G2, M fazında azalmaya başlar (Şekil 9) (74, 80, 81).

Prolifere hücre nükleer antijen akut lösemi ve kronik myelositer lösemi krizi esnasında immünohistokimyasal olarak proliferasyon markırı olarak kullanılmaktadır. Baş boyun spesmenlerindeki aşırı PCNA tutan doku da hiperplazi, displazi veya skuamöz hücreli karsinom tanıları olabilir (81).

Son yıllarda parafinde bloklanan doku örneklerinden hazırlanan kesitlerde, PCNA ekspresyonunun belirlenmesinde monoklonal PCNA antikorları yaygın olarak kullanılmakta ve bu teknikler otoradyografik teknikler H3 timidin ve 5-bromo-2'-deoksiüridin-BrdU tekniklerine ciddi alternatif oluşturmaktadır (82).

İmmünohistokimyasal boyamalarda önemli ölçüde çekirdek lokalizasyonu gösteren PCNA'nın, lenfoma ve osteosarkom hücrelerinde, fütal dönemdeki yüksek derecede farklılaşma kapasitesine sahip hücrelerde, plasentanın sitotrofoblastlarında hem çekirdek hem de sitoplazmada lokalize olduğu bildirilmektedir (83-87). Çekirdekteki PCNA'nın hücre çoğalmasındaki rolü kısmen anlaşılmış olmasına rağmen sitoplazmadaki PCNA fonksiyonu yeterince anlaşılamamıştır (87).



Şekil 9. PCNA ve Ki-67'nin mitoz bölünme esnasında dağılımları (84)

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Çalışma Grupları

Çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda kolesteatomalı ve kolesteatomasız kronik otit nedeniyle Temmuz 2012- Ekim 2013 tarihleri arasında opere edilen erişkin ve çocuk toplam 100 hasta üzerinde yapıldı. Çalışma öncesi Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alındı. Hastalara çalışma hakkında bilgi verilerek onamları alındı.

Çalışmaya alınan tüm hastaların yaşı, cinsiyeti, hastaneye başvuru nedeni, şikayetlerinin süresi, kulak akıntısı varlığı ve süresi, kulak ağrısı, baş dönmesi, bulantı, kusma ve kulak çınlaması gibi şikayetleri sorgulanarak kaydedildi. Ayrıca preoperatif temporal bilgisayarlı tomografi sonucu, preoperatif işitme düzeyleri, intraoperatif kolesteatomanın yaygınlığı kaydedildi.

Çalışmaya 6-55 yaş arası kolesteatomalı kronik otit tanılı hastalar ile kontrol grupları için aynı yaş grubundan kolesteatomasız kronik otitli hastalar dahil edildi. Onsekiz yaşından küçük hastalar çocuk olarak kabul edildi ve altı yaş altındaki hastalar çalışma dışı bırakıldı. Daha önce aynı kulaktan opere olan hastalar, konjenital kolesteatomalı hastalar, önceden malign hastalık tanısı veya kronik hastalığı (Kronik böbrek yetmezliği, diyabetes mellitus) olanlar çalışmaya alınmadı.

Çalışmada hastalar dört gruba ayrıldı.

**Grup 1 (n=30):** 18-55 Yaş kolesteatomalı KOM nedeniyle opere edilen hastaların kolesteatoma matriksinden ve dış kulak yolu cildinden örnek alınan grup.

**Grup 2 (n=20):** 6-17 Yaş kolesteatomalı KOM nedeniyle opere edilen çocuk hastaların kolesteatoma matriksinden ve dış kulak yolu cildinden örnek alınan grup.

**Grup 3 (n=30):** 18-55 Yaş kolesteatomasız KOM nedeniyle opere edilen hastaların dış kulak yolu cildinden örnek alınan grup.

**Grup 4 (n=20):** 6-17 Yaş kolesteatomasız kronik otit nedeniyle opere edilen çocuk hastaların dış kulak yolu cildinden örnek alınan grup.

Kolesteatomalı kronik otit nedeniyle opere edilen hastalarda kolesteatomanın yaygınlığı Saleh ve Mills sınıflamasına göre (68) evrelendi. Bu sınıflamaya göre

kolesteatomanın bulunabileceği yerler; attik, antrum, orta kulak, mastoid, tuba östaki, labirent ve orta fossa olmak üzere yedi bölgeye ayrılmıştır.

Evre 1: Kolesteatoma başladığı tek bir bölgeye lokalizedir.

Evre 2: Kolesteatoma başladığı yer dışında diğer bir bölgeye yayılmıştır.

Evre 3: Kolesteatoma üç bölgeye yayılmış.

Evre 4: Kolesteatoma dört bölgeye yayılmış.

Evre 5: Kolesteatoma başladığı bölge dışında dört veya daha fazla bölgeye yayılmıştır.

## **2.2. İmmünohistokimyasal İnceleme**

Operasyon esnasında çalışma grupları için kolesteatoma dokusundan ve dış kulak yolu cildinden, kontrol grupları için dış kulak yolu cildinden doku örnekleri alınarak %10'luk formole kondu ve immünohistokimyasal analiz için Patoloji Anabilim Dalı'na gönderildi. Tüm gruplardan alınan örneklerin parafine gömülmesi sonrası 4 mikron kalınlığında kesitler elde edilerek poly-l-lisine kaplı lam üzerine alındı.

Lamlar ilk olarak 37 °C'de 15 dakika etüvde bekletildi ve sonrasında PCNA ve Ki-67 boyaları ile otomatik boyama cihazında (Ventana Medical System, SN: 712299, Ref: 750-700 Arizona, USA) immünohistokimyasal boyamaları yapıldı. Primer antikörle işlemden sonra musluk suyunda yıkanarak ultramount ile kapatıldı.

## **2.3. İmmünreaktivitenin Değerlendirilmesi**

Örnekler immünohistokimyasal olarak PCNA ve Ki-67 boyaları ile hazırlanması sonrası tüm örnekler aynı patolog tarafından Olympus BX51 marka ışık mikroskopunda değerlendirildi. Değerlendirmede PCNA ve Ki-67 antikörleri için nükleer boyanmaları dikkate alındı. Pozitif hücrelerin oranı semikantitatif olarak beş grupta skorlandı:

0 – Boyanma yok

1 – Hafif derece boyanma (+): %1-25

2 – Orta derece boyanma (++) : %26-50

3 – İyi derecede boyanma (+++) : %51-75

4 – Çok iyi derecede boyanma (++++): %76-100 olarak değerlendirildi.

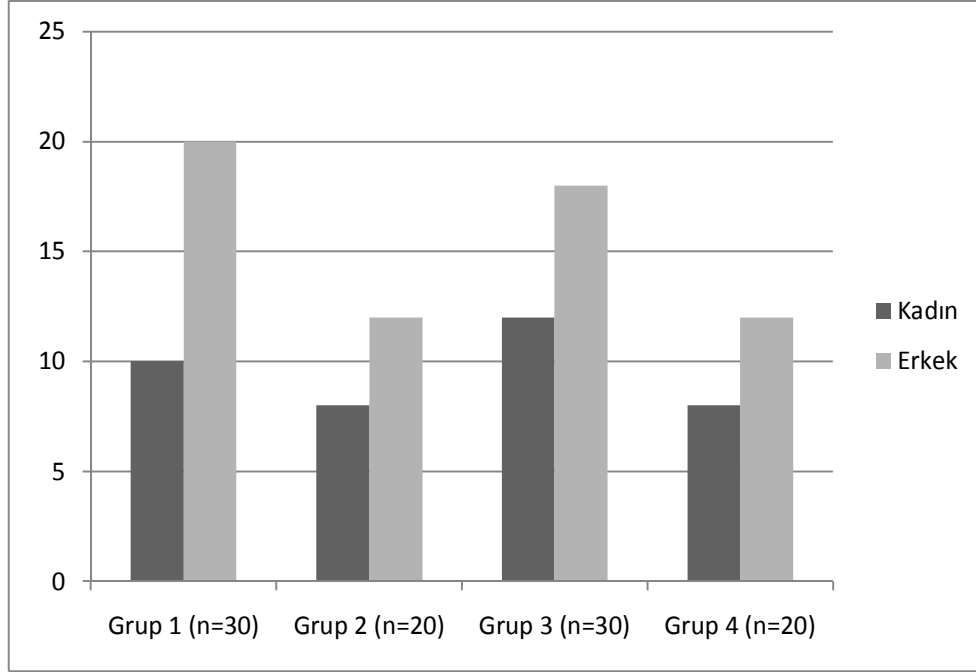
#### **2.4. İstatistiksel Yöntemler**

Verilerin analizinde SPSS for Windows 21.0 paket programı kullanıldı. Verilerin parametrikliği kontrol edilerek, parametrik test varyasyonlarını karşıladığı belirlendi. Değişkenler arasındaki ilişkileri belirlemek için Pearson Korelasyon Analizi, kolesteatoma ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında ise student t testi kullanıldı ve istatistiksel anlamlılık düzeyi p değerinin 0.05 olması olarak kabul edildi.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Klinik Bulgular

Çalışma KOM nedeni ile opere edilen 50 kolesteatomalı, 50 kolesteatomasız erişkin ve çocuk hasta üzerinde yapıldı. Toplam hastaların 62'si (%62) erkek, 38'i (%38) kadındı. Gruplara göre cinsiyet dağılımı Şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 10. Gruplara göre cinsiyet dağılımı.

Çalışmaya alınan hastaların yaşları 6-55 arasında değişmekteydi. Gruplara göre yaş dağılımı grup 1, grup 2, grup 3 ve grup 4 için sırası ile  $31.53 \pm 11.23$ ,  $13.55 \pm 3.10$ ,  $30.76 \pm 8.48$ ,  $14.40 \pm 1.90$  idi. Hastaların gruplarına göre başvuru anındaki şikâyetlere bakıldığında grup 1 ve grup 2'de en sık şikâyet kulak akıntısının varlığı iken grup 3 ve grup 4 te en sık şikâyet işitme azlığı idi. Gruplara göre şikâyetlerin dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tüm hasta grubunda akıntı süresi  $0-120$  ( $21,29 \pm 19,89$ ) ay, operasyon öncesi en son akıntının süresi  $0-180$  ( $45,81 \pm 15,19$ ) gün, preoperatif saf ses işitme derecesi  $18-85$  ( $27,43 \pm 37,21$ ) dB ve saf ses odyometrideki hava kemik aralığı  $10-70$  ( $28,57 \pm 14,44$ ) dB arasında değişmekteydi.

**Tablo 2.** Gruplara göre hastaların şikayetlerinin dağılımı

<b>Şikayet</b>	<b>Grup 1 n (%)</b>	<b>Grup 2 n (%)</b>	<b>Grup 3 n (%)</b>	<b>Grup 4 n (%)</b>
<b>İşitme azlığı</b>	27 (%90)	17 (%85)	28 (%93)	18 (%90)
<b>Kulak akıntısı</b>	28 (%93)	18 (%90)	18 (%60)	8 (%40)
<b>Çınlama</b>	4 (%13)	2(%10)	6 (%20)	3 (%15)
<b>Ağrı</b>	2 (%6)	1 (%5)	1 (%3)	2 (%10)
<b>Baş dönmesi</b>	3 (%10)	1 (%5)	2 (%6)	1 (%10)
<b>Bulantı, kusma</b>	1 (%3)	-	-	-

Pre operatif saf ses ortalaması ve hava kemik aralığı miktarının gruplara göre ortalaması Tablo 3 'de gösterilmiştir.

**Tablo 3.** Hastaların odyometrik ölçüm sonuçları

	<b>Preoperatif safses ortalaması (dB)</b>	<b>Hava-kemik aralığı miktarı (dB)</b>
<b>Grup 1</b>	49.26 ±14.60	31.46 ±13.79
<b>Grup 2</b>	44.50 ±11.93	25.75 ±11.99
<b>Grup 3</b>	44.00 ±16.88	27.33 ±16.24
<b>Grup 4</b>	44.65 ±16.27	28.90 ±15.01

Grup 1'deki hastaların radyolojik evresine bakıldığında 5 hasta evre 2, 10 hasta evre 3, 12 hasta evre 4, 3 hasta evre 5 idi. Grup 1'deki hastaların intraoperatif evresine bakıldığında 4 hasta evre 2, 14 hasta evre 3, 11 hasta evre 4, 1 hasta evre 5 idi ve evre 1 olan hasta yoktu (Tablo 4).

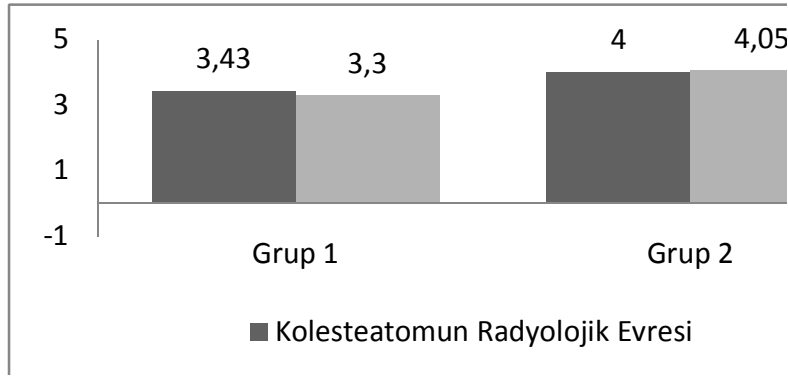
Grup 2'deki hastaların radyolojik evresine bakıldığında 3 hasta evre 2, 2 hasta evre 3, 10 hasta evre 4, 5 hasta evre 5 idi. Grup 2'deki hastaların intraoperatif evresi değerlendirildiğinde 2 hasta evre 2, 3 hasta evre 3, 10 hasta evre 4, 5 hasta evre 5 idi (Tablo 4).

**Tablo 4.** Hastaların radyolojik ve intraoperatif evreleri ile immünohistokimyasal boyanma oranları

Hasta No	Radyolojik Evre	İntraoperatif Evre	Grup 1				Radyolojik Evre	İntraoperatif Evre	Grup 2				Grup 3		Grup 4	
			Kolesteatoma Ki-67	Kolesteatoma PCNA	DKY Ki-67	DKY PCNA			Kolesteatoma Ki-67	Kolesteatoma PCNA	DKY Ki-67	DKY PCNA	DKY Ki-67	DKY PCNA	DKY Ki-67	DKY PCNA
1	Evre 3	Evre 3	+	++	+	++	Evre 4	Evre 4	+++	++++	++	+++	++	++	++	++
2	Evre 4	Evre 4	++	++++	+	++	Evre 4	Evre 4	+++	++++	++	+++	+	++	++	++
3	Evre 3	Evre 3	+	++	+	++	Evre 5	Evre 5	++++	++++	+++	+++	+	+	++	+++
4	Evre 4	Evre 3	+	++	+	++	Evre 4	Evre 4	+++	++++	++	+++	+	+	++	++
5	Evre 4	Evre 3	++	++	+	++	Evre 5	Evre 5	+++	++++	++	+++	+	+	++	++
6	Evre 3	Evre 3	+	++	+	+++	Evre 5	Evre 5	++++	++++	+++	+++	+	+	++	++
7	Evre 5	Evre 5	++	++++	+	+++	Evre 3	Evre 4	+++	+++	+++	+++	+	++	++	+++
8	Evre 4	Evre 4	++	+++	+	++	Evre 2	Evre 3	+++	+++	+++	+++	+	++	++	+
9	Evre 2	Evre 2	+	++	+	+	Evre 4	Evre 4	++++	+++	+++	+++	+	+	++	++
10	Evre 4	Evre 4	++	+++	+	+	Evre 4	Evre 4	+++	+++	++	+++	+	+	++	+++
11	Evre 4	Evre 4	+++	+++	+	++	Evre 5	Evre 5	++++	++++	+++	+++	+	+	++	+
12	Evre 4	Evre 4	++	++++	+	++	Evre 4	Evre 4	+++	+++	++	+++	+	++	+	++
13	Evre 5	Evre 4	++	++	+	++	Evre 4	Evre 4	+++	+++	++	+++	+	++	+	++
14	Evre 3	Evre 3	+	++	+	++	Evre 5	Evre 5	++++	++++	++	+++	+	+	+	++
15	Evre 3	Evre 3	+	++	+	++	Evre 4	Evre 4	+++	+++	++	++	+	+	+	++
16	Evre 3	Evre 3	+	++	+	++	Evre 4	Evre 4	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+
17	Evre 4	Evre 4	++	++	+	++	Evre 2	Evre 2	++	+++	+	++	+	+	+	+
18	Evre 3	Evre 3	+	++	+	+	Evre 3	Evre 3	+++	++++	+++	+++	+	++	+	++
19	Evre 3	Evre 2	+	+++	+	++	Evre 4	Evre 3	+++	++++	+++	+++	++	++	+	++
20	Evre 4	Evre 4	+++	+++	+	++	Evre 5	Evre 5	++++	++++	++	++	++	+	+	++
21	Evre 4	Evre 3	++	+++	+	++							+	+		
22	Evre 4	Evre 4	++	++++	+	++							+	+		
23	Evre 5	Evre 4	+	+++	+	++							+	++		
24	Evre 3	Evre 3	+	++	+	+							+	+		
25	Evre 2	Evre 2	+	++	+	+							++	+		
26	Evre 2	Evre 3	+	++	+	+							++	++		
27	Evre 3	Evre 4	++	++++	++	++							+	++		
28	Evre 4	Evre 3	+	++	+	+							+	+		
29	Evre 2	Evre 3	+	+	+	+							+	+		
30	Evre 2	Evre 2	+	+++	+	+							+	++		

( İmmünohistokimyasal boyama oranları hafif derece boyanma (+), orta derece boyanma (++) , iyi derece boyanma (+++), çok iyi derece boyanma (++++) olarak belirtilmiştir.)

Kolesteatomalı gruplarda, kolesteatomun radyolojik yaygınlık evre ortalaması grup 1 ve grup 2 için sırasıyla  $3.43 \pm 0.16$ ,  $4.00 \pm 0.20$  iken intraoperatif yaygınlık evre ortalaması  $3.30 \pm 0.13$  ve  $4.05 \pm 0.18$  idi. Hastalarda radyolojik olarak kolesteatoma olarak yorumlanan görünümün operasyon esnasında granülasyon dokusu veya yumuşak doku olduğunun görülmesi nedeniyle bazı hastalarda radyolojik ve ameliyat yaygınlık evreleri farklıdır. Kolesteatomalı gruptaki bu yaygınlık evrelerinin karşılaştırılması Şekil 11’de gösterilmiştir.



**Şekil 11.** Kolesteatomalı grupların radyolojik ve intraoperatif yaygınlık evreleri.

### 3.2. Histopatolojik Bulgular

İmmünohistokimyasal skorlamada nükleer boyanma dikkate alındı ve 400’lük büyütmedeki epitel hücreleri sayılarak tüm grupların boyanma oranları hesaplandı. Grup 1’de kolesteatoma epitelinin PCNA açısından boyanmasına bakıldığında 1 hastada 1 (+), 15 hastada 2 (++) , 9 hastada 3 (+++) ve 5 hastada 4 (++++) , Ki-67 açısından bakıldığında 17 hastada 1 (+), 11 hastada 2 (++) , 2 hastada 3 (+++) boyandığı görüldü (Tablo 4).

Grup 2’de kolesteatoma epitelinin PCNA açısından boyanmasına bakıldığında 9 hastada 3 (+++) , 11 hastada 4 (++++), Ki-67 açısından bakıldığında 1 hastada 2 (++) , 13 hastada 3 (+++) ve 6 hastada 4 (++++) boyandığı görüldü. Grup 3’deki hastalar immünohistokimyasal olarak değerlendirildiğinde DKY epitelinin’ nin Ki-67 açısından, 25 hastada 2 (++) , 5 hastada 1 (+), PCNA açısından 12 hastada 2 (++) , 8 hastada 1 (+) boyandığı görüldü. Grup 4’deki hastalar immünohistokimyasal olarak değerlendirildiğinde DKY epitelinin Ki-67 açısından 12 hastada 2(++), 8

hastada 1(+), PCNA açısından 3 hastada 3 (+++), 13 hastada 2 (++) , 4 hastada 1 (+) boyandığı görüldü (Tablo 4).

Kolesteatomalı gruplar PCNA ve Ki-67 boyanması açısından karşılaştırıldıklarında en fazla boyanma grup 2’de görüldü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Çocuk ve erişkin hastalardan oluşan kontrol gruplarında DKY cildinin PCNA ve Ki-67 boyanması açısından karşılaştırıldığında, çocuk hastalarda her iki boyanmanın da istatistiksel olarak daha yüksek olduğu görülmüştür ( $p<0.05$ ). Gruplar arası immünohistokimyasal boyanma değerleri Tablo 5’te özetlenmiştir.

**Tablo 5.** Gruplar arası immünohistokimyasal ortalama boyanma değerleri.

Gruplar	Ki-67 boyanma ortalaması		PCNA boyanma ortalaması	
	Kolesteatoma dokusu	Dış kulak yolu cildi	Kolesteatoma dokusu	Dış kulak yolu cildi
<b>Grup 1</b>	1.50 ±0.62	1.03 ±0.18	2.60 ±0.81	1.76 ±0.56
<b>Grup 2</b>	3.25 ±0.18	2.40 ±0.59	3.55 ±0.51	2.85 ±0.36
<b>Grup 3</b>	-	1.16 ±0.37	-	1.40 ±0.49
<b>Grup 4</b>	-	1.55 ±0.51	-	1.95 ±0.60

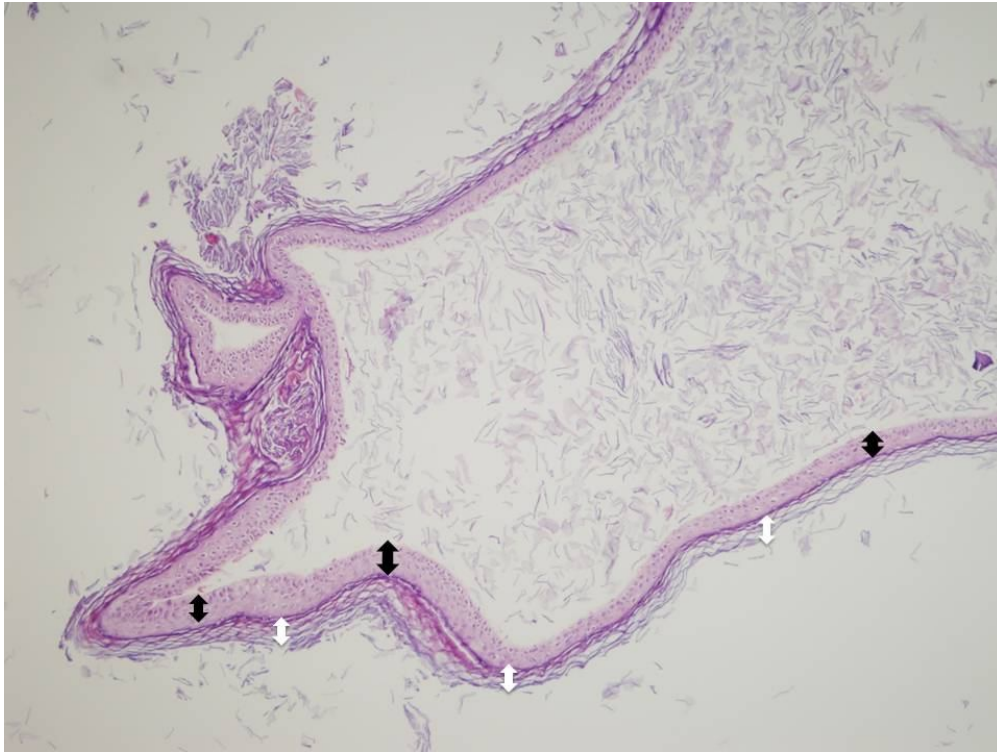
Erişkin kolesteatoma ve erişkin kontrol grubu hastalarında DKY cildinin PCNA ve Ki-67 ekspresyonu karşılaştırıldığında, PCNA ekspresyonu kolesteatomalı hastalarda istatistiksel olarak anlamlı oranda ( $p<0.05$ ) yüksek iken, Ki-67 ekspresyonu açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır. Çocuk grubu hastalarda DKY cildinden PCNA ve Ki-67 ekspresyonu karşılaştırıldığında ise kolesteatomalı grupta kontrol grubuna göre anlamlı oranda daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Korelasyon testlerinde kolesteatomalı gruplar değerlendirildiklerinde, radyolojik ve intraoperatif yaygınlık evresi ile kolesteatoma dokusundaki PCNA ile Ki-67 boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptandı ( $p<0.05$ ). Bu verilere göre kolesteatomanın radyolojik ve intraoperatif yaygınlık evresinin artması ile immünohistokimyasal boyamalarda PCNA ve Ki-67 ekspresyonunun arttığı görüldü (Tablo 6).

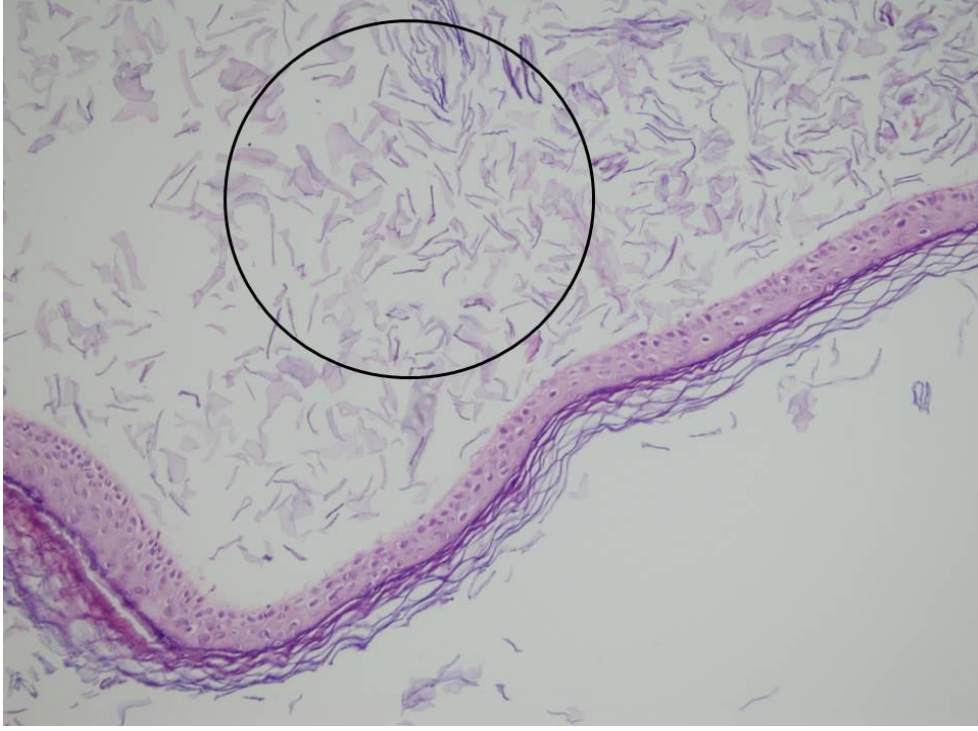
**Tablo 6.** Grup 1 ve grup 2’de kolesteatomanın klinik yaygınlık evresi ile immünohistokimyasal boyama analizlerin karşılaştırılması.

	<b>Radyolojik Evre</b>	<b>Ameliyat Evresi</b>	<b>Ki-67 boyanma oranı</b>	<b>PCNA boyanma oranı</b>	<b>p değeri</b>
<b>Grup 1 (n=30)</b>	3.43 ±0.89	3.30 ±0.74	1.50 ±0.62	2.60 ±0.81	p<0.05
<b>Grup 2 (n=20)</b>	4.00 ±0.91	4.05 ±0.82	3.25 ±0.18	3.55 ±0.51	p<0.05

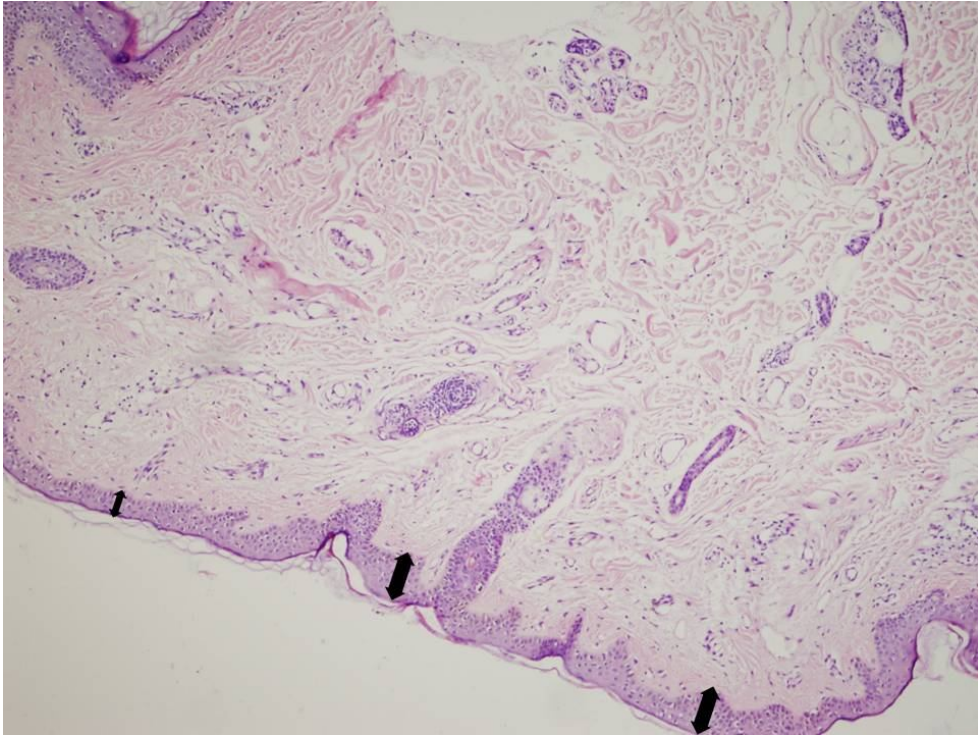
Çalışmada değerlendirilen kolesteatoma ve kontrol gruplarındaki DKY’den alınan cilt dokusunun hematoxilen eozin, Ki-67 ve PCNA ile boyanma görüntüleri Şekil 12-22’de gösterilmiştir.



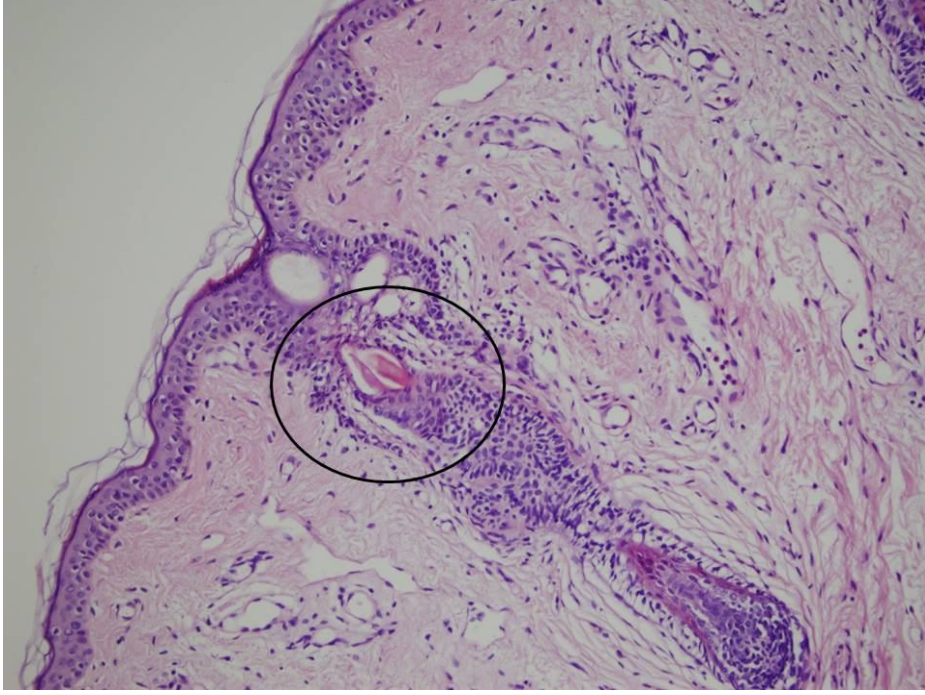
**Şekil 12.** Kolesteatoma matriksinin hematoxilen eozin boyası ile boyanma görüntüsü. Kolesteatoma dokusunun patognomik epiteli (siyah ok) ve üzerindeki keratin tabakası (beyaz ok) görülmekte (X100).



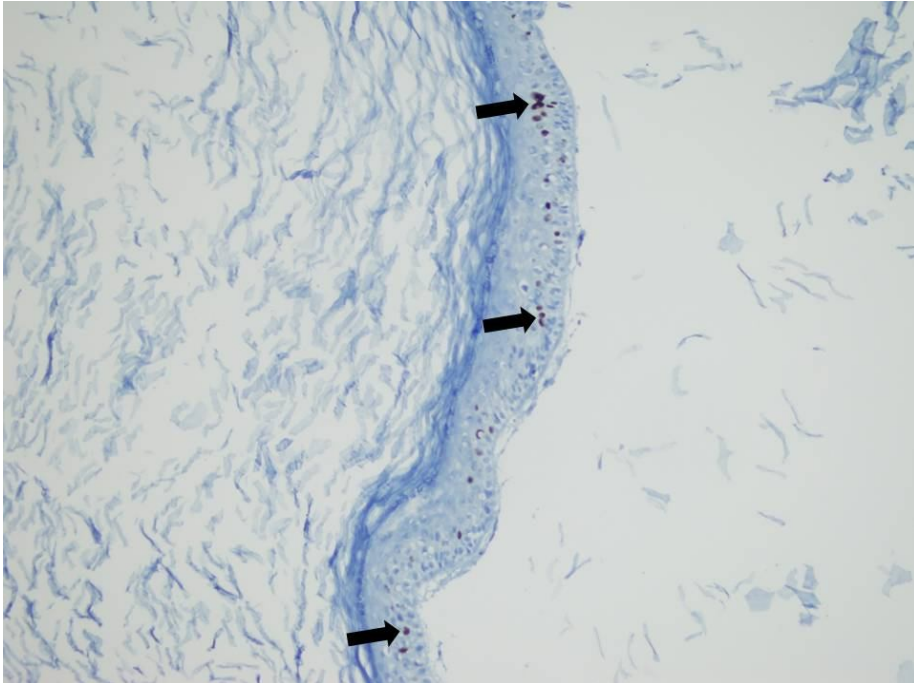
**Şekil 13.** Kolesteatoma matris epitel ve üzerindeki keratin debris (siyah daire içerisinde gösterilmiştir) (X400).



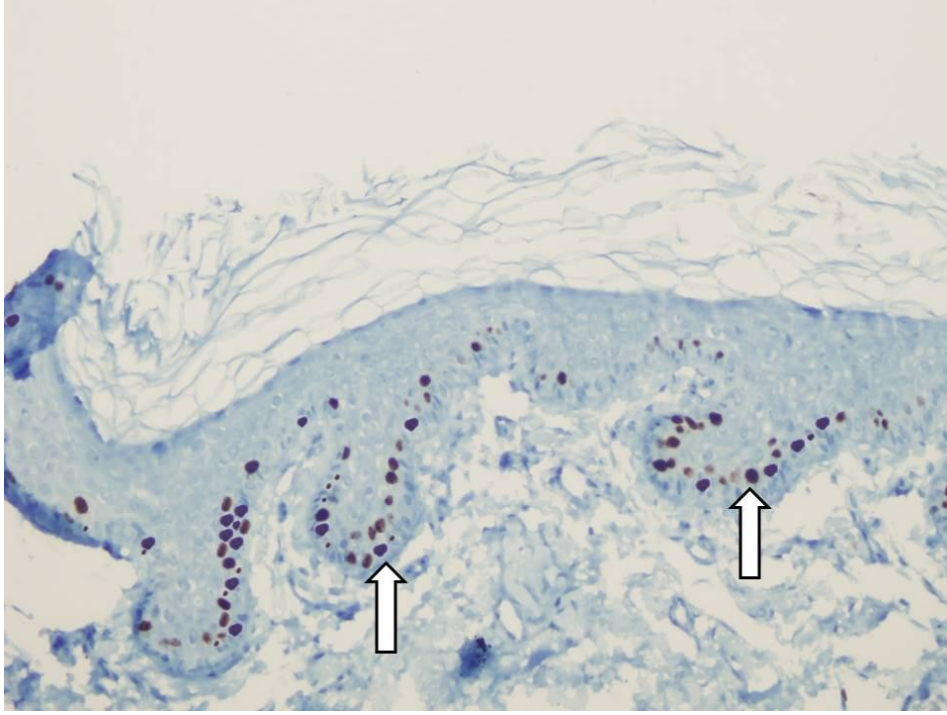
**Şekil 14.** Dış kulak yolu cildinin HE boyanma görüntüsü (siyah oklar) (X100).



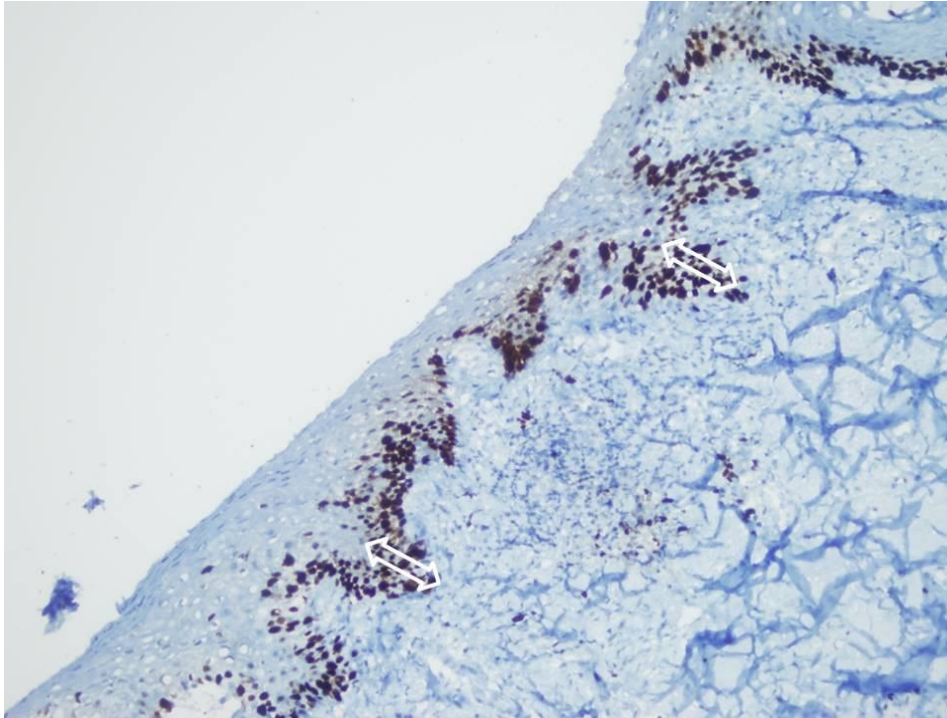
**Şekil 15.** Dış kulak yolu cildi HE boyanma görüntüsü. Kesite giren kıl kökü folikülü (siyah daire içerisinde) görülmektedir (X400).



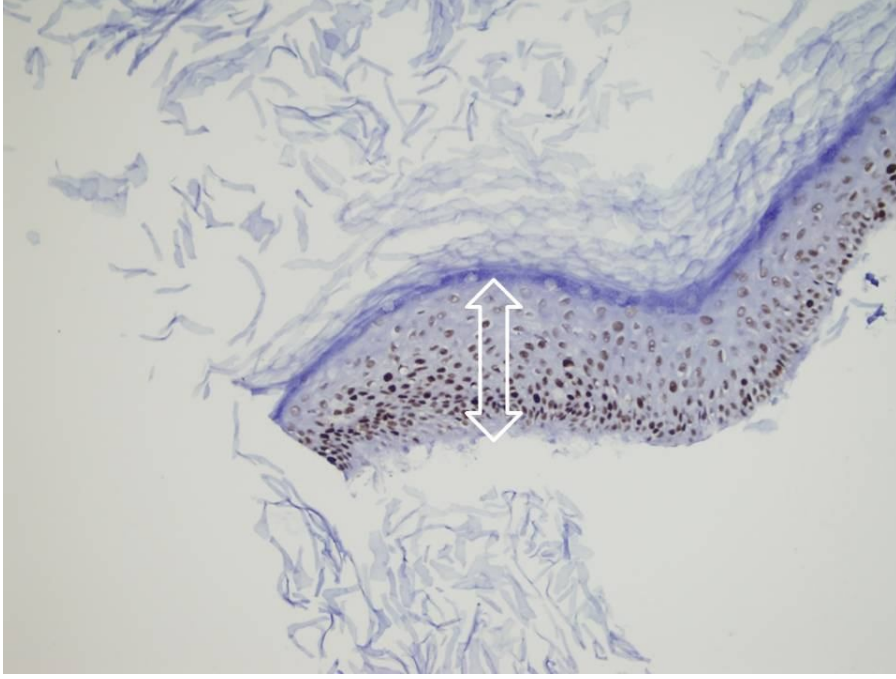
**Şekil 16.** Kolesteatoma dokusunun Ki-67 ile boyanma görüntüsü. Resimdeki spesmen +1 boyanma olarak değerlendirilmiştir. Özellikle suprabazal tabakanın (siyah oklar) boyanması dikkat çekmektedir (X400).



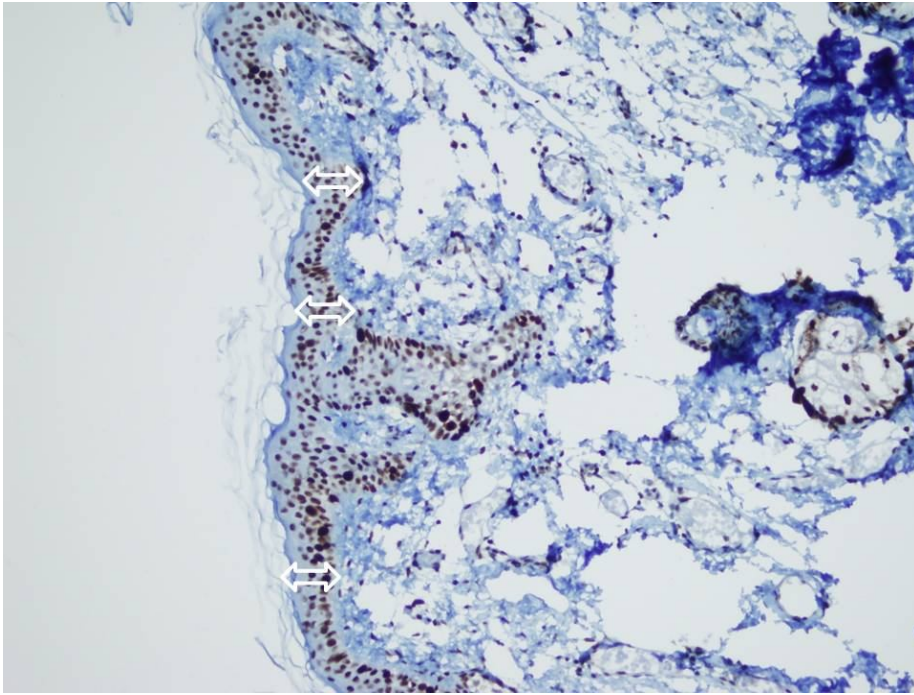
**Şekil 17.** Kolestomatoma dokusunun Ki-67 ile boyanma görüntüsü (beyaz oklar). Resimdeki spesmen +2 boyanma olarak değerlendirilmiştir (X400).



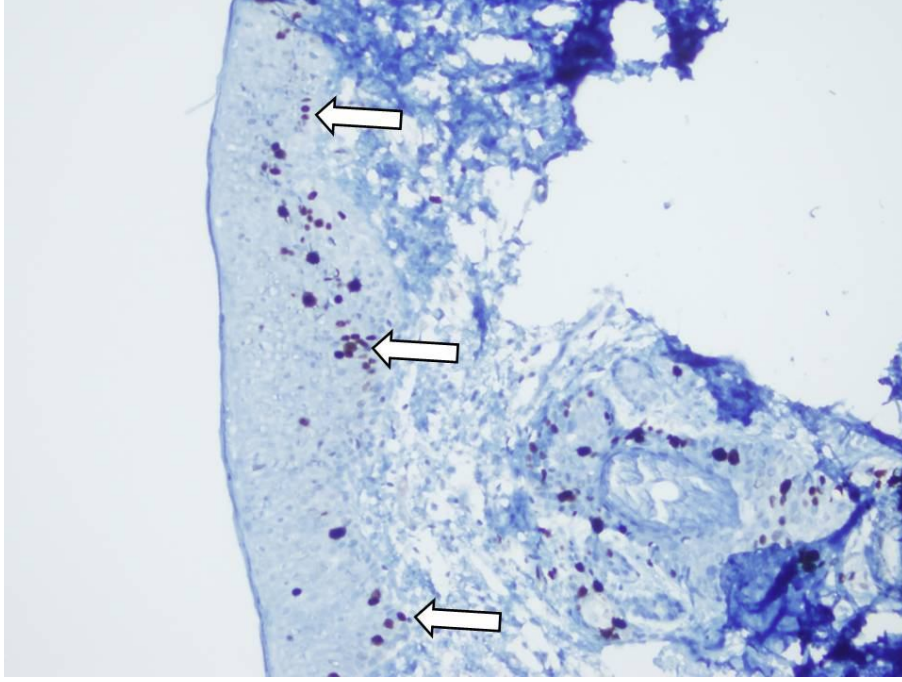
**Şekil 18.** Koleteatomalı hastanın dış kulak yolu cildi Ki-67 ile boyanma görüntüsü (beyaz oklar) (X400).



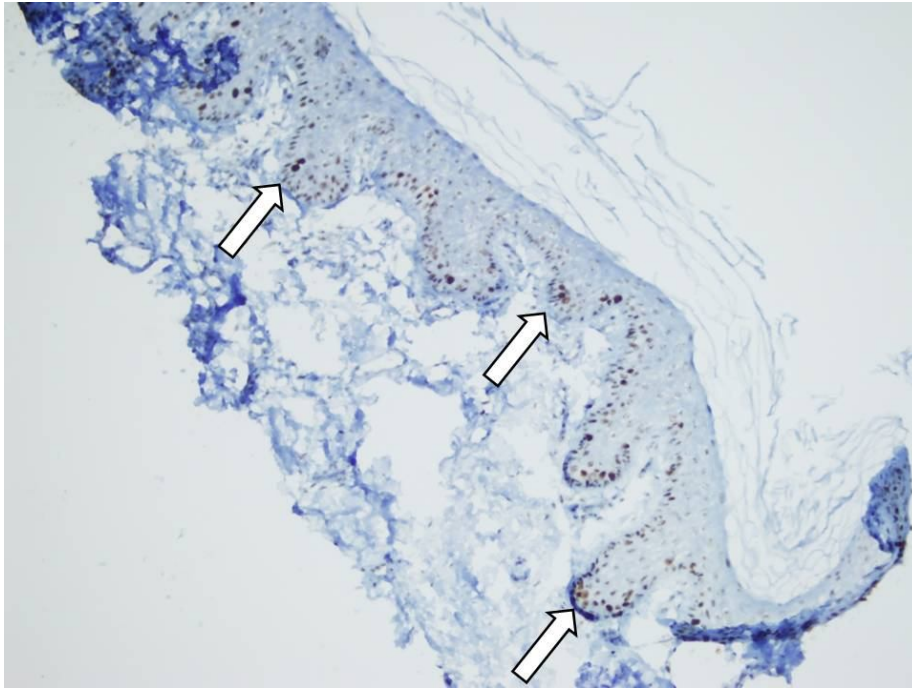
**Şekil 19.** Kolesteatoma epitelinin (beyaz ok) PCNA ile boyanma görüntüsü. İleri klinik ve radyolojik evresi olan bu hastanın kolesteatoma dokusu PCNA ile (+4) boyanmıştır (X400).



**Şekil 20.** Kolesteatomalı hastanın dış kulak yolu cildinin PCNA ile boyanma görüntüsü (beyaz oklar) (X100).



**Şekil 21.** Kontrol grubu kolesteatomasız hastanın dış kulak yolu cildi Ki-67 boyanma görüntüsü (beyaz oklar boyanan hücreleri göstermektedir) (X400).



**Şekil 22.** Kontrol grubu kolesteatomasız hastanın dış kulak yolu cildi PCNA boyanma görüntüsü (beyaz oklar suprabazal tabakada boyanan hücreleri göstermektedir) (X400).

#### 4. TARTIŞMA

Kolesteatomaya benzer bir klinik durum ilk olarak 1683 yılında Duverney tarafından dış kulak yolundan mastoid apeks üzerine fistülize apsesi olan bir hastada tanımlanmıştır. Müller ise 1838 yılında kolesterin ve yağ içeriği nedeniyle kolesteatoma terimini kullanmıştır. Virchow 1855’de lezyonun kemik içerisinde ilerleyen mezenkimal kökenli diferansiye bir doku olabileceğini belirterek ilk kolesteatoma oluşum teorisini de ortaya atmıştır (38).

Kolesteatoma temel olarak konjenital ve kazanılmış olarak iki ana gruba ayrılmaktadır. Konjenital kolesteatomanın insidansı 100.000 doğumda 0.12’dir ve tüm kolesteatomaların %2-5’ini oluşturmaktadır (38, 40). Çalışmamıza sadece kazanılmış kolesteatoma hastaları dahil edilmiş ve konjenital kolesteatomalı hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.

Golz ve ark. (87) 2829 çocuk üzerinde yaptıkları retrospektif çalışmada hastaların takibinde %1.1 oranında orta kulak kolesteatoması geliştiği raporlanmıştır. Çalışmada beş yaş altı, T-tüp takılan, tüpün oniki aydan uzun kaldığı ve operasyon sonrası otoresi devam eden hastalarda kolesteatom gelişim riskinin daha fazla olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızdaki kolesteatomalı çocuk hasta grubunun hiçbirinde önceden tüp takılma öyküsü bulunmamaktaydı, erişkin yaş grubunda ise bir hastada çocukken her iki kulağa parasentez operasyonu öyküsü bulunmaktadır.

Bulestone ve ark. (88) 1024 kolesteatomalı kronik otitli hastada kolesteatoma yerleşimini değerlendirmiştir. Sonuçta kolesteatomanın %42 attik, %31 posterosuperior kadran yerleşimli olduğunu belirtmişler ve hastaların %18’inde total perforasyon, %6’sında santral perforasyon, %3’ünde ise perforasyon olmadığını raporlamışlardır. Sade ve ark. (89) yapmış oldukları çalışmada kolesteatomalı kronik otitli hastaların %84’ünde marjinal veya attik, %13.3’ün de santral perforasyon olduğunu raporlamışlardır. Manas ve ark. (90) 210 santral perforasyonu olan kronik otitli hastada kolesteatoma görülme oranını %3.4 olarak raporlamıştır. Çalışmamızdaki kolesteatomalı hastaların 26’sında (%52) perforasyon attikte, 4 hastada (%8) santral yerleşimlidir, 8’inde (%16) ise subtotal perforasyon saptanmıştır.

Pediyatrik grup kolesteatomalarının erişkinlere göre daha agresif seyrettiği bilinmektedir (91, 92). Bunun nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, çocuklarda bağ dokunun maturasyonunun tam olmaması ve kolesteatoma epitel proliferasyonunun daha fazla olması ile açıklanan teoriler bulunmaktadır (93). Kolesteatoma cerrahisinin temel amacı, hastalığı eradike etmek, işitmeyi korumak veya iyileştirmek ve hastalığın rekürensini önlemektir. Çocukluk grubu kolesteatomaların cerrahi tedavisi ile ilgili günümüzde halen ortak görüş bulunmamaktadır (94).

Kolesteatoma, üzerinde immünohistokimyasal araştırma yapılan malign olmayan kulak burun ve boğaz hastalıkları içerisinde ilk sırayı almaktadır. İmmünohistokimyasal olarak Ki-67, PCNA, annexin-II, keratinosit growth faktör, P-53, ICAM ailesi, 151 şok proteinleri, kollajen ailesi, Bcl-2, Bax, c-erb-B2, BMP-2, BMP-4, BMP-6, sitokeratin, konnexin-26/43 ve daha birçok reseptör kolesteatomada araştırılmıştır (95-102). Çalışmamızda proliferasyon markırları olan PCNA ve Ki-67'nin ocuk ve erişkin yaş grubundaki olgularda radyolojik ve klinik evre ile kolesteatomanın ilişkisi değerlendirildi.

James ve ark. (63) pediyatrik kolesteatomada connexin 26 ve 30 mutasyonlarını araştırmışlardır. Connexin 26, GJB2 geni tarafından kodlanan bir gap junction proteindir. Bu protein kolesteatomada eksprese edilmektedir ve mutasyonu proliferatif cilt hastalıkları ile sensörinöral işitme kaybına neden olmaktadır. GJB6 geni de connexin 30 kodlamaktadır ve mutasyonu connexin 26 ile benzer problemlere sebep olmaktadır. Pediyatrik kolesteatoma grubunda kan örneklerinde mutasyonlar değerlendirilmiş ve 98 hastanın hiçbirinde GJB6 delesyonu saptanmazken, %14'nde GJB2 mutasyonu tespit edilmiştir. Çalışmada keratinositlerin proliferasyon ve migrasyonunda etkili olan connexin 6 proteinin kolesteatoma etyolojisinde rol oynayabileceği sonucuna varılmıştır.

Jeong ve ark. (103) kolesteatomada osteoklast ve osteoblast dengesini ayarlayan reseptör aktivatör nükleer faktör kappaB ile ligandı (RANK-RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) sistemini immünohistokimyasal olarak değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda kolesteatomanın kemik destrksiyonunda RANKL ve OPG sisteminin osteoklastalar üzerinden anlamlı oranda rolü olduğu sonucuna varılmıştır.

Huisman ve ark. (104) kolesteatomada TGF  $\beta$  düzeyini araştırmışlardır. TGF  $\beta$ 'nin yara iyileşmesinde rolü vardır ve hücrede proliferasyon, migrasyon,

diferasyonunu etkilemektedir. Çalışmada kolesteatomanın ekstraselüler matriksinde, DKY epitelini ile karşılaştırıldığında TGF  $\beta$  ekspresyonunun anlamlı oranda arttığı ve bunun kronik yara iyileşme sürecini etkilediği sonucuna varılmıştır.

Hansen ve ark. (105) postaurikuler cilt ile kolesteatoma epitelini bir takım proliferasyon markırı DNA dizisi ile ekspresyonunu değerlendirmişler ve kolesteatoma epitelinde postaurikuler cilde göre 20'ye yakın proliferasyondan sorumlu genin etkili olduğunu raporlamışlardır. Bu genlerin hücre proliferasyonunu düzenleyen (calgranulin A- B, psoriasin) ve hücre invazyonunu içeren genlerden (katepsin C, katepsin D, katepsin H) oluştuğunu belirtmişlerdir.

Tokuriki ve ark. (60) DNA analiz yöntemiyle kolesteatoma üzerinde yaptıkları çalışmada kolesteatoma ile normal postaurikuler cilt dokusunu karşılaştırmışlardır ve hücresel proliferasyon, diferansiyasyon ve invazyondan sorumlu genlerin (calgranulin A/B, psoriasin, cathepsin C/D/H ve matrix metalloproteinaz 9) kolesteatom dokusunda artmış olduğunu bulmuşlardır. Bu artışın benign yapıda olmasına rağmen lokal destrüksiyonla yayılan kolesteatomanın patogenezinde önemli olabileceği raporlanmıştır.

Hsu ve ark. (106) kolesteatoma ve normal postaurikuler ciltte epidermal büyüme faktör (EGFR) ekspresyonunu araştırmışlardır. Sonuç olarak kolesteatoma ve normal postaurikuler ciltte bazal, parabazal ve üst epitelial tabaka karşılaştırıldığında EGRF ekspresyonun istatistiksel olarak farklı olmadığını ve iki doku arasında da ekspresyonun benzer olduğu ancak suprabazal tabakanın daha fazla boyandığını bildirmişlerdir.

Kolesteatoma dokusundaki subepitelial fibroblastların hücre kültürü, PCR ve immünohistokimyasal değerlendirmenin yapıldığı bir çalışmada epiregulin ekspresyonunun kolesteatoma dokusunda postaurikuler cilt dokusuna nazaran %50 oranda arttığı ve kolesteatoma patogenezinde rol alabileceği raporlanmıştır (107). Kolesteatomada çalışılan proinflatuar sitokinlerden IL-1 ve IL-6'nın epitelial proliferasyon ve kemik rezorbsiyonunda etkili olabileceği belirtilmiştir (108-114). Matriks metalloproteinazları (MMP-1/9) ile yapılan çalışmalarda da, MMP-1 düzeyinin arttığı ve kolesteatoma patogenezinde rolü olabileceği belirtilmiştir (115-117).

Öger ve ark. (118) kolesteatomalı kronik otitli hastada yaptıkları çalışmada kolesteatoma dokusunda BMPs, BMP-2 ve BMP-6 düzeylerini PCR ile değerlendirmişlerdir. Çalışmada BMPs ekspresyonunun artması ile kemikçik destrüksiyonun ve kolesteatoma agresifliğinin istatistiksel olarak arttığı saptanmıştır.

Literatürde kolesteatoma epitelinin proliferasyonu ile yapılan çalışmalarda temelde Ki-67 ve PCNA araştırılmıştır ve kontrol grubu olarak DKY cildi veya postaurikuler sulkus insizyonu esnasında alınan cilt kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda Ki-67 ve PCNA, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kolesteatoma epitelinde daha fazla eksprese edildiği tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda Ki-67 ve PCNA'nın kolesteatomanın proliferasyon durumu değerlendirmede güvenilir bir markır olduğu belirtilmiştir (119-127).

Birçok çalışmada normal dış kulak yolu cildi kolesteatoma ile karşılaştırılarak epitelyal hücrelerin kinetiği değerlendirilmiştir. Ki-67 ve PCNA ile yapılan çalışmalarda boyanmaların özellikle bazal ve suprabazal tabakada olduğu ve kolesteatoma dokusunda anlamlı oranda daha fazla olduğu bildirilmiştir (128, 129). Çalışmamızda proliferasyon markırları olan Ki-67 ve PCNA hem kolesteatoma dokusunda hemde dış kulak yolu cildinde belirgin bir şekilde immünohistokimyasal olarak bazal ve suprabazal tabakayı boyadığı görülmüştür. Farklı olarak çalışmamızda hem erişkin hemde çocuk yaş grubunda bu proliferasyon markırlarının ekspresyonunu değerlendirdik.

Monoklonal bir antikor olan Ki-67 proliferasyon yapan hücrelerde görülen bir nükleer proteindir. Ki-67 çoğunlukla normal veya neoplastik hücre popülasyonlarının büyüme oranlarının değerlendirilmesini sağlamaktadır (73). Sudhoff ve ark. (130) yaptıkları çalışmada Ki-67'nin normal DKY cildinde %7, kolesteatomada ise %17 oranında eksprese edildiği raporlanmıştır. Ayrıca kolesteatoma keratinositlerinde proliferasyon oranının normal DKY ile karşılaştırıldığında da anlamlı oranda yüksek olduğu saptanmıştır. Yapılan bir diğer çalışmada Ki-67 ekspresyonunun çocuk kolesteatomalarında daha yüksek oranda olduğu ve bunun kliniğin daha agresif seyretmesinde rol aldığı bildirilmiştir (131). Bizim çalışmamızda kolesteatom grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında Ki-67 ekspresyonunun anlamlı oranda kolesteatoması olan hastalarda daha fazla olduğu ancak kolesteatomalı hastanın kendi DKY cildi ile karşılaştırıldığında benzer oranlarda eksprese edildiği sonucuna

varılmıştır. Çocuklardaki Ki-67 ekspresyonu hem kolesteatomada hemde kontrol grubu DKY'sinde erişkin hastalara göre daha fazladır. Çocuklar ve erişkinlerdeki Ki-67 ekspresyonları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0.05$ ).

Mallet ve ark. (64) Ki-67 ile yaptıkları çalışmada kolesteatomanın proliferasyon indeksi ile kolesteatoma agresifliği ve klinik durum ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Çalışmada toplam 91 kolesteatoma değerlendirilmiş orta derece kemikcik destrüksiyonu olan hastaların %23'ünde Ki-67 pozitifliği, lateral semisirküler kanal, fasiyal kanal, tegmen timpani gibi yapıları destrükte eden ileri derece kemik destrüksiyonu olan hastaların %56'ında Ki-67 pozitifliği saptamışlardır ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu raporlamışlardır. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde ileri klinik evreye sahip kolesteatomalı hastalarda proliferasyon markırlarının boyanma oranları artmaktadır, özellikle bu artış Ki-67'ye göre PCNA'da daha fazla olarak bulunmuştur.

Prolifere hücre nükleer antijen günümüzde özellikle jinekolojik malignitelerde prognostik bir markır olmakla birlikte non-hodgkin lenfoma, tiroid ve cilt tümörlerinde de gradeleme açısından kullanılmaktadır (131, 133). Kolesteatoma ile yapılan PCNA çalışmalarında, matriksin özellikle bazal ve suprabazal tabakasında dış kulak yolu cildine göre ekspresyonunun artmış olduğu raporlanmıştır (131, 134). Bizim çalışmamızda da PCNA'nın dış kulak yolu cildi ile karşılaştırıldığında kolesteatoma epitelinin özellikle suprabazal tabakasında ekspresyonun arttığı, ayrıca aynı hastanın kolesteatoma epiteli ile karşılaştırıldığında PCNA'nın Ki-67'ye göre daha fazla oranda boyandığı tespit edilmiştir.

Hassman ve ark. (134) Ki-67 ve PCNA ile kolesteatoma matriksini 6-17 yaş grubu pediatrik hasta grubunda değerlendirmişler ve toplam 16 kolesteatoma dokusunu dış kulak yolu cildi ile karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada proliferasyon markırlarının boyanma dereceleri akıntı varlığı, kemikçik zincir hasarı ve kolesteatomanın yerleşimi ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak kolesteatom dokusundaki boyanmanın özellikle bazal, suprabazal ve üst tabakalarda olduğu, kontrol grubunda sadece bazal tabakada olduğu belirtilmiş ve immünohistokimyasal analiz ile klinik parametreler arasında ilişki bulunmamıştır. Çalışmamızda kolesteatoma proliferasyon markırlarının boyanma derecesi klinik ve radyolojik evre ile ilişkili bulunmuş olup, Hassman ve ark. (134) çalışmasında kullandıkları kulak

akıntısı varlığı, kemikçik zincir hasarı, kolesteatomanın yerleşimi ile klinik parametler açısından farklılıklar içermektedir.

Kuczkowski ve ark. (135) kolesteatoma üzerinde yaptıkları Ki-67 ve telomeraz aktivitesi çalışmasında Ki-67 ekspresyonunun dış kulak yolu cildi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı ve telomeraz aktivasyonunun dış kulak yolu cildine göre kolesteatomada daha düşük olduğu raporlanmıştır.

Sonuç olarak çalışmamızda kolesteatoma dokusundaki PCNA ve Ki-67 ekspresyonu ile kolesteatomanın yaygınlığı (klinik ve radyolojik evre) arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Çocuk hasta grubunda kolesteatoma dokusunda erişkin hasta grubunun kolesteatoma dokusundan daha fazla PCNA ve Ki-67 ekspresyonu olduğu dikkati çekmektedir. Bu sonuç aşırı proliferasyon olan kolesteatoma dokusunun daha destrüktif seyrettiği şeklinde yorumlanabilir. Elde edilen veriler literatürde belirtildiği gibi kolesteatomanın patogenezinde proliferasyonun önemli rol oynadığını göstermektedir. PCNA ve Ki-67 ekspresyonlarına bakılarak kolesteatomanın klinik davranışı hakkında bilgi edinilebilir. Bu ilişkiyi ortaya koymak için ileriki çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

## 5. KAYNAKLAR

1. Bennett M, Warren F, Jackson GC, Kaylie D. Congenital cholesteatoma: theories, facts, and 53 patients. *Otolaryngol Clin North Am* 2006; 39: 1081-1094.
2. Isaacson G. Diagnosis of pediatric cholesteatoma. *Pediatrics* 2007; 120: 603-608.
3. Oijen MG, Medema RH, Slootweg PJ, Rijksen G. Positivity of the proliferation marker Ki-67 in noncycling cells. *Am J Clin Pathol* 1998; 110: 24–31.
4. Mailand N, Seymour IG, Jensen SB. Regulation of PCNA protein interactions for genome stability. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2013; 14: 269-282.
5. Güneri EA. Kulak embriyolojisi ve doğumsal kulak hastalıkları. *Otoloji ve Nöro-otoloji*. Çelik O (editör). İstanbul: Elit Ofset Matbaacılık, 2013; 1-23.
6. Beahm EK, Walton RL. Auricular reconstruction for microtia: part I. Anatomy, embryology and clinical evaluation. *Plast Reconstr Surg* 2002; 109: 2473-2482.
7. Park C. Lower auricular malformations: their representation, correction and embryologic correlation. *Plast Reconstr Surg* 1999; 104: 29-40.
8. Toth M, Helling K, Baksa G, Mann W. Localization of congenital tegmen tympani defects. *Otol Neurotol* 2007; 28: 1120-1123.
9. Rich PM, Graham J, Phelps PD. Hyrtl's fissure. *Otol Neurotol* 2002; 23: 476-482.
10. Ken K, William PP. Congenital cholesteatoma. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 12: 398–403.

11. Miklos T, Jarinratn S, Wolf M. Patterns of anomalies of structures of the middle ear and the facial nerve as revealed in newborn temporal bones. *Otol Neurotol* 2013; 34: 1121-1126.
12. Robert AJ. Embryology of the facial nevre. *Am J Otol* 1988; 5: 423-426.
13. D'Alessandro D, Danti S, De Vito A, Forli F, Bruschini L, Berrettini S. Histologic characterization of human ear ossicles for the development of tissue engineered replacements. *Otol Neurotol* 2012; 33: 1458-1468.
14. Seibert JW, Danner CJ. Eustachian tube function and the middle ear. *Otolaryngol Clin N Am* 2006; 39: 1221-1235.
15. Juliano AF, Ginat DT, Moonis G. Imaging review of the temporal bone: part I anatomy and inflammatory and neoplastic processes. *Radiology* 2013; 269: 17-33.
16. Borin A, Covolan L, Mello LE, Okada DM, Cruz OLM, Testa JRG. Anatomical study of a temporal bone from a non-human primate (*Callithrix* sp). *Rev Bras Otorrinolaringol* 2008; 74: 370-373.
17. Francis HW. Anatomy of the temporal bone, external ear and middle ear. Flint PW, Haughey BH, Lund VJ, Niparko JK, Richardson MA, Robbins KT (editors). *Cummings Otolaryngology Head & Neck Surgery*. Fifth Edition, New York: Mosby Elsevier, 2010; 1821-1830.
18. Gulya AJ, Anatomy of the ear and temporal bone. Glasscock ME, Gulya AJ (editors). *Surgery of the Ear*. Fifth Edition, Spain: WB Saunders Company, 2003: 35-59.
19. Özgirgin ON, Çelik O. Otoskleroz. Çelik O (editör). *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi*. Birinci Basım, İzmir: Asya Tıp Kitabevi, 2007; 220-250.

20. Kashiwamura M, Fukuda S, Chida E, Matsumura M. Locations of congenital cholesteatoma in the middle ear in Japanese patient. *Am J Otolaryngol* 2005; 26: 372-376.
21. McKinley M, O'Loughlin VD (editors). *Senses: general and special. Human Anatomy. Third Edition*, New York: Mc Graw Hill Lange, 2012; 586-603.
22. Lerut B, Pfammatter A, Moons J, Linder T. Functional correlations of tympanic membrane perforation size. *Otol Neurotol* 2012; 33: 379-386.
23. Rösli C, Sim JH, Chatzimichalis M, Huber AM. How does closure of tympanic membrane perforations affect hearing and middle ear mechanics? An evaluation in a patient cohort and temporal bone models. *Otol Neurotol* 2012; 33: 371-378.
24. Gulya AJ (Editor). *Gulya and Schuknecht's Anatomy of the Temporal Bone with Surgical Implications. Third Edition*, New York: Informa Healthcare, 2007; 41-115.
25. Uluğ T. *Temporal Kemik Cerrahisi Atlas. İkinci Baskı*, İstanbul: A4 Ofset, 2006; 25-75.
26. Fischbein NJ, Ong KC. Radiology. Lalwani AK (editor). *Current Diagnosis& Treatment Otolaryngology Head and Neck Surgery. Third Edition*, New York: Mc Graw Hill Lange, 2012; 52-176.
27. Vrabc JT, Lin JW. Inner ear anomalies in congenital aural atresia. *Otol Neurotol* 2010; 31: 1421-1426.
28. Cila A. Temporal kemik. Akan H (editör). *Baş ve Boyun Radyolojisi. Birinci Baskı*, Ankara: MN Medikal& Nobel, 2008; 104-18.
29. Brown KD, Banuchi A, Selesnick SH. Diseases of external ear. Lalwani AK (editor). *Current Diagnosis& Treatment Otolaryngology Head and Neck Surgery. Third Edition*, New York: Mc Graw Hill Lange, 2012; 645-661.

30. Gopen Q. Middle ear and mastoid. Gopen Q (editor). *Fundamental Otolaryngology Pediatric & Adult Practice*. First Edition, New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers, 2013; 85-91.
31. Gopen Q, Sepahdari A. Imaging. Gopen Q (editor). *Fundamental Otolaryngology Pediatric & Adult Practice*. First Edition, New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers, 2013; 302-378.
32. Chole RA, Sudhoff HH. Chronic Otitis Media, Mastoiditis and Petrositis. Flint PW, Haughey BH, Lund VJ, Niparko JK, Richardson MA, Robbins KT (editors). *Cummings Otolaryngology Head & Neck Surgery*. Fifth Edition, New York: Mosby Elsevier, 2010; 1963-1978.
33. El-Kashlan HK, Harker LA, Shelton C, Aygun N, Niparko JK. Complications of temporal bone infections. Flint PW, Haughey BH, Lund VJ, Niparko JK, Richardson MA, Robbins KT (editors). *Cummings Otolaryngology Head & Neck Surgery*. Fifth Edition, New York: Mosby Elsevier, 2010; 1979-1998.
34. Aduda DSO, Macharia IM, Mugwe P, Oburra H, Farragher B, Brabin B, et al . Bacteriology of chronic suppurative otitis media (CSOM) in children in Garissa district, Kenya: A point prevalence study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2013; 77: 1107-1111.
35. Wood WA, Raz Y. Intracranial complications of otitis media. Myers EN, Carrau RL (editors), *Operative Otolaryngology: Head and Neck Surgery*. Second Edition, New York: Elsevier, 2008: 1229-1240.
36. Jason AS, Christopher JD. Complications of chronic otitis media and cholesteatoma. *Otolaryngol Clin N Am* 2006; 39: 1237–1255.
37. Nevoux J, Lenoir M, Roger G, Denoyelle F, Ducou LPH, Garabédian EN. Childhood cholesteatoma. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis* 2010; 127: 143-150.

38. Maroun TS, Cliff AM. The pathophysiology of cholesteatoma. *Otolaryngol Clin N Am* 2006; 39: 1143–1159.
39. Benson J, Mwanri L. Chronic suppurative otitis media and cholesteatoma in Australia's refugee population. *Aust Fam Physician* 2012; 41: 978-980.
40. Yalçın Ş. Kolesteatoma. Devranoğlu İ (editor), *Dış ve Orta Kulak Cerrahisi*. Birinci Basım, İstanbul: Deomed, 2011; 241-255.
41. Tos M. A new pathogenesis of mesotympanic (congenital) cholesteatoma. *Laryngoscope* 2000; 110: 1890–1897.
42. Soldati D, Mudry A. Knowledge about cholesteatoma, from the first description to the modern histoathology. *Otol Neurotol* 2001; 22: 723-730.
43. Olszewska E, Wagner M, Sprekelsen BM, Ebmeyer J, Dazert S, Hildmann H, et al. Etiopathogenesis of cholesteatoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2004; 261: 6-24.
44. Sudhoff H, Bujia J, Borkowshi G, Koc C, Holly A, Hildman H, et al. Basement membrane in middle ear cholesteatoma, immunohistochemical and ultrastructural observations. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1996; 105: 804-810
45. Akyıldız N. *Kulak Hastalıkları ve Mikrocerrahisi*. Birinci Basım, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 1998; 354-418.
46. Yeo SW, Kim SW, Chang KH, Suh BD. The clinical evaluations of pathophysiology for congenital middle ear cholesteatoma. *Am J Otolaryngol* 2001; 22: 184-189.
47. Landegger LD, Cohen MS. Congenital cholesteatoma in siblings. *J Laryngol Otol* 2013; 127: 1143-1144.
48. Kazahaya K, Postic WP. Congenital cholesteatoma. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 12: 398-403.

49. Karmody CS, Byahatti SV, Blevins N, Valtonen H, Northrop C. The origin of congenital cholesteatoma. *Am J Otol* 1998; 19: 292-297.
50. Northrop C, Pisa J, Eavey RD. Histological observations of amniotic fluid cellular content in the ear of neonates and infants. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1986; 11: 113-127.
51. Koltai PJ, Nelson M, Zastellon RJ, Garabedian EN, Triglia JM, Roman S et al. The natural history of congenital cholesteatoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 128: 804-809.
52. Bloksgaard M, Knudsen SV, Sorensen JA, Bagatolli L, Brewer J. Structural characterization and lipid composition of acquired cholesteatoma: a comparative study with normal skin. *Otol Neurotol* 2012; 33: 177-183.
53. Bayazit YA, Karakök M, Uçak R, Kanlıkama M. Cyclin dependent kinase inhibitor, p27 (KIP1), is associated with cholesteatoma. *Laryngoscope* 2001; 111: 1037-1041.
54. Choufani G, Mahillon V, Decaestecker C. Determination of the levels of expression of sarcolectin and calyculin and of the percentages of apoptotic but not proliferating cells to enable distinction between recurrent and nonrecurrent cholesteatoma. *Laryngoscope* 1999; 109: 1825–1831.
55. Shinoda H, Huang CC. Heat shock proteins in middle ear cholesteatoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1996; 114: 77–83.
56. Park HJ, Park K. Expression of Fas/APO1 and apoptosis of keratinocytes in human cholesteatoma. *Laryngoscope* 1999; 109: 613–616.
57. Lavezzi A, Mantovani M, Cazzulo A. Significance of trisomy 7 related to PCNA index in cholesteatoma. *Am J Otolaryngol* 1998; 19: 109–112.
58. Tanaka Y, Shiwa M, Kojima H. A study on epidermal proliferation ability in cholesteatoma. *Laryngoscope* 1998; 108: 537–542.

59. Shinoda H, Huang CC. Expression of c-jun and p53 proteins in human middle ear cholesteatoma: relationship to keratinocyte proliferation, differentiation, and programmed cell death. *Laryngoscope* 1995; 105: 1232–1237.
60. Tokuriki M, Noda I, Saito T, Narita N, Sunaga H, Tsuzuki H, et al. Gene expression analysis of human middle ear cholesteatoma using complementary DNA arrays. *Laryngoscope* 2003; 113: 808-814.
61. Adunka O, Gstoettner W, Knecht R, Kierner AC. Expression of hypoxia inducible factor 1  $\alpha$  and von hippel lindau protein in human middle ear cholesteatoma. *Laryngoscope* 2003; 113: 1210-1215.
62. Chien AJ, Presland RB, Kuechle MK. Processing of native caspase-14 occurs at an atypical cleavage site in normal epidermal differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 296: 911–917.
63. James AL, Chadha NK, Papsin BC, Stockley TL. Pediatric cholesteatoma and variants in the gene encoding connexin 26. *Laryngoscope* 2010; 120: 183-187.
64. Mallet Y, Nouwen J, Houcke ML, Desaulty A. Aggressiveness and quantification of epithelial proliferation of middle ear cholesteatoma by MIB1. *Laryngoscope* 2003; 113: 328-331.
65. Austin DF. Reporting results in tympanoplasty. *Am J Otol* 1985; 6: 85-88.
66. Meyerhoff WL, Truelson J. Cholesteatoma staging. *Laryngoscope* 1986; 96: 935-939.
67. Kim YH, Yoo JC, Lee JH, Oh SH, Chang SO, Koo JW, et al. Stage progression of congenital cholesteatoma in children. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2012; 269: 833-837.
68. Saleh HA, Mills RP. Classification and staging of cholesteatoma. *Clin Otolaryngol* 1999; 24: 355-359.

69. Warren FM, Shelton C, Wiggins RH. *Neuroradiology of the temporal bone and skull base*. Flint PW, Haughey BH, Lund VJ, Niparko JK, Richardson MA, Robbins KT (editors). *Cummings Otolaryngology Head & Neck Surgery*. Fifth Edition, New York: Mosby Elsevier, 2010; 1916-1931.
70. Selman Y, Wood JW, Telischi FF, Casiano RR, Angeli SI. Development of cholesterol granuloma in a temporal bone petrous apex previously containing marrow exposed to air cells. *Otol Neurotol* 2013; 34: 958-960.
71. Leung R, Samy RN, Leach JL, Murugappan S, Stredney D, Wiet G. Radiographic anatomy of the infracochlear approach to the petrous apex for computer assisted surgery. *Otol Neurotol* 2010; 31: 419-423.
72. Bitar MA, Choi SS, Emamian SA, Vezina LG. Congenital middle ear cholesteatoma: need for early recognition role of computed tomography scan. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2003; 67: 231-235.
73. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000; 182: 311–322.
74. João DCG, Celina SBP, Adriana LA, Fernando QR. Hyperproliferation markers in ear canal epidermis. *Braz J Otorhinolaryngol* 2010; 76: 667-671.
75. Tang LH, Gonen M, Hedvat C, Modlin IM, Klimstra DS. Objective quantification of the Ki67 proliferative index in neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system: a comparison of digital image analysis with manual methods. *Am J Surg Pathol* 2012; 36: 1761-1770.
76. Raffa S, Leone L, Scrofani C, Monini S, Torrisi MR, Barbara M. Cholesteatoma associated fibroblasts modulate epithelial growth and differentiation through KGF/FGF7 secretion. *Histochem Cell Biol* 2012; 138: 251-269.

77. Aaltomaa S, Lipponen P, Vesalainen S, Opas MA, Eskelinen M, Syrjänen K. Value of Ki-67 immunolabelling as a prognostic factor in prostate cancer. *Eur Urol* 1997; 32: 410–415.
78. Borre M, Bentzen SM, Nerstrøm B, Overgaard J. Tumor cell proliferation and survival in patients with prostate cancer followed expectantly. *J Urol* 1998; 159: 1609–1614.
79. Liu P, Sun YL, Du J, Hou XS, Meng H. CD105/Ki67 coexpression correlates with tumor progression and poor prognosis in epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2012; 22: 586-592.
80. Sanchita M, Jaiprakash A, Sadhana K, Sagar P, Shubhada K, Tanuja T. PCNA and anti-apoptotic Mcl-1 proteins predict disease free survival in oral cancer patients treated with definitive radiotherapy. *Oral Oncol* 2010; 46: 688–693.
81. Merkerova M, Bruchova H, Brdicka R. Expression analysis of PCNA gene in chronic myelogenous leukemia Combined application of siRNA silencing and expression arrays. *Leuk Res* 2007; 3: 661–672.
82. Connolly KM, Bogdanffy MS. Evaluation of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as an endogenous marker of cell proliferation in rat liver: a dual stain comparison with 5-bromo-2'-deoxyuridine. *J Histochem Cytochem* 1993; 41: 1-6.
83. Kamel OW, Warnke RA, Banks PM. Localization of proliferating cell nuclear antigen (PCNA/Cyclin) in workshop cases of Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Diagn Pathol* 1992; 9: 311-314.
84. Baldwin P, Laskey R, Coleman N. Translational approaches to improving cervical screening. *Nature Reviews Cancer* 2003; 3: 217-226.
85. Wang W, Luo H, Wang A. Expression of survivin and correlation with PCNA in osteosarcoma. *J Surg Oncol* 2006; 93: 578-584.

86. Casasco A, Giordano M, Danova M, Casasco M, Icaro Cornaglia A, Calligaro A. PC10 monoclonal antibody to proliferating cell nuclear antigen as probe for cycling cell detection in developing tissues; a combined immunocytochemical and flow cytometric study. *Histochemistry* 1993; 99: 191-199.
87. Golz A, Goldenberg D, Netzer A. Cholesteatomas associated with ventilation tube insertion. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 125: 754–757.
88. Bluestone CD, Klein JO (editors). *Otitis Media in Infants and Children*. Fourth Edition, Italy: BC Decker Inc, 2007; 1-19.
89. Aquino JE, Filho NAC, Aquino JN. Epidemiologies of middle ear and mastoid cholesteatomas. *Braz J Otolaryngol* 2011; 77: 341-347.
90. Rout MR, Mohanty D, Vijaylaxmi Y, Kamalesh B, Chakradhar M. Prevalence of cholesteatoma in chronic suppurative otitis media with central perforation. *Indian J Otology* 2012; 18: 7-10.
91. Vander GM, Rimmelink M, Mansbach AL, Hassid S, Choufani G. Galectin-1, -3, -7 expressions in congenital and acquired pediatric cholesteatomas compared to external auditory canal skin. *Clin Exp Otorhinolaryngol* 2012; 5: 62-67.
92. Kim CW, Baek SH, Lee SH, Kim GW, Cho BK. Clinical characteristics of spontaneous cholesteatoma of the external auditory canal in children comparing with cholesteatoma in adults. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2013; 21: 34-39.
93. Preciado DA. Biology of cholesteatoma: special considerations in pediatric patients. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2012; 76: 319-321.
94. Schraff SA, Strasnick B. Pediatric cholesteatoma: a retrospective review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2006; 70: 385-393

95. Ergun S, Zheng X, Carlsoo B. Antigen expression of epithelial markers, collagen IV and Ki67 in middle ear cholesteatoma an immunohistochemical study. *Acta Otolaryngol* 1994; 114: 295-302.
96. Kim TT, Chen CT, Huang CC. Expression of annexin II in human middle ear cholesteatoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 118: 324-328.
97. Shieh TJ, Ho KY, Kuo WR, Chai CY, Lin CS, Juan KH. Evaluation of proliferative activity in middle ear cholesteatoma using proliferating cell nuclear antigen. *Kaohsiung J Med Sci* 1999; 15: 468-474.
98. Bujia J, Holly A, Kim C, Scanady N, Kastenbauer E. Expression of human intercellular adhesion molecules in middle ear cholesteatoma. *Am J Otolaryngol* 1994; 15: 271-275.
99. Olszewska E, Rutkowska J, Minovi A, Sieskiewicz A, Rogowski M, Dazert S. The role of p21 and p53 proteins in congenital cholesteatoma. *Otol Neurotol* 2013; 34: 266-274.
100. Huisman MA, Heer ED, Grote JJ. Cholesteatoma epithelium is characterized by increased expression of Ki-67, p53 and p21, with minimal apoptosis. *Acta Otolaryngol* 2003; 123: 377-382.
101. Albino AP, Kimmelman CP, Parisier SC. Cholesteatoma: a molecular and cellular puzzle. *Am J Otolaryngol* 1998; 19: 7-19.
102. Kojima H, Miyazaki H, Tanaka Y, Shiwa M, Koga T, Moriyama H. Role of Bcl-xL protein differentiation and apoptosis of human middle ear cholesteatoma epithelium. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 125: 738-742.
103. Jeong JH, Park CW, Tae K, Lee SH, Shin DH, Kim KR. Expression of RANKL and OPG middle ear cholesteatoma tissue. *Laryngoscope* 2006; 116: 1180-1184.

104. Huisman MA, Heer E, Dijke PT, Grote JJ. Transforming growth factor  $\beta$  and wound healing in human cholesteatoma. *Laryngoscope* 2008; 118: 94-98.
105. Hansen T, Unger RE, Gaumann A, Hundorf I, Maurer J, Kirkpatrick CJ, Kriegsmann J. Expression of matrix-degrading cysteine proteinase cathepsin K in cholesteatoma. *Mod Pathol* 2001; 14: 1226-1231.
106. Hsu YC, Ho KY, Chai CY, Lee KW, Wang LF, Wu SC, et al. Expression of epidermal growth factor receptor in human middle ear cholesteatoma. *Kaohsiung J Med Sci* 2003; 19: 497-502.
107. Yoshikawa M, Kojima H, Yaguchi Y, Okada N, Saito H, Moriyama H. Cholesteatoma fibroblasts promote epithelial cell proliferation through overexpression of epiregulin. *PLoS One* 2013; 8: 24-26.
108. Bujía J, Kim C, Ostos P, Kastenbauer E, Hültner L. Role of interleukin 6 in epithelial hyperproliferation and bone resorption in middle ear cholesteatomas. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1996; 253: 152-157.
109. Bujía J, Kim C, Ostos P, Sudhoff H, Kastenbauer E, Hültner L. Interleukin 1 (IL-1) and IL-1-receptor antagonist (IL-1-RA) in middle ear cholesteatoma: an analysis of protein production and biological activity. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1996; 253: 252-255.
110. Iwanaga M, Yamamoto E, Fukumoto M. Cathepsin activity in cholesteatoma. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1985; 84: 309-312.
111. Schilling V, Bujia J, Negri B, Kastenbauer E. Interleukin-1 containing cells in cholesteatoma of the middle ear. *Laryngorhinootologie* 1992; 71: 271-275.
112. Sudhoff H, Borkowski G, Bujia J, Hildmann H, Eckhoff AF. Immunohistochemical studies with middle ear mucosal remnants in cholesteatoma. *HNO* 1997; 45: 630-635.
113. Kuczkowski J, Burkiewicz MS, Świeszewska IE, Mikaszewski B, Pawelczyk T. Expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-1 $\alpha$ , interleukin-6 and

interleukin-10 in chronic otitis media with bone osteolysis. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2011; 73: 93-99.

114. Hilton CW, Ondrey FG, Wuertz BR, Levine SC. Interleukin-8 production in response to tumor necrosis factor-alpha by cholesteatoma keratinocytes in cell culture. *Laryngoscope* 2011; 121: 372-374.
115. Kakiuchi H, Kinoshita K, Katoh Y, Tabata T. Interleukin-1 of cholesteatomatous keratinocytes. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 1992; 157: 32-38.
116. Schmidt M, Grünsfelder P, Hoppe F. Induction of matrix metalloproteinases in keratinocytes by cholesteatoma debris and granulation tissue extracts. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2000; 257: 425-429.
117. Haruyama T, Furukawa M, Kusunoki T, Onoda J, Ikeda K. Expression of IL-17 and its role in bone destruction in human middle ear cholesteatoma. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2010; 72: 325-331.
118. Oger M, Alpay HC, Orhan I, Onalan EE, Yanilmaz M, Sapmaz E. The effect of BMP- 2, BMP-4 and BMP-6 on bone destruction of cholesteatoma presence. *Am J Otolaryngol* 2013; 34: 652-657.
119. Gurgel CJD, Pereira SB, Alves AL, Ribeiro FQ. Hyperproliferation markers in ear canal epidermis. *Braz J Otorhinolaryngol* 2010; 76: 667-671.
120. Durko M, Kaczmarczyk D. Proliferation activity and apoptosis in granulation tissue and cholesteatoma in middle ear reoperations. *Folia Morphol* 2004; 63: 119-121.
121. Sudhoff H, Bujía J, Eckhoff FA, Holly A, Flake SC, Hildmann H. Expression of a cell cycle associated nuclear antigen (MIB1) in cholesteatoma and auditory meatal skin. *Laryngoscope* 1995; 105: 1227-1231.
122. Uchida N, Ito S, Hirano M. Localization of proliferating cell nuclear antigen in aural cholesteatoma. *Kurume Med J* 1993; 40: 225-228.

123. Bujia J, Sudhoff H, Holly A, Hildmann H, Kastenbauer E. Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen in middle ear cholesteatoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1996; 253: 21-24.
124. Olszewska E, Chodynicky S, Chyczewski L. Evaluation of epithelial proliferation and apoptosis in cholesteatoma of adults. *Otolaryngol Pol* 2003; 57: 85-89.
125. Raynov AM, Moon SK, Choung YH, Hong SP, Park K. Nucleoplasm staining patterns and cell cycle associated expression of Ki-67 in middle ear cholesteatoma. *Am J Otolaryngol* 2005; 26: 296-301.
126. Chae SW, Song JJ, Suh HK, Jung HH, Lim HH, Hwang SJ. Expression patterns of p27 Kip1 and Ki-67 in cholesteatoma epithelium. *Laryngoscope* 2000; 110: 1898-1901.
127. Olszewska E, Chodynicky S, Chyczewski L, Rogowski M. Some markers of proliferative activity in cholesteatoma epithelium in adults. *Med Sci Monit* 2006; 12: 337-340.
128. Bujia J, Holly A, Sudhoff H, Candela FA, Tapia MG, Kastenbauer E. Identification of proliferating keratinocytes in middle ear cholesteatoma using the monoclonal antibody Ki-67. *Otorhinolaryngol Relat Spec* 1996; 58: 23-26.
129. Park K, Park HJ, Chun YM. Immunohistochemical study on proliferative activity of experimental cholesteatoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2001; 258: 101-105.
130. Hildmann H, Sudhoff H. Cholesteatoma in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1999; 49: 81-86.
131. Welkoborsky HJ, Jacob RS, Hinni ML. Comparative analysis of the epithelium stroma interaction of acquired middle ear cholesteatoma in children and adults. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007; 264: 841-848.

- 132.** Moon IS, Kwon MO, Park CY, Hong SJ, Shim DB, Kim J et al. Surgical management of labyrinthine fistula in chronic otitis media with cholesteatoma. *Auris Nasus Larynx* 2012; 39: 261-264.
- 133.** Ho KY, Huang HH, Hung KF, Chen JC, Chai CY, Chen WT, et al. Cholesteatoma growth and proliferation: relevance with serpin B3. *Laryngoscope* 2012; 122: 2818-2823.
- 134.** Hassmann-Poznańska E, Skotnicka B, Dziecioł J. Markers of epidermal proliferation in middle ear cholesteatoma. *Otolaryngol Pol* 2003; 57: 505-511.
- 135.** Kuczkowski J, Pawelczyk T, Bakowska A, Narozny W, Mikaszewski B. Expression patterns of Ki-67 and telomerase activity in middle ear cholesteatoma. *Otol Neurotol* 2007; 28: 204-207.

## 6. ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Elazığ'da doğdum. İlkokulu Tunceli Cumhuriyet İlkokulu'nda, ortaokul ve liseyi Tunceli Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 2003 yılında İzmir 9. Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım. 2009 yılında tıp fakültesinden mezun olarak mecburi hizmette 3 ay kadar Tunceli Devlet Hastanesi Acil Servisinde çalıştım. 2009 yılında girmiş olduğum tıpta uzmanlık sınavı ile Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun ve Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda ihtisasa başladım. Halen bu klinikte çalışmaktayım, evliyim ve Ali Atlas isminde bir oğlumuz var.