



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HASEKİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TİMPANOSKLEROZLU HASTALARDA SKLEROSTİN
DÜZEYLERİNİN KLİNİK ÖNEMİ

Dr. Demet Candemir

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2024



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HASEKİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TİMPANOSKLEROZLU HASTALARDA SKLEROSTİN
DÜZEYLERİNİN KLİNİK ÖNEMİ

Dr. Demet Candemir

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hüsamettin Yaşar

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL/2024

TEŞEKKÜR

Kulak Burun Boğaz eğitiminin temel ve en önemli aşamalarından olan asistanlık eğitimi sürecini bitirirken, hem eğitim sürecim boyunca tecrübe ve bilgilerini hiçbir zaman esirgemeyen hem de tezimin her aşamasında bana yol gösteren Eğitim Sorumlumuz Prof. Dr. Hüsamettin Yaşar'a,

Eğitim sürecim boyunca tecrübelerinden faydalandığım ve her konuda desteğini hissettiğim İdari Sorumlumuz Doç. Dr. Semih Uşaklıoğlu'na,

Asistanlığım süresince her zaman desteklerini ve yardımlarını gördüğüm çok değerli klinik uzmanlarım Doç. Dr. Abdullah Karataş'a, Doç. Dr. Melek Uyar'a, Doç. Dr. Reşit Murat Açıkalin'a, Başasistan Op. Dr. Işıl Taylan Çebi'ye, Doç. Dr. Erdinç Çekiç'e, Op. Dr. Recep Haydar Koç'a, Op. Dr. Bilal Sarataş'a,

Biyokimyasal analiz için bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Uzm. Dr. Yasemin Erdoğan Döventaş'a,

Patoloji prepartlarını incelemede yardımcı olan Dr. Ezgi Çetin'e,

Eğitimini tamamlayıp kliniğimizden ayrılmış olan değerli bilgilerinden yararlandığım kıdemli asistan arkadaşlarım; Op. Dr. Hüseyin Tarık Yanık, Op. Dr. Nihat Erdem Yorguner, Op. Dr. Yücel Alperen Akpınar, Op. Dr. Gökhan Gürbüz, Op. Dr. Mürüvvet Paksoy, Op. Dr. Yağmur Barcan, Op. Dr. İrem Gökgez, Op. Dr. Sevim Pırıl Karasu'ya,

Asistanlığım süresince beraber çalışmaktan çok memnun olduğum ve her aşamada değerli desteklerini gördüğüm sevgili asistan arkadaşlarım Dr. Kerem Berat Kılavuz, Dr. Eymen Fırıncıoğulları, Dr. Melis Tanrıseven, Dr. Ali Taha Göçer, Dr. Hilal Cansız, Dr. Nurullah Olam, Dr. Ahmet Fırat Aksoy, Dr. Lukas Demirci, Dr. Gökberk Yılmaz, Dr. Ahmet Gür, Dr. Elif Akbaş, Dr. İsmail Alperen Usta, Dr. Dilanur Gücük, Dr. Ezgi Çöllü, Dr. Gülcan Ceren Özyurt, Dr. Hasan Ediz Özbek, Dr. Ceyhun Emre Sönmez, Dr. Ayşe Serra Kırıcı, Dr. Beyza Nur İncikuşu, Dr. Yaren Kömürcü, Dr. Betül Yayla, Dr. Mihriban

Özer, Dr. Mehmet Zahir Akkurt, Dr. Buse Durmuş, Dr. Betül Yılmaz, Dr. Ömer Özcömert, Dr. Büşragül Yılmaz'a,

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım değerli odyoloji teknisyeni arkadaşlarım, servisimizin ve ameliyathanemizin değerli hemşireleri ve personellerine,

Yaşamımın her anında ve her kararında yanımda olarak bana destek olan ve bugünlere gelmemi sağlayan annem Dilek Candemir, babam Kemal Candemir ve ablam İpek Candemir Deren başta olmak üzere bütün aileme

Sonsuz saygı ve teşekkürü borç bilirim.

Dr. Demet Candemir

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMALAR.....	v
ŞEKİL DİZİNİ.....	vi
TABLO DİZİNİ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kulak Anatomisi.....	3
2.1.1. Dış Kulak.....	4
2.1.2. Orta Kulak.....	5
2.1.3. İç Kulak.....	8
2.2. Timpanoskleroz Tanımı.....	9
2.3. Tarihçe.....	10
2.4. Epidemiyoloji.....	11
2.5. Etiyoloji ve Patogenez.....	12
2.5.1. Patogenez.....	12
2.5.2. Etiyolojiye Dair Teoriler.....	13
2.6. Histoloji.....	19
2.7. Sınıflandırma.....	22

2.8. Plakların Yerleşimi.....	23
2.9. Tanı.....	24
2.10. Ayırıcı Tanı.....	26
2.11. Tedavi.....	28
2.11.1. Koruyucu Tedavi.....	28
2.11.2. Cerrahi Tedavi.....	28
2.12. Sklerostin ve Metabolik Önemi.....	31
2.13. SOST Ekspresyonunun Düzenlenmesi.....	33
2.14. Sklerostin ve Wnt Yolunun Fonksiyonu.....	35
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	38
3.1. Timpanoskleroz ve Kontrol Grubunun Tanımlanması.....	38
3.2. Histomorfolojik Değerlendirme.....	39
3.3. Örneklerin Biyokimyasal Analizi.....	40
3.4. İstatistiksel Analiz.....	41
3.5. Etik Kurulu Onayı.....	41
3.6 Çıkar Çatışması.....	42
4.BULGULAR.....	43
5. TARTIŞMA.....	53
6. SONUÇLAR.....	64
7. KAYNAKLAR.....	65
8.ÖZGEÇMİŞ.....	74
9.EKLER.....	76

KISALTMALAR

BT:	Bilgisayarlı Tomografi
Cx43:	Connexin 43
E2:	Estradiol
ECM:	Extracellular Matrix
ECR:	Evolutionarily Conserved Region
ELISA:	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ER:	Östrojen Reseptörü
FFSS:	Fluid Flow Shear Stress
FSH:	Folikül Stimüle Edici Hormon
FZ:	Frizzled
HRCT:	High Resolution Computed Tomography
KOM:	Kronik Otitis Media
İTİK:	İletim Tipi İşitme Kaybı
KBH:	Kronik böbrek hastalığı
LEF:	Lymphoid Enhancer Factor
LRP:	Lipoprotein Reseptör İlişkili Protein
OPG:	Osteoprotegerin
PI3K:	Phosphatidylinositol 3-kinase
PTH:	Parathormon
RANK:	Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B
SPSS:	Statistical Package for the Social Sciences
TCF:	T-cell Factor
TS:	Timpanoskleroz
VK:	Vasküler kalsifikasyon
VT:	Ventilasyon tüpü

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: Temporal kemik anatomisi

Şekil 2: Aurikula anatomisi

Şekil 3: Timpanik membran anatomisi

Şekil 4: Timpanik kavite bölümleri ve kemikçikler

Şekil 5: İç kulak anatomisi

Şekil 6: Hiyalen plak otoskopik görüntüsü

Şekil 7: Kalsifik plak otoskopik görüntüsü

Şekil 8: Sklerotik plak histolojik görüntüsü

Şekil 9: Timpanoskleroz bilgisayarlı tomografi görüntüsü

TABLO DİZİNİ

TABLO 1: Wielinga & Kerr Sınıflaması

TABLO 2: Hastaların Tanımlayıcı Demografik ve Klinik Özellikleri

TABLO 3: Katılımcıların Hava İşitme Eşiği, Kemik İşitme Eşiği ve Hava-Kemik Aralığı Değerleri

TABLO 4: Hastaların Serum/Doku Sklerostin ve β -katenin Seviyeleri

TABLO 5: Timpanoskleroz ve Kontrol Gruplarının Demografik ve Klinik Özelliklerinin Karşılaştırması

TABLO 6: Timpanoskleroz ve Kontrol Gruplarının Yaş ve Hava İşitme Eşiği, Kemik İşitme Eşiği, Hava-Kemik Aralığı Karşılaştırmaları

TABLO 7: Skleroz Derecelerine Göre İşitme Eşiği Değerlerinin Karşılaştırması

TABLO 8: Membran ve Membran+Manubrium Gruplarının İşitme Eşiği Seviyelerinin Karşılaştırması

TABLO 9: Timpanoskleroz ve Kontrol Gruplarının Serum/Doku Sklerostin ile β -katenin Seviyelerinin Karşılaştırması

ÖZET

Amaç: Timpanoskleroz kulak zarı ve orta kulak boşluğunu etkileyen kalsifikasyon ve ossifikasyonlarla karakterize bir kulak patolojisidir. Hastalığın altında yatan patogeneze hala aydınlatılamamıştır. Bu çalışmanın amacı timpanoskleroz gelişiminde sklerostin proteininin olası rolünün değerlendirilmesi ve bu rolü gerçekleştirirken Wnt sinyal yoluyla olan ilişkisinin hastalık gelişimine olan etkisinin ortaya konmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Kasım 2023-Temmuz 2024 tarihleri arasında kliniğimizde tip 1 timpanoplasti operasyonu gerçekleştirilerek perop timpanoskleroz tanısı alan 56 timpanoskleroz hastası ve 28 timpanosklerozu olmayan kronik otitis media hastası çalışmaya dahil edildi. Hastalara ait klinik bilgilere, cinsiyet, yaş, preop odyolojik durumlarına, radyolojik görüntülemelerine ve ameliyat bilgilerine hastanemiz sistemi üzerinden ulaşıldı. Perop plakları görülen hastaların plak örnekleri histolojik tanı için rutin patolojik değerlendirmeye gönderildi. Timpanoskleroz ve kronik otitis media hastalarından perop alınan serum ile orta kulak mukoza örneklerinin sklerostin ve β -katenin ekspresyon düzeyleri değerlendirilerek klinik bilgilerle karşılaştırıldı. Ayrıca hastalara ait tanımlayıcı verilerle patolojinin klinik özellikleri değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmayı sürdürdüğümüz 8 aylık süreçte tip 1 timpanoplasti operasyonu geçiren kronik otitis media hastalarının %38'inde değişen derecelerde timpanoskleroz saptanmıştır. Timpanoskleroz grubunda kadın hastaların oranı erkek hastalardan daha fazla bulunmuştur ($p=0,012$). Timpanosklerozun iki kulağı da benzer oranda tuttuğu ($p=0,530$) ve yaş ortalamasının kronik otitis media hastalarınınkinden farklı olmadığı izlenmiştir ($p=0,872$). Timpanoskleroz hastalarında hava işitme eşiklerinin yükseldiği görülmüştür ($p=0,047$). Miringosklerozun işitmeyi etkilemediği ($p=0,590$) gösterilmiş olup membrandaki plağın manubriuma tutunması halinde işitmenin kötüleştiği tespit edilmiştir ($p=0,037$). Kemikçik tutulumunun yaygınlığı arttıkça işitmenin bozulduğu ortaya konmuştur.

Timpanoskleroz sürecinde sklerostin proteini lokal olarak etkilidir ($p=0,001$). Sistemik ve lokal β -katenin düzeyleri ile yüksek doku sklerostin seviyeleri arasında bağlantı kurulamamış olup timpanoskleroz patogenezinde sklerostinin Wnt yolağı üzerinden etki ettiğini destekler bulgu saptanmamıştır ($p=0,772$ ve $0,226$).

Sonuç: Çalışmamız insanlarda timpanoskleroz gelişiminde dokudaki sklerostin proteininin patolojiyle ilişkisini ortaya koymuştur. Başta anti sklerostin antikoru romosozumab olmak üzere, gelecekte geliştirilebilecek anti sklerostin tedavilerin kulak enfeksiyonlarının iyileşme döneminde kullanılabilmesi için sklerostin ve timpanoskleroz ilişkisini anlamaya katkı sağladığımıza inanmaktayız.

Anahtar Kelimeler: Timpanoskleroz, kronik otitis media, kalsifikasyon, sklerostin, Wnt yolu

ABSTRACT

Purpose: Tympanosclerosis is an ear pathology characterized by calcifications and ossifications affecting the tympanic membrane and middle ear cavity. The underlying pathogenesis of the disease is still unclear. The aim of this study was to evaluate the possible role of sclerostin protein in the development of tympanosclerosis and to determine the effect of its association with the Wnt signaling pathway on disease development.

Materials and Methods: Between November 2023 and July 2024, 56 patients with tympanosclerosis and 28 patients with chronic otitis media without tympanosclerosis who underwent type 1 tympanoplasty in our clinic and were diagnosed with tympanosclerosis during surgery were included in the study. Clinical information, gender, age, preop audiologic status, radiologic imaging and surgical information of the patients were accessed through the computer system of our hospital. Plaque samples from patients with plaques seen during surgery were sent for routine pathologic evaluation for histologic diagnosis. Sclerostin and β -catenin expression levels of serum and middle ear mucosa samples from patients with tympanosclerosis and chronic otitis media were evaluated and compared with clinical data. In addition, the clinical features of the pathology were evaluated using descriptive data of the patients.

Results: During the 8-month period of the study, 38% of chronic otitis media patients who underwent type 1 tympanoplasty had varying degrees of tympanosclerosis. The proportion of female patients was higher than male patients in the tympanosclerosis group ($p=0.012$). Tympanosclerosis involved both ears at similar rates ($p=0.530$) and the mean age was not different from that of the chronic otitis media patients ($p=0.872$). Air conduction thresholds were poorer in patients with tympanosclerosis ($p=0.047$). Myringosclerosis was not shown to affect hearing ($p=0.590$), but hearing worsened when the membrane plaque was attached to the manubrium ($p=0.037$). It has been demonstrated that hearing deteriorates as the extent of ossicular involvement increases.

Sclerostin protein is locally effective in the process of tympanosclerosis ($p=0.001$). There was no correlation between systemic and local β -catenin levels and sclerostin, and there was no evidence that sclerostin utilizes the Wnt pathway in the pathogenesis of tympanosclerosis ($p=0.772$ and $p=0.226$).

Conclusion: Our study revealed the association of sclerostin protein in tissue with pathology in the development of tympanosclerosis in humans. We believe that we have contributed to the understanding of the relationship between sclerostin and tympanosclerosis so that future anti-sclerostin therapies can be used during the healing period of ear infections.

Keywords: Tympanosclerosis, chronic otitis media, calcification, sclerostin, Wnt pathway

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Timpanoskleroz (TS), timpanik membran ve orta kulağın çeşitli derecelerde kalsifikasyonu ile seyreden ve klinikte nadir görülmeyen bir kulak patolojisidir. Klinik önemini iletim tipi işitme kaybına (İTİK) neden olarak kişinin günlük hayatını etkilemesinden almaktadır. Hastalığın ilk tariflendiği yaklaşık yüz elli yıl öncesinden beri etiyolojisi ve patogenezi aydınlatmaya yönelik çalışmalar farklı yaklaşımlar ve hipotezlerle literatürde yer almaya devam etmektedir.

İşitme ve konuşma iletişimin temel basamaklarıdır. Kişinin kendini ifade etme ve sosyalleşmesi için işitme hayatı bir önem arz etmektedir. İşitme kaybı hayatın her döneminde dikkat dağınık olabildiği ve performansı etkileyen bir patoloji olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle hayatın erken dönemlerinde ve çocukluk çağında ortaya çıkan işitme kayıpları çocuğun okul başarısını, dil ve zihinsel gelişimini etkileyebilmekte iletişim problemlerine neden olarak sosyal izolasyona neden olabilmektedir. Bu nedenle ülkemizde de 2015 senesinden beri okul çağı çocuklarında sonradan gelişen işitme kayıplarının tespiti için işitme tarama programı başlatılmıştır ve halen sürdürülmektedir.

Timpanosklerozu neden olduğu düşünülen etkenler arasında ağırlıklı görüş geçirilen orta kulak enfeksiyonları ve bunların sekelleridir. Bununla birlikte her kronik orta kulak enfeksiyonu olan hastada ortaya çıkmaması araştırmacıları altında yatan nedeni aydınlatmaya yönelik yeni çalışmalar yapmaya itmektedir. Pek çok araştırmacı bu sebeple patolojinin çeşitli biyolojik moleküller, sistemik hastalıklar, immün yanıt ve enfeksiyonlarla olan ilişkilerinin belirlenmesi için çalışmalarını şekillendirmektedir.

Hastalarda TS bir kez geliştikten sonra geri dönüşümsüz bir süreçtir ve ilerleme gösterir. Kimyasal etkileşimlerle patolojinin ortadan kaldırılmasına yönelik Eren ve arkadaşlarının (1) mesna ile gerçekleştirdikleri çalışma da dahil olmak üzere sınırlı sayıda yayın literatürde yerini almıştır. Ancak literatürdeki tedaviye yönelik çalışmaların önemli kısmı cerrahi ve takip yaklaşımı sonuçlarını değerlendirmeyi amaçlayan vaka serilerinden oluşmaktadır. Mikroskop ve endoskopların gelişmesiyle birlikte cerrahi tedavide giderek

yüz güldürücü sonuçlar artmaktadır. Bununla birlikte kalsifik plağın çıkarılması sırasında ortaya çıkabilecek komplikasyonlar ve hastalığın rekürren özellik göstermesinden dolayı takip etmeyi tercih eden klinisyen sayısı azımsanmayacak kadar fazladır.

Sklerostin proteini vücutta kemik yapım-yıkım süreçlerinde etkisi iyi bilinen bir SOST geni ürünüdür. Vücuttaki sklerostinin büyük miktarı osteositlerde üretilmekle birlikte damar çeperi, kalp, böbrek, karaciğer gibi pek çok dokuda varlığı gösterilmiştir. Önceleri sadece osteositlerde üretildiği düşünüldüğünden ilk yapılan çalışmalar osteoporoz üzerine yoğunlaşmıştır (2). Dokuların iyileşme sürecindeki fibrozis üzerine etkilerinin gösterilmesiyle birlikte özellikle son 20 yılda bu merak skleroz ve inflamasyonla seyreden hastalıkların araştırılmasına kaymıştır.

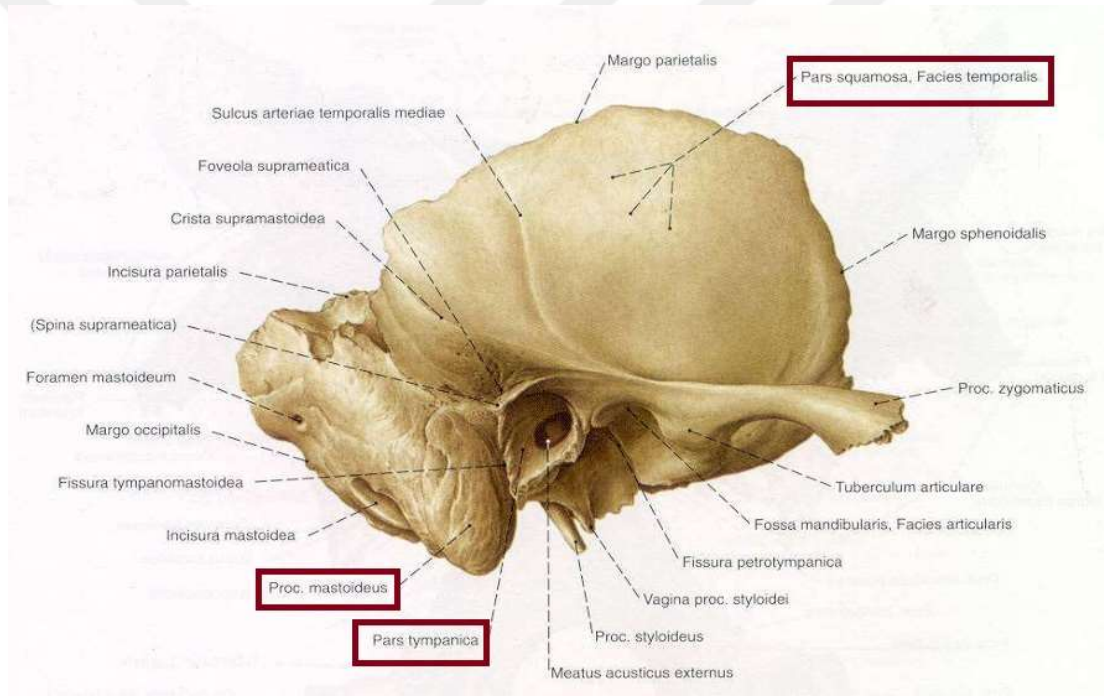
Çalışmamızın amacı kendi kliniğimizde ve ameliyathanemizde sıkça karşılaştığımız ancak hem görülme sıklığı hem de altta yatan mekanizması hakkında fikir birliğine varılamamış olan TS'nin, vücuttaki diğer dokularda sklerotik süreçlerde rol oynadığı çalışmalarla gösterilmiş olan sklerostin proteiniyle ilişkisini incelemektir. TS patogenezinde rolü tespit edilir ise sistemik yolla mı yoksa lokal olarak mı rolü olduğu sorusuna da cevap aranacaktır.

Bu amaçla TS ile ilgili genel bir bilgilendirme yapmak ve sklerostin molekülünün fizyolojik yolaklardaki rolünü açıklamak yerinde olacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. KULAK ANATOMİSİ

Kulaklar, başın iki tarafında yer alan ve kafatasının yapısına katılan temporal kemik içerisinde bulunur. Temporal kemik sfenoid, oksipital, pariyetal ve zigomatik kemiklerle eklemleşir ve böylece kranyum, kafa tabanı ve yüz yapısına katkıda bulunur. Skuamöz, mastoid, timpanik ve petröz adı verilen 4 ana parçadan oluşmaktadır (Şekil 1).



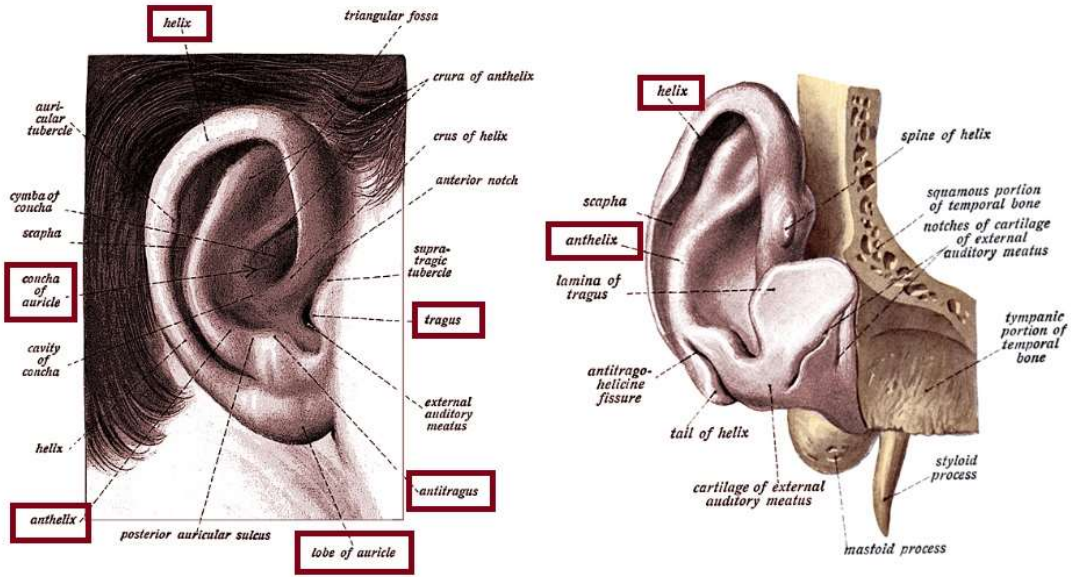
Şekil 1: Temporal kemik anatomisi

Kulak lateralinden mediale doğru belli membran yapılarla birbirinden ayrılarak dış, orta ve iç kulak olarak 3 bölümde incelenir.

2.1.1. Dış Kulak

Kulağın temporal kemik dışında kalan, membran kıkırdak ve bu kıkırdak lateralde sıkı medialde daha gevşek olarak çevreleyen bir deriden oluşan bölümüdür. Dış kulak, birinci ve ikinci brankiyal arkların membran ve mezoderminden ve birinci brankiyal oluktan gelişir. His tepecikleri olarak bilinen özel alanlar, kartilajda katlantılara neden olarak birinci brankiyal arktan tragus ve heliks adı verilen çıkıntıları ve ikinci brankiyal arktan antiheliks, antitragus ve lobül ile inferior heliksi meydana getirir (3)(Şekil 2).

Aurikula ve dış kulak kanalının duyuşal innervasyonu 5., 7. ve 10. kranial sinirlerle 3. servikal sinir tarafından yapılmaktadır. Kanlanması posterior aurikuler arter, oksipital arter ve superior temporal arter tarafından sağlanır. Venleri ise juguler vene dökülür. Lenfatik drenajı yüzeyel servikal, intraparotideal ve retroaurikuler lenf nodlarına olur (3).



Şekil 2: Aurikula anatomisi

Dış kulak kanalı lateralde konkal kartilajdan başlayıp medialde timpanik membrana kadar uzanmaktadır. Lateral 1/3'lük kısmı kartilaj, medial 2/3'ü kemikten

oluşur. Kıkırdak kanalı kaplayan deri daha kalındır, sebace ve apokrin bezler ile kıl foliküllerini içerir. Kemik kanalı kaplayan deri ise incedir ve timpanik membran epiteli ile devamlılık gösterir (3,4).

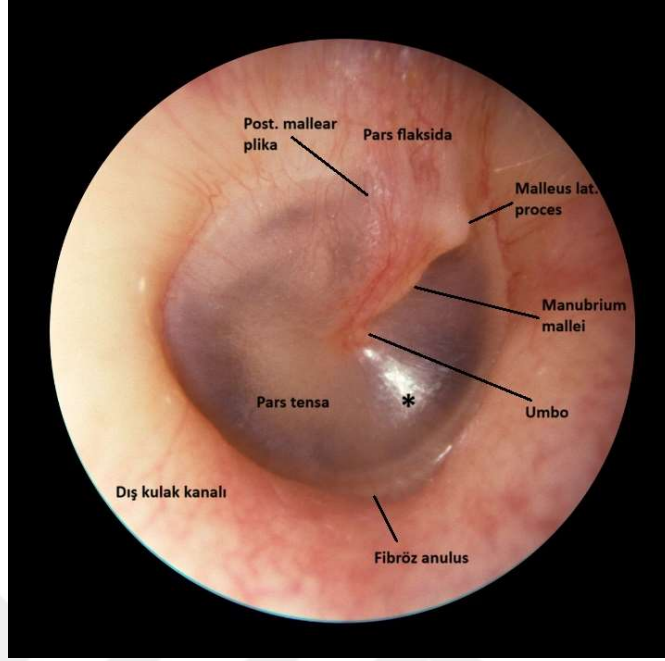
Dış kulak kanalı kanlanmasını derin aurikuler arter sağlamaktadır. Süperfisyal temporal ven ve posterioraurikuler ven yolu ile venöz drenajı gerçekleşir. Lenfleri ise yüzeyel servikal, intraparotideal ve retroaurikuler lenf nodlarına drene olur (3).

2.1.2. Orta Kulak

Timpanik membran, dış kulak kanalını timpanik kaviteden ayıran, sulkus timpanikusta yerleşen, yarı şeffaf, çok katlı, uzun eksen 9-10 mm, kısa eksen 8-9 mm olan bir yapıdır (5). Periferinde fibröz anulusa tutunur. Timpanik membran manubrium malleiye yapışıktır ve manubrium malleinin umbo denilen alt noktası membranın ortasında bir çöküntü yapar.

Kulak zarı anterior ve posterior malleolar ligamentler tarafından ayrılan inferiorda pars tensa ve süperiorda pars flaksida bölümlerinden oluşur. Manubrium malleiden geçen vertikal ve umbodan geçen horizontal hayali çizgilerle dört kadrana ayrılır. Işık üçgeni sağlıklı bir kulakta muayene sırasında antroinferior kadranda izlenir (Şekil 3). Pars tensa lateralde skuamöz, ortada fibröz ve mediyalde mukozal katmanlardan oluşurken pars flaksidada ortadaki katmanın olmadığı kabul edilir (3,4).

Timpanik kavite, timpanik membranı superior ve inferiorda teğet geçen hayali yatay iki çizgi ile yukarıda epitimpanum, ortada mezotimpanum ve aşağıda hipotimpanum olarak bilinen üç boşluğa ayrılır. Tegmen timpani epitimpanumun tavanını oluşturur.



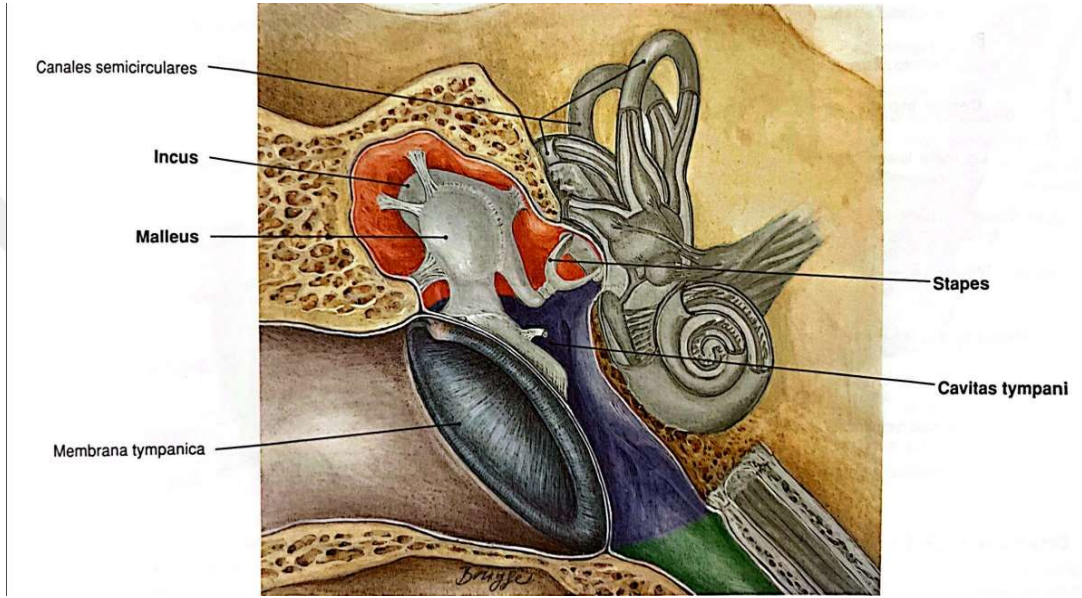
Şekil 3: Timpanik membran anatomisi

Kemikçik zincir timpanik membrandaki titreşimleri oval pencere üzerinden iç kulağa iletmektedir. Malleus, inkus ve stapes isimli üç adet, hareketli kemikçikten oluşur (Şekil 4).

Malleus kemikçikler arasında en lateraldeki ve en büyük olanıdır. Baş, boyun, manubrium mallei ve anterior ile lateral çıkıntılardan oluşmaktadır. Üç adet asıcı bağ tarafından epitimpanuma asılır ve başı epitimpanumda yer alır. Kohleariform proresten orta kulağa giren ve trigeminal sinir tarafından innerve edilen tensor timpani kası, manubriuma yapışır ve kemikçik zincirin kompliyansını azaltır.

İnkus gövde, uzun kol ve kısa koldan oluşur. Gövde kısmı epitimpanumda malleus başı ile eklemleşirken uzun kolu uçtaki lentiküler proses adı verilen kısımla stapes başı ile eklem yapar. Fossa inkudise yerleşen kısa kolu ise fasial sinirin lokalizasyonunu gösteren bir landmark olarak kulak cerrahisinde önem teşkil etmektedir.

Vücuttaki en küçük kemik olarak kabul edilen stapes baş, boyun, iki krura ve tabandan oluşmaktadır. Anüler ligamanla çevrili taban oval pencere nişini kapatmaktadır. Fasiyal sinir tarafından innerve edilen stapes kası, stapesin başına tutunarak sesle oluşan hareketin şiddetini azaltır (3,4).



Şekil 4: Timpanik kavite bölümleri ve kemikçikler. Kırmızı gösterilen alan epitimpanum, mavi gösterilen alan mezotimpanum ve yeşil gösterilen alan hipotimpanumdur.

Fasiyal sinir temporal kemiği Fallop kanalı olarak bilinen ve internal akustik kanalın fundusundan başlayıp stilomastoid foramende sonlanan bir kemik kanal içinde kat eder. Labirentin segmenti Fallop kanalının ilk, en kısa ve en dar segmentidir. Kohleanın superiorunda seyrederek genikülat fossaya açılır ve 1. dirseği yapar. Genikülat gangliyon kohleariform prosesin posterosuperiorunda bulunur. Genikülat gangliyonun yerini işaret eden bir diğer yapı da cog çıkıntısıdır. Tegmen timpaniden aşağı doğru uzanır ve gangliyonla aynı seviyede bulunur. Stapedial tendonun çıktığı piramidal eminente, fasiyal sinir mastoid segmente ikinci bir dirsek yapar. Timpanik segment bu iki dirsek arasında bulunur ve oval pencerenin superiorunda yerleşmiştir. Konjenital dehissansların

en çok görüldüğü bölümdür. Timpanik ve mastoid segment yaklaşık 95-135° açıyla dururlar (4).

Mezotimpanumun medial duvarındaki kabarıntıya promontoryum denir. Kohleanın orta kulaktaki çıkıntısı olan promontoryum üzerinde 9. Sinirin dalı olan Jacobson siniri bir ağ oluşturmaktadır. Yuvarlak pencere yine bu kabarıntı üzerinde stapes tabanının oturduğu oval pencerenin inferiorunda bulunur ve membranı niş adı verilen bir kemik çıkıntı tarafından korunmaktadır.

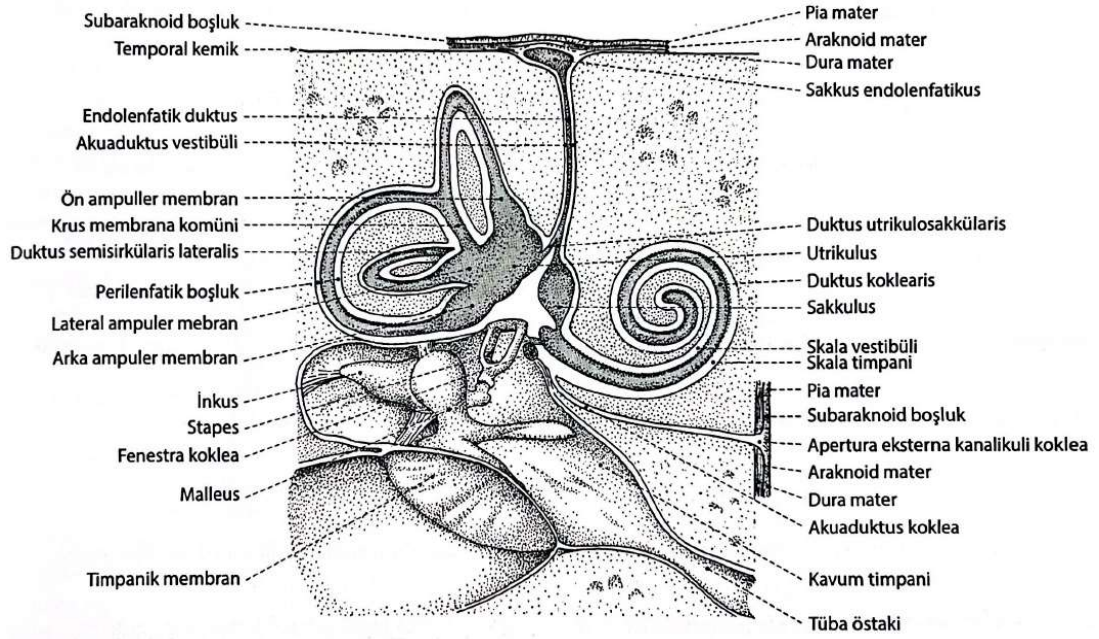
Timpanik kavite ve nazofarenksi birbirine bağlayan östaki tüpü nazofarenkse doğru anteroinferolateral bir seyir izler. Nazofarenks tarafında kalan 2/3'lük bölümü kartilaj, kulak tarafındaki 1/3'lük bölümü kemik yapıdadır. 5. kraniyal sinir tarafından innerve edilen tensor veli palatini kası tüpü açarken, faringeal pleksus tarafından innerve edilen levator veli palatini kası tüpün lümenini genişletir (3,4).

2.1.3. İç Kulak (Şekil 5)

Vestibül mezotimpanumun medial duvarı ile internal akustik kanalın fundusu arasında bulunur. Lateral duvarında bulunan oval pencere aracılığıyla orta kulakla bağlantı halindedir. Medial duvarında ise dura altında endolenfatik kese olarak sonlanan vestibüler akuaduktusun açıklığı yer alır.

Kemik semisirküler kanallar 3 adettir ve superior, posterior ve lateral olarak isimlendirilir. Vestibüle açıldıkları şişkin uçlarına ampulla, düz uçlarına ise crus simpleks denir. Posterior ve superior kanalların crus simpleksleri birleşir ve crus commune oluşturur (4).

Yaklaşık 2,5 dönüşlük bir seyri olan salyangoz kabuğu şeklindeki kohlea modiolus denilen bir eksen etrafında şekillenmiştir. Tabanı basis olarak isimlendirilip yüksek frekansların işitilmesinden sorumluyken, tepesi kupula olarak isimlendirilir ve düşük frekanslı seslere hassastır (5).



Şekil 5: İç kulak anatomisi

Membranöz labirent, kemik labirentin içerisinde bulunan perilenf sıvısı içinde yerleşmiştir. İçerisinde K^+ ’dan zengin endolenf sıvısı bulunur. Membranöz semisirküler duktuslar anterior, posterior ve lateral olmak üzere 3 tanedir ve vestibül iç duvarında bulunan bir kese olan utrikulusa açılırlar. Utrikulus yine vestibül iç duvarında yer alan başka bir kese olan sakkülle duktus utrikulosakkularis aracılığıyla bağlantılıdır. Bu duktus endolenfatik duktus olarak vestibüler akuaduktusun içinde devam eder (6).

2.2. TİMPANOSKLEROZ TANIMI

Timpanoskleroz (TS), kulak zarında veya orta kulak submukozal bölgede hiyalen değişiklikler sonucu ortaya çıkan geri dönüşümsüz kalsifikasyonlar ve ossifikasyonlardır. Hyalinizasyon bağ dokusunun yapısal elementleri fibrosit ve kollojenin yerini homojen, translüsen, asit boyalarla koyu boyanan bir maddenin almasıdır.

Sklerozun timpanik membrana sınırlı olduğu, orta kulak yapılarını tutmadığı, işitmenin etkilenmediğinin kabul edildiği şekline miringoskleroz denir. Otoskopik muayenede timpanik membranda yama şeklinde plaklar ya da matlaşma şeklinde kendini gösterebilir. Birbirinden bağımsız multipl odaklar şeklinde görülebileceği gibi membranın tama yakınına kaplayan tek ve büyük bir plak şeklinde de izlenebilir. Miringosklerozun geçirilmiş ventilasyon tüp (VT) tatbiki ile yakın bir ilişki içerisinde olduğu pek çok yazar tarafından gösterilmiştir. Burada etkili olan sebebin parasentez sırasındaki travma ve membran içerisine kanın kaçışı olduğu düşünülmektedir (7). Kay ve arkadaşlarının (8) ventilasyon tüp tatbiki yapılan 134 çalışmanın dahil edildiği meta analizinde hastaların %32 sinde miringoskleroz görüldüğü ve hiçbirinde işitme kaybının ve kemikçik zincir tutulumunun eşlik etmediği belirtilmiştir. Bununla birlikte VT takılma sayısı, atılma süresi ve efüzyonun aspire edilip edilmemesinin (9) TS'deki önemini sorgulayan yayınlar mevcuttur.

Orta kulak TS'si, kemikçik zinciri ve orta kulak yapılarını tutan kalsifikasyonla karakterize otit sekelidir. Orta kulakta plaklar ağırlıklı olarak attik bölgede, inkudostapedial eklemden ve promontoryum üzerinde yer alır (10). Çeşitli derecelerde İTİK ve ileri evrelerde mikst tip kayba sebep olabilmektedir. Efüzyonlu otit zemininde gelişip intakt bir timpanik membranla birlikte olabileceği gibi KOM zemininde gelişip perforasyonun eşlik ettiği bir tablo olarak da görülebilir.

2.3. TARİHÇE

Bugünkü anlamda olmasa da kulak zarında kalker birikimleri ilk kez 1734 senesinde Cassebohm tarafından tanımlanmıştır. 1878 yılında von Troltsch orta kulak mukozasının derin katmanlarındaki fibröz dokuda katılaşma olarak orta kulak TS'sini tariflemiştir (11). Sonrasında Walb tarafından histolojik yapısı açıklanmış ve Pomeroy (1883) ve Politzer'in (1894) çalışmalarıyla desteklenmiştir (10). Politzer TS'yi bugünkü anlamda tanımlayan ilk kişi olmuştur. 1955 yılında 'timpanoskleroz' kelimesini ilk kez kullanan Zöllner ve Beck'in timpanoplasti operasyonlarında ameliyat mikroskopuyla

yaptıkları gözlemleriyle oluşturdıkları yayınlarıyla hastalık tekrar gündeme gelmiştir. TS'nin histolojik yapısı elektron mikroskopuyla da yine Zöllner tarafından ortaya konmuştur.

Timpanoskleroz ile ilgili bilgi birikimi House, Sheehy, Friedman gibi otörlerin sklerotik odakların timpanik membran ve mastoid kavitede de yerleşebildiğini göstermesiyle gittikçe artmış ve tedavisine yönelik ameliyat tekniklerinin tanımlanmasıyla günümüze kadar gelişerek devam etmiştir.

2.4. EPİDEMIYOLOJİ

Timpanoskleroz, timpanik membrana sınırlı miringoskleroz olgularından mastoid kaviteye kadar uzanan işitme kaybına neden olan ileri vakaları içeren geniş bir yelpazedir. Miringoskleroz olgularının büyük çoğunluğu herhangi bir semptomu olmayan, rutin otoskopik muayene sırasında membranda beyaz plakların görülmesiyle tanı konan kişilerden oluşmaktadır. Yavaş bir seyir izlemesi ve klinik tablonun oturmasına kadar geçen sürenin kişiden kişiye değişmesi de kesin insidansına ve prevelansına dair çalışmaların sonuçlarının değişiklik göstermesine neden olmaktadır. Hastalığın görülme sıklığına dair değerlendirmeler literatürde yayınlanan vaka serilerine dayanmaktadır ancak gerçek başlangıç yaşını yansıtmamaktadır (12). İnsidansının %7 ile %33 arasında olduğunu ifade eden çeşitli yayınlar mevcuttur (13). En geniş vaka serisini yayınlayan Plester'in istatistiklerine göre görülme sıklığı %10 olarak belirtilmiştir. Austin çeşitli kulak enfeksiyonları nedeniyle kulak operasyonu yaptığı 1000 vakalık serisinde hastalığın insidansının %32 olduğunu bulmuştur. Bununla birlikte 1976-1984 yılları arasında gerçekleştirdiği 499 vakalık bir başka serisinde ise sadece %6,4 ünün klinik önemi olduğunu ortaya koymuştur (14).

Orta kulak TS'si yetişkinlerde daha sık görülürken miringoskleroz çocukluk çağında daha sık görülmektedir. Çocuklarda sık görülen seröz otitis media ve buna bağlı uygulanan ventilasyon tüp tatbikinin bu durumun altında yatan temel sebep olduğu düşüncesi ağır basmaktadır. Wielinga ve Kerr ventilasyon tüpü (VT) sonrası

miringoskleroz çalışmalarını karşılaştırdıkları yayınlarında miringoskleroz görülme sıklığının %28 ile %61 arasında değiştiğini raporlamışlardır (15).

Hastalığın coğrafik dağılımı seröz otitis medianın daha sık görüldüğü ve tedavisinin sınırlı kaldığı bölgelerde ağırlık göstermektedir. Bununla birlikte ırklar arasında anlamlı bir fark bildirilmemiştir (12).

Hastalığın cinsiyetlere göre dağılımına bakıldığında genelde kadın popülasyonda daha sık görüldüğü bildirilmiştir (10,12,16).

2.5. ETİYOLOJİ VE PATOGENEZ

2.5.1 Patogenez

Yüzyılı aşan geçmişinde araştırmacıların katkılarıyla hakkında pek çok bilgi sahibi olabilmemize rağmen TS patogenezi hala tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Ortak görüş, süreci başlatan bir inflamasyon olduğu üzerinde yoğunlaşmaktadır. TS orta kulakta spesifik olmayan inflamasyonların geri dönüşümsüz bir son ürünüdür. Bununla birlikte travmaya bağlı ve iyatrojenik olarak da ortaya çıkabilmektedir.(17)

Diğer kulak patolojilerinden farklı olarak TS, kulak zarı ve orta kulak mukozasının lamina propria tabakasının hyalinizasyonu ile karakterizedir. Lamina propria tabakası subepitelial bağ dokusunu içerir. Fibrositler, kollajen lifleri ve kapiller kan damarlarından oluşur. Embriyolojik olarak jelatinöz kıvamlı mezenşimal dokudan geliştiği kabul edilmektedir. Jelatinöz mezenşimal doku enflamasyon ve enfeksiyon gibi şartlar altında multipotent özelliğinden dolayı metaplazi gösterebilir ve kolumnar epitelin yerini yassı epitele bırakması izlenebilir.

Genel kabul olarak patoloji 3 basamakta incelenebilir(15):

1)İnflamasyon

Orta kulaktaki akut ve kronik inflamasyonun TS sürecini başlatan temel neden olduğu genel bir kanıdır. Kimi otörler akut otitis mediada salgılanan mediatörler ve

hidrolitik enzimlere bağılı olarak TS'nin daha çok geliştiğini savunurken efüzyonlu otitis medianın asıl etken olduğunu vurgulayan araştırmalar da bulunmaktadır (18). Savlarını desteklemek için pek çok yazar kendi TS modellerini geliştirmiş ve plak oluşumunu gözlemlemiştir. Shiff ve arkadaşları travma ve inokülasyon yoluyla orta kulakta oluşturduğu enfeksiyonla ratlarda TS modelini oluşturmuşlardır (19). Bununla birlikte Wielinga ve arkadaşları ratların östaki tüplerini koagüle ederek, Russell ve Giles ise östaki tüplerini bal mumu ile tıkayarak orta kulakta seröz otitis media oluşumunu tetiklemişlerdir. Oluşturulan seröz otitis media modelinin de pars tensada küçük plaklarla sonuçlandığını ortaya koymuşlardır (15,20).

Akut inflamasyon olduğunda timpanik mukoza ve submukozaya inflamatuvar hücreler infiltre olur. Fibroblastlar ve kollojen liflerinde artış gerçekleşir ve inflamatuvar hücrelerden salınan sitokinlerin de etkisiyle damar geçirgenliğinde artış görülür. Granülosit ve fibrositlerden üretilen enzimler ekstraselüler aralığa salınarak zemin maddesinin bozulmasına neden olur (21). Kapiller kan damarlarının bulunduğu lamina propria tabakasında bu değişikliklerin sonucu olarak ödem gelişir. Tekrarlayan bu inflamatuvar sürece bağılı olarak granülasyon dokusu oluşabilir. Granülasyon dokusunda lamina propriada kollajen dokunun çevresinde eksüda birikir.

2)Fibroblast aktivasyonu

İkinci aşama fibrogenезin olduğu onarım aşamasıdır. Artan fibroblast sayısının sonucu olarak aşırı kollajen mikrofibrilleri üretimi gerçekleşir. Mikrofibriller birleşerek kollajen bantları meydana getirir. Oluşan kollajen bantlar birleşerek kitleler oluşturur ve hiyalinizasyon gerçekleşir. Hiyalen plaklar yumuşak kıvamlı kolay kaldırılabilen yapıdadır. Çoğu yazar sürecin bundan sonra geri dönüştürülemez olduğunu belirtmektedir. Oluşan bu hiyalen plaklar daha sonra kalsifikasyon ve bazı olgularda ossifikasyonun gerçekleşeceği kalsifikasyon yatağını oluşturur (15).

3)Kalsifikasyon ve ossifikasyon

Bu patolojik süreçlerin sonucunda fibroliz başlar ve fibrositler dejenere olur. Fibrositlerde oluşan bu dejenerasyon kalsifikasyon aşamasında temel rol oynayan

intraselüler veziküllerin ortaya çıkmasına neden olur. Başlangıçta veziküller boştur ve çift katlıdır. Koyu boyanan dağınık veya homojen bir içeriğe sahiptir (22). Bu veziküller içerisinde Ca^{++} ve P^+ iyonları toplanır. pH'ta düşme ve kan akımında azalma meydana gelir. Hücreler canlılıklarını yitirmeye başlarlar. Kollajen lifleri arasında kalsiyum fosfat çökmesi izlenir. Hücrenin apoptozuyla ya da membrandan tomurcuklanan matriks ekstraselüler kalsifikasyonu başlatır. Tip I ve tip II matriks vezikülleri olarak sınıflanabilir. Tip II veziküllerin kalsifikasyonla yakından ilişkili olduğu ve kalsiyumapatitin ilk kristalizasyonunun burada gerçekleştiği belirtilmektedir (23). Matriks vezikülleri ya da mitakondriler hücre membranındaki kalsiyuma bağlı fosfolipitlerden fosfataz enzimleri ile kalsiyumu açığa çıkarmakta ve süreç bu şekilde ilerlemektedir (24).

2.5.2. Etiyolojiye Dair Teoriler

İNFLAMASYON TEORİSİ

Patogenezi açıklarken başlatıcı faktör olarak bahsedilen inflamasyon araştırmacıların en çok üzerine çalıştığı teoridir. İnflamasyon kronik orta kulak iltihabı, sürekli olarak tekrarlayan akut enfeksiyonlar veya tekrarlayan sıvı birikimleri sebebiyle ortaya çıkabilir. Otitis media geçiren bir hastada TS görülme sıklığı %20 ila %43 arasında değişmektedir (25). TS'nin seröz hem de süpüratif otitis medianın iyileşme sürecinde görülebildiği söylenmektedir. Bhaya ve arkadaşları(16) 196 bireye ait 319 temporal kemiği inceledikleri çalışmalarında kronik otitis medialis (KOM) temporal kemiklerde TS oranının (%24,3) seröz otitililere (%16,6) göre daha fazla olduğunu raporlamıştır. Bununla birlikte efüzyonlu kemiklerde, sadece timpanik membranda skleroz bulgusuna rastlandığını bildirmiştir.

İnflamasyon süreci, vücudun savunma mekanizmalarının harekete geçmesiyle başlar. Bu savunma mekanizmaları, bağışıklık sistemi hücreleri ve molekülleri tarafından yönlendirilir. Ancak, inflamasyon sürecinde, bu savunma mekanizmaları kontrolsüz bir şekilde çalışabilir ve orta kulak mukozasına ve timpanik membrana zarar verebilir.

Literatürdeki TS hayvan modelleri de bu bilgiler ışığında orta kulakta inflamasyon başlatarak TS'nin indüklenmesi esasına dayanmaktadır. İnflamasyonu ve enfeksiyonu tetiklemek için en sık kullanılan method orta kulağa *Streptococcus pneumoniae* enjeksiyonlarıdır. Forseni ve Hultcrantz (26) hem *s.pneumoniae* ile inoküle edilen ratları dahil ettikleri hem de seröz otitis media ve KOM'lu hastaların biyopsilerini dahil ettikleri çalışmalarında makrofajlar ve B lenfositler ile IL-6 ve i-NOS gibi inflamatuvar mediyatörlerin otitis media ve takip eden TS sürecinde farklı aşamalarda etkili olduğunu ortaya koymuşlardır.

Orta kulağı etkilemese de timpanik membranda inflamasyona yol açarak miringoskleroza neden olduğu düşünülen bir başka etiyolojik neden VT uygulamalarıdır. VT uygulandığında orta kulakta yutkunmayla olan basınç farkı ortadan kalkar ve membranın normal hareketi oluşamaz. Bu durum membranın hareketinin en çok olduğu ön ve arka kadranlarda daha belirgindir. Membranın titreşiminin bozulması durumunda skleroz gelişme ihtimali artar. Tos ve arkadaşları (27) da yayınlarında, VT'nin miringoskleroz oluşturmalarının altında yatan temel nedenin olası yabancı cisim reaksiyonuna bağlı membran hareketlerinde azalma olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte VT'nin takıldığı kadran ve miringoskleroz sıklığı arasında fikir birliğine varılamamıştır. Seröz otitis medialı hastalarda VT takılan ve takılmayan hastaların karşılaştırıldığı yayınlarda VT takılan olgularda takiplerde miringoskleroz insidansının daha yüksek olduğu görülmektedir (7,28,29) Tüp yerleştirilmeden önce orta kulak efüzyonlarının aspirasyonunun miringoskleroz üzerine etkisi de araştırmacıların ilgisini çeken bir konu olmuştur (30).

İMMÜNİZASYON TEORİSİ

Önceden geçirilen orta kulak enfeksiyonları sonrası submukozal dokuların açığa çıkması ile ortaya çıkan antijenlerin bağışıklık sistemini uyardığı ve oluşan immün komplekslerin submukozada birikerek TS sürecini başlattığı öne sürülmüştür. İlk kez Schiff ve arkadaşları (19) tavşandan elde ettikleri serumu kullanarak kobay farelerin lamina propriasında bir reaksiyon oluşturmuşlardır. Sonrasında fizik travma ve enfeksiyonun inokülasyonu yoluyla yeni otoantikorların oluşumunu uyarmışlar ve tip III

hipersensitivite reaksiyonu ile doku hasarı oluşturarak TS sürecinin başlatılabildiği görüşünü ortaya atmışlardır. Yine Yoo ve arkadaşları tip II kollajen immünizasyonu ve timpanik membran insizyonu uyguladıkları ratların %50 sinde TS geliştiğini tespit etmişlerdir (31).

Morgan 1977 yılında yayınladığı makalesinde (32) kronik orta kulak enfeksiyonlarının hepsinde TS gelişmemesinin altta yatan başka bir patolojinin varlığına işaret ettiğini ifade etmektedir. Altta yatan mekanizmanın ise vücuttaki diğer tip III hipersensitivite reaksiyonlarıyla benzerliğine dikkat çekmektedir. Humoral yanıtın, hücresel yanıtın ya da ikisinin birden rolünün bulunuyor olabileceği de araştırmacılar tarafından ileri sürülmüştür (33,34). Buna karşılık Miller ve Nilsen (1986), elektron mikroskopik çalışmalarında bahsi geçen sorumlu antikorları gözlemediklerini ifade etmektedir (15).

GENETİK TEORİSİ

İnsanlarda TS'nin multifaktöriyel bir hastalık olduğu yani birden fazla çevresel faktör ve genin etkisi ile ortaya çıktığı düşünülmektedir. Aynı zamanda bazı yazarlar tarafından genetik predispozisyonların bulunduğu görüşü ortaya atılmıştır. İnflamasyonda, doku yenilenmesinde ve mineralizasyonda etkili olan mediyatörlerin ve proteinlerin gen ekspresyonlarındaki bir değişikliğin orta kulakta dolayısıyla TS gelişiminde etkili olması olasıdır. Genlerin ekspresyon düzeylerini ölçmenin yolu son ürün miktarını hedef dokuda tespit etmekten geçmektedir. Sakowicz-Burkiewicz ve arkadaşları (35) TS nedeniyle opere ettikleri 25 hastadan aldıkları timpanik membran örneklerinde tip I kollojenin ekspresyon düzeylerinin düştüğünü, tip II-IV kollojen ve osteopontin ekspresyon düzeylerinin arttığını ve bu durumun TS gelişiminde bir genetik yatkınlık oluşturuyor olabileceğini belirtmişlerdir.

Tian ve arkadaşları (36) ENPP1^{asj} mutant farelerin timpanik membran ve orta kulaklarını karşılaştırdıkları hayvan modellerinde mutant farelerde ektopik mineralizasyon ve kemik depolanmasına neden olarak timpanosklerotik değişiklikler

izlediklerini ve insanlarda rapor edilen ENPP1 mutasyonlarına bağılı işitme kayıplarıyla aynı mekanizmaya sahip olabileceğini ifade etmişlerdir.

Türkiye’de TS’nin genetik temeli üzerine çalışmalar yapan Koç ve Üneri, aterosklerozlu bireylerde TS oranlarını genel popülasyona kıyasla anlamlı olarak yüksek bulmuş ve bu hastalarda sklerotik değişiklikler için sistemik bir genetik predispozisyon olabileceği üzerinde durmuşlardır (37).

HİPEROKSİ TEORİSİ

Serbest oksijen radikalleri vücutta hücrel metabolizma sırasında oluşan ve hücre komponentleri ile DNA’ya zarar verebilecek reaktif oksijen türleridir. Vücutta ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin inhibisyonunu sağlayan sitokrom oksidaz, süperoksit dismutaz gibi enzimatik ve glutatyon, C vitamini gibi non-enzimatik antioksidan sistemleridir. Bu sistemlerin çalışmasındaki aksamalar ve serbest oksijen radikallerinin aşırı artışı dokularda oksidatif stresin artmasına sebep olur. Kulak zarındaki perforasyonlar ve ventilasyon tüp tatbikinin orta kulakta artmış oksijen konsantrasyonuna neden olarak serbest oksijen radikallerinin artışı ve doku harabiyetine neden olduğu düşünülmektedir (38). Ayrıca otitler sırasında aktive olan makrofajlardan salınan nitrik oksitin de doku hasarındaki rolünden söz edilmektedir. Akyiğit ve arkadaşları(39), KOM ve TS hastalarını sağlıklı bireylerle karşılaştırdıkları çalışmalarında katalaz enzim düzeylerini daha düşük, indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) düzeylerini daha yüksek bulduklarını raporlamıştır.

Vücuttaki antioksidan ve redüktanların miktarı arttırılarak oksidatif hasarın azaltılması TS’yi önlemede önemli görülmektedir. Antioksidan özellikleri farklı dokularda tespit edilmiş olan pek çok maddenin klinik önemi araştırılmaya devam etmektedir. Spratley ve arkadaşları(40) 20 deney faresini 3 gruba ayırıp miringotomi sonrası topikal askorbik asit uygulamışlardır. Endojen olarak askorbik asit sentezi yapabildiklerinden diyetdeki askorbik asit miktarının çalışmayı etkilemediği savunulan farelerde askorbik asitin iyileşme sonrası miringoskleroz gelişimini önemli ölçüde engellediğini savunmuşlardır.

DİSTROFİK KALSİFİKASYON TEORİSİ

Vücutta kalsiyum, diğer iyon ile mineraller kemik ve dokularda bir denge içerisinde bulunurlar. Bu denge çeşitli hormonların ve haberci molekülerin birlikte veya karşılıklı çalışmasıyla düzenlenir. Dengenin travma, inflamasyon ve doku hasarına bağlı hücre içeriğinin dışarı çıkışı nedeniyle bozulmasıyla dokular normalden fazla kalsiyum biriktirebilir ve kalsifikasyon ortaya çıkabilir. Patolojik kalsifikasyonu başlatan hücresel elemanın genellikle mitakondri ve matriks vezikülleri olduğu düşünülmektedir. Mitakondri ve veziküller, membrandaki fosfataz enzimlerinin kalsiyum bağlayıcı enzimlerle etkileşime girmesi yoluyla dokulardaki kalsifikasyonu başlatır (41). Ateroskleroz, osteoartrit, TS gibi kalsifikasyonlarla giden hastalıklarda bu bahsedilen ortak süreçle hücre dışı kalsiyum hidroksiapatit kristallerinin birikmesi distrofik kalsifikasyon teorisinin temelini oluşturmaktadır.

Mann 1986 yılında (42) beta hemolitik streptokoklarla enfekte ettiği ve yüksek dozda vitamin D3 verdiği rat modelinde inokülasyon yapılmayan kulakta timpanosklerotik değişiklikler görmezken streptokokus ile inokülasyon yapılarak enfeksiyonun ve inflamasyonun tetiklendiği kulakta kalsifikasyonun başladığını belirtmektedir. Travma ve enfeksiyon gibi durumların hücrede kalsiyumun aşırı birikmesine neden olarak lizozomların ekstraselüler boşluğa salınmasıyla selüler yıkıma neden olduğu görüşünü savunmaktadır. Bu çalışmadan bir yıl sonra arkadaşlarıyla gerçekleştirdiği çalışmada ise aynı yöntemle oluşturulan TS modelinde erken dönemde uygulanan kalsiyum antagonisti tedavisinin koruyucu etkiye sahip olduğunu ancak önceden var olan kalsifikasyonlar üzerinde etkisi olmadığını raporlamıştır (21). Buna karşılık Alnahal ve arkadaşları (43) ve Caldas Neto ve arkadaşları (44) ayrı ayrı yayınlarda hemodiyaliz yapılan hastaları kattıkları çalışmalarında hiperparatiroidizmle miringoskleroz gelişimi bakımından anlamlı bir ilişki bulamadıklarını belirtmişlerdir. Bu sonuçlar orta kulak ve timpanik membranda patolojik kalsifikasyonun gerçekleşmesi için sadece kalsiyum yüksekliğinin yeterli olmadığını, kalsiyumun birikeceği çeşitli faktörlerle tetiklenen bir kalsifikasyon yatağının varlığının gerekliliğini işaret etmektedir.

2.6. HİSTOLOJİ

Hiyalen plaklar; genellikle fibroelastik yapıda, daha şeffaf ve parlak bir görünümde genellikle iki boyutlu, çevresi düzgün yüzeyli, kolaylıkla parçalanmayan bir yapıda olan sklerotik birikimler olarak izlenirler (Şekil 6).



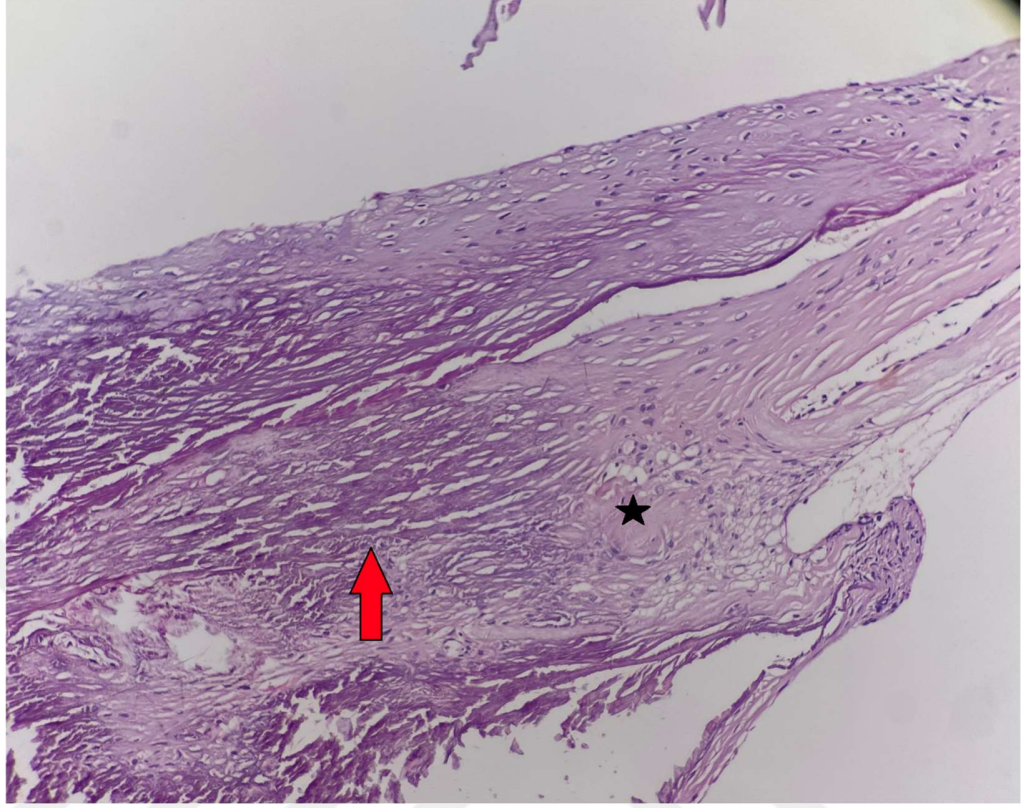
Şekil 6: Hiyalen plak otoskopik görüntüsü. Polikliniğimizde muayene edilen miringoskleroza olan hastanın sol kulak anterosuperior kadrındaki hiyalen plağının otoskopik bakıdaki görüntüsü

Kalsifik plaklar; daha fazla mineral birikimi ile sertleşmiş, kemik benzeri görünümdeki plaklardır. Hiyalen plaklara nazaran daha mat, beyaz veya sarımsı renkte, kaba şekilli, yüzeyi pürüzlü, kemik ve çevre dokudan ayrılması zor ve bu ayrılma sırasında parçalanabilen sert yapıda birikimler olarak görünürler (Şekil 7).



Şekil 7: Kalsifik plak otoskopik görüntüsü. Polikliniğimizde muayene edilen yaygın tutulumu olan bir TS hastasının sol kulak kalsifik plaklarının otoskopik bakıdaki görüntüsü.

Işık mikroskopik bakıda submukozada uzanan, düzensiz kollojen liflerinin miktarı artmıştır ve kollojen fibrilleri arasında azalmış selülerite vardır. Bu azalmış selüler yapıda baskın hücre fibroblastlar iken kalan kısmını da makrofajlar ve nötrofiller oluşturur. Lamina propria tabakası kalınlaşmış izlenir. Toluidin ile metakromatik boyanan şekilsiz hyalen yapılar izlenmektedir. Bunların arasında kalsiyum birikimleri bazofilik olarak görünür (45,46) (Şekil 8).



Şekil 8: Sklerotik plak histolojisi. Kliniğimizde opere edilen bir hastadan alınan sklerotik plağın ışık mikroskopik görüntüsü. Kalsifikasyon gösteren dejenere fibrohiyalinize doku. Yıldız: dejenere hiyalen doku, Kırmızı ok: kollojen içerisinde kalsifikasyon alanı.

Elektron mikroskopik bakıda kollojen fibrillerde belirgin bir artış izlenir. Belirli bölgelerde sıkı bazı bölgelerde ise daha gevşek düzensiz bir dağılım söz konusudur. Kollojen lifler arasında dağılmış olan kalsifiye birikimlerin yer yer fibrillerin yerini aldığı gözlenir (47).

x350 büyütmede görüntü: Plak yüzeyi düzgün, kesilen yüzeyi fissürlerle tabakalanmış

x2000 büyütmede görüntü: Plak yüzeyi yine düzgün, kollojen fibrilleri daha ince geçilmiş, kalkosferüllerin görülebildiği büyütme

x5000 büyütmede görüntü: Kesilmemiş yüzeyde düz bir zemin ve lifler arasına çöken proteinli materyal. Kesilen yüzeyde boş alanları çevreleyen sıkı bir kollojen çerçeve

x25000 büyütmede görüntü: Plak yüzeyi alttan gelen lif uçları ve küresel şekilli proteinlerden oluşan bir zarf gibi görünmekte, kesilen yüzeyde gevşek kollojen lif ağı içerisinde lakünler ve bu lakünlerin içerisinde değişen çaplarda kalkosferüller, inflamatuvar hücre lizozomlarında değişiklikler, hücre içi ve dışı veziküllerde Ca^{++} ve P^+ birikimleri

2.7. SINIFLANDIRMA

Timpanoskleroz histolojik özellikleri, muayene bulguları ve tutulan yapıların yaygınlığına göre çeşitli açılardan ele alınıp değerlendirilir. Klinik olarak sınıflandırmaya göre; sklerozun ancak mikroskopik bakıda görülebildiği erken evredeki haline histolojik TS, otoskopik muayenede görülen ancak semptom oluşturmeyen haline klinik TS, makroskopik değişikliklerle beraber işitme kaybının eklendiği haline de cerrahi timpanoskleroz denmektedir (18).

Yazarlar tarafından en çok kullanılan sınıflandırma tutulum yerine göre olandır. Sklerotik plakların sadece timpanik membranda yerleştiği haline miringoskleroz denirken, TS orta kulak mukozasının ve/veya kemikçiklerin sklerotik plaklar ile tutulumunu da ifade eden daha geniş bir tanımdır.

Timpanik membranın perforasyon bulundurmasına göre açık ve kapalı TS olarak adlandırılır. Açık TS’de perforasyonların çoğu santral yerleşimlidir (10) ve KOM zemininde gelişen tekrarlayan enfeksiyonlara bağlı oluşuyor olabilir. Kapalı TS ise timpanik membranın intakt olduğu ancak membranda ya da orta kulakta sklerozun olduğu gruptur. Geçirilen seröz otitis media ataklarına veya akut otitis media ataklarına sekonder olarak ortaya çıkması olasıdır.

Bunların dışında hastalarda hem kullanılan cerrahi teknikleri hem de operasyonların sonuçlarını karşılaştırmak amacıyla Wielinga ve Kerr(15) tarafından

kemikçik zincir fiksasyonuna göre ayrı bir sınıflama tanımlanmıştır (Tablo 1). Bu sisteme göre:

Tip I: Timpanik membranın etkilendiği, buna izole olarak malleusun fiksasyonunun eşlik edebildiği, diğer kemikçiklerde fiksasyonun olmadığı tip

Tip II: İzole malleus-inkus kompleksinin fiksasyonunun olduğu tip

Tip III: İzole stapes tabanı fiksasyonunun izlendiği tip

Tip IV: Hem malleus-inkus kompleksinin hem de stapes tabanının beraber fikse olduğu tip

Tablo 1: Wielinga&Kerr Sınıflaması

Wielinga&Kerr Sınıflaması	Malleus Manubrium	Malleus-İnkus Kompleksi	Stapes Tabanı
Tip I	+/-	-	-
Tip II	-	+	-
Tip III	-	-	+
Tip IV	-	+	+

2.8. PLAKLARIN YERLEŞİMİ

Timpanik membran üzerinde sklerotik plakların tutulumu genelde arka üst kadranda olmaktadır. Bunun dışında hem arka hem ön kadranı tutabilen at nalı şeklindeki plaklar ile tüm kadrانları tutan geniş tek plaklar da görülebilmektedir. Ortak görüş

sklerotik plakların pars tensada ortaya çıktığı pars filaksidada görülmediği üzerinde yoğunlaşmıştır.

Sklerotik plakların epitimpanum ve mezotimpanumdaki dağılımı attik bölge, inkudostapedial eklem ve promontoryum üzerinde yoğunlaşmaktadır. Attik bölgedeki plaklar malleus ve inkus başını tutarak bu kemikçiklerin hareketini kısıtlayabilir. İnkudostapedial eklemi tutan plaklar fasial reses, sinüs timpani ve oval pencereye kadar uzanarak geniş bir alanı etkileyebilir. Yuvarlak pencere tutulumu genellikle izlenmez. Promontoryum üzerindeki plaklarla azımsanmayacak ölçüde karşılaşılabilenekte olup çoğunlukla işitme üzerine anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır. Timpanik kavitedeki plaklar aditus ad antrum yoluyla antruma uzanabilir ancak mastoid kemik içerisinde gözlenmediği belirtilmektedir.

2.9. TANI

Kulak burun boğaz hekimliğinin temelini oluşturan anamnez TS değerlendirmesinin de ilk aşamasıdır. Hayatın erken dönemlerinden itibaren geçirilen kulak enfeksiyonları hikayesi önemlidir. Hastalar genellikle işitme kaybı, bir kısmı da buna eşlik eden tinnitus şikayeti ile başvururlar.

Otoskopik muayenede intakt membranın olduğu miringoskleroz olgularında hasta işitme kaybı tariflemeyebilir ve tek bulgu membran üzerindeki yama tarzındaki plaklardır. Geçirilen enfeksiyonlara ve tuba disfonksiyonuna bağlı olarak atrofi görülebilir. Perforasyonun eşlik ettiği TS hastalarında perforasyonun yerine ve boyutuna göre kemikçikler üzerinde, oval pencerede, promontoryumda plaklar izlenebilir.

Timpanogramda membran üzerindeki plakların yaygınlığı ve yerleşim yerine göre farklı tipler ortaya çıkabilmektedir. Holt ve arkadaşları 33 TS ve incelenmiş timpanik membranlı hastayı dahil ettikleri çalışmalarında, membranda hafif değişikliği olan 13 hastada tip A timpanogramla karşılaşırken, membranın tama yakın tutulduğu 1 hastada tip B timpanogram, 5 hastada tip C timpanogram tespit etmişlerdir. Tip C timpanogram olan hastalarda kulak zarındaki tutulumun tip B hastalarına kıyasla daha az, Tip A ve Tip A_s

görülen hastalara göre daha yaygın olduğunu belirtmişlerdir (48). Bu da timpanik membrandaki sklerotik plakların yaygınlığına göre timpanogram sonuçlarının değişebildiği görüşünü desteklemektedir.

İşitme kaybı genellikle hava-kemik açıklığı oluşturan bir İTİK şeklindedir. Alçak frekansları daha fazla tutan 25-45 dB seviyelerinde bir kayıp yaygın olmakla birlikte kemikçik zinciri ve stapez tabanında fiksasyon tam ise 50-60 dB i bulan işitme kayıpları görülebilir. TS'nin agresif tiplerinde kohlear komponentin de eklenmesiyle sensörinöral işitme kaybı tabloya eklenebilir ve mikst tip kayıp görülebilir (49).

Operasyon sırasında orta kulak mukozası çoğunlukla kuru, enfekte olmayan ve vaskülarizasyonu azalmış olarak izlenir. Austin(14) 320 TS vakasının olduğu çalışmada %91 oranında, Asiri ve arkadaşları (13) ise farklı bir çalışmada %86 oranında orta kulak mukozasını kuru tespit ettiklerini belirtmişlerdir.

Kesin tanı koyduran bir yöntem olmamakla birlikte bilgisayarlı tomografi (BT) matür plakların değerlendirilmesinde kullanılan görüntüleme yöntemidir (Şekil 9). BT'deki görünüm epitimpanum, orta kulak boşluğu ve timpanik membranda tek veya çok odaklı, punktat ya da ağ benzeri kalsifik alanlar olarak tanımlanmaktadır (50). Yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografilerin (HRCT) yaygınlaşmasıyla tanıdaki başarı oranlarının arttığı gösterilmektedir. HRCT'nin matür timpanosklerotik plakları saptamadaki sensitivitesinin %96,8 ve spesivitesinin %98'e kadar çıktığını gösteren yayınlar vardır (51). BT'nin tanısız özelliğinin yanında ameliyat sonrası sonuçları ön görmedeki önemi üzerine de çalışmalar sürdürülmektedir. Kikkawa ve arkadaşları BT'nin TS'ye bağlı stapes fiksasyonu olan hastalarda mastoid kemik havalanmasının stapes cerrahisi sonrası işitmeye etkisini araştırmışlardır. İyi havalandan mastoid kemiğe sahip olguların tek aşamalı cerrahi ile başarılı işitme sonuçları elde ettiği, havalanması azalmış mastoid kemiğe sahip hastaların ise iki aşamalı bir cerrahiden daha çok fayda göreceği belirtilmektedir (52).



Şekil 9: Timpanoskleroz BT görüntüsü. Kliniğimizde operasyonu gerçekleştirilen bir TS hastasının sol kulak BT aksiyel (üstte) ve koronal (altta) kesitlerinin görüntüsü. Kırmızı oklar: sklerotik alanlar.

2.10. AYIRICI TANI

Miringoskleroz, timpanik membran üzerinde beyaz kireç benzeri bir görünüm oluşturduğundan otoskopik muayenede tanıyla ilgili bir karışıklığa yol açmamaktadır.

Perforasyonun eşlik ettiği TS vakalarında da timpanik kavitede ya da kemikçik zincir üzerinde plakların görülmesi ile teşhis edilebilir. Kolesteatom gibi farklı birikimlerle direkt bakıda karışabilmesine rağmen mikroskobun muayeneye dahil edilmesiyle bu karışıklık giderilebilir.

Tanıda zorluğun büyük bir kısmını kapalı TS vakaları oluşturmaktadır. Sheehy ve House yayınlarında (53) bu hastaların sadece 1/3'lük kısmına preoperatif tanı konabildiğini, geri kalan kısmı için ise eksplorasyon gerektiğini ifade etmektedir.

Kolesteatoma hem makroskopik benzerliği hem de kemikçik zinciri erode ederek İTİK'e neden olabilmesiyle TS'nin ayırıcı tanısında yer almaktadır. Kolesteatoma yumuşak ve parçalanabilir yapısıyla, matrikse sahip olmasıyla, invaziv karakteriyle ve mastoid kemikte oluşturduğu defektlerle özellikle mikroskop altında sklerotik plaklardan ayırt edilebilir. Bununla birlikte kolesteatoma ve TS'nin aynı anda görülebildiği de gösterilmiştir (11,54).

Kulakta TS'nin en sık karıştırıldığı patoloji otosklerozdur. Otoskleroz kalıtsal geçişli olduğu gösterilen bir patolojidir. Ailede otoskleroz varlığı, timpanik membranın intakt ve normal olması, sklerozun stapes tabanına sınırlı olması ve plak gibi ayrılamaması, geçirilen otit öyküsünün olmaması tanıda otoskleroz düşündürür. Karşı kulak zarında sklerotik plakların veya otit sekellerinin gözlenmesi geçirilen orta kulak enfeksiyonlarına ve TS'ye işaret edebilir. Odyometri tetkiğinde Carhart çentiği görülmesi otoskleroza yönlendirmekle birlikte yokluğu TS tanısı koydurmamaktadır. BT'de stapez tabanında lokalize skleroz otosklerozun ileri aşamalarında görülebilmektedir ve mastoid havalanma doğal izlenmektedir. TS'ye ise aselüler mastoid eşlik edebilir (12).

En çok karıştırılan bu iki patoloji dışında adeziv otitler ile konjenital kolesteatomlar, konjenital stapes fiksasyonu ve oval pencere agenezisi gibi ender patolojiler de TS ayırıcı tanısında akılda tutulmalıdır.

2.11. TEDAVİ

Timpanoskleroz orta kulaktaki enfektif ve inflamatuvar süreçlerin iyileşme evresinde çeşitli faktörlerin etkisiyle oluşan sekel bir değişikliktir. Plaklar ortaya çıktıktan sonra artık geri dönüşümsüz bir patoloji olduğu kabul edilir ve yavaş ancak ilerleyici bir özellik gösterebilir. Bu nedenle TS'nin tedavisini önleyici ve cerrahi tedavi olarak iki başlık altında incelemek faydalı olacaktır.

2.11.1. Koruyucu Tedavi

Ülkemizde akut otitlerin ağrıdan kaynaklı ilk başvuru adresi acil hekimleri ve pratisyen hekimlerken, kronik süpüratif otitler ve efüzyonlu kronik otitlere kulak burun boğaz ve pediatri polikliniklerinde daha çok tanı konulmaktadır. Bu hastalıkların toplumdaki yaygınlığı göz önünde bulundurulduğunda bu üç branş hekimlerine tedavide büyük sorumluluklar düşmektedir. Otit hastalarına hastanın yaşı ve o yaş grubundaki etken patojenler göz önünde bulundurularak yeterli tedavi sağlanmalıdır. Çocuk hastalar efüzyonlu otitis mediaya neden olabilecek adenoid vejetasyon, östaki tüp disfonksiyonu gibi predispozan faktörler açısından dikkatli bir şekilde değerlendirilmeli ve gerekirse bu faktörlerin tedavisi sağlanmalıdır. Efüzyonlu otitis medianın rekürren ve dirençli bir seyri olabileceği ön görülerek çocukların yakın takibi yapılmalı ve ventilasyon tüp tatbiki kararı ancak bu takip sonunda verilmelidir.

Literatürde hem distrofik kalsifikasyonların oluşumunun engellenmesini hem de oluşan plakların enzimatik olarak giderilmesini amaçlayan çalışmalar devam etmektedir. Ancak günümüzde otitlerin etkin tedavisi dışında kabul gören bir yöntem henüz bulunmamaktadır.

2.11.2. Cerrahi Tedavi

Timpanosklerozun cerrahi tedavisinin temelinde işitme kaybının azaltılması yatmaktadır. Bu amaçla öncelikle hastalığın membran ve orta kulaktaki yaygınlığı, işitme

kaybının derecesi ve işitme kaybının plakların konumuyla ilgisi değerlendirilir. Açık TS olgularında aktif enfeksiyon varlığı, kolesteatoma birlikteliği, membran atrofisi gibi ek patolojilerin varlığı önem taşımaktadır. Kapalı TS olgularında ise ayırıcı tanıda bulunan diğer patolojiler açısından dikkatli olunmalıdır. Hastaların işitmeyle ilgili beklentilerinin ameliyattan sağlanabilecek faydayla uyumlu olup olmadığı hesaplanır. Bazı durumlarda yapılacak işlemin yalnızca bir eksplorasyon olarak kalabileceği göz önünde bulundurularak hastalar operasyon öncesi bilgilendirilmeli ve ameliyat kararı hastayla beraber alınmalıdır.

Timpanosklerozda cerrahinin amacı açık TS vakalarında var olan perforasyonun kapatılması ve bu yolla rekürren enfeksiyonların önüne geçilmesi, işitme kaybının azaltılması, işitme cihazından daha fazla faydalanılmasının sağlanmasıdır. Kapalı TS vakalarında işitme kaybının sebebinin belirlenmesi, tanının kesinleşmesi durumunda işitme kaybının giderilmesini sağlayan mobilizasyon işlemlerinin gerçekleştirilmesi ve mikst tip kaybı olan hastalarda işitme eşiklerinin daha iyi seviyelere getirilmesidir.

Sadece timpanik membranın tutulduğu miringoskleroz olgularında işitmeyi belirleyen plakların yaygınlığıdır. Miringosklerozun işitme kaybına genel olarak neden olmadığı kabul edilmekle birlikte kalın kalsifik plakların membranın doğal hareketini bozması olasıdır. Cerrahi sırasında membranda karşılaşılan plakların greftin yerleştirilmesi aşamasında membranla greftin birleşmesine engel olması nedeniyle çıkarılması yaygındır. Burada dikkat edilen nokta perforasyonun genişlemesi ihtimali nedeniyle plağın ne kadarının çıkarılması gerektiği hususudur. Geniş, manubrium mallei'yi fiks eden plakların çıkarılmasının işitmeye katkı sağlayacağı kabul edilmektedir.

Attik bölgenin ve mezotimpanumun tutulduğu olgularda değerlendirilmesi gereken öncelikle kemikçiklerin farklı seviyelerdeki fiksasyonlarıdır. İlk denenecek yöntem mobilizasyon olmakla birlikte operasyonun başarısını belirleyen temel etken stapesin mobilizasyonudur. Stapesin aşırı fiks olduğu durumlarda oluşabilecek komplikasyonlar düşünülerek protez uygulaması ya da işitme cihazı kullandırma kararı da cerrah tarafından akılda tutulmalıdır.

a-Timpanik kaviteye ulaşım yolu

- retroaurikuler
- transkanal(endoskop ya da mikroskop eşliğinde)
- endaural

b-Tercih edilen greft materyali

- fasya(cerrahi sahaya yakınlığı nedeniyle genellikle temporal kas)
- perikondrium
- kıkırdak adası (konkal ya da tragal kartilaj)

c-Greftin yerleştirilmesi

- onlay (genellikle anterior geniş perforasyonlarda)
- underlay (genellikle posterior küçük perforasyonlarda)
- over-underlay
- inlay (butterfly teknik ve epitelial fleplerle)

d-Cerrahi teknik

- kulak zarı perfore ise;

i.malleus ve inkus başı fiksasyonu: Kemikçik zincir intaktsa attikotomi yapılır, malleus ve inkus başını fikse eden plaklar temizlenir, attikotomi defekti kartilaj ile onarılır. Kemikçik zincir intakt değilse attikotomiye gerek olmadan inkus çıkarılıp by-pass teknik uygulanabilir ya da attikotomi yapıp malleus başı kesilip PORP tatbiki uygulanabilir.

ii.malleus ve inkus başı fiksasyonu+stapez fiksasyonu: Kemikçik zincir intaktsa attikotomi ve mezotimpanumda plakların temizlenmesi ile kemikçik zincir mobilizasyonu yapılabilir. İnkus uzun kolunda defekt varsa attik mobilizasyonu sonrası

inkus çıkarılarak interpozisyon ya da küçük defektlerde kemik çimentosu ile onarım tercih edilebilir.

iii.stapez tabanı fikse ise: Stapediolizisten kaçınılarak stapez tabanındaki plaklar temizlenebilir. Eğer stapediolizis kaçınılmazsa bu aşama operasyonun sonlarına ertelenmelidir. Stapedotomi stapedektomiye tercih edilir. Stapez stabilizasyonu için inkudostapedial eklem ve tendon ayrılmadan plaklar temizlenmelidir.

Kamal 1997 yılında yayınlanan çalışmasına (54) opere ettiği 85 açık TS hastasını dahil edip bu hastaları kemikçik zincirin tutulum yerine göre sınıflamıştır. Sadece malleus ve anterior timpanik kavitenin tutulduğu olgularda mobilizasyon uygularken özellikle stapes tabanına müdahale gerektiren olgularda plakların temizlenmesinin ardından bu aşamanın 12-18 ay sonraki ikinci bir operasyona bırakılmasının faydalı olduğunu belirtmiştir. Yine Tos 16 yıl içerisinde karşılaştığı stapes suprakistikürü izlenmeyen ve stapes taban fiksasyonu olan 8 hastasında iki aşamalı bir cerrahi tercih ettiğini belirtmektedir (55). Enfeksiyon riskinden dolayı perforasyonun kapatılıp enfektif olmayan bir kavite oluşana kadar beklemeyi ve stapedektomiye ikinci bir seansa ertelemeyi savunan yayınlar da vardır (56).

-kulak zarı intakt ise;

İnkus ve malleus fiksasyonunda açık TS ile benzer yöntemler kullanılır ve membran tekrar kapatılır. Stapes tabanı fikse ise plakların karakterine göre mobilizasyonu, stapedotomiye ve stapedektomi ile malleus taban arasına piston yerleştirmeyi tercih eden cerrahlar olduğu gibi cihaz kullanılmayı tercih eden cerrahların sayısı da az değildir.

2.12. SKLEROSTİN VE METABOLİK ÖNEMİ

Sklerostinin tarihsel geçmişi otozomal resesif geçişli, kemik kütlesinde kontrolsüz artışla karakterize iki hastalık olan sklerosteoze ve Van Buchem hastalıklarının araştırılması ile başlamaktadır. Kemik metabolizmasındaki bozukluktan kaynaklanan bu iki konjenital hastalık da 17q12-q21 kromozomuna işlenmiştir. Bu kromozom üzerindeki

SOST geni iki hastalıktan da sorumlu gen olarak tariflenmektedir. Sklerostin, SOST geni tarafından kodlanır ve ekspresyon düzeyindeki değişikliklerin sonucu olarak serum sklerostin düzeyleri farklılık gösterir. Sklerosteoza hastalarında serum sklerostin seviyeleri tespit edilemezken, Van Buchem hastalığında serum sklerostin seviyeleri çok azalmış tespit edilmektedir (57).

Sklerostin, bir sistein-düğüm motifi içerdiği tahmin edilen ve DAN/Cerberus protein ailesinin bir üyesi olan 190 rezidü salgılanan bir glikoproteindir (58). SOST geni, ilk 23 kalıntıda salgılama için bir sinyal dizisi içeren 24 kDa'luk bir moleküler ağırlığa sahip 213 aminoasitlik bir propeptidi kodlar. Sklerostin, oldukça esnek N ve C-terminal kolları, heparin bağlanmasında rol oynayan iyi tanımlanmış yapısal bir çekirdek ve Wnt sinyalinin inhibisyonunda rol oynayan yarı esnek bir döngünün dahil olduğu bir yapısal özellik gösterir. Nükleer manyetik rezonans analizi, üçüncül yapının üç döngüden, üç disülfid bağı içeren bir sistein-düğüm motifinden ve N- ve C-terminal ara kollarından oluştuğunu göstermektedir. 1. ve 3. döngüler tarafından oluşturulan uzatılmış parmakların konkav yüzünde, potansiyel bir protein etkileşim bölgesi oluşturabilecek önemli bir hidrofobik yama vardır. Sklerostinin 2. döngü bölgesi, sklerostin işlevini modüle eden bir antikor için bağlanma bölgesi olarak tanımlanmaktadır. Bu sonuç, bu bölgenin sklerostin tarafından Wnt sinyalinin engellenmesini bloke eden diğer birkaç antikor için hedef bölge olarak tanımlanmasıyla daha da desteklenmektedir (59).

İmmünohistokimyasal çalışmalar, sklerostinin ağırlıklı olarak osteositlerde eksprese edildiğini, ancak ekspresyonunun çeşitli doku ve hücrelerde de tespit edildiğini ortaya koymuştur. SOST RNA kıkırdak, böbrek, kalp, karaciğer, epididim ve testisin vas deferens, pilorik sfinkter, karotid arterler ve merkezi sinir sisteminin bazı kısımları gibi diğer insan ve fare dokularında da ifade edilir. Winkler ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği fare genetik çalışması (60) kondrositler, mezenkimal doku ve adipoz dokuda da sklerostinin kodlandığını ortaya koymaktadır. Yine aynı çalışmada SOST'un aşırı ekspresyonunun farelerde osteoporoza neden olduğunu göstermiştir. Huang ve arkadaşlarının ratlarda oluşturduğu TS hayvan modelinde ratların sklerotik ve normal

timpanik membranlarından alınan örneklerde de sklerostinin varlığı ortaya konmuştur (61).

Serum sklerostini yaşla birlikte artma eğilimindedir. Serum sklerostin düzeylerinin premenopozal kadınlar için yaş, paratiroid hormonu, estradiol (E2) ve folikül uyarıcı hormon (FSH); postmenopozal kadınlar için yaş, FSH ve E2 dahil olmak üzere çeşitli değişkenlere bağlı olarak değiştiği gösterilmiştir (62). Böbrek fonksiyonu da serum sklerostin seviyelerini etkilemektedir ve kronik böbrek hastalığı olan hastalarda serum sklerostin seviyeleri normal böbrek fonksiyonları olan hastalara nazaran daha yüksek bulunmuştur. Sklerostin seviyelerini etkilediği gösterilen bir diğer hormon da parathormondur (PTH). SOST ekspresyonu, kemik metabolizmasında önemli bir rolü olan PTH/PTHrP reseptör tip 1 sinyalizasyonu yoluyla PTH tarafından baskılanır ve primer hiperparatiroidizmlili hastaların daha düşük serum sklerostin seviyelerine sahip olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (63).

2.13. SOST EKSPRESYONUNUN DÜZENLENMESİ

Kemik yeniden şekillenmesi, sağlıklı kemiklerin korunduğu, kemik yapım ve yıkım aşamaları ile mineral dengesinin düzenlendiği dinamik süreçtir. Osteoklastlar eski kemik dokusunu rezorbe eder ve osteoblastlar yeni kemik oluşturur. Bu metabolizma iki hücre tipinin yakın etkileşimi ile düzenlenir. Bu kemik yeniden şekillenme süreci genetik, mekanik (yükleme, egzersiz), vasküler/sinirsel, besinsel ve çeşitli otokrin, parakrin ve endokrin sinyaller dahil olmak üzere birçok etkileşimli faktör tarafından düzenlenir.

SOST iki ekzon ve bir intron içerir. Sklerostinin SOST geni tarafından kodlanması, SOST'un 35 kb aşağısında bulunan kodlayıcı olmayan evrimsel olarak korunmuş bölge 5 (Evolutionarily Conserved Region 5)(ECR5) arttırıcı bölgesi ve yukarı yönde proksimal bir promotör tarafından düzenlenir. Arttırıcı veya promotör aracılığıyla transkripsiyonel düzenleme genin ekspresyonuna etki eden yolağa bağlıdır. Osteositlerde SOST düzenlemesinin en yaygın olarak tanımlanan üç yolu mekanotransdüksiyon, Wnt/ β -katenin yolağı ve steroid sinyalizasyonudur.

MEKANOTRANSDÜKSİYON İLE SOST DÜZENLEMESİ

Kemik üzerine olan mekanik yükleme yeniden şekillenme için önemli bir faktördür. Farelerin uzayda geçirilen 30 gün sonunda değerlendirildiği çalışmada SOST ekspresyonunda anlamlı bir artış gözlenmiştir (64). Mikro yer çekiminin kemik yeniden şekillenmesi üzerindeki etkisini araştırmaya yönelik sınırlı çalışma, mekanik yüklemenin dengeli bir kemik döngüsünü sürdürmek için önemli olduğunu ve bu etkinin sklerostin tarafından düzenlenebileceği hipotezini desteklemektedir. Düşük oranlardaki sıvı akışı kayma stresi (Fluid Flow Shear Stress) (FFSS), osteositlerin dendritleri üzerindeki $\alpha V\beta 3$ integrinleri tarafından ekstraselüler matriksten (ECM) algılanır ve fosfoinositid 3-kinaz (PI3K-Akt) aracılığıyla osteositlerdeki konneksin 43 (Cx43) bağlantı kanallarının açılmasını aktive eder. Cx43 açılması prostaglandin E2 (PGE2) çıkışına neden olur. PGE2 reseptör aktivasyonuna yol açarak β -katenin aktivasyonu yoluyla SOST ekspresyonunu inhibe eder. FFSS ayrıca Ca^{++} kanalının açılmasını ve Ca^{2+} akışını uyararak Akt'yi de aktive eder. Bu bulgular, Akt yolağının osteositlerde SOST'un ekspresyonunu inhibe eden mekanik uyaranların temel hücre içi araçlarından biri olduğuna işaret etmektedir (65).

STEROİD HORMONLARI İLE SOST DÜZENLEMESİ

SOST'tan sklerostinin kodlanmasını düzenleyen bir diğer yol östrojen reseptörleri (ER) gibi steroid hormon sinyalleridir. İki reseptör $ER\alpha$ ve $ER\beta$, SOST ekspresyonu üzerinde antagonist etkilere sahiptir. E2'nin sklerostin düzeylerini aşağı doğru düzenlediği de gösterilmiştir. E2'nin tarafından inhibisyona $ER\beta$ 'ya bağlanma aracılık ederken, $ER\alpha$ ligandı bağımsız olarak SOST'un ekspresyonunu korur. $ER\alpha$ ve $ER\beta$ aynı SOST düzenleyici bölgesi için yarış halindedir ve E2 $ER\beta$ 'nin bağlanmasını artırır ve böylece $ER\alpha$ 'nın gene bağlanmasını önler. $ER\alpha$ 'nın kaybı da benzer şekilde SOST ekspresyonunun inhibisyonu ile sonuçlanır.(65) Ayrıca, insan mezenkimal kök hücrelerinde E2 ile tedavi, Wnt/ $ER\alpha$ / β -katenin sinyal yolunu aktive eder ve β -katenin seviyelerinin artmasına neden olur.

Wijenayaka ve arkadaşları steroid hormonu 1,25-dihidroksivitamin D'nin(1,25(OH)₂ D) SOST ifadesini düzenlediğini göstermiştir. 1,25(OH)₂ D, osteoblast benzeri SaOS-2 hücrelerinde SOST'un ekspresyonunu SOST'un yukarısındaki bir D

vitamini yanıt elementine bağlanarak, ancak ECR5 arttırıcı bölgesinden bağımsız olarak indüklemiştir (66).

2.14. SKLEROSTİN VE WNT YOLUNUN FONKSİYONU

Wnt sinyal yolu memeli embriyonik gelişiminde ve yetişkin doku homeostazında önemli rolleri olan bir metabolik yolaktır. Memelilerde çeşitli ligand-reseptör etkileşimleri ile hücre sinyalizasyonunda etkili olan on dokuz Wnt ligandı tanımlanmıştır. Wnt reseptörleri, hücre içi sinyallerini kanonik, β -katenin bağımlı yollarla ve doğrudan β -katenin'e bağlı olmayan kanonik olmayan birkaç yolla aktarır (67).

Kanonik Wnt yolu, Wnt ligandlarının Frizzled(Fzd) ve düşük yoğunluklu lipoproteinle ilişkili protein reseptör proteinleri 5 veya 6'yı (LRP5/6) içeren bir koreseptör kompleksine bağlanmasıyla aktive edilir. Wnt ligandlarının bu reseptör kompleksine bağlanması β -katenin stabilizasyonunu ve sitoplazmada birikimini artırır. Sitoplazmada artan β -katenin hücre çekirdeğine geçerek burada T-hücre faktörü/lenfoid "enhancer" faktörüne (TCF/LEF) bağlanır ve Wnt hedef genlerinin transkripsiyonunu başlatır (65). Wnt hedef genlerinin aktivasyonu ile siklin D1, PPAR ve c-Myc kodlanır ve bunlar hücre büyümesi, çoğalmas ve hayatta kalmasından sorumludur (68). Sklerostin, LRP4 ve LRP5/6'ya bağlanarak β -katenin fosforilasyonuna yol açan kanonik Wnt sinyalini inhibe eder ve böylece β -kateninin proteazomlar tarafından parçalanmasını artırır.

Sklerostin LRP4, 5 ve 6 ile etkileşime girerek Wnt1'in ve Wnt3a'nın bağlanmasını engeller. Sklerostinin Wnt3a'ya kıyasla Wnt1'in daha güçlü bir inhibitörü olduğu ve ayrıca sklerostinin Wnt1 ve Wnt3a reseptörlerine bağlanma mekanizmasının farklı olduğu bildirilmiştir. LRP6, dört özdeş ektodomandan (E1, E2, E3 ve E4) oluşan bir transmembran proteinidir. LRP6'nın G-proteinine bağlı reseptör Fz ile reseptör kompleksi oluşturması, ligand bağlanma türüne bağlıdır. Wnt3a E3 ve E4 ile etkileşime girerken, hem Wnt1 hem de sklerostin LRP6'nın E1 ve E2 ektodomainleri ile etkileşime girer(69). Bu etkileşim Wnt1'in bağlanmasını doğrudan inhibe ettiği ve allosterik olarak bağlanmayı önlediği için neden Wnt1 in daha güçlü bir inhibitörü olduğunu açıklamaktadır.

SOST'un bir zamanlar yalnızca kemik ve mineral dokudaki osteositler tarafından eksprese edildiği düşünüldüğünden, sklerostinin doku onarımına, yaralanma ve inflamasyona karşı fibrinojenik yanıtı aracılık etmedeki rolü büyük ölçüde bilinmemektedir. Dickkopf-1'in sistemik olarak verilmesinin perisitlerin miyofibroblastlara ayrılmasını engelleyebileceği ve yerleşik miyofibroblastların çoğalmasını azaltarak böbrek fibrozunu azaltabileceği düşünülmektedir. Bu bilgiye dayanarak Dickkopf-1 ile benzer moleküler mekanizmayla çalışan bir Wnt yolu inhibitörü olan sklerostinin renal interstisyel fibrozisi önlemede etkili olabileceği görüşü ortaya atılmıştır (70). Böbrek, akciğer, kalp, aortta SOST gen ekspresyonunun yanı sıra iskelet dışı yumuşak dokularda dimerik sklerostin proteininin varlığı tespit edildiğinden, SOST gen ekspresyonunun doku ve hücrelerde yaygın olduğu öne sürülmektedir. SOST geninin ekspresyonunun engellenmesinin tubulointerstisyel bozulma ve fibrozisin yanı sıra daha yüksek fibrojenik gen/protein ekspresyonuna neden olduğu hayvan modelinde gösterilmiştir.

Wnt yolu ve sklerostin molekülünün etkileşimi vücutta pekçok fibrozisle seyreden hastalığın patogenezinde araştırılmaktadır. Kanonik Wnt/ β -katenin sinyalinin sistemik skleroz fare hayvan modelinde subkutanöz lipoatrofi ve cilt fibrozisi ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur (71). Taylan ve arkadaşları 46 sistemik sklerozis hastasını dahil ettikleri çalışmalarında cilt tutulumu olan hastalarda hem dickkopf-1 hem de serum sklerostin seviyelerini yüksek bulmuşlardır. Önceki çalışmalarda Wnt yolu inhibitörlerinin sistemik sklerozdaki yoluyla ilgili bir fikir birliği olmadığını belirtmekle birlikte artmış Wnt inhibitor seviyelerinin fibrozisle ilişkili olabileceğine işaret etmektedirler (72). Fernandez-Roldan ve arkadaşları ise kalsinozisi bulunan sistemik sklerozis hastalarıyla kalsinozisi olmayan sistemik sklerozis hastalarının serum sklerostin düzeyleri arasında anlamlı bir fark gözlemlediklerini belirtmektedirler (73).

Hem morfoloji hem de histoloji açısından, TS'deki nihai patoloji değişikliği, patogenezinde kemik yeniden şekillenmesinin etkili olduğu ankilozan spondilit, osteoporoz ve romatoid artrit gibi çeşitli kemik hastalıklarına benzer görünmektedir. Bu nedenle, patolojik kemik yeniden şekillenmesinin TS'de de lokal kalsifikasyon

oluşumuyla ilişkili olabileceğini düşünülmüştür. Bu görüşü aydınlatmayı amaçlayan Zhang ve arkadaşlarının 2017 yılında oluşturduğu TS fare hayvan modelinde (74) TS grubunda Dickkopf-1 proteini ekspresyon düzeyi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Bu bilgi ışığında Dickkopf-1 proteininin TS sürecinde lokal kalsifikasyonların oluşumunda etkili olabileceği görüşü ortaya atılmıştır.



3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. TİMPANOSKLEROZ VE KONTROL GRUBUNUN TANIMLANMASI

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Kliniği'nde 01.11.2023 ile 15.07.2024 tarihleri arasında tip 1 timpanoplasti operasyonu geçiren hastalar prospektif olarak tarandı. Cerrahi esnasında timpanik membranda ya da orta kulakta hiyalen veya kalsifik plakları görülen hastalardan dışlama kriterlerini taşımayanlar TS hasta grubuna, plak görülmeyen hastalar kontrol hasta grubuna dahil edildi. TS hasta grubuna dahil edilen hastalardan patolojik tanı için plak materyali, doku sklerostin ve β -katenin düzeylerinin tespiti için orta kulak mukozası örneği, serum sklerostin ve β -katenin düzeylerinin tespiti için 2 cc venöz kan örneği alındı. Plak bulunmayan kontrol hasta grubundan ise yine belirtilen parametrelerin tespiti için orta kulak mukozası örneği ve 2 cc venöz kan örneği alındı. TS hasta grubuna 56, kontrol hasta grubuna 28 olmak üzere toplamda 84 tip 1 timpanoplasti operasyonu geçiren hasta çalışmaya dahil edildi.

Çalışma dışı bırakma kriterleri; daha önce aynı kulaktan timpanoplasti operasyonu öyküsü bulunan hastalar, tip 1 timpanoplastiden farklı bir teknik tercih edilen hastalar, cerrahi sırasında kolesteatoma varlığı tespit edilen hastalar, ventilasyon tüp tatbiki öyküsü bulunan hastalar, 12 yaşından küçük veya 70 yaşından büyük hastalar, romatolojik hastalık tanısı alan hastalar, ateroskleroz tanısı alan hastalar, düzenli steroid tedavisi alan hastalar ile odyometri tetkiki dış merkezde yapıldığından elektronik bilgi sisteminde bulunmayan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Hastaların cerrahi öncesi takiplerindeki klinik bilgilere, radyolojik görüntülere ve cerrahi sonrasındaki patoloji sonuç bilgilerine hastanemiz Probel elektronik bilgi sistemi üzerinden ulaşıldı. Sklerozun derecesi ve yerine dair bilgilere cerrahi sırasında mikroskopik bakı ile karar verildi. Çalışmamızda değerlendirilen bilgiler arasında her iki grup için yaş, cinsiyet, opere edilen kulağın tarafı, opere edilmeyen timpanik membranın durumu, hava işitme eşiği, kemik işitme eşiği, hava-kemik aralığı bilgileri; TS hasta grubu

için skleroz derecesi, sklerozun yeri ve plak materyalinin patolojik tanısı yer almaktadır. Plak materyalinin patoloji sonuçları içerdiği dokunun patolojik özelliklerine göre temelde hiyalen plak, kalsifik plak ve hiyalen+kalsifik plak olmak üzere 3 kategoride ele alındı. Her iki grup yaş, cinsiyet, karşı kulak zarının durumu, kemik işitme eşiği, hava işitme eşiği, hava-kemik aralığı, doku/serum sklerostin ve β -katenin düzeyi parametreleri açısından karşılaştırılırken TS hasta grubu kendi içinde opere edilen kulağın tarafı, plak materyalinin patoloji sonucu, TS şiddeti ve kemik/hava aralığı arasındaki ilişki açısından incelendi.

Hastaların kemik işitme eşiği, hava işitme eşiği ve hava-kemik işitme eşiği farkı değerleri için odyometri tetkikindeki 500, 1000, 2000 Hz frekansları dikkate alındı. Bu üç frekanstaki işitme eşiklerinin ortalaması alınarak bir ortalama değer hesaplandı.

Timpanosklerozun şiddetine göre subgruplara ayrılması için Wielinga ve Kerr'in 1993 yılındaki yayınlarında tarifledikleri TS sınıflamasından yararlanıldı (15). Ancak çalışmaya dahil edilen hastalarımızın hiçbirinde izole stapes taban fiksasyonu olmadığından cerrahi sırasında manubrium tutulumu olsun ya da olmasın timpanik membran sklerozu gözlenen hastalar subgrup I, malleus-inkus kompleksinin fiks olduğu hastalar subgrup II ve malleus-inkus kompleksiyle beraber stapes fiksasyonunun izlendiği hastalar subgrup III olarak kategorize edilmiştir.

3.2. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME

Tip 1 timpanoplasti operasyonu sırasında timpanik membran veya orta kulakta sklerotik plakları görülen hastalardan alınan plak materyali bir gece boyunca %4 formaldehit solüsyonu ile fiks edildi. Etilendiamintetraasetik asit solüsyonu ile dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyondan sonra gradient alkol ile dehidrasyon işlemi yapıldı ve histolojik gözlem için kullanıldı. Daha sonra, örnekler parafine gömüldü ve 4 μ m kalınlığa kadar kesildi ve hematoxilen-eozin kullanılarak boyandı.

Hastanemiz Patoloji Anabilim Dalı'ndan çalışmadan habersiz olarak mukoza kalınlığını, enflamasyon yoğunluğunu, lamina propriadaki fibrozis ve hiyalen

dejenerasyon derecesini, kalsifik odakların varlığını ve dağılımını ışık mikroskobu altında değerlendirmeleri istenmiştir.

3.3. ÖRNEKLERİN BİYOKİMYASAL ANALİZİ

Tip 1 timpanoplasti operasyonu sırasında hem TS hasta grubundaki hem de kontrol hasta grubundaki olgulardan alınan orta kulak mukozası 1 cc izotonik içerisinde Eppendorf tüplerine kondu. Bu örnekler biyokimyasal Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) için hızlı bir şekilde -80°C'de donduruldu ve ELISA analizinin yapılacağı güne kadar -80°C'de bekletildi. Yine kan örnekleri ameliyattan önce 12 saatlik açlığın ardından perop alınmıştır. Kan örnekleri 3500 g'de 10 dakika süreyle santrifüj edildikten sonra ortaya çıkan serum örnekleri 2 ayrı Eppendorf tüpüne 1'er cc toplanmış ve analize kadar -80°C'de dondurucuda saklanmıştır.

ELISA analizinden bir gün önce oda sıcaklığına getirilen izotonik içerisindeki orta kulak doku örneği hastanemiz Biyokimya Anabilim Dalı'nda homojenizatör yardımı ile homojenize edildi ve temiz deney tüplerine alınarak +4°C'de 1 gün daha muhafaza edildi. Hem homojenize edilen orta kulak mukozası hem de serum örneği ELISA çalışma günü, analizden önce kademeli olarak oda sıcaklığına getirildi. Homojenize edilen orta kulak mukozası örneği 3500g'de tekrar santrifüj yapıldı.

Çalışılmaya hazır hale gelen numuneler ELISA kitinin temel çalışma prensibi olan belli aşamalardan geçirildi:

- 1- Kaplama: Mikroplaklar önceden kaplanmış antikorlarla kaplanır. Bu antikorlar, sklerostin ve β -katenin'e spesifik olarak bağlanabilen antikorlardır.
- 2- Bağlama: Hazırlanan numune mikroplaklara eklenir ve sklerostin ve β -katenin ile reaksiyona girer.
- 3- Yıkama: Mikroplaklar yıkanarak fazla miktarda veya bağlanmamış materyaller uzaklaştırılır.
- 4- Tespit: Sklerostin ve β -katenin ile reaksiyona giren ikinci bir enzimatik antikor yardımıyla örnekteki bu proteinlerin düzeyleri belirlenir.

Serum/doku sklerostin ve β -katenin düzeylerinin ölçümü için sırasıyla hem serum hem de dokuda çalışılabilen insan sklerostin ELISA kiti(Human Sclerostin; Katalog no:

201-12-5418 Sunred Biological Technology Co. Ltd, Shanghai, CHINA) ve insan β -katenin ELISA kiti(Human β -Catenin; Katalog no: 201-12-7277 Sunred Biological Technology Co. Ltd, Shanghai, CHINA) kullanıldı. İnsan sklerostin ELISA kiti için ölçüm aralığı 0,2-60 ng/ml, gün içi ve günler arası %CV(varyasyon katsayısı) değeri sırasıyla <10% ve <12%, sensitivitesi 0,175 ng/ml idi. İnsan β -katenin ELISA kiti için ölçüm aralığı 0,25-70 ng/ml, gün içi ve günler arası %CV değeri sırasıyla <10% ve <12%, sensitivitesi 0,247 ng/ml idi. Sonuçlar Plaka yıkamalarında otomatik yıkamacı Bio-Tek ELX50 (BioTek Instruments, ABD), absorbans okumalarında ChroMate, Microplate Reader P4300 cihazı (Awareness Technology Instruments, ABD) kullanılarak elde edildi.

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versiyon 27.0 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak ifade edilmiş, kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde (%) olarak sunulmuştur. Parametrelerin normallik testi Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılıma uyan parametrelerin ikili grup karşılaştırması Independent Sample t testi, non-parametrik dağılım gösteren parametreler ise Mann-Whitney U testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Çoklu grup analizinde ise normal dağılan parametreler One-Way ANOVA, non-parametrik dağılanlar ise Kruskal-Wallis testi ile değerlendirilmiştir. Katılımcıların yaş, işitme eşiği değerleri ve demografik özellikleri tablolar halinde özetlenmiş, gruplar arasındaki farkların istatistiksel anlamlılığı değerlendirilmiştir. Çoklu karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis testi, ikili karşılaştırmalar için ise Bonferroni alt grup analizi uygulanmıştır. p değeri 0.05'in altında olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3.5. ETİK KURUL ONAYI

Tez çalışmamız için vaka-kontrol klinik araştırması olarak Sağlık Bilimleri Üniversitesi Sultangazi Haseki ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 16.10.2023 tarihinde 179-2023 karar no'lu etik kurul onayı alınmıştır.

Çalışmamızda ihtiyaç duyulan bütçe hastanemizin Bilimsel Çalışmaları Destekleme Kurulu tarafından 16.10.2023 tarihli 179-2023 nolu kararıyla karşılanmıştır. Tarafımıza kurul tarafından sağlanan bütçe desteği dışında çalışmamız süresince klinik araştırmamızla ilgili herhangi bir ilaç firmasından ve medikal malzeme temin eden herhangi bir firmadan maddi ya da manevi destek alınmamıştır.

3.6. ÇIKAR ÇATIŞMASI

Çalışmamızda yazarın, tez danışmanının, tezin yazımı süresince katkısı bulunan diğer branş hekimlerinin bir bilimsel ve tıbbi komite ile çıkar çatışmasına neden olabilecek doğrudan veya dolaylı bir ilişkisi bulunmadığını beyan ederiz.

4. BULGULAR

Tablo 2. Hastaların Tanımlayıcı Demografik ve Klinik Özellikleri

		Sayı	Yüzde %
Yaş(yıl)		36,7±11,1	
Cinsiyet	Kadın	49	58.3%
	Erkek	35	41.7%
Ameliyat Edilen Taraf	Sağ	34	40.5%
	Sol	50	59.5%
Karşı Kulak Zarı Durumu	İntakt	54	64.3%
	Perfore	30	35.7%
Skleroz Derecesi	Plak Yok	28	33.3%
	Subgrup I(Membran±Manubrium)	40	47.6%
	Subgrup II(Malleus±İnkus)	9	10.7%
	Subgrup III Tüm Kemikcik Zincir	7	8.3%
	Yok	28	33.3%
Patoloji Sonucu	Hyalen Plak	23	27.4%
	Kalsifik Plak	16	19.0%
	Hyalen+Kalsifik Plak	17	20.2%

Araştırmaya dahil edilen hastaların tanımlayıcı demografik ve klinik özellikleri Tablo 2’de gösterilmiştir. Araştırmamıza KOM için opere edilen ve perop TS tanısı konulan 56 hasta ve TS izlenmeyen 28 hasta olmak üzere toplam 84 hasta dahil edilmiştir.

Araştırmaya dahil edilen hastaların yaş ortalaması $36,7 \pm 11,1$ olarak bulundu.

Araştırmaya katılan hastaların 49 (%58.3)’u kadın, 35 (%41.7)’i erkekti.

Hastaların 34 (%40.5)’ü sağ, 50 (%59.5)’si sol kulağından opere olmuştur.

Karşı kulak zarı durumu incelendiğinde, hastaların opere olmayan kulağının 54 (%64.3)’ünde intakt, 30 (%35.7)’unda perfore olduğu görülmüştür.

Skleroz derecesine göre incelendiğinde, hastaların 28 (%33.3)’inde plak görülmemiştir, 40 (%47.6)’ında membran ve/veya manumrium mallei tutulumu, 9 (%10.7)’unda malleus ve/veya inkus tutulumu ve 7 (%8.3)’sinde tüm kemikcik zincir tutulumu mevcuttur.

Sklerotik plak patoloji sonuçlarına göre, hastaların 28 (%33.3)’inde patoloji yokken, 23 (%27.4)’ünde hyalen plak, 16 (%19.0)’sında kalsifik plak ve 17 (%20.2)’sinde hyalen+kalsifik plak özelliklerini birlikte barındıran plaklar mevcuttur.

Tablo 3. Katılımcıların Hava İşitme Eşiği, Kemik İşitme Eşiği ve Hava-Kemik Aralığı Değerleri

	Ortalama $\pm$ S.D.
Hava-Kemik Aralığı (dB)	19.12 $\pm$ 7.52
Kemik İşitme Eşiği (dB)	16.80 $\pm$ 8.96
Hava İşitme Eşiği (dB)	35.93 $\pm$ 12.63

Hastaların hava işitme eşiği, kemik işitme eşiği ve hava-kemik aralığı değerleri Tablo 3’te incelenmiştir. Hava işitme eşiği ortalaması 35.93 ± 12.63 dB, kemik işitme eşiği ortalaması 16.80 ± 8.96 dB ve hava-kemik aralığı ise ortalama 19.12 ± 7.52 dB olarak ölçülmüştür.

Tablo 4. Hastaların Serum/Doku Sklerostin ve β -katenin Seviyeleri

	Ortalama $\pm$ S.D.
Serum Sklerostin Seviyesi (ng/mL)	6.16 $\pm$ 4.27
Doku Sklerostin Seviyesi (ng/mL)	13.61 $\pm$ 2.45
Serum β -katenin Seviyesi (ng/mL)	8.21 $\pm$ 6.72
Doku β -katenin Seviyesi (ng/mL)	18.57 $\pm$ 5.16

Hastaların serum ve doku sklerostin ile β -katenin seviyeleri Tablo 4’te gösterilmiştir. Serum sklerostin seviyesi ortalama 6.16 ± 4.27 ng/mL, doku sklerostin seviyesi ortalama 13.61 ± 2.45 ng/mL olarak ölçülmüştür. Serum β -katenin seviyesi ortalama 8.21 ± 6.72 ng/mL iken, doku β -katenin seviyesi ortalama 18.57 ± 5.16 ng/mL olarak hesaplanmıştır.

Tablo 5. Timpanoskleroz ve Kontrol Gruplarının Demografik ve Klinik Özelliklerinin Karşılaştırması

		Kontrol Grubu (n=28)		TS Grubu (n=56)		p değeri
		Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	
Cinsiyet	Kadın	11	39.3%	38	67.9%	0.012
	Erkek	17	60.7%	18	32.1%	
Ameliyat Edilen Taraf	Sağ	10	35.7%	24	42.9%	0.530
	Sol	18	64.3%	32	57.1%	
Karşı kulak Zarı Durumu	İntakt	20	71.4%	34	60.7%	0.334
	Perfore	8	28.6%	22	39.3%	
Skleroz Derecesi	Plak Yok	28	100.0 %	0	0.0%	
	Subgrup I (Membran± Manubrium)	0	0.0%	40	71.4%	
	Subgrup II (Malleus± İnkus)	0	0.0%	9	16.1%	
	Subgrup III (Tüm Kemikcik Zincir)	0	0.0%	7	12.5%	
Patoloji Sonucu	Yok	28	100.0 %	0	0.0%	
	Hyalen Plak	0	0.0%	23	41.1%	
	Kalsifik Plak	0	0.0%	16	28.6%	
	Hyalen+Kalsifik Plak	0	0.0%	17	30.4%	

Kontrol ve TS gruplarının tanımlayıcı demografik ve klinik özellikleri Tablo 5'te karşılaştırılmıştır.

Cinsiyet dağılımı incelendiğinde, kontrol grubunun %39.3'ü kadın ve %60.7'si erkek iken, TS grubunun %67.9'u kadın ve %32.1'i erkektir; kadın hastaların oranı TS grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p=0.012$).

Ameliyat edilen taraf açısından, kontrol grubunun %35.7'si sağ, %64.3'ü sol iken, TS grubunun %42.9'u sağ, %57.1'i soldur ($p=0.530$). İki grup arasında istatistiksel anlamlı fark izlenmemiştir.

Karşı kulak zarı durumu kontrol grubunda %71.4 intakt, %28.6 perfore iken, TS grubunda %60.7 intakt, %39.3 perfore olarak belirlenmiştir ($p=0.334$). İki grup arasında istatistiksel anlamlı fark izlenmemiştir.

Skleroz yaygınlığı açısından, TS grubunda %71.4 membran-manubrium, %16.1 malleus+inkus, %12.5 tüm kemikcik zincir tutulumu mevcuttur ve TS grubunda malleus±manubrium tutulumu olan hastaların oranı istatistiksel olarak anlamlı yüksek hesaplanmıştır. ($p<0.001$).

Patoloji sonuçları değerlendirildiğinde TS grubunda %41.1 hyalen plak, %28.6 kalsifik plak ve %30.4 hyalen+kalsifik plak tespit edilmiştir ve plakların histolojisi açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır.

Tablo 6. Timpanoskleroz ve Kontrol Gruplarının Yaş ve Hava İşitme Eşiği, Kemik İşitme Eşiği, Hava-Kemik Aralığı Karşılaştırmaları

Kontrol Grubu (n=28)	TS Grubu (n=56)	
Ortalama±S.D.	Ortalama±S.D.	p değeri

Yaş (yıl)	37.1±11.1	36.5±11.3	0.872
Hava-Kemik Aralığı (db)	17.21±6.05	20.07±8.03	0.177
Kemik İşitme Eşiği	14.93±7.10	17.73±9.30	0.258
Hava İşitme Eşiği	32.14±8.71	37.82±13.88	0.047

Kontrol ve TS gruplarının yaş ve hava işitme eşiği, kemik işitme eşiği, hava-kemik aralığı değerleri Tablo 6’da gösterilmiştir.

Kontrol grubunda yaş ortalaması 37.1±11.1 yıl iken, TS grubunda 36.5±11.3 yıl olarak hesaplanmıştır. İki grup arasında yaş ortalaması açısından anlamlı fark saptanmamakla birlikte iki grup yaş açısından dengeli saptanmıştır (p=0.872).

Hava işitme eşiği kontrol grubunda 32.14±8.71 dB, TS grubunda ise 37.82±13.88 dB olarak ölçülmüş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.047). Kemik işitme eşiği kontrol grubunda 14.93±7.10 dB, TS grubunda 17.73±9.30 dB olarak bulunmuştur (p=0.258). Hava-kemik aralığı kontrol grubunda ortalama 17.21±6.05 dB, subgruplara ayrılmadan TS grubunda ise 20.07±8.03 dB olarak ölçülmüş olup, TS grubunda hafif yüksek saptansa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0.177). TS derecesine göre subgruplar ve işitme eşikleri ayrıca değerlendirilmiştir.

Tablo 7. Skleroz Derecelerine Göre İşitme Eşiği Değerlerinin Karşılaştırılması

	Kontrol (n=28)	Subgrup I (Membran ± Manubrium) (n=40)	Subgrup II (Malleus± İnkus) (n=9)	Subgrup III (Tüm Kemikçik Zincir) (n=7)	
	Ort±S.D.	Ort±S.D.	Ort±S.D.	Ort±S.D.	p değeri
Hava-Kemik Aralığı (db)	17.21±6.05	16.83±6.28	24.89±4.86	32.43±4.50	<0.001
Kemik Eşiği	14.93±7.10	16.35±9.14	18.44±8.29	24.71±9.43	0.045
Hava Eşiği	32.14±8.71	33.20±11.99	43.33±8.03	57.14±11.07	<0.001

Veriler ortalama±standart sapma olarak gösterilmiştir. p değeri istatistiksel olarak anlamlı olanlar koyu olarak işaretlenmiştir. Gruplar arası çoklu karşılaştırmada Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Subgrup analizi ikili karşılaştırmada Bonferroni subgrup analizi uygulanmıştır. Hava-Kemik Aralığı(db) için: plak yok vs malleus+inkus p=0.007, plak yok vs tüm kemikcik zincir p<0.001, membran-malleus vs malleus+inkus p=0.003, membran-malleus vs tüm kemikcik zincir p<0.001; Kemik Eşiği için: plak yok vs tüm kemikcik zincir p=0.045; Hava Eşiği için: plak yok vs malleus+inkus p=0.042, plak yok vs tüm kemikcik zincir p<0.001, membran-malleus vs tüm kemikcik zincir p<0.001.

Tablo 7'de skleroz derecelerine göre işitme eşiği değerleri karşılaştırılmıştır. Kemik işitme eşiği değerleri sırasıyla kontrol grubunda 14.93±7.10 dB, subgrup I'de 16.35±9.14 dB, subgrup II'de 18.44±8.29 dB ve subgrup III'te 24.71±9.43 dB olarak tespit edilmiş ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (p=0.045). Hava eşiği değerleri de kontrol grubunda 32.14±8.71 dB, subgrup I'de 33.20±11.99 dB, subgrup II'de 43.33±8.03 dB ve subgrup III'te 57.14±11.07 dB olarak ölçülmüş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.001). Hava-kemik aralığı, kontrol grubunda ortalama 17.21±6.05 dB, subgrup I'de 16.83±6.28 dB, subgrup II'de 24.89±4.86 dB ve subgrup III'te 32.43±4.50 dB olarak ölçülmüştür.

Subgrup analizlerine göre, kemik eşiği açısından, kontrol grubu ile subgrup III arasında p=0.045 olarak belirlenmiştir. Hava eşiği için ise, kontrol grubu ile subgrup II

grubu arasında $p=0.042$, kontrol grubu ile subgrup III arasında $p<0.001$, ve subgrup I grubu ile subgrup III arasında $p<0.001$ düzeyinde anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Hava-kemik aralığı için şu anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir: kontrol grubu ile subgrup II arasında $p=0.007$, kontrol grubu ile subgrup III arasında $p<0.001$, subgrup I grubu ile subgrup II arasında $p=0.003$, ve subgrup I ile subgrup III arasında $p<0.001$ bulunmuştur. Sklerozun derecesinin artması ile hava-kemik işitme aralığının artması arasında istatistiksel çok yüksek düzeyde anlamlı ilişki saptanmıştır. Kontrol grubu ile subgrup I arasında ise hava-kemik işitme eşiği farkı açısından istatistiksel anlamlı fark görülmemiştir. Bu nedenle membran tutulumu olan hastalar manubrium tutulumu olanlar ve olmayanlar olarak ayrıca değerlendirilmiştir.

Tablo 8. Membran ve Membran+Manubrium Gruplarının İşitme Eşiği Seviyelerinin Karşılaştırması

	Membran	Membran+ Manubrium	
	Ort±S.D.	Ort±S.D.	p değeri
Hava-Kemik Aralığı(dB)	15.2±5.3	20.8±7.4	0.037
Kemik İşitme Eşiği (dB)	16.5±8.9	18.2±9.7	0.590
Hava İşitme Eşiği (dB)	31.7±10.7	39.0±14.6	0.116

Subgrup I içerisindeki membran ve membran+manubrium gruplarının işitme eşiği seviyeleri Tablo 8’de karşılaştırılmıştır. Kemik işitme eşiği sadece membran tutulumu olan grupta ortalama 16.5±8.9 dB, membran+manubrium tutulumu olan grupta 18.2±9.7 dB olarak hesaplanmış olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.590$). Hava işitme eşiği sadece membrane tutulumu olan grupta 31.7±10.7 dB, membran+manubrium tutulumu olan grupta ise 39.0±14.6 dB olarak ölçülmüş ve bu fark istatistiksel olarak

anlamlı bulunmamıştır ($p=0.116$). Hava-kemik aralığı ise, sadece membranın tutulu olduğu grupta ortalama 15.2 ± 5.3 dB iken, membran+manubrium tutulumu olan grupta 20.8 ± 7.4 dB olarak ölçülmüş ve manubrium tutulumu ile hava-kemik işitme eşiğinin yüksekliği arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir($p=0.037$).

Tablo 9. Timpanoskleroz ve Kontrol Gruplarının Serum/Doku Sklerostin ve β -katenin Seviyelerinin Karşılaştırılması

	Kontrol Grubu (n=28)	TS Grubu (n=56)	
	Ortalama$\pm$S.D.	Ortalama$\pm$S.D.	p değeri
Serum Sklerostin Seviyesi (ng/mL)	5.59 $\pm$ 2.95	6.44 $\pm$ 4.79	0.468
Doku Sklerostin Seviyesi (ng/mL)	12.69 $\pm$ 2.68	14.07 $\pm$ 2.20	0.001
Serum β-katenin Seviyesi (ng/mL)	7.46 $\pm$ 3.77	8.58 $\pm$ 7.79	0.772
Doku β-katenin Seviyesi (ng/mL)	20.36 $\pm$ 3.78	17.68 $\pm$ 5.54	0.226

Kontrol ve TS gruplarının serum ve doku sklerostin ile beta katenin seviyeleri Tablo 9’da karşılaştırılmıştır. Serum beta katenin seviyeleri, kontrol grubunda ortalama 7.46 ± 3.77 ng/mL, TS grubunda ise 8.58 ± 7.79 ng/mL olarak belirlenmiş olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0.772$). Doku beta katenin seviyeleri ise kontrol grubunda ortalama 20.36 ± 3.78 ng/mL, TS grubunda 17.68 ± 5.54 ng/mL olarak hesaplanmış ve TS grubunda hafif düşük seyretmekle birlikte bu fark da istatistiksel olarak

anlamalı bulunmamıştır ($p=0.226$). Serum sklerostin seviyesi kontrol grubunda ortalama 5.59 ± 2.95 ng/mL iken, TS grubunda 6.44 ± 4.79 ng/mL olarak bulunmuş ve bu fark istatistiksel olarak anlamalı değildir ($p=0.468$). Doku sklerostin seviyesi ise kontrol grubunda 12.69 ± 2.68 ng/mL, TS grubunda ise 14.07 ± 2.20 ng/mL olarak ölçülmüştür. Doku sklerostin düzeylerinin yüksekliği ile TS gelişimi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamalı bulunmuştur ($p=0.001$).



5. TARTIŞMA

İlk olarak Troltsch (1869) tarafından kemikçik zinciri sabitleyen orta kulak mukozasının en derin katmanındaki fibröz dokunun sertliği olarak tanımlanan TS'nin klinik olarak tanınması Zollner ve Beck (1955)'in ameliyat mikroskobuyla yaptıkları gözlemleri sonucunda olmuştur (55). Bugünkü haliyle tanım olarak TS, timpanik membran ve orta kulak mukozasının lamina propriyasındaki fibröz ve elastik liflerin hiyalin dejenerasyonunu ve yer yer kalsifikasyonunu ifade eder.

Timpanoskleroza dair değişikliklerin ne zaman başladığı tam olarak bilinmediğinden ve hastaların büyük çoğunluğu semptom göstermediğinden insidansına dair literatürde %7-33 arasında değişen oranlar belirtilmektedir. Sheehy ve House 1 yılda KOM için gerçekleştirdikleri kulak operasyonlarında TS oranını %33 olarak belirtmektedir (53). Klinik olarak önemi olan TS vakalarının oranı (%6,4) ise tanı alan hastalara oranla oldukça azdır (14). TS için bir karakteristik perforasyon tipi ve boyutu bulunmamaktadır. Literatürde iki taraf arasında TS sıklığı açısından fark söylenmemektedir. Vakaların %40-60'ında değişen derecelerde karşı kulakta da patoloji gözlenebilir (12). 8 aylık süreçte KOM için tip 1 timpanoplasti ile opere ettiğimiz hastalar arasında TS görülme oranı 56/147 (%38) bulunmuştur. TS grubunda karşı kulağı perfore olan hastaların oranı 22/56 (%39,3), kontrol grubunda karşı kulağı perfore olan hastaların oranı 8/28 (%28,6)'dır. Karşı kulakta patoloji görülme oranı TS grubunda hafif yüksek görünmekle birlikte geçirilen KOM'un bilateralitesi açısından anlamlı fark izlenmemiştir ($p=0,334$). TS grubunda sağ kulakta patoloji izlenen hasta sayısı 24, sol tarafta 32 olup iki kulak arasında TS gelişim sıklığı açısından fark bulunmamıştır($p=0,530$).

Öncü timpanosklerotik değişiklikler en erken Moller ve arkadaşlarının yarık damaklı ve dudaklı çocukları mikroskopla takip ettikleri çalışmalarında 3 yaşında gözlenmiştir (75). Operasyon esnasında TS tanısı alan en genç hasta ise 8 yaşındadır (53). Miringoskleroz oranı çocuklarda yüksekken orta kulak TS'si daha çok orta ve ileri yaşlarda yüksektir (13). Orta kulak timpanoskleroza vakalarının %90'ı 30 yaşından büyük

hastalarda gözlenmiştir (76). Bununla birlikte Tos ve arkadaşları(27) miringosklerotik değişikliklerin 5 ve 6 yaş civarındaki tüm çocuklarda %5-7 oranında görüldüğünü bildirmiştir. Bu farkta geçirilen efüzyonlu otitlerin ve VT tatbiklerinin etkisi yüksek görünmektedir. VT takılan çocukların %28-61 inde miringoskleroz görüldüğü raporlanmıştır (15). VT yerleştirilmiş timpanik membranlarda miringoskleroz sıklığı, VT yerleştirilmemiş timpanik membranlara göre çok daha yüksek izlenmektedir (sırasıyla %23-70 ve %0-13) (35). Russel ve Giles'ın(20) yayınında VT'nin 6 aydan uzun kalmasıyla TS gelişimi arasında ilişki olduğu söylenmektedir. Başka bir yayında bu görüşe katılmakla birlikte miringoskleroz oranının daha büyük tüp boyutu ve birkaç tüp yerleştirilmesiyle de arttığı gözlenmiştir (35). Çalışmamızda tanı alan en genç hasta 13 yaşındaydı. TS grubu genel yaş ortalaması $36,5 \pm 11,3$ iken kontrol grubu yaş ortalaması $37,1 \pm 11,1$ bulunmuş olup yaş ile TS gelişimi açısından ilişki gözlenmedi ve grupların hastaların yaşı açısından oldukça dengeli olduğu görüldü ($p=0,872$). Sadece miringoskleroz izlenen hastaların yaş ortalaması 37,47 iken orta kulak TS'ü olan hastaların yaş ortalaması 34,5 bulundu. Bu iki grup arasında anlamlı fark gözlenmedi. VT tatbikinin miringosklerozla olan yakın ilişkisi bilindiğinden çalışmanın sonuçlarına etki etmemesi amacıyla VT öyküsü olan bir hasta çalışma dışı bırakıldı.

Hastalığın cinsiyetler arası dağılımında anlamlı bir fark görülmemekle birlikte kadınlarda çok hafif fazla raporlanmıştır (12,13,77). Bhaya ve arkadaşları ise erkeklerde 1.6:1 oranında daha yüksek oranda tespit etmiş ve olası bir hormonal etkiye işaret etmiştir (16). Bunun dışında cinsiyetler arası fark olmadığını ifade eden yayınlar da vardır (78). 56 TS, 28 skleroz içermeyen KOM hastasını dahil ettiğimiz çalışmamızda TS grubunda kadınların oranı %67,9, erkeklerin oranı 18 (%32,1); kontrol grubunda kadınların oranı %39,3, erkeklerin oranı %60,7 bulunmuştur. TS gelişimi kadınlarda literatürdeki yayınların geneliyle benzer olarak daha sık gözlenmiştir ($p=0,012$).

Timpanoskleroz patogenezi temelde 3 basamakta incelenmektedir. İlk aşama timpanik mukozaya ve submukozaya inflamatuvar hücrelerin infiltre olduğu inflamasyon aşamasıdır. Bu hücrelerden salınan inflamatuvar sitokinlerin ve enzimlerin etkisiyle damar geçirgenliğinde artış gözlenir ve ECM'de bozulma gerçekleşir (16). Lamina propria

tabakasında bu değişimlere bağlı olarak ödem izlenir. İkinci aşama fibroblast aktivasyonu aşamasıdır. Artan fibroblast aktivasyonuna bağlı olarak bağ dokuda kollojen üretimi artar ve kollojen birikimler gelişerek hyalen plaklar oluşmaya başlar. Bu aşama TSda geri dönüşümsüz değişikliklerin olduğu aşamadır. 3. ve son aşama fibroliz sonucu dejenere olan fibrositlerden Ca^{++} ve P^+ yüklü veziküllerin salındığı aşamadır (22). ECM'ye salınan Ca^{++} un kalsiyumapatit şeklinde hyalen yatakta birikmesiyle kalsifik plaklar olgunlaşır.

Patolojiyi başlatan temel sebep hala tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte TS'nin, orta kulaktaki herhangi bir kronik enflamasyon veya enfeksiyonun spesifik olmayan, geri dönüşümsüz bir sonucu olduğu konusunda genel bir fikir birliği vardır (16,25,79). Sadece efüzyonlu otitis medianın kendisi değil tedavisinde kullanılan ventilasyon tüpleri de kendi başına bir TS nedeni olarak ele alınmaktadır (29,80). Bununla birlikte hasarlanan membran ve mukozada ortaya çıkan bağ doku elemanlarına karşı oluşan immün yanıtın TS'yi tetiklediğini savunan immünizasyon teorisi (32,34), orta kulakta oksidatif stres artışına bağlı patogenezin tetiklendiğini savunan hiperoksi teorisi, (26,81,82), inflamasyon ve travmayla mukozada oluşan hiyalinize veya nekrotik alanlarda kalsiyum birikiminin etkisini öneren distrofik kalsifikasyon teorisi (41,83,84) farklı yazarlar tarafından üzerine çokça çalışılan etioloji teorileri olarak literatürde yerini almıştır.

Histolojik olarak lamina propria da hyalinizasyon, nekroz, fibroz, kalsifikasyon ve ossifikasyonların olduğu TS membranda ve timpanik kavitede plak oluşumlarıyla seyreder. Harris ve Weiss tarafından kıvam ve cerrahi olarak ayrılabilmesine göre temelde 2 tip plak tanımlanmıştır (85). Yumuşak tip (hiyalen plak), lamellar morfoloji sergiler, az miktarda kalsiyum kristalleri içerebilir ve kolayca çıkarılabilir. Sert tipte(kalsifik plak), tutulan dokulardan cerrahi olarak çıkarılması zor, yoğun kalsifikasyon içeren sert beyaz plaklardan oluşur. Çalışmamızda orta kulak ve membrandan alınan, çalışmadan habersiz aynı patolog tarafından raporlanan plakların 23 (%41,1)'ü hiyalen, 16 (%28,6)'sı kalsifik plak özelliğindeyken, 17 (%30,4)'si hem hiyalen hem de kalsifik özellikler içermektedir.

Gibb tarafından (86) TS, timpanik membran perforasyonunun eşlik etmesine göre açık TS ve kapalı TS olarak sınıflandırılmıştır. Başka bir yayınında açık tipin kapalıya

göre 4-5 kat daha yaygın olarak görüldüğünü söylemektedir (12). Asiri ve arkadaşları 90 TS hastasını kattıkları çalışmalarında 76'sının (%84,4) açık TS olduğunu bunların da 69 tanesinde (%90) perforasyonun pars tensada yer aldığını raporlamıştır. Kamal ise 1997 yılındaki yayınında (54) 48 TS hastasının hiçbirinde pars tensa dışı perforasyona rastlamadığını ifade etmektedir. Wielinga ve arkadaşları (87) ile Kaur (78) ve arkadaşları da TS'deki perforasyonların tamamını pars tensada gördüklerini belirtmişlerdir. Çalışmamızda hasta grubu KOM cerrahisi sırasında tanı konan hastalardan oluştuğu için tamamı açık TS tipindeydi. Araştırmacıların büyük bölümünün bulgularıyla benzer şekilde perforasyonların tamamı pars tensada yer almaktaydı.

Genel kabul olarak timpanik membran plakların en çok görüldüğü lokalizasyondur ve sklerotik plakların sadece timpanik membranda görüldüğü şekline miringoskleroz denilmektedir. Sheehy ve arkadaşları (53) 75 TS hastalık serilerinde 62 (%83) hastada timpanik membranda plak gördüklerini bunların 38 (%51)'inde timpanik membranın tek yerleşim yeri olduğunu raporlamıştır. Karlıdağ ve arkadaşları (81) 34 TS dahil ettikleri çalışmalarında hastaların %67,6 sında membranda plak gördüklerini belirtmektedir. Başka bir yayında ise 38 vakanın 30 unda (%78,9) sadece miringoskleroz görüldüğü belirtilmektedir (78). Bizim çalışmamızda TS hastalarının 47'sinde (%83,9) timpanik membranda plaklara rastlanırken bunların 38 (%67,8)'inde timpanik membran tutulan tek lokalizasyondur ve timpanik membranda plak görülen hastaların oranına bakıldığında Sheehy ve arkadaşlarının sonuçları ile uyumlu bulundu.

Timpanik mukozanın ve kemikçiklerin tutulumuna dair literatürde farklı gözlemler yer almaktadır. Kaur ve arkadaşlarının 38 vakalık serisinde (78) hastaların 11 (%29)'inde kemikçik tutulumu gözlenmiştir. Sheehy ve House 75 vakalık serilerinde(53) %49 oranında kemikçik tutulumu bildirirken, Austin ve arkadaşları(14) 320 vakalık serisinde %56 oranında kemikçik tutulumu bildirmiştir. Asiri ve arkadaşları(13) ise 90 olguluk serilerinde fikse kemik oranını %33 olarak raporlamışlardır. 56 TS hastası arasında malleus (izole manubrium tutulumu hariç), inkus ya da stapezde fiksasyon olan hastaların toplam sayısı 16 (%28,5) olup Kaur'un ve Asiri'nin çalışması ile benzer görünmektedir. Bunun dışında 2 hastada promontoryumda, plaklara rastlanmıştır. Hızalan

2005 yılındaki yayınında (49) yuvarlak pencerede plaklara rastlanmadığını söylemektedir ancak çalışmamızda bir hastada yuvarlak pencerede plağa rastlanmıştır.

Büyük çoğunluğu timpanik membranda plakların otoskopik muayenede insidental olarak görülmesiyle tanı konan TS için semptomatik olan olguların çoğunda tek şikayet işitme kaybıdır. Saf ses odyometrisinde hava-kemik aralığının artışıyla karakterize İTİK gözlenir. Kamal (54) TS ile ilişkili işitme kaybının derecesinin kemikçik zincirinin timpanosklerotik tutulumunun derecesine bağlı olduğunu bildirmiştir. Bunu değerlendirmek amacıyla TS grubundaki hastalar Wielinga ve Kerr in 1993 yılındaki yayınında(15) önerdiği sınıflamaya göre sınıflandı. Plagın manubriumu uzanımı olsun ya da olmasın membran tutulumu olan hastalar subgrup 1, attikte malleus-inkus kompleks tutulumu olan hastalar subgrup 2 ve tüm kemikçik zincirin tutulu olduğu hastalar subgrup 3 olarak değerlendirildi. Hava-kemik aralığı açısından subgrup 1 ve subgrup 2 ($p=0,003$), subgrup 1 ve subgrup 3 ($p<0,001$), subgrup 2 ve subgrup 3 ($p=0,045$) kendi içlerinde ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Sonuçlar kemikçik tutulumunun derecesi arttıkça işitmenin kötüleştiğini göstermektedir. Wielinga ve Kerr'in aynı yayında plakların manubriumu tutması durumunda timpanik membran hareketliliğinin büyük ölçüde azaldığı ve belirgin işitme kaybına neden olduğu bildirilmiş olup subgrup 1'deki hastalar kendi içinde manubrium tutulumu olan ve olmayanlar olarak ayrılmıştır. Manubrium tutulumu olan grupta hava-kemik aralığı 20.8 ± 7.4 dB, olmayan grupta 15.2 ± 5.3 dB saptanmış olup manubrium tutulumunun işitmeyi anlamlı olarak kötüleştirdiği tespit edilmiştir($p<0,037$). Sadece membranı tutan plakları olan hastaların işitmelerinin kontrol grubuyla farklı olmadığı ve sadece membran tutulumunun işitmeyi kötüleştirmedeği görülmüştür. Bununla paralel olarak TS grubuyla kontrol grubu arasında hava-kemik aralığı açısından anlamlı fark görülmemesinin sebebini TS grubunun çoğunluğunu subgrup 1 hastaların oluşturması açıklamaktadır.

Şüphelenilen hastalarda tanıyı desteklemek için önerilen görüntüleme yöntemi BT'dir. Diğer patolojilerden ayırımında orta kulağı kaplayan bir opasite varlığı anlamlı değilken, kemikçikler çevresinde iyi sınırlı ve İTİK'in eşlik ettiği bir opasite varlığı daha başarılı bulunmuştur (50). Boyraz ve arkadaşları 2 mm kesitlerle BT çektikleri 19 TS

hastasının 18'inde görüntülemeye TS bulgusu saptadıklarını, tanı koymada ve plağın yerini lokalize etmede faydalı olduğunu ifade etmişlerdir (88). Yıldız ve arkadaşları ise TS ve kronik otitis medialı hastaların BT'lerinde inkudostapedial eklem açıları arasında anlamlı fark bulmuşlar ve preop kemikçik zincir fiksasyonunu tespit etmede kullanılabileceğini savunmuşlardır (89).

Kolesteatoma ve otoskleroz, TS ile tanısı en çok karışan iki patolojidir. Perop karşılaşılan plaklar TS tanısını desteklerken stapes tabanının izole TS'sini fenestral otosklerden ayırt etmek zor veya imkansız olabilir (50). Kolesteatomun yapısı gereği ayrımı daha kolay iken TS ile birlikteliği üzerine pek çok değerlendirme mevcuttur. Harris ve Weiss TS olan kulakta kolesteatom gelişme ihtimalinin daha çok olduğunu söylerken, Kinney (76) bu birlikteliği kendi serisinde %30 olarak raporlamıştır. Buna karşılık Austin Chicago serisinde (14) 32 hastadan sadece 1 (%3,0)'inde kolesteatom görürken Emmett ve Shea 45 vakalık serilerinde sadece %4 kolesteatom insidansı gözlemiş ve TS-kolesteatom birlikteliği açısından anlamlı bir ilişki tespit edilmediğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmayı sürdürdüğümüz 8 ay içerisinde 2 hastada TS-kolesteatom birlikteliği gözlenmiş olup bu hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Oran olarak değerlendirildiğinde Austin'in yayını ile Emmett ve Shea'nın yayınlarıyla benzer bulunmuştur.

Timpanoskleroz oluşumuna ortam hazırlayan orta kulak efüzyon ve enfeksiyonlarının etkin tedavisi TS'nin koruyucu tedavisinin temel prensibidir. Plaklar bir kez oluştuğundan sonra süreç geri dönüşümsüz olduğundan işitme kaybına neden olan TS olgularında plakların kaldırılması için cerrahi yaklaşımlar tanımlanmış ve tartışılmıştır. Önceleri TS'nin timpanoplasti için bir kontrendikasyon olduğu düşünülürken (90,91), sonraları kontrendike olmasa dahi rekürrens yaygın olması ve sensörinöral işitme kaybı gibi riskleri barındırması nedeniyle takip öneren otörler de bulunmaktadır (15,81). Buna karşılık Austin(14) malleus fiksasyonu ve membranın masif tutulumu durumunda işitmenin ciddi şekilde bozulacağını bu nedenle skleroz kitlesinin çıkarılmasını önermektedir. Malleus ve inkus fiksasyonu için genel yaklaşım plakların çıkarılması, çıkarılamıyorsa interpozisyon veya protez uygulaması ile hareketin sağlanması iken stapes taban fiksasyonunda uygulanacak teknik ve zamanlaması ile ilgili farklı görüşler

bulunmaktadır. Sheehy ve House yayınlarında (53) Akyıldız ise kitabında (10) stapedektomi gerekiyorsa iç kulak enfeksiyonlarının önüne geçmek için Smyth tarafından önerildiği gibi ilk seansta perforasyonun kapatılmasını, ikinci bir seansta stapedektomiyi önermektedir. Tos ve arkadaşları (55) da stapes suprastriktür yokluğunda iki aşamalı bir cerrahi önerirken stapes mobilizasyonunu miringoplasti ile aynı seansta gerçekleştirdiklerini ifade etmektedirler. Aynı yayında mobilizasyonun işitme sonuçlarının uzun dönem takiplerde stapedektomiye göre üstün bulunduğu söylenmektedir. Giddings ve House(92) ise 10 yıl takip ettikleri 154 olguda TS tedavisinde stapedektomi ile mobilizasyon arasında işitme açısından anlamlı bir fark olmadığını belirtmişlerdir.

Timpanosklerozdaki nihai patoloji değişikliği histolojik ve morfolojik olarak, patogenezinde kemik remodellingindeki bozulmaların bulunduğu ankilozan spondilit, osteoporoz ve romatoid artrit gibi çeşitli kemik hastalıklarına benzerdir. Bu nedenle, patolojik kemik yeniden şekillenmesinin, bahsi geçen hastalıklarda olduğu gibi TS’de de lokal kalsifikasyon gelişimiyle ilişkili olabileceğini düşünülebilir (74). Huang ve arkadaşları(93) daha sonrasında farklı araştırmalarla zenginleştirdikleri yayınlarında osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor kappa B/receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (OPG/RANK/RANKL) sisteminin kemik remodellingini etkileyerek TS’nin ortaya çıkmasında düzenleyici bir role sahip olabileceğini söylemektedir. Son çalışmalar OPG/RANK/RANKL sistemi dışında Wnt/ β -katenin sinyal yolağının da kemik metabolizmasında rol oynadığını, bu yolağın aktivasyonunun kemik kütlelerini ve ektopik kalsifikasyonları artırdığını, inhibisyonunun ise azalttığını göstermektedir (94,95). Sklerostin kanonik Wnt yolağının bir inhibitörüdür ve OPG’nin inhibisyonu ile osteoklast aktivasyonunda rol oynar. Sklerostin 22 kDa’luk bir glikoproteindir. Osteosite özgü bir protein olarak görülse de vücuttaki sklerotik süreçlerde başka dokularda da izlenmiş ve Karali ve Yis tarafından(96) orta kulak mukozasında da gösterilmiştir.

Beta-katenin, kanonik Wnt yolağında çekirdekteki genetik düzenlemeden sorumlu temel elemandır. Wnt ligandlarının Fz reseptörüne ve LRP5/6 ko-reseptörlerine

bağlanmasıyla bu sinyal kaskadının aktivasyonu, β -katenin yıkımının inhibisyonu gerçekleşir. Sitoplazmada biriken β -katenin transloke olur, TCF ve LEF bir koaktivatörü olarak gen transkripsiyonunu değiştirir (65). Kanonik Wnt sinyali ayrıca osteoblast olgunlaşmasını da stimüle eder. Bu hücreler daha sonra OPG üretimini artırır ve bu sayede osteoklast oluşumu engellenir. Sklerostin LRP4 ve LRP5/6'ya bağlanarak Wnt yolağını inhibe eder ve β -katenin'in fosforilasyonu yoluyla proteozomlar tarafından yıkımına neden olur (97). Bu bilgiler ışığında çalışmamızda sklerostinin artan miktarlarının β -katenin seviyelerini düşürüyor olabileceği düşünülmüştür. Sklerostinin TS gelişimindeki olası rolü ve varsa bu rolü Wnt yolağı üzerinden mi gerçekleştirdiği β -katenin seviyeleri de göz önünde bulundurularak araştırılmıştır.

İnsanlarda, sklerostinin yaşla pozitif korelasyon gösterdiği (62) ve erkeklerde kadınlardan daha yüksek olduğu bildirilmiştir (65). Burada östrojenin sklerostin ekspresyonu üzerindeki inhibitör etkisi üzerinde durulmaktadır. Mödder ve arkadaşları (98) 362 kadın, 318 de erkek bireyi dahil ettikleri çalışmalarında yaşam boyunca, serum sklerostin düzeylerini kadınlarda ve erkeklerde sırasıyla 2,4 ve 4,6 kat artmış bulmuşlar ve yaşla anlamlı ilişkili olarak değerlendirmişlerdir ($p<0,001$). Yine erkek bireylerin serum sklerostin seviyeleri kadınlara göre anlamlı yüksek ölçülmüştür. Ancak aynı çalışmada E2 seviyeleri ile sklerostin seviyeleri arasında bir ilişki kurulamamıştır. Mirza ve arkadaşları (99) ise sklerostin ile E2 seviyeleri arasında bir negatif korelasyon olduğunu savunmaktadır ($p=0,096$) (99). Çalışmamızda TS ve kontrol grubunda serum sklerostin seviyeleri sırasıyla 6.44 ± 4.79 ng/mL ve 5.59 ± 2.95 ng/mL ölçülmüştür. TS ve kontrol grubu kendi içlerinde karşılaştırıldığında TS grubunda kadın sayısı anlamlı olarak fazla tespit edilmiş olup bu değişken de göz önüne alındığında cinsiyetler arasında serum sklerostin seviyeleri açısından fark saptanmamıştır. TS ve kontrol grubu arasında yaş değişkeni açısından anlamlı fark bulunmamakta olup iki grup arasında yaşa bağlı sklerostin seviyeleri açısından bir etki oluşturmayacağı düşünülmüştür ki sklerostin seviyeleri arasında istatistiksel olarak bir fark zaten bulunmamaktadır.

Sklerostin proteininin vücutta benzer sklerotik süreçlerle giden hastalıklarda çokça araştırıldığı görülmektedir. Çalışmalarda genellikle serum sklerostin seviyeleri

değerlendirilmiş olup doku sklerostinin düzeylerinin ölçüldüğü yayınlar da mevcuttur. Çalışmamızda sklerostinin TS'deki olası rolünü sistemik yolla mı lokal olarak mı gerçekleştirdiğini değerlendirmek için hastalardan hem orta kulak mukozası örneği hem de serum örneği alınmıştır ve bir ELİSA kiti yardımıyla ölçülmüştür. TS grubunda ve kontrol grubunda serum sklerostin düzeyleri sırasıyla 6.44 ± 4.79 ng/mL ve 5.59 ± 2.95 ng/mL ölçülmüş olup serum seviyeleri arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p=0,468$). Orta kulak doku sklerostin seviyeleri TS ve kontrol grubunda sırasıyla 14.07 ± 2.20 ng/mL ve 12.69 ± 2.68 ng/mL tespit edilmiş olup doku sklerostin seviyeleri TS grubunda anlamlı olarak yüksek saptanmış ve TS patogenezi ile ilişkili değerlendirilmiştir ($p<0,001$). Bununla birlikte serum seviyeleri de göz önüne alındığında sklerostinin TS sürecinde kalsifikasyonun geliştiği dokuda lokal olarak etkili olduğu görülmektedir.

Sklerostinin olası rolünü Wnt sinyal yolağı üzerinden mi sürdürdüğü sorusunu araştırmak üzere yolaktaki genetik ekspresyon değişikliğinden sorumlu β -katenin proteininin serum ve orta kulak doku örneklerindeki seviyeleri değerlendirilmiştir. TS ve kontrol grubunda serum β -katenin seviyeleri sırasıyla 8.58 ± 7.79 ng/mL ve 7.46 ± 3.77 bulunmuştur. İki grup arasında serum β -katenin seviyeleri açısından anlamlı fark izlenmemektedir ($p=0,772$). TS ve kontrol grubunda doku β -katenin seviyeleri sırasıyla 17.68 ± 5.54 ng/mL ve 20.36 ± 3.78 ng/mL ölçülmüştür. İki grup arasında doku β -katenin seviyeleri açısından anlamlı fark görülmemiştir ($p=0,226$). Wnt yolağındaki tersine ilişkileri düşünüldüğünde, TS grubundaki doku sklerostin seviyesi artışına β -katenin seviyesinde bir düşüşün eşlik etmemesi sklerostinin TS sürecindeki etkisini Wnt yolağı üzerinden sürdürmediğini göstermesi yönünden değerlidir.

Literatürde vücuttaki diğer fibrozisle seyreden hastalıkların aksine, sklerostinin TS sürecindeki etkisinin araştırıldığı tek bir yayın göze çarpmaktadır (61). Huang ve arkadaşları tarafından 2021 yılında 34 sıçan çalışmaya dahil edilmiş ve 17 sıçanın sol timpanik kavitelerine MRSA inokülasyonu uygulanarak TS hayvan modeli oluşturulmuştur. 6 hafta sonra kurban edilen sıçanların orta kulak mukozası ve timpanik membran örneklerinde sklerostin, β -katenin, P-ERK1 ve P-ERK2 düzeyleri TS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu sonuçlar da

sklerostin ile β -katenin arasındaki moleküler araştırmalarla önerilmiş olan ilişkiyi doğrulamamaktadır. Bununla birlikte Zhang ve arkadaşları (74), 40 adet sıçanı dahil ettiği TS hayvan modelinde sklerostin ile benzer mekanizma ile çalışan bir Wnt yolağı inhibitörü olan Dickkopf-1(DKK1) proteinin ekspresyonunun önemli ölçüde azalmış olduğunu raporlamıştır. DKK1'in azalmış ekspresyonunun TS patogenezinde rol oynadığını savunmaktadır. Çalışmamızda da doku sklerostin seviyesi TS grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur, ancak kontrol grubuna kıyasla β -katenin düzeylerinde pozitif ya da negatif bir değişiklik saptanmamıştır. Çalışmamız insanlarda TS'de sklerostin proteininin rolünü araştıran ilk çalışma olarak görünmektedir. Aynı zamanda sklerostinin TS oluşumunda sistemik yolla mı yoksa orta kulakta lokal etkiyle mi rol oynuyor olabileceğinin araştırılması açısından da ilk araştırmadır.

Çalışmamızda Von Buchem hastalığı gibi kemik kütlesinde artışla ve ankilozan spondilit gibi diğer sistemik fibrozisle giden hastalıklarda olduğu gibi sklerostin seviyelerinin düşük tespit edilmemesinin birkaç olası sebebi olduğu düşünölmüştür. Huang ve arkadaşları(61) kendi yayınlarında, sklerostin doku seviyesindeki artışın ERK1/2 fosforilasyonunu teşvik ederek TS'yi başlatan enflamatuvar aşamayı güçlendiriyor ve bu yolla etki ediyor olabileceğini savunmaktadır. Diğer taraftan Weiwoda ve arkadaşları yayınlarında(100), serum sklerostin düzeylerinin KBH'ta vasköler kalsifikasyon(VK) ile doğrudan ilişkili olduğu ancak vasköler düz kas hücreleri tarafından artan SOST ekspresyonunun VK'nin ilerlemesini engellemek için bir koruyucu mekanizma olabileceği fikrini ortaya atmıştır. Sklerostinin dokuda kalsifikasyona neden olan genlerin ekspresyon düzeylerini düşürerek ateroskleroza inhibe ettiğini bulan Krishna ve arkadaşları (101) da sklerostinin VK'de koruyucu bir mekanizma olarak yükseldiği görüşünü desteklemektedir.

Çalışmamızın tarafımızca saptanan limitasyonları;

1-TS bilindiği şekliyle kuru orta kulak mukozasıyla karakterize olduğu için özellikle kontrol grubu hastalarında orta kulak mukozası örneğini çok küçük parçalar halinde almak durumunda kaldık. Laboratuvarımızda bulunan homojenizatör küçük

dokulara yeterince hassas olmadığı için alınan dokunun her noktası homojenata dahil edilememiş olabilir.

2-Orta kulak TS'si olan hasta sayısı azdı bu nedenle plakların orta kulaktaki yerleşimine dair veriler kısıtlıydı. Daha büyük örneklem grubu ile plakların orta kulaktaki lokalizasyonu istatistiki açıdan kuvvetlendirilebilir.

3-Belli bir zaman aralığındaki karşılaşılan vakalar çalışmaya dahil edildiğinden gruplar standardize edilip yaş, cinsiyet gibi parametrelerde mutlak eşitlik sağlanamadı. Prospektif bir çalışma şeklinde planlanıp daha büyük bir örneklem grubuyla sklerostin ve β -katenin düzeyleri optimum şartlarda karşılaştırılabilir.

6. SONUÇLAR

Bu çalışma sonucunda timpanosklerozun mastoid kemiği tutmayan otolojik patolojilerin %38'inde görülen, her iki kulağı da benzer oranda etkileyen, orta yaşlarda ortaya çıkan, kadınlarda erkek popülasyona göre daha sık görülen bir patoloji olduğu gösterilmiştir. Timpanosklerozun orta kulak tutulumu olsun ya da olmasın en çok timpanik membranı tuttuğu tespit edilmiştir.

Preop odyometri sonuçları ve perop kemikçik zincir değerlendirildiğinde, timpanosklerozda kemikçik zincir tutulumunun yaygınlığının artmasının hava-kemik aralığını arttırarak işitmeyi kötüleştirdiği kanıtlanmıştır. Orta kulak tutulumu yaklaşık 20-40 dB iletim tipi işitme kaybına neden olmaktadır. Sadece timpanik membranda görülen plakların işitme üzerine anlamlı bir etkisi olmadığı ancak plağın manubriumuna tutunması durumunda işitmeyi olumsuz etkilediği bulunmuştur.

Timpanoskleroz gelişiminde sistemik dolaşımdaki sklerostinin etkisinin olmadığı, ancak kalsifikasyonun geliştiği dokudaki lokal sklerostin artışının patogeneze etki ettiği düşünülmüştür. β -katenin seviyelerinin ne sistemik ne de lokal değişikliği izlenmemiş olup sklerostinin timpanoskleroz patogenezinde Wnt yolağından başka bir yolla etkili oluyor olabileceği kanısına varılmıştır.

İnsanlarda timpanoskleroz gelişiminde dokudaki sklerostin proteininin patolojideki rolü çalışmamızda ortaya konmuştur. Özellikle romosozumab gibi anti-sklerostin antikorları başta olmak üzere, gelecekte geliştirilmesi muhtemel anti sklerostin tedavilerin, kulak enfeksiyonlarının iyileşme sürecinde kullanım potansiyeline yönelik önemli veriler sağladığımızı düşünmekteyiz. Sklerostin proteininin diğer inflamatuvar süreçler ve sinyal yolları ile olan ilişkisini inceleyen daha geniş hasta gruplarını içeren kontrollü çalışmaların, timpanosklerozun daha iyi anlaşılmasına ve önlenmesine katkı sağlayacağını ön görmekteyiz.

7. KAYNAKÇA

- 1- Eren SB, Dogan R, Vural Ö, Tugrul S, Yenigun A, Calım ÖF, et al. Use of Mesna in the treatment of ossicular chain fixation related to tympanosclerosis; prospective, clinical study. American Journal of Otolaryngology - Head and Neck Medicine and Surgery 2020;41. <https://doi.org/10.1016/j.amjoto.2020.102506>.
- 2- Dreyer TJ, Keen JA, Wells LM, Roberts SJ. Novel insights on the effect of sclerostin on bone and other organs. J Endocrinol. 2023 Apr 3;257(2):e220209. doi: 10.1530/JOE-22-0209. PMID: 36802398.
- 3- Başer N, Korkut N, Kaytaz A, Midilli R, Uyar Y, Yener M. et al. (2019). Kulak Anatomisi. Editör Can Koç. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi, 3. Baskı. Güneş Tıp Kitabevi. Ss:89-105
- 4- Cummings CW, Flint PW, Harker LA, Haughey BH, Richardson MA, Robbins KT et al. Otolaryngology-Head and Neck Surgery 7th ed. Elsevier Inc Philadelphia 2020;4:1928-1937.
- 5- Lee K. Anatomy of the Ear. In: Chan, Y Goddard J, editor. Essential Otolaryngology. 12th ed., 2019, p. 235–56.
- 6- Gacek R. Anatomy of the Auditory and Vestibular Systems. In: Ballenger, JJ Snow J, editor. Ballenger's Otorhinolaryngology, 2009, p. 1–15.
- 7- Parker AJ, Maw AR, Powell JE. Intra-tympanic membrane bleeding after grommet insertion and tympanosclerosis. Clin Otolaryngol Allied Sci. 1990 Jun;15(3):203-7. doi: 10.1111/j.1365-2273.1990.tb00776.x. PMID: 2394020.
- 8- Kay DJ, Nelson M, Rosenfeld RM. Meta-analysis of tympanostomy tube sequelae. Otolaryngol Head Neck Surg. 2001 Apr;124(4):374-80. doi: 10.1067/mhn.2001.113941. PMID: 11283489.
- 9- Branco C, Monteiro D, Paço J. Predictive factors for the appearance of myringosclerosis after myringotomy with ventilation tube placement: randomized study. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2017 Jan;274(1):79-84. doi: 10.1007/s00405-016-4194-z. Epub 2016 Jul 9. PMID: 27395069.
- 10- Akyıldız AN. No Title. Kulak hastalıkları ve mikrocerrahisi, Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 1998, p. 461–73.
- 11- Tos M, Bak-Pedersen K. Middle-ear mucosa in tympanosclerosis. J Laryngol Otol. 1974 Feb;88(2):119-26. doi: 10.1017/s0022215100078452. PMID: 4818282.

- 12- Gibb AG, Pang YT. Current considerations in the etiology and diagnosis of tympanosclerosis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1994;251(8):439-51. doi: 10.1007/BF00175993. PMID: 7718216.
- 13- Asiri S, Hasham A, al Anazy F, Zakzouk S, Banjar A. Tympanosclerosis: review of literature and incidence among patients with middle-ear infection. *J Laryngol Otol.* 1999 Dec;113(12):1076-80. doi: 10.1017/s0022215100157937. PMID: 10767919.
- 14- Austin DF. Reconstructive techniques for tympanosclerosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1988 Nov-Dec;97(6 Pt 1):670-4. doi: 10.1177/000348948809700617. PMID: 3202571.
- 15- Wielinga EW, Kerr AG. Tympanosclerosis. *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 1993 Oct;18(5):341-9. doi: 10.1111/j.1365-2273.1993.tb00590.x. PMID: 8877197.
- 16- Bhaya MH, Schachern PA, Morizono T, Paparella MM. Pathogenesis of tympanosclerosis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1993 Sep;109(3 Pt 1):413-20. doi: 10.1177/019459989310900305. PMID: 8414556.
- 17- Ferlito A. Histopathogenesis of tympanosclerosis. *J Laryngol Otol.* 1979 Jan;93(1):25-37. doi: 10.1017/s0022215100086680. PMID: 429881.
- 18- Öztürk Ç. Timpanoskleroz Epidemiyolojisi Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Tecrübesi. Tıpta uzmanlık tezi. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Bursa.
- 19- Schiff M. Tympanosclerosis: clinical implications of the theory of pathogenesis. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1983 Nov-Dec;92(6 Pt 1):635-9. doi: 10.1177/000348948309200620. PMID: 6660756.
- 20- Russell JD, Giles JJ. Tympanosclerosis in the rat tympanic membrane: an experimental study. *Laryngoscope.* 2002 Sep;112(9):1663-6. doi: 10.1097/00005537-200209000-00025. PMID: 12352683.
- 21- Mann W, Beck C, Schaefer HE. The significance of calcium antagonists in rat experimental tympanosclerosis. *Arch Otorhinolaryngol.* 1987;243(6):382-6. doi: 10.1007/BF00464647. PMID: 3551898.
- 22- Friedmann I, Galey FR. Initiation and stages of mineralization in tympanosclerosis. *J Laryngol Otol* 1980;94:1215-29. <https://doi.org/10.1017/S0022215100090046>.
- 23- Mann W, Beck C, Schaefer HE. The significance of calcium antagonists in rat experimental tympanosclerosis. *Arch Otorhinolaryngol.* 1987;243(6):382-6. doi: 10.1007/BF00464647. PMID: 3551898.
- 24- Devranoğlu İ. Timpanoskleroz. Dış ve orta kulak cerrahisi Dış ve Orta Kulak Cerrahisi, İstanbul: Deomed Yayıncılık; 2011, p. 103-13.

- 25- Da Costa SS, Paparella MM, Schachern PA, Yoon TH, Kimberley BP. Temporal bone histopathology in chronically infected ears with intact and perforated tympanic membranes. *Laryngoscope*. 1992 Nov;102(11):1229-36. doi: 10.1288/00005537-199211000-00005. PMID: 1405982.
- 26- Forséni Flodin M, Hultcrantz M. Possible inflammatory mediators in tympanosclerosis development. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2002 Apr 25;63(2):149-54. doi: 10.1016/s0165-5876(02)00008-3. PMID: 11955606.
- 27- Tos M, Bonding P, Poulsen G. Tympanosclerosis of the drum in secretory otitis after insertion of grommets. A prospective, comparative study. *J Laryngol Otol*. 1983 Jun;97(6):489-96. doi: 10.1017/s0022215100094445. PMID: 6683295.
- 28- Lildholdt T. Ventilation tubes in secretory otitis media. A randomized, controlled study of the course, the complications, and the sequelae of ventilation tubes. *Acta Otolaryngol Suppl*. 1983;398:1-28. doi: 10.3109/00016488309105586. PMID: 6316711.
- 29- Skinner DW, Lesser TH, Richards SH. A 15 year follow-up of a controlled trial of the use of grommets in glue ear. *Clin Otolaryngol Allied Sci*. 1988 Oct;13(5):341-6. doi: 10.1111/j.1365-2273.1988.tb00763.x. PMID: 3243009.
- 30- Dawes PJ, Bingham BJ, Rhys R, Griffiths MV. Aspirating middle ear effusions when inserting ventilation tubes: does it influence post-operative otorrhoea, tube obstruction or the development of tympanosclerosis? *Clin Otolaryngol Allied Sci*. 1991 Oct;16(5):457-61. doi: 10.1111/j.1365-2273.1991.tb01039.x. PMID: 1742892.
- 31- Yoo TJ, Sudo N, Tomoda K, Yazawa Y, Ishibe T, Takeda T, Floyd R. Type II collagen mediated autoimmune middle ear disease: eustachian tube disease, otitis media with effusion and tympanosclerosis. *Auris Nasus Larynx*. 1985;12 Suppl 1:S91-3. doi: 10.1016/s0385-8146(85)80112-7. PMID: 3835948.
- 32- Morgan WC Jr. Tympanosclerosis. *Laryngoscope*. 1977 Nov;87(11):1821-5. doi: 10.1002/lary.1977.87.11.1821. PMID: 916775.33- Veltri RW, Sprinkle PM. Secretory otitis media. An immune complex disease. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1976 Mar-Apr;85(2 Suppl 25 Pt 2):135-9. doi: 10.1177/00034894760850S225. PMID: 131504.
- 34- Schiff M, Poliquin JF, Catanzaro A, Ryan AF. Tympanosclerosis. A theory of pathogenesis. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl*. 1980 Jul-Aug;89(4 Pt 2):1-16. PMID: 6775569.
- 35- Sakowicz-Burkiewicz M, Kuczkowski J, Przybyła T, Grdeń M, Starzyńska A, Pawełczyk T. Gene expression profile of collagen types, osteopontin in the tympanic membrane of patients with

- tympanosclerosis. *Adv Clin Exp Med*. 2017 Sep;26(6):961-966. doi: 10.17219/acem/68984. PMID: 29068597.
- 36- Tian C, Harris BS, Johnson KR. Ectopic Mineralization and Conductive Hearing Loss in Enpp1asj Mutant Mice, a New Model for Otitis Media and Tympanosclerosis. *PLoS One*. 2016 Dec 13;11(12):e0168159. doi: 10.1371/journal.pone.0168159. PMID: 27959908; PMCID: PMC5154548.
 - 37- Koç A, Üneri C. Genetic predisposition for tympanosclerotic degeneration. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* 2002;259:180–3. <https://doi.org/10.1007/s00405-001-0441-y>.
 - 38- Mattsson C, Magnuson K, Hellström S. Myringosclerosis caused by increased oxygen concentration in traumatized tympanic membranes. Experimental study. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1995 Aug;104(8):625-32. doi: 10.1177/000348949510400807. PMID: 7639472.
 - 39- Akyigit A, Yalcin Ş, Etem EÖ, Kaygusuz I, Karlidag T, Keles E, et al. Genetic polymorphisms affecting antioxidant enzymes are present in tympanosclerosis patients. *J Laryngol Otol*. 2016 Oct;130(10):928-933. doi: 10.1017/S0022215116008732. Epub 2016 Aug 18. PMID: 27534583.
 - 40- Spratley JE, Hellström SO, Mattsson CK, Pais-Clemente M. Topical ascorbic acid reduces myringosclerosis in perforated tympanic membranes. A study in the rat. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2001 Jun;110(6):585-91. doi: 10.1177/000348940111000615. PMID: 11407852.
 - 41- Anderson HC. Mechanisms of pathologic calcification. *Rheum Dis Clin North Am*. 1988 Aug;14(2):303-19. PMID: 2845491.
 - 42- Mann W. Experimental tympanosclerosis following infection with *Streptococcus pyogenes* and vitamin D3 intoxication. *Arch Otorhinolaryngol*. 1986;243(5):296-303. doi: 10.1007/BF00460205. PMID: 3028346.
 - 43- Alnahal A, Waheed M, Abdelhamid WAR. Myringosclerosis in hemodialysis patients with hyperparathyroidism. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2020 Nov-Dec;31(6):1303-1309. doi: 10.4103/1319-2442.308339. PMID: 33565442.
 - 44- Caldas Neto S, Lessa FJ, Alves G Jr, Caldas N, Gouveia Mde C. Myringosclerosis in patients with chronic renal failure: comparative analysis with a control group. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2008 Jul-Aug;74(4):494-502. doi: 10.1016/s1808-8694(15)30594-2. PMID: 18852973; PMCID: PMC9442124.
 - 45- Sorensen H, True O. Histology of tympanosclerosis. *Acta Otolaryngol*. 1972 Jan;73(1):18-26. doi: 10.3109/00016487209138189. PMID: 4110701.
 - 46- Koç A, Üneri C. Ultrastructural Comparison Between Tympanosclerosis and Atherosclerosis. *Turk Arch Otorhinolaryngol*. 2005 Sep;43(3):137-144.

- 47- McKee GJ, Kerr AG. Tympanosclerosis: a scanning electron microscopic study. *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 1989 Feb;14(1):11-6. doi: 10.1111/j.1365-2273.1989.tb00330.x. PMID: 2920452.
- 48- Holt GR, Watkins TM, Yoder MG. Assessment of tympanometry abnormalities of the tympanic membrane. *Am J Otolaryngol.* 1982 Mar-Apr;3(2):112-6. doi: 10.1016/s0196-0709(82)80041-0. PMID: 7091539.
- 49- Hızalan İ. Timpanoskleroz. *Türkiye Klinikleri Cerrahi Tıp Bilimleri KBB* 2005; 1(7): 54-59.
- 50- Swartz JD, Wolfson RJ, Marlowe FI, Popky GL. Postinflammatory ossicular fixation: CT analysis with surgical correlation. *Radiology.* 1985 Mar;154(3):697-700. doi: 10.1148/radiology.154.3.3918333. PMID: 3918333.
- 51- Larem A, Abu Rajab Altamimi Z, Aljariri AA, Haidar H, Elsotouhy A, Alsaadi A, et al. Reliability of high-resolution CT scan in diagnosis of ossicular tympanosclerosis. *Laryngoscope Investig Otolaryngol.* 2021 May 27;6(3):540-548. doi: 10.1002/lto.2594. PMID: 34195376; PMCID: PMC8223448.
- 52- Kikkawa S, Kubo K, Kawano H, Komune S. Efficacy of pre-operative computed tomography evaluation of the tympanic cavity for hearing improvement after stapes surgery for tympanosclerosis with stapes fixation. *J Laryngol Otol.* 2015 Mar;129 Suppl 2:S27-32. doi: 10.1017/S0022215114002345. PMID: 25706157.
- 53- Sheehy JL, House WF. Tympanosclerosis. *Arch Otolaryngol.* 1962 Aug;76:151-7. doi: 10.1001/archotol.1962.00740050157009. PMID: 13911558. [50] Kamal SA. Surgery of tympanosclerosis. *Journal of Laryngology and Otology* 1997;111:917-23. <https://doi.org/10.1017/S0022215100138976>.
- 54- Kamal SA. Surgery of tympanosclerosis. *Journal of Laryngology and Otology* 1997;111:917-23. <https://doi.org/10.1017/S0022215100138976>.
- 55- Tos M, Lau T, Arndal H, Plate S. Tympanosclerosis of the middle ear: late results of surgical treatment. *J Laryngol Otol.* 1990 Sep;104(9):685-9. doi: 10.1017/s0022215100113623. PMID: 2230573.
- 56- Gundersen T. Tympanosclerosis. *Acta Otolaryngol.* 1965 Dec;60(6):506-14. doi: 10.3109/00016486509127034. PMID: 5882309.
- 57- Tanaka S, Matsumoto T. Sclerostin: from bench to bedside. *J Bone Miner Metab.* 2021 May;39(3):332-340. doi: 10.1007/s00774-020-01176-0. Epub 2020 Nov 18. PMID: 33206222.
- 58- Balemans W, Ebeling M, Patel N, Van Hul E, Olson P, Dioszegi M, et al. Increased bone density in sclerosteosis is due to the deficiency of a novel secreted protein (SOST). *Hum Mol Genet.* 2001 Mar 1;10(5):537-43. doi: 10.1093/hmg/10.5.537. PMID: 11181578.

- 59- Veverka V, Henry AJ, Slocombe PM, Ventom A, Mulloy B, Muskett FW, et al. Characterization of the structural features and interactions of sclerostin: molecular insight into a key regulator of Wnt-mediated bone formation. *J Biol Chem.* 2009 Apr 17;284(16):10890-900. doi: 10.1074/jbc.M807994200. Epub 2009 Feb 10. PMID: 19208630; PMCID: PMC2667775.
- 60- Winkler DG, Sutherland MK, Geoghegan JC, Yu C, Hayes T, Skonier JE, et al. Osteocyte control of bone formation via sclerostin, a novel BMP antagonist. *EMBO J.* 2003 Dec 1;22(23):6267-76. doi: 10.1093/emboj/cdg599. PMID: 14633986; PMCID: PMC291840.
- 61- Huang Y, Wang X, Wu F, Lu Y, Liang G, Liu A. The Possible Role of Sclerostin in the Pathogenesis of Tympanosclerosis. *Audiol Neurotol.* 2021;26(2):102-110. doi: 10.1159/000508692. Epub 2021 Jan 28. PMID: 33508832.
- 62- Ardawi MS, Al-Kadi HA, Rouzi AA, Qari MH. Determinants of serum sclerostin in healthy pre- and postmenopausal women. *J Bone Miner Res.* 2011 Dec;26(12):2812-22. doi: 10.1002/jbmr.479. PMID: 21812027.
- 63- Van Lierop AH, Witteveen JE, Hamdy NA, Papapoulos SE. Patients with primary hyperparathyroidism have lower circulating sclerostin levels than euparathyroid controls. *Eur J Endocrinol.* 2010 Nov;163(5):833-7. doi: 10.1530/EJE-10-0699. Epub 2010 Sep 3. PMID: 20817762.
- 64- Macaulay TR, Siamwala JH, Hargens AR, Macias BR. Thirty days of spaceflight does not alter murine calvariae structure despite increased Sost expression. *Bone Rep.* 2017 Aug 18;7:57-62. doi: 10.1016/j.bonr.2017.08.004. PMID: 28875158; PMCID: PMC5574818.
- 65- Omran A, Atanasova D, Landgren F, Magnusson P. Sclerostin: From Molecule to Clinical Biomarker. *Int J Mol Sci.* 2022 Apr 26;23(9):4751. doi: 10.3390/ijms23094751. PMID: 35563144; PMCID: PMC9104784.
- 66- Wijenayaka AR, Yang D, Prideaux M, Ito N, Kogawa M, Anderson PH, et al. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 stimulates human SOST gene expression and sclerostin secretion. *Mol Cell Endocrinol.* 2015 Sep 15;413:157-67. doi: 10.1016/j.mce.2015.06.021. Epub 2015 Jun 23. PMID: 26112182.
- 67- Bergmann C, Distler JH. Canonical Wnt signaling in systemic sclerosis. *Lab Invest.* 2016 Feb;96(2):151-5. doi: 10.1038/labinvest.2015.154. Epub 2016 Jan 11. PMID: 26752744.
- 68- Kocelak P, Puzianowska-Kuźnicka M, Olszanecka-Glinianowicz M, Chudek J. Wnt signaling pathway and sclerostin in the development of atherosclerosis and vascular calcification. *Adv Clin Exp Med.* 2024 May;33(5):519-532. doi: 10.17219/acem/169567. PMID: 37676098.

- 69- Zhang F, Zhao J, Liu X, Linhardt RJ. Interactions between Sclerostin and Glycosaminoglycans. *Glycoconj J*. 2020 Feb;37(1):119-128. doi: 10.1007/s10719-019-09900-3. Epub 2019 Dec 11. PMID: 31828567.
- 70- Wang LF, Wu H, Xu Y, Deng M, Han XL, Bai D. Effect of SOST gene deletion on the progression of renal interstitial fibrosis in obstructive kidney injury. *Ren Fail*. 2015;37(9):1514-7. doi: 10.3109/0886022X.2015.1077323. Epub 2015 Sep 3. PMID: 26337453.
- 71- Wei J, Melichian D, Komura K, Hinchcliff M, Lam AP, Lafyatis R, et al. Canonical Wnt signaling induces skin fibrosis and subcutaneous lipoatrophy: a novel mouse model for scleroderma? *Arthritis Rheum*. 2011 Jun;63(6):1707-17. doi: 10.1002/art.30312. PMID: 21370225; PMCID: PMC3124699.
- 72- Taylan A, Birlik M, Kenar G, Toprak B, Gundogdu B, Gurler O, et al. Osteoprotegerin interacts with biomarkers and cytokines that have roles in osteoporosis, skin fibrosis, and vasculopathy in systemic sclerosis: A potential multifaceted relationship between OPG/RANKL/TRAIL and Wnt inhibitors. *Mod Rheumatol*. 2019 Jul;29(4):619-624. doi: 10.1080/14397595.2018.1500736. Epub 2018 Sep 25. PMID: 30001654.
- 73- Fernández-Roldán C, Genre F, López-Mejías R, Ubilla B, Mijares V, Cano DS, et al. Sclerostin serum levels in patients with systemic autoimmune diseases. *Bonekey Rep*. 2016 Feb 3;5:775. doi: 10.1038/bonekey.2016.2. PMID: 26909149; PMCID: PMC4747078.
- 74- Zhang Y, Wang S, Zheng Y, Liu A. Possible role of Dickkopf-1 protein in the pathogenesis of tympanosclerosis in a rat model. *J Laryngol Otol*. 2017 Oct;131(10):860-865. doi: 10.1017/S0022215117001566. Epub 2017 Aug 15. PMID: 28807065.
- 75- Møller P. Tympanosclerosis of the ear drum in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 1984 Jul;7(3):247-56. doi: 10.1016/s0165-5876(84)80005-1. PMID: 6541211.
- 76- Kinney SE. Postinflammatory ossicular fixation in tympanoplasty. *Laryngoscope*. 1978 May;88(5):821-38. doi: 10.1002/lary.1978.88.5.821. PMID: 642676.
- 77- Emmett JR, Shea JJ. Surgical treatment of tympanosclerosis. *Laryngoscope*. 1978 Oct;88(10):1642-8. doi: 10.1288/00005537-197810000-00010. PMID: 703456.
- 78- Kaur K, Sonkhya N, Bapna AS. Tympanosclerosis revisited. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2006 Apr;58(2):128-32. doi: 10.1007/BF03050766. PMID: 23120263; PMCID: PMC3450790.
- 79- Slack RW, Maw AR, Capper JW, Kelly S. Prospective study of tympanosclerosis developing after grommet insertion. *J Laryngol Otol*. 1984 Aug;98(8):771-4. doi: 10.1017/s0022215100147437. PMID: 6470572.

- 80- Lesser TH, Williams KR, Skinner DW. Tympanosclerosis, grommets and shear stresses. Clin Otolaryngol Allied Sci. 1988 Oct;13(5):375-80. doi: 10.1111/j.1365-2273.1988.tb00769.x. PMID: 3243014.
- 81- Karlidag T, Ilhan N, Kaygusuz I, Keleş E, Yalçın S. Comparison of free radicals and antioxidant enzymes in chronic otitis media with and without tympanosclerosis. Laryngoscope. 2004 Jan;114(1):85-9. doi: 10.1097/00005537-200401000-00014. PMID: 14710000.
- 82- Gorur K, Vayisoglu Y, Ozcan C, Guner N, Yaroglu HY, Tamer L. The Glutathion-S-Transferase and N-Acetyl Tranferase gene polymorphism in tympanosclerosis. Journal of International Advanced Otology 2012;8:38–44.
- 83- Igarashi M, Konishi S, Alford BR, Guilford FR. The pathology of tympanosclerosis. Laryngoscope. 1970 Feb;80(2):233-43. doi: 10.1288/00005537-197002000-00007. PMID: 5416456.
- 84- De Carvalho Leal M, Ferreira Bento R, da Silva Caldas Neto S, Caldas N, Alves Peixoto C, Delgado Lessa FJ, Souza Leão RS, Bezerra T. Influence of hypercalcemia in the formation of tympanosclerosis in rats. Otol Neurotol. 2006 Jan;27(1):27-32. doi: 10.1097/01.mao.0000187049.66168.04. PMID: 16371843.
- 85- Mansour, S Magnan, J Nicolas, K Haidat H. Middle Ear Diseases. Springer, vol. 73, 2018, p. 162–202. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-72962-6>.
- 86- Gibb AG. Tympanosclerosis. Acta Otorhinolaryngol Belg 1976;69:1–8.
- 87- Wielinga EW, Peters TA, Tonnaer EL, Kuijpers W, Curfs JH. Middle ear effusions and structure of the tympanic membrane. Laryngoscope. 2001 Jan;111(1):90-5. doi: 10.1097/00005537-200101000-00016. PMID: 11192907.
- 88- Boyraz E, Erdoğan N, Boyraz I, Kazıkdaş C, Etit D, Uluç E. Timpanosklerozun saptanmasında temporal kemik bilgisayarlı tomografi incelemenin yeri ve önemi. Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg. 2009 Nov-Dec;19(6):294-8. Turkish. PMID: 20030597.
- 89- Yıldız S, Balık AÖ, Zer Toros S. Is ossicular chain fixation predictable for tympanosclerosis on preoperative temporal bone computed tomography? Eur Arch Otorhinolaryngol. 2021 Aug;278(8):2789-2794. doi: 10.1007/s00405-020-06365-1. Epub 2020 Sep 18. PMID: 32944833.
- 90- Proctor B. Pitfalls in tympanoplasty. Laryngoscope. 1960 Oct;70:1433-47. doi: 10.1288/00005537-196010000-00005. PMID: 13738142.
- 91- Schuknecht HF, McGee TM, Oleksiuk S. Comments on tympanoplasty. Laryngoscope. 1960 Aug;70:1157-68. doi: 10.1288/00005537-196008000-00007. PMID: 13748792.

- 92- Giddings NA, House JW. Tympanosclerosis of the stapes: hearing results for various surgical treatments. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1992 Nov;107(5):644-50. doi: 10.1177/019459989210700506. PMID: 1437202.
- 93- Huang H, Wu P, Cui Y, Ge R, Zhang L. Expressions of OPG and RANKL in a rat model of tympanosclerosis [in Chinese]. *Chinese Journal of Otology* 2013;2:302–5
- 94- Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys.* 2008 May 15;473(2):139-46. doi: 10.1016/j.abb.2008.03.018. Epub 2008 Mar 25. PMID: 18395508; PMCID: PMC2413418.
- 95- Maré A, D'Haese PC, Verhulst A. The Role of Sclerostin in Bone and Ectopic Calcification. *Int J Mol Sci.* 2020 Apr 30;21(9):3199. doi: 10.3390/ijms21093199. PMID: 32366042; PMCID: PMC7246472.
- 96- Karali E, Yis OM. Serum sclerostin levels in chronic otitis media with and without cholesteatoma. *Rev Assoc Med Bras (1992).* 2020 Jul;66(7):966-972. doi: 10.1590/1806-9282.66.7.966. Epub 2020 Aug 24. PMID: 32844952.
- 97- Li X, Zhang Y, Kang H, Liu W, Liu P, Zhang J, et al. Sclerostin binds to LRP5/6 and antagonizes canonical Wnt signaling. *J Biol Chem.* 2005 May 20;280(20):19883-7. doi: 10.1074/jbc.M413274200. Epub 2005 Mar 18. PMID: 15778503.
- 98- Mödder UI, Hoey KA, Amin S, McCready LK, Achenbach SJ, Riggs BL et al. Relation of age, gender, and bone mass to circulating sclerostin levels in women and men. *J Bone Miner Res.* 2011 Feb;26(2):373-9. doi: 10.1002/jbmr.217. PMID: 20721932; PMCID: PMC3179347.
- 99- Mirza FS, Padhi ID, Raisz LG, Lorenzo JA. Serum sclerostin levels negatively correlate with parathyroid hormone levels and free estrogen index in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Apr;95(4):1991-7. doi: 10.1210/jc.2009-2283. Epub 2010 Feb 15. PMID: 20156921; PMCID: PMC2853994.
- 100- Weivoda MM, Youssef SJ, Oursler MJ. Sclerostin expression and functions beyond the osteocyte. *Bone.* 2017 Mar;96:45-50. doi: 10.1016/j.bone.2016.11.024. Epub 2016 Nov 23. PMID: 27888056; PMCID: PMC5328839.
- 101- Krishna SM, Seto SW, Jose RJ, Li J, Morton SK, Biros E, et al. Wnt Signaling Pathway Inhibitor Sclerostin Inhibits Angiotensin II-Induced Aortic Aneurysm and Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017 Mar;37(3):553-566. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.308723. Epub 2016 Dec 22. PMID: 28062506.

