

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

**KRONİK OTİTİS MEDİALİ HASTALARDA IL-18
-137 G/C, -607C/A GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Abdulaziz YALINKILIÇ
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç.Dr. Nazım BOZAN**

VAN-2016

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

**KRONİK OTİTİS MEDİALİ HASTALARDA IL-18
-137 G/C, -607C/A GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Abdulaziz YALINKILIÇ
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç.Dr. Nazım BOZAN**

VAN-2016

Bu tez Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
2015-TF-U367 kodlu proje olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	3
ÖZET	4
ABSTRACT	5
KISALTMALAR	6
1.GİRİŞ.....	7
2. GENEL BİLGİLER.....	9
2.1 Kronik Otitis Media (KOM).....	9
2.1.1. Tanım.....	9
2.1.2. Patogenez.....	11
2.1.3. Tedavi:	12
2.1.4 Kronik Otitis Media Komplikasyonları.....	14
2.2 Kolestomat:	15
2.2.1. Kolestatoma Patogenezi.....	16
2.2.2. Kolestatomanın Klinik Tipleri	18
2.3.Sitokinler	20
2.3.1. Sitokinlerin Genel Özellikleri.....	21
2.3.2. Sitokinlerin Sınıflandırılması	21
2.3.3. Sitokinlerin Etki Mekanizması	23
2.3.4. Interleukin 18 (IL-18).....	23
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA.....	47
6. KAYNAKLAR.....	53
7. ÖZGEÇMİŞ.....	61

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca engin bilgi ve tecrübesiyle eğitimimde emeği geçen, birlikte çalışmaktan zevk ve onur duyduğum Anabilim Dalı Başkanımız Doç. Dr. Ahmet Faruk KIROĞLU'na, deneyimlerini ve bilgi birikimini bizimle paylaşan ve desteklerinden dolayı Yrd. Doç. Dr. Mahfuz TURAN'a, deneyimlerini ve bilgilerini bizden esirgemeyen ayrıca tezimin oluşmasında büyük emeği olan Yrd. Doç. Dr. Nazım BOZAN'a; ayrıca uzmanlık eğitimim süresince, deneyimlerini ve bilgi birikimini bizimle paylaşan, eğitimim için gerekli tüm imkanları sağlayan önemli katkılarından dolayı Prof. Dr. Hakan ÇANKAYA'ya ve Doç. Dr. M. Fatih GARÇA'ya;

Genetik testleri yapan ve istatistik analizlerimde emeği geçen sayın Doç. Dr. Mehmet BERKÖZ'e;

Birlikte çalışmaktan her zaman onur ve mutluluk duyduğum sevgili asistan doktor arkadaşlarıma;

Mesai saatlerini paylaştığım ve birlikte çalışmaktan zevk duyduğum servis, poliklinik, ameliyathane hemşire ve personellerine;

Asistanlık süreci boyunca benden desteğini esirgemeyen, her türlü zorlukta yanımda olan hayatı paylaştığım sevgili eşim Fatma AYAZ YALINKILIÇ'a, bugünlere gelmemde sonsuz emekleri olan ve desteklerini her daim hissettiğim annem, babam kardeşlerim ve bütün dostlarıma teşekkür ederim.

ÖZET

Kronik otitis media tüm dünyada kişinin dil gelişimini, iletişimini, yaşam kalitesini etkileyen ve yaşamını tehdit eden komplikasyonlara sebep olan önemli bir hastalıktır. Kronik otitis media etyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Kronik otitis medianın kronik enflamatuar bir hastalık olduğu kabul edilmektedir. Bu çalışmada amacımız kronik otit etyolojisinde gelişen inflamasyonda ve immunopatogenezinde etkili olabileceğini düşündüğümüz IL-18 geninin -137. G/C ve -607. C/A pozisyonlarındaki polimorfizmlerini araştırmaktır.

Bu çalışmaya Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi K.B.B. Anabilim Dalı Polikliniği'ne başvurmuş ve kronik otitis media tanısı konulan 195 hasta birey ve laboratuvarlara başvuran herhangi bir kalıtsal, edinsel veya kronik hastalığı bulunmayan yaş ve cinsiyetleri benzer 185 adet sağlıklı birey dahil edildi. Bu hastalardan ve sağlıklı bireylerin periferik kan örnekleri, DNA izolasyonu Poncz yöntemine göre yapıldı ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR, Polymerase Chain Reaction) tekniği kullanılarak polimorfizmleri saptandı. Hastaların 99 tanesi kolesteatomasız, 96 tanesi ise kolesteatomalı idi. Hasta grubu kronik otitis medialı, kolestatomalı ve kolestatomasız kronik otitli hastalar olarak üç gruba ayrıldı ve kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

IL-18 -137 G/C polimorfizmi için genotip frekansları kronik otitli grupta GG,GC ve CC genotipleri sırasıyla %42.56, %45.13, %12.31; kontrol grubunda ise %42.70, %43.78, %13.52 olarak saptanmıştır ($p=0.88$, $p=0.73$). IL-18 -607 G/C polimorfizmi için genotip frekansları CC,CA ve AA genotipleri sırasıyla %41.54, %37.44, %21.02; kontrol grubunda ise %41.62, %32.97, %25.41 olarak saptanmıştır ($p=0.58$, $p=0.48$). IL-18 polimorfizmlerinin genotip dağılımları ve allel frekansları incelendiğinde kronik otitli ve diğer gruplarda istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir. Ancak çalışmada kronik otitli grupta -137 CC genotipine sahip bireylerde hastalık riskini yaklaşık %9, kolestatomalı kronik otitis medialı hastalarda ise hastalık riskini %32.5 oranında azalttığı belirlendi. Kronik otitis medialı hastalarda -607 AA genotipine sahip bireylerde hastalık riskini yaklaşık %17, kolestatomalı kronik otitis medialı hastalarda ise hastalık riskini %31 oranında azalttığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Kronik otitis media, IL-18, Polimorfizm

ABSTRACT

Chronic otitis media (COM) is a serious disease around the world leading to life-threatening complications and affecting the language development, communication, and quality of life of the individuals. Although its exact etiopathogenesis remains unknown, COM is considered to have an inflammatory basis. The present study aimed to investigate the effect of IL-18 gene polymorphisms on the development of inflammation in the etiology of COM at positions -137 G/C, and -607 C/A.

The study included 195 patients with COM who presented to Yuzuncu Yil University Medical School Dursun Odabas Hospital Otorhinolaryngology Department and 195 age- and gender-matched healthy individuals who presented to the laboratories at the same hospital and had no inherited, acquired, or chronic diseases. In both groups, peripheral blood samples were collected and DNA was extracted by the Poncz method, and polymorphisms were identified using the Polymerase Chain Reaction (PCR). Of the 195 patients, 99 patients had cholesteatoma and 96 of them did not. The patients were divided into three groups as (I) patients with COM, (II) patients with cholesteatomatous chronic otitis media, and (III) noncholesteatomatous chronic otitis media, and the groups were compared with the control group.

The genotype frequencies of the -137 G/C polymorphism for GG, GC, and CC genotypes were 42.56%, 45.13%, and 12.31% in the patients with COM and 42.70%, 43.78%, and 13.52% in the controls, respectively. The genotype frequencies of the -607 G/C polymorphism for CC, CA, and AA genotypes were 41.54%, 37.44%, and 21.02% in the patients with COM and 41.62%, 32.97%, and 25.41% in the controls, respectively ($p=0.58$, $p=0.48$). When the distributions of the genotypes of the IL-18 polymorphisms and the allele frequencies were analyzed, it was revealed that there was no significant difference between the patients with chronic otitis and other patients. However, in the patients with chronic otitis, it was revealed that the IL-18 gene reduced the risk of disease by 9% in the patients with -137 CC genotype and by 32.5% in the patients with cholesteatomatous chronic otitis media. In addition, in the patients with COM, it reduced the risk of disease by 17% in the patients with -607 AA genotype and by 31% in the patients with cholesteatomatous chronic otitis media.

Key words: Chronic otitis media, IL-18, polymorphism

KISALTMALAR

KOM: Kronik otitis media

OM: Otitis media

AOM: Akut otitis media

EOM: Effüzyonlu otitis media

SOM: Sekretuar otitis media

DKY: Dış kulak yolu

PMN: polimorfonükleer hücreler

MN: mononükleer hücreler

IL: İnterlökin

IL-18: İnterlökin 18

Th1: Tip 1 yardımcı T hücresi

Th2: Tip 2 yardımcı T hücresi

NK: Natural killer (doğal öldürücü)

IFN γ : İnterferon gamma

TNF- α : Tümör nekroz faktörü – alfa

TNF β : Transforming growth faktör-beta

IL-1 β : İnterlökin-1 beta

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

IL-1Ra: İnterlökin-1 reseptör antagonisti

IgE: İmmunoglobulin E

1.GİRİŞ

Kronik otitis media kulak zarı perforasyonu ile beraber orta kulak ve temporal kemiğin havalı boşluklarını döşeyen mukozasının üç aydan uzun süren enflamasyonudur. Kronik otitis media gelişen ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık sorunudur. Kişinin lisan gelişimini, iletişimini, kavrama yeteneğini, okul başarısını etkileyebilmekte ve yaşamını tehdit eden komplikasyonlara sebep olmaktadır. Dünya çapında işitme kaybının en önemli nedeni ve ciddi tıbbi harcamalara neden olan hastalıklar arasındadır ve etyopatogenezi halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Kronik otitis medianın kronik inflamatuvar bir hastalık olduğu kabul edilmektedir. Tuba östaki disfonksiyonu, kronik inflamasyon, enfeksiyon gibi faktörler rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda kronik süpüratif otitis media'nın spesifik otoimmünolojik hastalık olduğunu kronikleşme sürecinde osteoklastik aktivite, sitokinler, kronik inflamasyon, endotoksinler gibi pek çok neden suçlanmaktadır.

IL-18 makrofajlar tarafından üretilen bir sitokindir. IL-18 IFN-gamma üretimini artırır ve IFN-gammanın güçlü bir uyarıcısıdır, konak savunmasında önemli bir etkiye sahiptir. T hücrelerinin yardımcı T lenfositlerine farklılaşmasını teşvik ederler ve doğal öldürücü (Natural killer:NK) hücrelerinin ve CD8 lenfositlerinin sitotoksik etkisini güçlendirirler. Ayrıca hücre içinde yaşayan mikroorganizmalara karşı gelişen immün yanıtta da kritik bir role sahiptir. Yapılan çalışmalarda da IL-18'in kronik enfeksiyöz hastalıklarda immün sistemin regülasyonunda etkili olduğu düşünülmektedir. Yapılan literatür taramasında IL-18 geninin özellikle -137 G>C ve -607 C>A polimorfizmleri IL-18'in hem gen ekspresyonunu hem de serum düzeyini arttırdığı bu nedenle de IL-18 seviyesinin arttığı hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir.

IL-18 ekspresyonu kronik inflamatuvar hastalıklarda, otoimmün hastalıklarda, çeşitli kanserlerde ve bir çok enfeksiyon hastalıklarında artış göstermektedir. IL-18 gen polimorfizmi ile ilgili son dönemde birçok çalışma yapılmıştır ve IL-18 polimorfizmleri ile hastalıkların gelişmesi, şiddeti ve prognozu ile ilgili birçok veri paylaşılmıştır.

IL-18 gen polimorfizmlerinin çeşitli kronik enfeksiyonlara yatkınlığı arttırdığı tespit edilmesine rağmen bu gen polimorfizminin kronik otitis media'ya yatkınlığı arttırıp arttırmadığını gösteren bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır. Bu çalışmada ki amacımız otitis tablosunda kronikleşme sürecinde, gelişen inflamasyonda etkili olabileceğini düşündüğümüz IL 18 gen polimorfizminin kronik otitis media'nın etyopatogenezinde ki olası rolünü araştırmak ve literatüre katkı sunmaktır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. KRONİK OTİTİS MEDIA

2.1.1. Tanım:

Otitis media (OM), orta kulak ve temporal kemiğin havalı boşlukları ile Eustachii tüpünü kaplayan mukozanın enfeksiyon ve enflamasyonudur. Orta kulak ve bununla irtibat halinde bulunan boşlukların enfeksiyon ve/veya enflamasyonu ile karakterize olan pek çok klinik tablo vardır ve bu tablolar zaman içinde birbirlerine dönüşebilirler. Hastalığın başlangıç şekli ve süresine göre OM'leri akut, subakut ve kronik olarak sınıflandırılabilir.

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

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

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

a- Kronik süpüratif otitis media (kronik otitis media): Bir AOM atağı sonrasında perforasyonun ve enfeksiyon-enflamasyon bulgularının üç aydan fazla devam etmesi kronik otitis media (KOM) olarak adlandırılır. Kolesteatom varlığına göre de kolesteatomlu ve kolesteatomsuz olarak iki alt gruba ayrılabilir.

b-Kronik effüzyonlu otitis media (sekretuar OM): Bir AOM atağının ardından ortaya çıkan effüzyon, eğer üç ay içerisinde ortadan kaybolmuyorsa bu olgular kronik effüzyonlu otitis media olarak adlandırılırlar. Ancak bu tür OM'ler için pratikte daha çok sekretuar otitis media (SOM) tanımı kullanılır. Genelde akut orta kulak enfeksiyonları 6

hafta içinde düzelir. Bundan uzun süren enfeksiyon ve süpürasyonlarda, orta kulak mukozasında ve çevre kemik dokuda irreversibl değişiklikler başlar. Bu nedenle bazı otörler, 6–9 haftadan uzun süren ve medikal tedaviye yanıt vermeyen süpüratif akıntılı otitleri kronikleşmiş olarak da kabul etmektedir (1,2).

Ayrıca akut, subakut ve kronik deyimlerinin histopatolojik anlamları da vardır (3).

I- Akut: Histopatolojik olarak akut terimi ile orta kulak mukoperiostiumunun polimorfonükleer (PMN) hücrelerle infiltre olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca açık enfeksiyon belirtileri vardır.

II- Kronik: Histopatolojik olarak kronik terimi ile orta kulak mukoperiosteumunun mononükleer (MN) hücrelerle infiltre olması anlaşılır.

III- Subakut: Histopatolojik olarak orta kulak mukozasında gözlenen iltihabi hücrelerin hem PMN hem de MN hücrelerden oluştuğunu ifade eder.

OM başlığı altında toplanan hastalıkların günümüzde kabul edilen sınıflandırması şu şekildedir:

a- Mirinjit: Orta kulakta effüzyon oluşmadan oluşan bir iltihaptır. Kulak zarında ve buna komşu DKY derisinde granülasyon dokusu ile karakterizedir.

b- Akut OM: Ani başlayan, klinik olarak saptanabilen enfeksiyon bulgu ve belirtileri ile seyreden kısa süreli otitis medialardır.

c- Sekretuar OM (kronik effüzyonlu OM): Sağlam kulak zarı arkasında lokal ya da genel enfeksiyon belirti ve bulguları olmadan sıvı toplanması haline SOM denir. Diğer bir deyişle OM'lerin süpüratif olmayan effüzyonla karakterize ve klinik olarak enfeksiyon bulgu ve belirtileri olmaksızın, 3 aydan daha uzun süre devam eden sıvı birikmesi olarak tanımlanır.

d- Kronik OM (kronik süpüratif OM): Kulak zarı perforasyonu ve akıntısı ile karakterize otitis media tipidir. Bu tanının konabilmesi için orta kulaktaki enfeksiyon ve/veya enflamasyonun üç aydan uzun süredir devam ediyor olması gerekir. Bu klinik tabloda akıntı ile karakterize aktif devreler ve akıntının kesildiği inaktif devreler birbirini izler.

2.1.2. Patogenez:

Kronik otitis media patogenezinde bir taraftan orta kulakta enfeksiyona neden olan mikroorganizma, diğer taraftan ise buna karşı geliştirilen konakçı direnç mekanizmaları rol oynar. Çevresel ve bünyesel risk faktörleri, bu süreci olumlu ya da olumsuz etkilerler. Bakterinin virülansının yüksek olması, olgunun sık olarak üst solunum yolu enfeksiyonuna maruz kalması, vücut direncini etkileyen hastalıkların varlığı (DM, bağışıklık sistemi bozuklukları), beslenme bozuklukları, allerji, nazofarenkstekki hipertrofik lenfoid dokunun ve kraniyofasial malformasyonların varlığı, AOM ve EOM'nin yetersiz ve uygun olmayan tedavisi, orta kulak ve mastoid hücrelerde havalanma yetersizliğine neden olacak ödem, granülasyon dokusu gibi patolojilerin varlığı KOM sürecini kolaylaştıran faktörlerdir (4).

Kronik otit gelişiminde allerjik hastalıklar da rol oynamaktadır. 1931'de Proetz allerjik hastalıklarla KOM arasında bir ilişki olduğunu bildirmiştir. Rinit nazal mukozadaki allerjik reaksiyon nedeniyle oluşan östaki tüpü disfonksiyonu ve siliyer vuruş sıklığında azalmaya neden olarak KOM patogenezinde etkili olmaktadır (11). Bernstein'e göre östaki tüpünü kapatan inflamatuvar reaksiyona yol açan 3 ihtimal vardır. Disfonksiyon nazal mukozal ödeme ve konjesyonun retrograd artışına yol açar. Mukosiliyer aktivite ostium üzerinde sekresyona neden olur ve bu da intraluminal inflamasyona yol açar. Salınan maddelerin çoğunun hipersekresyona neden olduğu bilinmektedir. Bu maddeler östaki tüpünün seröminöz glandlarını aşırı sekresyon yapması ve böylece lümeni tıkanması için uyarırlar (5). Östaki tüpü antijenlerin orta kulağa geçmesini sağlayan bir yol olarak enfeksiyonlara yatkınlığı artırmaktadır (6).

Bu faktörlerin dışında otitis medianın kronikleşmesinde büyük önemi olan iki lokal faktörde Eustachii tüpü ve mastoid havalanmadır. Eustachii borusunun koruyuculuk görevinin bozuk olması orta kulağın nazofarenksten infekte olması sonucu süpüratif otite neden olurken drenaj fonksiyonunun bozukluğu EOM'ye neden olur. Ayrıca mastoid gelişmesi yeterli olmayan, mastoid havalanmanın yeterli olmadığı olgularda orta kulak ile mastoid arasındaki geçiş yolları kolaylıkla tıkanmakta ve mastoiddeki inflamasyon kronik hale dönüşmektedir (7).

Kronik otitis mediaya neden olan ve bilinmeyen birçok faktör olduğu düşünülmektedir. Timpanik membran perforasyonu sonrası iyileşme skuamöz epitelin orta

kulağa doğru büyümesi ile sonuçlanabilir. Bu durumda büyüme sadece perforasyonun içine olabilir veya tüm orta kulağı doldurabilir. Histopatolojik olarak KOM'larda kalıcı doku patolojisi vardır. İlk olarak mukozada yer yer ülserasyonlar ortaya çıkar, bunu granülasyon dokusu izler. Mukoza inflamatuvar hücre infiltrasyonu sonucu ödemlenir. Bazal membrandaki ödeme bağlı olarak polipler gelişebilir. Granülasyon dokusu, iltihabi mediyatörler ve tahrip edici enzimler yapmaya başlar ve mekanik olarak mastoid ile orta kulak arasında geçişi engeller. KOM'da olay mukoperiosteuma sınırlıdır, bunun dışına taşması osteit ve kemik erimesi komplikasyon olarak kabul edilir (8,9). Kronik süperatif otitis mediada diğer bir sorun da orta kulak mukozasında skarlaşma ve küçük kan damarlarındaki trombozis nedeniyle damarsız alanlar oluşmasıdır. Bunun sonucu başta inkusun uzun kolu olmak üzere kemikçik nekrozumeydana gelir. Malleus ve stapes tabanı az sıklıkla nekroze olmaktadır. Bazen subepitelyal osteolitik enzimler nedeniyle inkus ile stapes arasındaki bağlantı kaybolup iletim tipi işitme kaybı ortaya çıkabilmektedir. Kronik enfeksiyon ve enflamasyon sürdükçe mastoid skleroze olur ve antrum küçülür. Mastoid havalanma, antrumun hemen yakınlarındaki birkaç hava hücresi ile sınırlı kalır (9).

2.1.3. Tedavi:

KOM'da tedavi kararının verilmesi ve tedavinin şeklinin belirlenmesi, hastanın otoskopik ve odyolojik muayene bulgularına göre değişiklik gösterir. Tedavi kararını ve şeklini etkileyen başlıca faktörler, önem sırasına göre, şu şekilde sıralanabilir:

I- Kolestomat: Bir KOM olgusunda, tedavi kararını etkileyen faktörlerin başında kolesteatomun olup olmaması gelir. Kolesteatumlu KOM'larda kafa içi ve temporal kemik içi komplikasyon oranı çok yüksektir. Ayrıca bu hastalığın kendiliğinden remisyona girme olasılığı yoktur. Bu nedenle bu olgularda cerrahi tedavi kaçınılmazdır. Cerrahi tedavinin ilk ve en önemli amacı hayatı tehdit edici hastalığı ortadan kaldırmak, hastayı pis kokulu akıntıdan kurtarmak ve sağlıklı bir kulak elde etmek olmalıdır. Kolestomat tedavisine temel yaklaşım hastalığın engellenebilmesi ve tekrarlanmasını önlemek amacıyla yassı epitelin tamamen temizlenmesi gerektir. İşitmenin sağlanması, fonksiyonel cerrahinin yapılması daha sonra düşünülebilir (10).

II- KOM'un Devresi: Kolesteatomu olmayan KOM'larda komplikasyon ve hayati tehlike riski çok daha azdır. Bununla birlikte, bu risk aktif devredeki KOM olgularında her zaman söz konusudur. Özellikle pis kokuyla karakterize polip, granülasyon dokusu ya da retraksiyon poşu izlenen vakalarda hastalığın tıbbi tedaviyle kontrol altına alınarak inaktif faza sokulması zordur. Aktif faz devam ettikçe işitme kötüleşecek ve komplikasyon riski artacaktır. Bu nedenle bu olgularda en uygun tercih, yoğun bir tıbbi tedavinin arkasından cerrahi tedaviye geçilmesidir. Bu olgulara antibiyotik DKY'den yapılacak kültür ve antibiyogram sonuçlarına göre verilmelidir (11).

III- İşitme Kaybı: İşitme kaybı olgu için sorun oluşturmuyorsa, cerrahi tedavi için bir endikasyon değildir. Diğer taraftan, işitme kaybı olan inaktif ya da skatrisyeI KOM olgularında, işitme kaybının ameliyat endikasyonu olarak kabul edilebilmesi, işitme kaybının tipi ve derecesine bağlıdır. Cerrahi tedavi ile ancak iletim tipi işitme kaybı olan olgulara yararlı olunabilir. Sensörinöral işitme kaybı olan olgularda cerrahi tedavi işitme kaybı üzerine olumlu bir fayda sağlamaz. Daha önceki yıllarda cerrahi daha çok enfeksiyonu kontrol etme amacı taşıyorken günümüzde enfeksiyon tedavisinin yanında işitmenin düzeltilmesi önem kazanmıştır (12).

IV- Perforasyon: Olguda enfeksiyon ya da işitme kaybı olmasa bile, perforasyonun kapatılmasının istenmesi de cerrahi tedavi için bir endikasyondur. Bu durumda, olgunun yaşı ve genel durumu ile ilgili problemlerin olup olmadığı da ameliyat kararını etkileyen faktörlerdir.

V- Diğer Faktörler: Ameliyat kararı üzerinde etkili olabilecek diğer faktörlerin başında, olgunun diğer kulağının durumu gelir. Karşı kulağında da KOM'u olan olgularda, önce bir kulağın ameliyat edilerek, bu kulağın hastalıksız ve işitebilir duruma getirilmesi amaçlanmalıdır. Bu nedenle de eğer diğer kulakta komplikasyon meylindeki bir kolesteatomlu KOM yoksa, önce daha kolay başarı sağlanabilecek kulak tercih edilmelidir.

Karşı kulağın total işitme kayıplı olması halinde, KOM'lu kulakta eğer kolesteatom yoksa ameliyat kararı verilmemeli lokal sistemik tedavi ile inaktif devreye getirilmeye ve işitmesi de cihazlarla takviye edilmeye çalışılmalıdır. Eğer tek işiten kulakta kolesteatomlu KOM varsa bu durumda yapılması gereken cerrahi tedavi modifiye radikal mastoidektomidir.

İnaktif ya da intermittant devredeki bir KOM olgusunda hasta kulaktan köken alan bir otonörolojik hastalık varsa, otonörolojik girişimlerden önce kapalı ve enfeksiyonsuz bir kulak elde etmek için KOM cerrahi olarak tedavi edilmelidir (3).

2.1.4. Kronik Otitis Media Komplikasyonları:

Organizmanın tipi ve virulansı, yetersiz antibiyotik tedavisi, kolesteatomanın varlığı, konakçının direnci ve mevcut sistemik hastalıkları komplikasyonların gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Enfeksiyon şu yollar ile yayılmaktadır (3,13).

a-Tromboflebit: Sağlam kemikten damarlar yoluyla enfeksiyonun yayılması söz konusudur. Akut enfeksiyonlarda özellikle görülür.

b-Kemik erozyonu: Kolesteatoma veya granülasyon dokusu varlığında kemik duvarlarda destrüksiyon görülebilir. Kronik enfeksiyonlarda görülür.

c-Önceden oluşmuş yollar (Preformed path-ways): Temporal kemikteki konjenital açıklıklar, birleşmemiş sütürler, temporal kemikte meydana gelen kırık hatları, ameliyat defektleri, oval ve yuvarlak pencere sayılabilir. Komplikasyonlardan şüphelenildiği zaman dikkatli bir nörolojik muayene de yapılmalıdır.

Konvansiyonel filmlerdeki değişikliklerin yanında BT de yaptırılarak patoloji ortaya konulmalıdır. Komplikasyon düşünülen hastalarda kranial ve temporal BT istenmeli; tek başına temporal BT temporal lob absesinin gözden kaçmasına neden olabilir.

Ekstrakraniyal Komplikasyonlar	İntrakraniyal Komplikasyonlar
a-Mastoidit	a.Ekstradural Apse
b-Subperiostal Apse	b.Subdural Apse
c-Fasiyal paralizi	c.Beyin Apsesi
d-Labirentit	d.Lateral Sinüs Tromboflebiti
e-Petrozit	e.Menenjit
	f.Otitik Hidrosefalus (Pseudotümör Serebri)

2.2. KOLESTATOM

En tehlikeli OM formu olan kolesteatom, ektopik bazal germinatif tabakanın sürekli ürettiği deskuame epitel ve stratum korneumdan gelen keratinizasyon gösteren çok katlı yassı epitelin olmaması gereken orta kulakta veya temporal kemiğin diğer pnömatize hücrelerinde olması olarak tanımlanır. Kolesteatoma, histolojik olarak benign fakat klinik olarak destrüktif bir lezyondur (14,15).

Kolesteatoma örneklerinde daima bir enflamasyon gözlenmektedir. Bu enflamasyon farklı uyaranlarla tetiklenen immün cevaplar ile meydana gelmektedir. Hasarlı dokuda yapısal ve fonksiyonel hasarın tamirinde enflamatuvar bir cevap gereklidir. Erken ya da akut enflamasyon fazında fibroblast ve endotelial hücre proliferasyonu ile karakterize bir proliferatif faz vardır. Sonuçta çok katlı yassı epitelin bazal germinatif tabakası (matriks) çoğalmaya devam eder, deskuamasyon olur, ölü hücreler üst üste yığılır ve kolestatomun beyaz lamellerini oluştururlar. Sürekli enflamatuvar stimülasyonun olduğu durumlarda cevap kronikleşebilir ve doku davranışında patolojik değişikliklere neden olabilir. Kolesteatoma patogenezi bakteriyel enfeksiyon ve enflamasyon geçiren migratuvar epitelin reaksiyonu olarak düşünülebilir. Çünkü kolesteatoma orta kulak kavitesindeki enflamatuvar reaksiyonlarla ilişkilidir ve sıklıkla enflamatuvar granülasyon dokusu aktif kolesteatomda tutulan epitel boyunca görülebilmektedir (16).

Kolesteatomun özelliklerinden biri ve belki de en önemlisi kemik erimesine neden olmasıdır. Kemik erimesi diğer KOM tiplerinde de görülebilir. Ancak kolesteatomda daha geniş ve daha fazla görülmektedir. Kemik erimesi kolesteatomu tehlikeli yapan özelliklerden biridir. Kemik erimesi iletim tipi ya da sensörinöral işitme kayıplarının yanı sıra, temporal kemik ve kafa içi komplikasyonlara da neden olan önemli bir süreçtir.

Kolesteatomasız KOM'ların %42'sinde kemikçik harabiyeti ile karşılaşılırken, kolesteatomlu vakaların %95'inde kemikçik harabiyeti saptanmıştır. Buna karşın iç kulağı orta kulaktan ayıran kemik duvar (promontorium ve yarım daire kanallarının duvarları) olaya uzun süre katılmaz. Kolesteatomanın labirentte yaptığı tahribatın en önemlisi lateral yarım daire kanalllarında meydana getirdiği fistüllerdir. Bu fistüllerin görülme ihtimali %11'dir. Lateral yarım daire kanalındaki fistülle birlikte fasial kanalın ikinci parçada açıkta bulunma olasılığı %35'dir (3).

Orta kulak enfeksiyon ve enflamasyon sürecinin ne şekilde kolesteatom gelişmesine neden olduğu konusunda pek çok teori vardır.

2.2.1. Kolesteatoma Patogenezi

Patogeneizde, kolesteatoma oluşumu 2 ana grupta toplanabilir.

1. Edinilmiş Kolesteatomlar

- a) Primer edinilmiş
- b) Sekonder edinilmiş

2. Doğumsal Kolesteatomlar

Edinilmiş Kolesteatomlar: 2 alt gruba ayrılır.

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

1) *İnvaginasyon Teorisi:* Tuba fonksiyon bozukluğu nedeniyle negatif basınç oluşur. Pars flaksidada retraksiyon ve enflamasyon sonucu epitel ile mukoza sınırında bozulma meydana gelir ve skuamöz epitel içeri girer. Attik submukozasında hiperplazi meydana gelir. Attik boşluk daralarak Shrapnell membranında ilerleyici çökme olduğu Wittmack tarafından ifade edilmiştir. Doğumda orta kulak, attik ve mastoidde embriyonel mezenkimal doku mevcuttur. Doğumdan bir süre sonra kendiliğinden çekilir. Bazen bu olay uzar ve çekilme gecikir. Zamanla steril veya bakteriyel olmayan enfeksiyonlarla bir enflamasyon gelişir. Sonuçta özellikle attikte kalın bir fibrotik doku meydana gelir. Bu fibrotik doku attikte blokaj yapar ve oluşan negatif basınç fibröz dokudan zayıf olan pars flaksidayı eldiven parmağı gibi içeri çeker. Bu kulaklarda mastoid boşluğun havalanması da bozulmuştur. Zamanla cebin içinde keratin toplanır, klirens bozulur ve enfeksiyonlarla kolesteatom gelişir. Görünüşleri bazen marjinal perforasyon şeklinde aldatıcı olabilir. Gerçekte perforasyon olmayıp bir invaginasyon söz konusudur (17,18).

2) *Bazal Hücre Hiperplazisi Teorisi:* Pars flaksidadaki epitel hücreleri prolifer olarak subepitelial dokuya invaze olur. Gerçekten de, enfeksiyonlarla timpanik membranın fibröz tabakası ve bazal lamina tahrip edilirse, bazal hücre artışıyla subepitelial boşluğa papiller çıkıntılar şeklinde epitel dokusu girmektedir. Burada da bazal lamina yıkılır ve epitelial hücreler subepitelial bağ doku içine girerek mikrokolesteatomlara yol açar (19,20).

3) *Efüzyonlu Otitler:* Uzun süren efüzyonlarda orta kulak ve mastoid havalanması bozulur. Arka kadranda, özellikle attikte negatif basınçla retraksiyon cepleri oluşur. Zaman içinde klirens bozulur ve keratin toplanır. Enfeksiyonların yardımıyla kolesteatom gelişir.

4) *Epitelial Göç Teorisi:* Göç olayı sırasında stratum corneumun hareketidir. Merkezde hızlı, çevreye doğru yavaştır. Atelektazik zarlarda ve retraksiyon cepleri içinde migrasyon hızı düşer. Bu nedenle cepler içinde zamanla keratin birikir. Cep derinleşir ve enfeksiyon, granülasyon, kemik erimesi ve sonuçta kolesteatom ortaya çıkar.

b) *Sekonder Edinilmiş Kolesteatomlar:* Bunlar timpanik membrandaki perforasyondan; özellikle marjinal veya attik bölgesindeki perforasyonlardan, epitel dokusunun içeri, orta kulağa girmesiyle oluşur.

Oluşumlarıyla ilgili 3 değişik görüş vardır.

1) *Epitel İnvazyon Teorisi:* Buna göre; keratinize skuamöz epitel, timpanik membrandaki perforasyondan içeri girmektedir. Epitelial hücreler, bulundukları düzlem boyunca ilerler(kontakt ilerleme). Ancak başka tip bir epitelial yüzeyle karşılaşınca(mukoza epiteli) ilerlemeleri durur(kontakt inhibisyon). Normalde dış kulak kanalı epitel göçü dışı doğrudur. Epitel dokusu ters yönde ilerleyerek perforasyondan içeri girer. Kolesteatom matriksindeki epitel göç hızının, fazla olduğu bilinmektedir.

Enflamasyon nedeniyle mukozal epitel tahrip olmakta ve perforasyon kenarından içeri giren epitel dokusu kolaylıkla mukozal epitelin yerini alarak kolesteatom oluşturmaktadır (19,20,21).

2) *Epitel İmplantasyon Teorisi*: Daha çok iatrojenik kolesteatomların oluşumu için geçerlidir. Cerrahi girişimler sırasında zar veya dış kulak kanalı epiteli orta kulağa kaçır. Greft altında kalan epitel artıkları, içeri kıvrılmış dış kulak kanalı deri flepleri ve ventilasyon tüpü uygulamalarından sonra görülen kolesteatomlar bunlara örnektir. Ayrıca; kazalar, travmalar ve benzeri nedenlerle oluşan perforasyonlardan içeri implante olan epitel dokusu da ileride kolesteatom oluşturabilir (20).

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

Doğumsal Kolesteatomalar: Kolesteatoma, sağlam timpanik membran arkasında gelişerek belirti vermektedir. Timpanik halka, dış kulak kanalı skuamöz epitelinin orta kulakla ilişkisini sınırlamaktadır (22).

Timpanik halkanın oluşması gecikirse, dış kulak kanalı epiteli orta kulak mezenkimine doğru papiller uzantılar gönderir. Timpanik halka kapanıp, zar epiteli ve mukozası arasında bariyer yapsa bile, bu papiller çıkıntılar orta kulakta kalır ve zamanla sağlam timpanik membran arkasında doğumsal kolesteatomaları oluşturur (23).

2.2.2. Kolesteatomanın Klinik Tipleri

1. Edinilmiş Kolesteatomalar: Bilindiği gibi primer ve sekonder gelişim gösterir.

Yerleşim yerlerine göre;

- a) Posterior epitimpanik
- b) Anterior epitimpanik
- c) Mezotimpanik olmak üzere 3 grupta toplanır.

a) *Posterior Epitimpanik Kolesteatoma*: Arka attikte yerleşen kolesteatoma, Prussak boşluğunu delerek arkaya doğru, inkusun dış yüzünden geçerek önce aditusa sonra

da antruma girer. Aynı kolesteatoma, Prussak boşluğunun tabanını delerek, Von Troeltsch boşluğunun arka kısmını kullanarak orta kulağa da geçebilir.

b) Anterior Epitimpanik Kolesteatoma: Bu bölge, malleus başı ile supratubal bölge arasında kalmaktadır. Kolesteatoma, tüm anterior attiki doldurarak, supratubal resese kadar ulaşabilir. Von Troeltsch cebinin ön kısmından, aşağı doğru orta kulağa kadar uzanabilir.

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

2. Doğumsal Kolesteatoma: Sağlam timpanik membran arkasında beyaz kitle olarak ve çoğu kez belirti vermediği için rastlantıyla saptanır. Olguların 2/3'ünde orta kulağın ön üst kısmında yer alır. Bu bölgeye yerleşenler sakın olup kemikçik zincirini bozmaz, Geri kalan 1 /3'ü ise orta kulak boşluğunun arka-üst kısmına yerleşir ve çoğu zaman kemikçik zincirini etkiler. Olguların çok az bir kısmında ise, ön-alt bölümde yer alır (22).

3. Petröz Apeks Kolesteatoması: Oldukça nadir görülür. Tanı ve tedavileri sıkıntılıdır. Petröz apeks kolesteatomanın kökeninin, doğumsal ve edinsel olduğu sanılmaktadır.

Doğumsal kolesteatomalar, kraniyumun içinde herhangi bir yerde, ancak özellikle orta kulak, mastoid, petröz apeks ve dış kulak kanalında yerleşir. Edinilmiş kolesteatomalar, bilindiği gibi, kronik otitler sonucunda orta kulak ve mastoidde görülür.

4. Dış Kulak Kanalı Kolesteatomaları: Kemik dış kulak kanalının arka-alt kadranında keratin debrislerinin toplanmasıyla karakterize nadir bir otolojik tablodur.

5. İatrojenik Kolesteatomalar: Otolojik cerrahi girişimler sonucunda skuamöz epitelin bir şekilde implantasyonuna bağlı olarak ortaya çıkar. Greft altından, zar kalıntısının içe dönmesinden veya dış kulak kanalı epitelinin orta kulağa girip hapsolmesiyle timpanik “pearl” kolesteatomalar olabilir; ayrıca kanal cerrahisi sırasında epidermisin alta katlanıp kalmasıyla da oluşabilir. Orta kulak boşluğunda yerleşenler için

timpanotomi yapılarak “pearl” alınır, çevresi kontrol edilir, gerekirse yeni greftleme yapılır.

6. Rezidiv Kolestomatolar: Bunlar, rezidüel ve rekürren olmak üzere iki grupta incelenir:

a) *Rezidüel Kolesteatoma*: Cerrahın ilk ameliyatta bilerek veya hata sonucunda bıraktığı skuamöz epitel dokusunun oluşturduğu kolesteatomadır. Çoğunlukla; anterior attik, timpanik sinüsler ve oval pencere çevresinde oluşur. Daha az sıklıkla; stapes tabanı ve bacakları arasında ve fasiyal kanal ile horizontal semisirküler kanal çevresinde kalan epitel dokusundan gelişir.

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

2.3. SİTOKİNLER

Sitokinlerin aktiviteleri ilk kez 1926'da Zinsser ve Tamiya tarafından tanımlanmış ve bunların lökositlerden salgılanan çözünür ürünler oldukları, damar duvarı fonksiyonlarını etkiledikleri bildirilmiştir (24). Sitokinler; doğal ve adaptif immünitede rol alan immün hücreler arasındaki etkileşimleri sağlayarak inflamatuvar yanıtları düzenleyen peptid veya glikoprotein yapısındaki maddelerdir. Fizyolojik açıdan sitokinler hücreler arası mesaj ileten biyolojik mediatörler olarak tanımlanabilir (25).

2.3.1. Sitokinlerin Genel Özellikleri

Sitokinler polipeptid veya glikoprotein yapısında molekül ağırlığı 20 ile 30 kD arasında olan moleküllerdir. Bugüne kadar yüzden fazla sitokin tanımlanmıştır. Genellikle preform moleküller olarak depo edilemezler. Çok küçük konsantrasyonlarda bile özgül reseptörleri ile hedef hücreye bağlanarak etkilerini gösterebilirler. Birçok farklı hücre tipi tarafından sentezlenebilir ve salınabilirler.

Etkilerini otokrin (salgılandığı hücre üzerinde), parakrin (salgılandıkları hücrenin çevresindeki hücreler üzerine) ve endokrin (sistemik) olarak gösterebilirler. Sentezlenmeleri ve hedef hücreleri etkilemeleri stimülasyonla (antijen vb.) olur. Sitokin üretimi sınırlı ve bölgeseldir, depolanamaz bu nedenle ihtiyaç halinde yeni bir gen transkripsiyonu gerekmektedir. Transkripsiyon periyodu kısadır ve sentez hızlı salınım ile birlikte olur.

Sitokinler birbirlerinin sentezini ve/veya salınımını etkilemektedir. Sitokinlerin etkileri, hedef hücrelerdeki spesifik membran reseptörlerine bağlanmaları ile başlar. Farklı sitokinler, aynı hedef hücre üzerinde değişik etkilere sahip olabilir. Tek bir sitokin birden çok hücre tipi üzerine etkili olabilir (pleiotropizm). Aynı hücre üzerine farklı sitokinler ortak etki gösterebilirler. Sitokinlerin, benzer diğer polipeptid hormonlarında olduğu gibi, aktivasyonu hedef hücre yüzeyinde bulunan özgül reseptörlere bağlanmasına bağlıdır (24,25,26).

Th1 (proenflamatuvar) ve Th2 (anti-enflamatuvar) hücreleri tarafından üretilen sitokinler pek çok infeksiyon, otoimmün ve malign hastalıkların patalojisine etki etmektedir. Sitokin profilleri arasındaki bireysel farklılıkların bir kısmı, sitokin genlerinin düzenleyici bölgelerindeki allelik polimorfizmlere bağlı olarak ortaya çıkar.

Son yıllarda enfeksiyon, otoimmün ve malign hastalıklar gibi birçok hastalığın etyopatogenezinin araştırılmasında, tedavi yanıtının değerlendirilmesinde, hastalıkların önlenmesi amacı ile birçok sitokin gen polimorfizmi çalışmaları bildirilmiştir.

2.3.2 Sitokinlerin Sınıflandırılması

Sitokinler yapılarına ve fonksiyonlarına göre alt gruplara ayrılırlar (27).

Hematopoetin ailesi

- IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-21
- IL-17 ailesi (IL-17 ve IL-25)
- Granülosit makrofaj koloni stimule edici faktör (GM-CSF)
- Granülosit koloni stimule edici faktör (G-CSF)

İnterferon ailesi

- Tip 1 interferonlar [IFN α , β , δ , κ , ω , ι , IL-28A (IFN λ 2), IL-28B (IFN λ 3) ve IL-29 (IFN λ 1)]
- İnterferon- γ
- İnterlökin-10
- İnterlökin-10 ailesi [İnterlökin -19, -20, -22, -24 and -26]

Beta Trefoil yapısındaki sitokinler

- İnterlökin-1 ailesi [IL-1F1, F2]
- İnterlökin-1 reseptör antagonisti [IL-1F3]
- İnterlökin-18 [IL-1F4]
- İnterlökin-1 ailesi [F5 -F10]
- Fibroblast büyüme faktörü (FGF)
- Hepatosit büyüme faktörü (HGF)

Tümör Nekroz Faktör ailesi

- Lenfotoksinler
- Tümör Nekroz Faktör

Tirozin Kinaz Reseptör ailesi

- Makrofaj koloni stimule edici faktör (M-CSF)
- Kök hücre faktörü
- Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)

Kemokinler

Transforme Edici Büyüme Faktör (TFG) ailesi

2.3.3. Sitokinlerin Etki Mekanizması

Sitokinler hücre yüzeyinde yer alan spesifik reseptörlere bağlanarak etki gösterirler. Tüm sitokin reseptörleri ekstrasellüler bölge ve sitoplazmik bölge olarak iki ana birimden oluşmaktadır. Sitokin reseptörleri beş grupta incelenir:

1. *Tip I sitokin reseptörleri*: Hematopoetin reseptörler olarak da isimlendirilirler. IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, GM-CSF, G-CSF tarafından kullanılırlar. Membran proksimalinde WSXWS motifi içerirler.

2. *Tip II sitokin reseptörleri* : Tip I reseptörler gibi 2 sisteinli bölge içerirler. Fakat WSXWS motifi içermezler. IFN α/β , IFN γ ve IL-10 tarafından kullanılırlar.

3. *İmmünglobulin süper ailesi*: Tip I ve II reseptörlerden farklı bir sinyal ileti sistemi kullanırlar. Ekstrasellüler Ig bölgesi içerir. IL-1 ve M-CSF tarafından kullanılırlar.

4. *TNF reseptörleri*: Sisteinden zengin ekstrasellüler bölgeler içerir. Gen ekspresyonu yada apoptozu indükler.

5. *Transmembran reseptörler*: Serpentin reseptörler olarak da adlandırılır. GTP bağlayan G proteinleri ile sinyal iletimi gösterirler. Kemokinler tarafından kullanıldıkları bilinmektedir (26,28).

Sitokinler enfeksiyon hastalıklarının patogeneğinde önemli bir yere sahiptir. Sitokin cevabı optimum düzeyde oluşursa konak lehine; aşırı veya yetersiz düzeyde oluşursa etken lehine sonuçlar ortaya çıkabilir (29).

Doğal immünite de rol alan sitokinler; TNF, IL1, IL12, IFN, IL10, IL6, IL15, IL18

Adaptif immünitede rol alan sitokinler; IL2, IL4, IL5, IFN γ , TGF β , Lenfotoksin, IL13 (28)

2.3.4. İnterleukin-18 (IL-18)

İnterleukin-18 aktif makrofajlardan salınan immün düzenleyici bir sitokindir. İnterleukin-18'in fonksiyonel özellikleri IL-12'ye, yapısal özelliği de IL-1 ailesinden olan proteinlere benzer fakat etkisini ikisinden de bağımsız olarak etki göstermektedir. Hücrel immünitenin indükleyicisidir. NK ve T hücrelerinin sitotoksitesini arttırdığı, IL-1 β ve

TNF- α gibi proinflatuar sitokinlerin salgısını potansiyelize ettiği gösterilmiştir. Bu özellikleri nedeniyle IL-18 inflamasyonda temel taşı rolü oynayan bir sitokin gibi görünmektedir (30,31).

IL-18, IL-12 ile birlikte etki ederek T hücrelerinde IFN- γ üretimini arttırır ve Th1 tipi immün yanıt gelişimine neden olur. IL-12' nin yokluğunda ise, hem Th1 hem de Th2 üzerindeki etkilerine bağılı olarak, Th2 sitokinlerinin üretiminde artmaya neden olmakta ve allerjik inflamasyonda yer almaktadır, doğıal immünite üzerinde çeşitli roller oynayarak nötrofillerde sitokin ve kemokin üretimini, sitotoksisiteyi, granül salınımını arttırmakta ve NK hücrelerinde IFN- γ üretimini indüklemektedir. Ayrıca kemokinlerin üretimini indükleyerek nötrofil kemotaksisini, direkt etki ile lenfosit kemotaksisini artırmaktadır.(28,32)

Yapılan çalışmalarda insan IL-18 geninin promoter kısmında polimorfizmler saptanmıştır. Giedraitis ve arkadaşları IL-18 geninde -656,-607,-137,+113 ve +127 olmak üzere 5 tane polimorfizm saptanmış ve bu polimorfizmler arasında promoter bölgesinde – 607 ve –137 pozisyonlarındaki polimorfizmler en dikkati çekici olanlardır. Bu polimorfizmlerin IL-18'in ekspresyonunu etkilediğini ve ona bağılı zincirleme fonksiyonlar arasında fonksiyonel açıdan farklılıklar ortaya çıkardığı gösterilmiştir (33,34).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu ve Örnek Alımı

Çalışmamızın hasta grubunu Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Kulak Burun Boğaz Anabilim Polikliniği'ne başvurmuş ve kronik otitis media tanısı konularak opere edilmiş 195 hasta birey oluşturmaktadır. Hastalara kronik otitis media tanısı öykü, fizik muayene, otomikroskopik muayene ve saf ses odiyometrisi ile konuldu. Hastalar seçilirken çekilen tomografisinde mastoid hücrelerde ve orta kulağında granülasyon dokusu lehine yumuşak doku dansitesi olan hastalardı. Hastalardan hiçbirinin daha önce geçirilmiş kronik otit cerrahisi öyküsü mevcut değildi. Hastaların vital bulguları, muayene bulguları preoperatif olarak kaydedildi. Çalışmaya başlanılmadan önce Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıbbi Araştırmalar Yerel Etik Kurulu'ndan gerekli izinler alındı. Hastalara çalışma hakkında bilgi verilerek aydınlatılmış onamları alındı. Hastalar kronik otit açısından ayrıntılı şekilde değerlendirildi ve bunun sonucunda uygun cerrahi prosedürler planlanarak uygulandı.

Kronik otitis media tanısı konulmuş hastalardan 107 tanesi erkek, 88 tanesi ise kadındır. Kronik otitis media tanısı konmuş hastaların 99 tanesi kolesteatomasız, 96 tanesi ise kolesteatomalı idi. Kolesteatomasız kronik otitis media hastaların 58 tanesi erkek, 41 tanesi ise kadındır. Kolesteatomalı kronik otitis media hastaların ise 49 tanesi erkek, 47 tanesi kadındır.

Kontrol grubu ise Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi'ne bağlı laboratuvarlara başvuran ve herhangi bir kalıtsal, edinsel veya kronik rahatsızlığı bulunmayan 185 adet sağlıklı bireyden meydana gelmektedir. Bu kişilerden 98 tanesi erkek, 87 tanesi kadındır.

Gerek kronik otitis media tanısı konulmuş hastalardan gerekse kontrol grubunu oluşturan bireylerden 5'er mL periferik kan EDTA'lı tüplere alındı ve çalışma gününe kadar + 4°C'de saklandı. Tüm çalışmalar Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Biyoteknoloji Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Ayrıca kronik otitis

media'lı hastaların laboratuvar ve klinik verilerinin tespiti amacıyla hasta takip formu oluşturdu ve hastaların poliklinik ve servis dosyalarına istinaden bu formlar dolduruldu.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.2.1. Kullanılan Cihazlar

- Thermal Cyclers (Techne, Cambridge, UK)
- Elektroforez Güç Kaynağı (Wealtec, ELITE 300)
- Elektroforez Tankı (Biolab, Mazfill, HU13)
- Jel Görüntüleme Sistemi (Bio-Imaging Systems)
- Soğutmalı Mikrosantrifuj (Sigma, 2-16K)
- Mikrodalga Fırın (Arçelik)
- Derin Dondurucu (Regal, RDD 1145)
- Etüv (Binder)
- Hassas Terazî (Mettler Toledo)
- Buzdolabı (Regal, RBD 4602 NCF)
- Vorteks (REAX)
- Su Banyosu (GFL-Wasserbad Water Bath)
- Distile Su Cihazı (Millipore)
- Mikropipet Seti (Gilson- Pipetman- P20-P100-P1000)
- pH Metre (Mettler Toledo)

3.2.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- Tris-Hidroklorid (Amresco-0234)
- Magnezyum Klorür (Merck-1.05833)
- Triton X100 (Merck-1.08603.1000)
- Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA) (Merck-1.08421)
- Tris-baz (Amresco-826)
- Borik asit (Riedel de Haen-11606)
- Sodyum Hidroksit (Merck-1.06462)

- Hidroklorik Asit (Merck-1.00314)
- Sodyum Klorür (Merck-1.06404)
- Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) (Lauryl Sulfate) (Sigma-L5750)
- Ethidium Bromide (Amresco-X 328)
- Orange G (Sigma O-3756)
- Etanol (Merck 1.00986)
- İzopropanol (2-propanol)(Sigma-I9516)
- Sükroz (Merck-1.07651)
- Agaroza-Basica Le (Prona-081501PR)
- Taq DNA polimeraz (Fermentas-EP0402)
- 10XPCR Buffer (NH4) (Fermentas-EP0402)
- 25 mM MgCl₂ (Merck-1.05833)
- 2mM dNTP Mix (Fermentas-R0192)
- Proteinaz K (Sigma- P2308)
- 100 bp marker (100bp DNA Ladder, MBI Fermentas Vilnius, Lithuania)
- DNase, RNase Free Su (Sigma-W3500)
- Primerler

- IL-18 -137 G/C Polimorfizmi için Forward Primer Dizisi:

5'- ATG CTT CTA ATG GAC TAA GGA -3'

- IL-18 -137 G/C Polimorfizmi için Reverse Primer Dizisi:

5'- GTA ATA TCA CTA TTT TCA TGA ATT -3'

- IL-18 -607 C/A Polimorfizmi için Forward Primer Dizisi:

5'- GCC CTC TTA CCT GAA TTT TGG TAG CCC TC -3'

- IL-18 -607 C/A Polimorfizmi için Reverse Primer Dizisi:

5'- AGA TTT ACT TTT CAG TGG AAC AGG AGT CC -3'

- *EcoRI* (MBI Fermentas, Vilnius, Lithuania)
- *TruI1* (MBI Fermentas, Vilnius, Lithuania)

3.2.3. Kullanılan Tampon Çözeltiler

3.2.3.1. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Solüsyonlar

Lysis Buffer

(0,32 M Sukroz, 10mM Tris/HCl pH 7,5; 5mM MgCl₂, % 1 Triton X100)

Sukroz.....10,9 g

Tris-HCl.....0,157 g

MgCl₂.....0,1 g

Triton x100.....1 mL

- Kimyasal maddeler 50 mL distile suda çözüldü.
- pH'sı 7,5'e ayarlandı.
- Distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- Oda ısısında muhafaza edildi.

Fizyolojik Tampon

(0,075M NaCl, 0,025M EDTA)

- NaCl.....0,438 g
- EDTA..... 0,93 g

Tartılan kimyasallar 50 mL distile su içerisinde çözüldü.

Distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

+4°C'de muhafaza edildi.

Tampon A

(10mM Tris/HCl pH 8; 2mM EDTA)

Tris-HCl.....0,157 g

EDTA.....0,074 g

Tartılan kimyasallar 50 mL distile su içerisinde çözöldü.

Distile su ile 100 mL'ye tamamlandı ve oda ısısında saklandı.

% 10'luk SDS (Sodyum Dodesil Sülfat)

- SDS.....1 g

Tartılan kimyasal distile su ile 10 mL'ye tamamlandı.

Oda ısısında saklandı.

Proteinaz-K (100 mg/mL)

- Liyofilize 100 mg Proteinaz-K (Sigma)
 - 1 mL steril distile su ile çözölerek 100 mg/mL'lik konsantrasyona getirildi.
 - 50 µL'lik porsiyonlara ayrıldı.
 - -20°C'de saklandı.

Doymuş Sodyum Klorür

- NaCl.....3,5 g
 - Tartılan NaCl distile su ile 10 mL'de çözöldü ve oda ısısında muhafaza edildi.

İzopropanol

- Mevcut stok izopropanoldan 50 mL alındı ve -20°C'de muhafaza edildi.

Etil Alkol (100 mL için)

(% 70'lik etil alkol)

- Etil alkol.....70 mL.
- Mevcut stok etil alkolden (%96'lık) 70 mL alındı ve üzerine 24 mL distile su eklendi.

3.2.3.2. Elektroforez İçin Kullanılan Solüsyonlar

10X TBE (Tris-Borik Asit-EDTA) Stok Solüsyonu pH 8,8

Tris Baz.....108 g

Borik Asit.....55 g

EDTA.....8,3 g

- Tartılan kimyasal maddeler distile suda çözüldü ve pH'sı 8,8 'e ayarlandı.
- Distile su ile 1 litre'ye tamamlandı
- Oda ısısında muhafaza edildi.

Elektroforez Yürütme Tamponu (1XTBE)

- 10X TBE stok solüsyonu distile suyla seyreltilerek 1XTBE tamponu hazırlandı. Hazırlanan 1XTBE tamponu elektroforez yürütme tamponu olarak elektroforez tankına konuldu.

% 2 Agaroze Jel Solüsyonu

1XTBE Buffer.....120 mL

Agarose Basica LE Prona2,4 g

Ethidium Bromide.....0,5 µg/mL

Orange G Solüsyonu

- 1mM Na₂EDTA2,232 g
- Orange G200 mg
- Gliserol.....60 mL
- Distile Su40 mL

3.3. Kullanılan Yöntemler

3.3. 1. DNA İzolasyonu

İnsan genomik DNA'sının ekstrasyon, izolasyon ve pürifikasyonuna ilişkin çok çeşitli protokoller geliştirilmiştir. Tam kan örneklerinden DNA izolasyonu Poncz yöntemine göre yapılmıştır (35).

DNA İzolasyonunun Yapılışı

- EDTA'lı tüpe alınan kandan 500 µL alınarak 1,5 µL'lik steril ependorf tüpüne kondu.
- Üzerine 1 mL lysis buffer (0,32 M Sukroz, 10mM Tris/HCl pH 7,5; 5mM MgCl₂, % 1 Triton X100) eklendi ve karıştırıldı.
- Tüpler 5 dakika bekletildi ve 13.000 rpm'de 10 dakika santrifuj edildi.
- Süre sonunda süpernatant döküldü ve aynı adım bir kez daha tekrarlandı.
- Tüplere 1 mL fizyolojik tampon (0,075M NaCl, 0,025M EDTA) eklendi ve karıştırıldı.
- Bu karışım 13.000 rpm'de 10 saniye santrifüj edildi.
- Süpernatant kısmı atıldı ve dipteki pellet üzerine 300 µL Tampon A (10mM Tris/HCl pH 8, 2mM EDTA) eklenip karıştırıldı.
- Bu karışım üzerine 10 µL SDS ve 25µL Proteinaz-K (100 mg/mL) konulup karıştırıldı.
- Tüpler 65°C'de 45 dakika bekletildi.
- Süre sonunda tüpler oda ısısına getirildi.
- Tüplere 50 µL doymuş sodyum klorür eklendikten sonra 15-20 saniye vortekslendi.
- Tüpler 13.000 rpm'de 5 dakika santrifuj edildi.

- Süpernatant steril yeni bir tüpe alındı.
- Süpernatant üzerine eşit hacimde izopropil alkol eklendi.
- Tüpler yavaşça alt üst edilerek DNA'nın ipliksi bir görünüm alışı izlendi.
- 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
- Süpernetant kısım atılıp pellet halindeki DNA üzerine 1 mL % 70'lik soğuk etil alkol eklenip karıştırıldı.
- Tüpler 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatant atıldı ve tüpler kurutma kağıdı üzerine ters çevrilerek alkol kurutuldu.
- Her tüpe 50 µL distile su eklenerek DNA 37 °C'de çözölmeye bırakıldı (bir gece).
- Elde edilen DNA molekülünün miktarı aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\text{DNA derişimi (}\mu\text{L/mL)} = \text{OD}_{260} \times \text{Seyreltme faktörü} \times 50^*$$

*1 cm ışık yollu küvette 1 OD'ye karşılık gelen µg/mL biriminden DNA miktarı.

Hazırlanan ekstrakt çalışılncaya kadar + 4°C'de saklandı.

3.3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Uygulaması

PCR, tek bir molekül DNA'yı dahi çoğaltabileceğinden, reaksiyon karışımlarının DNA molekülleri ile kontamine olmasının engellenmesi gerekmektedir. Bu kontaminasyon, daha önceki PCR reaksiyonu, eksojen DNA veya diğer hücrel materyallerden kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle, kullanılan sarf malzemelerin ve solüsyonların steril olmasına dikkat edildi. Ayrıca PCR reaksiyonunda, ısı iletiminden kaynaklanabilecek sorunların en az düzeye indirilmesi için, ince duvarlı DNAase ve RNAase enzimlerinden arındırılmış steril 0,5 mL'lik eppendorf tüpleri kullanıldı. Reaksiyonun gerçekleştirilmesi için de Thermal Cycler cihazı ile 0.5-10 µL, 10-100 µL ve 50-200 µL'lik pipetler kullanıldı.

IL-18 geninin -137 ve -607 bölgesindeki polimorfizmler, Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile belirlendi. Çalışmada kullanılan primerler, Karakaş-Çelik ve ark. yaptığı araştırma makalelerinden seçildi (36). *IL-18* genindeki polimorfizmlerin PCR ile

belirlenmesinde forward ve revers primerler kullanıldı. *IL-18* –137G/C polimorfizminin belirlenebilmesi için forward ve reverse primer dizileri Çizelge 3.1.’de, *IL-18* -607C/A polimorfizminin belirlenebilmesi için forward ve reverse primer dizileri Çizelge 3.2.’de gösterilmiştir. *IL-18* –137G/C ve -607C/A bölgelerine spesifik PCR bileşenleri ise Çizelge 3.3.’de gösterildi.

Çizelge 3.1. *IL-18* –137G/C polimorfizmin PCR ile belirlenmesinde kullanılan primerler

Forward Primer Dizisi	Revers primer dizisi	PCR ürünü
5'-ATG CTT CTA ATG GAC TAA GGA -3'	5'-GTA ATA TCA CTA TTT TCA TGA ATT-3'	131 bp

Çizelge 3.2. *IL-18* -607C/A polimorfizmin PCR ile belirlenmesinde kullanılan primerler

Forward Primer Dizisi	Revers primer dizisi	PCR ürünü
5'-GCC CTC TTA CCT GAA TTT TGG TAG CCC TC-3'	5'-AGA TTT ACT TTT CAG TGG AAC AGG AGT CC-3'	171 bp

Çizelge 3.3. *IL-18 -137G/C* ve *-607C/A* bölgelerine spesifik PCR bileşenleri

Reaksiyon Bileşenleri	Kullanılacak Miktar (µL)
Distile Su	24,5
1x PCR Buffer	5
MgCl ₂ (1,5 mM)	4
dNTP Mix (100 µM)	10
Primer 1 (Forward) (20pmol/µL)	2
Primer 2 (Reverse) (20pmol/µL)	2
Taq DNA Polimeraz (1U)	0,5
Çalışılacak örnek sayısı kullanılan miktarlarla çarpılarak miks oluşturuldu. Bu miksten çalışılacak örnek sayısı kadar 48 µL’lik porsiyonlar alınarak üzerine DNA örneğinden konuldu ve son hacim 50 µL’ye tamamlandı.	
DNA örneği (20-100 ng)	2

Oluşturulan bu PCR karışımı vortekste karıştırıldıktan sonra, her bir örneğe ait ve üzerlerinde numaraları yazılı steril 0,2 µL’lik PCR tüplerine 48’er µL konuldu. Daha sonra üzerine 2 µL DNA örneği konulup cihaza yerleştirildi.

IL-18 -137G/C polimorfizmi için thermal cycler cihazında PCR koşulları Çizelge 3.4.’deki gibi, *IL-18 -607C/A* polimorfizmi için ise Çizelge 3.5.’deki gibi uygulandı ve PCR ürünleri elektroforez işlemlerinde kullanılmak üzere +4°C’de saklandı.

Çizelge 3.4. *IL-18 –137G/C* polimorfizmi için PCR koşulları

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Ön denatürasyon	95	3 dk.	1
Denatürasyon	95	45 sn	35
Primer bağlanması (Annealing)	50	45 sn	
Zincir uzaması (Elongasyon)	72	1,5 dk	
Son uzama (sentez)	72	7 dk	1
Muhafaza	4	∞	∞

Çizelge 3.5. *IL-18 -607C/A* polimorfizmi için PCR koşulları

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Ön denatürasyon	95	3 dk.	1
Denatürasyon	95	45 sn	35
Primer bağlanması (Annealing)	60	30 sn	
Zincir uzaması (Elongasyon)	72	1,5 dk	
Son uzama (sentez)	72	7 dk	1
Muhafaza	4	∞	∞

3.3.3. Agaroz Jel Elektroforez Tekniği

Her bir birey için, PCR işlemi sonrasında *IL-18 –137G/C* ve *-607C/A* bölgelerinin amplifiye olup olmadığını kontrol etmek için agaroz jel elektroforez işlemi uygulandı. Bu işlem sonrasında sırasıyla 131 bp ve 171 bp'lik tek bir band gözlenmesi gerekiyordu. Hazırlanan jelde yürütülen DNA'ların uzunlukları, büyüklükleri belli (100-1000bp) DNA fragmentleri içeren markır ile kıyaslanarak saptandı.

Tank tamponu olarak TBE, 10X konsantre stok solüsyon şeklinde hazırlandı. Daha sonra 1X olacak şekilde sulandırıldı ve hem tankta hem de agaroz jelin hazırlanması sırasında kullanıldı.

3.3.3.1. Agaroz Jelin Hazırlanması

% 2'lik agaroz jel hazırlandı. Düşük erime sıcaklığına sahip (55-60°C) ve moleküler biyolojik çalışmalar için uygun nitelikte agaroz (Agarose Basica LE, Prona) kullanıldı. 2,4 gr agaroz, 120 mL 1X TBE çözeltisi içerisinde mikrodalga fırında homojen ve şeffaf bir görünüm elde edilinceye kadar ısıtıldı. Buhar çıkması durduktan sonra boyar madde olarak 0,5µg/mL Ethidium bromide (Et-Br) kullanıldı.

Hazırlanan agaroz, TBE ve Ethidium bromide karışımı, jel taraklarını eritmeyecek ısıya düşünceye kadar soğutuldu. Jel taraklarının yerleştirildiği jel kalıbına yavaşça döküldü. Dökme işlemi sırasında jel içinde hava kabarcıklarının kalmamasına dikkat edildi. Yaklaşık 1 saat kadar oda ısısında soğumaya bırakıldı. Jel tamamen katılaştıktan sonra taraklar çıkarıldı ve elektroforez tankına yerleştirildi. Elektroforez tankı içerisine yerleştirilen jelin üst kısmını tamamen örtecek şekilde yürütme tamponu ile dolduruldu.

Yürütülecek olan PCR örneklerinden 8 µL alınarak parafilm üzerinde 10 µL Orange G boyası ile iyice karıştırıldı ve kuyucuklara yüklendi. Elde edilen bandın uzunluğunu tespit etmek amacıyla 100 bp'lik markır kullanıldı. Örnekler 120 voltluk akım uygulanarak 50-55 dakika yürütüldü. Elde edilen DNA bantları jel görüntüleme yöntemi sistemi yardımıyla görüntülendi.

3.3.4. PCR Ürünlerinin BsrI Restriksiyon Enzimi ile Kesimi

IL-18 -137G/C polimorfizmi için enzim kesimi protokolü:

Distile Su	9 µL
<i>EcoRI</i> (10 U/µL)	1 µL

10X Tampon B	2 µL
PCR Ürünü	8 µL
Total hacim	20 µL

Distile su, *EcoRI* ve Tampon B kullanılarak örnek sayısı kadar miks hazırlandı. Hazırlanan karışımın önce vorteks daha sonra santrifüj kullanılarak homojen bir biçimde karışması sağlandı. 0,2 µL'lik steril PCR tüplerinin her birine 12 µL hazırlanan karışımdan pipetlendi. Karışımların üzerine 8'er µL PCR ürünü eklenerek vorteks ile karıştırıldı ve santrifüj edildi. Tüm örnekler 37°C'de su banyosunda 16 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında örnekler non-spesifik bantların oluşmasını önlemek amacıyla 80°C'de su banyosunda 20 dakika inkübe edilerek enzim inaktivasyonu sağlandı. Kesim ürünleri 0,5 µg/mL ethidium bromide içeren yukarıda anlatılan şekilde hazırlanmış % 3'lük agaroz jelde 120 voltta 2 saat yürütüldü ve jel görüntüleme sisteminde değerlendirildi.

***IL-18 -607C/A* polimorfizmi için enzim kesimi protokolü:**

Distile Su	9 µL
<i>TruI1</i> (10 U/µL)	1 µL
10X Tampon B	2 µL
PCR Ürünü	8 µL
Total hacim	20 µL

Distile su, *TruI1* ve Tampon B kullanılarak örnek sayısı kadar miks hazırlandı. Hazırlanan karışımın önce vorteks daha sonra santrifüj kullanılarak homojen bir biçimde karışması sağlandı. 0,2 µL'lik steril PCR tüplerinin her birine 12 µL hazırlanan karışımdan pipetlendi. Karışımların üzerine 8'er µL PCR ürünü eklenerek vorteks ile karıştırıldı ve santrifüj edildi. Tüm örnekler 65°C'de su banyosunda 4 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında örnekler non-spesifik bantların oluşmasını önlemek amacıyla

80°C’de su banyosunda 20 dakika inkübe edilerek enzim inaktivasyonu sağlandı. Kesim ürünleri 0,5 µg/mL ethidium bromide içeren yukarıda anlatılan şekilde hazırlanmış % 3’lük agaroz jelde 120 voltta 2 saat yürütüldü ve jel görüntüleme sisteminde değerlendirildi.

3.3.5. Genotip Tayini

IL-18 –137G/C bölgesine ait PCR ürünü 131 bp uzunluğundadır. Kesim sonucunda 107 ve 24 bp uzunluğunda iki parça oluşmaktadır. GG genotipine sahip bireyler için 107 ve 24 bp’lik iki bant, GC genotipine sahip bireyler için 131, 107 ve 24 bp’lik üç bant ve CC genotipine sahip bireyler için ise 131 bp’lik tek bir bant gözlenmektedir.

IL-18 –607C/A bölgesine ait PCR ürünü 171 bp uzunluğundadır. Kesim sonucunda 101 ve 70 bp uzunluğunda iki parça oluşmaktadır. AA genotipine sahip bireyler için 101 ve 70 bp’lik iki bant, CA genotipine sahip bireyler için 171, 101 ve 70 bp’lik üç bant ve CC genotipine sahip bireyler için ise 171 bp’lik tek bir bant gözlenmektedir.

3.3.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi için SPSS 11 (SPSS Inc., Chicago. IL., USA) programı kullanıldı. Tüm parametreler için frekanslar ve yüzde değerleri hesaplandı. Bu frekansların hasta ve kontrol gruplarında görülme sıklıkları arasındaki ilişkiler ki-kare testi ile araştırıldı. Odds oranları (OR) hesaplandı. Yanılma düzeyleri olarak 0,05 değeri seçildi. Bu değere eşit yada küçük *p* değeri için “parametreler arası ilişkinin istatistiksel açıdan anlamlı” olduğu yorumu yapıldı.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, kronik otitis media ile *IL-18 -137G/C* ve *-607C/A* gen polimorfizmi arasında ilişki olup olmadığı araştırıldı. Bu amaçla çalışmamızın kontrol grubunu 185 sağlıklı birey meydana getirirken, hasta grubunu ise kronik otitis media tanısı almış 195 birey oluşturmaktaydı. Kronik otitis media'lı hastaların 99'ü kolesteatomasız (% 50,77), 96'sı ise kolesteatomalı (% 49,23) idi.

Hasta grubunun genel yaş ortalaması $49,6 \pm 16,26$ ve yaş sınırı 12-72 olarak bulundu. Kolesteatomasız hastaların yaş ortalaması $47,4 \pm 18,13$ ve yaş sınırı 14-72, kolesteatomalı hastaların yaş ortalaması $51,7 \pm 19,45$ ve yaş sınırı 12-67 olarak saptandı. Kontrol grubunun yaş ortalaması ise $48,63 \pm 19,62$ ve yaş sınırı 16-74 olarak bulundu.

Tüm kronik otitis medialı hastaların 107'si erkek, 88'i kadın; bunlardan kolesteatomasız olanların 58'i erkek, 41'i kadın; kolesteatomalı olanların ise 49'u erkek, 47'si kadındı. Tüm kronik otitis medialı hastalar göz önüne alındığında erkek/kadın oranı 1,22 olarak gözlemlendi. Kolesteatomasız olgularda erkek/kadın oranı 1,41, Kolesteatomalı olgularda ise 1,04 olarak bulundu.

IL-18 geninin *-137G/C* ve *-607C/A* bölgeleri PCR yöntemi ile amplifiye edildikten sonra doğru genin amplifiye edilip edilmediğinin kontrolü için % 2'lik agaroz jel kullanılarak elektroforez yapıldı. Jel elektroforezi ile *-137G/C* bölgesi için 131 bp'lik, *-607C/A* bölgesi için ise 171 bp'lik tek bir bant elde edilmiştir.

IL-18 geninin *-137.* pozisyonundaki *G→C* ve *-607.* pozisyonundaki *C→A* değişimlerini belirlemek için PCR ile amplifiye edilen her örneğe sırasıyla *EcoRI* ve *TruI1* enzimleri kullanılarak kesim yapıldı. Kontrol grubuna ait 185 sağlıklı gönüllü ve kronik otitis media tanısı almış 195 hasta olmak üzere toplam 380 bireyin *IL-18 -137G/C* ve *-607C/A* polimorfizmlerine bakıldı.

IL-18 geninin *-137G/C* polimorfizmi için görüntüleme sisteminde markır baz alınarak kıyaslama yapıldığında GG genotipine sahip bireyler için 107 ve 24 bp'lik iki bant, CC genotipine sahip bireyler için 131'lik tek bir bant ve GC genotipine sahip bireyler için ise 131, 107 ve 24 bp'lik üç bant görülmektedir.

Bu çalışma sonucunda kontrol grubundaki 185 bireyden 79 bireyde GG (% 42,70), 81 bireyde GC (% 43,78) ve 25 bireyde CC (% 13,52) genotipi saptandı. 195 bireyden oluşan kronik otitis media'lı hasta grubundan 83 bireyde GG (% 42,56), 88 bireyde GC (% 45,13) ve 24 bireyde CC (% 12,31) genotipi bulundu. Kronik otitis media'lı tanısı konmuş hastaların kolesteatoma mevcudiyetine göre de genotipleme yapıldı. Buna göre kolesteatomasız kronik otitis media tanısı konulmuş 99 bireyden 41 bireyin GG (% 41,41), 43 bireyin GC (% 43,33) ve 15 bireyin ise CC (% 15,16) genotipinde olduğu tespit edildi. Kolesteatomalı kronik otitis media tanısı konulmuş 96 bireyden 42 bireyin GG (% 43,75), 45 bireyin GC (% 46,88) ve 9 bireyin ise CC (% 9,37) genotipinde olduğu bulundu.

Kronik otitis media'ya genotip frekansı kontrol grubu referans alınarak çoklu regresyon modeli ile kıyaslandığında, GC ve CC genotiplerinin kronik otitis media'ya yatkınlığı sırasıyla 1,0341 ve 0,9137 kat arttırdığına % 95 güvenle karar verildi. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1. Kronik otitis media'lı hasta ve kontrol gruplarında *IL-18 -137G/C* polimorfizmi genotip dağılımları ve odds oranları

Genotipler	KOM hastası (n=195) n (%)	Kontrol (n=185) n (%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
GG	83 (% 42,56)	79 (% 42,70)	1 (Referans)	*p= 0,88,
GC	88 (% 45,13)	81 (% 43,78)	1,0341 [0,6718-1,5916]	**p=0,73
CC	24 (% 12,31)	25 (% 13,52)	0,9137 [0,4822-1,7316]	

n= kişi sayısı

* GG ve GC genotip dağılımlarını istatistiksel olarak kıyaslandığında

** GG ve CC genotip dağılımlarını istatistiksel olarak kıyaslandığında

Kolesteatomasız kronik otitis media hastalarının genotip frekansı kontrol grubu referans alınarak çoklu regresyon modeli ile kıyaslandığında, GC ve CC genotiplerinin kolesteatomasız kronik otitis media'ya yatkınlığı sırasıyla 1,0229 ve 1,1561 kat arttırdığına % 95 güvenle karar verildi. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Kolesteatomasız kronik otitis media'lı hasta ve kontrol gruplarında *IL-18 -137G/C* polimorfizmi genotip dağılımları ve odds oranları

Genotipler	Kolesteatomasız KOM hastası (n=99) n (%)	Kontrol (n=185) n (%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
GG	41 (% 41,41)	79 (% 42,70)	1 (Referans)	*p= 0,93,
GC	43 (% 43,43)	81 (% 43,78)	1,0229 [0,6031-1,7348]	**p=0,70
CC	15 (% 15,16)	25 (% 13,52)	1,1561 [0,5499-2,4305]	

n= kişi sayısı

* GG ve GC genotip dağılımlarını istatistiksel olarak kıyaslandığında

** GG ve CC genotip dağılımlarını istatistiksel olarak kıyaslandığında

Kolesteatomalı kronik otitis media hastalarının genotip frekansı kontrol grubu referans alınarak çoklu regresyon modeli ile kıyaslandığında, GC ve CC genotiplerinin kolesteatomalı kronik otitis media'ya yatkınlığı sırasıyla 1,045 ve 0,6771 kat arttırdığına % 95 güvenle karar verildi. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Kolesteatomalı kronik otitis media'lı hasta ve kontrol gruplarında *IL-18 -137G/C* polimorfizmi genotip dağılımları ve odds oranları

Genotipler	Kolesteatomalı KOM hastası (n=96) n (%)	Kontrol (n=185) n (%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
GG	42 (% 43,75)	79 (% 42,70)	1 (Referans)	*p= 0,87, **p=0,37
GC	45 (% 46,88)	81 (% 43,78)	1,0450 [0,6198-1,7619]	
CC	9 (% 9,37)	25 (% 13,52)	0,6771 [0,2897-1,5825]	

n= kişi sayısı

* GG ve GC genotip dağılımlarını istatistiksel olarak kıyaslandığında

** GG ve CC genotip dağılımlarını istatistiksel olarak kıyaslandığında

Bu polimorfizmin, allel frekanslarının gruplarla olan ilişkisi ki-kare analizi ile değerlendirildi. C alleli varlığı kronik otitis media'ya yatkınlığı 0,9769 kat (Çizelge 4.4.), kolesteatomasız kronik otitis media'ya yatkınlığı 1,0655 kat (Çizelge 4.5.) ve kolesteatomalı kronik otitis media'ya yatkınlığı 0,8910 kat (Çizelge 4.6.) arttırdığına % 95 güvenle karar verildi. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.4. Kronik otitis media'lı hasta ve kontrol gruplarında *IL-18 -137G/C* polimorfizmi allel frekansı ve odds oranları

Alleller	KOM hastası (n=390) n (%)	Kontrol (n=370) n (%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
G	254 (% 65,13)	239 (% 64,59)	1 (Referans)	p= 0,88
C	136 (% 34,87)	131 (% 35,41)	0,9769 [0,7252-1,3159]	

n= allel sayısı

Çizelge 4.5. Kolestomatosis kronik otitis media'lı hasta ve kontrol gruplarında *IL-18 -137G/C* polimorfizmi allel frekansı ve odds oranları

Alleller	Kolestomatosis KOM hastası (n=198) n (%)	Kontrol (n=370) n (%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
G	125 (% 63,13)	239 (% 64,59)	1 (Referans)	p= 0,73
C	73 (% 36,87)	131 (% 35,41)	1,0655 [0,7442-1,5254]	

n= allel sayısı

Çizelge 4.6. Kolestomatosis kronik otitis media'lı hasta ve kontrol gruplarında *IL-18 -137G/C* polimorfizmi allel frekansı ve odds oranları

Alleller	Kolestomatosis KOM hastası (n=192) n (%)	Kontrol (n=370) n (%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
G	129 (% 67,19)	239 (% 64,59)	1 (Referans)	p= 0,54
C	63 (% 32,81)	131 (% 35,41)	0,8910 [0,6161-1,2886]	

n= allel sayısı

IL-18 geninin -607C/A polimorfizmi için görüntüleme sisteminde markır baz alınarak kıyaslama yapıldığında AA genotipine sahip bireyler için 101 ve 70 bp'lık iki bant, CC genotipine sahip bireyler için 171'lik tek bir bant ve CA genotipine sahip bireyler için ise 171, 101 ve 70 bp'lık üç bant görülmektedir.

Bu çalışma sonucunda kontrol grubundaki 185 bireyden 77 bireyde CC (% 41,62), 61 bireyde CA (% 32,97) ve 47 bireyde AA (% 25,41) genotipi saptandı. 195 bireyden oluşan kronik otitis media'lı hasta grubundan 81 bireyde CC (% 41,54), 73 bireyde CA (% 37,44) ve 41 bireyde AA (% 21,02) genotipi bulundu. Kronik otitis media'lı tanısı konmuş

hastaların kolesteatoma mevcudiyetine göre de genotipleme yapıldı. Buna göre kolesteatomasız kronik otitis media tanısı konulmuş 99 bireyden 36 bireyin CC (% 36,37), 41 bireyin CA (% 41,41) ve 22 bireyin ise AA (% 22,22) genotipinde olduğu tespit edildi. Kolesteatomalı kronik otitis media tanısı konulmuş 96 bireyden 45 bireyin CC (% 46,88), 32 bireyin CA (% 33,33) ve 19 bireyin ise AA (% 19,79) genotipinde olduğu bulundu.

Kronik otitis media'ya genotip frekansı kontrol grubu referans alınarak çoklu regresyon modeli ile kıyaslandığında, CA ve AA genotiplerinin kronik otitis media'ya yatkınlığı sırasıyla 1,1376 ve 0,8293 kat arttırdığına % 95 güvenle karar verildi. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.7.).

Çizelge 4.7. Kronik otitis media'lı hasta ve kontrol gruplarında *IL-18 -607C/A* polimorfizmi genotip dağılımları ve odds oranları

Genotipler	KOM hastası (n=195) n (%)	Kontrol (n=185) n (%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
CC	81 (% 41,54)	77 (% 41,62)	1 (Referans)	*p= 0,58,
CA	73 (% 37,44)	61 (% 32,97)	1,1376 [0,7171-1,8047]	**p=0,48
AA	41 (% 21,02)	47 (% 25,41)	0,8293 [0,4919-1,3980]	

n= kişi sayısı

* CC ve CA genotip dağılımlarının istatistiksel olarak kıyaslandığında

** CC ve AA genotip dağılımlarının istatistiksel olarak kıyaslandığında

Kolesteatomasız kronik otitis media hastalarının genotip frekansı kontrol grubu referans alınarak çoklu regresyon modeli ile kıyaslandığında, CA ve AA genotiplerinin kolesteatomasız kronik otitis media'ya yatkınlığı sırasıyla 1,4376 ve 1,0012 kat arttırdığına % 95 güvenle karar verildi. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.8.).

Çizelge 4.8. Kolestomatomsız kronik otitis media'lı hasta ve kontrol gruplarında *IL-18 -607C/A* polimorfizmi genotip dağılımları ve odds oranları

Genotipler	Kolestomatomsız KOM hastası (n=99) n (%)	Kontrol (n=185) n (%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
CC	36 (% 36,37)	77 (% 41,62)	1 (Referans)	*p= 0,20,
CA	41 (% 41,41)	61 (% 32,97)	1,4376 [0,8214-2,5161]	**p=0,99
AA	22 (% 22,22)	47 (% 25,41)	1,0012 [0,5265-1,9037]	

n= kişi sayısı

* CC ve CA genotip dağılımlarının istatistiksel olarak kıyaslandığında

** CC ve AA genotip dağılımlarının istatistiksel olarak kıyaslandığında

Kolestomalı kronik otitis media hastalarının genotip frekansı kontrol grubu referans alınarak çoklu regresyon modeli ile kıyaslandığında, CA ve AA genotiplerinin kolesteomalı kronik otitis media'ya yatkınlığı sırasıyla 0,8976 ve 0,6917 kat arttırdığına % 95 güvenle karar verildi. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.9.).

Çizelge 4.9. Kolestomalı kronik otitis media'lı hasta ve kontrol gruplarında *IL-18 -607C/A* polimorfizmi genotip dağılımları ve odds oranları

Genotipler	Kolestomalı KOM hastası (n=96) n (%)	Kontrol (n=185) n (%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
CC	45 (% 46,88)	77 (% 41,62)	1 (Referans)	*p= 0,71,
CA	32 (% 33,33)	61 (% 32,97)	0,8976 [0,5106-1,5780]	**p=0,26
AA	19 (% 19,79)	47 (% 25,41)	0,6917 [0,3620-1,3216]	

n= kişi sayısı

* CC ve CA genotip dağılımlarının istatistiksel olarak kıyaslandığında

** CC ve AA genotip dağılımlarının istatistiksel olarak kıyaslandığında

Bu polimorfizmin, allel frekanslarının gruplarla olan ilişkisi ki-kare analizi ile değerlendirildi. A alleli varlığı kronik otitis media'ya yatkınlığı 0,9149 kat (Çizelge 4.10.), kolesteatomasız kronik otitis media'ya yatkınlığı 1,0434 kat (Çizelge 4.11.) ve kolesteatomalı kronik otitis media'ya yatkınlığı 0,7959 kat (Çizelge 4.12) arttırdığına % 95 güvenle karar verildi. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.10. Kronik otitis media'lı hasta ve kontrol gruplarında *IL-18 -607C/A* polimorfizmi allel frekansı ve odds oranları

Alleller	KOM hastası (n=390) n (%)	Kontrol (n=370) n (%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
C	235 (% 60,26)	215 (% 58,11)	1 (Referans)	p= 0,55
A	155 (% 39,74)	155 (% 41,89)	0,9149 [0,6850-1,2220]	

n= allel sayısı

Çizelge 4.11. Kolesteatomasız kronik otitis media'lı hasta ve kontrol gruplarında *IL-18 -607C/A* polimorfizmi allel frekansı ve odds oranları

Alleller	Kolesteatomasız KOM hastası (n=198) n (%)	Kontrol (n=370) n (%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
C	113 (% 57,07)	215 (% 58,11)	1 (Referans)	p= 0,81
A	85 (% 42,93)	155 (% 41,89)	1,0434 [0,7360-1,4793]	

n= allel sayısı

Çizelge 4.12. Kolesteatomalı kronik otitis media'lı hasta ve kontrol gruplarında *IL-18 -607C/A* polimorfizmi allel frekansı ve odds oranları

Alleller	Kolesteatomalı KOM hastası (n=192) n (%)	Kontrol (n=370) n (%)	Odds Oranı [%95 CI]	p değeri
C	122 (% 63,54)	215 (% 58,11)	1 (Referans)	p= 0,21
A	70 (% 36,46)	155 (% 41,89)	0,7959 [0,5557-1,1398]	

n= allel sayısı

5.TARTIŞMA

Kronik otitis media etyopatogenezi halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Kronik otitis medianın kronik enflamatuvar bir hastalık olduğu kabul edilmektedir. Tuba östaki disfonksiyonu, kronik inflamasyon, enfeksiyon gibi faktörler rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda kronik süpüratif otitis medianın spesifik otoimmünolojik hastalık olduğunu kronikleşme sürecinde osteoklastik aktivite, sitokinler, kronik inflamasyon, endotoksinler gibi pek çok neden suçlanmaktadır. Kronik otitis media ve inflamasyon birlikteliğini araştıran pek çok çalışma mevcuttur. Genellikle tekrarlayan akut otit atakları ve/veya kronik efüzyonlu otitis mediayı takiben gelişir, ancak tubal disfonksiyon, alerji, nazofarengeal ve paranazal enfeksiyonlar da hastalığın gelişimini kolaylaştırır (5,37).

Kronik otitis media ile ilgili literatürde birçok çalışma yer almaktadır. Yapılan çalışmalarda etyopatogenezi ile ilgili birçok teori ortaya konmuştur. Kronik otit işitme kaybı başta olmak üzere birçok komplikasyona neden olabilmekte ve kişinin lisan gelişimini, iletişimini, kavrama yeteneğini, okul başarısını etkileyerek yaşamını tehdit eden komplikasyonlara neden olabilmektedir.

Otitis media gelişen ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık sorunudur. Dünya çapında işitme kaybının en önemli nedeni ve ciddi tıbbi harcamalara neden olan hastalıklar arasındadır, yılda yaklaşık 25 milyondan fazla hasta bu sebeple hekimlere başvurmaktadır (38,39). KOM sık nüks ve gelişen antibiyotik direnci nedeni ile önemli sorunlara neden olmaktadır. KOM komplikasyonları sonucu gelişen menenjit ve beyin apsisi ile ilişkili birçok ölüm vakası bildirilmiştir (40).

Sitokinler orta kulak inflamasyonunun önemli moleküler düzenleyicisidir ve kronik evrede inflamasyonun akut fazını değiştirerek otitis medialara eşlik eden histopatolojik değişikliklere sebep olan moleküler/patolojik süreci uyarabilir (41). Bizde çalışmamızda kronik otit patogenezindeki sitokin rolünü araştırmak amacı ile; kronik enfeksiyon ve inflamasyon dengesinde rol aldığı birçok çalışmada ilgi odağı olan IL-18'i inceledik.

IL-18 makrofajlar tarafından üretilen bir sitokindir. IL-18 IFN-gamma üretimini artırır. T hücrelerinin yardımcı T lenfositlerine (T helper1:Th1) farklılaşmasını teşvik

ederler ve doğal öldürücü (Natural killer:NK) hücrelerinin ve CD8 lenfositlerinin sitotoksik etkisini güçlendirirler. IL-18, IFN-gammanın güçlü bir uyarıcısıdır ve konak savunmasında önemli bir etkiye sahiptir. Ayrıca hücre içinde yaşayan mikroorganizmalara karşı gelişen immün yanıtta da kritik bir role sahiptir. IL-18 hem doğal hem de kazanılmış immünitede monosit ve makrofajlardaki IL-1 β ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini arttırarak rol oynar, romatoid artrit gibi kronik inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır. IL-18 konak immün yanıtının oluşması ve düzenlenmesinde de önemli roller üstlenmektedir. Yapılan çalışmalarda da IL-18'in kronik enfeksiyöz hastalıklarda immün sistemin regülasyonunda etkili olduğu düşünülmektedir. Bu özellikleri nedeniyle IL-18 inflamasyonda ve inflamatuvar yanıtta çok önemli rol oynayan bir sitokin gibi görünmektedir (30).

IL-18 ekspresyonu kronik inflamasyonlarda, otoimmün hastalıklarda, çeşitli kanserlerde ve bir çok enfeksiyon hastalıklarında artış göstermektedir. IL-18 gen polimorfizmi ile ilgili son dönemde birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda IL-18 sitokin polimorfizmleri ile hastalıkların gelişmesi, şiddeti ve prognozu ile ilgili pek çok veri bildirilmiştir.

Yapılan literatür taramasında IL-18 geninin özellikle -137 G>C ve -607 C>A polimorfizmleri IL-18'in hem gen ekspresyonunu hem de serum düzeyini arttırdığı bu nedenle de IL-18 seviyesinin arttığı hastalıklarla ilişkili olabileceği gösterilmiştir. IL-18 gen polimorfizmlerinin çeşitli kronik enfeksiyonlara yatkınlığı arttırdığı tespit edilmesine rağmen bu gen polimorfizminin kronik otitis mediaya yatkınlığı arttırıp arttırmadığını gösteren bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır (42,43).

Yapılan çalışmalarda KOM patogeneğinde bakteriyel, viral enfeksiyonlara verilen yanıtta hem hücresel hem de humoral immün yanıtın etkin olduğu bildirilmiştir. Çok sayıda çalışma pro-inflamatuvar sitokinlerin rolünü teyit etmektedir (44,45). Proinflamatuvar sitokinlerin özellikle IL-1, interferon γ , TNF- α , TNF β , IL-6, IL-8 disregülasyonu birçok hastalıkla ilişkili olduğu bildirilmiştir (46), bu nedenle KOM patogeneğinde anti-inflamatuvar sitokinlerin önemini ortaya koymaktadır; ancak proinflamatuvar bir sitokin olan ve etkisini özellikle IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinlerin üretimini uyarak sağlayan IL-18 ile birlikteliğini araştıran çalışmalara rastlanılmadı.

Otitis medialis hastalarda sitokinler ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Sobol ve ark.(47) orta kulaktaki effüzyonlarda IL-10 seviyesinin arttığını bildirmişlerdir. Bazı çalışmalarda IL-10'un inflamasyona eşlik eden sitokin salınımını azaltan anti-inflamatuar ajan olarak bildirilmiştir (48,49). Zielen-Jurkiewicz ve ark.(50) yaptıkları çalışmada atopik ve atopik olmayan KOM'lu hastalarda kontrol grubu ile IL-1Ra seviyeleri arasında fark tespit etmemiş; ancak orta kulaktaki effüzyonlarda IL-10 seviyelerinin her iki grupta da yüksek bulmuşlardır.

IL-1Ra otitis media tedavisi amacıyla kullanılması potansiyeli olduğu bildirilmiş, fareler üzerinde yapılan bir çalışmada inflamasyonu azalttığı bildirilmiştir (51). Diğer çalışmalarda inflamatuvar durumlarda düzenleyici olarak rolünün olduğu tespit edilmiş ve klinik pratikte uygulanması potansiyeli olduğu vurgulanmıştır (52).

Proinflamatuvar sitokinler ile otitis media arasında yakın ilişki olduğunu ifade eden çalışmalar yayınlanmıştır. Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda orta kulağa uygulanan bakteriyel endotoksinlerin IL-1 β düzeylerinin orta kulakta arttırdığı izlenmiştir (53). Orta kulakta IL-1 β ve bakteriyel endotoksin düzeyleri arasında korelasyon olduğu gözlenmiştir (54).

Yapılan çalışmalarda kronik otitis media meydana gelen fibroblast proliferasyonu, osteoblastların gelişimi; osteofibrozis, kemik dejenerasyonu gibi patolojik değişiklikler ve timpanosklerotik değişikliklerin patogeneğinde bazı sitokinlerin etkili olduğu ifade edilmiştir (55). Bazı çalışmalarda IL-6 ve IL-8' in KOM patogeneğinde rol oynadığı iddia edilmiştir (56).

Mittal ve ark.(57) yayınladıkları derlemede doğuştan gelen bağışıklık ve bazı sitokin genlerinde polimorfizm ile otitis media gelişme riski arasında anlamlı ilişki tespit etmişlerdir.

Yetişer ve ark.(58) yaptıkları çalışmada tekrarlayan otitis medialis ve kronik otitis medialis hastalarda IL-1 β 'nın TNF- α 'dan daha yüksek konsantrasyonlarda olduğunu gözlemlemiştir. Forsen ve ark.(59) orta kulak mukozasında IL-6 düzeyi ile B lenfosit ve makrofajlar arasında pozitif korelasyon olduğunu belirtmişlerdir.

Sato ve ark.(60) ise IL-6 seviyesi ile inflamatuvar hücreler arasında korelasyon olduğunu bildirmiş, özellikle makrofaj ve lenfosit sayısı ile IL-1 β ve TNF- α konsantrasyonları arasında da ilişki bulunduğunu bildirmişlerdir. Himi ve ark.(61) seröz ve mukoid effüzyonlarda IL-10, IL-1 β , TNF- α seviyesinin yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Chen ve ark.(62) IL-1 β -31. pozisyonundaki gen polimorfizmi üzerine yaptığı çalışmada kronik rinosinüzit duyarlılığı arasında anlamlı ilişki tespit etmiştir. Watanabe ve ark.(63) IL-1 β -511 gen polimorfizmi ile sepsite kötüleşen sistemik inflamasyon arasında ilişki olduğunu bildirmiştir.

Nokso-Koivisto ve ark.(64) akut otitis medialı çocukların gen polimorfizmlerini incelemiş, üst solunum yolu hastalıkları sıklığı ve IL-1 β -31. gen polimorfizmi arasında ilişki tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada IL-1 β -511 gen polimorfizmi ile üst solunum yolu hastalığı sonrası akut otit gelişme riskinin azaldığını bildirmişlerdir. Ayrıca çalışmada IL-5, IL-8, IL-10 polimorfizmlerinin üst solunum yolu hastalıklarında koruyucu olduğunu ifade etmişlerdir. IL-2, IL-13, IL-18, TNF- α ve TGF β polimorfizmleri ile otitis media yatkinlığı arasında anlamlı ilişki tespit etmemişlerdir.

Joki-Erkkila ve ark.(65) yaptıkları çalışmada IL-1 α ile IL-1 β ve rekürren otitis media arasında ilişki tespit edememişler; ancak IL-1 β ile AOM sonrası inflamasyonun şiddeti arasında anlamlı fark bulmuşlardır. Yapılan başka bir çalışmada IL-1 β gen polimorfizmi ile akut otitin şiddeti arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (66).

Bizim çalışmamızda KOM hastalarında IL-18 geninin -137. ve -607. pozisyonundaki polimorfizmleri incelendiğinde kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı; ancak KOM ve kolestatomlu KOM hastalarında heterozigot ve homozigot polimorfizmleri ile allel frekansları incelendiğinde hastalık riskini azalttığı görüldü.

IL-18'in NK hücre aktivitesi ve Th1 hücre farklılaşmasında önemli bir rol oynaması, Th1, Th2 farklılaşmasının enfektif hastalıkların yanında sitokin dengesinin otoimmün ve allerjik hastalıklar dahil immün cevapların farklı sonuçlar ortaya koyması nedeni ile birçok hastalıkta araştırmacıların ilgi odağı olmuştur.

Astımlı hastalarda yapılan çalışmalarda, Imboden ve ark. (67) IL-18'in -137. polimorfizmi ile sık görülen allerjenlere karşı oluşan atopik astım ve cilt reaksiyonları arasında anlamlı ilişki bulmuşlar, Shin ve ark.(68) yaptıkları çalışmada astım gelişme riski ile anlamlı bir ilişki bulamamalarına rağmen IgE düzeylerinin bazı alerjenlere yanıtta anlamlı düzeyde yükseldiğini fark etmişler. Heinzmann ve ark.(69) -607 C/A ve -137 G/C polimorfizmleri ile bronşiyal astım arasında anlamlı ilişki bulamamışlar. Pawlik ve ark. (70) -607 C/A ve -137 G/C polimorfizmleri açısından arasında anlamlı fark tespit etmemişler, ancak astımın ciddiyetinin patogenezinde -137. G allelinin etkin olduğunu bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda kronik otitis medialis hastalarda IL-18 geninin -137. pozisyonunda GC genotipi hastalık riskini 1.03 oranında artırmıştır. CC genotipi ise hastalık riskini yaklaşık %9 oranında azaltmıştır. Kolestatomalı kronik otitis medialis hastalarda GC genotipi hastalık riskini 1.04 oranında artırmıştır. CC genotipi hastalık riskini %32.5 oranında azaltmıştır. Allel frekansı incelendiğinde kronik otitis medialis hastalarda C alleli hastalık riskini % 2.5 oranında azaltmıştır. Kolestatomalı kronik otitis medialis hastalarda C alleli hastalık riskini %11 oranında azalttığı belirlendi. Heterozigot polimorfik hastalarda hastalık riskinin arttığı, homozigot polimorfizmde hastalık riskinin azaldığı dikkat çekmektedir.

Diyabetes mellitus (DM) ile ilgili yapılan çalışmalarda, Tavares ve ark.(71) Tip 1 DM ile -137 G/C polimorfizmi arasında anlamlı ilişki bulmuşlar, Dong ve ark.(72) Tip 1 DM ile -607 C/A polimorfizmi arasında anlamlı ilişki tespit etmişler, -137 G/C polimorfizmini ise ilişkisiz bulmuşlardır. Ide ve ark.(73) Tip 1 DM ile -607 C/A polimorfizmi arasında anlamlı ilişki tespit etmişler. Kretowski ve ark. (74) ise Tip 1 DM ile -137 G/C polimorfizmi arasında ilişki bulmuşlar, -607 C/A polimorfizmini ise ilişkisiz bulmuşlardır.

İnflamatuvar barsak hastalıklarında yapılan çalışmalarda Tamura ve ark.(75) yaptıkları çalışmada crohn hastalığı ve sağlıklı grup arasında anlamlı fark bulmuşlar, Glas ve ark.(76) -607, -137 ve +105 genotip ve haplotiplerde anlamlı bir fark bulamamışlar, Aizawa ve ark. (77) ise -607 C/A , -137 G/C ve -656 G/T polimorfizmleri ile ilişki bulmadıklarını, ancak +113 T/G ve +127 C/T polimorfizmleri arasında anlamlı ilişki bulduklarını bildirmişlerdir.

Kronik inflamasyon ile seyreden otoimmün bir hastalık olan romatoid artrit ile ilgili Chen ve ark.(43), Pan ve ark.(78) yayınladıkları meta-analizde Kafkas ve Asya popülasyonlarında IL-18 geninin -137 G/C ve -607 C/A polimorfizmleri arasında anlamlı ilişki bulunmadığını ifade etmişlerdir. Ancak Chen ve ark. Çinli popülasyonda -607 C/A polimorfizminde A alleleline sahip bireylerde romatoid artrit riskinde önemli bir azalma olduğunu ifade etmişlerdir. Cai ve ark.(79) da yayınladıkları meta-analizde -607 C/A polimorfizminde A alleleline sahip bireylerde ya da AA/AC genotipine sahip bireylerde romatoid artrit gelişme riskinin azaldığını; ancak -137 G/C polimorfizminin tüm alt gruplarında ilişki olmadığını ifade etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda kronik otitis medialis hastalarda IL-18 geninin -607. pozisyonunda CA genotipi hastalık riskini 1.13 oranında artırmıştır. AA genotipi ise hastalık riskini yaklaşık %17 oranında azaltmıştır. Kolestatomalı kronik otitis medialis hastalarda CA genotipi hastalık riskini %2 oranında azaltmıştır. AA genotipi hastalık riskini %31 oranında azaltmıştır. Kronik otitis medialis hastalarda IL-18 geninin -607. pozisyonunda allel frekansı A alleli hastalık riskini % 8.5 oranında azaltmıştır. Kolestatomalı kronik otitis medialis hastalarda A alleli hastalık riskini %20.5 oranında azalttığı belirlendi.

Çalışmamızda IL-18 geninin -137. ve -607. pozisyonlarındaki polimorfizmlerin özellikle allel frekansları incelendiğinde KOM'lu hastalarda özellikle kolestatomlu hastalarda hastalık riskini azalttığı belirlendi. Bu durum kolestatomlu hastalarda enfeksiyonun ve enflamasyonun daha ciddi seyretmesi nedeni ile olabileceği düşünüldü. Bu polimorfizmlerin kronik otitis media hastalığına karşı koruyucu olabileceğini akla getirmektedir.

Sonuç olarak IL-18 geninin (-137 G/C ve -607 C/A) polimorfizmi ile kronik otitis medialis hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Ancak hastalık riskini azalttığı belirlendi. Kronik otitis media sebep olduğu morbidite ve mortalite nedeni ile araştırmacıların ilgi odağı olmuştur. İmmunopatogenezinin anlaşılması, tanı ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yeni yollar açacaktır. Bu amaç ile literatüre katkı sunmayı amaçladık, sitokinler ve kronik otitis media ilişkisini araştıran daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6.KAYNAKLAR

1. Goycoolea MV., Hueb MM., Ruah C.:Otitis media: The pathogenesis approach. Definitions and terminology, Otolaryngol Clin North Am; 24(4):757-761, 1991.
2. Meyerhoff WL., Kim CS., Paparella MM: Pathology of chronic otitis media, Ann Otol Rhinol Laryngol.; 87(6):746-749, 1978.
3. Akyıldız N. Kulak hastalıkları ve mikrocerrahisi (1. baskı). Bilimsel Tıp Yayınevi; 22-75,337-521. Ankara,1998.
4. Cummings BJ., Fredrickson JM., Harker LA., Krause CJ., Richardson MA. et al. Anatomy and Physiology of the Eustachian Tube. 3rd ed. Vol. 4. St. Louis,1998.
5. Bernstein JM., Doyle WJ.: Role of IgE- mediated hypersensitivity in otitis media with effusion: pathophysiologic considerations. Ann Otol Rhinol Laryngol; 103:15-9,1994.
6. Mion O., De Mello JF., Lessa MM., Goto EY., Miniti A.:The role of rhinitis in chronic otitis media. Otolaryngology Head and Neck Surgery;128(1), 27-31, 2003.
7. Bluestone CD., Klein OJ.: Otitis Media in Infants and Children. Third Edition. W.B Saunders Company: 326-327. Philadelphia, 2001.
8. Özgirgin ON, Çelik O. Otoskleroz. Çelik O (editör). Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. Birinci Basım: Asya Tıp Kitapevi. 220-250. İzmir,2007.
9. Gopen Q. Middle ear and mastoid. Gopen Q (editor). Fundamental Otology Pediatric& Adult Practice. First Edition: Jaypee Brothers Medical Publishers. 85-91. New Delhi,2013.
10. Nadol Joseph B., McKenna Michael J., Galla Robert J: Surgery of the Ear and Temporal Bone, 2nd Edition, Lippincott Williams & Wilkins, pp200, 2004.
11. Çakır N. Kronik Otitis Media. Otolaringoloji, Baş ve Boyun Cerrahisi. 2. baskı: Nobel Tıp Kitapevleri; 68–85. İstanbul,1999.
12. Özbilen S. Kronik Süpüratif Otitis Media. Çelik O, editör. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi: Turgut yayıncılık; 160–93. İstanbul,2002
13. Onur Ç. Kulak burun boğaz hastalıkları ve baş boyun cerrahisi; Turgut Yayıncılık. İstanbul,2002.

14. Nevoux J., Lenoir M., Roger G., Denoyelle F., Ducou LPH, Garabédian EN: Childhood cholesteatoma. Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis; 127: 143-150, 2010.
15. Benson J, Mwanri L.: Chronic suppurative otitis media and cholesteatoma in Australia's refugee population. Aust Fam Physician; 41: 978-980,2012.
16. Maroun TS., Cliff AM.: The pathophysiology of cholesteatoma. Otolaryngol Clin N Am; 39: 1143–1159, 2006.
17. Sculerati N., Bluestone CD.: Pathogenesis of cholesteatoma. Otolaryngol Clin North Am;22:859-68,1989.
18. Pfaltz CR, Retraction pocket and development of cholesteatoma in children. Adv Otorhinolaryngol;40:118-23,1988.
19. Johnson AP, The mechanism of migration in external ear canal. Cholesteatoma and mastoid surgery. Kugler and Ghedin Pub;271-73,1988.
20. Chole RA, Choo MJ. Chronic otitis media, mastoiditis, and petrositis. In: Cummings CW, Frederickson JM, Harker LA, Krause AJ, Richardson MA, Schuller DA, ed. 3 Otolaryngology Head Neck Surgery. 3026-46 St Louis, 1998.
21. Michaels L. Biology of cholesteatoma. Otolaryngol Clin North Am;22:869-81,1989.
22. Friedberg J. Congenital cholesteatoma. Laryngoscope;104:1-24,1994.
23. Jackler RK.: The surgical anatomy of cholesteatoma. Otolaryngol Clin North Am;22:883-96,1989.
24. Çömez Yİ. Prostat Adeno Kanserli Hastalarda Tümör Ve Nekrozis Faktör Alfa C-4 Polimorfizmi Sıklığı. Uzmanlık tezi, İstanbul Üroloji ABD, 2005.
25. Kılıçturgay K. İmmünolojiye Giriş. In: Kılıçturgay K (Eds). İmmünoloji. 2.Basım: Güneş Kitabevi:1-150. Bursa,1991.
26. Deniz G. Sitokin salgılanması ve sitokin reseptörlerinin ekspresyonu. In: Camcıoğlu Y, Deniz G (Eds). Temel İmmunoloji. 1. Baskı: İstanbul Medikal Yayıncılık. 93-94, İstanbul, 2007.
27. Secombes JC, Kaiser P. The phylogeny of cytokines. In: Thomson WA, Lotze TM (Eds). The Cytokine handbook. 4th Ed: Academic Press:57-85.North Yorkshire, 2003.

28. Abul K. Abbas and Andrew H. Lichtman Cellular and Molecular Immunology. 5th ed. Saunders, 243-275,2003.
29. Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines. In: Parslow TG, Stites DP, Terr AI (Eds). Medical Immunology. 10th Ed. International Edition: Mc Graw-Hill Companies: 148-166,2001.
30. Okamura H., Tsutsi H., Komatsu T., Yutsudo M., Hakura A., Tanimoto T.: Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells. Nature; 378:88-91,1995.
31. Hamzaoui K., Hamzaoui A., Guemira F., Bessioul M., Hamza M., Ayed K.: Cytokine profile in Behçet's disease patients. Scand J Rheumatol; 31:205-210,2002.
32. Keskin F., Behçet Hastalığının patogeneğinde interlökin 18 gen polimorfizminin önemi. Uzmanlık tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi, 2007.
33. Giedraitis V., He B., Huang WX, Hillert J.: Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. J Neuroimmunol;112(1-2):146-52, 2001.
34. Karakaş Çelik S., Börekçi G., Kandemir Ö., Yalın S., Berköz M., Bekalp İ., Aras N., IL18 -137 G/C ve -607 C/A Gen Polimorfizimleri ile Kr. Hep. B arasındaki ilişki, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi,7(1), 2014.
35. Poncz M., Solowiejczyk D., Harpel B., Mory Y., Schwartz E., Surrey S.: Construction of human gene libraries from small amounts of peripheral blood: Analysis of beta-like globin genes. Hemoglobin;6:27,1982.
36. Karakaş-Çelik S., Börekçi G., Kandemir Ö., Yalın S., Berköz M., Bekalp İ., Kubilay A, Aras N.: Kronik Hepatit C Hastalarında IL18 Promotor Bölge Polimorfizmi. Gazi Medical Journal; 25 (4): 125-127,2014.
37. Özbay İ., Alp A., Karaçelik C., Açıkalın RM., Balıkçı HH., Karaaslan O. Kronik efüzyonlu otit mediası olan çocuklarda nazal alerjinin semptomatoloji ve deri prick testi ile değerlendirilmesi; Dicle Tıp Dergisi: 40(1),2013.
38. Greenberg, D., Bilenko, N., Liss, Z., Shagan, T., Zamir, O., Dagan, R. The burden of acute otitis media on the patient and the family; Eur. J. Pediatr. 162;576-581, 2003.

39. Dube E., De Wals P., Gilca, V., Boulianne N., Ouakki M., Lavoie F., Bradel R., Burden of acute otitis media on Canadian families. *Can. Fam. Physician* 57, 60-65,2011.
40. Yorgancılar E., Yildirim M., Gun R., Bakir S., Tekin R., Gocmez C., Meric F., Topcu I.: Complications of chronic suppurative otitis media: a retrospective review. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 270, 69-76, 2013.
41. Smirnova Marina G., John P. Birchall and Jeffrey P. Pearson. The immunoregulatory and allergy-associated cytokines in the aetiology of the otitis media with effusion; *Mediators of inflammation* 13.2: 75-88,2004
42. Bouzgarrou N, Hassen E, Schvoerer E, Stoll-Keller F, Bahri O, Gabbouj S, Cheikh I, Maamouri N, Mammi N, Saffar H, Trabelsi A, Triki H, Chouchane L. Association of interleukin-18 polymorphisms and plasma level with the outcome of chronic HCV infection. *J Med Virol*;80:607-14,2008.
43. Chen S., Jiang F., Ren J., Liu J., Meng W.: Association of IL-18 polymorphisms with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus in Asian populations: a meta-analysis. *BMC Med Genet* 13:107,2012.
44. Skotnicka B., Hassmann E.: Cytokines in children with otitis media with effusion. *Eur Arch Otorhinolaryngol.*;257(6):323-6, 2000.
45. Skotnicka B., Hassmann E.: Proinflammatory and immunoregulatory cytokines in the middle ear effusions. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.*;72(1):13-7,2008.
46. Matkovic S., Vojvodic D., Baljosevic I.: Cytokine levels in groups of patients with different duration of chronic secretory otitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* ;264(11):1283-7,2007.
47. Sobol SE., Taha R., Schloss MD., Mazer BD., Manoukian JJ., Tewfik TL, et al. T(H)2 cytokine expression in atopic children with otitis media with effusion. *J Allergy Clin Immunol*;110(1):125-30, 2002.
48. Mosser DM., Zhang X.: Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunol Rev.*;226(1):205-18, 2008.
49. Ouyang W., Rutz S., Crellin NK., Valdez PA, Hymowitz SG.: Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annu Rev Immunol*;29:71-109, 2011.

50. Zielnik-Jurkiewicz B., Stankiewicz-Szymczak W.: Evaluation of the Interleukin-1 Receptor Antagonist and Immunoregulatory Interleukin-10 in the Middle Ear in Chronic Otitis Media With Effusion in Children With and Without Atopy. *Clinical and experimental otorhinolaryngology*; 9(2), 104,2016.
51. Arend WP. Interleukin 1 receptor antagonist: a new member of the interleukin 1 family. *J Clin Invest*; 88(5):1445-51,1991.
52. Stol K, Diavatopoulos DA, Graamans K, Engel JA, Melchers WJ, Savelkoul HF, et al: Inflammation in the middle ear of children with recurrent or chronic otitis media is associated with bacterial load. *Pediatr Infect Dis J*.31(11):1128-34, 2012.
53. Park MK., Lee BD.: Development of animal models of otitis media. *Korean J Audiol* 17:9–12,2013.
54. Willett DN, Rezaee RP, Billy JM, Tighe MB, DeMaria TF: Relationship of endotoxin to tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta in children with otitis media with effusion. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 107:28–33,1998.
55. Barzilaia A, Dekel B, Dagan R, Leibovitz E: Middle ear effusion IL-6 concentration in bacterial and non-bacterial acute otitis media. *Acta Paediatr* 89:1068–1071,2000.
56. Zielnik-Jurkiewicz B, Stankiewicz-Szymczak W: Pro-inflammatory interleukins in middle ear effusions from atopic and non-atopic children with chronic otitis media with effusion. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*; 273(6), 1369-1378,2016.
57. Mittal R., Robalino G., Gerring R., Chan B., Yan D., Grati MH., Liu XZ: Immunity genes and susceptibility to otitis media: a comprehensive review. *Journal of Genetics and Genomics*; 41(11), 567-581,2014.
58. Yetiser S, Satar B, Gumusgun A, Unal F, Ozkaptan Y: Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta levels in recurrent and persistent otitis media with effusion. *Otolaryngol Head Neck Surg* 126:417–422,2002.
59. Forseni M., Bagger-Sjoberg D., Hultcrantz MA.: study of inflammatory mediators in the human tympanosclerotic middle ear. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*; 127:559–564,2001.

60. Sato K., Liebler CL., Quartey MK., Le CT., Giebink GS: Middle ear fluid cytokine and inflammatory cell kinetics in the chinchilla otitis media model: *Infect Immun* 67:1943–1946,1999.
61. Himi T., Suzuki T., Kodama H., Takezawa H., Kataura A: Immunologic characteristics of cytokines in otitis media with effusion. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl*;157:21–25, 1992.
62. Chen N, Ni P, Cai C, Wang S: Association of IL-1beta gene -31T/C polymorphism with chronic rhinosinusitis. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* 25: 197–200, 2011.
63. Watanabe E, Hirasawa H, Oda S, Shiga H, Matsuda K, et al: Cytokine-related genotypic differences in peak interleukin-6 blood levels of patients with SIRS and septic complications, *J Trauma* 59: 1181–90,2005.
64. Nokso-Koivisto J., Chonmaitree T., Jennings K., Matalon R., Block S., Patel JA: Polymorphisms of immunity genes and susceptibility to otitis media in children, *PloS one*; 9(4), e93930,2014.
65. Joki-Erkila, VP., Puhakka H., Hurme M: Cytokine gene poly-morphism in recurrent acute otitis media, *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*;128, 17e20, 2002.
66. McCormick DP., Grady JJ., Diego A., Matalon R., Revai K, et al: Acute otitis media severity: Association with cytokine gene polymorphisms and other risk factors. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 75: 708–712,2011.
67. Imboden M., Nicod L. Nieters A., Glaeser E., Matyas G., Bircher AJ., Ackermann-Lieblich U., Berger W., Probst-Hensch NM; SAPALDIA Team. The common G-allele of interleukin-18 single-nucleotide polymorphism is a genetic risk factor for atopic asthma, The SAPALDIA Cohort Study. *Clin Exp Allergy*.;36(2):211-8, 2006.
68. Shin HD, Kim LH, Park BL, Choi YH, Park HS, Hong SJ et al: Association of interleukin 18 (IL18) polymorphisms with specific IgE levels to mite allergens among asthmatic patients. *Allergy*; 60: 900–906,2005.
69. Heinzmann A, Gerhold K, Ganter K, Kurz T, Schuchmann L, Keitzer R, Berner R, Deichmann KA: Association study of polymorphisms within interleukin-18 in juvenile idiopathic arthritis and bronchial asthma. *Allergy*;59(8):845-9,2004.

70. Pawlik A, Kaminski M, Kusnierczyk P, Kurzawski M, Dziedziejko V, Adamska M, Safranow K, Gawronska-Szklarz B: Interleukin-18 promoter polymorphism in patients with atopic asthma. *Tissue Antigens*;70(4):314-8,2007.
71. Tavares NA., Santos MM., Moura R., Araujo J., Guimaraes R., Crovella S., Brandao L. Interleukin 18 (IL18) gene promoter polymorphisms are associated with type 1 diabetes mellitus in Brazilian patients. *Cytokine* 2013 62(2): 286-289, 2013.
72. Dong GP., Yu ZS., Liang L., Zou CC., Fu JF., Wang CL.: IL-18 gene promoter -137C/G and -607C/A polymorphisms in Chinese Han children with type 1 diabetes mellitus, *Int J Immunogenet*; 34(2):75-9,2007.
73. Ide A., Kawasaki E., Abiru N., Sun F., Kobayashi M., Fukushima T. et al: Association between IL-18 gene promoter polymorphisms and CTLA-4 gene 49A/G polymorphism in Japanese patients with type 1 diabetes. *J Autoimmun*; 22: 73–78,2004.
74. Kretowski A., Mironczuk K., Karpinska A., Bojaryn U., Kinalski M., Puchalski Z. et al.: Interleukin-18 promoter polymorphisms in type 1 diabetes, *Diabetes*;51:3347–3349,2002.
75. Tamura K., Fukuda Y., Sashio H., Takeda N., Bamba H., Kosaka T et al: IL18 polymorphism is associated with an increased risk of Crohn's disease. *J Gastroenterol*; 37 (Suppl 14): 111–116, 2002.
76. Glas J., Torok HP., Tonenchi L., Kapser J., Schiemann U., Muller-Myhsok B. et al. Association of polymorphisms in the interleukin-18 gene in patients with Crohn's disease depending on the CARD15/NOD2 genotype. *Inflamm Bowel Dis*; 11:1031–1037,2005.
77. Aizawa Y., Sutoh S., Matsuoka M., Negishi M., Torii A., Miyakawa Y., Sugisaka H., Nakamura M., Toda G.: Association of interleukin-18 gene single-nucleotide polymorphisms with susceptibility to inflammatory bowel disease. *Tissue Antigens*;65(1):88-92,2005.
78. Pan HF., Leng RX., Ye DQ.:Lack of association of interleukin-18 gene promoter -607 A/C polymorphism with susceptibility to autoimmune diseases: a meta-analysis. *Lupus* 20:945–951,2011

79. Cai LP., Zhou LJ., Lu SY., Liang YE., Chen XY., Liu L., Lin J.: Association of IL-18 promoter gene polymorphisms with rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Molecular biology reports*, 41(12), 8211-8217,2014.



ÖZGEÇMİŞ

KİMLİK BİLGİLERİ

Adı-Soyadı: Abdulaziz YALINKILIÇ

Unvan: Araş. Gör. Dr

Doğum Yeri: Diyarbakır

Doğum Tarihi: 23/07/1987

E-Mail: y_aziz21@hotmail.com

EĞİTİM DURUMU

İlkokul: Vehbi Koç İlkokulu

Ortaokul: Şehit Albay Güner Ekici İlköğretim Okulu

Lise: Nevzat Ayaz Anadolu Lisesi

Üniversite: Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi (2005-2011)

Uzmanlık Eğitimi: Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi KBB AD (2012-)

YÜRÜTTÜĞÜ GÖREVLER:

Pratisyen Hekim(2011-2012): Bingöl Genç Devlet Hastanesi Acil

Araş. Gör. Dr.(2012-Devam): Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi KBB AD

Yabancı Dili: İngilizce