

**T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI**

**KRONİK ZAR PERFORASYONU VE ÖSTAKİ TÜPÜ
BLOKAJININ TİMPANOSKLEROZ OLUŞUMUNA ETKİSİ
VE OLUŞAN HÜCRESEL DEĞİŞİKLİKLERİN ANALİZİ**

Zülküf KÜÇÜKTAĞ
J. Tbp. Yzb.

UZMANLIK TEZİ

ANKARA
2010

**T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI**

**KRONİK ZAR PERFORASYONU VE ÖSTAKİ TÜPÜ
BLOKAJININ TİMPANOSKLEROZ OLUŞUMUNA ETKİSİ
VE OLUŞAN HÜCRESEL DEĞİŞİKLİKLERİN ANALİZİ**

Zülküf KÜÇÜKTAĞ
J. Tbp. Yzb.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi'nin
Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Uzmanlık Eğitimi İçin Öngördüğü

TIPTA UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI
Bölent SATAR
Doç. Dz. Tbp. Alb.

ANKARA
2010

GATA Askeri Tıp Fakóltesi Dekanlığı'na:

“Kronik Zar Perforasyonu ve Östaki Tüpü Blokajının Timpanoskleroz Oluşumuna Etkisi ve Oluşan Hücresel Değişikliklerin Analizi” konulu bu çalışma jürimiz tarafından Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'nda Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Doç. Dz. Tbp. Alb. Bülent SATAR..... ()

Başkan: Prof. Hv. Tbp. Kd. Alb. Mustafa GEREK.....()

Üye: Prof. Tbp. Kd. Alb. Atila GÜNGÖR.....()

Üye: Prof. Hv. Tbp. Alb. Fuat TOSUN.....()

Üye: Doç. Tbp. Yb. M.Timur AKÇAM.....()

Üye: (Yd.) Prof. Tbp. Kd. Alb. Selçuk IŞIK.....()

Üye: (Yd.) Doç. Hv. Tbp. Bnb. Serdar KARAHATAY..... ()

ONAY:

J. Tbp. Yzb. Zülküf KÜÇÜKTAĞ (2002-2)'ın 02/04/2010 tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

M.Zeki BAYRAKTAR
Prof. Tbp. Tümg.
GATA K. Bil. Yrdc.
Askeri Tıp Fakóltesi Dekanı ve
Eğitim Hastanesi Baştabibi

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması Gülhane Askeri Tıp Akademisi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 07.06.2006 tarih ve 0530-33-06/1574-114 sayılı emri ile verilmiş ve çalışmaya başlanmıştır.

Uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği olan Anabilim Dalı Başkanım ve saygıdeğer hocam Prof.Dr. Mustafa GEREK'e, çalışmamda bana her türlü yardım ve desteği sağlayan danışman hocam Doç.Dr. Bülent SATAR'a ve bu çalışmayı bana tez konusu olarak veren Prof.Dr. Sertaç YETİŞER'e teşekkürü borç bilirim.

Kulak Burun Boğaz hekimi olarak yetişmemde büyük katkıları olan, bilgi ve deneyimlerini bana aktaran kliniğimizin saygıdeğer öğretim üyeleri Prof.Dr. Fuat TOSUN, Doç.Dr. M.Timur AKÇAM, Doç.Dr. Serdar KARAHATAY ve Yrd.Doç.Dr. A.Hakan BİRKENT'e, uzmanlık eğitimimde sürekli bana yol gösteren, her zaman değerli yardımlarını gördüğüm, engin bilgilerinden istifade ettiğim Yrd.Doç.Dr. Abdullah DURMAZ ve Yrd.Doç.Dr. Yusuf HİDİR'a, daima desteklerini yanımda hissettiğim doktor arkadaşlarıma, kliniğimizde çalışan hemşire, odyolog ve diğer personele, tezimin ana konusu olan histopatolojik incelemeleri yapan ve bana değerli zamanını ayıran Patoloji Anabilim Dalı'nda görevli Prof.Dr. Ömer GÜNHAN'a, kesitlerimin takip ve boyamalarını yapan patoloji laboratuvarında görevli Şenol AYDINLI, Özgür YALDIRAN ve Büşra ARSLAN'a, çalışmamda yardımlarını gördüğüm GATA Araştırma ve Geliştirme Merkez Başkanlığı'nda görevli Uzm.Vet.Hek. Tayfun İDE, Vet.Hek. Y.Sinan ŞİRİN, Vet.Hek. A.Sarper BOZKURT ve Vet.Hek. Erdoğan AKAR'a, tezimin istatistiksel analizlerinin yapılmasındaki katkılarından dolayı Halk Sağlığı Anabilim Dalı'nda görevli Doç.Dr. Cengizhan AÇIKEL ve Dr. Serdar ULUS'a, bu tez çalışmasını AR-2006/62 numaralı proje ile destekleyen Gülhane Askeri Tıp Akademisi Araştırma Bilimsel Kurulu'na teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde büyük emek sahibi olan sevgili aileme ve ihtisasım süresince hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan sevgili eşim Emine KÜÇÜKTAĞ'a teşekkür ederim.

ÖZET

“Kronik Zar Perforasyonu ve Östaki Tüpü Blokajının Timpanoskleroz Oluşumuna Etkisi ve Oluşan Hücresel Değişikliklerin Analizi”

Timpanoskleroz, kulak zarı ve orta kulağın hyalen dejenerasyonu ve kalsifikasyonu ile karakterize bir hastalıktır. Morfolojik özellikleri oldukça iyi bilinmesine rağmen, etiyopatogenezi tam olarak bilinmemektedir. Etiyolojisinde; orta kulak enfeksiyonları, ventilasyon tüpü insersiyonu, immünolojik ve alerjik faktörler, genetik yatkınlık ve oksidatif stres gibi pek çok faktörün rol oynadığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada, ventilasyon tüpü insersiyonu ve östaki tüpü blokajı sonucunda kulak zarı ve orta kulakta meydana gelen hücresel ve enflamatuvar değişikliklerin timpanoskleroz oluşumuna olan etkisi araştırılmıştır. Ayrıca Osteopontin (OPN), İnducible Nitrik Oksit Sentetaz (İNOS) ve Calcium Sensing Receptör (CaSR) gibi protein yapıdaki moleküllerin, timpanoskleroz oluşumunda görev alıp almadıkları araştırılarak timpanoskleroz etyolojisine açıklık getirilmeye çalışılmıştır.

Çalışma için kulak zarları intakt ve sağlıklı, türü Sprague Dawley olan 75 adet ratın sağ kulakları kullanıldı. Sol kulaklar ise kontrol grubu olarak alındı. Ratlar yapılan işleme göre; ventilasyon tüpü insersiyonu, östaki blokajı ve östaki blokajı+ventilasyon tüpü insersiyonu olarak 3 gruba ayrıldı. Gruplarda 25’şer adet rat olup, her grup da kendi içinde ratların sakrifiye edildikleri zamanlara göre 3. gün, 10. gün, 1, 3 ve 6. ay olacak şekilde 5 zaman dilimine ayrıldı. Her zaman diliminde ise 5 adet rat olacak şekilde gruplandırma yapıldı. Ventilasyon tüpü insersiyonu için, 20 gauge plastik anjioket ucundan hazırlanan 2,5 mm’lik tüp ve östaki blokajı için Bone-wax kullanıldı. Belirlenen zamanlarda ratların sağ ve sol kulak zarı ile orta kulak bullası materyalleri alınarak, ışık mikroskobu altında histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeleri yapıldı. Değerlendirilen parametreler; timpanoskleroz oranı, İNOS, OPN ve CaSR boyanma oranları, kulak zarı ve orta kulakta oluşan enflamasyonun oranı, tipi ve şiddeti, orta kulak boşluğunun doluluk oranı, kulak zarında fibrozis ve ödem oranı, orta kulakta oluşan epitelyal değişiklikler idi. Bu parametreler açısından işlem yapılan gruplar, kendi aralarında ve kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Ayrıca timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklar, bu parametreler açısından kıyaslanarak timpanoskleroz oluşumuna etkisi olan parametreler belirlendi.

Çalışmamızın sonucunda, işlem yapılan gruplar ile kontrol grubundaki hiçbir kulakta CaSR boyanması saptanmadı. Bu bulguyu, CaSR’nin timpanoskleroz oluşumunda rolünün olmadığı şeklinde yorumladık. Diğer tüm parametreler açısından oluşan değişiklikler, en fazla östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grupta saptandı. Sadece, kulak zarında fibrozis ve ödem görülme oranı ile kulak zarında enflamasyon görülme oranı açısından, ventilasyon tüpü insersiyonu yapılan grup ile östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı. Diğer parametreler açısından, işlem yapılan gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu. Tüm parametreler, işlem yapılan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazla olup, sadece İNOS boyanması açısından ventilasyon tüpü insersiyonu yapılan gruptaki artış, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulakların karşılaştırılmasında İNOS boyanması, timpanoskleroz olan kulaklarda olmayanlara göre daha düşük saptandı. Ancak aradaki bu fark, istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kulak zarındaki enflamasyonun şiddeti açısından da iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. OPN boyanması, kulak zarında fibrozis ve ödem varlığı, kulak zarı ve orta kulakta enflamasyon varlığı ve tipi, orta kulaktaki enflamasyonun şiddeti, orta kulağın doluluk oranı ve orta kulakta oluşan epitelyal değişiklikler timpanoskleroz olan kulaklarda olmayanlara göre anlamlı derecede artmış olarak saptandı. Sonuç olarak, iki grup arasında istatistiksel olarak artmış olarak saptanan bu parametrelerin timpanoskleroz oluşumu üzerine önemli bir etkisinin olduğunu saptadık.

Anahtar Kelimeler : Timpanoskleroz, Ventilasyon Tüpü İnsersiyonu, Östaki Tüpü Blokajı
Yazar Adı : J. Tbp. Yzb. Zülküf KÜÇÜKTAĞ
Danışman : Doç. Dz. Tbp. Alb. Bülent SATAR

SUMMARY

Effects of "Chronic Perforation of the Tympanic Membrane" and "Eustachian Tube Blockage" on Formation of Tympanosclerosis, and Analysis of Cellular Changes

Tympanosclerosis is a disease, characterized by the hyaline degeneration and calcification of the middle ear. Even though its morphologic characteristics are well known, etiopathogenesis is not completely understood. Factors such as, middle ear infections, ventilation tube insertion, immunologic and allergic changes, genetic preponderance and oxidative stress are considered in etiology. In this study, effects of inflammatory and cellular changes caused by chronic tympanic membrane perforation (imitated by ventilation tube insertion) and Eustachian tube blockage on tympanosclerosis formation, have been studied. At the same time, by studying the effects of certain proteins such as; osteopontine (OPN), inducible nitric oxide synthetase (iNOS) and calcium sensing receptor (CaSR) on tympanosclerosis formation, we tried to unveil the etiology of this condition.

Right ears of seventy-five healthy Sprague Dawley rats with intact tympanic membranes were used for this study. Left ears were taken as a control group. Rats were divided into 3 groups according to the intervention, such as; eustachian tube blockage, eustachian tube blockage + ventilation tube insertion and ventilation tube insertion groups. Each group comprised 25 rats, divided into 5 subgroups according to the sacrificing time of rats i.e. 3rd day, 10th day, 1st, 3rd, and 6th months. For ventilation tube insertion, 2.5mm tubes were used. The tubes were custom-made and prepared from 20 G intravenous catheters. Bone-wax was used for eustachian tube blockage. At the end of predetermined period for each group, right and left tympanic membrane and middle ear bullae materials were sampled; immunohistochemical and histopathologic studies were performed under light microscope. The parameters investigated were; tympanosclerosis formation incidence, iNOS, OPN and CaSR staining rates, type and severity of the inflammation of the middle ear, fullness of the middle ear, degree of tympanic membrane fibrosis and epithelial changes of the middle ear. The groups were compared between themselves and with the control group in terms of aforementioned parameters. In addition, by comparing the ears with and without tympanosclerosis according to mentioned parameters, we tried to determine contributing parameters to tympanosclerosis formation.

CaSR staining was not detected in any of the intervention or control groups in our study; therefore we concluded that there is no role of CaSR in tympanosclerosis formation. The greatest changes were observed in "eustachian tube blockage+ventilation tube insertion" group in terms of all other parameters. Statistically significant differences between "ventilation tube insertion" and "ventilation tube insertion+eustachian tube blockage" groups were fibrosis and edema of the tympanic membrane, and inflammation of the tympanic membrane. There were no statistically significant difference among the groups in terms of the other parameters. All parameters were significantly rated in three intervention groups relative to control group, except iNOS staining, which was not found to be statistically significant between "ventilation tube insertion" group and "control group". The comparison between the tympanosclerotic and non-tympanosclerotic samples revealed that; iNOS staining was less in tympanosclerotic group. But the difference was not statistically significant. There was not a statistically significant difference between two groups with regard to severity of inflammation of the tympanic membrane. OPN staining, fibrosis and edema of the tympanic membrane, the type and the presence of inflammation in the middle ear and the tympanic membrane, the severity of inflammation in the middle ear, the amount of fullness of the middle ear and the epithelial changes at the middle ear were found to be significantly increased in tympanosclerotic ears, when compared with others. Therefore, we concluded that; those parameters, which were significantly increased in tympanosclerotic group relative to non-tympanosclerotic group, had an effect in the formation of tympanosclerosis.

Keywords : Tympanosclerosis, Eustachian tube blockage, Ventilation tube insertion
Author : Zülküf KÜÇÜKTAĞ, MD
Counsellor : Bülent SATAR, Associate Professor

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İÇ KAPAK SAYFASI.....	ii
ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
İNGİLİZCE ÖZET	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ	xii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İnsan Kulak Anatomisi.....	3
2.2. Rat Kulak Anatomisi	7
2.3. Kulak Histolojisi	10
2.4. Östaki Tüpünün Anatomisi ve Histolojisi	11
2.5. Otitis media.....	12
2.5.1. Akut Otitis Media.....	13
2.5.2. Kronik Otitis Media.....	14
2.5.3. Effüzyonlu Otitis Media.....	16
2.6. Timpanoskleroz.....	20
2.6.1. Tanım ve Tarihçe.....	20
2.6.2. Timpanosklerozun Histopatolojisi.....	21
2.6.3. Timpanosklerozun Histopatolojik Tipleri.....	25
2.6.4. Timpanosklerozun Klinik Tipleri ve Özellikleri.....	26
2.6.5. Timpanosklerozun Etiyopatogenezi.....	30
2.6.7. Timpanosklerozun Tedavisi.....	37
MATERYAL VE METOD.....	41
3.1. Cerrahi İşlemler.....	42
3.2. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İnceleme.....	50
3.3. Kesitlerin Değerlendirilmesi.....	51

3.4. İstatistiksel Analiz.....	54
BULGULAR.....	55
4.1. Kulak Zarı ve Orta Kulakta Skleroz Varlığı (Tİmpanoskleroz).....	55
4.2. İNOS, OPN ve CaSR Antikorları ile Boyanma.....	59
4.3. Kulak Zarında Fibrozis ve Ödem Varlığı.....	64
4.4. Kulak Zarı ve Orta Kulakta Enflamasyon Varlığı, Derecesi ve Tipi.....	65
4.5. Orta Kulak Boşluğunun Durumu.....	79
4.6. Orta Kulak Bullasındaki Epitel Tipi Değişiklikleri.....	80
TARTIŞMA.....	83
SONUÇ VE ÖNERİLER	99
KAYNAKLAR.....	102

SİMGELER VE KISALTMALAR

CaSR	: Calcium Sensing Receptor
cm.....	: Santimetre
dB	: Desibel
HE	: Hematoksilen Eozin
Hz	: Hertz
İNOS	: İnducible Nitrik Oksit Sentetaz
mm.....	: Milimetre
OPN	: Osteopontin
pCO ₂	: Parsiyel Karbondioksit Basıncı
PMNL	: Polimorf Nüveli Lökositler
SPSS	: “Statistical Package for the Social Sciences”
RNA	: Ribonükleik Asit
mRNA	: Messenger RNA
TNF-alfa	: Tümör Nekrozis Faktör-Alfa
TORP	: Total Ossiküler Replasman Protezi
TS	: Timpanoskleroz

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa No
2.1. Rat kulak zarının görünümü.....	8
2.2. Yumuşak dokular retrakte edildikten sonra bullanın görünümü ve komşulukları.....	9
2.3. Kemikçik zincirin internal karotid arter ile komşuluğunun görünümü.....	10
2.4. Timpanosklerotik plak oluşumunun 2 farklı mekanizması.....	24
3.1. Anjioket ve hazırlanan 2,5 mm'lik tüp	43
3.2. Kulak zarı ön kadranına yapılan miringotomi.....	43
3.3. Ventilasyon tüpünün kulak zarındaki görünümü.....	44
3.4. Ratın sırtüstü pozisyonu.....	45
3.5. Boyun ön yüzüne yapılan horizontal insizyon.....	45
3.6. Orta kulak bullasının bulunması.....	46
3.7. Östaki tüpünün kemik-kıkırdak birleşim yeri.....	47
3.8. Östaki tüpünün kemik ve kıkırdak birleşim yerinin ayrılması.....	47
3.9. Bone-wax ile östaki tüpü blokajı.....	48
3.10. Östaki blokajı için kullanılan Bone-wax'ın 6 ay sonraki görünümü.....	49
3.11. Dışarı alınan orta kulak bullası.....	49
3.12. Ratlarda kulak zarı ve orta kulağın normal histopatolojik görünümü.....	52
4.1. Gruplardaki timpanoskleroz oranlarının dağılımı.....	55
4.2. Orta kulak bullası kemik duvarından orta kulak kavitesine doğru sklerotik plak oluşumu.....	57

4.3. Enflamasyon alanında izole sklerotik plak oluşumu.....	57
4.4. Kalsifik ve fibröz skleroz oluşum alanları.....	58
4.5. Makrofaj ve endotel hücrelerindeki İNOS boyanma alanları.....	59
4.6. Gruplardaki İNOS boyanma oranları.....	60
4.7. Skleroz izlenen alanlardaki osteoblastlarda OPN boyanması.....	61
4.8. Gruplardaki OPN boyanma oranları.....	62
4.9. Gruplarda kulak zarında fibrozis ve ödemgörüme oranları.....	65
4.10. Grupların kulak zarı enflamasyon dereceleri.....	69
4.11. Grupların orta kulak enflamasyon dereceleri.....	70
4.12. Granülasyon dokusu ve süpüratif enflamasyon ile dolu orta kulak kavitesi.....	79
4.13. Orta kulak epitelinde enflamasyona bağlı goblet hücreleri ve silia artışı.....	82
4.14. Orta kulakta skuamöz epitel (Kolesteatom).....	82

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa No
3.1. Çalışma grupları ve rat sayıları.....	42
4.1. İşlem yapılan gruplardaki timpanoskleroz görülme oranlarının zamana göre dağılımı.....	56
4.2. Zamana göre İNOS ve OPN boyanma oranları.....	63
4.3. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre İNOS boyanma oranları.....	63
4.4. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre OPN boyanma oranları.....	64
4.5. Gruplardaki kulak ve orta kulak enflamasyon oranları.....	67
4.6. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre kulak zarı enflamasyon oranları.....	68
4.7. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre orta kulak enflamasyon oranları	68
4.8. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklardaki kulak zarı enflamasyon derecelerinin dağılımı.....	71
4.9. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklardaki orta kulak enflamasyon derecelerinin dağılımı	72
4.10. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre kulak zarındaki enflamasyon derecelerinin dağılımı	73
4.11. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre orta kulaktaki enflamasyon derecelerinin dağılımı	74
4.12. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklardan kulak zarı enflamasyonu olanlarda enflamasyon tiplerinin dağılımı	76

4.13.	Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklardan orta kulak enfamasyonu olanlarda enfamasyon tiplerinin dağılımı	76
4.14.	Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre kulak zarındaki enfamasyon tiplerinin dağılımı	77
4.15.	Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre orta kulaktaki enfamasyon tiplerinin dağılımı	78
4.16.	Gruplarda orta kulaktaki epitelyal değışikliklerin dağılımı.....	81

GİRİŞ VE AMAÇ

Timpanoskleroz, kulak zarı ve orta kulağın hyalen dejenerasyonu ile karakterize bir hastalıktır (1-3). Özellikle kulak zarı ve orta kulağın birlikte etkilendiği timpanoskleroz olgularında, kemikçiklerde fiksasyon olması sonucu çift taraflı, ileri derecede işitme kayıpları gelişebilir. Gelişen işitme kaybı, sosyal ve tedavi maliyeti açısından önemli bir sağlık sorunu oluşturur (1, 4).

Timpanosklerozun etiyopatogenezi ortaya koymak için çok fazla çalışma yapılmıştır. Ancak buna rağmen, morfolojisi oldukça iyi bilinen timpanosklerozun, etyolojisi ve patogenezi halen tam olarak bilinmemektedir. Timpanosklerozun muhtemel nedenleri olarak; orta kulak enfeksiyonları, immunolojik faktörler, genetik yatkınlık, oksidatif stres ve travma suçlanmaktadır. Bu faktörlerden en çok suçlananlar, orta kulağın kronik ve rekürren enfeksiyonları ile ventilasyon tüpü insersiyonlarıdır (5-7).

Effüzyonlu otitis media, çocukluk yaş grubunun yaygın bir hastalığı olup yaklaşık %5-10 oranında kronikleşir. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda effüzyonlu otitis media prevalansı, %11,2 ile %18,3 arasında değişmektedir (8). Effüzyonlu otitis media sonuçta konuşmada gecikme, geçici veya kalıcı işitme kaybı, timpanoskleroz ve kolesteatom gibi ciddi komplikasyonlara yol açan, tedavisi masraflı bir hastalıktır. Kulak zarının uzamış effüzyonlu otitis mediaya temel iki yanıtı, atrofi ve timpanosklerozdur. Timpanoskleroz; sık tekrarlayan, tedaviye yanıt vermeyen effüzyonlu otitis media, akut otitis media ve kronik otitis medianın sekelle iyileşmesi ve bunların tedavileri sonrasında gelişir (7).

Timpanosklerozda histolojik olarak lamina propria fibroblast infiltrasyonu, artmış kollajen lifleri ve hyalenize doku oluşumu vardır. Travma ve enflamasyon nedeniyle lamina propria hasar oluşur. Oluşan hasar, kollajen liflerinin artması ile tamir edilmeye çalışılır. Bu tamir süreci sonucunda oluşan fibrotik dokuda, ekstrasellüler kalsiyum depolarındaki değişiklik sonucu kalsiyum ve fosfat birikimi olur. Sonuçta beyaz renkli, mukozadan kabarık timpanosklerotik plaklar oluşur (1, 9). Kalsiyum birikimi, bazen kıkırdak ve kemik doku oluşumuna kadar ilerleyebilir (10).

Cerrahi tedavisindeki güçlükler ve cerrahi tedavide komplikasyon ihtimalinin yüksek olmasından dolayı, gelişiminin önlenmesi daha önemlidir. Öyle ki cerrahi sonrasında rekürrensler sıktır ve işitme sonuçları da zayıftır (11, 12).

Çalışmamızda, ratlarda östaki tüpü obstrüksiyonu ve ventilasyon tüpü insersiyonunun, timpanoskleroz oluşumuna olan etkisini ve oluşan hücresel değişiklikleri araştırdık. Literatürde, sadece ventilasyon tüpü insersiyonu veya sadece östaki tüpü obstrüksiyonunun tek başına timpanoskleroz oluşumuna olan etkisi ve oluşan enflamatuvar değişiklikler incelenmiştir. Ayrıca, orta kulağa mikrobiyolojik ajan verilerek timpanoskleroz modeli oluşturulan çalışmalar da vardır. Bu çalışmada diğer çalışmalardan farklı olarak, ventilasyon tüpü insersiyonu ve östaki tüpü obstrüksiyonunun tek başına oluşturduğu değişikliklere ek olarak, iki işlemin birlikte yapılmasının timpanoskleroz gelişimini ve oluşan enflamatuvar değişikliklerin şiddetini artırıp artırmadığı araştırılmıştır.

Yapılan işlemlerden sonra gelişen timpanoskleroz oranı, oluşan hücresel ve enflamatuvar değişikliklerin oranı, tipi ve şiddeti, orta kulakta oluşan epitelyal değişikliklerin analizi ve bu parametlerin timpanoskleroz gelişimine olan etkileri ortaya konulmaya çalışılmıştır. Ayrıca Osteopontin (OPN), İnducible Nitrik Oksit Sentetaz (İNOS) ve Calcium Sensing Receptor (CaSR) gibi protein yapıdaki moleküllerin timpanoskleroz oluşumunda rol oynayıp oynamadıkları da araştırılmıştır. Literatürde Calcium Sensing Receptor (CaSR)'ün, timpanoskleroz oluşumuna olan etkisini araştıran herhangi bir çalışma yoktur. Çalışmamızda, fizyolojik bir kalsifikasyon süreci olan kemik yapımında görev alan CaSR'nin, patolojik bir kalsifikasyon olan timpanoskleroz oluşumunda rolünün olup olmadığını da araştırdık. İncelenen tüm parametrelerin timpanoskleroz olan ve olmayan olgulardaki kıyaslamaları da yapılarak, timpanoskleroz oluşumu üzerine hangi parametlerin etkisinin olduğu araştırılmıştır. Böylece timpanosklerozun etiyopatogenezine açıklık getirilmeye çalışılmıştır.

GENEL BİLGİLER

2.1. İnsan Kulak Anatomisi

Kulak anatomisi kulak zarı, dış, orta ve iç kulak olmak üzere başlıca dört ana başlık altında incelenir.

2.1.1. Dış Kulak Anatomisi

Dış kulak, aurikula ve dış kulak yolundan oluşur.

a. Aurikula

Dış ve iç olmak üzere iki yüzü vardır. Dış yüzü konkav, iç yüzü konvektir. Dış yüzün en derin yeri olan konka aurikula heliksin krusu ile kavum konka ve simba konka olmak üzere ikiye bölünür. Kavum konkayı alttan sınırlayan antitragus ile tragus arasında, insisura intertrajika bulunur. Konka arka ve üst taraflarda antiheliks ile sınırlanır. Kulak kepçesi, dışta deri ve içte elastik bir kıkırdaktan yapılmıştır (13, 14).

b. Dış Kulak Yolu

Dış kulak yolu, "S" şeklinde bir yapı olup, tragustan kulak zarına olan mesafe arkada 46 mm, önde ise 40 mm'dir. Konka ile kulak zarı arasındaki mesafe ise arka duvarda 25, ön-alt duvarda 31 mm'dir. Fark, zarın oblik konumda yerleşmiş olmasından kaynaklanmaktadır. Dış kulak yolunun kıkırdak parçası dış yanda ve arkada, kemik kısım iç yanda ve önde bulunur. Çocuklarda kıkırdak, yetişkinde ise kemik kısım daha uzundur. Dış kulak yolu alt duvarı konvektir. Dış kulak yolunu kaplayan cilt kulak zarı ile devam eder. Kıkırdak kısım derisi kıl, yağ ve serumen bezleri içerir. Kemik kısımda bunlar kaybolur, deri altı dokusu azalır ve cilt doğrudan periosta yapışır. Dış kulak yolunun duyusunu V. kranial sinir sağlar. Ayrıca VII, IX ve X. kranial sinirlerin de dal verdikleri bilinir. Dış kulak yoluna, kulak kepçesine dal veren arterlerden başka, internal maksiler arterden de bazı dallar gelir. Lenfatikleri aurikula ile aynıdır (13).

2.1.2. Kulak Zarı

Kulak zarı, dış kulak yolu ile orta kulak boşluğunu ayıran bir perdedir. Kalınlığı 0,1 mm, uzunluğu 10-11 mm ve genişliği 8-9 mm'dir (13). Kulak zarının periferinde, fibröz tabaka kalınlaşarak timpanik anulusu oluşturur. Kulak zarı, sulkus timpanikus içine timpanik anulus ile tespit edilmiştir (13). Timpanik halka yukarıda tam değildir ve fibröz tabaka, ön-arka malleolar plikalar tarafından sınırlanır. Timpanik kemiğin üst kısmında insisura timpanika veya Rivinus çentiği yer alır (15, 16). Timpanik kemiğin her iki uzantısının bitim noktalarından malleusun başına doğru iki plika uzanır ve bunlar kulak zarını malleusa bağlar. Bunlara plika malleolaris anterior ve posterior adı verilir (13). Malleolar plikaların yukarısında kalan ve Rivinus çentiği tarafından sınırlanan kısmında fibröz tabaka yoktur ve burası pars flaksida adını alır. Ancak pars flaksida, daha kalındır. Kulak zarının aşağıdaki daha büyük bölümü ise pars tensa olarak adlandırılır (15, 17). Pars tensa histolojik olarak 3 tabakadan oluşur: Bu tabakalar; dışta dış kulak yolu derisi, iç yüzde orta kulak mukozası ve ikisinin arasında fibröz tabakadır. Fibröz tabaka, hem dairesel hem de radyal şekilde uzanım gösteren liflerden oluşur ve zara şekli ile birlikte kıvamını verir. Radyal lifler, malleus kolunun periostuna ve fibröz anulusa tutunarak fonksiyonel olarak önemli olan koni şeklini oluşturur. Dairesel lifler, serbest vibrasyon özelliğini engellemeden destek sağlar. Kulak zarının bu yapısal özellikleri, titreşimsel enerjinin yayılması açısından önemlidir (15). Fibröz tabaka, kapillerden fakirdir. Bu nedenle dış etkenlerden dolayı kolayca erir. Pars tensadaki fibröz tabaka pars flaksidada yoktur. Pars flaksidada zengin bir kapiller ağı ve sinirler bulunur (13).

Kulak zarının konumu düz değildir. Eğimli bir yerleşim söz konusudur. Pars tensanın arka kenarı dışa daha yakın, ön kenarı ise daha uzaktır. Kulak zarının pars tensa parçasında, ortada yukarıdan aşağıya doğru uzanan malleusun kulak zarı içerisindeki parçası olan manibrium mallei bulunur. Manibrium mallei yukarıdan aşağıya, önden arkaya doğru durmaktadır. Çukur yerinde umbo adı verilen manibrium malleinin ucu bulunur (13).

Manibrium malleinin aksına paralel çizilen bir çizgi ile umbo noktasından bu çizgiye dik ikinci bir çizgi çizilecek olursa, kulak zarının pars tensa kısmı ön-üst, ön-alt, arka-alt ve arka-üst olmak üzere dört sanal parçaya ayrılmış olur. Bu bölünmenin kulak zarındaki lezyonları ve bazı girişimleri belirlemek bakımından faydası vardır. Arka üst bölge inkusun uzun kolu, inkudostapedial eklem ve korda timpaniyi içermesi bakımından tehlikeli kabul edilir ve bu bölgede kulak zarına ilişkin işlemlerden kaçınılır. Arka alt kısım, kulak zarı ile orta kulağın medial duvarı (promontoryum) arasındaki mesafenin en dar olduğu yerdir. Yuvarlak pencere burada yer alır. Ön-üst ve ön-alt kadranslar kulak zarına yapılacak müdahaleler bakımından daha emin bölgelerdir. Östaki borusunun orta kulak boşluğuna açılması yaklaşık olarak ön-üst kadrans seviyesindedir (13).

Kulak zarı deri tabakasının damarları, internal maksiller arterin aurikular dalı ile bağlantılıdır. Mukozal yüzün arteriyal beslenmesi ise hem internal maksiller arterden hem de posterior aurikular ve stilomastoid arterden gelir. Bunlar özellikle iç yüzde ışınal tarzda zarın derinliklerine doğru giderler. Plikaların içinde ve manibrium mallei boyunca damarlar daha kalındır. Kulak zarının venleri, dış kulak yolu ve orta kulak boşluğunun venlerine dökülür.

Kulak zarının lenfatikleri damarlarını izler. Mastoid apeks ve tragus önünde yerleşmiş servikal lenf nodlarına ya da östaki tüpünün lenfatiklerine drene olurlar. Kulak zarının duyusal sinirleri esas olarak Nervus Trigemini (V) ve Nervus Vagus'tan (X) gelir. Nervus Fasialis (VII) arka kısma duyusal dallar verir. İç yüzün duyusunu ise Nervus Glossofaringeus (IX) sağlamaktadır (13).

2.1.3. Orta Kulak Anatomisi

Orta kulak, kulak zarı ile iç kulak arasına yerleşmiş bir boşluktur. Orta kulak boşluğu, östaki borusu ile dış ortamla ve aditus yolu ile mastoid bölgenin havalı boşlukları ile bağlantılıdır. Orta kulak üç bölümden oluşur. Kulak zarı hizasına rastlayan orta kulak boşluğuna mezotimpanum, altında kalan kısmına hipotimpanum, üstünde kalan kısmına ise epitimpanum adı verilir. Orta kulak boşluğunun ortalama hacmi, 0,5 cm³ olup boyutları; vertikal planda 15 mm, transvers planda ise epitimpanum da 6 mm,

mezotimpanumda (umbo seviyesinde) 2 mm ve hipotimpanumda 4 mm'dir (13).

Hipotimpanum, kulak zarının aşağısında yer alan sığ bir boşluktur. Kemiksi yüzeyi, hava hücreleri nedeniyle düzensiz bir görünüme sahiptir. Bu duvar, juguler bulbusun üzerini örter. Mezotimpanum, fasiyal sinirin medial parçası hizasından aşağıda yer alır ve medialde otitik kapsül ile sınırlanır. Kokleanın bazal dönüşünü örten kavisli kabartı, kulak zarının hemen medialinde yer alır ve promontoryum olarak adlandırılır. Promontoryum üzerindeki çok sayıdaki yüzeysel kanal, timpanik pleksusu oluşturan sinir liflerini içerir. Promontoryumun arkasında iki pencere bulunur. Bunlardan yukarıda olana oval (vestibüler) pencere, aşağıda olana ise yuvarlak (timpanik) pencere adı verilir. Bu iki pencere, mezotimpanumun arka sınırında timpanik sinüs diye adlandırılan derin ve kavisli bir fossa aracılığıyla birleşir. Epitimpanum, inkusun büyük bir kısmını ve malleusu içerir. Süperiorda, tegmen timpani ile sınırlandırılmıştır (15).

Orta kulaktaki önemli yapılar şunlardır: Üç adet kemikçik (malleus, inkus, stapes), iki adet kas (m. tensör timpani ve m. stapedius) ve fasiyal sinirin timpanik segmentidir (14).

Orta kulak tabanını ağırlıklı olarak juguler bulbus, küçük bir kısmını da stiloid proses, posterior duvarını aditus et antrum, piramidal, kordal ve stiloid eminensler oluşturur. Anterior duvarını, karotis kanalının petröz bölümü, tensör timpani kası ve östaki tüpünün ağzı yapar. Orta kulağın lateral bölümünü, kulak zarı ve skuamöz kemiğin skutum kısmı oluşturur. Orta kulak tavanını tegmen timpani yapar. Orta kulağın iç duvarı ise bu boşluğu iç kulaktan ayırır. Bu duvarda ise kokleanın bazal dönüşünün oluşturduğu promontoryum yer alır (13).

2.1.4. İç Kulak Anatomisi

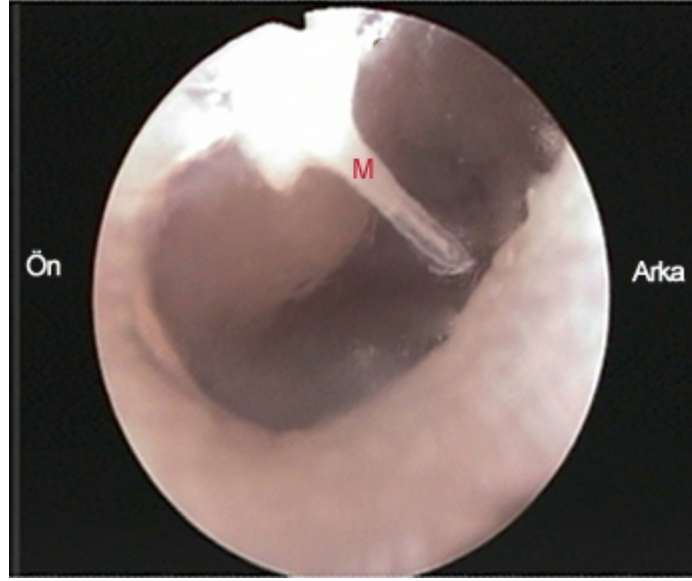
Kemik labirent ve zar labirentten oluşur. Kemik labirent, vestibül, koklea, koklear akuadukt ve semisirküler kanalı içerir. Zar labirent ise skala media, utrikül, sakkül, semisirküler kanallar ve endolenfatik keseden oluşur.

2.2. Rat Kulak Anatomisi

Kulak ile ilgili araştırmalarda, insan kulak yapılarına çok benzeyen guinea pig ve ratlar kullanılır. Guinea pig ile ratın orta kulak anatomik yapıları karşılaştırıldığında, ratınki insan orta kulağına daha çok benzer. Rat orta kulağında, insan orta kulağındaki bütün anatomik yapılar vardır (18).

Ratlarda dış kulak yolu, hilal benzeri yapıda olan tabandaki üç adet kemik halka ve yukarıda aurikular kıkırdanın devamı olan bir adet kıkırdak halka tarafından oluşturulur. Dış kulak yolunun en medial kısmını oluşturan bulla, inferiorda huni şeklinde genişler ve internal olarak yerleşen anulusa yataklık eder. Bulla, insandaki mastoid benzeri geniş havalı hücredir. Kulak zarının infero-lateralinde, dış kısmı timpanik halka ve timpanik bulla ile çevrili gizli bir boşluk bulunur. Dış kulak yolundan bakıldığında, zarın yarısından daha azının görülmesinin sebebi bullanın yaptığı bu l boşluktur. Dış kulak yolunun yumuşak dokuları diseke edildiğinde bullanın dış yüzünde ince, transparan kulak zarı görülür (19).

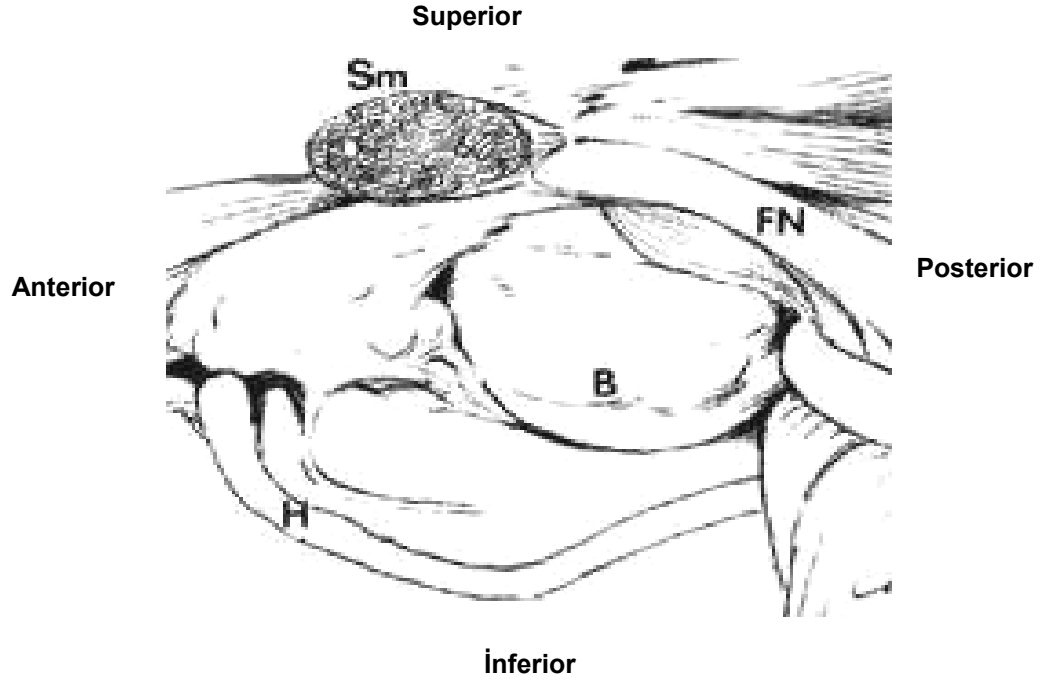
Kulak zarı, sadece pars tensadan oluşur. Pars flaksidanın yerine ise kemik bir lamel olan supratimpanik krest bulunur. Kulak zarı, orta kulak boşluğunu dış kulak yolundan ayıran bir perde özelliğindedir. Renk ve şekil olarak insan kulak zarı ile benzer özelliklere sahiptir. Fakat daha ince olup oldukça şeffaftır. Zara lateralinden bakıldığında, orta kulaktaki majör oluşumlar rahatlıkla izlenir. İnce bir yapısı olması nedeniyle diseksiyonlar esnasında kolayca yırtılabilir. Kulak zarı, fibröz tabakadan yoksundur ve sadece anulusa yakın kısımlarda nadiren kollajen fibrillere rastlandığı bildirilmiştir. Bu bulgular, rat kulak zarının neden bu kadar şeffaf ve travmaya hassas olduğunu izah eder. Ortalama apı vertikal düzlemde 5 mm, horizontal düzlemde 4 mm'dir. Fibröz anulusu bulunmayan kulak zarı, kemik anulusun serbest kenarına sıkıca tutunur. Dış kulak yolundan zara doğru bakıldığında, manibrium malleinin çok büyük olduğu ve vertikal düzlemde timpanik membran boyunca uzandığı izlenimi uyanır (şekil 2.1). Diseksiyonun ilerleyen aşamalarında bu görüntünün yanıltıcı olduğu ortaya çıkar (19).



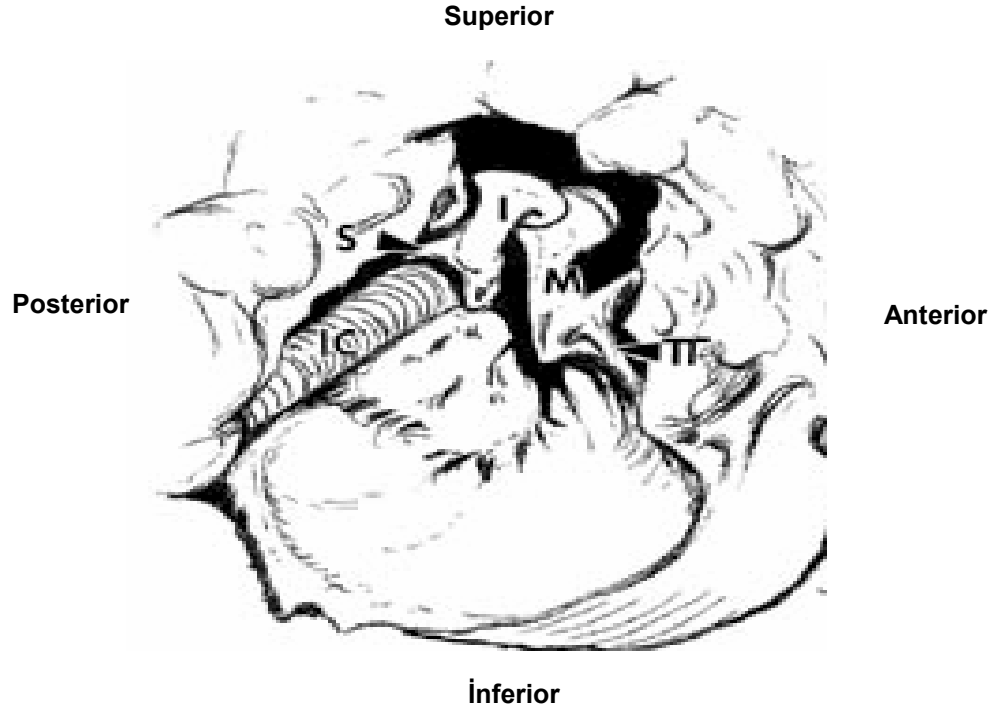
Şekil 2.1. Rat kulak zarının görünümü (Sol kulak, M: Malleus)

Ratlarda orta kulak bullasını bulmak için, boyun bölgesine yapılan insizyondan sonra parotis bezi ve fasiyal sinir görülür. Temporal ve servikal kaslar ile masseter kası geçilir. Orta kulak bullasını bulmak için en önemli nirengi noktası; digastrik kasın posterior kısmının, oksipital kemiğin juguler parçasına yapışma yeridir. Bulla, juguler parçanın antero-inferior kısmında yer alır. Digastrik kas ve diğer servikal kaslar ekarte edilerek timpanik bullaya ulaşılır (Şekil 2.2) (18, 19). Bullanın anteromedial kısmında östaki tüpü orifisi ortaya konabilir. Bullanın içi çeşitli septalar tarafından bölünmüştür (20).

Kulak zarı çıkartıldığında, hemen altında intakt durumdaki kemikçik zincir ile karşılaşılır. Kemikçiklerin en büyüğü malleus olup boyutu 2,5 mm'dir. İnkus 1,5 mm, stapes 1 mm'den daha küçüktür. Kemikçiklerin inferiorunda stapes kası, koklea ve internal karotid arter yer alır. Stapes kası ve tendonu, inkudostapedial eklemin üst kısmına doğru uzanır. İnternal karotid arter, stapesin kruraları arasından geçer (Şekil 2.3). Kemikçikler ile stapes ve tensor timpani kası çıkartıldığında kokleanın promontoryumu, oval pencere ve yuvarlak pencere ortaya konur (19). Rat kulağının anatomik yapıları ile insan kulağı arasında bazı farklar da söz konusudur. Fasiyal sinir daha yüzeyseldir. Kemikçikler, insandakilerin dörtte biri kadardır ve tamamı epitimpanum içinde yer alır. İnsandaki mastoidin karşılığı olarak bulla vardır (19).



Şekil 2.2. Yumuşak dokular retrakte edildikten sonra bullanın görünümü ve komşulukları (Sol kulak, B: Bulla, Sm: Sternokleidomastoid kas, FN: Fasiyal sinir, H: Hipoglossal sinir) (19).



Şekil 2.3. Kemikçik zincirin internal karotid arter ile komşuluğunun görünümü (Sağ kulak, M:Malleus, I: İnkus, S: Stapes, IC: İnternal karotid arter, TT: Tensor timpani) (19).

2.3. Kulak Histolojisi

İnsanlarda dışta dış kulak yolu derisi, içte orta kulak mukozası epiteli ve ortada fibröz tabaka olmak üzere üç tabakadan oluşan kulak zarının merkezinde ve periferinde elastik lifler bulunur. Ön üst kadranı gevşek ve daha saydamdır. Çünkü burada bağ dokusu tabakası daha incedir. Orta kulak tek katlı kübik epitelle döşelidir. Yenidoğanda, enflamasyona yanıt olarak bazı alanlarda çok katlı küboidal epitel izlenebilir. Östaki tüpü yakınlarında ve östaki tüpünün iç kısımlarında, orta kulağı döşeyen tek katlı küboidal epitel giderek yalancı çok katlı prizmatik epitele dönüşür. Östaki tüpünü döşeyen yalancı çok katlı prizmatik epiteldeki goblet hücreleri, enfeksiyon varlığında artmaktadır. Östaki tüpünün kıkırdak kısmında submukozada serömüsinöz bezler bulunur. Kronik orta kulak enfeksiyonunda bu bezlerin sayısında da artış olur (21-24).

2.4. Östaki Tüpünün Anatomisi ve Histolojisi

Östaki tüpü, orta kulak boşluğu ile nazofarenks arasında, kemik ve kıkırdaktan oluşan tübüler bir yapıdır. Posterolateral 1/3 bölümü kemik, anteromedial 2/3 bölümü kartilaj yapıdan oluşur (8, 25). Kemik bölüm, temporal kemiğin petröz bölümü içerisinde yer alır. Orta kulağın anterior duvarının superior bölümüne açılır. Östaki tüpünün medial bölümü, nazofarenksin posterosuperioruna açılır. Kıkırdak ve kemik yapının birleştiği nokta, östaki tüpünün en dar noktası olup bu bölgeye "istmus" adı verilir. Östaki tüpünün etrafında "Ostmann yağ dokusu" adı verilen yağ tabakası vardır. Kartilaj ve yağ dokusu doğumdan puberteye kadar kitlesel artış gösterir (26). Kemik bölüm, fibrökartilajinöz bölümün aksine devamlı açıktır. Fibrökartilajinöz bölüm yutkunma, esneme ve Valsalva manevrası gibi nazofarenkste basıncın arttığı durumlarda açılır (8, 26).

Östaki tüpünün boyutu ve lümen çapı, yaşla doğru orantılı olarak artar. Boyutu bebeklerde ortalama 21 mm, yetişkinlerde 37 mm'dir (26, 27). Bebeklerde horizontal düzlem ile östaki tüpü arasındaki açı 10° iken erişkinlerde bu açı 45° olur (8). Bu anatomik farklılıklar, çocuklarda östaki tüpünün koruma fonksiyonunun daha zayıf olduğunu açıklayan en önemli faktörlerdir. Konum ve boyut değişikliklerinin yanı sıra östaki tüpünü oluşturan kıkırdak, mukoza ve yağ dokusu yaşla beraber gelişimini tamamlar ve östaki tüpünün koruyucu fonksiyonlarına katkıda bulunur (26).

Östaki tüpü yutkunma, esneme ve hapşıрма sırasında aktif olarak açılır. İstirahatte ise, tubal kıkırdağın esnekliği ve çevre dokuların yaptığı basınç gibi pasif mekanizmalar sayesinde kapalı durumdadır. Östaki tüpü ile birlikte seyreden kaslar; tensor veli palatini, levator veli palatini, salpingofarengeus ve tensor timpanidir. Bunlardan sadece tensor veli palatini kası östaki tüpünü açar. Levator veli palatini kası ise açılmaya katkıda bulunur (8, 28).

Östaki tüpü, solunum yolu mukozası ile döşenmiştir. Mukozal yapı, kartilaj ve kemik bölümde farklılıklar gösterir. Kartilaj bölüm, yalancı çok katlı veya silindirik solunum epiteli ile örtülü olup, titretilen tüylü hücrelerden ve goblet hücrelerinden fakirdir. Bu bölüm asıl olarak ventilasyon fonksiyonundan

sorumludur. Kemik bölüm ise, silindirik ve kübik epitelle kaplı olup, titretilen tüylü hücrelerden ve goblet hücrelerinden zengindir. Bu bölüm drenaj ve klirensten sorumludur (8, 29, 30).

Östaki tüpünün koruma, ventilasyon ve drenaj olmak üzere başlıca üç fonksiyonu vardır (31, 32). Tüp açıkken orta kulak boşlukları havalanır ve orta kulak basıncı dış ortamın atmosfer basıncına eşitlenir. Bu arada orta kulak boşluklarının temizlenmesi işlemi de gerçekleşir. Koruma fonksiyonu ise tüp kapalıyken gerçekleşir (31). Östaki tüpünün mukozası, enfeksiyonlara karşı savunma için spesifik ve non-spesifik mediatörler barındırır. Östaki tüpü lümeninin alt kısmının daha girintili ve çıkıntılı olması (8), buradaki mukozada lenfoid yapıların daha fazla olması (33) nazofarenksteki materyalin orta kulağa geçmesini engeller. Lümenin alt ve dış kısmında yer alan Ostmann yağ dokusu da kitle etkisi yaparak koruyuculuk fonksiyonuna katkıda bulunur (33).

2.5. Otitis Media

Otitis media, orta kulak ve temporal kemiğin havalı boşlukları ile östaki borusunu kaplayan mukozanın enfeksiyon ve/veya enflamasyonudur (34). En erken değişiklikler orta kulak mukozasında lamina propriada kapiller geçirgenlikte artış, ödem ve polimorf nüveli lökositler (PMNL)'in infiltrasyonu olarak görülür. Kronik dönemde, mononükleer hücrelerin sayısı artar. Bu hücreler doku hasarı ve fibrozise neden olan maddeler salgırlar. Zamanla granülasyon dokusu ve buna bağlı kemik erozyonu oluşur. Granülasyon dokusu matür hale geldikçe daha yoğun ama daha az vasküler hale gelir. Sonuçta fibrozis ve adhezyon gelişimine neden olarak orta kulak fonksiyonunu anlamlı şekilde bozar (34, 35).

Otitis medianın farklı klinik formları ve tanımlamaları mevcuttur. Bunlar;

a. Mirenjit: Orta kulakta effüzyon olmadan oluşan bir iltihaptır. Kulak zarı ve buna komşu dış kulak yolu derisinde hiperemi ve/veya granülasyon dokusu ile karakterizedir.

b. Akut otitis media: Aniden başlayan, enfeksiyon bulgu ve belirtileri ile seyreden, kulak zarı ve orta kulak boşluğunun enflamasyonudur.

c. Rekürren akut otitis media: Altı aylık bir süre içerisinde üç veya daha fazla akut otitis media atağı geçirilmesidir.

d. Effüzyonlu otitis media: Sağlam kulak zarı arkasında lokal ya da genel enfeksiyon bulgu ve belirtileri olmaksızın sıvı toplanmasıyla karakterize otitis media türüdür.

e. Silent otitis media: Sağlam kulak zarı arkasında, orta kulakta ve mastoid içerisinde devam etmekte olan enfeksiyon ve enflamasyonu tanımlar. Ancak klinik bulgular hafif seyreder.

f. Kronik süperatif otitis media: Kulak zarı perforasyonu ve dış kulak yolundan akıntı ile karakterize üç aydan uzun süren otitis mediadır (34, 36).

2.5.1. Akut Otitis Media

Akut otitis media; orta kulak boşluğu, mastoid hücreler ve östaki tüpünü etkileyen, 3 haftadan kısa süren otit çeşididir. Akut otitis media bakteriyel bir enfeksiyon olup, en sık *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenza* ve *Moraxella catarrhalis* izole edilir (37). Akut otitis mediaya neden olan bakterilerin orta kulağa geçişi genellikle östaki tüpü yolu ile olmaktadır (34, 37). Sade (38), akut otitis mediada açık östaki tüpünün önemli bir risk faktörü olduğunu ilk tanımlayan kişidir. Otitis mediaya yatkın çocuklarda, yutma sırasında orta kulağa olan reflü radyolojik olarak gösterilmiştir. Ayrıca patulöz östaki tüpü olan çocuklar da otitis media için yüksek risk altındadır (38). Rekürren akut otitis media mevcut olan çocukların adenoid dokularında patojen bakterilerin olduğu gösterilmiştir (39). Bu bulgular, adenoid dokunun bakteriler için bir rezervuar olduğunu ve akut otitis medianın östaki tüpünün koruma fonksiyonunu yerine getirememesi sonucu oluştuğunu düşündürmektedir.

Akut otitis media ile effüzyonlu otitis medianın ayırıcı tanısının yapılması, tedavilerindeki farklılıklardan dolayı önemlidir. Akut otitis mediada akut hastalık belirtileri vardır ve kulak zarı pozitif basınca maruz kalmaktadır. Effüzyonlu otitis mediada ise akut enfeksiyon bulguları yoktur, kulak zarı negatif basınca maruz kalır ya da herhangi bir basınca maruz kalmaz (41).

Akut otitis medianın sırasıyla hiperemi, eksüdasyon, süperasyon, koelesan ve komplikasyon evresi olmak üzere 5 evresi vardır.

Akut otitis mediada ortaya çıkan ilk değişiklik, ödem ve kapillerdeki dolgunluktur. Orta kulak ve havalı boşlukların mukozası, PMNL tarafından infiltre edilir ve bunun ardından boşlukları pürülan bir sekresyon doldurur. Epitelyal ülserasyon olursa ardından granülasyon dokusu gelişir ve bu enflamasyonun devam etmesine ve enzimatik yolla kemik yapıların yıkımına neden olur. Sonuç olarak, havalı boşluklarla birlikte östaki tüpünün drenaj ve havalanması etkilenir (34).

Enflamasyon uzadıkça, ödem yerini fibrozise bırakırken akut iltihabi hücrelerin yerini lenfositler alır. Granülasyon dokusunun lamina propriasının gelişmesi, polip ve burjon dokularının ortaya çıkmasına neden olur. İyileşme, her türlü enfeksiyonda fibrozisle sonuçlanır. Sonuçta fibrozis ile birlikte inklüzyon kistleri ve yeni kemik oluşumu ortaya çıkar. Tüm bunların sonucunda havalı boşluklar kısmen tıkanır ve havalanma azalır. Daha ileri evrelerde mukoza karakterini değiştirir ve yalancı çok katlı veya silindirik solunum epiteline dönüşür. Goblet hücrelerinin sayısında artış olur (34). Tedavi olmayan olguların yaklaşık %30'unda kulak zarı perforasyon olur. Çoğu olguda iyileşme sekelsiz olurken, bazı olgularda timpanoskleroz gelişebilir (17).

2.5.2. Kronik Otitis Media

Kronik otitis media, kulak zarı perforasyonu ve dış kulak yolundan süpüratif akıntı ile karakterize otitis media çeşididir. Genellikle üç aydan beri süren ve medikal tedaviye yanıt vermeyen otitis media olarak da tanımlanabilir. Ayrıca, bir akut otitis media atağının arkasından, altı haftadan beri medikal tedaviye yanıt vermeden devam eden süpüratif akıntılı otitis medialis da kronik otitis media olarak kabul edilir. Kronik otitis medianın kulak zarı perforasyonu, dış kulak yolundan zaman zaman kesilen süpüratif karekterde bir akıntı ve sıklıkla iletim tipi işitme kaybı gibi özellikleri vardır (42).

Kronik otitis medialis çocukların anamnezinde, çoğunlukla rekürren otitis media ve effüzyonlu otitis media saptanır. Orta kulak enfeksiyonları silier aktiviteyi bozar. Silier aktivitenin bozulması, mukozada metaplazik değişikliklerin başlamasına neden olur. Ayrıca sık geçirilen akut ve effüzyonlu

otitis media, geri dönüşümsüz mukozal değişikliklerin meydana gelmesini ve silent otitis mediaya geçişi kolaylaştırır. Vücut direncini etkileyen hastalıkların (diabetes mellitus, bağışıklık sistemi bozuklukları vb. kronik hastalıklar) varlığı, beslenme bozuklukları, alerji, adenod hipertrofisi ve kraniyofasiyal anomalilerin olması, akut ve effüzyonlu otitis medianın yetersiz ve uygun olmayan tedavisi kronik otitis media gelişmesini kolaylaştıran faktörlerdir. Ayrıca östaki tüpünün koruyuculuk fonksiyonunun bozulması, orta kulağın sürekli nazofarenksten enfekte olmasına neden olur. Östaki tüpünün koruyuculuk fonksiyonunun bozulması, kronik otitis media patogeneğinde önemli bir yere sahiptir (42). Akut ve effüzyonlu otitis media kronikleşme süreci sonunda kronik otitis media ile sonuçlanabilir.

Kronik otitis mediada histopatolojik olarak, geri dönüşümsüz değişiklikler vardır. İlk olarak mukozada yer yer ülserasyonlar ortaya çıkar. Bunu granülasyon dokusu izler ve burjonlar meydana gelir. Granülasyon dokusunun, enflamatuar mediatörler ve tahrip edici enzimler üretmesi sonucu mastoid ile orta kulak boşluğu arasındaki geçiş engellenir. Granülasyon dokusunun oluşması enfeksiyonun kronikleşmesi için büyük önem taşır. Çünkü granülasyon dokusunun kendisi tahrip edici özelliğe sahiptir. Ayrıca östaki tüpünün istmus kısmında meydana gelen ödem, granülasyon dokusu ve burjon dokusu, tüp lümeninde daralmaya yol açarak enflamasyonun şiddetlenmesine neden olur (42, 43).

İyileşme esnasında, mukozada timpanoskleroza ait değişiklikler izlenir. İnce katmanlardan yaygın birikimlere kadar değişik boyutlarda olan, submukozada da izlenebilen amorf hyalen plaklar meydana gelir. Erken evrelerde mukoza kalın, lastiksi bir görünüm alır. İyileşme süreci ilerledikçe, plaklar renk değişikliği gösterir ve macun kıvamını alır. Zamanla kalsiyum tuzları çöker ve kemiksi, sert birikimler oluşur. Bu alanlar daha çok kulak zarının ön kadranı ve kemikçiklerin etrafıdır. Bu tablo zamanla, kemikçiklerde fiksasyona yol açarak iletim tipi işitme kaybına neden olur (15).

Kronik otitis mediada olay mukoperiosteumda sınırlıdır. Ancak enfeksiyon orta kulağın savunma bariyerlerini aşp komşu yapıları etkilediğinde otitis media komplikasyonları ortaya çıkar. Komplikasyondan söz

edebilmek için enfeksiyonun mukoperiosteum tabakasını aşması gerekmektedir. Mukoperiosteumu aşmayan sekel ile mukoperiosteumu aşan komplikasyonu birbiriyle gerek teşhis gerekse tedavilerindeki farklılıklar nedeniyle karıştırmamak gerekir (44, 45). Otitis mediaya bağlı komplikasyonların oluşması için, enfeksiyonun mukoperiosteum tabakasını aştıktan sonra belirli yolları geçerek diğer anatomik bölgelere ulaşması gerektirmektedir.

Otitis medianın sekelleri şunlardır;

- Atelektazi
- Adeziv otitis media
- Retraksiyon poşları
- Timpanoskleroz
- Kulak zarı perforasyonu
- Kemikçik erozyonu
- İletim tipi işitme kaybı
- Sensörinöral işitme kaybı (1, 21-24)

2.5.3. Effüzyonlu Otitis Media

Effüzyonlu otitis media, akut enfeksiyon bulgu ve semptomları olmadan kulak zarı arkasında sıvı birikimi ile karakterize bir orta kulak enflamasyonudur (8, 41, 46, 47). Effüzyonlu otitis media genelde çocukluk çağı hastalığıdır. Çeşitli sekel ve kronik kulak patolojilerine yol açması açısından önemlidir. Neden olduğu işitme kaybı sonucunda, çocuk hastanın eğitiminin ve hastalığın tedavi maliyetinin önemli boyutlara ulaşması ekonomik açıdan önemlidir.

Tüm otitlerde olduğu gibi effüzyonlu otitis media da 3 haftaya kadar olan süre akut, 3 hafta ile 3 ay arası subakut, 3 aydan uzun süre ise kronik evre olarak adlandırılır (48). Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda, effüzyonlu otitis media prevalansı %11,2-18,3 arasında değişmektedir (8). Effüzyonlu otitis media açısından yapılan insidans çalışmaları, okul öncesi çocukların %35-70'nin en az bir effüzyonlu otitis media atağı geçirdiğini göstermektedir (46). Effüzyonlu otitis media ile aynı anlamda kullanılan isimler arasında; seröz otitis media, mukoid otitis media, kataral otitis media,

eksüdatif otitis media, timpanik hidrops, serotimpanum, mukotimpanum, süpüratif olmayan otitis media, glue ear, sekretuar otitis media sayılabilir.

Effüzyonlu otitis media, multifaktöriyel bir hastalıktır. Bakteriyel ve viral enfeksiyonlar ya da allerjik nedenler mukoza ödemine yol açarak mukosilier akımı bozabilir. Nazofarenks tümörleri östaki tüpünün ağzında obstrüksiyona neden olabilir. Radyoterapi tubal siliaları bozup tıkanmaya neden olurken, yarık damak gibi anatomik sorunlar da mekanik sorun ve pasif fonksiyon bozukluklarına yol açabilir. Östaki tüpü, sümkürme ve aksırma sırasında nazofarengeal mukus ve bakterilerin orta kulağa reflüsüne neden olabilir. Bunlar gibi pek çok neden östaki tüpünün fonksiyonunun bozukluğuna, dolayısıyla effüzyon oluşmasına sebep olur (49, 50).

Klasik “hydrops ex-vacuo” teorisine göre effüzyon, havalanması bozulan orta kulaktaki negatif basıncın yarattığı vakum etkisiyle kan serumunun orta kulağa sızmasıyla oluşan transüda olarak kabul edilir (8, 52). Ancak bu oluşum günümüzde çok az sayıda patolojide geçerlidir. Bunların en tipik örneği, barotravma sonucu gelişen effüzyonlardır. Barometrik basıncın her iki yönde değişmesinden de orta kulak etkilenir. Alçalma sırasında orta kulak ve östaki tüpündeki hava sıkışır. Östaki tüpü kollabe olur. Eğer basınç eşitlenmezse, orta kulakta oluşan aşırı negatif basınç damarlardan kan-transüda sızmasına neden olur. Böylece orta kulakta effüzyon oluşur (51). Effüzyonların içeriğinde mediatörler, enzimler ve immünoglobülinler bulunur. Bu enflamatuar ajanlar, vasküler geçirgenliği ve sekretuar aktiviteyi artırarak effüzyonun şiddetlenmesine katkıda bulunurlar (49).

Orta kulak basıncı, östaki tüpünün açılması sırasında orta kulağa bir miktar hava geçişiyle olan gaz alışverişi ve orta kulakla kan akımı arasındaki gaz alışverişi yoluyla sağlanır (53). Yapılan çalışmalarda, orta kulağın havalanmasının sadece östaki tüpüne bağlı olmayıp, aynı zamanda orta kulak ve mastoid hücreleri örten submukozal venöz damarlardaki gaz değişimine de bağlı olduğu gösterilmiştir (Gaz exchange teorisi) (52, 54). Orta kulağın hacmi $0,5 \text{ cm}^3$ olduğu için, östaki tüpünden geçen havanın tek başına orta kulak basıncını dengelemesi pek mümkün değildir. Orta kulakta havalanma bozukluğu $p\text{CO}_2$ 'de yükselmeye, bu da orta kulak mukozasında metaplaziye

yol açar. Metaplazi sonucu orta kulakta salgı bezlerinin sayısı artar. Bunların aktif üretimi sonucu effüzyon oluşur. Patoloji bu dönemde sonlanmazsa, süreç mukus salgılayan bezlerde atrofi gelişmesine ve salgının durmasına yol açar. Orta kulaktaki sıvının çekilmesi yerini böylece negatif basınca bırakır. Ardından kulak zarında retraksiyon ve atelektaziye doğru gidiş başlar. Uzun süren effüzyonlu otitis media, çocuklarda işitmeyi bozmakla kalmayıp havalı mastoid hücrelerinin gelişimine de engel olur. Bu nedenle effüzyonlu otitis media tedavisinin mastoid havalı hücre gelişimi tamamlanmadan yapılması gerekir.

Effüzyonlu otitis medialis çocuklarda adenoid dokusunun normalden büyük olduğu, klinik olarak da obstrüksiyon yaptığı saptanmıştır. Adenoid dokusunun varlığı, nazofarenkste patojen kolonizasyonunu kolaylaştırmaktadır. Ventilasyon tüpü insersiyonu esnasında adenoidektomi yapılmasının, otore atak sayısını belirgin şekilde azalttığı saptanmıştır. Adenoidektominin bir diğer faydası, nazofarenkste potansiyel enfeksiyon odağının kaldırılmış olmasıdır (55). Yapılan çalışmalarda, nazofarenksin bakteriyel popülasyonunun, effüzyonlu otitis media mevcut olan çocukların orta kulaklarında saptanan bakteri popülasyonu ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır (56, 57).

Effüzyonlu otitis media, tedavi edilmezse birtakım sekel ve komplikasyonlar gelişir. Bunlar şu şekilde sıralanabilir;

- Timpanoskleroz
- Retraksiyon cepleri
- Atelektazi ve atrofi
- Adeziv otit
- İletim tipi işitme kaybı
- Osiküler fiksasyon / nekroz
- Perforasyon
- Sensörinöral işitme kaybı
- Konuşma bozuklukları
- Mastoid hava sisteminin gelişmemesi

- Latent mastoidit
- Kolesterol granülomu
- Kolesteatom (8, 47, 58).

Tedaviye yanıt vermeyen, uzun süredir devam eden effüzyonlu otitis medianın tedavisi ventilasyon tüpü insersiyonudur. Ventilasyon tüpleri, kulak zarına yapılan insizyonla yerleştirilen ve orta kulakla dış kulak yolu arasında geçiş sağlayan küçük tubüler implantlardır. Ventilasyon tüpü insersiyonunun amacı; orta kulağın ventilasyonunu sağlayarak buradaki gaz konsantrasyonunu ve gaz basıncını normale çevirmek, drenaj sağlamaktır. Armstrong tarafından keşfedildikleri tarih olan 1954 yılından beri effüzyonlu otitis media tedavisinde kullanılmaktadırlar (55, 59).

Ventilasyon tüpü insersiyonunun endikasyonları; effüzyonlu otitis media, rekürren otitis media, hiperbarik oksijen tedavisinde barotravmanın önlenmesi, komplikasyon yapmış akut otitis media, Meniere hastalığında lokal gentamisin tedavisi amacıyla, koklear kökenli tinnitusta lokal steroid tedavisi için, patulöz östaki tüpü, adeziv otit veya retraksiyon poşları, kolesterol granülomu ve hemotimpanumdur (47, 58, 60).

Ventilasyon tüpü insersiyonu, orta kulaktaki effüzyonun giderilmesi ve işitmenin düzelmesi açısından önemlidir. Ancak uzun süreli takiplerde, ventilasyon tüplerinin her zaman tam çözüm getiremediği ve birtakım komplikasyonlara yol açtığı bilinmektedir. Ventilasyon tüpü insersiyonunun bilinen komplikasyonları; otore, timpanoskleroz, tüpün tıkanması, polip oluşumu, kolesteatom gelişimi, erken atılma, kalıcı perforasyon, kulak zarında atrofi ve atelektazi, işitme kaybı ve tüpün orta kulağa kaçmasıdır (55, 60-62).

Aslında kulak zarında oluşan atrofi ve atelektazi ile timpanoskleroz, ventilasyon tüpü takılmaması durumunda da görülen effüzyonlu otitis media sekellerindendir. Ancak ventilasyon tüpü insersiyonu sonrası atrofi ve atelektazi 2 kat, timpanoskleroz ise 5-6 kat daha fazla görülür (63).

2.6. Timpanoskleroz

2.6.1. Tanım ve Tarihçe

Timpanoskleroz, çoğunlukla orta kulağın kronik enflamasyonlarının iyileşme süreci sonunda ortaya çıkan, mukoza altında hyalinizasyon ve kalsifiye birikimler toplanması ile karakterize inaktif bir otit sekeldir. (1, 7, 10-12, 64). Kendi başına bir kronik otitis media çeşidi değildir. İyileşme süreci sonunda ortaya çıkan özel bir klinik tablodur, bir sekeldir (1). Kulak zarı ve orta kulak mukozasındaki bağ dokusunun, otitis media sırasında hasar görmesi ve bunların onarılması sürecinde kollajen liflerinde dejenerasyon ve hyalinizasyon ile karakterize bir hastalık olduğu düşünülmektedir (1). Çoğunlukla kulak zarı ve orta kulak boşluğu olmak üzere, bazen mastoid bölgeyi de etkileyebilir. Timpanoskleroz, sadece kulak zarı ile sınırlı olduğunda otoskopik olarak beyaz plaklar şeklinde görülür ve mirigoskleroz olarak adlandırılır. Kulak zarı ve orta kulak boşluğu birlikte etkilendiğinde timpanoskleroz adını alır (4). Etyolojisi bilinmemekle birlikte en çok kabul edilen görüş, travma ve enfeksiyona verilmiş aşırı iyileşme yanıtıdır (65).

Timpanoskleroz, ilk kez 1734 yılında Cassebohm tarafından kulak zarında tebeşirimsi yamalar şeklinde tanımlanmıştır. Orta kulak enfeksiyonları sonrasında oluşan sklerotik değişiklikleri, ilk olarak 1873 yılında Von Tröltsch tanımlamıştır (1, 4, 66-68). Von Tröltsch, timpanosklerozun kemikçik hareketlerini etkileyen ve işitme kaybına neden olan bir hastalık olduğunu söylemiştir. Histolojik yapısını ise ilk olarak 1878'de Walb ortaya koymuştur. Timpanoskleroz ve otosklerozun ayırımındaki yardımcı histopatolojik özellikler, 1860 yılında Toynbee ve 1883'de Politzer tarafından tanımlanmıştır. Timpanosklerozu bugünkü anlamda ilk tanımlayan, 1883 yılında Politzer olmuştur. Walb ve Habermann ise Politzer'in tanımına katkıda bulunmuşlardır. Zöllner ve Beck, 1955 yılında kulak mikroskobunu kullanarak timpanosklerozun orta kulak ve kemikçik zincirinde meydana getirdiği patolojileri tanımlamışlardır (1, 68). Zöllner, 1956 yılında orta kulaktaki kalsifikasyon için ilk kez timpanoskleroz terimini tanımlamıştır. Harris ise 1962 yılında, timpanosklerozu kalsifikasyonla birlikte olan hyalen sklerotik doku olarak tariflemiştir. Bundan sonraki yıllarda teknolojik gelişmelerin kulak

muayenesinde rutin kullanıma girmesi ile timpanosklerozun yerleşim yerleri, klinik bulguları ve cerrahi tedavisi ile ilgili çalışmalar hızla artmıştır.

2.6.2. Timpanosklerozun Histopatoloji

Timpanosklerozda, kulak zarı ve orta kulak mukozası lamina propriasında hyalen değişiklikler vardır (1, 9, 69, 70). Öyle ki timpanosklerotik plaklar, çoğunlukla lamina propriada tabakasında lokalize olurlar (11). Lamina propria fibroblast, kollajen lifleri ve kapiller yapılardan oluşan bir bağ dokusu tabakasıdır. Timpanoskleroz oluşum sürecinde, başlangıçta lamina propriadaki bağ dokusu liflerinde dejenerasyon olur. Daha sonra fibroblastların sayı ve aktivitelerinde artışla birlikte, anormal kollajen lifleri yapımı olur. Bu durum daha da ilerleyerek hyalinizasyon ve kalsifikasyonla sonuçlanır (1, 9, 69, 71).

Timpanoskleroz gelişiminde üç evre tanımlanmaktadır;

- **Başlangıç evresi:** Enflamatuvar olaylar, kollajen liflerini hasara uğratar. Akut enflamasyon sırasında orta kulak mukozası ve submukozal doku ödemli hal alır ve enflamatuvar hücrelerle infiltre olur. Tekrarlayan akut ve uzun süreli kronik enflamasyon ile granülasyon dokusu oluşur. Bu faz genellikle geri dönüşümlü kabul edilir.
- **Onarım evresi:** Fibroblast invazyonu ile karakterizedir. Yoğun kollajen birikimi ve hyalinizasyon sonucu lifler belirsiz hal alarak homojen bir kitle oluşturur. Makroskopik olarak bu doku düzgün yüzeyli, beyaz renkte, yüzeyden hafif kabarıklık yapan kıkırdağımsı yoğun bir doku şeklinde görülür. Birçok otöre göre bu faz geri dönüşümsüz olarak kabul edilir.
- **Son evre:** Kalsifikasyon, nadiren de kemikleşme oluşabilir (72, 73).

Santos ve arkadaşları (74) ise, timpanoskleroza neden olan enflamatuvar sürecin 5 evrede geliştiğini belirtmiştir.

1. **Evre- Eksudasyon:** Enflamasyon alanına PMNL infiltrasyonu ile karakterizedir.
2. **Evre-Granülasyon:** Neovaskülarizasyonla birlikte makrofaj, lenfosit ve fibroblastlar izlenir.

3. **Evre-Fibrozis:** Normal dokudaki hücresel yapılar azalır. Fibroblastların proliferasyonu ve kollajen liflerinin yapımı, vaskülarizasyonun azalması gibi değişiklikler olur.
4. **Evre-Hyalinizasyon:** Fibroblastların sayısı azalır, normal dokunun yerini kollajen liflerinden zengin fibrotik doku alır. Sonuçta hyalinizasyon gelişir.
5. **Evre-Kalsifikasyon:** Fibrozis ve skleroz izlenen alanlarda kalsiyum ve fosfor depositlerinin birikmesi sonucunda kalsifik plaklar oluşur.

Timpanosklerozun nasıl bir histolojik seyir gösterdiği, Chang (3) tarafından yapılan elektron mikroskopi çalışmasında da gösterilmiştir. Buna göre kollajen liflerinde artış, mineralize çökeltilerin olması ve laküner boşlukların oluşması gibi değişiklikler tariflenmiştir.

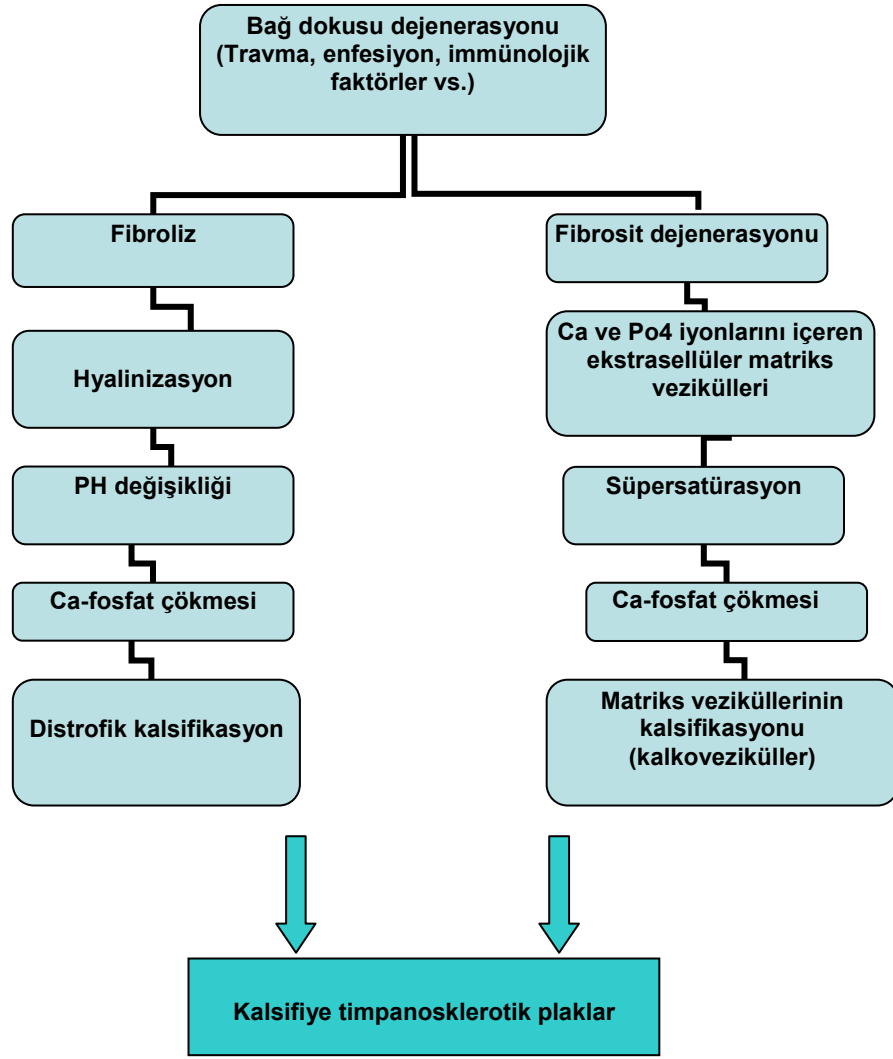
Kollajen lifleri tabloya hakimdir. İçlerinde mitokondriler ve lizozomlar bulunur. Lifler, genellikle kalsifiye lifler ve kalsifiye olmamış lifler olarak iki ayrı şekildedir. Kalsifiye olmamış lifler daha sıktır ve aralarında boşluk bırakmazlar. Buna karşılık kalsifiye birikimlerin toplanmaya başladığı lifler ise aralarında boşluklar gösterir. Bu lifler düzensizdir, boyutları değişiktir ve dağınık bir yapı gösterirler. Laküner boşluklar ise özellikle, kalsiyum içeren kollajen lif bölgesinde daha sıktır. Mineralize çökeltilerin en önemlisi kalsiyumdur. Bundan sonra başta fosfat olmak üzere düşük oranda diğer mineraller de saptanır (1, 3).

Kısaca, bir timpanosklerotik plağın oluşumu çeşitli basamaklardan sonra olur;

- Bağ dokusu dejenerasyonu
- Fibroliz
- Hücre kaybı ve kalsiyum birikmesi
- Distrofik kalsifikasyon (75, 76).

Öncelikle, başta enfeksiyon ve travma olmak üzere çeşitli patolojik etmenlerin etkisi ile bağ dokusu dejenerasyonu meydana gelir. Enflamasyonun kronik ya da rekürren karakter alması ile ağırlaşan

enflamatuar reaksiyon, bu sırada ortaya çıkan immünolojik değişiklikler, parasentez veya fiziksel travmaların etkisi ile fibrositlerde fibroliz olayı başlar. Fibrositler dejenere olurlar. Eğer fibrositlerde dejenerasyon başlamışsa bu fazın en önemli bulgusu, mitokondrilerin çevresinde veziküllerin oluşmasıdır. Bu veziküllerde kalsiyum ve fosfat toplanması belirgin hal alır. Fibroliz olayını izleyen zaman içinde, lezyon sahasında pH değişiklikleri ve kan akımında azalma olur. Buna bağlı olarak, hücrelerin yavaş yavaş kaybolması sonucunda hücresel yapılar azalır. Bu evrede lifler içine kalsiyum fosfat çökmesi görülür.   ken kalsiyum distrofik kalsifikasyona uğrar ve timpanosklerotik odaklar oluşur. Bu olay, mitokondriler etrafında toplanan veziküllerin kalsifikasyonu olarak da düşünülmektedir (75, 76).



Şekil 2.4. Timpanosklerotik plak oluşumunun 2 farklı mekanizması (76).

Timpanoskleroz oluşumundaki önemli basamaklardan biri olan mineralizasyon dört evrede gelişmektedir;

Evre-1: Matriks veziküllerinin görülmesi

Evre-2: Kalsiferüllerin oluşması

Evre-3: İlerleyici mineralizasyon

Evre-4: Büyük kalsifiye kollajen kitlelerinin oluşmasıdır (77).

Yapılan elektron mikroskopik çalışmalarda, kalsifikasyonun fibroblastların mitokondri ve lizozomlarındaki matriks veziküllerinde başladığı, daha sonra hücre dışına ilerleyerek çevre bağ dokusu içinde kalkosferülleri

oluşturmak üzere füzyon yaptığı gösterilmiştir. Bu kalkosferüller, makroskopik olarak tebeşirimsi yamalar şeklinde görülen amorf hyalen kitleleri oluştururlar (78). Biriken kalsiyum oranı ile oluşan fibrozisin şiddeti, effüzyonun ve enflamasyonun süresi ile yakından ilişkilidir (7).

Sonuç olarak, timpanoskleroz uygun bir zeminde çeşitli etmenlerle başlayan dejeneratif bir hastalıktır. Hastalığın başlamasında ve gelişmesinde, gerek hücre içinde mitokondrilerde ve gerekse hücre dışında matriks veziküllerinde kalsiyum birikmesi rol oynar. Kalsiyumla doymuş dokularda distrofik kalsifikasyon ile birlikte timpanosklerotik odaklar ortaya çıkar (1).

Timpanoskleroz, kulak zarı veya orta kulakta beyaz kalker plakları şeklinde görülür. Sklerotik materyal başlangıçta peynirimsi kitle şeklinde izlenirken, daha sonra kalsiyumun çökmesi sonucunda sert kemiksi bir hal alır (12). Timpanosklerotik plakların ağırlıklı olarak kollajen lifleri ile kalsiyum depositlerinden oluştuğu gösterilmiştir (3).

Timpanosklerotik plaklar, cerrahi esnasındaki görünümüne göre iki tipe ayrılmıştır. Birinci tip plaklar, yumuşak ve çevre yapılardan kolayca ayrılabilen plaklardır. Bu plaklarda çok az miktarda kalsiyum birikimi mevcuttur. Bir diğer plak tipi ise sert, beyaz renkli ve cerrahi esnasında çevre yapılardan zor ayrılan, kolayca kırılan plaklardır. Bu tip plaklarda fazla miktarda kalsiyum birikimi vardır.

2.6.3. Timpanosklerozun Histopatolojik Tipleri

1. Fibröz Sklerozis

Submukozal, süperfisyel bir skleroz şeklinde seyreder (79). Orta kulak boşluğunda fibröz doku gelişiminde artış vardır. Dolayısıyla mukozada kalınlaşma olur. Kemikçik hareketlerinde kısıtlanma olabilir, hatta orta kulak havalanması etkilenebilir. Bu patolojik bulgular, intakt veya perfore kulak zarı, kulak zarı retraksiyonu veya submukozal hyalene kollajen birikimi (timpanoskleroz) ile beraber olabilir. Artmış olan fibrozis, kemikçiklerin kan desteğini zayıflamasına ve dolayısıyla kemikçik erozyonuna neden olabilir.

2. Fibrokistik Sklerozis

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

3. Fibroosseöz Sklerozis (Kalsifik Sklerozis)

İnvaziv mukoperiostit ile seyreden agresif bir tablo hakimdir (79). Fibrozis izlenen alanlara kalsiyum ve fosfat partiküllerinin çökmesi sonucu, sklerotik plak ve hatta yeni kemik doku oluşumu vardır (80).

2.6.4. Timpanosklerozun Klinik Tipleri ve Özellikleri

Gibb (68)'in, 138 vakalık serisinde timpanosklerozun %24 oranında kulak zarında, %32 oranında orta kulak ve matoidde, %44 oranında ise kulak zarı ve orta kulakta birlikte yerleşim gösterdiği belirtilmiştir.

Timpanosklerozun sadece kulak zarına lokalize şekli olan miringoskleroz, ciddi işitme kayıplarına açmaz (81). Ancak kulak zarı ve orta kulağın birlikte etkilendiği özellikle çift taraflı timpanoskleroz varlığı durumunda, meydana gelen işitme kayıpları önemli bir sağlık sorunudur (1). Bu nedenle bu iki timpanoskleroz tipi birbirinden ayrı olarak incelenmelidir.

1. Kulak Zarı Timpanosklerozu

Timpanosklerotik odaklar kulak zarında ya kendi başına ya da orta kulaktaki timpanosklerozun bir belirtisi olarak bulunabilirler. Kulak zarında yerleşim gösteren timpanoskleroz, miringoskleroz adı verilir (1, 4). Kulak zarındaki timpanoskleroz, sıklıkla ventilasyon tüpü insersiyonu ve timpanoplasti ameliyatlarından sonra meydana gelir (5). Ancak timpanoskleroz dinamik bir prosestir ve sadece ventilasyon tüpü takılması ile değil, orta kulağın kronik enfeksiyonlardan sonra da görülebilir (1).

Effüzyonun viskozitesinin yüksek olması (82), parasentez sırasında kulak zarında meydana gelen lokal travma ve kulak zarı içine kanama (83), ventilasyon tüpü insersiyonu sonrası orta kulakta artmış oksijen konsantrasyonu (84) ve ventilasyon tüpünün büyüklüğü (85) miringoskleroz gelişmesinde suçlanmaktadır. Ayrıca ventilasyon tüpü insersiyonu sırasında kulak zarı kalın ve ödemli olan hastalarda, intraepitelyal kanama riski daha

yüksek olduğu için miringoskleroz gelişme ihtimali daha yüksektir (86). Ventilasyon tüpü takıldıktan sonra, tüpün kenarında bir enflamatuar reaksiyonun ortaya çıktığı ve bunun üç haftada kaybolduğu gösterilmiştir. Ventilasyon tüpü atıldıktan sonra genellikle perforasyon kapanır ve atrofik bir skar oluşturmaz. Miringoskleroz, ventilasyon tüpünün atılması ve kulak zarındaki perforasyonun kapanması sırasında ve sonrasında sekel ile iyileşme sonucu ortaya çıkar (1).

Histopatolojik olarak kulak zarındaki miringosklerotik odaklarda, mikrofibriller ve prokollajen filamentler düzensiz olarak artar. Lamina propriadaki artmış olan fibrosit ve kollajen fibriller, ventilasyon tüpü takılması ile hasar görür ve onarılma sırasında ilk olarak fibrojeniz başlar. Fibroblastların dejenerasyonu ve yuvarlak hücrelerin vezikülleşmesi kalsifikasyonu stimüle eder. Kollajen fibrillerin normal düzeni bozulur. Sonuçta kulak zarı, hyalen dejenerasyon ile amorf bir kitle haline dönüşür (75).

Kulak zarında meydana gelen ince skar dokusu atrofi, kalın skarlar ise timpanosklerotik plak oluşumu ile sonuçlanır. Timpanosklerotik plaklar pars tensada lokalize olurlar. Pars flaksidada timpanoskleroz görülmez. Plakların kulak zarında yerleşimi birkaç bölgede olabilir (87). Ventilasyon tüpü insersiyonu sonrasında normal kulak zarı hareketleri olmaz. Kulak zarı hareketlerindeki bu etkilenme, zarın en hareketli olduğu ön ve arka kadrantlarda belirgindir. Bu nedenle timpanosklerotik plaklar, genellikle kulak zarının ön ve arka kadrantında yerleşim gösterirler. Daha az sıklıkla da, açıklığı yukarı bakan at nalı biçimindeki odaklar şeklinde görülürler (83, 88, 89). Kulak zarında yerleşim gösteren timpanosklerotik plakların, işitme üzerine çok kötü bir etkisi olmadığı anlaşılmıştır (81). Ancak plakların gelişmesinden yaklaşık 5-7 yıl sonra işitme üzerine minimal bir etki yaptığı bildirilmiştir. At nalı şeklinde olan miringosklerozda daha fazla iletim tipi işitme kaybına rastlanır (1).

2. Orta Kulak Timpanosklerozu

Orta kulak timpanosklerozu, genellikle effüzyonlu otitis media ve kronik otitis medianın yileşme sürecinde gelişir. Orta kulak mukozasının lamina propriası içinde kalsifiye birikimler ve dejenerasyonla karakterizedir.

Orta kulaktaki timpanoskleroz, vakaların çoğunun çift taraflı olması ve ileri derecede iletim ya da mikst tip işitme kayıpları meydana getirebilmesi açısından önemlidir.

Orta kulak timpanosklerozunu, klinik olarak kulak zarının sağlam ya da perfore olmasına göre iki gruba ayırarak incelemek gerekir.

a. Kapalı tip

Bu tipte kulak zarı sağlamdır. Kapalı tip, timpanoskleroz vakalarının % 9'unu oluşturur (1). Bu olgularda genellikle, kulak zarı arka üst kadranda timpanosklerotik plak vardır. Daha az sayıdaki olguda, hem arka hem ön kadranda timpanosklerotik plak bulunur. Bazı vakalarda ise timpanosklerotik plak, kulak zarının bütün kadrانlarını tutabilir. Kapalı tip timpanosklerozun miringosklerozdan en önemli farkı, orta kulaktaki kemikçiklerin tutulumunu gösteren daha belirgin iletim veya mikst tip işitme kaybı ile birlikte olmasıdır (79). Kapalı tip timpanosklerozun ayırıcı tanısında güçlüklerle karşılaşılabilir. Gerektiğinde eksploratris timpanotomi yapmak gerekebilir. Sağlam bir kulak zarı olmasına rağmen iletim veya mikst tip işitme kaybı görülmesi nedeniyle, ayırıcı tanıda orta kulaktaki timpanoskleroz ile birlikte pek çok başka olasılık da düşünülmelidir. Bunlar arasında otoskleroz, kemikçik hasarları, konjenital kolesteatom vs. gibi nedenler bulunur (79).

b. Açık tip

Orta kulak timpanosklerozu olgularının büyük kısmında kulak zarı perforatedir. Bu perforasyonların çoğu santral olup marjinal perforasyon oranı oldukça düşüktür. Kulak zarı perfore ise orta kulak mukozası atrofik, vaskülarizasyonu az ve soluktur (1, 79). Promontoryum üzerinde ve manibrium çevresinde timpanosklerotik plaklara rastlanır. Eğer perforasyondan oval pencere nişi izlenebiliyorsa, buradaki timpanosklerotik odaklar da görülebilir. Genellikle inkudostapedial eklem ve stapes timpanosklerotik odakların içerisinde kaldığı için fark edilmez. Açık tip timpanosklerozda, akıntı ve kolesteatoma rastlanma olasılığı da vardır (1).

Gibb (68)'e göre, orta kulakta timpanosklerotik odaklar en sık promontoryum (%29), oval pencere, stapes ve inkudostapedial eklem çevresi

(%27), attik (%16) ve Fallopiyan kanal etrafında (%16) yoğunlaşmıştır. Timpanosklerotik odaklara sıklıkla promontoryum üzerinde rastlansa da bu bölgedeki plakların işitme üzerine olumsuz bir etkisi yoktur.

İnkudostapedial eklem çevresindeki plaklar, inkusun uzun kolu ve stapesi örter ve görölmelerini engeller. Sıklıkla oval pencere de tutulmuştur. Stapes ile fasiyal kanal ve stapes ile promontoryum arası doludur. Ayrıca önde ön bacak ve fasiyal kanal, arkada fasiyal kanal, eminentia pyramidalis ve stapes arası timpanosklerotik plaklarla işgal edilir. Çok nadiren timpanoskleroz tek başına ligamentum anulareyi de tutabilir. Fasiyal reses, eminentia pyramidalis ve sinüs timpani tutulmuştur. Yuvarlak pencere vakaların çoğunda serbesttir (1). Ancak stapes tabanının oval pencereye fiksasyonu da olabilir. Bazı durumlarda stapes tendonu bile kalsifiye olabilir (11).

Akyıldız ve ark. (90), olgularının % 71'inde stapes etrafında ve oval pencerede timpanoskleroz saptamıştır. Bu bölgede timpanoskleroz olmamasına karşın, attikte malleus ve inkusun tutulmuş olduğu vaka sayısı sadece % 10 olarak bulunmuştur. Yani kemikçik zincir, timpanosklerotik plaklar tarafından hem orta kulakta hem de attikte fikse edilmektedir. Bu nedenle orta kulak timpanosklerozu olan vakalarda, ciddi iletim tipi bazen de mikst tip işitme kayıpları vardır. İşitme kaybı genellikle 60 dB civarındadır ve kemikçiklerin fiksasyonuna bağlıdır. Santral perforasyonu olan otitli bir hastada, bu seviyede iletim tipi veya ileri derecede mikst tip işitme olması kaybının olması timpanosklerozu akla getirmelidir. Otik kapsülü tutan şiddetli olgularda iç kulak da etkilenebilir. Bu durum, nadiren de olsa sensörinöral işitme kaybına neden olur (11).

Timpanosklerozda işitme kaybı üç nedene bağlıdır. Bunlar;

- Kemikçiklerin fiksasyonu sonucu mobilitelerinin azalması,
- Eklem bütünlüğünün bozulması,
- Havalı timpanik boşluğun alan olarak daralmasıdır (68).

Attikteki timpanosklerotik plaklar kemikçikleri bir zarf gibi sarar ve malleus ile inkusu fikse eder. Bu bölgedeki oluşumların ve cerrahi nirengi

noktalarının görülmesini engeller. Lateral yarım daire kanalı ve fasiyal kanal ile kemikçiklerin arası ve epitimpanum, timpanosklerotik plaklar ile doludur. Bu plaklar arkada inkusun kısa kolu boyunca ve önde supratubal resese doğru da uzanabilir (1).

Timpanosklerotik plaklar temizlendikten sonra kemikçikler mukoza örtüsünden yoksun çıplak olarak ortaya çıkar. Gerek tensor timpani ve gerekse stapes kası tendonları odakların içinde sağlam olarak bulunur. Timpanosklerotik plakların, kemikçikler üzerine direkt destruktif etkisi yoktur (91). Kemikçik erozyonu, sıklıkla altta yatan orta kulak enfeksiyonuna (68) ve kemikçiklerin kan akımının plaklar tarafından bozulmasına (91) bağlı olarak gelişir. Erozyon, en sık inkus uzun kolunda olup inkudostapedial eklem bütünlüğünün bozulmasına neden olur. Ayrıca stapesde %5 ve manibrium malleide ise %3 oranında erozyon görülebilmektedir (68).

2.6.5. Timpanosklerozun Etiyopatogenezi

Timpanosklerozun etiyopatogenezi henüz net olarak ortaya konamamıştır. Timpanoskleroz, diğer orta kulak patolojilerinden farklı olarak bir lamina propria patolojisi. Fibrositler, kollajen lifleri ve kapillerden oluşan lamina propria, embriyonel hayatta orta kulak boşluğu ve mastoidi dolduran jelatinöz kıvamlı mezenşimal dokudan gelişmiştir. Mezenşimal dokunun çekilmesi ile orta kulak ve mastoid boşluklar oluşur. Bu olay doğumdan sonra da devam eder. Bu doku, doğumdan sonraki 6 ay içinde orta kulaktan, 12 ay sonra da mastoid bölgeden çekilir. Jelatinöz dokunun çekilmesinin gecikmesi, bazı araştırmacılara göre rekürren otitis mediaların, adeziv otitlerin ve timpanosklerozun nedenidir (1).

Jelatinöz mezenşimal doku multipotent bir özelliğe sahip olup, enfeksiyon ve enflamasyonun etkisi altında metaplaziye uğrar. Özellikle kolesteatom ve adeziv otitlerin gelişmesinde bu dokunun rol oynadığı düşünülmektedir (1). Ancak mezenşimal dokunun çekilmesindeki gecikmenin, timpanoskleroz gelişmesine olan katkısı konusunda henüz kesin bir kanıt yoktur. Lamina propriada timpanosklerozun nasıl geliştiği de tam olarak bilinmemektedir.

Timpanosklerozun gelişmesinde bazı ön koşulların oluşması gerektiği bilinmektedir. Bu ön koşulların başında orta kulak mukozasının rekürren veya kronik enflamasyonu gelmektedir. Timpanoskleroz gelişmesinde vücudun iyileşme reaksiyonunun da büyük önemi vardır. Ayrıca vücudun immün sistemindeki bazı faktörlerin ve allerjinin de timpanoskleroz oluşumunda önemli olduğu söylenmektedir (66, 75, 92). Otitis mediada 1,94:1 olan erkek/kadın oranının timpanosklerozda 1,6:1'ye gerilemesi, timpanoskleroz oluşumunda bir takım endokrinolojik faktörlerin de rol oynayabileceği şeklinde yorumlanmıştır (87). Timpanoskleroz insidansının, genetik yatkınlığın önemli bir risk faktörü olduğu koroner arterosklerozlu hastalarda daha yüksek olması (93), erkek ve kadınlarda farklı oranlarda görülmesi (59, 87) etyolojide genetik yatkınlığın da rolü olduğunu düşündürmektedir. Timpanosklerozun etiopatogenezinde suçlanan pek çok faktör olup, bunlardan önemli olanları şu şekilde sıralanabilir:

1. Enflamasyon

Timpanoskleroz oluşumunu başlatan en önemli faktörlerden biri enflamasyondur. Timpanoskleroz, pürülan veya seröz özellikte gelişen uzun süreli orta kulak enflamasyonuna bağlı olarak ortaya çıkabilir (78, 81). Timpanoskleroz saptanan hastaların çoğunda, genellikle otitis media öyküsü vardır (7). Otitis medianın, timpanosklerozun başlangıcı bir süreç olduğu kabul edilmektedir (72). Oluşan enflamatuar yanıt, bir takım biyoaktif moleküllerin orta kulak mukozası hücrelerini ve vaskülaritesini dolaylı olarak etkilemesi sonucu ortaya çıkar. Timpanosklerozu başlattığı kabul edilen enflamatuar yanıt, ilk olarak submukozal bağ dokusu tabakasında başlar ve zamanla lamina propriaya doğru yayılır (7).

Kronik veya rekürren orta kulak enfeksiyonları sonrasında orta kulakta granülasyon dokusu gelişir. Bu granülasyon dokusunun gelişmesi, timpanoskleroz oluşum sürecindeki ilk adımdır. Çünkü oluşan granülasyon dokusunda, lamina propriadaki kollajen liflerinin çevresinde eksuda birikimi olur. Bu eksüdanın organize olmasının timpanosklerozu zemin hazırladığı düşünülmektedir. Uzun süreli effüzyonlu vakalarda submukozada ödem ve enflamasyona bağlı oluşan postenflamatuar olaylar, fibröz tabakanın

dejenerasyonuna yol açar. Lamina propriadaki fibröz doku hasarı, kollajen liflerinin hasarına yol açan bazı faktörler aracılığı ile oluşur. İkinci neden lamina propria üzerine seröz sıvıdaki hidrolitik enzimlerin etkisidir (11, 12, 85, 94).

Tekrarlayan veya kronikleşen orta kulak enfleksiyonları, mukozada metaplazilere yol açar. Bunun sonucunda, orta kulak mukozasında yer alan salgı bezlerinin sayısı ve yaptıkları salgının kalitesi ile mukozadaki titreşim tüylerinin sayısı azalır. Orta kulak ve mastoidde ortaya çıkan debrislerin silier aktivite olmayan bölgelere toplanması ile granülasyon dokusu ve fibrozis meydana gelir. Devam eden sürecin sonunda, bu alanlarda timpanoskleroz gelişir. Kronik otitis media ve effüzyonlu otitis medianın iyileşme süresinin uzunluğu ile timpanoskleroz gelişimi arasında belirgin bir ilişki vardır. Öyle ki iyileşme süreci uzun olan kronik otitis media ve effüzyonlu otitis mediada timpanoskleroz gelişme olasılığı daha fazladır (1).

2. Doku Travması

Günümüzdeki veriler, doku travmasının timpanoskleroz gelişimde önemli bir faktör olduğunu göstermektedir. Timpanoskleroz gelişimi ile ilişkili travma, sıklıkla miringotomi ve ventilasyon tüpü insersiyonu esnasında olur. Ventilasyon tüpü insersiyonu, özellikle çocukluk yaş grubunda yaygın bir şekilde yapılan ve timpanoskleroza en sık neden olan otolojik cerrahidir (4).

En basit formu olan kulak zarı orta kısmını oluşturan liflerin aşırı gerilmesinden, ağır bir form olan kulak zarı perforasyonuna kadar olan her türlü travma, miringoskleroz gelişimine katkıda bulunabilir. Östaki tüpünün basınç düzenleme mekanizmasında aksama olduğunda, kulak zarı üzerine artmış bir basınç yükü binmekte ve sonuçta kulak zarının orta tabakasını oluşturan liflerde aşırı gerilme, hatta yırtılmalar olmaktadır. Bu liflerdeki aşırı gerilme ve yırtılmalar kulak zarında atrofi, retraksiyon ve sklerotik plakların oluşumuna yol açabilmektedir (81, 88, 95, 96).

Miringotomi ve ventilasyon tüpü insersiyonundan sonra fibrozise yol açan intraepitelial kanama olabilir. Kulak zarı içine kanamanın uzun vadede miringoskleroz gelişimi ile sonuçlanabileceğini belirten çalışmalar vardır (83, 97). Miringotomi sırasında oluşan kanamanın azaltılması, uzun dönemde

miringoskleroz gelişimini azaltabilmektedir (98). Hangi nedenle olursa olsun kulak zarına uygulanmış olan ventilasyon tüpleri, timpanoskleroz insidansında artışa sebep olurlar. Ventilasyon tüpü, kulak zarı orta kısmındaki lifleri sürekli fiziksel ve enflamatuar travmaya maruz bırakmakta ve membranın gerilim yükünde artışa sebep olmaktadır. Kulak zarının hasar gören lifleri, anormal iyileşme ile sonlanıp timpanosklerotik plak oluşumuna neden olurlar (95).

3. Otoimmün ve Allerjik Faktörler

Timpanoskleroz etyolojisinde, otoimmünite ve allerji gibi bünyesel faktörlerin de rolü olduğu düşünülmektedir. Timpanosklerozun, daha önce geçirilmiş enflamatuar atağa bağlı sensitize olmuş kulakta ortaya çıkan otitis mediaya bağlı olarak gelişen bir immün kompleks reaksiyonu olduğu vurgulanmıştır (75). Enfeksiyonun, otolitik enzim üretimi ve ödeme bağlı kulak zarı lamina propriasını hasara uğrattığı belirtilmiştir. Yıkım ürünleri, dokuyu sensitize eden antijenik uyarılar şeklinde davranırlar. Bir sonraki enfeksiyonda komplemanın rol aldığı güçlü bir immün yanıt oluşur. Önceden bir antijene karşı duyarlaşmış organizmanın yeniden antijenle karşılaşması sonucu gelişen immünolojik yanıtın, bu şekilde timpanoskleroz gelişimine neden olabileceği belirtilmiştir (75). HLA antijenlerinin bazı tiplerinin de patogeneizde endikatör veya mediatör olarak rol oynayabilecekleri de gösterilmiştir (99).

Timpanoskleroz gelişmesinde rol oynadığı düşünülen bir diğer neden de allerjidir. Zöllner (100), timpanosklerozun embriyolojik mezenşimal doku artıklarının allerjik insanlarda gösterdiği değişik bir reaksiyon olduğunu belirtmiştir. Operasyon sırasında alınan mukoza biopsilerinde, eozinofilik infiltrasyon gösterilmiştir. Ayrıca timpanosklerotik hastalarda kutanöz ve mukozal allerjik hastalıklara sık rastlanmaktadır (92, 101).

Bu konuda bir görüş birliği olmamakla birlikte, effüzyonlu otitis medialı çocuklarda allerji belirteçlerinin yüksek bulunması ve timpanoskleroz görülme sıklığı, effüzyonlu otitis media etyolojisinde de allerjik mekanizmaların rolü olduğunu düşündürmektedir. Effüzyonlu otitis medialı olguların en azından bir kısmında, allerjik etyoloji olabileceği ve bu olgularda ventilasyon tüpü

insersiyonunu takiben miringoskleroz görölme ihtimalinin de yüksek olduğu bildirilmiştir (92).

4. Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest oksijen radikalleri, oldukça reaktif moleküller olup dokulardaki lipit, protein, karbonhidratların kimyasal yapısını ve DNA'yı hasara uğratırlar. Serbest oksijen radikalleri, normal oksidatif metabolizma sırasında ortaya çıkabildikleri gibi enflamasyon, oksijen toksisitesi, perfüzyon iskemisi, radyasyona maruziyet ve fagositik hücrelerin aktive olmaları gibi durumlarda da üretilirler (102, 103). Nitrik oksit ve diğerk serbest oksijen radikalleri, sitokinler ve enflamatuar mediatörlerin intrasellüler ve ekstrasellüler etkileri sonucu üretilirler. Başta PMNL ve makrofajlar olmak üzere, pek çok enflamatuar hücre serbest oksijen radikalleri üretir (64).

İnsanda orta kulak kavitesi normal şartlarda %5-10 arasında oksijen içeririr. Kulak zarı perforasyonu veya ventilasyon tüpü insersiyonu sonrası bu oran artar (84, 104). Kulak zarı perforasyonu ve ventilasyon tüpü insersiyonu, dış havanın orta kulak kavitesine ulaşmasına ve sonuçta hiperoksiye neden olur. Bu hiperoksiye bağılı olarak serbest oksijen radikallerinin üretiminin artması, sklerotik plak oluşumunda rol oynayan süreci başlatır (64, 84). Dikkat çekici bir diğerk bir durum da, kronik otitis medialis hastalardaki kulak zarı perforasyonu nedeniyle hiperoksik bir ortam ve enflamasyon olmasına rağmen, timpanosklerozun bazı hastalarda gelişip diğerklerinde gelişmemesidir. Bu durumun, vücut ve orta kulaktaki serbest radikal-antioksidan seviyesi oranı ile ilgili olabileceğı bildirilmiştir (64).

Vücuttaki oksijenin büyük bir kısmı, mitokondrilerdeki sitokrom oksidaz enzimi tarafından suya indirgenir. Bazı dokularda bu enzim yeterli miktarda bulunmadığından indirgenme olmaz ve ortama serbest oksijen radikalleri salınır (102). Normal koşullarda koruyucu enzim sistemleri ve antioksidanlar, vücutta hazır halde bulunup serbest oksijen radikallerinin oluşturacağı doku hasarına karşı koruyuculuk görevi görürler. Ancak hastalık durumunda vücuttaki antioksidan savunma sistemi zayıfladığında, serbest oksijen radikallerinin seviyesi artar ve doku hasarına katkıda bulunurlar (105). Antioksidan savunma elemanları, hücre içi ve hücre dışı ortamda farklıdırlar.

İnsanda başlıca hücre içi antioksidanlar; süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleridir. Süperoksit dismutazın yapısında bakır, çinko ve manganez, glutatyon peroksidazın yapısında ise selenyum iyonu bulunduğundan, bu enzimler metaloenzim olarak da adlandırılırlar. Hücre içi ortamın aksine hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan E ve C vitamini, transferrin, haptogloblin, seruloplazmin, albümin, bilirubin, P-karoten ve alfa-1 antitripsin sorumludur (106).

Bilinen en önemli serbest oksijen radikalleri, normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($OH^\bullet$)'dir. Süperoksit radikalinin fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleşmesi sonucu, bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitrit; azot dioksit, hidroksil radikali ve nitronyum iyonu gibi toksik ürünlere dönüşebilir ki nitrik oksitin zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur (107).

Dokularda geri dönüşümsüz hasarları önlemek, bunları onarmak veya çeşitli mekanizmalar tarafından onarılabilecek düzeyde tutmak, serbest oksijen radikallerinin veya reaktif moleküllerin kontrol altında tutulmasına bağlıdır. Böylece kulak zarı ve orta kulağın fibröz tabakasındaki hasar engellenebilir. Bu amaçla, timpanoskleroz oluşumunu önlemeye yönelik pek çok ilaç ve antioksidanın kullanıldığı çalışmalar yapılmıştır (108).

Nitrik Oksit ve İnducible Nitrik Oksit Sentetaz (İNOS)

Nitrik oksit sentetaz, patojenleri öldürme yeteneğine sahip radikal moleküllerden biri olan nitrik oksiti üreten bir enzimdir. Bu enzimin 3 izoformu vardır. Bunlardan biri, inducible nitrik oksit sentetaz (İNOS) olarak adlandırılır. İNOS; aktive olmuş makrofajlar, PMNL ve TNF-alfa ile interlökin-1 tarafından uyarılan vasküler düz kas hücreleri tarafından salgılanır. Diğer subtipleri ise, nöronal doku tarafından salgılanan nöronal nitrik oksit sentetaz ve endotel hücreleri tarafından salgılanan endotelyal nitrik oksit sentetazdır (109).

Nitrik oksit; PMNL, makrofajlar, endotel hücreleri ve sitokinlerin uyardığı osteoblastlar tarafından salgılanır (109). Salgılanan nitrik oksit, düz kas hücreleri içerisine diffüze olarak vazodilatasyona neden olur. Ayrıca,

gastrointestinal, kardiyovasküler ve ürogenital sistemdeki immün regülasyonda da rol oynar. Fizyolojik fonksiyonları yanında, septik şok, hipertansiyon, serebrovasküler olaylar, epilepsi ve nörodejeneratif hastalıklar gibi durumlarda da görev alır (110). Ancak nitrik oksitin bilinen en önemli fonksiyonu, enflamatuvar yanıtta rol oynamasıdır (109).

Kalsiyum metabolizması ile ilgili pek çok protein molekülü vardır. Osteopontin (OPN), osteonektin, osteoprotegerin, osteocalcin, calcium sensing receptor (CaSR), calpain, calbindin, calretikülün, calmodulin bunlardan bazılarıdır.

Biz çalışmamızda, immünohistokimyasal olarak OPN ile CaSR varlığını araştırdık.

Osteopontin (OPN)

OPN, kemiğin major asidik fosforilize glikoproteinidir. Yaklaşık olarak 44 kilo-dalton ağırlığında olup arginin, glisin ve aspartat aminoasitlerini içerir (111). Genellikle osteoblastlar, osteoklastlar ve enflamasyon alanındaki aktive makrofajlar tarafından salgılanır. OPN, hidroksiapatite bağlanmaya yüksek affinite gösterir. Kemik yapımında ve kalsifiye dokulardaki mineralizasyonda düzenleyici rol oynar (111, 112). Kemik yapımındaki fizyolojik kalsifikasyon görevi yanında, aterosklerotik plak ve aort kapağındaki patolojik kalsifikasyonlarda da rol oynar (111, 113). Ayrıca tümörögenезis, metastazlar, bakteriyel enfeksiyonları önleme ve yara iyileşmesinde de etkisinin olduğu söylenmektedir (114). OPN, timpanosklerozlu doku örneklerinde normale göre daha yüksek oranda saptanmıştır. Böylece, OPN'nin bir patolojik kalsifikasyon olan timpanoskleroz gelişiminde de rol oynadığı düşünülmektedir (112, 115).

Calcium Sensing Receptor (CaSR)

CaSR, G-protein grubundan olup, protein yapıda bir moleküldür. CaSR, paratiroid glandlardan parathormon salgılanmasını ve böbreklerden kalsiyum atılımını düzenleyerek kalsiyum metabolizmasında düzenleyici rol oynar. Ayrıca, osteoblastların çoğalmasını ve kemotaksisini uyararak mineralizasyon ve kemik yapımında düzenleyici etki yapar (116). CaSR;

kemik ve kıkırdak dokusu, kemik iliği hücreleri, kondrojenik, osteoklastik ve osteoblastik hücre serilerinden, nöronlar ve oligodendrisitler, memenin duktal epitelyal hücreleri, pankreatik asiner ve ada hücreleri, paratiroid bezi, böbrek ve gastrointestinal sistem gibi çeşitli doku ve hücrelerden salgılanır (116, 117).

Farklı dokularda farklı etkileri olan CaSR'ın en önemli görevi, kalsiyum metabolizmasının regülasyonu ve kemik yapımının regülasyonudur (116). Osteoklastların kemik rezorbsiyonu yapması sonucunda, ortamdaki ve ekstrasellüler alandaki kalsiyum seviyesi yükselir. CaSR, yüksek kalsiyum seviyesini algılayarak preosteoblastların yeni kemik yapımı olacak bölgeye doğru hareket etmelerini, matür osteoblastlara farklılaşmalarını ve bunların fonksiyonel hale gelmelerini sağlar. Sonuçta fizyolojik kemik yapımının başlamasını neden olur. CaSR eksikliğinin, Rikets ve Osteomalazi gibi hastalıklarda olduğu gibi anormal mineralizasyonla sonuçlandığı bildirilmiştir. Bu sonuç, CaSR'ın kemik mineralizasyonu için önemli olduğunu göstermektedir (116).

2.6.6. Timpanosklerozun Tedavisi

Timpanosklerozun henüz etkinliği kanıtlanmış tedavi yöntemi bildirilmemiştir. Cerrahi dışında kesin küratif tedavisi yoktur. Ancak cerrahi sonrası hastalığın nüks etme olasılığı yüksektir ve işitme kazancı da azdır (11, 64). Timpanosklerozun tedavi yaklaşımı üç ana başlık altında toplanmaktadır.

1. Koruyucu Tedavi

Koruyucu tedavideki amaç, timpanoskleroz oluşmasını engellemektir. Bu amaçla akut ve effüzyonlu otitis media atakları çok etkili bir şekilde hiç vakit kaybedilmeden tedavi edilmelidir. Akut otitis medianın yetersiz tedavisi, timpanoskleroz gelişiminde önemli etkenlerden biridir. Ayrıca adenoid hiperplazisi, yarık damak, allerji vb. otitis media oluşmasını kolaylaştıran risk faktörleri ortadan kaldırılmalıdır. Bilindiği gibi kulak zarı içine olan intraepitelyal kanamalar, miringoskleroz gelişiminde suçlanmaktadır (83, 97).

Bu nedenle ventilasyon tüpü insersiyonu esnasında, miringotomi bölgesi çok gerekmedikçe aspire edilmemelidir.

2. Medikal Tedavi

Timpanosklerotik odaklarda distrofik kalsifikasyonun önlenmesi amacıyla kalsiyum kanal blokörleri kullanılabilir. Bu amaç için en sık "diltiazem" kullanılmaktadır. Bağ dokusunun fibrilleri, son derece aktif ve çoğu zaman hastalıklarda en fazla reaksiyon veren dokulardır. Prostoglandinlerin ve kortikosteroidlerin, bu dokunun patolojik gelişimini yavaşlattığı düşünülmektedir (118). Yapılan çalışmalarda, E vitamini (105,119), N-asetilsistein (120), selenyum (121), askorbik asit (122), bakır çinko superoksit dismutaz ile katalaz karışımının ve deferroksaminin (84), timpanoskleroz gelişimini önledikleri gösterilmiştir. Ancak bunlar henüz çalışma aşamasında olup, klinik etkinlikleri açısından kapsamlı çalışmalar yapılması gerekmektedir.

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

3. Cerrahi Tedavi

Timpanosklerozun önerilen en etkili tedavi yöntemi cerrahidir. Ancak timpanoskleroz cerrahisinin işitme kaybının artması ve hastalığın tekrarlaması gibi riskleri vardır (123). Ayrıca cerrahi esnasında iatrojenik sensörinöral işitme kaybı gelişme olasılığı da akılda tutulmalıdır. Wielinga ve Kerr (77)'e göre, bu hastalarda cerrahinin faydası şüphelidir. Özellikle epitimpanum etkilendiğinde, sıklıkla malleus başı ve inkus gövdesi fiksasyonu olur. Böyle bir olguda, cerrahi olarak timpanosklerotik plakları kemikçiklerden serbestleştirmek ve işitme kazancı sağlamak zordur (11).

Timpanoskleroz cerrahisindeki amaç, ileri derece iletim tipi işitme kayıplarını cerrahi yöntemlerle ortadan kaldırmak ya da hastaya sosyal hayatı için gerekli olan işitme fonksiyonunu kazandırmaktır.

Timpanoskleroz cerrahisi, şunları amaçlamalıdır;

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

- Primer hastalığın nüksünün önlenmesi (77).

Wielinga ve Kerr (77), timpanosklerozu cerrahi girişim ve tedavi seçimi yönünden 4 tipte incelemiştir:

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

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

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

Tip 4: Kemikçiklerin tümü fiksedir.

Timpanoskleroz cerrahisinde, iki aşamalı timpanoplasti önerilir. Çünkü kemikçik zincirini hareketli hale getirebilmek için vakaların çoğunda stapesi kaldırmak ve tabanı açmak gerekmektedir (1). Özellikle stapes ve stapes tendonunu ileri derecede fikse eden timpanosklerotik plakların varlığında, bunların temizlenmesi zordur ve bu tür olgularda stapedektomi yapmak gerekebilir (68). Cerrahi esnasında, bazen stapes etrafındaki timpanosklerotik plaklar kaldırıldıktan sonra stapesin mobilizasyonu sağlanabilir. Tos (67), stapedektominin yerine plakların kaldırılmasını ve sonrasında mümkünse stapesin mobilize hale getirilmesini önermektedir.

Perfore kulaklarda labirentin açılması labirentizasyon ve nörosensorial işitme kaybı riskini yükseltir. Bu nedenle perfore timpanosklerozlu hastalarda önce kulak zarının greftlenmesi ile kapalı bir boşluk oluşturulmalı, bundan 6 ay sonra stapedektomi yapılmalıdır (1, 91). Fikse malleus varlığı durumunda, kulak zarının greftlenmesinden sonra plaklar çıkarılarak malleus mobilizasyonu yapılabilir. Erode inkus ve stapes fiksasyonu durumunda, yine iki evreli tedavi önerilir. İlk evrede plaklar temizlenir, kulak zarı greftlenir. İkinci evrede stapes başı ile malleus ya da kulak zarı arasına protez konulur (91). Stapesi hareketli hale getirmek için teflon piston protez ya da arka yarısı çıkarılmış ve greftlenmiş bir taban ile ameliyattaki başarı şansı yükseltilmeye çalışılır. Eğer inkusun uzun kolu eksik veya kullanılamaz durumda ise TORP protez uygulaması yapılır (1).

Timpanoskleroz saptanan hastalarda hücreler ve kan damarları büyük ölçüde kaybolmuştur. Greftlerin beslenme şansı normal timpanoplastilere göre düşüktür. Bu durumu düşünerek temporal fasia grefti yerine perikondriumlu kıkırdak greftler tercih edilmelidir. Greft tutma şansını arttırmak için on-lay tekniği tercih edilmelidir. Çünkü alttan konulan greftin beslenme olasılığı düşüktür (1).

İki taraflı ve ileri derecede iletim tipi işitme kaybı olan santral perforasyonlu olgularda ya da timpanoplasti ameliyatlarının başarısız olduğu olgularda, kemik yolu implantları kullanılabilir. Bu implantlar, perkutan ve transkutan olmak üzere iki tiptir. Perkutan tipte implant doğrudan temporal kemiğe implante edilir. Transkutan tipte ise implant kulak arkasına vidalanır. Kemik yolu kaybı perkutan tipte 25 dB'i geçmemelidir. Transkutan tipte ise 35-40 dB olabilir (1).

Timpanoskleroz cerrahisindeki tedavi sonuçları, diğer ossiküloplasti (otoskleroz cerrahisi dahil) sonuçları ile karşılaştırıldığında oldukça kötüdür. Sadece Tip 1 timpanoskleroz olan olguların cerrahi sonuçları iyidir. İatrojenik sensorinöral işitme kaybının da olabileceği düşünülürse, Tip 3 ve Tip 4 timpanosklerozu olan olgularda cerrahi tedaviye alternatif hatta öncelikli olarak işitme amplifikasyonu düşünülmelidir (77).

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, Temmuz 2008 ile Ağustos 2009 tarihleri arasında Gülhane Askeri Tıp Akademisi Araştırma ve Geliştirme Merkezi Cerrahi Araştırma bölümünde yapılmıştır. Çalışmaya, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Araştırma Bilimsel Kurulu ve Hayvan Deneyleri Kurulu'nun onayı alındıktan sonra (Karar sayısı: 06/116, Karar tarihi: 01.12.2006) başlanmıştır.

Çalışmaya 80 adet, 220-280 gr. ağırlığında, 12-16 haftalık, erkek Sprague Dawley cinsi rat alındı. Çalışmaya alınan ratlardan effüzyonlu otitis media saptanan 1 adet rat ile postoperatif dönemde ölen 4 adet rat çalışma dışı tutuldu. Çalışmaya otomikroskopik muayenelerinde her iki kulak zarı intakt ve sağlıklı olan 75 adet rat ile devam edildi. Çalışma için ratların sağ kulakları kullanıldı. Sol kulaklar ise kontrol grubu olarak alındı.

Cerrahi öncesi tüm ratlara, 90 mg/kg Ketamin hidroklorür (Ketalar® flakon) ve 10 mg/kg Ksilazine (Alfazyne® flakon) karışımı intramusküler yolla verilerek anestezi sağlandı. Ratlar yapılacak işlem açısından 3 farklı gruba, her üç grup da kendi içinde zamana göre 5 alt gruba ayrıldı (Tablo 3.1).

İşlem yapılan ratlar, şu şekilde gruplandırıldı;

Grup 1 (Tüp insersiyonu grubu): Sadece tüp insersiyonu yapılan grup,

Grup 2 (Östaki blokajı grubu): Sadece östaki tüpü blokajı yapılan grup,

Grup 3 (Östaki blokajı+Tüp insersiyonu grubu): Östaki tüpü blokajı ve tüp insersiyonunun birlikte yapıldığı grup.

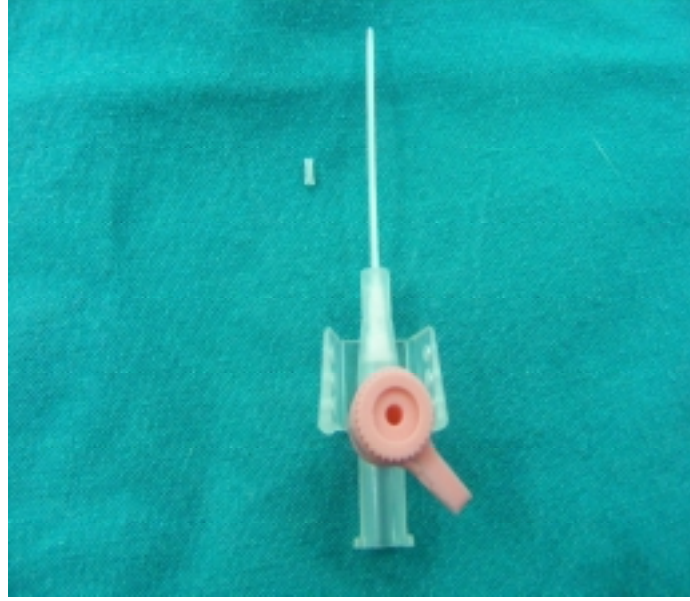
Tablo 3.1. Çalışma grupları ve rat sayıları

GRUPLAR	İNCELEME SÜRESİNE GÖRE RAT SAYILARI				
	3.gün	10.gün	1.ay	3.ay	6.ay
Tüp insersiyonu (n=25)	5	5	5	5	5
Östaki Blokajı (n=25)	5	5	5	5	5
Östaki Blokajı + Tüp insersiyonu (n=25)	5	5	5	5	5
Kontrol (n=75)	15	15	15	15	15

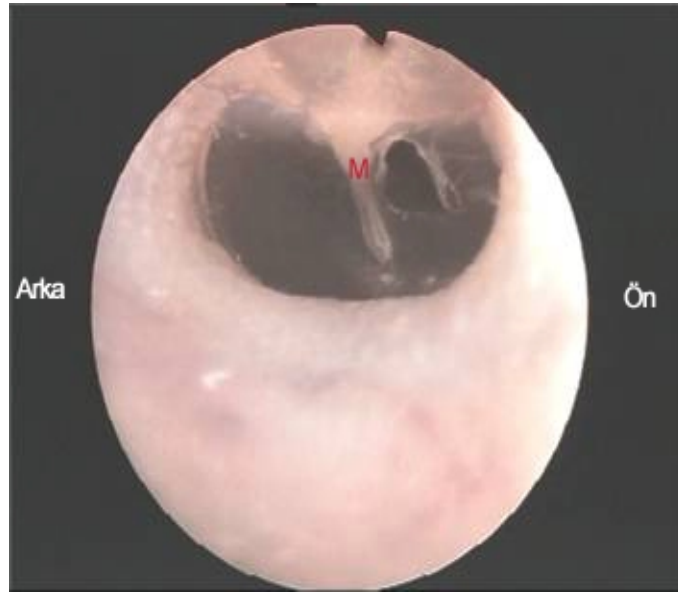
3.1. Cerrahi İşlemler

3.1.1. Ventilasyon Tüpü İnsersiyonu

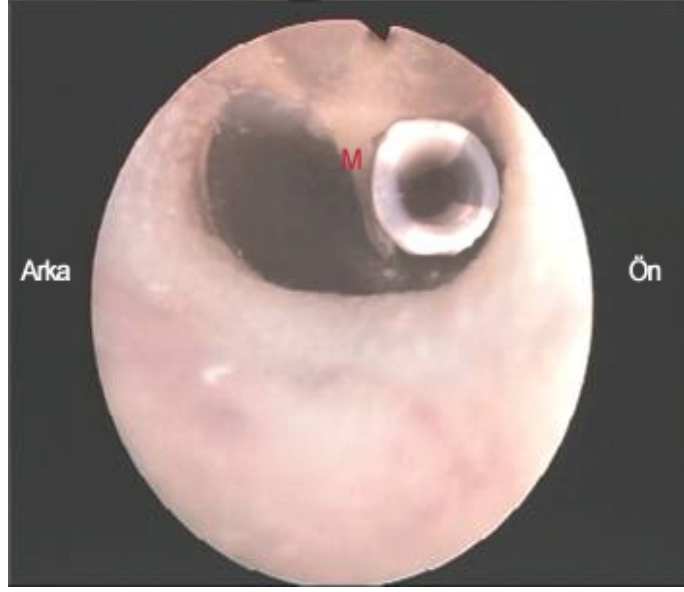
Tüp materyali olarak, 20 gauge plastik anjioket ucu (B. Braun Melsungen AG, Germany) kullanıldı. Anjioket ucundan hazırlanan 2,5 mm'lik parçalar tüp olarak kullanıldı (Şekil 3.1). Genel anestezi altında steril şartlar sağlandıktan sonra, ameliyat mikroskobu (World Precision Instrument, USA) eşliğinde kulak zarı ön kadranına miringotomi yapıldı ve tüpler kulak zarına yerleştirildi (Şekil 3.2 ve Şekil 3.3).



Şekil 3.1. Anjioket ve hazırlanan 2,5 mm'lik ventilasyon tüpü



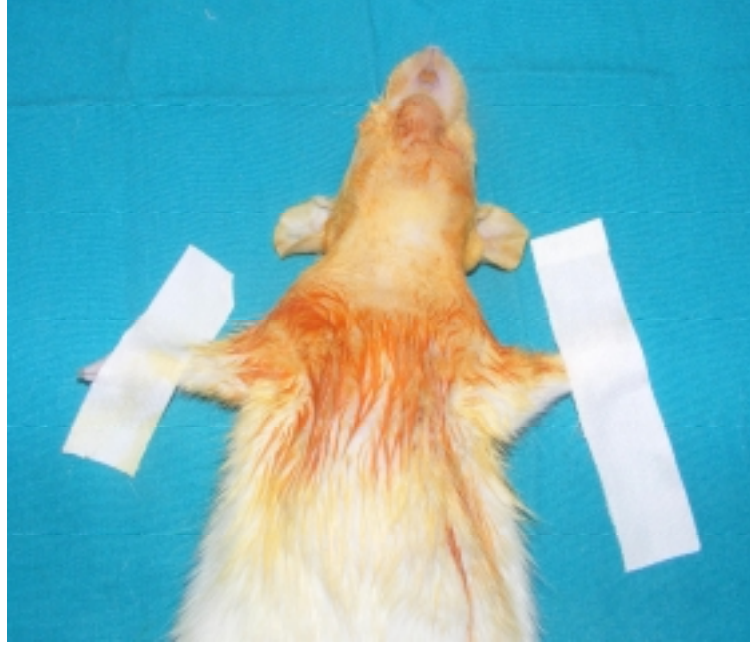
Şekil 3.2. Kulak zarı ön kadranına yapılan miringotomi (Sağ kulak, M: Malleus)



Şekil 3.3. Ventilasyon tüpünün kulak zarındaki görünümü (Sağ kulak, M: Malleus)

3.1.2. Orta Kulak Bullası ile Östaki Tüpünün Bulunması ve Östaki Tüpü Blokajı

Anestezi sağlandıktan sonra, ratlara sırtüstü pozisyon verilerek boyun bölgesi hiperekstansiyona getirildi (Şekil 3.4). Uygun steril şartlar sağlandıktan sonra, sağ mandibula angulusundan boyun orta hattına doğru uzanan yaklaşık 2 cm'lik horizontal insizyon ile cilt, cilt altı, süperfisiyal fasiya, platisma ve derin fasiya geçildi (Şekil 3.5).



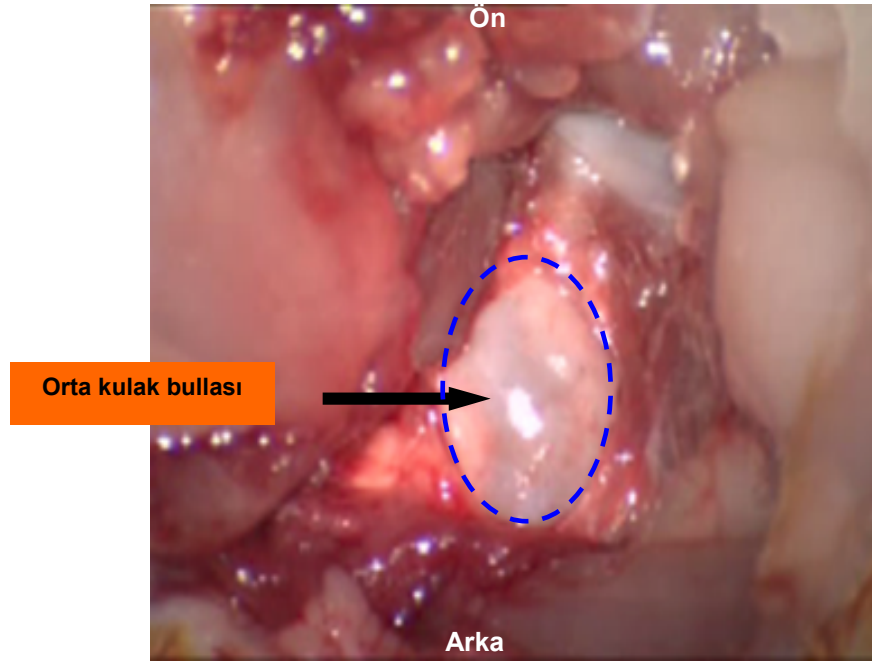
Şekil 3.4. Ratın sırtüstü pozisyonu



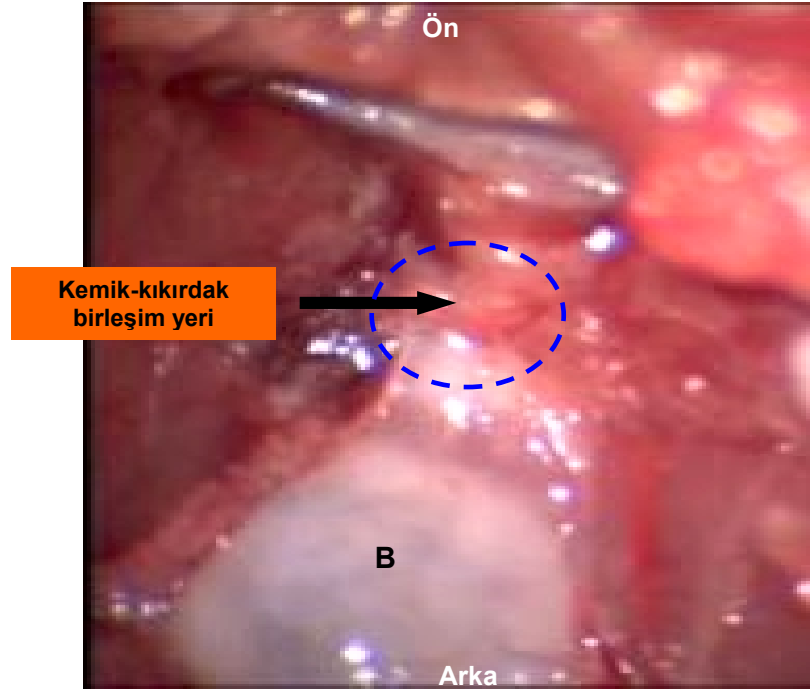
Şekil 3.5. Boyun ön yüzüne yapılan horizontal insizyon

Daha sonraki aşamalar, ameliyat mikroskobu ile yapıldı. Anterior ve posterior subplatizmal flepler eleve edildi. Masseter kasının medial kısmı anteriora, sternokleidomastoid adale ve sternomastoid kaslar posterolaterale çekilip bu bölgenin derin diseksiyonu ile orta kulak bullasının ön yüzü ortaya

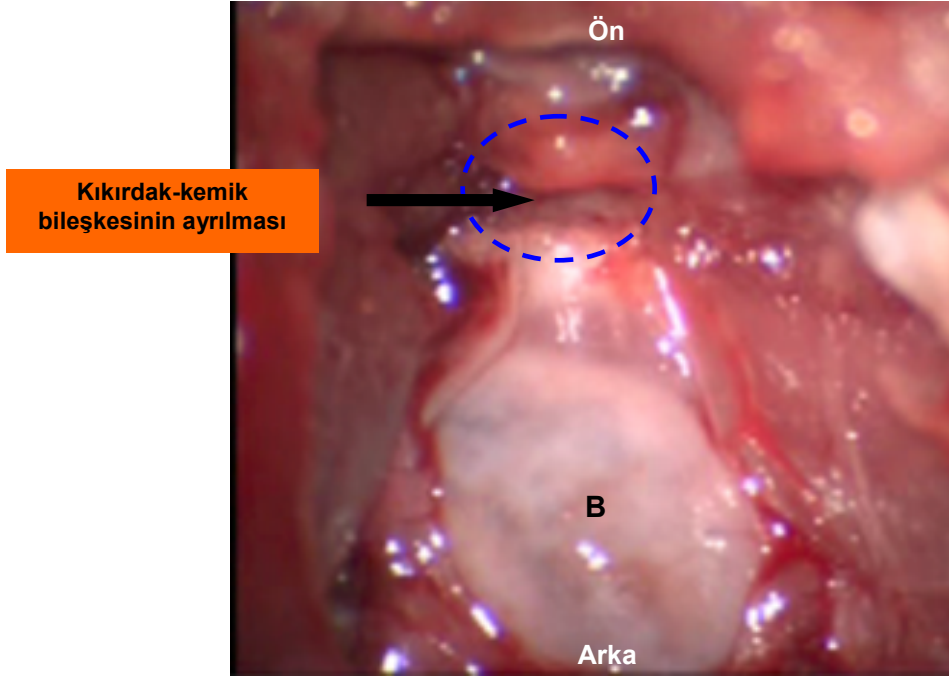
konuldu (Şekil 3.6). Orta kulak bullası lokalize edildikten sonra, ventral yüzden anteromedial yönde nazofarenkse doğru diseksiyona devam edildi. Östaki tüpünün 1/3 kemik kısmı ve 2/3 kıkırdak kısmı görüldü (Şekil 3.7). Östaki tüpünün kemik ve kıkırdak birleşim yeri, ince uçlu makas yardımı ile ayrılarak (Şekil 3.8), tüpün kemik kısmının girişi Bone-wax (Ethicon, Edinburg, England) ile tıkandı (Şekil 3.9).



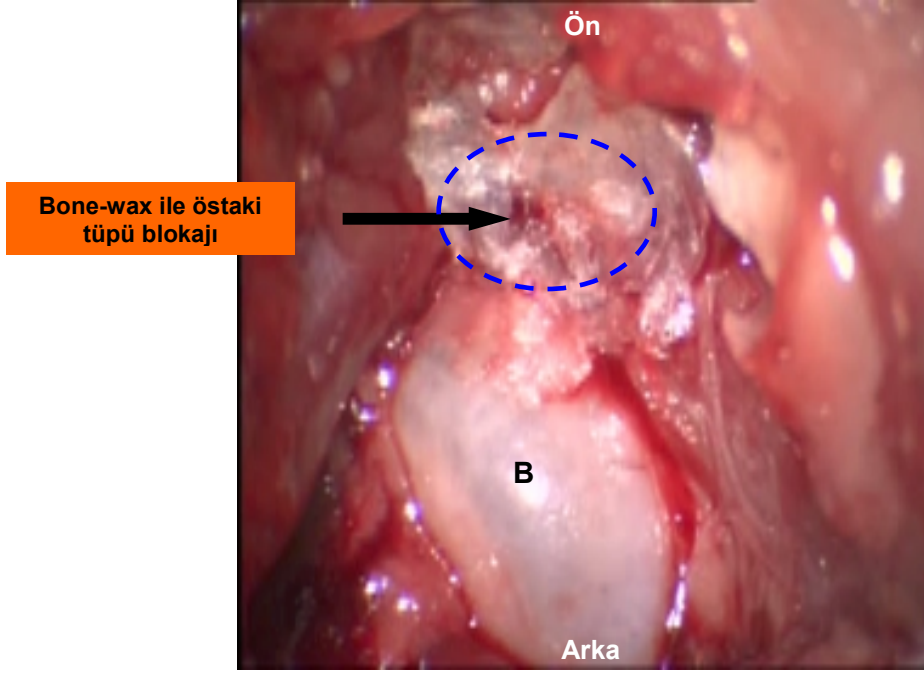
Şekil 3.6. Orta kulak bullasının bulunması



Şekil 3.7. Östaki tüpünün kemik-kıkırdak birleşim yeri (B: Bulla)



Şekil 3.8. Östaki tüpünün kemik ve kıkırdak birleşim yerinin ayrılması (B: Bulla)



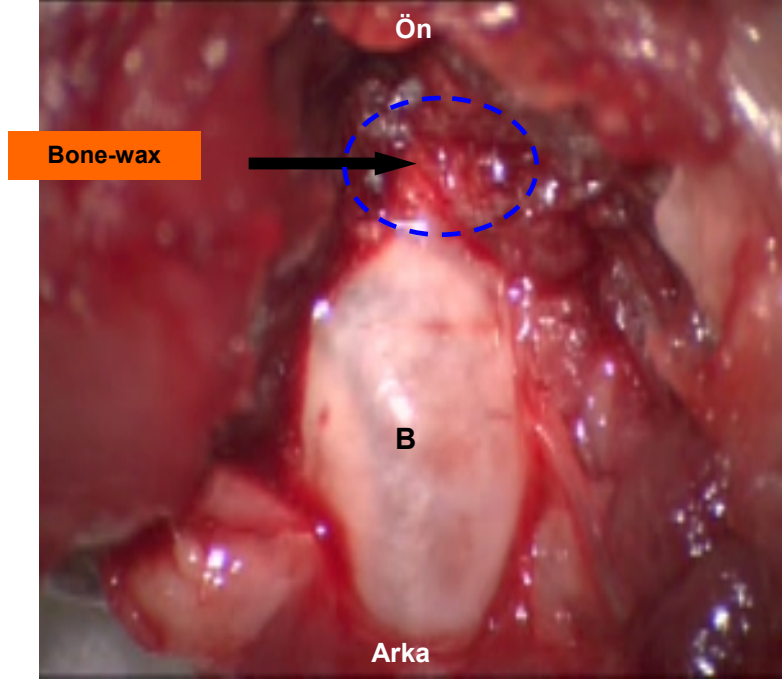
Şekil 3.9. Bone-wax ile östaki tüpü blokajı (B: Bulla)

İşlem bittikten sonra yara yeri enfeksiyonunu önlemek amacıyla, cerrahi saha Rifocin (Rif® ampül, 3 ml) ile yıkanarak cilt altı 4.0 vikril, cilt 3.0 ipek ile suture edildi. Yapılan işlemlerden sonra ratlar ayrı ayrı kafeslere konuldu. Kafeslerin üzerine işlem yapılan tarih, zaman dilimi ve hangi grup olduğu yazılarak işaretleme yapıldı.

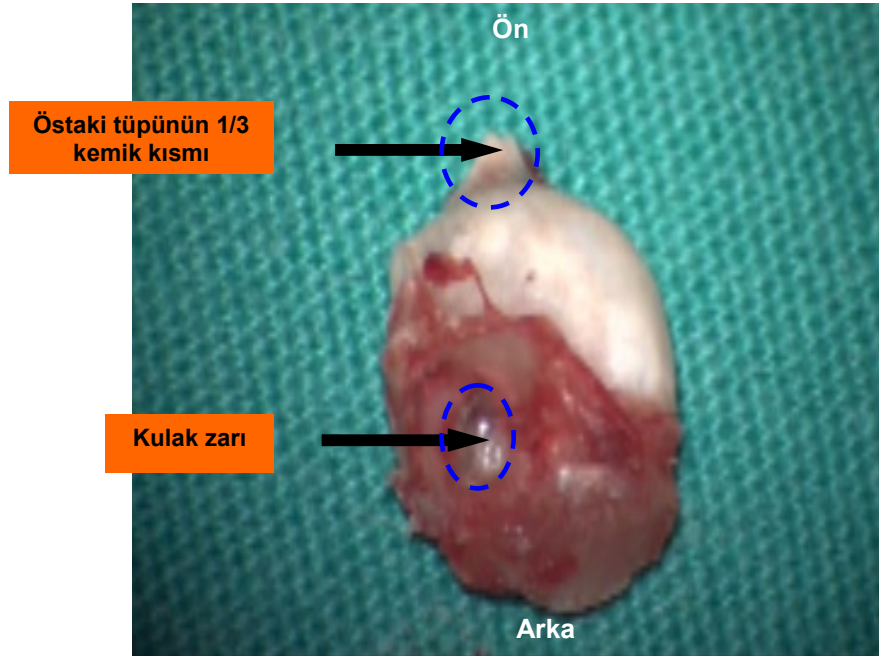
3.1.3. Ratların Sakrifiye Edilmesi ve Orta Kulak Bullasının Çıkarılması

Ratlar, belirlenen zaman dilimlerinde (postoperatif 3 ve 10. gün, 1, 3 ve 6. ay) 150 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar® flakon) intraperitoneal yolla verilerek sakrifiye edildiler. Ratların sakrifiye edilmesinden sonra, orta kulak bullası ve östaki tüpünün bulunması işlemi esnasında olduğu gibi sırtüstü pozisyon verilerek benzer şekilde sağ ve sol orta kulak bullaları bulundu. Bullanın bulunmasından sonra ventral yüzden anteromedial yönde nazofarenkse doğru diseksiyonla ilerlenerek, östaki tüpü blokajı için kullanılan Bone-wax'ın yerinde olduğu görüldü (Şekil 3.10). Sağ ve sol orta kulak bullası östaki tüpünün 1/3 kemik kısmını, dış kulak yolunun bir kısmını ve kulak zarı

da içine alacak şekilde makas yardımı ile çevre yapılardan ve kraniyumdan serbestleştirilerek çıkarıldı (Şekil 3.11).



Şekil 3.10. Östaki blokajı için kullanılan Bone-wax'ın 6 ay sonraki görünümü (B: Bulla)



Şekil 3.11. Dışarı alınan orta kulak bullası

3.2. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal İnceleme

3.2.1. Doku Takibi ve Hematoksilen Eozin Boyama

Ratların sağ ve sol kulak zarı ile orta kulak bullası bir bütün olarak, histopatolojik ve immünohistokimyasal inceleme için %10'luk formaldehit içerisinde patoloji laboratuvarına gönderildi. Dokular 24 saat süreyle %10'luk formaldehit içerisinde bekletildi. Sert olan orta kulak bullası materyallerini yumuşatmak için, dokular %5'lik nitrik asit içerisinde bekletildi. Asit içinde yumuşatılan dokular musluk suyunda yıkandıktan sonra doku takibine alındı. Dokular, takip için önce %97'lik iki farklı alkolde, daha sonra üç ayrı ksilende birer saat ara ile bekletildi. Daha sonra üç ayrı parafinde 30 dakika süre ile bekletilen dokulardan parafin bloklar hazırlandı. Bloklardan 5 mikronluk kesitler alınarak her olgunun kesitleri ayrı lamlara alındı.

Hematoksilen eozin boyamaya geçildi. Hazırlanan kesitler, parafini eritmek için 65 °C'de 25 dakika bekletildi. Kesitler, %97'lik üç ayrı alkolde ve sonra üç ayrı ksilende 10 dakika süre ile bekletildi. Kesitler musluk suyunda 2 dakika yıkanıp, 4 dakika hematoksilende ve 2 saniye asit alkolde bekletildi. Bundan sonra amonyaklı suda 2-3 saniye bekletilen ve tekrar musluk suyunda yıkanan kesitler eozinde 1 dakika süreyle bekletildi. Bu işlemten sonra tekrar yıkanan kesitler önce %97'lik iki ayrı alkolde ve daha sonra iki ayrı ksilende 2 dakika süre ile bekletildi. Boyanması tamamlanan kesitler, kapatılarak değerlendirmeye hazır hale getirildi.

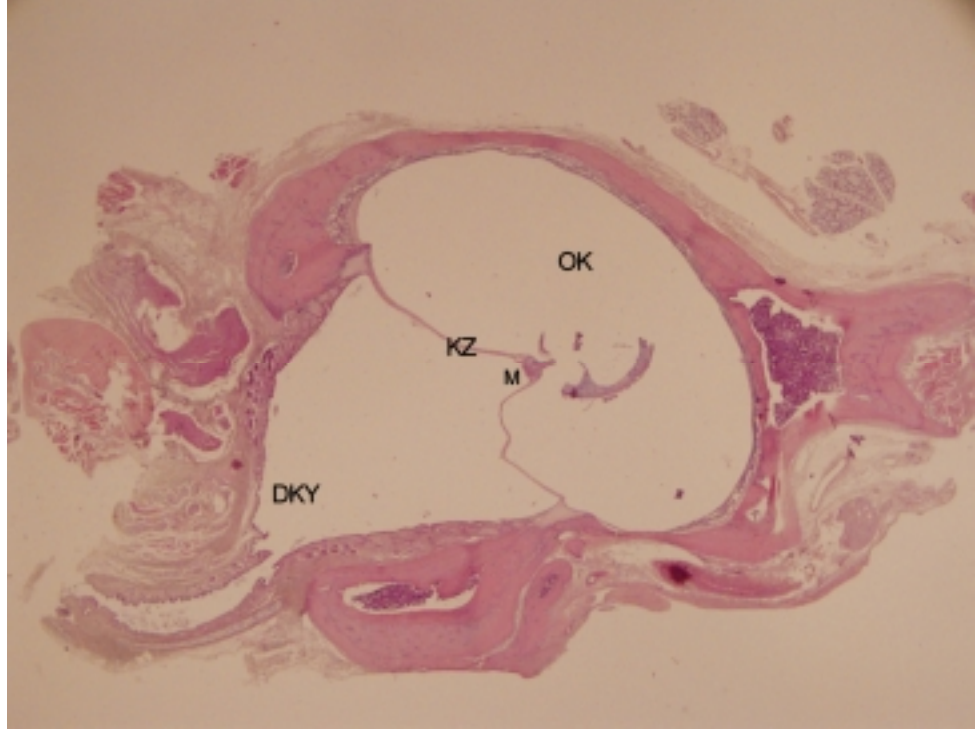
3.2.2. İmmünohistokimyasal Boyama

Olguların İNOS, OPN ve CaSR antikorları ile boyanmalarını belirlemek için, formaldehit ile fikse parafine gömülü dokulardan Poly-L-Lysine ile kaplı lamlara 5 mikronluk kesitler alındı. Antikor tasarrufu yapmak ve değerlendirmenin daha kolay olması için, aynı antikor ile boyama yapılacak altı olguya ait kesitler aynı lam üzerine numaralandırılarak alındı. Tüm kesitler deparafinize edilmek üzere etüvde 65 °C'de 30 dakika bekletildi. Önce iki ayrı ksilende, daha sonra iki ayrı %97'lik alkolde 5 dakika süre ile bekletilen kesitler deparafinize edildi. Distile suda 5 dakika yıkandı. Mikrodalga fırında ilk ikisi 800 devirde, diğer ikisi 1000 devirde olmak üzere 5 dakikalık süreler

ile sitrat buffer uygulaması yapıldı. Kesitler 20 dakika boyunca oda ısısına gelene kadar bekletildi ve distile su ile yıkandı. Kesitlerin etrafı kurularak cam kalemi ile çizildi ve 2 dakika PBS (Phosphate Buffered Saline)'de bekletildi. % 3'lük hidrojen peroksit ile 10 dakika inkübasyondan sonra yine PBS'de 2 dakika bekletildi. Zemin boyamasını engellemek için Ultra V Blok solüsyonu damlatılarak 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Kesitlerin etrafındaki ıslaklık kurularak, İNOS (İNOS Polyclonal Antibody, Assay Designs, Ann Arbor, MI USA), OPN (OPN Mouse monoclonal IgG1, Sanra Cruz Biotechnology, USA) ve CaSR (Anti Calcium Sensing Receptor Antibody/Rabbit Polyclonal IgG, Affinity BioReagents, USA) antikorları dilüent solüsyonu (Large Volume UltraAb Diluent, Lab Vision, USA) ile sırasıyla 1/100, 1/200 ve 1/200 oranlarında dilüe edilerek her bir antikor solüsyonu kendisi için hazırlanmış kesitleri kaplayacak şekilde ayrı ayrı damlatılarak 2 saat süre ile inkübasyona bırakıldı. İki dakika PBS'de bekletilen kesitler, 20 dakika süre ile biotinlenmiş sekonder antikorlar (Biotinylated Mouse-Rabbit IgG, Diagnostic Bisystems, Netherland) ile temas ettirildi. Yine 2 dakika PBS'den geçirildikten sonra 20 dakika süreyle Avidin-Biotin Kompleks (Streptavidin-Peroxidase Reagent, Diagnostic Biosystems, Netherland) ile temas ettirildi. Tekrar PBS'den geçirilerek kenarları kurularak kesitlere, aminoethyl carbazole (AEC-Large Volume AEC Substrate System (RTU), Lab Vision, USA) kromojen damlatılarak rengi kahverengi oluncaya kadar gözlemlendi. Renk alan kesitler distile suda yıkanarak kurulandı. Meyer's hematoksilen ile zemin boyaması yapıldı. Tekrar distile su ile yıkanan kesitler PBS'de bekletildi. Bundan sonra dokulara zarar vermeden kenarları silindi ve kapama maddesi (Vision Mount, Lab Vision, USA) ile kapatılarak immünohistokimyasal incelemeye hazır hale getirildi.

3.3. Kesitlerin Değerlendirilmesi

İşlem ve kontrol kulaklarından hazırlanan kesitler, aynı patolog tarafından ışık mikroskobu (Nikon, Eclipse E600W, Japan) ile değerlendirildi. Patolog, değerlendirmeyi kesitlerin hangi gruba ait olduğunu bilmeden tarafsız şekilde yaptı. Kesitlerin değerlendirilmesi, ratlarda kulak zarı ve orta kulağın normal histopatolojik görünümü dikkate alınarak yapıldı (Şekil 3.12).



Şekil 3.12. Ratlarda kulak zarı ve orta kulağın normal histopatolojik görünümü (Sağ kulak, DKY: Dış Kulak Yolu, KZ: Kulak Zarı, OK: Orta Kulak, M: Malleus)

İncelemede şu parametreler değerlendirildi:

3.3.1. Kulak Zarı ve Orta Kulakta Skleroz Varlığı (Tımpanoskleroz)

Kulak zarı ve orta kulak boşluğundaki skleroz, orta kulak bullasının sınırlarını oluşturan kemik dokudan orta kulak kavitesine doğru gelişen skleroz veya enflamasyon alanında gelişen skleroz olarak ikiye ayrıldı. Skleroz olan olgular var, olmayan olgular ise yok olarak değerlendirildi.

3.3.2. İNOS, OPN ve CaSR Antikorları ile Boyanma

İmmünohistokimyasal boyamalarda boyanma olan örnekler “boyanma var”, boyanma olmayanlar ise “boyanma yok” şeklinde değerlendirildi. Her üç antikor için normal kemik dokusu, epitel ve endoteldeki boyanmalar normal kabul edildi. Enflamasyon alanları, granülasyon dokusu, fibrozis ve kalsifikasyon alanlarındaki boyanmalar değerlendirmeye alındı.

3.3.3. Kulak Zarında Fibrozis ve Ödem Varlığı

Kulak zarında fibrozis ve ödem olup olmadığı, fibrozis ve ödem var veya yok şeklinde değerlendirildi.

3.3.4. Kulak zarı ve Orta Kulakta Enflamasyon Varlığı, Derecesi ve Tipi

Kulak zarı ve orta kulak boşluğundaki hücre tipinin değerlendirilmesinde;

- PMNL'nin baskın olduğu (>%80) enflamatuar hücre infiltrasyonu "akut",
- Lenfosit, plazma hücresi ve makrofajların baskın olduğu (>%80) enflamatuar hücre infiltrasyonu "kronik",
- Her iki enflamatuar hücre komponentinin bir arada olduğu olgular ise "mikst tip (akut-kronik) enflamasyon" olarak değerlendirildi.

Kulak zarı ve orta kulak boşluğundaki enflamasyon yoğunluğunun değerlendirilmesinde;

- Bir büyütme alanında (X 400) 50 enflamatuar hücre sayılan olgular "hafif",
- Elli ile 100 arasında enflamatuar hücre sayılan olgular "orta",
- Yüzün üzerinde enflamatuar hücre sayılan olgular ise "şiddetli" olarak değerlendirildi.

3.3.5. Orta Kulak Boşluğunun Durumu

Orta kulak kavitesi enflamasyon, granülasyon dokusu veya fibrozis ile dolu olan olgular "kavite kapalı", herhangi bir doluluk izlenmeyen orta kulak boşluğu net olarak izlenebilen olgular ise "kavite açık" olarak değerlendirildi.

3.5.6. Orta Kulak Bullasındaki Epitel Tipi Değişiklikleri

Orta kulak boşluğunu döşeyen epitelde değişiklik olmayan olgular "değişiklik yok", değişiklik olan olgular ise "değişiklik var" olarak değerlendirildi. Ayrıca epitel değişikliği olan kulaklarda, hangi tip epitelyal değişikliğin geliştiği de belirlendi.

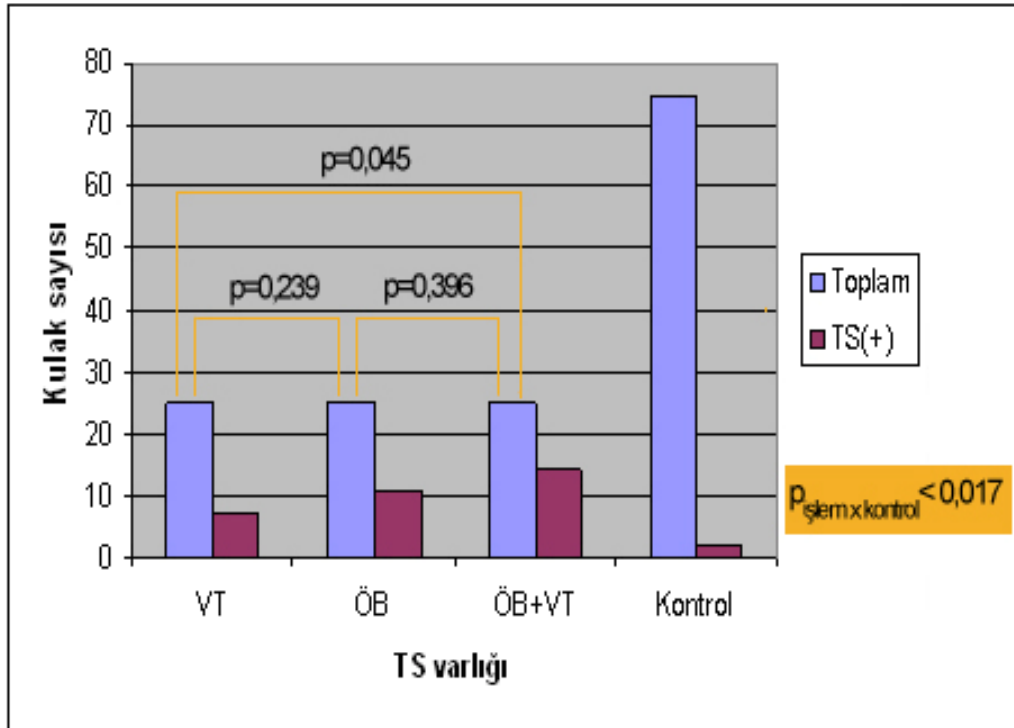
3.4. İstatistiksel Analiz

Veriler, SPSS for Windows 11.0 paket programı ile bilgisayara işlenerek analiz edildi. Bir önceki bölümde bahsedilen parametreler açısından, gruplar arasındaki sonuç farklılıklarının istatistiksel olarak karşılaştırılması yapılırken; nxm formatında olan verilerin değerlendirilmesinde, beklenen değerin 5'ten daha az olduğu kutucuk sayısının, toplam kutucuk sayısına oranının %20'den fazla olmadığı durumlarda Pearson Chi-Square Test (ki-kare testi) kullanıldı. Beklenen değerin 5'ten daha az olduğu kutucuk sayısının, toplam kutucuk sayısına oranının %20'den fazla olduğu durumlarda ise Fisher's Exact Test kullanıldı. İkili gruplar arası karşılaştırmalarda, Bonferoni düzeltmesi yapıp "p değeri" 0,05/karşılaştırma sayısı olarak hesaplandı. "p değeri" 0,017'den küçük olan değerler, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

4.1. Kulak Zarı ve Orta Kulakta Skleroz Varlığı (Timpanoskleroz)

İşlem yapılan kulakların %42,7'sinde (75 kulağın 32'sinde), kontrol grubundaki kulakların ise %2,7'sinde (75 kulağın 2'sinde) timpanoskleroz saptandı. İşlem yapılan gruplarda timpanoskleroz görülme oranı sıklık sırasına göre; östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grupta %56 (25 kulağın 14'ünde), östaki blokajı yapılan grupta %44 (25 kulağın 11'inde) ve tüp insersiyonu yapılan grupta %28 (25 kulağın 7'sinde) oranındaydı (Şekil 4.1). İşlem yapılan gruplar arasında, timpanoskleroz varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0,017$, ki-kare testi). Fakat işlem gruplarında timpanoskleroz görülme oranı, kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazlaydı ($p<0,017$, Fisher's Exact Test).



Şekil 4.1. Gruplardaki timpanoskleroz oranlarının dağılımı (VT: Ventilasyon tüpü, ÖB: Östaki blokajı, ÖB+VT: Östaki blokajı+ventilasyon tüpü)

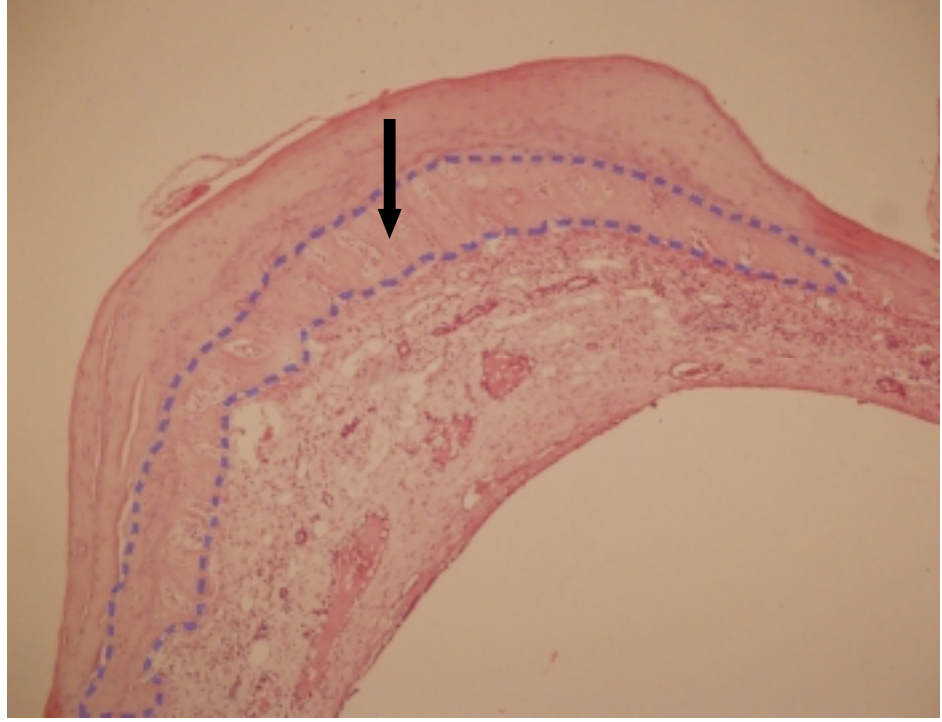
İşlem yapılan gruplardaki timpanoskleroz oranları ratların sakrifiye edildikleri zamanlara göre Tablo 4.1'de verilmiş olup, her üç grupta da

timpanoskleroz en yüksek oranda 6. ayda sakrifiye edilen kulaklarda saptandı. Ancak östaki blokajı yapılan grupta 1, 3 ve 6. aylardaki timpanoskleroz gelişme oranları eşitti. Her üç grupta da 3. gündeki kulakların hiçbirinde timpanoskleroz yoktu.

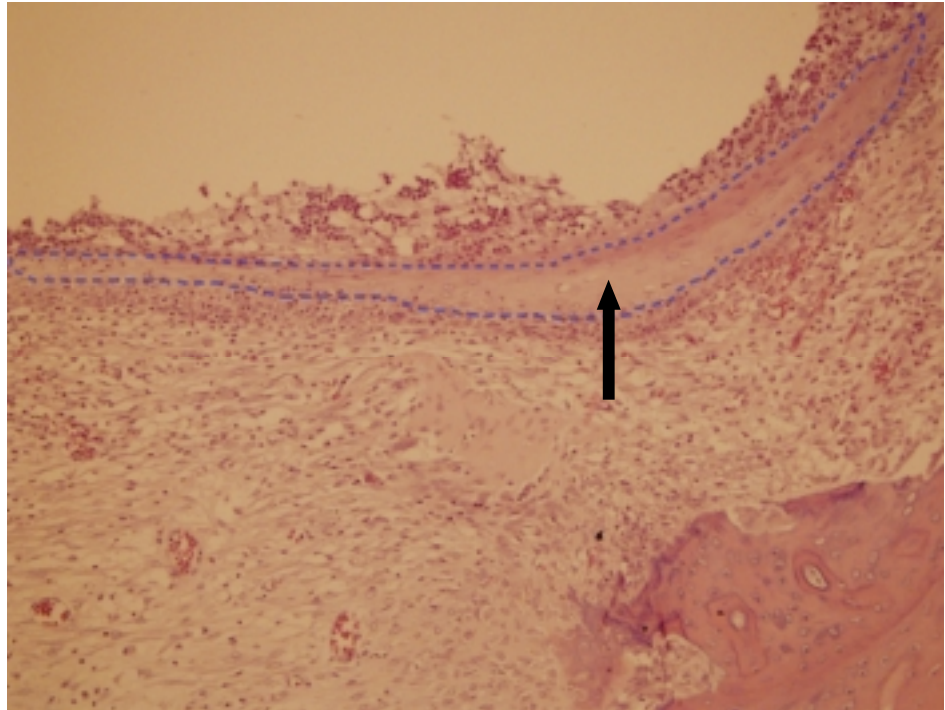
Tablo 4.1. İşlem yapılan gruptaki timpanoskleroz görülme oranlarının zamana göre dağılımı (Sayı ve % olarak)

GRUPLAR	ZAMAN				
	3.gün	10.gün	1.ay	3.ay	6.ay
Tüp insersiyonu (n=25)	5/0 (%0)	5/1 (%20)	5/1 (%20)	5/2 (%40)	5/3 (%60)
Östaki blokajı (n=25)	5/0 (%0)	5/2 (%40)	5/3 (%60)	5/3 (%60)	5/3 (%60)
Östaki blokajı + Tüp insersiyonu (n=25)	5/0 (%0)	5/2 (%40)	5/3 (%60)	5/4 (%80)	5/5 (%100)
TOPLAM (n=75)	15/0 (%0)	15/5 (%33,3)	15/7 (%46,7)	15/9 (%60)	15/11 (%73,3)

Timpanoskleroz, olgularımızın çoğunda orta kulak bullasının sınırlarını oluşturan kemik dokudan orta kulak kavitesine doğru gelişen skleroz oluşumu şeklinde izlendi (Şekil 4.2). Timpanoskleroz oluşumu, timpanoskleroz saptanan kulakların %93,7'sinde (32 kulağın 30'unda) bu şekilde izlenirken, %6,3'ünde (32 kulağın 2'sinde) ise orta kulak kavitesi içindeki enflamasyon alanlarında izole skleroz oluşumu olarak gözlemlendi (Şekil 4.3). İzole timpanoskleroz gelişen olgulardan biri 10. gün östaki blokajı, diğeri ise 10. gün östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan gruptaydı.

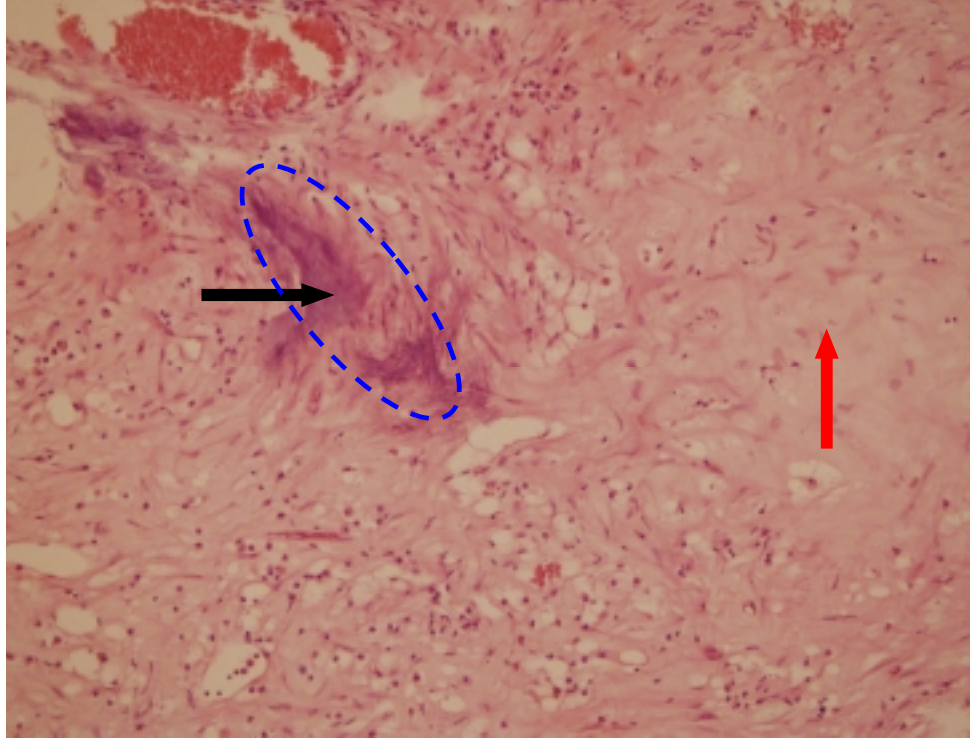


Şekil 4.2. Orta kulak bullası kemik duvarından orta kulak kavitesine doğru sklerotik plak oluşumu (HE: X 400)



Şekil 4.3. Enflamasyon alanında izole sklerotik plak oluşumu (HE: X 400)

Timpanosklerozun tipi, timpanoskleroz saptanan 32 kulağın 29'unda (%90,7) kalsiyum birikiminin olmadığı fibröz skleroz, 3'ünde (%9,3) ise kalsiyum birikimin olduğu kalsifik skleroz şeklindeydi (Şekil 4.4). Kalsifik skleroz izlenen kulaklar; 10. gün östaki blokajı, 3. ay östaki blokajı ve 6. ay östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan gruplardaydı.



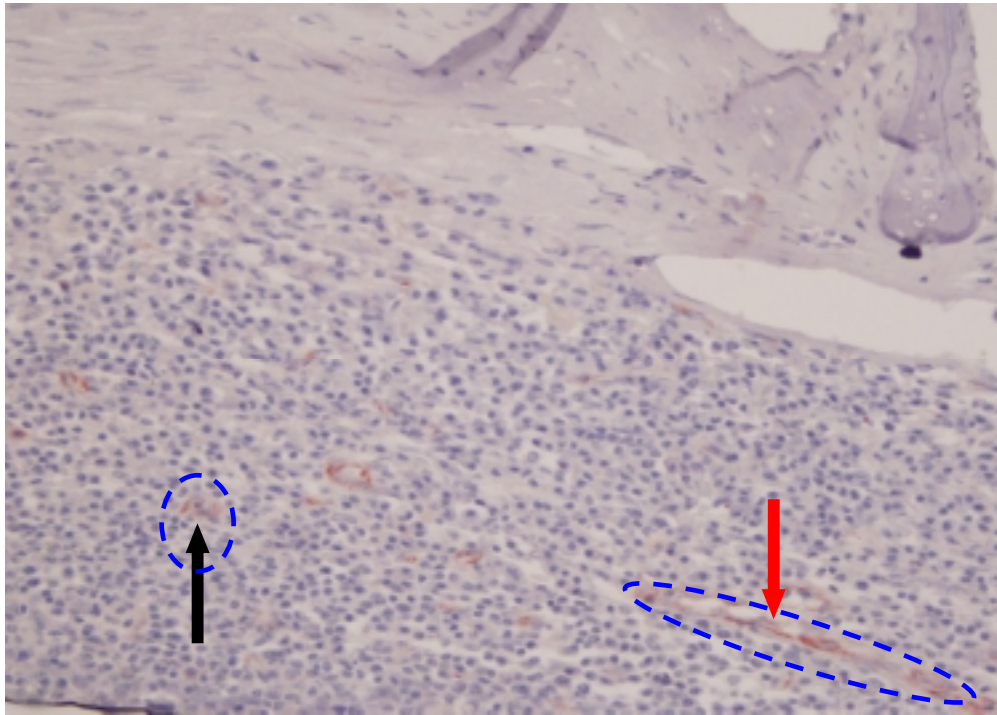
Şekil 4.4. Kalsifik ve fibröz skleroz oluşum alanları (HE: X 400; Siyah ok: Kalsifik skleroz, Kırmızı ok: Fibröz skleroz)

Skleroz, timpanoskleroz saptanan 32 kulaktan 24'ünde (%75) sadece orta kulakta, 7'sinde (%21,8) kulak zarı ve orta kulakta birlikte, 1'inde (%3,1) ise sadece kulak zarında (miringoskleroz) yerleşim gösteriyordu. Kulak zarı ve orta kulakta skleroz izlenen 7 kulağın 2'si tüp insersiyonu, 2'si östaki blokajı ve 3'ü östaki blokajı+tüp insersiyonu grubunda, sadece kulak zarında skleroz izlenen 1 kulak ise östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan gruptaydı. Sadece orta kulakta skleroz izlenen kulaklardan 10'u östaki blokajı+tüp insersiyonu, 9'u östaki blokajı ve 5'i tüp insersiyonu yapılan grupta olup,

timpanosklerozun lokalizasyonu açısından işlem yapılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0,017$, ki kare testi).

4.2. İNOS, OPN ve CaSR Antikorları ile Boyanma

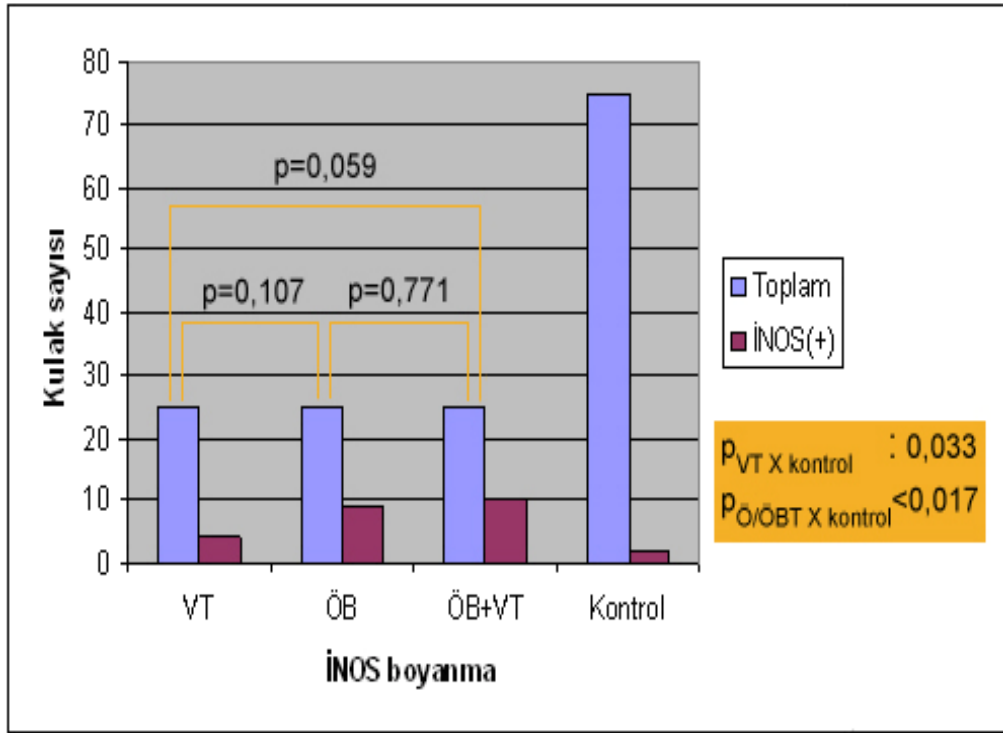
İNOS antikorları ile yapılan immünohistokimyasal boyamalarda, İNOS boyanması genellikle akut enflamasyon olan bölgelerin etrafındaki granülasyon dokusu içerisinde yer alan makrofajlarda yoğun bir şekilde izlendi (Şekil 4.5). Ayrıca plazma hücreleri, epitel ve endotel hücreleri, lökositler, eozinofiller ve osteoblastlarda da İNOS antikorları ile boyanma gözlemlendi.



Şekil 4.5. Makrofaj ve endotel hücrelerindeki İNOS boyanması (Siyah ok: Makrofajdaki boyanma, Kırmızı ok: Endoteldeki boyanma)

İNOS antikorları ile yapılan boyamalarda, kontrol grubunun %2,7'sinde (75 kulağın 2'sinde) pozitif boyanma saptandı. Tüp insersiyonu yapılan grubun %16'sında (25 kulağın 4'ünde), östaki blokajı yapılan grubun %36'sında (25 kulağın 9'unda), östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grubun %40'ında (25 kulağın 10'unda) İNOS antikorları ile boyanma pozitif olarak

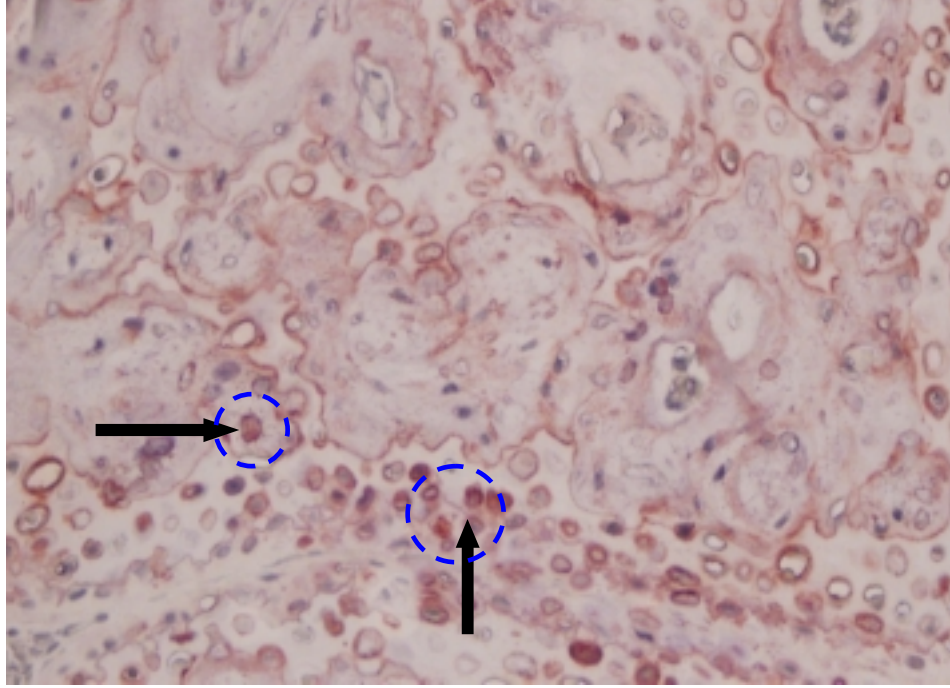
saptandı (Şekil 4.6). Kontrol grubuna göre, östaki blokajı yapılan grup ile östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grupta İNOS antikorları ile boyanma anlamlı derecede fazlaydı ($p<0,017$, Fisher's Exact Test). İşlem yapılan gruplardan sadece tüp insersiyonu yapılan grup ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,033$, Fisher's Exact Test). Ayrıca işlem yapılan gruplar arasında da, İNOS boyanma oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0,017$, ki-kare testi).



Şekil 4.6. Gruplardaki İNOS boyanma oranları (VT: Ventilasyon tüpü, ÖB: Östaki blokajı, ÖB+VT: Östaki blokajı+ventilasyon tüpü)

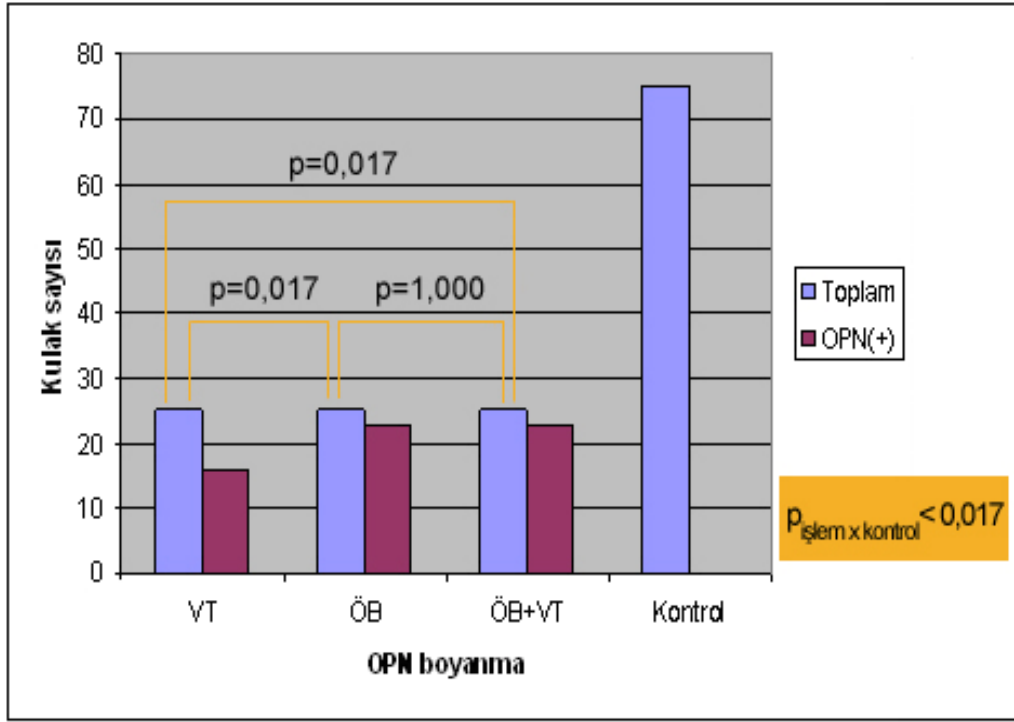
Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklar İNOS boyanma oranları açısından karşılaştırıldığında; timpanoskleroz olan kulakların %25'inde (32 kulağın 8'inde), timpanoskleroz olmayan kulakların %34,9'unda (43 kulağın 15'inde) İNOS boyanması saptanmış olup, timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,359$, ki-kare testi).

OPN antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyamalarda, makrofaj ve rejenere yeni skleroz alanlarında yerleşim gösteren osteoblastlara ek olarak, endotel hücreleri, mukus glandları ve silialı epitelde OPN antikoru ile boyanma saptandı (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Skleroz izlenen alanlardaki osteoblastlarda OPN boyanması

OPN antikoru ile yapılan boyamalarda, kontrol grubundaki hiçbir kulakta boyanma saptanmadı. Tüp insersiyonu yapılan grubun %64'ünde (25 kulağın 16'sında), östaki blokajı ve östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grupların da %92'sinde (25 kulağın 23'ünde) boyanma pozitif olarak saptandı (Şekil 4.8). OPN boyanma oranları, işlem yapılan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazlaydı ($p < 0,017$, tüp insersiyonu/kontrol için Fisher's Exact Test; östaki blokajı/kontrol ve östaki blokajı+tüp insersiyonu/kontrol için ki-kare testi). Fakat işlem yapılan gruplar arasında OPN boyanması açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p \geq 0,017$, ki-kare testi).



Şekil 4.8. Gruplardaki OPN boyanma oranları (VT: Ventilasyon tüpü, ÖB: Östaki blokajı, ÖB+VT: Östaki blokajı+ventilasyon tüpü)

Aynı şekilde timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklar OPN boyanma oranları açısından karşılaştırıldığında; timpanoskleroz olan kulakların hepsinde (%100), timpanoskleroz olmayan kulakların %69,8'inde (43 kulağın 30'unda) OPN boyanması saptanmış olup, timpanoskleroz olan kulaklardaki boyanma oranı timpanoskleroz olmayan kulaklara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazlaydı ($p=0,001$, ki-kare testi).

İNOS ve OPN boyanmalarının zamana göre dağılımı Tablo 4.2'de verilmiştir. İNOS antikorları ile boyanma en fazla 10. gündeki kulaklarda saptanmış olup, boyanma oranı 10. günden sonra azalmaktaydı. OPN boyanması ise en fazla 6. ay, en az 3. gündeki kulaklarda saptandı.

Tablo 4.2. Zamana göre İNOS ve OPN boyanma oranları (Sayı ve % olarak)

ZAMAN	İNOS (+)	OPN (+)
3.gün (n=15)	6 (%40)	8 (%53,3)
10.gün (n=15)	11 (%73,3)	14 (%93,3)
1.ay (n=15)	2 (%13,3)	11 (%73,3)
3.ay (n=15)	2 (%13,3)	14 (%93,3)
6.ay (n=15)	2 (%13,3)	15 (%100)
TOPLAM (n=75)	23 (%30,7)	62 (%82,7)

Timpanoskleroz olan ve olmayan kulakların 3 ve 10. gün ile 1, 3 ve 6. aylardaki İNOS ve OPN boyanma oranları Tablo 4.3 ve Tablo 4.4’de özetlenmiştir. 3. gündeki hiçbir kulakta timpanoskleroz olmadığı için bu zaman dilimi için istatistiksel analiz yapılmadı. Tüm zamanlar göz önüne alındığında, iki grup arasında İNOS ve OPN boyanma oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0,017$, Fisher’s Exact Test).

Tablo 4.3. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre İNOS boyanma oranları (Sayı ve % olarak)

ZAMAN	İNOS (+)		P
	Timpanoskleroz (+)	Timpanoskleroz (-)	
10.gün	5/3 (%60)	10/8 (%80)	0,560
1.ay	7/1 (%14,2)	8/1 (%12,5)	1,000
3.ay	9/2 (%22,2)	6/0 (%0)	0,486
6.ay	11/2 (%18,1)	4/0 (%0)	1,000

Tablo 4.4. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre OPN boyanma oranları (Sayı ve % olarak)

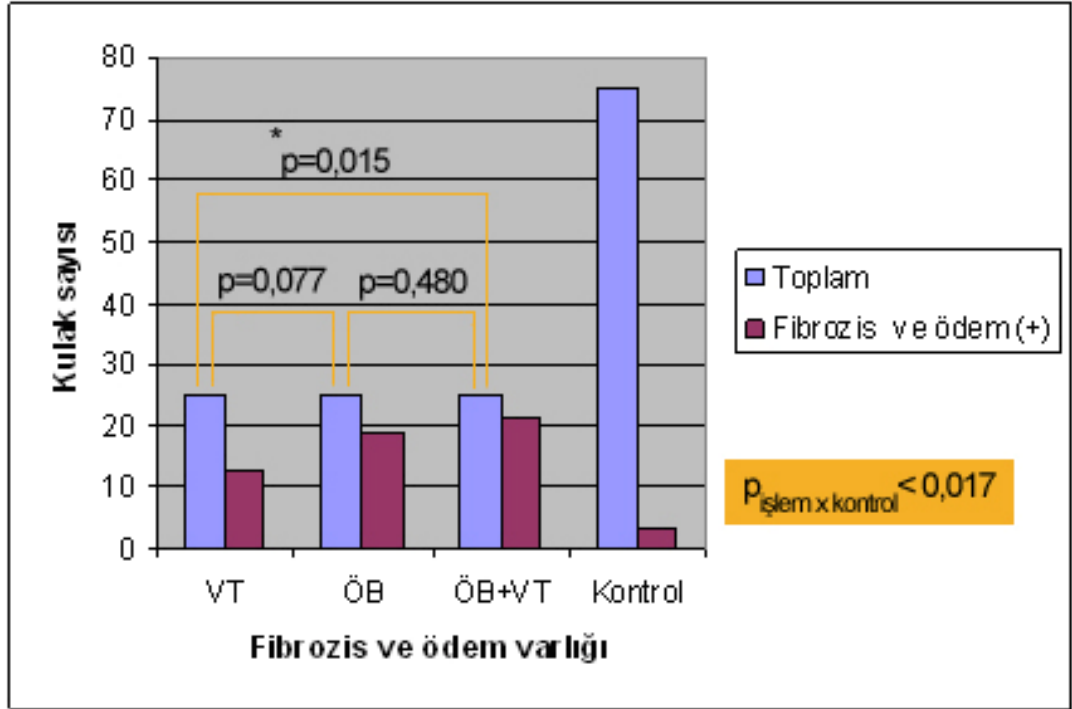
ZAMAN	OPN (+)		P
	Timpanoskleroz (+)	Timpanoskleroz (-)	
10.gün	5/5 (%100)	10/9 (%90)	1,000
1.ay	7/7 (%100)	8/4 (%50)	0,077
3.ay	9/9 (%100)	6/5 (%83,3)	0,400
6.ay	11/11 (%100)	4/4 (%100)	-

CaSR antikorları ile yapılan immünohistokimyasal boyamalarda, işlem gruplarında ve kontrol grubunda hiçbir kulakta boyanma izlenmedi. Sadece endotelde ve enflamasyonun yoğun olduğu olgularda normal kemiğe yakın alanlardaki bazı makrofaj sitoplazmalarında boyanma saptandı. Ancak kemik yüzeylerde ve yeni hyalenize skleroz alanlarında anlamlı bir boyanma gözlenmedi.

4.3. Kulak Zarında Fibrozis ve Ödem Varlığı

İşlem yapılan 75 kulağın %70,6'sında (75 kulağın 53'ünde), kontrol grubundaki kulakların %4'ünde (75 kulağın 3'ünde) kulak zarında fibrozis ve ödem vardı. Kulak zarında fibrozis ve ödem varlığı en fazla östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grupta olup sıklık sırasına göre; bu grupta %84 (25 kulağın 21'inde), östaki blokajı yapılan grupta %76 (25 kulağın 19'unda), tüp insersiyonu yapılan grupta %52 (25 kulağın 13'ünde) oranında fibrozis ve ödem saptandı (Şekil 4.9). Buna göre, işlem gruplarında kulak zarındaki fibrozis ve ödem sıklığı, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazlaydı ($p<0,017$, tüp insersiyonu/kontrol için Fisher's Exact Test; östaki blokajı/kontrol ve östaki blokajı+tüp insersiyonu/kontrol için ki-kare testi). İşlem yapılan gruplardan sadece tüp insersiyonu yapılan grup ile östaki

blokajı+tüp insersiyonu yapılan grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,015$, ki- kare testi).



Şekil 4.9. Gruplarda kulak zarında fibrozis ve ödem görülme oranları (* İstatistiksel olarak anlamlı değer) (VT: Ventilasyon tüpü, ÖB: Östaki blokajı, ÖB+VT: Östaki blokajı+ventilasyon tüpü)

Timpanoskleroz olan kulakların %93,7'sinde (32 kulağın 30'unda), timpanoskleroz olmayan kulakların %53,4'ünde (43 kulağın 23'ünde) fibrozis ve ödem saptanmış olup, timpanoskleroz olan kulaklarda fibrozis ve ödem görülme sıklığı olmayanlara göre anlamlı derecede fazlaydı ($p<0,017$, ki-kare testi)

4.4. Kulak zarı ve Orta Kulakta Enflamasyon Varlığı, Derecesi ve Tipi

4.4.1. Enflamasyon Varlığı

İşlem yapılan kulakların %73,3'ünde (75 kulağın 55'inde) kulak zarında, %85,3'ünde (75 kulağın 64'ünde) orta kulakta enflamasyon saptanmış olup, kontrol grubunda bu oran kulak zarı ve orta kulak için %5,3

(75 kulağın 4'ünde) olarak bulundu. Gruplardaki kulak zarı ve orta kulak enflamasyon oranları Tablo 4.5'de verilmiş olup, kulak zarı ve orta kulakta enflamasyon varlığı en fazla östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grupta, en az ise tüp insersiyonu yapılan gruptaydı. Kulak zarı ve orta kulakta enflamasyon görülme oranı, işlem yapılan gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış olarak saptandı ($p<0,017$, ki-kare testi). İşlem yapılan gruplar kulak zarında enflamasyon varlığı açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında, sadece tüp insersiyonu yapılan grup ile östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0,012$, ki-kare testi). Ancak orta kulakta enflamasyon varlığı açısından, işlem yapılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0,017$, tüp insersiyonu/östaki blokajı için ki-kare testi, tüp insersiyonu/östaki blokajı+tüp insersiyonu ve östaki blokajı/östaki blokajı+tüp insersiyonu için Fisher's Exact Test).

Tablo 4.5. Gruplardaki kulak zarı ve orta kulak enflamasyon oranları (Sayı ve % olarak)
(* İstatistiksel olarak anlamlı değerler) (VT: Ventilasyon tüpü, ÖB: Östaki blokajı, ÖB+VT: Östaki blokajı+ventilasyon tüpü)

GRUPLAR ve P DEĞERLERİ	Kulak Zarı Enflamasyonu	Orta Kulak Enflamasyonu
Tüp insersiyonu (n=25)	14 (%56)	17 (%68)
Östaki blokajı (n=25)	19 (%76)	23 (%92)
Östaki blokajı + Tüp insersiyonu (n=25)	22 (%88)	24 (%96)
Kontrol (n=75)	4 (%5,3)	4 (%5,3)
p_{VT / ÖB}	0,136	0,034
p_{VT / ÖB+VT}	*0,012	0,023
p_{ÖB / ÖB+VT}	0,463	1,000
p_{işlem x kontrol}	*<0,017	*<0,017

Timpanoskleroz olan kulakların %90,6'sında (32 kulağın 29'unda), timpanoskleroz olmayan kulakların %60,5'inde (43 kulağın 26'sında) kulak zarında enflamasyon izlendi. Orta kulak enflamasyonu ise timpanoskleroz olan kulakların hepsinde (%100), timpanoskleroz olmayan kulakların %74,4'ünde (43 kulağın 32'sinde) vardı. Kulak zarı ve orta kulaktaki enflamasyon varlığı, timpanoskleroz olan kulaklarda olmayanlara göre anlamlı derecede artmış olarak saptandı. (p=0,003, p=0,002, ki-kare testi).

Timpanoskleroz olan ve olmayan kulakların 10. gün, 1, 3 ve 6. aylardaki kulak zarı ve orta kulak enflamasyon oranları Tablo 4.6 ve Tablo 4.7'de özetlenmiştir. İki grup arasında tüm zamanlara göre kulak zarı ve orta kulakta enflamasyon varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p>0,017, Fisher's Exact Test).

Tablo 4.6. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre kulak zarı enflamasyon oranları (Sayı ve % olarak)

ZAMAN	Kulak Zarı Enflamasyonu		P
	Timpanoskleroz (+)	Timpanoskleroz (-)	
10.gün	5/5 (%100)	10/9 (%90)	1,000
1.ay	7/7 (%100)	8/4 (%50)	0,077
3.ay	9/9 (%100)	6/4 (%66,6)	0,143
6.ay	11/8 (%72,7)	4/3 (%75)	1,000

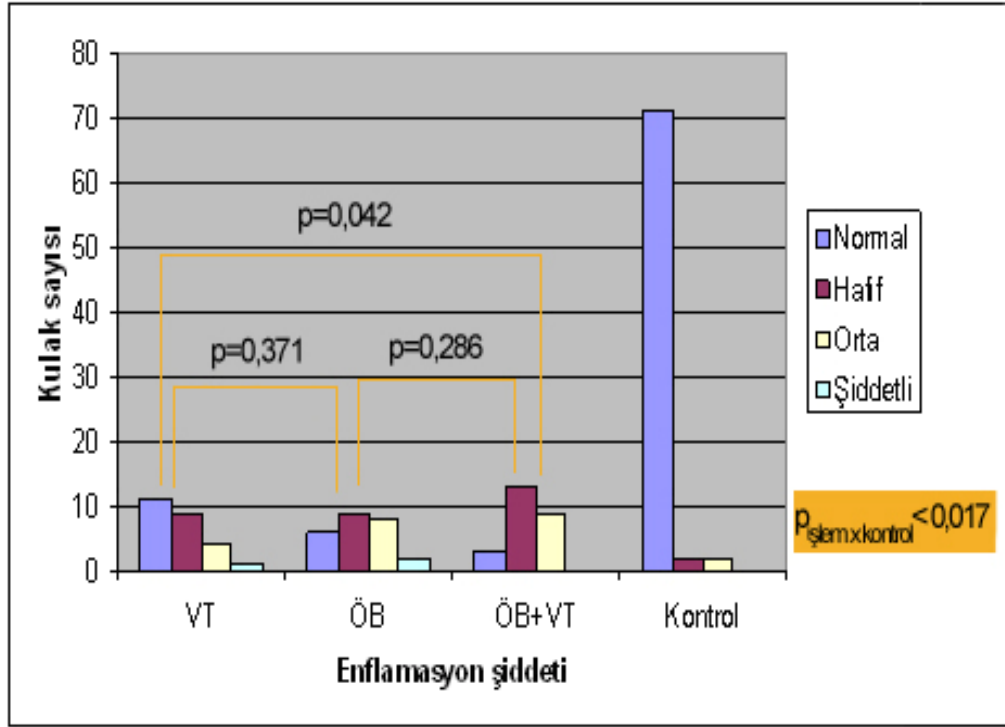
Tablo 4.7. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre orta kulak enflamasyon oranları (Sayı ve % olarak)

ZAMAN	Orta Kulak Enflamasyonu		P
	Timpanoskleroz (+)	Timpanoskleroz (-)	
10.gün	5/5 (%100)	10/9 (%90)	1,000
1.ay	7/7 (%100)	8/6 (%75)	0,467
3.ay	9/9 (%100)	6/5 (%83,3)	0,400
6.ay	11/11 (%100)	4/4 (%100)	-

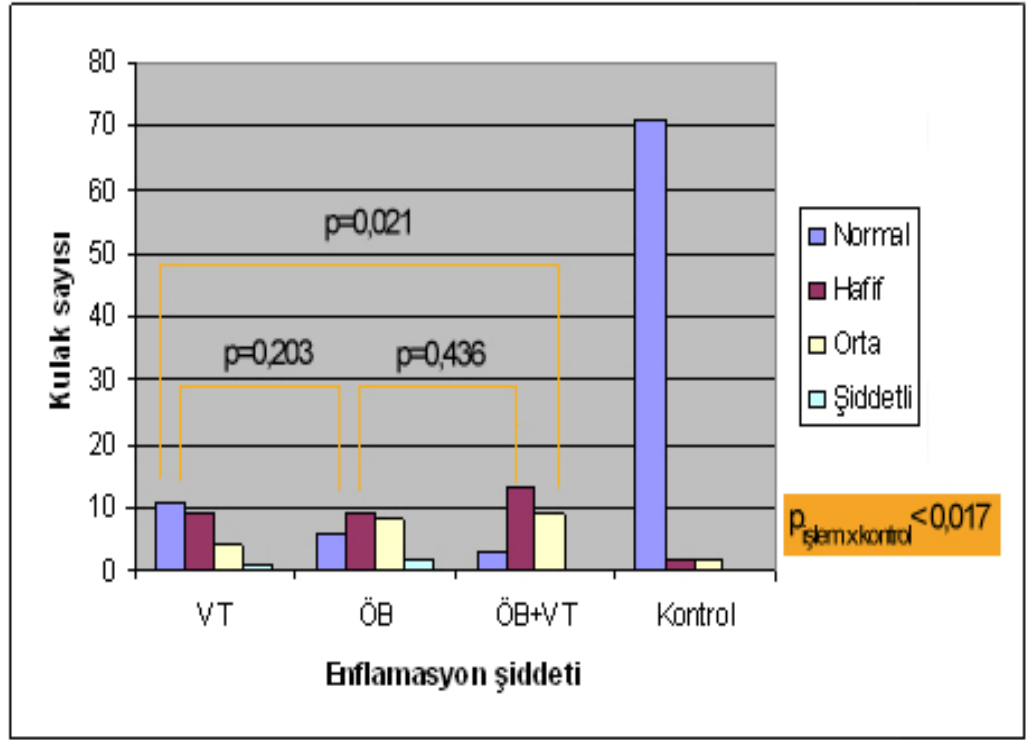
4.4.2. Enflamasyonun Derecesi

Grupların kulak zarı ve orta kulaktaki enflamasyon dereceleri Şekil 4.10 ve Şekil 4.11’de verilmiş olup, kulak zarı ve orta kulaktaki enflamasyon dereceleri de enflamasyon görülme oranlarına paralel olarak, işlem yapılan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış olarak saptandı

($p < 0,017$, ki-kare testi). Ancak işlem yapılan gruplar arasında, kulak zarı ve orta kulaktaki enflamasyonun şiddeti açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,017$, ki-kare testi).



Şekil 4.10. Grupların kulak zarı enflamasyon dereceleri (VT: Ventilasyon tüpü, ÖB: Östaki blokajı, ÖB+VT: Östaki blokajı+ventilasyon tüpü)



Şekil 4.11. Grupların orta kulak enflamasyon dereceleri (VT: Ventilasyon tüpü, ÖB: Östaki blokajı, ÖB+VT: Östaki blokajı+ventilasyon tüpü)

Timpanoskleroz olan kulaklardan kulak zarında enflamasyon saptananların 16'sında hafif, 11'inde orta ve 2'sinde şiddetli, timpanoskleroz olmayan kulakların ise 15'inde hafif, 10'unda orta ve 1'inde şiddetli enflamasyon vardı (Tablo 4.8). Her iki grup kulak zarındaki enflamasyon şiddeti açısından karşılaştırıldığında, aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,032$, ki-kare testi).

Tablo 4.8. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklardaki kulak zarı enflamasyon derecelerinin dağılımı (Sayı ve % olarak)

Kulak Zarı Enflamasyon Derecesi	Timpanoskleroz (+) (n=32)	Timpanoskleroz (-) (n=43)	P=0,032
Normal	3 (%9,4)	17 (%39,5)	
Hafif	16 (%50)	15 (%34,9)	
Orta	11 (%34,4)	10 (%23,3)	
Şiddetli	2 (%6,3)	1 (%2,3)	

Timpanoskleroz olan kulaklardan orta kulakta enflamasyon saptananların 12'sinde hafif, 16'sında orta ve 4'ünde şiddetli enflamasyon vardı. Timpanoskleroz olmayan kulakların ise 18'inde hafif, 14'ünde orta derecede enflamasyon mevcut olup, şiddetli enflamasyon izlenmedi (Tablo 4.9). Orta kulaktaki enflamasyonun şiddeti açısından timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,002$, ki-kare testi).

Tablo 4.9. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklardaki orta kulak enflamasyon derecelerinin dağılımı (Sayı ve % olarak) (* İstatistiksel olarak anlamlı değer)

Orta Kulak Enflamasyon Derecesi	Timpanoskleroz (+) (n=32)	Timpanoskleroz (-) (n=43)	*p=0,002
Normal	0	11 (%25,6)	
Hafif	12 (%37,5)	18 (%41,9)	
Orta	16 (%50)	14 (%32,6)	
Şiddetli	4 (%12,5)	0	

Timpanoskleroz olan ve olmayan kulakların 10. gün, 1, 3 ve 6. aylardaki kulak zarı ve orta kulak enflamasyon dereceleri Tablo 4.10 ve Tablo 4.11’de özetlenmiştir. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklar arasında, zamana göre kulak zarı ve orta kulaktaki enflamasyon dereceleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0,017$, ki-kare testi).

Tablo 4.10. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre kulak zarındaki enflamasyon derecelerinin dağılımı (Sayı ve % olarak)

ZAMAN	Kulak Zarı Enflamasyon Derecesi								P
	Timpanoskleroz (+)				Timpanoskleroz (-)				
	Normal	Hafif	Orta	Şiddetli	Normal	Hafif	Orta	Şiddetli	
10.gün	0	1 (%20)	4 (%80)	0	1 (%10)	5 (%50)	3 (%30)	1 (%10)	0,316
1.ay	0	6 (%85,7	1 (%14,3)	0	4 (%50)	4 (%50)	0	0	0,069
3.ay	0	3 (%33,3)	5 (%55,6)	1 (%11,1)	2 (%33,3)	0	4 (%66,6)	0	0,125
6.ay	3 (%27,3)	6 (%54,5)	1 (%9,1)	1 (%9,1)	1 (%25)	1 (%25)	2 (%50)	0	0,338

Tablo 4.11. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre orta kulaktaki enflamasyon derecelerinin dağılımı (Sayı ve % olarak)

ZAMAN	Orta Kulak Enflamasyon Derecesi								P
	Timpanoskleroz (+)				Timpanoskleroz (-)				
	Normal	Hafif	Orta	Şiddetli	Normal	Hafif	Orta	Şiddetli	
10.gün	0	0	5 (%100)	0	1 (%10)	3 (%30)	6 (%60)	0	0,256
1.ay	0	4 (%57,1)	3 (%42,9)	0	2 (%25)	5 (%63,5)	1 (%12,5)	0	0,217
3.ay	0	3 (%33,3)	3 (%33,3)	3 (%33,3)	1 (%16,7)	1 (%16,7)	4 (%66,7)	0	0,192
6.ay	0	5 (%45,5)	5 (%45,5)	1 (%9,1)	0	2 (%50)	2 (%50)	0	0,823

4.4.3. Enflamasyonun Tipi

İşlem yapılan kulaklardan kulak zarında enflamasyon saptanan kulakların %12,7'sinde (55 kulağın 7'sinde) akut, %40'ında (55 kulağın 22'sinde) kronik ve %47,2'sinde (55 kulağın 26'sında) mikst tip enflamasyon saptandı. İşlem yapılan kulaklardan orta kulakta enflamasyon saptanan kulakların %14'ünde (64 kulağın 9'unda) akut, %37,5'inde (64 kulağın 24'ünde) kronik, %48,4'ünde (64 kulağın 31'inde) mikst tip enflamasyon saptandı. Kontrol grubunda ise kulak zarı ve orta kulakta enflamasyon saptanan 4 kulağın 3'ünde kronik ve 1'inde mikst tip enflamasyon vardı. İşlem yapılan gruplarda kulak zarı ve orta kulakta genellikle kronik ve mikst tip enflamasyon izlenmiş olup, enflamasyon tipi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0,017$, ki-kare testi). Ancak kulak zarı ve orta kulaktaki enflamasyonun tipi açısından, her üç işlem grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,017$, ki-kare testi).

Timpanoskleroz olan ve olmayan kulakların kulak zarı ve orta kulak enflamasyonu tiplerinin dağılımı Tablo 4.12 ve Tablo 4.13'de verilmiştir. Buna göre özellikle timpanoskleroz olan kulaklarda, daha çok kronik ve mikst tip enflamasyon ön planda olup, timpanoskleroz olmayan kulaklardaki kronik ve mikst tip enflamasyon oranı timpanoskleroz olanlara göre düşük olarak saptandı. Timpanoskleroz olmayan kulaklardan 6'sında kulak zarında, 8'inde ise orta kulakta akut enflamasyon izlenirken, timpanoskleroz olan kulaklardan sadece 1'inde kulak zarı ve orta kulakta akut enflamasyon vardı. İki grup arasında hem kulak zarı, hem de orta kulaktaki enflamasyon tipi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı ($p=0,003$, $p=0,001$, ki-kare testi).

Tablo 4.12. Timpanoskleoz olan ve olmayan kulaklardan kulak zarı enflamasyonu olanlarda enflamasyon tiplerinin dağılımı (* İstatistiksel olarak anlamlı değer)

Kulak zarı Enflamasyon Tipi	Timpanoskleroz (+) (n=29)	Timpanoskleroz (-) (n=26)	*p=0,003
Akut	1	6	
Kronik	14	8	
Mikst	14	12	

Tablo 4.13. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklardan orta kulak enflamasyonu olanlarda enflamasyon tiplerinin dağılımı (* İstatistiksel olarak anlamlı değer)

Orta Kulak Enflamasyon Tipi	Timpanoskleroz (+) (n=32)	Timpanoskleroz (-) (n=32)	*p=0,001
Akut	1	8	
Konik	14	10	
Mikst	17	14	

Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda, zamana göre kulak zarı ve orta kulak enflamasyon tipleri Tablo 4.14 ve Tablo 4.15’de verilmiş olup, iki grup arasında zamana göre enflamasyon tipleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0,017$, ki-kare testi).

Tablo 4.14. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre kulak zarındaki enflamasyon tiplerinin dağılımı (Sayı ve % olarak)

ZAMAN	Kulak Zarı Enflamasyon Derecesi								P
	Timpanoskleroz (+)				Timpanoskleroz (-)				
	Normal	Akut	Kronik	Mikst	Normal	Akut	Kronik	Mikst	
10.gün	0	0	0	5 (%100)	1 (%10)	0	2 (%20)	7 (%70)	0,392
1.ay	0	1 (%14,2)	3 (%42,9)	3 (%42,9)	4 (%50)	0	3 (%37,5)	1 (%12,5)	0,114
3.ay	0	0	4 (%44,4)	5 (%55,6)	2 (%33,3)	0	2 (%33,3)	2 (%33,3)	0,174
6.ay	3 (%27,3)	0	7 (%63,6)	1 (%9,1)	1 (%25)	0	1 (%25)	2 (%50)	0,194

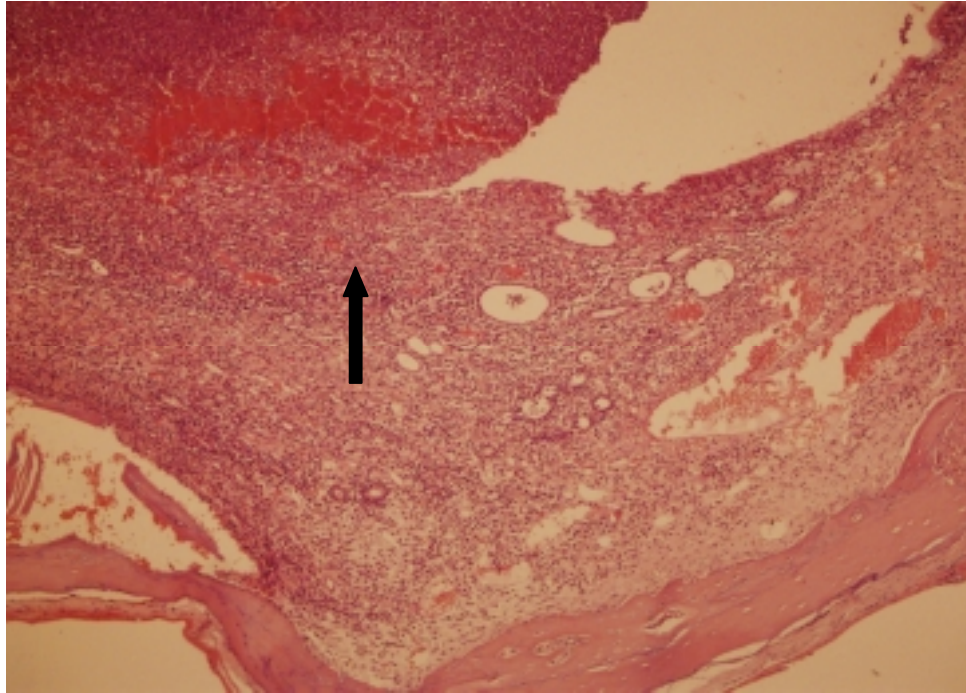
Tablo 4.15. Timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklarda zamana göre orta kulaktaki enflamasyon tiplerinin dağılımı (Sayı ve % olarak)

ZAMAN	Orta Kulak Enflamasyon Derecesi								P
	Timpanoskleroz (+)				Timpanoskleroz (-)				
	Normal	Akut	Kronik	Mikst	Normal	Akut	Kronik	Mikst	
10.gün	0	0	0	5 (%100)	1 (%10)	0	2 (%20)	7 (%70)	0,392
1.ay	0	1 (%14,3)	4 (%57,1)	2 (%28,6)	2 (%25)	0	5 (%62,5)	1 (%12,5)	0,335
3.ay	0	0	3 (%33,3)	6 (%66,7)	1 (%16,7)	0	2 (%33,3)	3 (%50)	0,435
6.ay	0	0	7 (%63,6)	4 (%36,4)	0	0	1 (%25)	3 (%75)	0,282

4.5. Orta Kulak Boşluğunun Durumu

İşlem yapılan kulakların %24'ünde (75 kulağın 18'inde) orta kulak boşluğu enflamasyon, granülasyon dokusu veya fibrozis ile dolu olup (Şekil 4.12), kontrol grubundaki hiçbir kulakta doluluk izlenmedi. Orta kulak boşluğunun doluluk oranı, tüp insersiyonu ve östaki blokajı yapılan gruplarda %20 (25 kulağın 5'inde), östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grupta ise %32 (25 kulağın 8'inde) oranında saptandı. Orta kulak boşluğunun doluluk oranı, işlem yapılan gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla olmasına rağmen ($p<0,017$, Fisher's Exact Test), gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,017$, ki-kare testi).

Timpanoskleroz olan kulakların %46,8'inde (32 kulağın 15'inde), timpanoskleroz olmayan kulakların %7'sinde (43 kulağın 3'ünde) orta kulak boşluğu dolu olup doluluk oranı, timpanoskleroz olan kulaklarda olmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazlaydı ($p<0,017$, ki-kare testi).



Şekil 4.12. Granülasyon dokusu ve süpüratif enflamasyon ile dolu orta kulak kavitesi (HE: X 400)

4.6. Orta Kulak Bullasındaki Epitel Tipi Değişiklikleri

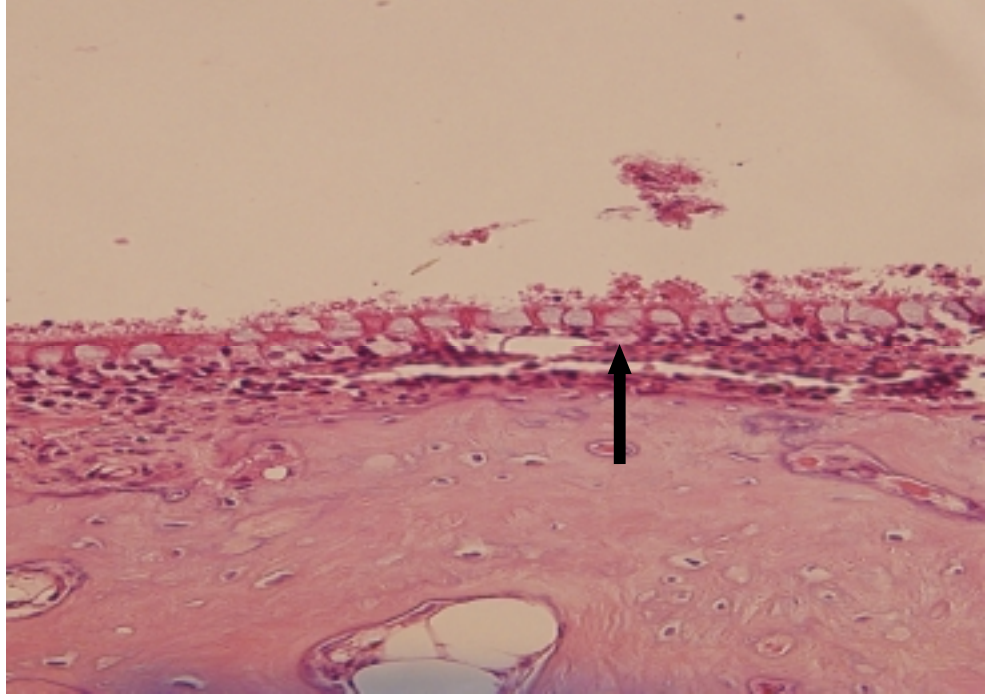
İşlem yapılan kulakların %53'ünde (75 kulağın 40'ında), kontrol grubundaki kulakların ise %2,7'sinde (75 kulağın 2'sinde) orta kulak epitelinde değişiklik saptandı. Epitelyal değişiklik saptanan kulaklarda, en fazla %72,5 oranında (40 kulağın 29'unda) tek katlı basık dejenere yassı epitelyal değişiklik saptandı. Ayrıca %15 oranında (40 kulağın 6'sında) goblet hücreleri ile mukus glandlarının artmış olduğu (Şekil 4.13) ve %12,5 oranında da (40 kulağın 5'inde) skuamöz epitelin (kolesteatom) (Şekil 4.14) izlendiği epitelyal değişiklikler saptandı.

İşlem yapılan gruptaki epitelyal değişiklikler Tablo 4.16'da verilmiştir. Sıklık sırasına göre; östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grupta %68 (25 kulağın 17'sinde), östaki blokajı yapılan grupta %52 (25 kulağın 13'ünde) ve tüp insersiyonu yapılan grupta %40 (25 kulağın 10'unda) oranında epitelyal değişiklik izlendi. Her üç grupta da en fazla tek katlı basık dejenere yassı epitelyal değişiklik saptandı. İşlem yapılan gruptaki epitelyal değişiklik oranları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış olarak saptandı ($p<0,017$, ki-kare testi) Ancak gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,017$, ki-kare testi).

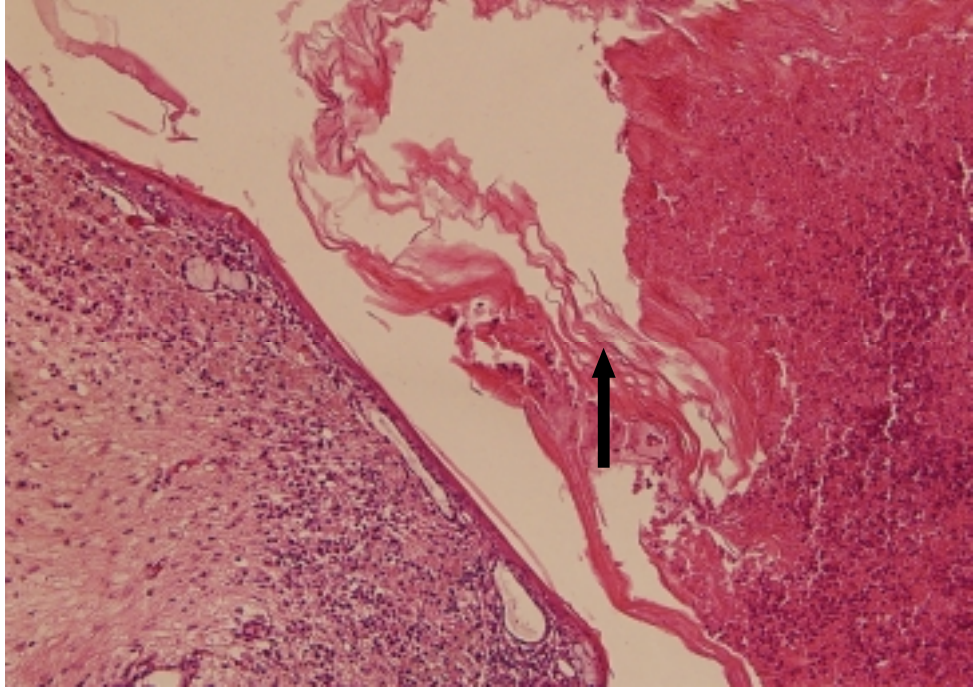
Tablo 4.16. Gruplarda orta kulaktaki epitelyal değişikliklerin dağılımı (Sayı ve % olarak)
(* İstatistiksel olarak anlamlı değer) (TKBDYE: Tek Katlı Basık Dejenere Yassı Epitel)

GRUPLAR	EPİTEL TİPİ ve P DEĞERLERİ			
	Normal	TKBDYE	Skumöz epitelyum	Mukus gland ve goblet artışı
Tüp insersiyonu (n=25)	15 (%60)	8 (%32)	1 (%4)	1 (%4)
Östaki blokajı (n=25)	12 (%48)	10 (%40)	1 (%4)	2 (%8)
Östaki blokajı+Tüp insersiyonu (n=25)	8 (%32)	11 (%44)	3 (%12)	3 (%12)
Kontrol (n=75)	73 (97,3)	2 (%2,7)	0	0
$p_{VT / \text{ÖB}} = 0,828 / p_{VT / \text{ÖBT}} = 0,203 / p_{\text{ÖB} / \text{ÖBT}} = 0,563 / *p_{\text{işlem} \times \text{kontrol}} < 0,017$				

Timpanoskleroz olan kulakların %84,3'ünde (32 kulağın 27'sinde), timpanoskleroz olmayan kulakların %30,2'sinde (43 kulağın 13'ünde) orta kulakta epitelyal değişiklik saptanmış olup, iki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,017$, ki-kare testi). Timpanoskleroz olan kulaklarda da en sık izlenen epitel tipi, %62,5 oranında tek katlı basık dejenere yassı epitelyal değişiklikti. Ayrıca timpanoskleroz olan kulaklarda, %12,5 oranında goblet hücrelerinin ve mukus glandlarının artmış olduğu epitelyal değişiklikler ve %9,3 oranında da yassı epitel varlığı izlendi.



Şekil 4.13. Orta kulak epitelinde enflamasyona bağlı goblet hücreleri ve silia artışı (HE: X 400)



Şekil 4.14. Orta kulakta skuamöz epitel (Kolesteatom) (HE: X 400)

TARTIŞMA

Timpanosklerozun morfolojisi oldukça iyi bilinmesine rağmen, etiyopatogenezi tam olarak açıklanamamıştır. Friedman ve ark. (124), timpanosklerozun başlangıçta organik bir matriksi olduğunu ve zamanla yerini kalsifiye plaklara bıraktığını ileri sürmüştür. Ayrıca bu kalsifikasyonun, histopatolojik olarak damarlarda görülen kalsifikasyonla benzer olduğunu savunmuştur. Timpanosklerozun sıklığı, değişik çalışmalarda %3-62,9 arasında bildirilmiştir (92, 125, 126, 127). Çalışmamızda, işlem yapılan kulaklarda timpanoskleroz görülme oranı %42,7 olarak saptanmıştır.

Bugüne kadar timpanoskleroz oluşumunu açıklamak için birçok teori ortaya atılmış, fakat hiçbirinin geçerliliği tam olarak kanıtlanamamıştır. Timpanosklerozun etiyopatogenezi tam olarak bilinmemesine rağmen, orta kulak enfeksiyonlarının ve kulak zarı travmasının timpanoskleroza neden olan en önemli faktörler olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, ventilasyon tüplerinin mekanik etkileri (82, 85, 88), ventilasyon tüpü insersiyonu sonrası orta kulaktaki oksijen konsantrasyonundaki artış (84, 104) ve ventilasyon tüpü insersiyonu sırasında oluşan kanamanın da timpanoskleroz oluşumunu artırdığı bildirilmiştir (83, 97, 128). Ancak her orta kulak enfeksiyonu geçiren, ventilasyon tüpü insersiyonu yapılan hastada timpanoskleroz görülmemektedir. Bu durum, timpanoskleroz oluşumunda genetik olarak farklılık gösteren moleküler nedenlerin de etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Morgan (66), timpanosklerozu Tip III immün kompleks hastalığı olarak nitelendirmiştir. Schiff ve ark. (75) ise tavşan ve kobaylarda yaptıkları çalışmada, tavşandan elde edilen serum ile kobayın kulak zarı lamina propriasında pasif bir duyarlılık oluşturmuştur. Bundan sonra parasentez, fiziksel travma ve ağır enfeksiyonla pasif duyarlılık elde edilmiş otoantikorlara yeni aktif otoantikorlar eklenmiştir. Bu devrede Tip III hipersensitivite reaksiyonuyla doku harabiyeti meydana gelmiştir. Kulak zarı ve orta kulak mukozasında meydana gelen yaygın ülserasyon ve nekrozdan arta kalan bol miktardaki lokal dejenere elementlerin timpanosklerotik değişiklikleri başlattığı

bildirilmiştir. Forseni ve ark. (11) da immünolojik reaksiyonların, timpanoskleroz oluşumunu tetikleyici faktör olabileceğini söylemiştir.

Timpanoskleroz gelişiminde suçlanan diğer bir neden de allerjidir. Olgay ve ark. (92), ventilasyon tüpü insersiyonu yaptıkları 62 hastada işlemten sonraki 3. ayda %62,9 oranında miringoskleroz geliştiğini saptamıştır. Miringoskleroz gelişen ve gelişmeyen gruplar serum Ig E seviyeleri ve nazal smearde eozinofil oranı açısından karşılaştırıldığında, miringoskleroz gelişen grubun ortalama değerleri, miringoskleroz gelişmeyen gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak, alerjisi olan olgularda miringoskleroz görülme oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Timpanosklerozun etiyopatogenezinde hiperkalseminin de rolü araştırılmıştır. Neto ve ark. (129), kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda kalsiyum metabolizmasının bozulması sonucunda miringoskleroz görülme oranının arttığını ileri sürmüştür. Yaptıkları çalışmada, kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda %11,7, sağlıklı insanlardan oluşan kontrol grubunda ise %5,1 oranında miringoskleroz saptanmış olup, aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Leal ve ark. (7) ise, akut otitis media oluşturdıkları kobayları iki gruba ayırmışlardır. Birinci gruba yüksek oranda kalsiyum verilerek hiperkalsemi oluşturulmuş, 2. gruba ise normokalsemik diyet verilmiştir. Yedi hafta sonra kobaylar timpanoskleroz gelişimi açısından incelenmiştir. Birinci grupta % 25 oranında timpanosklerozla rastlanırken, 2. grupta % 16,7 oranında timpanoskleroz geliştiği bulunmuş ve aralarında istatistiksel anlamda fark saptanmamıştır.

Timpanoskleroz gelişiminde rol oynayan diğer bir faktör de orta kulak enfeksiyonlarıdır. Timpanoskleroz, genellikle orta kulağın kronik veya rekürren enflamasyonlarının son evresinde gelişir (65). Çeşitli serilerde farklı otitis media çeşitlerinde gelişen timpanoskleroz oranı, %20-43 arasında bildirilmiştir (5, 125, 126, 130). Enflamasyonun erken döneminde kulak zarı ve orta kulak mukozası, zedelenmeye yanıt olarak makrofajlar gibi pek çok enflamatuvar hücreler tarafından infiltre edilir. Bu hücreler, enflamasyonun son dönemlerinde fibröz doku ile organize olup, hyalinizasyon ve kalsifikasyonla karakterize timpanosklerozla neden olurlar (112). Kronik otitis mediada %24,3,

effüzyonlu otitis mediada %16,6 ve pürülan akut otitis mediada %5 oranında timpanoskleroz geliştiği rapor edilmiştir (87). Başka bir çalışmada ise timpanoskleroz oranı, kulak zarı perforasyonu olan kronik otitis medialis hastalarda %43, kulak zarı perforasyonu olmayan kronik otitis medialis hastalarda %19,6 olarak bildirilmiştir (130). Akyıldız ve ark. (90)'nın yaptığı çalışmada timpanoskleroz, %6'sı kolesteatomlu olmak üzere olguların %27'sinde aktif kronik otitis media ile birlikte bulunmuştur.

Asiri ve ark. (78), 775 kronik süperatif otitis medialis hastayı değerlendirmiştir. Çalışmada timpanoskleroz oranı %11,6, timpanoskleroz ile kolesteatom birlikteliği %2,2 olarak rapor edilmiştir. Başka bir çalışmada, timpanoskleroz ile kolesteatom birlikteliği %5,9 olarak bulunmuştur (131). Çalışmamızda ise timpanoskleroz ile kolesteatom birlikteliği %9,3 olarak saptanmıştır.

Deneyisel hayvan çalışmalarında, timpanoskleroz modeli farklı yöntemlerle oluşturulmaya çalışılmıştır. Russel ve Giles (7) ile Wielinga ve ark. (132), ratlarda östaki tüpü obstrüksiyonu yaparak oluşturdukları effüzyonlu otitis media ile deneyisel timpanoskleroz oluşturmuşlardır. Bazı çalışmalarda ise, orta kulağa *Streptococcus pneumoniae* ve *Haemophilus influenza* gibi enfeksiyöz ajanlar verilerek oluşturulan otitis media ile timpanoskleroz modeli oluşturulmuştur (12, 69, 109, 133). Biz çalışmamızda, Russel ve Giles gibi östaki tüpü obstrüksiyonu ve ayrıca ventilasyon tüpü insersiyonu yaparak timpanoskleroz oluşturmaya çalıştık.

Ventilasyon tüpü insersiyonu, rekürren ve kronik effüzyonlu otitis media tedavisinin en etkili tedavi yöntemlerinden olup, zaman zaman istenmeyen komplikasyonlarla da karşılaşılabilir. En sık komplikasyonlarından biri timpanosklerozdur (134). Ventilasyon tüpü insersiyonu hikayesi olanlarda (%39-65), olmayanlara (%0-10) göre timpanoskleroz daha sık görülmektedir (135, 136). Ventilasyon tüplerinin, mekanik olarak kulak zarı hareketini azaltması, skarlaşma ve hyalinizasyona neden olmasından dolayı timpanoskleroz oluşumuna neden oldukları bildirilmiştir (89). Ventilasyon tüpü insersiyonu sonrası gelişen timpanosklerozda; orta kulakta sıvı varlığı ve sıvının viskozitesi (82), orta kulaktaki sıvının aspirasyonu (128), tüpün

büyüklüğü ve kalış süresi (85), kulak zarında kanama olup olmaması (83, 97, 128) ve tüpün kulak zarında oluşturduğu kitle etkisi (88) gibi etyolojik faktörler suçlanmaktadır.

Kalcıoğlu ve ark. (134), Shepard grommet ventilasyon tüpü insersiyonu yaptıkları hastaların %20,2'sinde timpanoskleroz geliştiğini bildirmiştir. Slack ve ark. (82) ise Shepard grommet ventilasyon tüpü insersiyonu sonrası %40 oranında timpanoskleroz oluşumu saptamıştır.

Maw (137), timpanoskleroz ile ventilasyon tüpü insersiyonu arasındaki ilişkiyi açıklarken, ventilasyon tüpü insersiyonu için yapılan miringotomi esnasındaki intraepitelyal kanamanın ve tüpün 6 aydan daha fazla süre kalmasının timpanoskleroz oluşumunu artırdığını bildirmiştir. Mangat ve ark. (138), T tüp taktıkları hastaların %23,6'sında timpanoskleroz geliştiğini ve tüpün kalma süresinin 36 aydan daha uzun olduğu hastalarda bu oranın belirgin şekilde arttığını bildirmiştir. Mawson (139) da, tüp kalış süresinin timpanoskleroz oluşumunda önemli bir faktör olduğunu belirtmiştir. Maw (139), yaptığı başka bir çalışmada, kulak zarında meydana gelen sklerotik değişikliklerin oranını bir kez ventilasyon tüpü insersiyonu yapılan çocuklarda %37-39, birden fazla ventilasyon tüpü insersiyonu yapılanlarda ise %47-49 olarak saptamıştır.

McRae ve ark. (128) yaptıkları çalışmada, ventilasyon tüpü insersiyonu yapılan çocuklarda, miringotomi sonrası orta kulağın aspire edilmesinin tüp atılma zamanlarında önemli bir faktör olmadığını, ancak aspirasyon sırasında kulak zarında oluşan intraepitelyal kanamanın, timpanoskleroz gelişiminde önemli bir faktör olduğunu bildirmiştir. Parker ve ark. (83) da, ventilasyon tüpü insersiyonu esnasında yapılan miringotomiye bağlı intraepitelyal kanamanın, timpanoskleroz riskini artırdığını ve bu nedenle bu işlem esnasında kanama olmaması için dikkatli olunması gerektiğini belirtmiştir.

Orta kulak effüzyonunun özelliklerinin de timpanoskleroz gelişimini artırabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmaya göre, visköz orta kulak effüzyonlarında kulak zarının yüksek vaskülariteye sahip olmasının daha fazla intratimpanik kanamaya yol açtığı ve bunun da sonuçta timpanoskleroz gelişme oranını artırdığı öne sürülmüştür (140). Ayrıca ventilasyon tüplerine

bağlı timpanosklerozun, aslında vücudun tüp materyaline verdiği yabancı cisim reaksiyonu sonucu geliştiği de bildirilmiştir (4).

Mattsson ve ark. (94) yaptıkları çalışmada, miringosklerozun histopatolojik olarak miringotomiden sonraki 9-12 saat içinde geliştiğini bildirmiştir. Bizim çalışmamızda, tüp insersiyonu yapılan grupta 3. günde kulaklarda timpanoskleroz gelişimi izlenmemiş olup, timpanoskleroz ilk olarak 10. günde izlenmiştir. Onuncu gün ve 1. ayda 1 (%20), 3. ayda 2 (%40) ve 6. ayda ise 3 kulakta (%60) timpanoskleroz izlenmiş olup, tüpün kalış süresi uzadıkça timpanoskleroz oluşumunun arttığı gözlenmiştir.

Literatürde, ventilasyon tüpü insersiyonu yapılan ve yapılmayan kulaklardaki timpanoskleroz oranı karşılaştırılmıştır. Ventilasyon tüpü insersiyonu yapılan hastalarda, medikal tedavi verilen hastalara göre timpanoskleroz gelişme oranının arttığı bulunmuştur. Tos ve ark (89), bilateral effüzyonlu otitis media saptanan çocukların sağ kulaklarına ventilasyon tüpü insersiyonu, sol kulaklarına ise parasentez yapmış ve tedavi sonrası değerlendirmede, sadece parasentez yapılan tarafta %10, ventilasyon tüpü insersiyonu yapılan tarafta ise %48 oranında timpanoskleroz geliştiğini saptamıştır.

Tos ve Stangerup (5) benzer başka bir çalışmada, bilateral effüzyonlu otitis media mevcut olan 146 çocuk hastanın sağ kulaklarına ventilasyon tüpü insersiyonu ve sol kulaklarına sadece parasentez yapmıştır. Sonuçta hastaların sağ kulaklarında %59, sol kulaklarında ise %13 oranında timpanoskleroz saptamıştır. Hastaların 250, 1000 ve 4000 Hz frekanslarındaki işitme seviyeleri arasında minimal fark saptamış olup, bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmiştir. Aynı çalışmada, kulak zarında gelişen miringosklerozun işitme üzerine çok önemli bir etkisinin olmadığı da bildirilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, bilateral effüzyonlu otitis medialis hastalarda tek taraflı tüp insersiyonu sonrası timpanoskleroz oranı tedavi edilen kulaklarda %41, tedavi edilmeyen kulaklarda ise %15,2 olarak rapor edilmiştir (142).

Çalışmamızda timpanoskleroz gelişme oranları; tüp insersiyonu yapılan grupta %28, östaki blokajı yapılan grupta %44 ve östaki blokajı+tüp

insersiyonu yapılan grupta ise %56 olarak saptandı. Kontrol grubunda ise %2,7 oranında timpanoskleroz oluşumu izlendi. Timpanoskleroz gelişim oranı, işlem yapılan gruplardan en düşük tüp insersiyonu yapılan grupta olup, her üç grupta timpanoskleroz oluşumu kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazlaydı. Timpanoskleroz gelişimi açısından, işlem yapılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da, östaki blokajı+tüp insersiyonu grubundaki yüksek oran ilgi çekiciydi. Bu gruptaki artmış timpanoskleroz oranının; ventilasyon tüpü insersiyonu sonrası artmış oksijenizasyon ve tüpün neden olduğu travmanın, östaki tüpü blokajına bağlı olarak gelişen kronik effüzyonlu otitis media ile birlikte oluşturdukları sinerjik etkiden dolayı olduğunu düşünüyoruz.

Ventilasyon tüplerinin fiziksel özelliklerinin de timpanoskleroz gelişiminde etkili olduğu gösterilmiştir. Özellikle küçük çaplı ventilasyon tüpü insersiyonu sonrası timpanoskleroz gelişim oranı daha az olmakla birlikte, hastalığın tekrarlama olasılığı normal çaplı tüplere göre artmaktadır. Hampal ve ark. (85), sağ kulaklarına klasik Shah tip ventilasyon tüpü, sol kulaklarına ise daha küçük Shah tip ventilasyon tüpü insersiyonu yaptıkları bilateral effüzyonlu otitis medialis 116 çocuk hastayı; tüp atılma oranları, effüzyonun rekürrensi ve timpanoskleroz oranları açısından karşılaştırmıştır. Küçük tip Shah ventilasyon tüpü insersiyonu yapılan grupta, daha erken atılma ve effüzyonun tekrarlama oranı yüksek bulunmuş olup, timpanoskleroz gelişim oranı diğer gruba göre daha düşük olarak saptanmıştır. Çalışma sonunda ventilasyon tüpünün büyüklüğünün timpanoskleroz gelişiminde önemli bir faktör olduğu bildirilmiştir. Küçük boyutlu tüplerde timpanoskleroz gelişim oranının düşük olması, bu tüplerin daha az kalış süresine ve kulak zarında daha az kitle etkisine neden olmalarına bağlanmıştır. Aynı çalışmada tüpün bileşiminin timpanoskleroz gelişiminde önemli bir etken olmadığı da bildirilmiştir. Benzer şekilde Dingel (143) de, küçük ventilasyon tüpü insersiyonu sonrası timpanoskleroz gelişiminin daha düşük olduğunu ancak, atılım sürelerinin kısaldığını ve rekürren effüzyonlu otitis media sıklığının arttığını bildirmiştir.

Birçok deneysel ve klinik çalışmada, timpanoskleroz oluşumunda otitis media atakları sırasında ortaya çıkan enflamatuvar hücrelerin ve bakterilerin ürettiği serbest oksijen radikallerinin önemli bir rolü olduğu ileri sürülmektedir (64, 84, 104, 105, 119-121). Timpanosklerozun oluşması için doku hasarının olması gerekmektedir. Orta kulak enfeksiyonları sırasında doku hasarı iki yolla oluşmaktadır. Bunlardan biri aşırı miktarda serbest oksijen radikali üretilmesi, diğeri nötrofil ve bakterilerin direk etkisidir. Akut orta kulak enfeksiyonuna en sık neden olan patojenin *Streptococcus pneumoniae* olduğu bilinmektedir (120). *Streptococcus pneumoniae*, enfeksiyon ortamında önemli miktarda hidrojen peroksit üretmektedir. Hidrojen peroksit önemli bir serbest oksijen radikalidir. Serbest oksijen radikalleri özellikle bağ dokusundaki makrofajlar tarafından üretildiği için, en önemli hasar da bu bölgede olmaktadır (120).

Ortamdaki oksijen konsantrasyonu, timpanoskleroz patogenezinde önemli bir faktördür. Orta kulak kavitesindeki oksijen konsantrasyonu çevre oksijen konsantrasyonundan oldukça düşük olup yaklaşık %5-10 civarındadır (84). Effüzyonlu otitis medianın tedavisinde parasentez yapılmasının ya da ventilasyon tüpü insersiyonunun, timpanosklerozu artırdığı bilinmektedir. Ventilasyon tüpü insersiyonu sonrası kulak zarı ve orta kulak kavitesindeki oksijen konsantrasyonu artar, sonuçta hiperoksik bir ortam oluşmuş olur. Oksijen konsantrasyonu artmış olan orta kulak ve kulak zarında, herhangi bir travma geliştiği zaman serbest oksijen radikallerinin üretimi artar. Serbest oksijen radikallerinin seviyesinin artması fibrozis ve hyalen dejenerasyonu içeren doku hasarının başlamasına neden olur (105). Üneri ve ark. (105)'a göre; serbest oksijen radikallerinin üretiminin artması, sklerotik plakların oluşmasına neden olan kalsiyum ve fosfat partiküllerinin birikmesinin yani kalsifikasyonun önemli bir aşamasıdır.

Turrens ve ark. (144), havadaki oksijen konsantrasyonunun yükselmesinin de orta kulakta serbest oksijen radikallerinin üretimini artırdığını ve oksijen konsantrasyonundaki bu artışın, sonuçta timpanoskleroz gelişimine neden olduğunu göstermiştir. Mattson ve ark. (84) da, atmosferik oksijen konsantrasyonunun artışına bağlı olarak orta kulak kavitesinde artmış

oksijen konsantrasyonunun, travmatize kulak zarlarında timpanoskleroz gelişimini artırdığını bildirmiştir.

Karlıdağ ve ark. (64), timpanoplasti veya timpanoplasti ile birlikte mastoidektomi yaptıkları hastaların kulak zarı ve orta kulak materyallerinde malondialdehit ve nitrik oksit seviyeleri ile plazma malondialdehit seviyesini, timpanoskleroz saptanan grupta, saptanmayan gruba göre yüksek olarak saptamıştır. Antioksidan olan superoksit dismutaz ve katalazın plazma seviyelerini ise timpanoskleroz olan grupta olmayan gruba göre düşük olarak bulmuştur. Ancak iki grup arasındaki farkın katalaz seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı, superoksit dismutaz seviyeleri açısından anlamlı olmadığı bildirilmiştir.

Nitrik oksitin damarlarda vazodilatasyon ve patojenleri öldürme işlevinin yanında, orta kulaktaki enflamatuvar yanıtta görev alarak timpanoskleroz gelişiminde rol oynadığı bildirilmiştir. Nitrik oksit sentezinde görev alan İNOS'un da timpanoskleroz oluşumunda rolü olduğu düşünülmektedir (11, 64, 109). Nitrik oksitin sitokinlerin uyarısına bağlı olarak salgılandığı ve osteoklastların aktivitesini azaltıp, osteoblastların aktivitesini artırarak timpanoskleroza yol açtığı düşünülmektedir (145).

Forseni ve ark. (11), B lenfositler, makrofajlar ve interlökin-6'nın effüzyonlu otitis medialis hastalarda, İNOS'un ise timpanosklerozlu hastalarda daha yüksek oranda saptandığını bildirmiştir. Aynı çalışmada, interlökin-6 ve İNOS'un daha çok mukozal epitel gibi yüzeyel hücrelerde, makrofaj ve B lenfositlerin ise mukozal epitelin derininde özellikle bağ dokusu ve sklerotik plakların etrafında lokalize oldukları gösterilmiştir. Çalışmamızda İNOS boyanması, genellikle akut enflamasyon olan bölgelerdeki granülasyon dokusu içerisinde yer alan makrofajlarda yoğun olarak izlendi. Ayrıca plazma hücreleri, epitel ve endotel hücreleri, lökositler, eozinofiller ve osteoblastlarda da İNOS antikoru ile boyanma söz konusu idi. Forseni ve arkadaşlarından farklı olarak, timpanoskleroz olan kulaklarda İNOS varlığını, timpanoskleroz olmayan kulaklara göre daha az olarak saptadık. Timpanoskleroz olan kulakların %25'inde, timpanoskleroz olmayan kulakların ise %34,9'unda İNOS

boyanması vardı. Ancak iki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Forseni ve ark. (109), orta kulaklarına *Streptococcus pneumoniae* inoküle ederek akut otitis media yaptıkları ratlarda, 3 ve 6. günlerde İNOS boyanmasının oldukça fazla olduğunu, oysa 10. gündeki boyanmanın 3 ve 6. günlere göre daha az olduğunu bulmuştur. Üçüncü ayda ise hiçbir ratda İNOS boyanması izlenmemiştir. Biz de Forseni ve arkadaşları gibi, süre uzadıkça İNOS boyanma oranının azaldığını gördük. Çalışmamızda İNOS boyanması, en fazla 10. günde izlendi. 10. gündeki 15 kulağın 11'inde boyanma varken, 3. günde 6 kulakta, 1, 3 ve 6. aylarda ise 2'şer kulakta İNOS boyanması vardı. İNOS boyanmasının sıklık sırası; östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grup (%40), östaki blokajı yapılan grup (%36), tüp insersiyonu yapılan grup (%16) ve kontrol grubu (%2,7) olarak saptandı. Tüp insersiyonu yapılan grup ile kontrol grubu arasında İNOS boyanması açısından anlamlı bir fark bulunmazken, diğer gruplar ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı.

Atmaca ve ark. (110), miringotomi yaparak sağ orta kulaklarına serum fizyolojik, sol orta kulaklarına ise nitrik oksit verdikleri ratların orta kulak bullalarının histopatolojik incelenmesinde, timpanoskleroz oluşumu açısından önemli bir fark izlenmemiştir. Sonuçta nitrik oksitin tek başına timpanosklerozu neden olan bir faktör olmadığını, bir grup sitokin ile birlikte enflamatuvar bir reaksiyon oluşturarak timpanosklerozu yol açabileceğini belirtmiştir. Forseni ve ark. (11) da, Atmaca ve arkadaşlarının yorumuna benzer şekilde, nitrik oksitin diğer serbest oksijen radikalleri ve sitokinler ile birlikte ardışık bir takım reaksiyonları tetikleyerek orta kulakta histopatolojik değişikliklere neden olduğunu ve bu değişikliklerin de timpanoskleroz oluşum sürecini başlattığını bildirmiştir.

Timpanoskleroz gelişiminde rol oynadığı düşünülen bir diğer faktör de OPN'dir. Timpanoskleroz ve kronik otitis mediada izlenen kalsifiye lezyonlarda OPN proteinin saptanması, timpanosklerozdaki patolojik kalsifikasyonlarda rol oynadığı varsayımlarını desteklemektedir (112). Normal şartlarda, sağlıklı kulak zarı ve orta kulakta OPN salgılayan makrofajlar

yoktur. Kulak zarı ve orta kulakta enflamasyon olması durumunda, enflamasyon alanını infiltre eden aktive makrofajlar OPN salgırlarlar. Salgılanan OPN, kulak zarı ve orta kulaktaki patolojik kalsifikasyon olan timpanoskleroza neden olur (69). Yapılan çalışmalarda, ateroskleroz ve kalsifik aort kapaklarındaki kalsifiye lezyonlarda bölgeyi infiltre eden makrofajların OPN proteini ve OPN mRNA salgıladıkları (111, 113), ancak hastalıksız aort kapaklarında veya hastalıklı aort kapaklarının lezyon olmayan kısımlarında sessiz duran makrofajların OPN salgısı yapmadıkları gösterilmiştir (146).

Makiishi-Shimobayashi ve ark. (112), kronik otitis media ve timpanoskleroz olan hastaların kulak zarı ve orta kulak materyallerinde OPN ve bu proteini salgılayan hücreleri immünohistokimyasal olarak araştırmıştır. Çalışmanın sonucunda, hyalenize kalsifiye alanlarda ve bağ dokusu etrafındaki kalsifiye odaklarda OPN varlığı gösterilmiş olup, OPN ve CD68 (+) hücrelerinin aynı kesitlerde izlenmesi, OPN'yi salgılayan hücrelerin makrofajlar olduğu yönünde yorumlanmıştır. Aynı çalışmada in situ RNA hibridizasyon yöntemi kullanılarak, OPN mRNA salgılayan hücrelerin makrofajlar olduğu ve OPN salgılayan bu makrofajların özellikle kalsifiye odakların etrafında yerleşim gösterdiği saptanmıştır.

Makiishi-Shimobayashi ve ark. (115) yaptıkları başka bir çalışmada, kolesteatomlu kronik otitis media mevcut olan 29 hastadan aldıkları orta kulak materyallerini, OPN boyanması ve OPN eksprese eden hücrelerin belirlenmesi açısından immünohistokimyasal olarak incelemiştir. Kolesteatom dokusu çevresinde makroskopik kalsifikasyonla karakterize hyalenize doku saptanan 4 olgu ile mikroskopik kalsifikasyonla karakterize enflamatuvar doku saptanan 14 olgunun hepsinde OPN boyanması izlenmiştir. Kolesteatom dokusu çevresindeki enflamatuvar dokuda kalsifikasyon izlenmeyen 11 olgunun ise 7'sinde OPN boyanması izlenmiş olup, toplam 29 olgunun 25'inde (%86,2) OPN boyanması saptanmıştır. OPN boyanması izlenmeyen 4 olgunun, kalsifikasyon izlenmeyen grupta olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada da, OPN eksprese eden hücrelerin CD68 (+) boyanan makrofajlar olduğu saptanmıştır.

Raustyte ve ark. (69), orta kulak bullarına bakteri inokülasyonu yaparak akut otitis media oluşturdıkları ve sonrasında bir gruba miringotomi yaptıkları ratların kulak zarı materyallerinde, OPN'nin 4. günde bazı PMNL ve makrofajlar, 7. günde makrofajlar ve fibrositler, 14. günden sonra ise sadece fibrositler tarafından salgılandığını saptamışlardır. Ancak miringotomili enfekte ve miringotomisiz enfekte gruplar arasında bu dağılımlar açısından anlamlı bir fark olmadığını bildirmiştir.

Biz de çalışmamızda, OPN'nin timpanoskleroz oluşumunda önemli bir rolü olduğunu gözlemledik. İşlem yaptığımız kulakların %82,6'sında (75 kulağın 62'sinde) OPN boyanması saptanırken, kontrol grubunda ise hiçbir kulakta OPN boyanması yoktu. Timpanoskleroz olan kulakların hepsinde, timpanoskleroz olmayan kulakların ise %69,8'inde OPN boyanması vardı. Timpanoskleroz olan kulaklardaki OPN boyanma oranı, timpanoskleroz olmayan kulaklara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazlaydı. Çalışmamızda OPN antikoru ile yaptığımız immünohistokimyasal boyamalarda, Makiishi-Shimobayashi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzer şekilde, sıklıkla rejenere hyalenize yeni skleroz alanlarında yer alan makrofajlar ve bunlara ek olarak osteoblastlarda pozitif boyanma saptadık. OPN boyanması en az 3. gündeki kulaklarda saptanmış olup, 3. günden sonraki zamanlarda OPN boyanma oranları benzerdi. Ayrıca çalışmamızda, timpanoskleroz olan ve olmayan kulaklar arasında 10. gün, 1, 3 ve 6. aylardaki OPN boyanma oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

CaSR, kalsiyum metabolizması ile kemik yapımının regülasyonunda görev alır. CaSR kanda yükselmiş kalsiyum seviyesini algılayarak, osteoblastların kemik yapımı olacak bölgeye göç etmesini ve fizyolojik kemik yapımı ile mineralizasyonun başlamasını sağlar. Literatür taraması yapıldığında, timpanoskleroz gelişiminde CaSR etkisini araştıran herhangi bir çalışma yoktur. Çalışmamızda, CaSR varlığı immünohistokimyasal olarak araştırılmış olup, işlem ve kontrol gruplarındaki hiçbir kulakta CaSR boyanması izlenmedi. Sonuç olarak, fizyolojik kemik yapımında rol oynayan CaSR'nin timpanoskleroz oluşumunda etkisinin olmadığını düşünüyoruz.

Orta kulak enfeksiyonlarının büyük bir kısmında, östaki tüpü obstrüksiyonu veya disfonksiyonu önemli rol oynar. Orta kulak epitelindeki mukosilier transport sistemi, orta kulak boşluğunu temizleyen ve koruyan önemli bir savunma sistemidir. Bu sistemin, başta östaki tüpü obstrüksiyonu olmak üzere çeşitli nedenlerle görevini tam olarak yapamaması orta kulakta bir takım değişikliklere neden olur (147).

Östaki tüpü obstrüksiyonundan sonra orta kulakta meydana gelen histopatolojik değişiklikler, Vicente ve ark. (148) tarafından yapılan çalışmada gösterilmiştir. Vicente ve arkadaşları sağ östaki tüpü obstrüksiyonu yaptıkları 40 ratın 19'unu 15. günde, geriye kalan 21'ini ise 90. günde incelemiştir. Sol kulaklar, kontrol grubu olarak alınmıştır. Buna göre, obstrüksiyondan sonraki 15. günde; özellikle vasküler yapıların etrafında PMNL infiltrasyonu, damarlarda vazodilatasyon ve bazı alanlarda neovaskülarizasyon izlenmiştir. Ayrıca immatür kollajen liflerinin izlendiği fibröz doku artışı gözlenmiştir. Orta kulak bullası kemik duvarında, osteojenik aktivite artışı ile birlikte yeni skleroz oluşum alanları izlenmiştir. Orta kulak kavitesinin, mukoperiostal hiperplazi ve siliyalı olmayan epitel tarafından kaplandığı görülmüştür. Obstrüksiyondan 90 gün sonra, mukoperiostit gerilemekle birlikte azalmış hücresel yapıların yerini fibrozisten zengin bir doku almıştır. Ayrıca goblet hücreleri ve salgı yapan submukozal hiperplastik mukus glandlarında artış, epitelde metaplazik değişiklikler ve pseudostratifiye epitelyal değişiklik izlenmiştir. Bu değişikliklerin, enflamasyon nedeni ile hasar gören normal dokunun yerini almaya çalışan bir tamir süreci olduğu sonucuna varılmıştır.

Biz de çalışmamızda, timpanoskleroz saptanan 32 kulağın 30'unda Vicente ve arkadaşlarının belirttiği gibi orta kulak bullasının kemik duvarından orta kulak kavitesine doğru yeni skleroz oluşumu şeklinde timpanoskleroz geliştiğini gördük. Diğer 2 kulakta ise enflamasyon alanlarında izole yeni skleroz oluşumu izlendi.

Östaki blokajı yapılan grupta, Vicente ve arkadaşlarının bildirdiği değişikliklere benzer histopatolojik değişiklikler gözlemledik. Östaki blokajı yapılan 25 kulağın 19'unda kulak zarında kollajen liflerinin artış gösterdiği fibrozis ve enflamasyon vardı. Orta kulakta enflamasyon 23 kulakta izlenmiş

olup, enflamasyon saptanan tüm kulaklarda orta kulak bullası duvarında mukoperiostit ve mukoperiostal genişleme, enflamasyon bölgesinde enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve neovaskülarizasyon saptadık. Enflamasyon bölgesine ilk gelen hücreler, PMNL ve makrofajlardı. Orta kulaktaki enflamasyonun 4'ü PMNL infiltrasyonu izlenen akut, 5'i lenfosit, makrofaj ve plazma hücrelerinin izlendiği kronik ve 14'ü ise her iki hücre grubunun infiltrasyonunun izlendiği mikst tip enflamasyon şeklindeydi. Östaki blokajı yapılan grupta kulak zarı ve orta kulakta, 3. gündeki kulaklarda PMNL infiltrasyonun ön planda olduğu akut enflamasyon izlenmiş olup, hiçbir kulakta kronik ve mikst tip enflamasyon yoktu. 3. günden sonra makrofaj, lenfosit ve plazma hücrelerinin infiltrasyonunun ön planda olduğu kronik ve mikst tip enflamasyon izlendi. Östaki blokajı+tüp insersiyonu ve tüp insersiyonu yapılan gruplarda da benzer şekilde, 3. güne kadar akut ve 3. günden sonra ise kronik ve mikst tip enflamasyon ön plandaydı.

Östaki blokajı yapılan kulaklar ile tüp insersiyonu yapılan kulakların %20'sinde, östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan kulakların ise %40'ında orta kulak kavitesi fibröz doku, granülasyon dokusu ve mukoperiosteal genişleme ile dolu olarak izlendi. Kontrol grubunda ise hiçbir kulakta doluluk izlenmedi. Doluluk oranı en fazla östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grupta olup, gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Çalışmamızda timpanoskleroz olan 32 kulağın %46,9'unda, timpanoskleroz olmayan 43 kulağın %7'sinde orta kulak dolu olup, aralarındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı.

Çalışmamızda, östaki blokajı yaptığımız 25 kulağın 13'ünde orta kulakta epitelyal değişiklikler saptandı. Bu grupta epitelyal değişiklikler; kulakların 10'unda tek katlı basık dejenere yassı epitel, 2'sinde goblet hücrelerinin ve salgı yapan mukus glandlarının artmış olduğu epitelyal değişiklik ve 1'inde ise skuamöz epitel (kolesteatom) şeklinde gözlemlendi. İşlem yaptığımız gruplardan en çok östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grupta epitelyal değişiklik saptanmış olup bu grupta 17 kulakta, tüp insersiyonu yapılan grupta ise 10 kulakta epitelyal değişik izlendi. Her üç grupta da en

fazla izlenen epitelyal değişiklik tipi, tek katlı basık dejenere yassı epitel şeklindeydi.

Russel ve Giles (7), östaki blokajı yaptıkları ve 1, 3, 6, 9. ve 12. aylarda inceledikleri ratların orta kulak bullasında; 1. ayda belirgin şekilde fibroskleroz, 3. ayda ise fibroskleroza ek olarak kalsiyum birikimi izlemiştir. Altıncı aydaki değişikler 3. ay ile benzer olmakla birlikte kalsifikasyon submukozal tabakaya ek olarak lamina proprianın alt tabakalarında da izlenmiştir. Dokuz ve 12. aylarda normal dokunun yerini kolagen liflerinden zengin doku almış olup, kalsifikasyon plakları bu dönemde lamina proprianın tüm tabakalarına yayılmış olarak izlenmiştir. Bu çalışmanın sonunda, timpanoskleroz neden olan değişikliklerin östaki tüpü obstrüksiyonundan 1 ay sonra, kalsiyum birikiminin ise 3 ay sonra başladığı saptanmıştır. Ayrıca timpanoskleroz oluşumunun ilk olarak submukozal tabakada başladığı ve daha sonra lamina propriaya doğru yayıldığı bildirilmiştir.

Biz çalışmamızda, timpanoskleroz saptanan 32 kulağın 29'unda fibröz skleroz, geriye kalan 3 kulakta ise kalsiyum birikimin olduğu kalsifik skleroz geliştiğini saptadık. Çalışmamızda, 3. günde hiçbir kulakta timpanoskleroz gelişimi gözlenmemiş olup, fibröz skleroz ve kalsifik skleroz gelişimi ilk olarak 10. günde izlenmiştir.

Jin ve ark. (149) östaki tüpü obstrüksiyonu yaptıkları kedilerde, 1. haftanın sonunda goblet hücre sayısının belirgin şekilde arttığını ve bundan sonra zamanla azalarak 4. haftanın sonunda sayının normale döndüğünü bildirmiştir. Çalışmamızda, işlem yaptığımız 75 kulağın sadece 6'sında (%8) goblet hücrelerinin ve sekretuar glandların belirgin derecede arttığını gözlemledik. Üç ve 10. günlerde hiçbir kulakta goblet hücreleri ve sekretuar gland artışı yoktu. Birinci ayda 1, 3. ayda 3 ve 6. ayda 2 kulakta goblet hücreleri ve sekretuar gland artışının olduğu epitelyal değişiklikler izlendi.

Başka bir çalışmada, östaki tüpü obstrüksiyonu ile birlikte Streptococcus pneumoniae enjekte edilen ratların orta kulak mukozalarında meydana gelen hücresel değişikliklerin ve enflamasyonun, sadece östaki tüpü obstrüksiyonu yapılan gruba göre daha şiddetli olduğu saptanmıştır (150). Çalışmamızda kulak zarındaki enflamasyon oranları, östaki blokajı+tüp

insersiyonu yapılan grupta %88 ve sadece östaki blokajı yapılan grupta ise %76 olarak saptandı. Orta kulakta enflamasyon varlığı ise östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grupta %96 ve sadece östaki blokajı yapılan grupta %92 oranındaydı. Kulak zarı ve orta kulaktaki enflamasyon oranı, östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grupta bir miktar artmış olup bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. Östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan gruptaki enflamasyon oranının, sadece östaki blokajı yapılan gruba göre daha fazla olmasının, vücudun kullandığımız tüp materyaline verdiği yabancı cisim reaksiyonundan kaynaklandığını düşünüyoruz.

Kemik yapımından sorumlu olan hücreler, osteoblast ve osteoklastlardır. Osteoklastlar kemik rezorbsiyonu, osteoblastlar ise osteoid yapımından sorumludurlar. Bu hücrelerin hematopoetik sistemin monosit-makrofaj grubundan köken aldığı gösterilmiştir (133). Timpanoskleroz oluşumunu, bu hücrelerle birlikte pek çok sitokin tetiklediği düşünülmektedir. Bunlardan en önemlisi makrofaj, osteoblast ve osteoklastlar tarafından üretilen ve enflamasyonda rol oynadığı düşünülen interlökin-6'dır. İnterlökin-6, kendi reseptörleri sayesinde makrofajların osteoblast ve osteoklastlara farklılaşmasına neden olur. Osteoblastlar ve osteoblastlar da, birlikte dengeli bir şekilde çalışarak yeni kemik yapımını ve sklerozu başlatırlar. Yani interlökin-6, timpanoskleroz oluşumunu tetikleyen bir sitokin olarak görev yapar (133).

Forseni (133), orta kulaklarına Streptococcus pneumoniae enjekte ederek akut otitis media yaptığı 12 adet ratın kulak zarı ve orta kulak bullası materyallerini, inokülasyondan sonraki 3, 6 ve 10. günlerde histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelemiştir. Üçüncü günde enflamasyon bölgesine gelen makrofajların osteoklastlara dönüştüğü, 6 ve 10. günlerde bu hücrelerin orta kulak bullası duvarındaki kemik yüzeylerde artış gösterdiği saptanmıştır. Aynı çalışmada makrofajların osteoblastlara da dönüştüğü, osteoblast ve osteoklastların birlikte timpanosklerozu başlattıkları bildirilmiştir.

Çalışmamızda makrofajlar 3. günde izlenirken, 10. günde makrofajlara ek olarak prekersör ve matür osteoblastlar ile sayıları daha az olan osteoklastlar izlendi. Osteoblast ve osteoklastlar, orta kulak bullası kemik

duvarı ile kemik duvardan orta kulağa doğru gelişen rejenere yeni skleroz alanlarında, makrofajlar ise özellikle enflamasyonun yoğun olduğu bölgelerde, granülasyon dokusu ve yeni skleroz oluşumu alanlarında saptandılar. Bu üç hücre tipinin varlığı 1, 3 ve 6. aylarda da belirtilen alanlarda devam etmekteydi.

SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Timpanoskleroz; en az kontrol grubunda, en fazla östaki blokajı+tüp insersiyonu grubunda izlendi. Timpanoskleroz gelişim oranı, işlem gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış olarak saptandı. Ancak işlem grupları arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı değildi. Östaki blokajı+tüp insersiyonu grubundaki timpanoskleroz oranının diğer gruplara göre daha yüksek olmasının; ventilasyon tüpü insersiyonu sonrası artmış oksijenizasyon ve tüpün neden olduğu travmanın, östaki tüpü blokajına bağlı olarak gelişen kronik effüzyonlu otitis media ile birlikte oluşturdıkları sinerjik etkiden kaynaklandığını düşünüyoruz.
2. Üçüncü gündeki hiçbir kulakta timpanoskleroz gelişimi izlenmedi. Timpanoskleroz, ilk olarak 10. gündeki kulaklarda saptandı. İşlem yapılan gruplarda, timpanoskleroz gelişimi en yüksek oranda 6. ayda gözlemlendi. Tablo 4.1'e bakıldığında; östaki blokajı+tüp insersiyonu yapılan grup ile sadece tüp insersiyonu grupta, tüpün kalış süresi uzadıkça timpanoskleroz oranı artmaktadır. Bu durumun, ventilasyon tüpü insersiyonu sonrasında oksijenden zengin bir ortam oluşmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Östaki blokajı yapılan grupta ise 10. günden itibaren belli bir timpanoskleroz oranına ulaşılmakta ve sonra bu oran stabil kalmaktadır.
3. Çalışmamızda İNOS boyanması en fazla 3 ve 10. günlerde saptanmış olup, 10. günden sonra boyanma oranı belirgin şekilde azalmaktaydı. İNOS boyanması, timpanoskleroz olan kulaklarda, olmayanlara göre daha az saptandı. Bunun nedeni; İNOS'un yüksek olduğu 3. günde timpanoskleroz olan kulak olmaması ve 10. günde ise sadece 5 kulakta timpanoskleroz izlenmesiydi. Yani 3 ve 10. günlerde toplam 5 timpanoskleroz olan kulak varken, belirtilen zamanlarda toplam 20 kulakta timpanoskleroz yoktu. İNOS'un yüksek oranda saptandığı zamanlardaki timpanosklerozlu kulak sayısının, timpanoskleroz olmayan kulak sayısına göre oldukça az olması bu farkın nedeni olarak düşünülmüştür. İNOS'un, timpanoskleroza neden olan enflamatuvar sürecin erken dönemlerinde görev aldığını düşünüyoruz.

4. Timpanoskleroz olan kulakların hepsinde OPN boyanması pozitif saptanmış olup, bu oran timpanoskleroz olmayan kulaklardaki boyanma oranına göre anlamlı derecede fazlaydı. Patolojik kalsifikasyonda rol oynadığı bilinen OPN'nin, bir patolojik kalsifikasyon süreci olan timpanoskleroz oluşumunda da rol oynadığını düşünüyoruz. Bu nedenle, OPN'nin sentez ve salgılanmasının engellenmesi ile timpanoskleroz gelişimi önlenabilir.
5. İşlem ve kontrol gruplarındaki hiçbir kulakta, CaSR boyanması izlenmedi. Fizyolojik kemik yapımında görev alan CaSR'nin, patolojik kalsifikasyon olan timpanoskleroz oluşumunda rol oynamadığını düşünüyoruz.
6. Östaki blokajı+ventilasyon tüpü insersiyonu yapılan grupta kulak zarı ve orta kulakta enflamasyon varlığı ve şiddeti, sadece ventilasyon tüpü insersiyonu yapılan grup ile sadece östaki blokajı yapılan gruba göre daha fazla oranda saptandı. Timpanoskleroz gelişimi, enflamasyon varlığının fazla olduğu kulaklarda anlamlı derecede artmış olarak saptandı. Timpanoskleroz saptanan kulaklarda şiddetli ve kronik enflamasyon ön plandaydı. Çalışmamızın sonuçlarına göre, enflamasyonun şiddetli olması ve kronikleşmesi, timpanoskleroz gelişiminde önemli faktörlerdir. Bu nedenle orta kulak enfeksiyonları, enfeksiyonun şiddeti en alt seviyede iken ve kronikleşmeden mümkün olan en erken zamanda etkili şekilde tedavi edilmelidir.
7. Timpanoskleroz saptanan kulakların büyük bir bölümünde orta kulak kavitesi enflamasyon, granülasyon dokusu veya fibröz doku ile dolu olup, doluluk oranı timpanoskleroz olmayan kulaklara göre anlamlı derecede fazlaydı.
8. İşlem yapılan gruplarda, orta kulak bullasında en fazla saptanan epitelyal değişiklik tipi, tek katlı basık dejenere yassı epiteldi. Benzer şekilde, timpanoskleroz olan kulaklarda da en fazla tek katlı basık dejenere yassı epitelyal değişiklik saptandı.
9. Kulak zarında fibrozis ve ödem varlığı, östaki blokajı+ventilasyon tüpü insersiyonu yapılan grupta diğer iki gruba göre daha fazla oranda saptandı. Bu artış, sadece ventilasyon tüpü insersiyonu yapılan gruba göre istatistiksel

olarak anlamlı derece fazlaydı. Timpanoskleroz olan kulaklardaki fibrozis ve ödem varlığı, olmayanlara göre anlamlı derecede artmış olarak saptandı.

10. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, timpanoskleroz gelişimine etkisi olan parametreler şunlardır;

- OPN boyanması,
- Orta kulak kavitesinin enflamasyon, granülasyon dokusu veya fibrozis ile dolu olması,
- Orta kulakta enflamasyon varlığı,
- Enflamasyonun şiddetli olması,
- Enflamasyonun kronikleşmesi,
- Orta kulak epitelinde tek katlı basık dejenere yassı epitelyal değişiklik varlığı,
- Kulak zarında fibrozis ve ödem varlığı.

KAYNAKLAR

1. Akyıldız AN. Kulak hastalıkları ve mikrocerrahisi. Cilt 1, Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998; 452-472.
2. Plester D. Tympanosclerosis. J Otolaryngol Soc Aust. 1972; 3: 325-326.
3. Chang IW. Tympanosclerosis. Electron microscopic study. Acta Otolaryngol. 1969; 68: 62-67.
4. Friedman EM, Sprecher RC, Simon S, Kay DJ. Quantitation and prevalence of tympanosclerosis in a pediatric otolaryngology clinic. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2001; 60: 205-211.
5. Tos M, Stangerup SE. Hearing loss in tympanosclerosis caused by grommets. Arch Otolaryngol Head and Neck Surg. 1989;115: 931-935.
6. Görür K, Öztürk ÖG, Polat G, Vayısoğlu Y, Talas DÜ, Güner N, Özcan C. Evaluation of plasma fibronectine level as a probable indicator for tympanosclerosis. J Laryngol Otol. 2008; 122: 343-346.
7. Russell JD, Giles JJ. Tympanosclerosis in the rat tympanic membrane:an experimental study. Laryngoscope 2002; 112: 1663-1666.
8. Akyıldız AN. Kulak hastalıkları ve mikrocerrahisi. Cilt 1, Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998; 275-325.
9. Selçuk A, Ensari S, Sargin AK, Can B, Dere H. Histopathological classification os tympanosclerotic plaques. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2008; 265: 409-413.
10. Leal MC, Bento RF, Neto SSC, Caldas N, Peixoto CA, Lessa FJD, Leao RS, Bezerra T. Influence of hypercalsemia in the formation of tympanosclerosis in rat. Otol Neurotol. 2005; 27: 27-32.
11. Forseni M, Bagger-Sjöback D, Hultcrantz M. A study of inflammatory mediators in the human tympanosclerotic middle ear. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2001;127: 559-564.

12. Forseni M, Hultcrantz M. Possible inflammatory mediators in tympanosclerosis development, *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2002; 63; 149-154.
13. Akyıldız AN. Kulak hastalıkları ve mikrocerrahisi. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998; 22-61.
14. Janfaza P, Fabian RL. (Çev: Güçlü E, Bozan S) Temporal kemik, kulak. Janfaza P, Nadol JB, Gala RJ, Fabian RL, Montgomery WW. (Çeviri editörü: Cansız H, Yüksel S) Baş ve boyun cerrahi anatomisi, Ankara, Nobel Tıp Kitabevi, 2002; 419-480.
15. Ballenger JJ, Snow JB (Çeviri editörü: Şenocak D). Otolarengoloji Baş ve Boyun Cerrahisi. Cilt 2,15. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, 1996; 838-1011.
16. Duckert LG. Anatomy of the skull base, temporal bone, external ear, and middle ear. In; Cummings CW, Frederickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson MA, Schüller DE. *Otolaryngol Head Neck Surgery*, third ed., St. Louis, Mosby, 1998; 2533-2546.
17. Koç C. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi. Cilt 1, Güneş Kitabevi, 2004; 45-195.
18. Pinilla M, Ramirez-Camacho R, Jorge E, Trinidad A, Vergara J. Ventral approach to the rat middle ear for otologic research. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2001; 124: 515-517.
19. Judkins RF, Li H. Surgical anatomy of the rat middle ear. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1997; 117: 438-447.
20. Sichel JY, Plotnik M, Cherny L, Sohmer H, Elidan J. Surgical anatomy of the ear of the fat sand rat. *J Otolaryngol.* 1999; 28: 217-222.
21. Sternberg SS. *Histology for pathologists.* Second edition, New York, Philadelphia: Lipincott-Raven Press. 1999; 347-350.

22. Bak-Pedersen K. Goblet cell population in the pathological middle ear and eustachian tube of children and adults. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1997; 86: 209-218.
23. Berger G. Eustachian tube submucosal glands in normal and pathological temporal bones. *J Laryngol Otol.* 1993; 107: 1099-1105.
24. Matsune S, Sando I. Distributions of eustachian tube goblet cells and glands in children with and without otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1992; 101: 750-754.
25. Rasmussen N. Eustachian tube function. *Ear Nose Throat J.* 1998; 77: 722.
26. Bluestone CD. Studies in otitis media: Children's Hospital of Pittsburgh-University, Pittsburgh progress report-2004. *Laryngoscope* 2004; 114 (Suppl 105): 1-26.
27. Ishijima K, Sando I, Balaban C, Suzuki C, Takasaki K. Length of the eustachian tube and its postnatal development: computer-aided three-dimensional reconstruction and measurement study. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2000; 109: 542-548.
28. Alper CM, Andalibi A, Bakaletz LO, Buchman C, Caye-Thomasen P, Hellstrom SO, Herman P, et al. Recent advances in otitis media. Anatomy, cell biology, pathology, and animal models. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl.* 2002; 188: 36-51.
29. Gates GA. Acute otitis media and otitis media with effusion. In: Cummings CW, ed 3, *Pediatric Otolaryngology Head and Neck Surgery*, St-Louis, Mosby Year Book. 1993: 461-477.
30. Hiraide F, Inouye T. The fine surface view of the human adult eustachian tube. *J Laryngol Otol.* 1983; 97:149-157.
31. Hızalan Mİ. Efüzyonlu otitis media. İn: Çelik O, ed. *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi*. İstanbul, Turgut Yayıncılık, 2002: 116-142.

32. Bylander-Groth A, Stenstrom C. Eustachian tube function and otitis media in children. *Ear Nose Throat J.* 1998; 77: 762-4, 766, 768, 769.
33. Kamimura M, Sando I, Balaban CD, Haginomori S. Mucosa-associated lymphoid tissue in middle ear and eustachian tube. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2001; 110: 243-247.
34. Akyıldız AN. Kulak hastalıkları ve mikrocerrahisi. Cilt 1, Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998; 247-275.
35. Wright CG, Meyerhoff WL. Pathology of otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl.* 1994; 163: 24-26.
36. Akyıldız NA, Kemaloğlu YK. Otitis media. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2000.
37. Akkuzu B, Özlüoğlu LN. Akut otitis media. *Türkiye Klinikleri Kulak Burun Boğaz Dergisi.* Ağustos 2001; 1(2): 64-67.
38. Bluestone CD, et all. Eustachian tube function as related to adenoidectomy for otitis media. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol.* 1972; 76: 1325.
39. Howie VM. Simultaneous nasopharyngeal and middle ear exudate cultures in otitis media. *Pediatr Diag.* 1972; 13: 31.
40. Pillsbury HC, Kweton JF, Sasaki CT, Fraizer W. Quantitative bacteriology in adenoid tissue. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1981; 89: 355.
41. Stool SE, Berg AO, Berman S, et all. Otitis media with effusion in young children. Clinical practice guideline, Number 12, July 1994 (AHCPR Publication No. 94-0622).
42. Akyıldız AN. Kulak hastalıkları ve mikrocerrahisi. Cilt 1, Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 1998; 337-353.
43. Koç C. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi. Cilt 1, Güneş Kitabevi, 2004; 197-212.

44. Gower D, Mcguirt WF. Intracranial complications of acute and chronic infectious ear disease; a problem stil with us. *Laryngoscope* 1983; 93:1028.
45. Haddad JJ. Treatment of acute otitis media and its complications. *Otolaryngol Clin North Am.* 1994; 27: 431-441.
46. Casselbrant ML, Brostoff LM, Flaherty MR, et all. Otitis median with effusion in preschool children. 2000; 95: 428-436.
47. Rosenfeld MR, Culpepper L, Doyle KJ, Grundfast KM et al. Clinical practice guideline: Otitis media with effusion. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004; 130: 95-115.
48. Paparella MM, Schachern P. New developments in treating otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl.* 1994 ; 163: 7-13.
49. Jung TTK, Hanson JB. Classification of otitis media and surgical principles. *Otolaryngol Clin North Am.* 1999; 32 (3): 369-383.
50. Iwano T, Kinoshita T, Hamada E, et al. Otitis media with effusion and eustachian tube dysfunction in adults and children. *Acta Otolaryngol* 1993; 500: 66-9.
51. Ildiz F, Hızalan Mİ. Dalgıçlıkta karşılaşılan otolaringolojik problemler ve bunlardan korunma yöntemleri. *Kulak Burun Boğaz İhtisas Dergisi* 1997; 4: 8-14.
52. Ovesen T, Borglum JD. New aspects of secretory otitis media, eustachian tube function and middle ear gas. *Ear Nose Throat J.* 1998; 77: 770-777.
53. Doyle WJ, Alper CM, Bluestone CD, et al. Middle ear physiology and pathophysiology. In: Lim DJ, Ed. Recent advances in otitis media. *Annals Otol Rhinol Laryngol* 1998; 107: 14-16.
54. Sade J, Luntz M, Levy D. Middle ear gas composition and middle ear aeration. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995; 104: 369-73.

55. Pereira MBR, Pereira DRR, da Costa SS. Tympanostomy tube sequelae in children with otitis media with effusion: a three-year follow-up study. *Brazilian J Otorhinolaryngol*. 2005; 71(4): 415-420.
56. Stewart IA. Evaluation of factors affecting outcome of surgery for otitis media with effusion in clinical practice. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1999; 49: 243-245.
57. Linder TE, Marder HP, Munzinger J. Role of adenoids in the pathogenesis of otitis media: a bacteriologic and immunohistochemical analysis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1997; 106: 619-623.
58. Belmont M.J. Myringotomy and Tympanocentesis. Ed: Alper C, Bluestone CD. *Advanced Therapy of Otitis Media*. pp: 58-61. BC Decker Inc. London 2004.
59. Koç A, Üneri C. Sex distribution in children with tympanosclerosis after insertion of a tympanostomy tube. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2001; 258: 16-19.
60. Kay DJ, Nelson M, Rosenfeld RM. Meta-analysis of tympanostomy tube sequela. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2001; 124: 374-380.
61. Riley DN, Herberger S, McBride G, Law K. Myringotomy and ventilation tube insertion: a ten year follow-up. *J Laryngol Otol*. 1997; 111: 257-261.
62. Goldstein NA, Roland JT Jr, Sculerati N (1996). Complications of tympanostomy tubes in an inner city clinic population. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 34: 87-99.
63. Hızalan Mİ, Basut O. Effüzyonlu otitis media. *Türkiye Klinikleri Kulak Burun Boğaz Dergisi*. Ağustos 2001; 1(2): 68-79.
64. Karlıdağ T, İlhan N, Kaygusuz İ, Keleş E, Yalcın Ş. Comparison of free radicals and antioxidant enzymes in chronic otitis media with and without tympanosclerosis. *Laryngoscope* 2004; 114: 85-89.
65. Selcuk A, Akdoğan Ö, Özcan İ, Giray SG, Dere H, Özoğul C. Topical application of calcium channel blockers to reduce the progression of

experimentally induced myringosclerosis and tympanosclerosis. *Laryngoscope* 2008; 118: 697-705.

66. Morgan WC. Tympanosclerosis. *Laryngoscope* 1977; 87: 1821-1825.
67. Tos M, Lau T, Arndal H, Plate S. Tympanosclerosis of the middle ear: Late results of surgical treatments. *J Laryngol Otol*. 1990; 104; 685-689.
68. Gibb AG. Tympanosclerosis. *Proc Roy Soc Med*. 1976; 69: 155-162.
69. Raustyte G, Caye-Thomasen P, Hermansson A, Andersen H, Thomsen J. Calcium deposition and expression of bone modelling markers in the tympanic membrane following acute otitis media. *Int J of Pediatr Otorhinolaryngol*. 2006; 70: 529-539.
70. Akbaş Y, Pata YS, Görür K, Polat G, Polat A, Özcan C, Ünal M. The effect of L-carnitine on the prevention of experimentally induced myringosclerosis in rats. *Hearing Research* 2003; 184: 107-112.
71. Alzamil KS, Linthicum FH. Pathology case of month; tympanosclerosis. *Am J Otol*. 1999; 20: 686-687.
72. Igarashi M, Konishi S, Alford BR, Guilford FR. The pathology of tympanosclerosis. *Laryngoscope* 1970; 80: 233-243.
73. Sorensen H, True O. Histology of tympanosclerosis. *Acta Otolaryngol*. 1971; 73:18-26.
74. Santos PF, Leal MC, Peixoto C, Neto SC, Rosas STP. Otomicroscopic and histologic findings of induced myringosclerosis in rats: a critical study of an experimental model. *Brazilian J Otorhinolaryngol*. 2005; 71(5): 668-674.
75. Schiff M, Poliquin JF, Catanzaro A, Ryan AF. Tympanosclerosis. A theory of pathogenesis. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl*. 1980; 89(4 Pt 2): 1-16.
76. Chole RA, Choo MJ. Chronic otitis media, mastoiditis, and petrositis. In; Cummings CW, Frederickson JM, Harker LA, Krause CJ, Richardson

- MA, Schüller DE. Otolaryngology Head & Neck Surgery, third ed., St. Louis, Mosby, 1998; 3040.
77. Wielinga EWJ, Kerr AG. Tympanosclerosis. Clin Otolaryngol. 1993; 18: 341-349.
 78. Asiri S, Hahsam A, Anazy FA, Zakzouk S, Banjar A. Tympanosclerosis: review of literature and incidence among patients with middle-ear infection. J Laryngol Otol. 1999; 113: 1076-1080.
 79. Hızalan İM. Tympanoskleroz. Türkiye Klinikleri Kulak Burun Boğaz Dergisi 2005; 1(7): 54-59.
 80. Proctor B. Chronic otitis media and mastoiditis. In: Paparella MM, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhoff WL, eds. Otolaryngology, 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1991; 1349-1376.
 81. Tos M, Stangerup SE, Holm-Jensen S, Sorensen CH. Spontaneous course of secretory otitis and changes of the eardrum. Arch Otolaryngol. 1984; 110: 281-289.
 82. Slack RW, Maw AR, Capper JWR, Kelly S. Prospective study of tympanosclerosis is developing after grommet insertion. J Laryngol Otol. 1984; 98: 771-774.
 83. Parker AJ, Maw AR, Powell JE. Intra-tympanic membrane bleeding after grommet insertion and tympanosclerosis. Clin Otolaryngol. 1990; 15: 203-207.
 84. Mattsson C, Magnusson K, Hellstrom S. Myringosclerosis caused by increased oxygen concentration in traumatized tympanic membranes, experimental study. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1995; 104: 625-632.
 85. Hampal S, Flood LM, Kumar BU. The mini-grommet and tympanosclerosis. J Laryngol Otol. 1991; 105: 161-164.
 86. Tos M. Surgical solutions for conductive hearing loss. Thieme, Stuttgart 2000.

87. Bhaya MH, Schachern PA, Morizono T, Paparella MM. Pathogenesis of tympanosclerosis. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1993; 109: 413-420.
88. Lesser THJ, Williams KR, Skinner DW. Tympanosclerosis, grommets and shear stresses. Clin Otolaryngol. 1988; 13: 375-380.
89. Tos M, Bonding P, Poulsen G. Tympanosclerosis of the drum in secretory otitis after insertion of grommets. J Laryngol Otol. 1983; 97: 489-496.
90. Özbilen S, Akyıldız N, et al. Timpanosklerozda cerrahi tedavi, Türk Otorinolaringoloji XXI. Ulusal Kongre Tutanakları, Ed: İ. Devranoğlu, 1994; 373-374.
91. Katılmış H, Öztürkcan S, Özdemir İ, Özturan Ş, İlknur AE, Aslan HA. Timpanosklerozisin cerrahi tedavisinde postoperatif işitme sonuçları. Otolaryngol. 2004; 3: 104-107.
92. Olgay RG, Işık AÜ, Berçin AS, Çalgüner M. Timpanoskleroz etyolojisinde alerjinin yeri. Ankara Tıp Mecmuası (The Journal of the Faculty of Medicine) 1994; 47: 235-240.
93. Koç A, Üneri C. Genetic predisposition for tympanosclerotic degeneration. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2002; 259: 180-183.
94. Mattsson C, Johansson C, Hellström S. Myringosclerosis develops within 9 h of myringotomy. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec. 1999; 61: 31-36.
95. Williams KR, Blayney AW, Lesser HJ. Mode shapes of a damaged and repaired tympanic membrane as analysed by the finite element method. Clin Otolaryngol. 1997; 22: 126-131.
96. Elnor A, Ingelsledt S, Ivarsson A. The elastic properties of the tympanic membrane system. Acta Otolaryngol. 1971; 72: 397-403.
97. Dawes PJD, Bingham BJ, Griffiths MV. Aspiration middle ear effusions when inserting ventilation tubes: does it influence post-operative

- otorrhea, tube obstruction or the development of tympanosclerosis? Clin Otolaryngol. 1991; 16: 457-461.
98. Banerjee AR, Jennings C, Marshall JN, Narula AA. The effect of topical adrenaline on the development of myringosclerosis after tympanostomy tube insertion. Am J Otol. 2000; 21: 482-484.
 99. Dursun G, Acar A, Turga M, Çalgüler M. Human leucocyte antigens in tympanosclerosis. Clin Otolaryngol. 1997; 22: 62-64.
 100. Zöllner F. Tympanosclerosis. Arc Otolaryngol. 1969; 89: 207-210.
 101. Ferlito AF. Histopathogenesis of tympanosclerosis. J Laryngol Otol. 1979; 93: 25.
 102. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. Lab Invest. 1982; 47: 412-426.
 103. Farber J, Kyle EM, Coleman JB. Biology of disease. Mechanism of cell injury by activated oxygen species. Lab Invest. 1990; 62: 670-679.
 104. Mattsson C, Marklund SL, Hellstrom S. Application of oxygen free radical scavengers to diminish the occurrence of myringosclerosis. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1997; 106: 513-518.
 105. Üneri C, Sarı M, Akboğa J, Yüksel M. Vitamin E-coated tympanostomy tube insertion decreases the quantity of free radicals in tympanic membrane Laryngoscope 2006; 116:140-143.
 106. Dawn BM, Allan DM, Colleen MS. Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland.1996.
 107. Takoudes TG, Haddad J Jr. Lipid peroxides in middle ear fluid after acute otitis media in guinea pigs. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1999; 108(6): 564-568.
 108. Görür K. Timpanoskleroz ve Miringosklerozun Etiyopatogenezi. Otoscope 2004; 4: 125-129.
 109. Forseni M, Hansson GK, Bagger-Sjöback D, Hultcrantz M. An immunohistochemical study of inducible nitric oxide synthase in the rat

- middle ear, with reference to tympanosclerosis. *Acta Otolaryngol.* 1999; 119: 577-582.
110. Atmaca S, Erol Y, Çoban AY, Yildiz L, Çengel S, Koyuncu M. Does exogenous nitric oxide influence tympanosclerosis? An experimental study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2008; 72: 1845-1848.
 111. Hirota, S, Imakita M, Kohri K, Ito A, Morii E, Adachi S, Kim HM, Kitamura Y, Yutani C, Nomura S. Expression of osteopontin messenger RNA by macrophages in atherosclerotic plaques: a possible association with calcification. *Am J Pathol.* 1993; 143: 1003-1008.
 112. Makiishi-Shimobayashi C, Tsujimura T, Sugihara A, Iwasaki T, Yamada N, Terada N, Sakagami M. Expression of osteopontin by exudate macrophages in inflammatory tissues of the middle ear: a possible association with development of tympanosclerosis. *Hear Res.* 2001; 153: 100-107.
 113. Mohler ER, Adam LP, McClelland P, Graham L, Hathaway DR. Detection of osteopontin in calcified human aortic valves. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 547-552.
 114. Prince CW, Dickie D, Krumdieck CL. Osteopontin, a substrate for transglutaminase and factor XIII activity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1991; 177(3): 1205-1210.
 115. Makiishi-Shimobayashi C, Tsujimura T, Iwasaki T, Kakihana M, Shimano K, Terada N, Sakagami M. Localization of osteopontin at calcification sites of cholesteatoma: possible role as a regulator of deposition of calcium phosphate in the middle ear. *Auris Nasus Larynx.* 2004; 31: 3-9.
 116. Yamauchi M, Yamaguchi T, Kaji H, Sugimoto T, Chihara K. Involvement of calcium-sensing receptor in osteoblastic differentiation of mouse MC3T3-E1 cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005; 288: 608-616.
 117. Gray E, Muller D, Squires PE, Asare-Anane H, Huang GC, Amiel S, Persaud SJ, Jones PM. Activation of the extracellular calcium-sensing receptor initiates insulin secretion from human islets of Langerhans:

- involvement of protein kinases. *Journal of Endocrinology*. 2006; 190: 703-710.
118. Mattsson C, Stierna P, Hellström S. Treatment with dexamethasone arrests the development of myringosclerosis after myringotomy. *Am J Otol*. 2000; 21: 804-808.
119. Üneri C, Bağlam T, Yazıcı M. The effect of Vitamin E treatment on the development of myringosclerosis after ventilation tube insertion. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2006; 70: 1045-1048.
120. Özcan C, Görür K, Cinel L, Talas DU, Ünal M, Cinel I. The inhibitory effect of topical N-acetylcysteine application on myringosclerosis in perforated rat tympanic membrane. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2002; 63:179-184.
121. Görür K, Özcan C, Polat A, Ünal M, Tamer L, Cinel I. The anti-oxidant and anti-apoptotic activities of selenium in the prevention of myringosclerosis in rats. *J Laryngol Otol*. 2002; 116: 426-429.
122. Spratley JE, Hellstrom S, Mattson C, Pais-Clemente M. Topical ascorbic acid reduces myringosclerosis in perforated tympanic membranes. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2001; 110: 585-591.
123. Yetişer S, Hıdır Y, Karataş E, Karapınar U. Management of tympanosclerosis with ossicular fixation: review and presentation of long-term results of 30 new cases. *J Otolaryngol*. 2007; 36(5): 303-308.
124. Friedmann I, Galey FR. Initiation and stages of mineralization in tympanosclerosis. *J Laryngol Otol*. 1980; 94: 1215-1229.
125. Sheehy JL, House WF. Tympanosclerosis. *Arch Otolaryngol*. 1962; 76: 151-157.
126. Tos M, Bak-Pedersen K. Middle-ear mucosa in tympanosclerosis. *J Laryngol Otol*. 1974; 88: 119-126.
127. Austin DF. Reconstructive techniques for tympanosclerosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1988; 97: 670-674.

128. Mcrae D, Gartland DJ, Youngs R, Cokk J. Aspiration of middle ear effusions prior to grommet insertion an etiological factor in tympanosclerosis. *The Journal of Otolaryngol.* 1989; 18: 229-231.
129. Neto SSC, Lessa FJD, Alves G, Caldas N, de Carvalho LM. Myringosclerosis in patient with chronic renal failure: Comparative analysis with a control grup. *Brazilian J Otorhinolaryngol* 2008; 74(4): 494-502.
130. da Costa SS, Paparella MM, Schachern PA, Yoon TH, Kimberley BP. Temporal bone histopathology in chronically infected ears with intact and perforated tympanic membranes. *Laryngoscope* 1992; 102: 1229-1236.
131. Ho KY, Tsai SM, Chai CY, Wang HM. Clinical analysis of intratympanic tympanosclerosis: etiology, ossicular chain findings, and hearing results of surgery. *Acta Otolaryngol.* 2009; 14: 1-5.
132. Wielinga EW, Kuijpers W, Tonnaer EL, et al. An experimental model for tympanosclerosis. A preliminary report. *Acta Otolaryngol* 1988;105: 537-542.
133. Forseni M. Macrophages and possible osteoclast differentiation in the rat bullar bone during experimental acute otitis media, with reference to tympanosclerosis. *Otol Neurotol.* 2001; 22: 771-775.
134. Kalcioğlu MT, Çokkeser Y, Kızılay A, Özturan O. Follow-up of 366 ears after tympanostomy tube insertion: Why is it draining?. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003; 128: 560-564.
135. Vlastarakos PV, Nikolopoulos TP, Korres S, Tavoulari E, Tzagaroulakis A, Ferekidis E. Grommets in otitis media with effusion: the most frequent operation in children. But is it associated with significant complications? *Eur J Pediatr.* 2007; 166: 385-391.
136. Schilder AG, Hak E, Straatman H, Zielhuis GA, van Bon WH, van den Broek P. Long-term effects of ventilation tubes for persistent otitis media with effusion in children. *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 1997; 22: 423-429.

137. Maw RA. Glue Ear in Childhood. London: Mac Keith Press. 1995:103-117.
138. Mangat KS, Morrison GA, Ganniwalla TM. T-tubes: a retrospective review of 1274 insertions over a four year period. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1993; 25(1-3): 119-125.
139. Mawson SR, Fagan P. Tympanic effusions in children. Long-term results of treatment by myringotomy, aspiration and indwelling tubes (grommets), *J. Laryngol. Otol.* 1972; 86: 105-119.
140. Maw AR. Development of tympanosclerosis in children with otitis media with effusion and ventilation tubes. *J Laryngol Otol.* 1991; 105(8): 614-617.
141. Pichichero ME, Berghash LR, Hengerer AS. Anatomic and audiologic sequelae after tympanostomy tube insertion or prolonged antibiotic therapy for otitis media. *Pediatr Infect Dis.* 1989; 8: 780-787.
142. Skinner DW, Lesser TH, Richards SH. A 15 year follow-up of a controlled trial of the use of grommets in glue ears, *Clin. Otolaryngol.* 1988; 13: 341-346.
143. Dingle AF, Flood LM, Kumar BU, Newcombe RC. Tympanosclerosis and mini grommets: the relevance of grommet design. *J Laryngol Otol.* 1995; 109 922-925.
144. Turrens JF, Freeman BA, Crapo JD. Hyperoxia increases H₂O₂ release by mitochondria and microsomes. *Arch Biochem Biophys.* 1982; 217: 411-421.
145. Hukkanen M, Hughes FJ, Buttery LD, et al. Cytokine-stimulated expression of inducible nitric oxide synthase by mouse, rat, and human osteoblast-like cells and its functional role in osteoblast metabolic activity. *Endocrinology* 1995; 136: 5445-5453.
146. Otto CM, Kuusisto J, Reichenbach DD, Gown AM, O'Brien KD. Characterization of the early lesion of degenerative valvular aortic

- stenosis: histologic and immunohistochemical studies. *Circulation* 1994; 90: 844-853.
147. Nell MJ, Grote JJ. Structural changes in the rat middle ear mucosa due to endotoxin and eustachian tube obstruction. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1999; 256: 167-172.
 148. Vicente J, Trinidad A, Ramirez-Camacho R, Garcia- Berrocal JR, Gonzalez-Garcia JA, Ibanez A, et al. Evolution of middle ear changes after permanent eustachian tube blockage, *Arch Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007; 133: 587-592.
 149. Jin CS, Majima Y, Hamaguchi Y, Takeuchi K, Sakakura Y. Quantitative histochemical study of secretory cells after short term tubal obstruction in the cat. *Acta Otolaryngol.* 1991; 111(3): 515-523.
 150. Piltcher OB, Swarts JD, Magnuson K, Alper CM, Doyle WJ, Hebda PA. A rat model of otitis media with effusion caused by eustachian tube obstruction with and without *Streptococcus pneumoniae* infection: Methods and disease course. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002; 126(5): 490-498.