

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

**KRONİK ADENOİDİT VE TONSİLİT İLE ADENOİD VE
TONSİL HİPERTROFİSİNDE APOPTOZUN ROLÜ**

Dr. Merih ÖNAL

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA
2014

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

**KRONİK ADENOİDİT VE TONSİLİT İLE ADENOİD VE
TONSİL HİPERTROFİSİNDE APOPTOZUN ROLÜ**

Dr. Merih ÖNAL

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Taner YILMAZ**

ANKARA

2014

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında gösterdiği yardım ve destek için tez danışmanım ve hocam Prof. Dr. Taner Yılmaz'a, asistanlığım süresince bilgi ve deneyimlerinden her zaman yararlandığım tüm hocalarıma, parçaların apoptoz değerlendirme sürecindeki yardımlarından dolayı Histoloji ve Embriyoloji AD'den Prof. Dr. Sevda Müftüoğlu ve Dr. Elif Bilgiç'e, tez kapsamında ortak çalıştığımız Patoloji AD'den Prof. Dr. Y. Gaye Gürel Tezel'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca her zaman yanımda olarak bana destek veren sevgili eşim Özkan Önal'a, aileme ve özellikle anneme, son olarak da varlığıyla bana güç veren kızım Burçak Önal'a teşekkür ederim.

ÖZET

Önal M. , Kronik Adenoidit ve Tonsilit ile Adenoid ve Tonsil Hipertrofinde Apoptoz, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara 2014. Waldeyer halkasını oluşturan mukozal lenfoid doku, çeşitli mikroorganizmalar için havayolunun ilk savunma alanıdır. Pek çok mikroorganizma bu dokuyu enfekte ederek, tekrarlayan enfeksiyonlara neden olmaktadır. Kronik adenotonsilit, tonsil ve adenoidlerin rekürren, akut ya da subklinik enfeksiyonlara bağlı olarak oluşan persistan enflamasyondur. Adenoid ve palatal tonsillerin rekürren ve kronik enfeksiyonu, lenfoid dokunun hipertrofiyle sonuçlanır. Apoptoz, lenfoid dokuda lenfositler arasındaki dengeyi sağlayan önemli bir süreçtir. Bu çalışmanın amacı, tonsil ve adenoidlerin kronik enfeksiyon halinde ya da hipertrofinde apoptozun rolünü ortaya çıkarmaktır. Kronik adenoiditi ve adenoid hipertrofi olan 46 hastaya adenoidektomi, kronik tonsiliti ve tonsil hipertrofi olan 43 hastaya tonsillektomi ameliyatı yapıp, spesimenler immunohistokimyasal olarak apoptoz açısından incelenmiştir. Adenoid ve tonsiller büyüklüklerine göre derecelendirilmiş olup, apoptotik hücreler ,tonsil ve adenoidin histolojik olarak tanımlanmış alt mikrokompartmentlarında farklı 3 mikroskopik alanda sayılarak ortalaması alınmıştır. İmmünohistokimyasal boyamaların sonucunda, hipertrofik ve hipertrofik olmayan kronik enfekte dokularda apoptoz miktarları açısından karşılaştırılmış, adenoidlerde iki grup arasında apoptoz açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$). Tonsilde ise iki grup arasında apoptoz açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Bu bulgular ışığında, adenoid patolojilerinde apoptozun etkin rol oynadığı, tonsil hipertrofi ya da atrofinde apoptozun etkisinin olmayabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Palatin tonsil,adenoid,apoptoz

Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi 5868 proje no'su ile destek alınmıştır.

ABSTRACT

Önal, M., The Role of apoptosis in Chronic Adenoiditis-Tonsillitis and Adenotonsillar Hypertrophy, Hacettepe University, Faculty of Medicine, Thesis in Otorhinolaryngology, Ankara, 2014. Waldeyer ring, forming the mucosal lymphoid tissue, is the first line of defense to the microorganisms in the respiratory tract. These microorganisms cause recurrent infections of the lymphoid tissue. Chronic tonsillitis and adenoiditis is the persistent inflammation of the tissue that occurs due to recurrent, acute or subclinical infection. The recurrent and chronic inflammation of adenoid and palatine tonsils sometimes results in hypertrophy. Apoptosis provides an important balance between lymphocytes in lymphoid tissue. The aim of this study is to investigate the role of apoptosis in the pathogenesis of adenotonsillar diseases. 46 patients who had chronic adenoiditis and adenoid hypertrophy underwent adenoidectomy and 43 patients with chronic tonsillitis and tonsillar hypertrophy underwent tonsillectomy. The specimens were examined immunohistochemically. Adenoids and tonsils were evaluated for apoptosis and assembled into groups according to their size. Apoptotic cells were counted in 3 different microscopic fields and their average was taken for every microcompartment. As a result of immunohistochemical staining, specimens were compared for their apoptotic cell rate. The difference between adenoidectomy groups is statistically significant ($p < 0.05$), however the difference between the tonsillectomy groups is not statistically significant ($p > 0.05$). In the light of these findings, it was concluded that apoptosis played role in the pathogenesis of adenoid diseases, and that apoptosis appeared to have no effect on the pathogenesis of tonsillar hypertrophy and atrophy.

Key words: Palatine tonsil, adenoid, apoptosis, In Situ Nick-End Labeling

This research has been supported by Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit (project number: 5868)

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	ix
TABLolar	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Palatin ve Nazofaringeal Tonsil	3
2.1.1. Palatin Tonsillerin Histolojik ve Fizyolojik Yapısı	3
2.1.2. Kronik Tonsillit	4
2.1.3. Tonsiller Hipertrofi	4
2.1.4. Nazofaringeal Tonsillerin (Adenoidin) Histolojik ve Fizyolojik Yapısı	5
2.1.5. Nazofaringeal Tonsil (Adenoid) Yapı ve Fonksiyonu	6
2.1.6. Adenoidit	7
2.1.7. Adenoid Hipertrofisi	7
2.2. Tonsil ve Adenoid İmmünolojisi	8
2.3. Lenfoepitel	10
2.4. İnterfoliküler Alanlar	10
2.5. Germinal Merkezler	11
2.5.1. İmmün Cevapta İlk Basamak (Lenfoepitelyum)	12
2.5.2. İmmün Cevapta İkinci Basamak	12
2.6. Apoptoz	14
2.6.1. Morfolojik Özellikler	15
2.6.2. Biyokimyasal Özellikler	16
2.6.3. Apoptozun Genetiği	17

2.6.4. Apoptoz ve Nekroz	18
2.6.5. Apoptozun Fizyolojik Olaylar ve Hastalıklarla İlişkisi	20
2.6.6. Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	21
2.6.7. Apoptoz ve İmmün Sistem	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM	23
3.1. Bireyler ve Yöntem	23
3.2. Preparatların Hazırlanması ve Boyanması	24
3.3. Apoptoz Miktarının Saptanması	26
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	26
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA	38
6. SONUÇLAR	46
KAYNAKLAR	47

SİMGELER ve KISALTMALAR

HEV	High Endotelyal Venül
MALT	Mukoza ile ilişkili lenfoid doku
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1
LFA-1	Lymphocyte function-associated antigen 1
MHC	Major histocompatibility complex
CD40L	CD40 ligand
BCR	B hücre reseptörü
DH	Dendritik hücre
FDH	Foliküler dendritik hücre
CAD	Caspase activated DNaz-kaspazla aktifleşen deoksiribonükleaz
IGF-1	Insulin-like growth factor I
IG-FBP3	Insulin-like growth factor binding protein 3
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
TUNEL	TdT-dUTP nick-end-labelling
PBS	Nötral fosfat tamponu
OTH	Obstrüktif tonsiller hipertrofi
TH	Tonsiller hipertrofi
RT	Rekürren tonsilit
RTTH	Rekürren tonsilit+Tonsil hipertrofisi
DAB	Diaminobenzidine

ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
2.1.	Friedman derecelendirme sistemi ile palatin tonsillerin büyüklüğünün derecelendirilmesi.	5
4.1.	≤%50 Adenoid apoptoz boyanma sonucu	29
4.2.	>%50 Adenoid apoptoz boyanma sonucu	30
5.1.	Evre 1 tonsil grubundan alınan ışık mikrograflarında TUNEL pozitif hücrelerin boyanması.	34
5.2.	Evre 2 tonsil grubundan alınan ışık mikrograflarında TUNEL pozitif hücrelerin boyanması.	35
5.3.	Evre 3 tonsil grubundan alınan ışık mikrograflarında TUNEL pozitif hücrelerin boyanması.	36
5.4.	Evre 4 tonsil grubundan alınan ışık mikrograflarında TUNEL pozitif hücrelerin boyanması.	37

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1. Apoptoz ve nekroz arasındaki genel farklılıklar.	19
4.1. Adenoid dokunun koanal açıklığa oranının yüzde değerine göre sınıflandırılmış adenoidlerde ortalama apoptotik hücre sayıları.	27
4.2. Adenoid dokusunda her alt mikrokompartment için apoptoz değerleri.	27
4.3. Adenoid dokusunun mikrokompartmentler arasındaki apoptoz değerlerinin korelasyonu.	28
4.4. ≤6 yaş hastalarda büyüklüklerine göre sınıflandırılmış adenoidlerde ortalama apoptotik hücre sayılarının karşılaştırılması	28
4.5. >6 yaş hastalarda büyüklüklerine göre sınıflandırılmış adenoidlerde ortalama apoptotik hücre sayılarının karşılaştırılması	28
5.1. Tonsil evrelerine göre ortalama apoptotik hücre sayıları.	31
5.2. Gruplandırılan tonsil evrelerinin apoptotik hücre sayılarının karşılaştırılması.	31
5.3. Tonsil evrelerinde, her alt mikrokompartment için apoptoz değerleri.	32
5.4. Tonsillerin mikrokompartmentlerdeki apoptoz miktarları açısından karşılaştırılması.	32
5.5. Tonsil dokusunda mikrokompartmentler arasındaki apoptoz değerlerinin korelasyonu.	33
5.6. ≤6 yaş hastalarda gruplandırılan tonsil evrelerinin toplam apoptotik hücre sayılarının karşılaştırılması.	33
5.7. >6 yaş hastalarda gruplandırılan tonsil evrelerinin toplam apoptotik hücre sayılarının karşılaştırılması.	33

1. GİRİŞ

Tonsil ve adenoidler immün sistemin önemli elemanlarıdır. Tonsil ve adenoid içindeki immünolojik reaksiyonlar hipertrofi ve kronik enfeksiyonlara yol açabilir. Kronik tonsillit, rekürren akut tonsillit ya da subklinik enfeksiyonlara bağlı olarak oluşan persistan enflamasyon halidir. Kronik tonsillit klinik bir tanı olup, yılda 3-4 kez tekrarlayan ve yeterli antibiyotik tedavisine iyi yanıt vermeyen tonsillit ve boğaz ağrısı öyküsü temeline dayanmaktadır(1). Tonsillerde büyüme, parankimal hiperplazi ya da kriplerde obstrüksiyon oluşturan fibrinoid dejenerasyon sonucu gelişir. Tonsiller hipertrofi, erken çocukluk döneminde başlar ve puberteye kadar devam eder. Lokal ya da sistemik enfeksiyon ataklarını takiben de büyüme gösterirler. Bununla birlikte kronikleşme sonucu olay atrofiye de neden olabilir. Kronik adenoidit ise inatçı burun akıntısı, kötü kokulu nefes, postnazal akıntı, öksürük, ve üzerinde kurutlar ve kronik konjesyon görülen adenoid enfeksiyonu durumudur. Boyutu hipertrofik veya normal olabilir. Adenoid hipertrofinde, nazal obstrüksiyon sonucu solunum güçlüğü, gece horlamaları, ağız solunumu ve burun kanatlarının solunuma katılmasında belirginlik görülmektedir (2,3). Lenfoid dokudaki bu değişimin nedeni tam olarak bilinmese de diyet, genetik, humoral değişiklikler etyolojide rol oynayabilir (4). Bununla beraber, tonsil ve adenoid hipertrofinin nedenleri ve rekürren tonsillitin immün hücre kompozisyonu üzerine olan etkileri halen tam olarak anlaşılamamıştır. Klinik olarak benzer tanımlamaya ve etyolojiye sahip görünen kronik adenotonsillit ile kronik adenotonsiller hipertrofi, esasında histopatolojik olarak birbirlerinden farklı antitelere sahiptir (5).

Tonsil ve adenoidde bulunan lenfosit sayısı ve immün cevaptaki rolü, proliferasyon ve migrasyon durumuna bağlıdır. Apoptoz, lenfositler arasındaki bu dengeyi sağlar. Böylece uyarılmış, oto-reaktif ve düşük spesifiteye sahip T lenfositlerin ortadan kaldırılması sağlanır (6,7). Apoptoz, normal tonsil ve adenoid dokusunda olduğu gibi, hipertrofi ve kronik enfeksiyon gibi patolojik durumlarda da lenfosit hemostazını sağlayarak, immün cevabın devamlılığının sağlanmasında rol oynar. Hipertrofi etyolojisinde birçok faktör rol alırken, hücre apoptozunun patogeneizde ne oranda rol aldığı henüz bilinmemektedir. İmmün sistemde ve lenfositlerde apoptozun incelendiği bir çok çalışma mevcuttur. Ancak, tonsil ve

adenoidlerin hipertrofi ve kronik enfeksiyon gibi patolojik durumlarında apoptozun incelendiği ve karşılaştırmanın yapıldığı tonsille ilgili bir tane çalışma varken, adenoid ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Biz bu çalışmada kronik adenotonsilit ile adenotonsiller hipertrofideki apoptoz durumunu karşılaştırıp, apoptozun tonsil ve adenoid patolojilerinde rol oynayıp oynamadığını göstermeyi amaçlıyoruz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Palatin ve Nazofaringeal Tonsil

2.1.1. Palatin Tonsillerin Histolojik ve Fizyolojik Yapısı

Palatin tonsiller, çift ve oval lenfoid doku toplulukları olup palatoglossal ve palatofarengal katlantılar arasında, oral boşluk ve farenks sınırında yerleşiktir. Serbest yüzeyleri çok katlı yassı epitel ile örtülüdür. Bu epitel derinlere doğru inerek 10-30 adet primer kriptaları meydana getirir. Epitel bir bazal lamina üzerine oturur ve altında ince, fibröz bir bağ dokusu yer alır. Her bir palatin tonsilin derin yüzü kas dokusundan fibröz yarım bir kapsülle ayrılır. Tonsil parankiması yaygın bir lenfoid dokuya gömülü, 1-2 mm kalınlığında pek çok lenfoid folikülden oluşur ve kriptaların epiteli altında tek bir tabaka halinde dizilirler. Foliküller germinal merkezli ya da germinal merkezsiz olabilirler, birbirlerine çok yakın veya birleşmiş olarak bulunabilirler (3,8,9).

Tonsilin yapısını 4 mikrokompartment oluşturur. Bunlar; kript epiteli, kript epitelyumuna paralel yerleşim gösteren büyük oranda B lenfositlerden oluşan foliküler germinal merkez, bunları çevreleyen taç şeklinde “mantle zone” ve bunların arasında daha çok T lenfositlerin bulunduğu interfoliküler bölge olarak isimlendirilmektedir. Ayrıca, HEV (high endotelyal venül), T ve B hücrelerin kandan tonsil dokusuna girişinde oldukça önemli fonksiyona sahiptir.

Çok çekirdekli lökositlerin çok sayıda gözlenmesi, tonsiller için olağan olan enflamasyonun bir göstergesidir. Kripta lümenleri, dökülen yassı epitel hücreleri, granüler artıklar ve mikroorganizmalarla karışık, canlı ve dejenere lökositleri içerebilirler. Bu kitleler, sonradan peynirimsi plaklar biçiminde atılabilmektedirler. Mikroorganizmalar, bazen tonsillerin inflamasyonuna ve iltihaplanmasına neden olurlar (3).

2.1.2. Kronik Tonsillit

Kronik tonsillit, tonsillerin rekürren, akut ya da subklinik enfeksiyonlara bağlı olarak oluşan persistan enflamasyonudur. Kronik tonsillit esasında klinik bir tanıdır. Yılda 3-4 kez tekrarlayan ve yeterli antibiyotik tedavisine rağmen yanıt vermeyen tonsillit ve boğaz ağrısı öyküsü temeline dayanmaktadır (1).

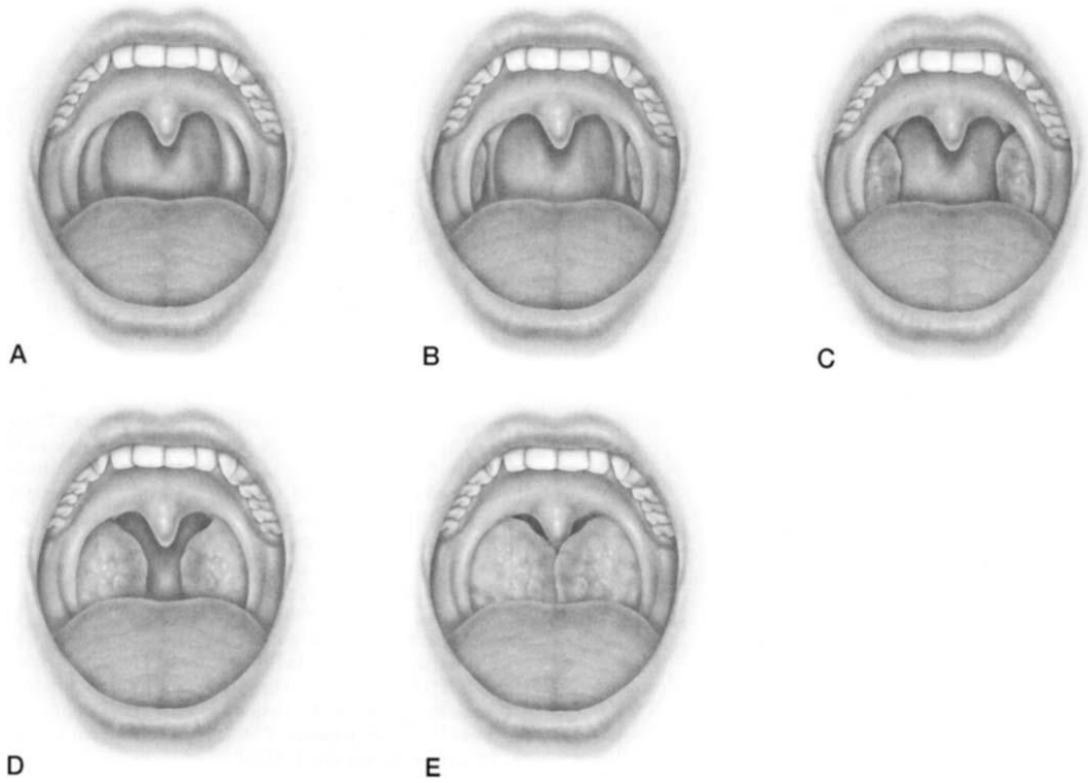
Tonsillerde büyüme, parankimal hiperplazi ya da kriptlerde obstrüksiyon oluşturan fibrinoid dejenerasyona bağlı olarak gelişebilir. Bununla birlikte kronik olay atrofiye de neden olabilir. Kronik tonsillit sıklıkla yetişkinlerin hastalığı olmakla birlikte herhangi bir yaşta görülebilir. Neden olan organizmalar akut olgularla benzerlik gösterir ve genelde gram pozitifler etken olmaktadır. Tekrarlayan boğaz ağrısı, halitosis, aşırı tonsiller debris, peritonsiller eritem ve persistan, servikal lenfadenopati kronik tonsillitte sıkça karşılaşılan semptomlardır (10). Birlikte ateşli ataklar ya da sistemik şikayetler (halsizlik, eklem ağrısı, myalji) görülebilir.

2.1.3. Tonsiller Hipertrofi

Tonsiller hipertrofi, erken çocukluk döneminde başlar ve puberteye kadar devam eder. Daha sonra atrofik değişiklikler görülebilir. Bu değişimin nedeni kesin olarak bilinmemekle birlikte diyet, genetik, hümorale faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Lokal ya da sistemik enfeksiyon ataklarını takiben büyüme gösterebilirler. Tonsilin büyüklüğü mekanik obstrüksiyon, solunum ve yutma güçlüğü oluşturmadığı sürece klinik olarak önemi yoktur. Büyümüş tonsiller malignite bulgusu olabilir ve biyopsi (tonsillektomi) ile doğrulanabilmektedir (4).

Palatin tonsillerin büyüklüğünün derecelendirilmesinde farklı derecelendirme sistemleri kullanılmaktadır. Friedman derecelendirme sisteminde orofarinks obstrüksiyonuna göre 4 adet hipertrofi derecesi tanımlanmıştır (11).

- A. Evre 0: cerrahi olarak çıkarılmış tonsil
- B. Evre 1: tonsil, arka plika sınırını geçmemiş
- C. Evre 2: tonsil, arka plika arka duvarını aşmış.
- D. Evre 3: tonsil, plikaları aşmış ancak orta hattı geçmemiş
- E. Evre 4: kissing(öpüşen) tonsil görünümü varsa



Şekil 2.1. Friedman derecelendirme sistemi ile palatin tonsillerin büyüklüğünün derecelendirilmesi (11)

2.1.4. Nazofaringeal Tonsillerin (Adenoidin) Histolojik ve Fizyolojik Yapısı

Faringeal tonsil tek olarak nazofarinksin tavanında ve arka duvarında bulunur. Serbest yüzeyi solunum yollarındaki goblet hücreli, silyalı, yalancı çok katlı prizmatik epitelle döşelidir. Bazen de çok katlı yassı epitel adacıklarına rastlamak mümkündür. Kronik olarak enfekte veya büyümüş adenoidlerde, özelleşmiş yassı epitelyum oranında artma eğilimi ve respiratuar epitel oranında da azalma eğilimi vardır (10).

Faringeal tonsilin bağ dokusunda, serömüköz karışık bezler yer alır ve 10 adet genişlemiş kanalları, serbest yüzeye ya da katlantılar arası oluklar içine açılırlar. Bunlar, tonsilde yüzey epiteli kriptalar yerine pli (pleat) denen uzunluğuna katlantılar yapar. Epitel yoğun lenfosit infiltrasyonu gösterir. Genellikle lenf folikülleri içeren ve 2 mm kalınlıktaki yaygın lenfoid doku tabakası, epitel altında yer alır ve

katlantıların yapısına katılır. Adenoidin lenf foliküllerinin büyümesi ona bez benzeri bir görünüm kazandırdığı için Yunanca ‘aden (bez)’ adını taşımaktadır (3).

2.1.5. Nazofaringeal Tonsil (Adenoid) Yapı ve Fonksiyonu

Adenoid doku doğumda mevcuttur. Postnatal ilk yıllarda giderek büyüyerek ortalama 4-10 yaşlarında en büyük boyutuna ulaşır. İrritanlar, antijenik etkenler ve kronik enfeksiyonlar boyutunu artırır, puberteden sonra gittikçe küçülür ve erişkinde tamamen kaybolur (10). Çocuk büyüdükçe adenoidin küçülmesi ve nazofarenksin büyümesi ile adenoid nedenli obstrüktif durumun azaldığı bilinmektedir (12). Bu dokularda postnatal ilk haftalardan itibaren bakteri kolonizasyonu oluşmaya başlar. Adenoid doku nazofarinkteki mikroorganizmalara karşı devamlı bir immün cevap hazırlar. Lokal antikor üretiminde glandüler lenfositlerin rolü vardır (13).

Nazofaringeal tonsil küçük çocukta nazofarenks tavanı ve arka duvarının birleşim yerinden önde nazal septuma doğru piramit şeklinde bir kabarıklık oluşturur. Nazofaringeal tonsil histamin ve prostaglandin içeren mast hücrelerinden zengindir. Nazofarinkteki bu lenfoid dokular faringeal bursanın periferinde bulunur. Bursa (Luschka poşu), adenoid tabanında kör bir reses şeklindedir. Bu ortadaki median çukurluktan öne ve yanlara doğru yayılan mukozal kabartılar diffüz lenfoid doku ve derin müköz glandlar içerir. Adenoid dokusu derin oluklarla lobüler parçalara ayrılmıştır. Tonsillerdeki kriptalardan farklılık gösterir; tipik kriptaları yoktur (3).

Lenf nodüllerinin sayısı ve büyüklüğüne göre hacmi değişen adenoid doku yüzey epiteli ile örtülüdür. Silyalı psödostratifiye kolumnar, stratifiye skuamöz ve transizyonel olmak üzere üç farklı yüzey epiteli vardır. Respiratuar epitel mukosilier fonksiyon yapar. Çocukta sinonazal salgı stazı, burun tıkanıklığının görülmesi adenoid dokunun stimuluslara cevabının arttığını, kronik hastalığının olduğunu gösterir. Kriptaların yüzey epitelinde, solunum ve sindirim yolu ile giren antijenler ile epitel altındaki lenfoid hücrelere özelleşmiş ‘M hücreleri’ ve antijen sunucu hücreler vardır. Epitel üzerindeki mikroporlar bu işleme yardımcı olur. Destek yapan retiküler lifler bazal lamina ve konnektif doku ile bağlantılıdır. Selüler yapı ve fonksiyonları palatin tonsile benzer (3).

Adenoid doku, anatomik ilişkisi nedeniyle, Östaki tüplerinin ve öndeki burun ve paranazal sinüslerin fonksiyonlarını bozarak hastalıkların ortaya çıkmasına neden olur. Adenoid vejetasyon rekürren otit, rekürren üst solunum yolu obstrüksiyonu,

kronik sinüzit oluşmasında hem kitle hem de içerdiği mikroflora ile rol oynar (14). Üst solunum yolundan giren bakteriyel ve viral antijenlere karşı organizmanın korunmasında adenoidler önemli rol oynamaktadırlar. Bu lenfoid dokunun orta kulak ve sinüslerdeki enfeksiyonları engelleyen ve kontrolünü sağlayabilen immünkompetan hücreler için bir kaynak olduğu bilinmektedir(15). Bu lokal mukozal defans sistemi, özgün olmayan defans sisteminin yanı sıra salgısal ve hücre aracılı immün defans mekanizmalarından oluşur (16). Defans, lokal üretilen ve salgılanan immünglobülinler yoluyla sağlanmaktadır. Adenoid vejetasyon burun tıkanıklığı yaparak orofasiyal gelişmeyi, diş, damak, çene ve yüz gelişimini bozar; ayrıca çocuklarda büyüme ve gelişme geriliğine neden olur (3). Adenoid doku ile ilgili hastalıklar aşağıdaki gibi sıralanabilir:

2.1.6. Adenoidit

Adenoid, çocuklarda normal olarak hipertroftiktir. Adenoid büyümesinin antijenik uyarılara yanıt olarak oluştuğu bildirilmektedir. Enfeksiyonlara verdiği yanıt ise germinal merkezin hem sayıca hem de boyut olarak artması şeklindedir. Adenoidler ancak burun solunumu engellendiği veya Östaki borusu yoluyla efüzyonlu veya akut otitis mediaya yol açtığı durumlarda önem kazanmaktadır.

Akut adenoidit'te pürülan rinore, nazal obstrüksiyon, ateş ve sık otitis media görülebilir. Akut enfeksiyon esnasında yüksek sesli horlama görülmesi, epizoddan sonra ise horlamanın kaybolması veya azalması akut enfeksiyon olma ihtimalini arttıran bir bulgudur. Rekürren akut adenoidit, altı aylık periyotta dörtten fazla ayrı akut adenoidit atağı olması halidir (10).

Kronik adenoidit, inatçı burun akıntısı, kötü kokulu nefes, postnazal akıntı, öksürük ve üzerinde kurutlar ve kronik konjesyon görülen adenoid enfeksiyonu durumudur. Bu saydığımız semptomlar kronik sinüzitlerde de bulunduğundan ayırıcı tanı yapılması oldukça güçtür. Klinik olarak 3 aydan uzun süren enfeksiyöz burun ve geniz akıntısı ile karakterizedir. Muayenede; adenoid doku hiperemik ve üzerinde pürülan akıntı görülebilir. Boyutu hipertrofik veya normal olabilir (10).

2.1.7. Adenoid Hipertrofisi

Obstrüktif adenoid hiperplazisinde, horlama, hem gündüz, hem de gece olan zorunlu ağız solunumu ve hiponazal konuşmanın oluşturduğu semptom triadı,

büyümüş adenoidler tarafından oluşturulan nazofarengeal obstrüksiyon ile uyumludur. Rinore, postnazal akıntı ve kronik öksürük yaygın görülmekle birlikte bu semptomlar nonspesifiktir.

Adenoid hipertrofisinde, nazal obstrüksiyon sonucu solunum güçlüğü, ağız solunumu, gece horlamaları ve burun kanatlarının solunuma katılmasında belirginlik görülmektedir. Adenoid hipertrofisi, Östaki tüpü yoluyla tekrarlayan akut otitis media veya effüzyonlu otitis mediaya neden olabilmektedirler. Adenoidit ile birlikte nazal, postnazal akıntı, öksürük, adenoid üzerinde kurutlar görülebilir. Bilindiği üzere adenoiditler genellikle tonsillit ile birlikte seyretmektedirler. Çocukta ağızdan nefes alma, nazal konuşma görülmektedir. Çocuklarda ilerleyen zaman içerisinde maksilla gelişimi üzerine olan olumsuz etki sonucu karakteristik yüz görünümü oluşup, bu oluşan duruma da “adenoid yüzü” denilmektedir (17). Görünüm olarak çocuklarda aptal bir görünüm ve ağız açıklığı vardır. Batman ve ark.(18) yaptığı çalışmada adenotonsillektomi sonrası solunum ritminin normale döndüğü, total nazal rezistansta düşme olduğu görülmüştür.

2.2. Tonsil ve Adenoid İmmünolojisi

İnsan farinksinde bulunan lenfoid dokunun önemi, ilk olarak 1884 yılında Waldeyer tarafından tanımlanmış ve bu özel yapılanmaya ‘Waldeyer halkası’ ismi verilmiştir. Tonsil ve adenoidler solunum ve sindirim yollarının giriş kapısında yer alan, Waldeyer halkasının bir parçasıdır. Mikroorganizma ve diğer antijenik maddelere karşı ilk basamak savunma mekanizmasının oluşumunda stratejik bir önem taşımaktadırlar. Faringeal tonsiller olarak da adlandırılan adenoidler Waldeyer halkasının üst zincirini oluşturup nasofarinkste yer alırlar. Bu halka tonsil çiftlerinden oluşmasına rağmen, genellikle klinisyenler “tonsil” terimini daha çok orofarinksin posterolateral duvarında yer alan bir çift palatin tonsil için kullanır. Waldeyer halkasını oluşturan diğer lenfoid elemanlarsa, Östaki tüplerinin farinks açılımında yerleşmiş olan tubal tonsiller ve glossoepiglottik bölgede bulunan lingual tonsillerdir (3).

İnsan vücudu, antijenlere hem ağız hem de solunum yoluyla sürekli maruz kalmaktadır. Antijenler, hızlı ve etkili bir biçimde elimine edilerek kalıcı bağışıklık oluşması gerekmektedir. Bu nedenle müköz membranlarda anatomik ve fonksiyonel olarak bağımsız bir immün sistem gelişmiştir. Müköz membranlar, gastrointestinal

sistem, solunum sistemi ve ürogenital sistemde yaklaşık 400 m² yer kaplayan ve patojenlere karşı majör savunma gösteren lenfoid hücrelerin kümeleştiği yerlerdir (19). Vücudun iç yüzeyini kaplayan bu lenfoepitelyal sistem mukoza assosiye lenfoid doku (MALT) şeklinde adlandırılmaktadır. Adenoid ve tonsiller, Peyer plakları ve apendiks gibi mukoza ile ilişkili lenfoid dokunun (MALT) bir parçasıdır ve nasofarinkste yer almaları nedeniyle nasofarinksle ilişkili lenfoid dokular (NALT) olarak da adlandırılırlar. Bu sistem, hem antijenin yakalanması hem de efektör ve hafıza immün cevabın oluşmasını sağlar (20,21).

Tonsil ve adenoidler, lenf nodlarından farklı olarak tamamen kapsüllü değildir ve lenf nodlarının aksine afferent lenfatik içermezler. Bu nedenle anatomik lokalizasyonu ve histolojik yapısı, epitel yüzeyinden antijenik materyali yakalamaya uygundur (3). Makroskopik olarak tonsil yüzeyi kript olarak adlandırılan, alttaki lenfoid dokunun derinliklerine doğru uzanan dar epitelial yarıklarla karakterizedir. Bu yarıklar sayesinde antijenik uyarı için daha fazla yüzey alanı sağlanır. Yetişkin palatin tonsilinin orofaringeal alanda kapladığı alan 45 cm² olmasına rağmen, kriptler sayesinde tonsil epitelial yüzey alanı 295 cm²'yi bulmaktadır (20). Palatin tonsillerin medial yüzü çok katlı yassı epitelle, palatin tonsillerin ve adenoidlerin farengeal yüzeyi ise silier respiratuar epitelle kaplıdır. Tonsillerin serbest yüzünde bulunan kriptlerin üzerinde değişkenlik gösterebilen "lenfoepitel" olarak da adlandırılan immün yanıtın başladığı epitelyum yer alır (22). Diğer tonsillere oranla, nazofaringeal ve palatin tonsilde retikülasyon ve lenfositik infiltrasyon daha fazladır. Kript epitelinin yanı sıra immün yanıtta katılan 3 kompartman daha vardır. Bunlar; B hücre gruplarından oluşan foliküler germinal merkezler, bunları taç şeklinde örten yoğun lenfosit birikimi ile karakterize mantle zon(manto alanı) ve ektrafoliküler alanlardan oluşur (20).

2.3. Lenfoepitel

Lenfoepitel ya da retiküler kript epiteli; epitel hücrelerinin yanı sıra dendritik hücreler, makrofajlar ve T ve B lenfositleri içerir (23). İntraepitelyal lenfositlerin yaklaşık %50'si, immünglobulin yapan B hücreleri iken, T lenfositler daha az ve dağınık halde bulunurlar (24). Lenfoepitelde bulunan bazı spesifik T hücre alt grupları, antijenle modifiye olmuş epitele karşı sitolitik aktivite gösterir (25). Rekürren tonsilite bulunan lenfoepiteldeki lökosit sayısı, bu T hücre alt grubu

nedeniyle hipertrofik tonsilde bulunandan daha fazladır. Diğer epitel hücrelerinin arasına dağılmış bir başka hücre grubu da “M” hücreleridir. Görevi antijen taşımak olan bu özel hücreler ilk olarak ince barsak Peyyer plaklarında gösterilmiş, daha sonra tonsil ve adenoidlerde de varlığı ortaya çıkmıştır. Kökeni tam anlaşılamamakla beraber bu hücrelerin antijen giriş yeri olarak hareket ettikleri, tuttıkları antijeni işlemeden subepitelyal lenfoid dokuya taşıdıkları düşünülmektedir (20). M hücrelerince taşınan antijeni dendritik hücreler, makrofaj ve B lenfositler gibi antijen sunan hücreler hazırlar. Özellikle dendritik hücreler, antijeni, ektrafoliküler T hücre ve foliküler B hücre alanına taşırlar. Yapılan immünohistokimyasal çalışmalar, insan tonsillerinde lenfoepitelde immatür, interfoliküler T hücre bölgelerinde ise matür dendritik hücrelerin varlığını göstermiştir.

2.4. İnterfoliküler Alanlar

İnterfoliküler alanlarda çok sayıda postkapiller venüller (HEV), T lenfositler ve matür dendritik hücreler yer almaktadır. T hücrelerin büyük bir kısmını CD4+ yardımcı T hücreleri oluşturur. İnsan vücudunda çok az yerde gerçek intraepitelyal kan damarı bulunmaktadır. Kokleadaki stria vaskularis ve tonsil dokusu, bu alanlardan bazılarıdır. Zengin intraepitelyal kan akımı bu bölgenin metabolik ihtiyaçlarını karşılar, endotel hücreleri ve lökosit etkileşimini artırır, immünglobulinlerin ve diğer maddelerin damar boyunca taşınmasını sağlar. HEV’ler spesifik adezyon molekülü ekspresyon özellikleriyle lenfositlerin damar dışına geçişini uyarırlar. Bir kez tonsile giren deneyimsiz CD45RA+ T hücreler, interfoliküler alan boyunca göç ederler. Çok sayıdaki antijen sunan hücrenin yüzeyi ile temas ederek spesifik antijenini arar. T lenfosit - antijen sunan hücre arasında tanıma gerçekleşirse T hücresi aktive olur (20,26).

2.5. Germinal Merkezler

T hücre bağımlı antijen cevabı sırasında, primer lenfoid follüküllerde germinal merkezler gelişerek sekonder lenfoid follüküller meydana gelir (3). Germinal merkezler B hücrelerine proliferasyon, somatik mutasyon, B hücre reseptörüne afinite matürasyonu ve immünooglobülin izotip değişimi için uygun mikroçevre sağlarlar. Sonuçta bellek B hücreleri ve immünglobulin salgılayan plazma hücreleri oluşur. Bazı plazma hücrelerinde J zinciri geninin indüklenmesi ile polimerik

immünglobulinlerin oluşumunda hayati rol oynayan J zinciri eksprese edilir. Yalnız IgA ve IgM'e bağlanabilen bu zincirle sekretuar immünglobulinlerin oluşumu ve taşınması gerçekleşir (16). Nazofaringeal sekresyonlardaki en önemli immünglobulin olan sekretuar IgA, bakteri ve virusların bu bölgedeki epitele tutunmasını önler. Tonsillerde germinal merkez reaksiyonu ile %55-72 oranında IgG, %13-18 IgA daha az oranda da IgM ve IgD yapılır (22).

Tonsillerde en belirgin immünolojik aktivite 3-10 yaş civarında gözlenmekte olup, maksimum postnatal büyüme, 4-7 yaşlarda ortaya çıkmaktadır. Tonsil dokusunun boyutları çocukluk çağında bakteriyel yük ve T ve B hücre sayısı ile orantılı olarak erişikin yaşa göre daha büyüktür. Altmış yaşına kadar immünglobulin pozitif B hücreleri tüm tonsil kompartmanlarında azalırken T hücre sayısındaki değişim sınırlıdır. Bu yüzden yaşa bağımlı olarak tonsil boyutlarında küçülme gözlenmektedir (3).

Adenoid ve tonsiller predominant olarak B lenfosit organlarıdır. B lenfositler adenoid ve tonsillerdeki lenfositlerin %50-65'ini, T lenfositler adenoid ve tonsillerdeki lenfositlerin %40'ını, matür plazma hücreleri %3'ünü oluştururken, periferik kanda T lenfositler %70 oranında bulunur (24). Enfekte olmayan bir tonsilde belli bir antijene spesifik çok az sayıda immünkompetan hücre olması nedeniyle lenfosit trafiği immün cevabın sürekliliği için şarttır. Lenfositlerin HEV aracılığıyla kandan tonsillere ve tonsilden kana geri dönmesi immünkompetans için gereklidir. Sekonder bir lenfoid organ olan tonsillerde antijenin işlenmesi ve immün cevabın oluşması 2 basamak halinde gerçekleşir:

2.5.1. İmmün Cevapta İlk Basamak (Lenfoepitelyum)

Orofaringeal kaviteye giren antijenler, kript epiteli tarafından yakalanarak ilk cevap başlatılır. M hücrelerinin görevi, antijenin yakalanması ve transportudur.

2.5.2. İmmün Cevapta İkinci Basamak

Antijenler kript epitelini geçip dendritik hücrelere ulaşırlar ve bu hücreler tarafından işlendikten sonra ekstrasfoliküler bölge veya lenfoid folliküllere ulaşır. Ekstrasfoliküler bölgede bulunan HEV'lerde adezyon moleküllerinden biri olan ICAM-1(Intercellular Adhesion Molecule 1) belirgin olarak eksprese edilmekte ve LFA-1(Lymphocyte function-associated antigen 1) taşıyan lenfositlerin bölgede

tutulmasını sağlamaktadır (3). Böylece işlenmiş antijen HEV aracılığıyla dokuya geçerek naif T hücrelerine sunulur. Antijene özgül T hücre aktivasyonu için en az 2 sinyal gerekir (27). İlk sinyal antijene özgüldür ve T hücre reseptörünün, MHC molekülüne bağlı peptid antijene teması ile oluşur. İkinci sinyal ise T hücre yüzeyinde CD28, antijen sunan hücre yüzeyinde CD80 ve CD86 gibi kositimulatuvar moleküllerin etkileşimine dayanır. Bu 2 sinyal CD40 ligandın (CD40L) T hücre yüzeyinde ekspresyonunu sağlar. CD40L, antijen sunan hücre veya B hücre yüzeyindeki CD40 molekülüne bağlanır. CD40-CD40L etkileşimi sitokin ve kemokin salınımı için güçlü bir sinyaldir, eğer olmazsa germinal merkezler oluşamaz (22,26). Salınan sitokinlerin etkisiyle immün yanıtın polarizasyonu gerçekleşir, T hücreler proliferer olur ve farklı T hücre alt gruplarına farklılaşır. Uyarılmış T hücrelerin bir kısmı efektör veya hafıza hücresi haline gelerek tonsili terk ederken, bir kısmı ektrafoliküler zonun dış kısmında kümeler halinde yerleşir. T hücreden zengin ektrafoliküler bölgenin dış kısımlarında naif B hücreleri bulunur. T-B hücre etkileşimini takiben yakalanmış antijenlerden birisine spesifik B hücre reseptörünü (BCR) taşıyan B hücre, antijeni alarak işler. Yapılan son çalışmalar direkt T ve B hücre teması dışında dendritik hücrenin de(DH) B hücre büyüme ve farklılaşmasını düzenlediğini göstermiştir (28).

B hücreler proliferer olur veya kemotaktik gradient boyunca lenfoid foliküle göç ederek germinal merkez oluşturur ya da ektrafoliküler bölgede kalır. Ektrafoliküler bölgede kalan B lenfositler klonal olarak çoğalmaya devam ederek ömrü kısa olan, antikor üreten plazma hücresi haline gelir. Benzer şekilde aktive T hücreleri de lenfoid foliküllere göç ederek orada çoğalırlar.

Antijenin girişinden bir hafta sonra antijen spesifik T hücreleri tonsiller foliküllerde bulunmaktadır. Yine antijen sunumu tamamlandıktan sonra dendritik hücrenin, T hücreler tarafından öldürüldüğü veya apoptoz ile öldüğü bilinmektedir (3).

T ve B hücrenin hem aktivasyon hem de birbiriyle etkileşimini takiben lenfoid foliküle girmesiyle primer lenfoid folikülde germinal merkezler oluşur ve sekonder lenfoid folikül haline gelir. B lenfositler proliferer olarak antikor üreten plazma hücreleri haline gelerek buradan diğer mukozal bölgelere dağılırlar. Nazal mukoza, tükürük ve lakrimal bezlere yerleşen plazma hücreleri tarafından üretilen

immünglobulinler büyük oranda IgA polimerleri şeklindedir. Bir kısım B hücresi ise hafıza hücrelerine dönüşür. Başlangıçtaki antijen uyarısını takiben 3-4 hafta içinde germinal merkez boyutları küçülür. Geriye sadece foliküler dendritik hücreye yakın yerleşimli az sayıda antijen spesifik B-blastlar kalır.

İnsan tonsilleri, hem hümorale (B hücre, plazma hücresi, antikor üretimi), hem de sellüler (T hücre ve sitokinler) immünitenin görüldüğü reaktif lenfoid organlardır. Sağlıklı palatin tonsilde sürekli bir lenfoid hücre uyarımı gerçekleşmektedir ve bu sabit aktivasyon haline fizyolojik enflamasyon denir. Eğer tonsiller lenfoid dokuda patojenlerin aktivite ve çoğalması, aktive lenfositler ve immünglobulin üreten hücrelerin koruyucu potansiyelini aşarsa “tonsillit” halinden bahsedilir (3).

Tonsil ve adenoidlerin maksimum postnatal büyümesi 4-7 yaş arasında olup, puberteden sonra involusyon başlar (20). Bu nedenle küçük okul çocuklarında, mekanik obstrüksiyona bağlı uyku apnesi ve kulak problemleri sık görülür. Kronik veya rekürren enfeksiyonlu veya obstrüktif hipertrofik vakalarda cerrahi olarak tonsillerin çıkarılması bir tedavi yöntemi olarak kabul edilmekteyse de tonsillektomi endikasyonunun dikkatle konulması gerekmektedir. Serum IgA seviyelerinin tonsillektomiye takiben bir miktar azaldığı bilinmektedir. Ogra ve arkadaşları(29) canlı oral poliovirus aşısı ile aşıl原因an çocuklarda adenotonsillektominin nasofarengeal sekresyonlarda poliovirus spesifik IgA düzeyini belirgin olarak düşürdüğünü göstermişlerdir. Lokal immün sistemdeki bu yetersizlik, nazofarenkste poliovirusün sinir kökleri aracılığıyla MSS yayılımını arttırmaktadır. Poliomyelit epidemileri sırasında tonsillektomi yapılması paralizi insidansını arttırmaktadır.

Hem hümorale (immünglobulin üretimi) hem de sellüler (CD8/CD4 oranı, gecikmiş tip deri reaksiyonu) immünolojik parametrelerde adenotonsillektomiye takiben istatistiksel olarak anlamlı düşme gözlenirken altı ay içerisinde bu değerlerin normale döndüğü tespit edilmiştir.(3) Yapılan bir çalışmada, kronik tonsillitli hastalarda tonsillektomi öncesi ortalama kemotaktik indeksi sağlıklı kontrollere göre anlamlı düşük iken postoperatif dönemde istatistiksel olarak önemli derecede arttığı gösterilmiştir (30).

Jeschke ve Ströder (31), tonsillektomi sonrası çocuklarda serum IgA ve sekretuar IgA düzeylerinin düştüğünü ve bu düşüklüğün 3 yıla kadar devam ettiğini saptamışlardır. Cantani (32), 65 çocukta serum IgG, IgA, IgM ve sekretuar IgA

düzeylerini operasyon öncesi ve adenotonsillektomiden bir ve dört ay sonra değerlendirmiş, hem total immünglobulin düzeyinde hem de sekretuar IgA'da ameliyat sonrası giderek belirginleşen azalma saptamıştır. Operasyonun hücrel immün sisteme etkilerini inceleyen çalışmalarda ise T ve B hücre sayıları ve T hücre fonksiyonlarında operasyon öncesine göre hafif değişiklikler saptanmıştır (33).

Yılmaz ve Koçan (34), kronik tonsiliti ve adenoid hipertrofisi olan hastalarda retinol, karoten, tokoferol, likopen, askorbik asit gibi bazı antioksidanlar ile superoxid dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan aktivite gösteren bazı enzimlerin ameliyat öncesi ve sonrası kan değerlerini incelemişler, ameliyat sonrasında antioksidan seviyelerinde belirgin artış saptamışlardır. Ayrıca Yılmaz ve Hoşal (35), bir büyüme faktörü olan IGF-1 (Insulin-like growth factor I) ve bunun taşıyıcı proteini olan IG-FBP3 (Insulin-like growth factor binding protein 3) serum düzeylerini adenotonsiller hipertrofi nedeniyle opere olan olan çocuklarda çalışmış, adenotonsiller hipertrofinin azalmış IGF-1 ve IG-FBP3 düzeylerine neden olduğunu, sonucunda büyüme ve gelişme geriliği geliştiğini göstermişlerdir. Opere edilen bu hastaların postoperatif dönemde serum IGF-1 ve IG-FBP3 değerleri artmıştır.

2.6. Apoptoz

Apoptoz, dokuların erken gelişim ve büyüme döneminde önemli rol oynayan, hücrel hemostazın devamlılığı için gerekli olan bir çeşit hücre ölümüdür. Çoğunlukla programlanmış hücre ölümü, hücre intiharı ile aynı anlama gelir. Farklı bir deyişle apoptoz, kontrollü bir şekilde, hücre dönüşümünün düzenlenmesi, istenmeyen hücrelerin uygun zamanlamada ve çevre doku hasarına neden olmadan ortadan kaldırılmasıdır (36,37).

Apoptoz terimi ilk olarak 1972'de J.F.K. Kerr tarafından (38), nekrozdan farklı fizyolojik bir ölüm şekli olarak tanımlanmıştır. Eski bir Yunan terimi olan apoptoz, kelime anlamı olarak yaprakların ağaçtan, taç yaprakların çiçekten doğal olarak düşmesi anlamına gelmektedir. Apoptoz, çeşitli travmatik hücre dışı lezyonlar nedeniyle (hormonal olarak aktif çeşitli maddeler, iyonize radyasyon ve kemoterapiyi içeren travmatik ajanlar) ya da genetik faktörlerle aktive edilen ve hücrenin kendisi tarafından programlanmış bir mekanizmayla hücre ölümünü kontrol eden aktif bir işlemdir (39). Fizyolojik bir süreç olarak apoptoz, hücre ölümünün fizyolojik olarak kabul edildiği durumlarda en çok görülen morfolojidir (40).

Apoptotik hücreler, organizmanın bazı dokularında ve hücrelerinde sürekli olarak oluşmaktadırlar ve bu oluşum ömür boyu devam eder. Böylece ölüm (apoptoz) ve yeniden yapım (mitoz) bu dokularda doku homeostazını oluşturarak dinamik bir denge halinde süregelir (41).

Apoptoz embriyonik ve erken postembriyonik gelişme sırasında hücrelerin morfogenetik ölümünden sorumlu iken, aynı zamanda farklılaşmış dokuların olgunlaşmasında da esastır. Çünkü apoptoz vücudun bütünündeki hücre sayısının sabit tutulmasını ve immün sistem faaliyetlerinin gerçekleşmesini sağlar. Örnek olarak, immün bir reaksiyonun sonucu dikkate alınacak olursa; bu noktada aktive edilmiş lenfositlerin direkt apoptoz vasıtasıyla kendi antijenlerini elimine ettikleri görülür (42).

2.6.1. Morfolojik Özellikler

Apoptoz için sinyal alındıktan sonra hücrede birçok biyokimyasal ve morfolojik değişim gözlenir. İlk olarak hücre küçülmeye ve kondanse olmaya başlar, hücre iskeleti dağılır ve çekirdek zarı yer yer erir. Çekirdek DNA'sı parçalara ayrılır (43). Hücrenin sitoplazma iskeletinin bozulması apoptoza yol açar. Öte yandan sitoplazma iskeletinin stabilizasyonu apoptozu inhibe eder. Sitoplazma çekilmeye ve küçülmeye başlar. Bunu nükleusun birbirinden ayrı fragmanlara parçalanması izler. Nükleus apoptozda olayların odak noktasıdır (39). Kromatin ve çekirdekte bulunan yapısal proteinlerin parçalanması sonucu çekirdekte kondensasyon başlar ve çoğu zaman çekirdek kromatinin çekirdek membranının iç yüzüne yerleşmesi nedeniyle at nalı biçiminde görülür (44,45). Hücre büzölmeye ve küçölmeye devam eder ve makrofajların tanıyabileceği membranla çevrili küçük veziköler parçalara ayrılır. İçlerinde sitoplazma ve intakt organeller ve bazılarında çekirdek parçaları da mevcut olan apoptotik cisimler meydana gelir (43,45). Çekirdek de hücre gibi büzöşür ve bazen membranla sarılı olarak birkaç parçaya ayrılabilir (44). Sonuçta hücre ölü, plazma membranları parçalanır ve organeller gözlenir. Protoplazmanın zardan uzaklaşmasından, apoptotik cisimin oluşumuna kadar süren apoptotik olaylar zinciri birkaç dakika sürer. Bununla birlikte apoptotik hücrelerin fagositozu 12-18 saat sürebilir (46).

2.6.2. Biyokimyasal Özellikler

Apoptoz sırasında hücrelerin membranlarında değişimler olur. En belirgin değişim normalde hücre membranının sitoplazmik yüzeyinde yer alan negatif yüklü fosfolipidlerin birimlerinin hücre membranının dış yüzeyine çıkmasıdır. Bunun sonucunda kollektin (C1q) adı verilen çeşitli proteinler apoptotik hücre zarına bağlanmaktadır. Ayrıca normalde hücre zarında gizlenmiş olan bazı moleküller apoptozda açığa çıkarlar ve makrofajlar tarafından tanınırlar. Ayrıca hücre içeriklerini içine alan ve membranla çevrili veziküller apoptotik hücrelerden koparlar. Bu küçük veziküller apoptotik cisim olarak da adlandırılırlar. Bu değişimler apoptotik sürecin sonlarına doğru görülür (43). Apoptozun en belirgin özelliği hücre içi Ca^{++} ve Mg^{++} bağımlı endojen endonükleaz enziminin aktivasyonu ile kromozomal DNA'nın nükleozomal birimlere parçalanmasıdır (47). Apoptoz işlemi aktive edildikten kısa bir süre sonra DNA da tek iplikte bir çentikle başlayan çok karakteristik ve geri dönüşsüz bir parçalanma görülür. Böylece bu çözülmenin apoptozda bir anahtar olduğu düşünülür (48). Fragmentasyon apoptotik hücrelerde CAD (caspase activated DNaz-kaspazla aktifleşen deoksiribonükleaz) enzimi tarafından DNA'nın nükleozom birimlerine ayrılmasıyla sağlanır. CAD normal hücrelerde inaktif formda bulunur; ancak, apoptoz sinyali alan hücrelerde kaspaz 3 tarafından aktive edilir ve bu enzim DNaz (endonükleaz) olduğu için çekirdek DNA'sının hızlı biçimde 180-200 baz çiftlik nükleozomal fragmanlara ayrılmasını sağlar (40,43). Ama, yine de DNA çözülmesi apoptoz için şart değildir. Sağlıklı bir hücrede basit hücresel ve moleküler bir olay herhangi bir anda apoptozu başlatabilir. Bu durum hücrelerin zaten sahip oldukları intihar programını gerçekleştirip gerçekleştirmeyeceklerini belirleyen inhibitör bir molekül taşımaları gerektiğinin göstergesidir (47,49).

2.6.3. Apoptozun Genetiği

Apoptoz olayının gerçekleşmesi esnasında gözlenen genetik olaylar bu işlemde tümör supresör genleri ile onkoproteinlerin birlikte iş görmesi açısından önemlidir. Her hücresel işlemde olduğu gibi apoptozun genetiğinde de belli aşamalar mevcuttur; ölüme karar verme, ölüm, parçalanma ve bunu fagositoz takip eder. Bcl ailesi antiapoptotik ve proapoptotik üyelerden oluşan ve apoptozu düzenlemede en

önemli role sahip olan onkoprotein grubudur. Bcl-2 ve Bcl-XL apoptozu engelleme fonksiyonunu ya kaspazların öncü formlarını durdurarak ya da kaspaz akışını engelleyerek gerçekleştirir (50). Proto-onkogen olarak tanımlanan bcl-2 genellikle insan follüküler B hücre lenfomalarında gösterilmiştir. Bcl-2; IL3, GM-CSF ve IL-4'e bağımlı erken hematopoetik hücre serilerinde yaşam süresini arttırır. "Anti-apoptoz" genini hatırlatan özelliklere sahiptir. Ancak, her zaman apoptozu önleyemez; örneğin hedef hücreleri sitotoksik T hücrelerinden koruyamaz (40).

Anti-onkogen p53 apoptozla ilişkili diğer bir genidir. p53 tümör supressor geni olarak sınıflandırılır. Bu genin ekspresyonunun ortadan kalkması, birçok tümörde genel bir özelliktir. Bu genin ürünleri, hücre proliferasyonunu durdurur; bunun yerine hücreyi differansiyasyon aşamasına çevirir. p53'ün gerçek rolü hasarlı hücreyi hasar onarılanaya kadar d fazında tutmaktadır (46). Birçok anti-tümör ilaç, hedef olarak hücre DNA'sını seçer ve p53 seviyesini arttırır. Bu aktivasyon ya hasarın tamirine ya da apoptozu yol açar (41). Yani Bcl-2 hücrede aşırı miktardaysa ve p53 de mutasyona uğrarsa apoptoz gerçekleşemez.

Oksidan ve antioksidanların sitoplazmik düzeyleri arasındaki denge de apoptoz regülasyonunda rol oynar. Apoptozu indükleyen birçok ajan ya oksidandır ya da oksidatif metabolizma stimülatörleridir. Diğer taraftan birçok apoptoz inhibitörü antioksidan etkilere sahiptir. Yaşam içi oksidan ve antioksidanlar arasında uygun bir denge gereklidir (51). Ayrıca, hücrede apoptotik işaretleri kontrol edebilen ve membranda yerleşmiş ölüm reseptörleri vardır. Bu reseptör ailesi aynı zamanda tümör nekroz faktörleri (TNF) olarak da bilinir ve bu ailenin 6 farklı reseptör içeren 24 üyesi vardır (TNF-R, FAS, DR3, DR4, DR5, DR6). Ölüm alanı olarak bilinen, hücre membranda yerleşmiş 80 aminoasitlik bir zincir bulunmaktadır ve bu bölgenin apoptoz aktivasyonunda büyük önemi vardır. Fas, APO-1 diye tanımlanan hücre yüzey molekülü ile aynı yapıdadır. Anti APO-1, proliferasyonu tam olarak bloke ederek apoptotik hücre ölümünü indükler. Fas/APO-1 sistemi hem normal doku döngüsünü çalıştırırken, hem de malignite dahil birçok durumda apoptoz aktivasyonunu mümkün kılar (37,40).

Kaspazlar

Kaspazlar, sitoplazmada normalde inaktif proenzimler olarak bulunur. Fakat proteolitik parçalanmadan sonra aktif hale geçerler ve böylece kaspaz aktivasyon

zinciri başlar. Başlangıçta, kaspazlar mitokondride membran hasarı oluşturur ve bu olayların sonucunda; zar değişimleri, hücre iskeleti ve çekirdek değişimine yol açan hasarlar ortaya çıkar (52).

2.6.4. Apoptoz ve Nekroz

Hücre ölümü nekroz ve apoptoz olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleşir.

İnternal Sinyallerle Apoptozis Mekanizması

Mitokondri aracılı olarak da adlandırılır. Hücre dışı sinyallerle veya DNA hasarı ile etkinleşen yoldur. Sağlıklı hücrelerin mitokondrilerinin dış membranında Bcl-2 proteini, membran yüzey proteini olarak eksprese olur. Bcl-2 proteini Apaf-1 protein molekülüne bağlı olarak bulunur. Hücrede oluşan iç hasar Bcl-2 proteinini etkileyerek Apaf-1 molekülünün kopmasına neden olur. Bu olay mitokondrinin içinde bulunan sitokrom-c'nin sitoplazmaya sızmasına neden olur. Salınan sitokrom-c ve Apaf-1 ile birlikte kaspaz-9 molekülüne yapışırlar. Sitokrom-c, Apaf-1 ve kaspaz-9 molekülleri ATP varlığında birleşerek apoptozom diye adlandırılan bir kompleks oluştururlar. Bu olaylar sitozolde oluşur. Kaspaz-9 efektör kaspazlara bağlanarak aktive olmalarını sağlar. Bu reaksiyonlar kompleman veya pıhtılaşma mekanizmalarındaki benzer bir biçimde oluşur ve sitoplazmadaki yapısal proteinlerin sindirimine, kromozomal DNA'nın parçalanmasına, hücrenin fagosite edilmesine yol açar (53).

Eksternal Sinyallerle Apoptoz Mekanizması

Ölüm reseptörleri aracılı apoptoz adı da verilmektedir. Bu yoldaki özellikle immün sistemin iç dengesini korumada önemli roller üstlenmektedir.

Fas ve TNF reseptörleri, hücre membranında bulunan hücre ölüm reseptörü olarak adlandırılan integral proteinlerdir. Reseptör kısımları hücre yüzeyinde bulunur. Bu reseptörlere FasL ve TNF- α ve β gibi ölüm aktivatörlerinin bağlanması ile bu reseptörler sitoplazmaya apoptotik sinyalleri iletirler. Bunun sonucunda kaspaz-8 aktive olur. Kaspaz-8, kaspaz-9'a benzer bir mekanizma ile efektör kaspazları aktive eder ve sonuçta hücrenin fagosite edilmesine sebep olur (54). Hücrenin bu süreçleri enerji gerektirir. Enerji gereksinimi, apoptozu nekrozdan ayıran önemli bir farktır. Araştırma sonuçlarına göre, ATP hücre içi düzeyinin de hücre ölüm şeklinin seçiminde belirleyici bir rol üstlendiğini göstermektedir.

Deneysel çalışmalarda, ATP bulunan ortamlarda seçilen hücre ölüm şekli apoptoz olurken, ATP yoksunluğu olan ortamlarda hücre ölümü daha çok nekroz şeklinde gerçekleşmektedir. Deneysel verilere dayanarak, apoptozun son evresinde çekirdek yoğunlaşması ve DNA yıkımı için glikoliz ve mitokondrial solunum ile ATP sağlanmasının gerekli olduğu ileri sürülmüştür. ATP, apoptozun geç dönemlerinde harekete geçen bazı özel kaspazların aktivasyonunda da önemli bir etkidir (38).

Nekroz, hücrenin kendi içinde gerçekleşen olaylardan ziyade, olumsuz dış faktörler sonucu ortaya çıkar. Hem nekroz hem de apoptoz, yöntem olarak hücre ölüm şekli olmalarına rağmen, bu iki ölüm şekli arasında büyük farklılıklar vardır. Nekrozun karakteristik özelliği ölümün hücre grubunda ortaya çıkmasıdır ve nekrozun en yaygın nedeni hipoksidir. Bununla birlikte toksik maddeler ve ağır metaller de nekroza neden olabilir. Nekroza neden olan olaylar, hücre ve organel parçalanmasına yol açan membran geçirgenliğinin artmasında ve bunun sonucunda da sitoplazmanın ve çekirdek içeriğinin ekstrasellüler boşluğa salınmasında rol oynar (48,55). Bunun sonucunda inflamasyon oluşur. Bu olayın karakteristik özelliği makrofaj ve nötrofillerin nekrotik dokuya göç ederek nekrotik dokuyu fagosite etmeleridir. Bu nedenle enflamasyon nekrozun önemli bir işaretidir. Apoptozu başlatan mekanizmalar endojen kaynaklı iken, nekrozda ekzojen kaynaklıdır. Apoptoz tek hücrede ortaya çıkan bir olaydır ve bu olay sonucu apoptotik cisim oluşumu vardır. Apoptotik hücre, hücre olma özelliğini kaybeder ve tamamen cansız bir kitle haline dönüşür. Nekrozda ise organellerin parçalanması, şişme, zar zedelenmesi ve serbest radikal hasarı gibi olaylar söz konusudur ve nekroz belli bir hücre grubunu etkiler (49).

Tablo 2.1. Apoptoz ve nekroz arasındaki genel farklılıklar (49).

Özellikler	Apoptozis	Nekroz
Stimulus	Fizyolojik	Patolojik (hasar sonucu)
Ortaya çıkışı	Tek tek hücrelerde	Hücre gruplarında
Geriye dönüş	Olmaz (morfolojik değişikliklerden sonra)	Olur (geri dönülmez değişikliklere kadar)
Hücreler arasında ve bazal membrana olan adezyonlar	Erken dönemde kaybolur.	Geç dönemde kaybolur.
Sitoplazmik organeller	Geç dönemde şişer.	Erken dönemde şişer.
Lizozomal enzim salınımı	Yoktur.	Vardır.
Nükleus	Parçalanır (karyoreksis).	Ortadan kaybolur (karyolizis).

Nüklear kromatin	Birbirine benzer yoğun kitleler halinde bir araya toplanır.	Sınırları belirsiz bir şekilde kümelenir.
DNA parçalanması	İnternükleozomal	Rasgele
Hücre	Apoptotik cisimler oluşturur.	Şişer ve geç dönemde parçalanır.
Diğer hücreler tarafından fagositozu	Vardır.	Yoktur.
Eksudatif inflamasyon	Yoktur.	Vardır.
Skar oluşumu	Yoktur.	Vardır.

2.6.5. Apoptozun Fizyolojik Olaylar ve Hastalıklarla İlişkisi

Apoptoz birçok fizyolojik ve patolojik olayda etkin rol oynamaktadır. Fizyolojik olayların başında hücre yapım-yıkım dengesi gelir. Deri, barsak epiteli, kan hücreleri gibi hücre yapım-yıkımının hızlı olduğu dokularda yaşlanan hücreler apoptoz ile ortadan kaldırılarak yeni hücrelere yer açılır. Fetusun implantasyonundan organogenezise kadar embriyolojik dönemden başlayarak, tüm yaşam boyunca birçok gelişim basamağında önemli rol oynar. İnsanın embriyolojik gelişiminde parmaklar arasındaki perdelerin ortadan kalkması ve sinir sisteminin gelişimi sırasında üretilen nöronların %50'sinden fazlasının ölümü apoptozla gerçekleşir (56). Normal homeostaz mekanizması olarak menstruasyonda endometriyumun dökülmesi, laktasyonun kesilmesinden sonra meme bezlerinin küçülmesi gibi hormona bağlı değişikliklerde, immün sistemin gelişimi ve uygun şekilde çalışmasında olduğu gibi birçok fizyolojik olayda da etkin rol almaktadır. Buna ek olarak; hipertermi, radyasyon, sitotoksik kemoterapi, hipoksi gibi nekroz oluşturan zararlı ajanların yaptığı hücre hasarları; HIV-1, HCV gibi bazı viral hastalıklar veya immün reaksiyonlara yanıt olarak oluşan sitotoksik T lenfositleri ile oluşturulan hücre ölümü gibi patolojik süreçlerde de apoptoz oluşmaktadır (57). Bir dokuda hızlanmış ya da tam tersine yavaşlamış apoptoz nedeni ile HIV ve HCV enfeksiyonu gibi viral enfeksiyonlar, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar, ateroskleroz ve iskemik hasar, otoimmün hastalıklar ve kanser meydana gelebilmektedir (41). Genellikle tümör dokularında proliferasyonun artmasına bağlı olarak apoptozda artış izlenirken, B hücreli lenfomada olduğu gibi bazı tümörlerde apoptoz azalması tümör gelişimine neden olabilmektedir (58).

2.6.6. Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler (59)

1. Hematoksilen-eozin boyama

2. Giemsa boyama
3. Floresan mikroskopi
4. Elektron mikroskopi
5. Faz kontrast mikroskopi
6. Anneksin V yöntemi
7. TUNEL yöntemi
8. M30 yöntemi
9. Kaspaz-3 yöntemi
10. Agaroz jel elektroforezi
11. Western blotting
12. Flow sitometri

TUNEL Yöntemi

DNA kırıklarının in situ olarak tanınmasını sağlar. DNA parçalarının serbest 3'OH kısmı biotin, digoxigenin ya da florescein gibi nükleotidler vasıtasıyla modifiye edilmiş enzimatik etiketler ile belirlenebilir. Apoptotik parçalanma sonucu DNA uçları, DNA polimeraz veya Klenow fragmenti kullanılarak işaretlenebilmektedir. Ancak, terminal deoksिनükleotidil transferaz (TdT) kullanılarak yapılan işaretleme göreceli olarak daha duyarlı bir yöntem olarak bulunmuştur. Bu teknikte flow sitometriyle apoptotik hücrelerin yüzdeleri ölçülebilir. DNA kaybından kaçınmak için kesitler dondurma mikrotomuyla alınabilir. Konvansiyonel parafin kesitleri, TdT ve nonizotopik işaretli nükleotidler (sıklıkla biyotinli dUTP) kullanılarak yapılan in situ işaretleme ardından, floresan veya enzimatik görüntüleme, apoptotik hücreleri diğerlerinden ayırmada yeterli olmaktadır. Bu yöntem, yaygın olarak "TdT-dUTP nick-end-labelling" sözcüklerinin kısaltılması olan "TUNEL" yöntemi adıyla anılmaktadır (60,61).

2.6.7. Apoptoz ve İmmün Sistem

Apoptoz doku gelişiminde sellüler dengeyi korumada rol oynar. Bilinen bir teoriye göre; hücreler aksi yönde uyarılmadıkça kalıtsal olarak sürekli ölürler. Diğer bir deyişle, yaşamaları için ya çevrelerindeki diğer hücreler sinyallerle tetiklenmeli ya da, intrinsik intihar yolunu bloke edecek başka bir sinyal uyarılmaları gerekmektedir. Böylece hücrenin yaşamını sürdürmek için, immün sistem ve

hematopoez kontrolü bu teoriyle ilgili birçok örnek içerir. Timusta timositler bir seçme sürecine girer ve sadece self antijeni daha düşük affinite ile tanıyan hücrelerin olgun CD4+ ve CD8+ T lenfositler haline dönüşmesi sağlanır. Buna pozitif seleksiyon denir. Self antijeni yüksek affinite ile tanıyan timositler eğer gelişimine devam ederse, otoreaktif lenfositler oluşur, bu nedenle ortadan kaldırılmalıdırlar. Bu, negatif seleksiyondur ve apoptoz indüksiyonu ile olur (37). Timustaki bu negatif seleksiyon otoreaktif T lenfositlerinin elimine edilmesinde en güvenilir mekanizmadır ve böylece organizmanın self toleransı korunur.

B hücreler de, T hücreler gibi antijen stimülasyonuna differansiasyon safhasına bağlı olarak değişik şekilde cevap verirler. Pre B hücreler V, D, J genlerini içeren hafif zincir lokuslarını, ağır zincir lokuslarıyla bağlantılı olarak az bir kısım hücrede Ig üretmek üzere düzenlerler. Başarısız düzenlemeler muhtemelen ölümle programlanacaktır. Başarılı olan pre B hücreleri, yüzey IgD açığa çıkartmadan önce IgM açığa çıkartacaktır. Pre B hücreleri, IgM açığa çıkarttığı safhada antijen ile karşılaşır ve başarısız olurlar. Ancak bu safhada yaşayan hücreler antijene proliferasyon ve klonal gelişme ile cevap verirler. Bu yine otoreaktif hücrelerin ortadan kaldırılması için bir methodur.

İmmün reaksiyon tamamlandığında antijen spesifik lenfositlerin çoğu artık gerekli değildir. Bu hücrelerin çok az bir kısmı hafıza hücrelerine dönüşür. Bu hücreler daha sonra yeni antijenle karşılaştığında daha hızlı ve şiddetli reaksiyon gösterirken, diğer hücreler apoptoz ile yok edilirler. T lenfositlerinin apoptozu, periferik immün sistemde yaşlı T lenfositlerin ortadan kaldırılması için de kullanılır (62).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz, Histoloji ve Embriyoloji ile Patoloji Anabilim dallarında, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu'nun 26.05.2011 tarihli ve fon 11/27 ve fon 11/29 karar no'lu izniyle Haziran 2012 – Mayıs 2014 tarihleri arasında yapılmıştır. Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 5868 proje no'su ile tümüyle desteklenmiştir.

3.1. Bireyler ve Yöntem

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalında Haziran 2012 - Mayıs 2014 tarihleri arasında burun akıntısı, kötü kokulu nefes, postnazal akıntı, horlama, özellikle geceleri artan ağız solunumu ve hiponazal konuşma gibi şikâyetler ile başvuran hastalardan muayene ve tetkikleri sonucunda kronik adenoidit ve adenoid hipertrofisi tanısı konulan 2-16 yaşlarında (ortalama yaş 6) 22'si erkek, 24'ü kız, toplam 46 hasta çalışmaya alındı. Başka sistemik ve KBB sorunu olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Adenoidektomi endikasyonu konan hastaların poliklinik muayenesi fleksibl 3.5 mm pediatrik endoskop (Karl Storz,Tuttlingen,Almanya) ile burun tabanından ilerletilerek yapıldı. Havayolu obstruksiyonunun derecesine karar verebilmek için koananın tüm sınırlarını ve adenoid dokunun tamamını görecektir şekilde endoskop yeterli mesafeye kadar ilerletildi. Adenoid dokunun koanal açıklığına oranı, yüzde değeri olarak kaydedildi (63). Burun akıntısı, kötü kokulu nefes, postnazal akıntısı olup, %50 ve altı adenoid büyüklük değerine sahip olan hastalar bir grup (n=21), bu şikâyetlere horlama, ağız açık uyuma ve hiponazal konuşmanında eklendiği, %50 üzeri adenoid doku büyüklüğüne sahip olan hastalar ikinci grup (n=25) olacak şekilde ayrıldı. Adenoidektomi yapılan hastalardan alınan adenoidler, formaldehit içine konularak histopatolojik inceleme yapıldı, Histoloji ve Embriyoloji AD tarafından apoptoz açısından incelendi. Bu iki grup arasında apoptoz miktarı açısından karşılaştırma yapıldı. Böylece kronik adenoiditi olup adenoid hipertrofisi olanlarla, kronik adenoditi olup hipertrofisi olmayan adenoidlerde apoptoz miktarı, farkı ve

hipertrofiye olan etkisi çalışıldı. Ayrıca apoptozun adenoid dokunun farklı kompartmanlarındaki miktarı incelendi.

Aynı tarihler arasında sık tonsilit, horlama, boğaz ağrısı, ağız kokusu, ağız açık uyuma gibi şikâyetler ile başvuran hastalardan muayene ve tetkikleri sonucunda kronik tonsilit ve tonsil hipertrofisi tanısı konulan 2-16 yaşlarında (ortalama yaş 6) 23'ü erkek, 20'si kız, toplam 43 hasta çalışmaya alındı. Tonsillektomi endikasyonu konan hastaların tonsil boyutu Friedman(11) derecelendirme sistemine göre değerlendirildi. Buna göre spesimenler evrelerine göre, evre 1, 2, 3 ve 4 olarak ayrıldı. Hepsinin lenfoid doku kompartmanlarındaki apoptoz miktarları ayrı ayrı incelendi. Daha sonra tonsil büyüklükleri evre 1 ve 2 olup, sık tonsilit hikayesi, boğaz ağrısı ve ağız kokusu olan hastalar Grup 1 olarak ayrıldı. Bu şikâyetlere horlama, ağız açık uyuma gibi semptomların da eklendiği, tonsil büyüklükleri evre 3 ve 4 olan hastalar Grup 2 olarak adlandırıldı. Bu iki grup da kendi aralarında apoptoz açısından karşılaştırıldı. Tonsillektomi ameliyatı sonrası alınan tonsiller formaldehit içine konularak histopatolojik inceleme yapıldı, Histoloji ve Embriyoloji AD tarafından apoptoz açısından incelendi. Böylece kronik rekürren tonsiliti olup tonsil hipertrofisi olanlarla, kronik tonsiliti olup hipertrofisi olmayan tonsillerde apoptoz miktarı, farkı ve hipertrofiye olan etkisi çalışıldı. Ayrıca apoptozun tonsil dokusunun farklı kompartmanlarındaki miktarı incelendi.

Tüm hastalara ve ailelerine çalışma ile ilgili bilgilendirme yapıldı ve onayları alındı. Hastaların ayrıntılı anamnezleri alındı, fizik muayeneleri ve endoskopik muayeneleri yapıldı, rutin kan ve pıhtılaşma testleri çalışıldı, anteroposterior akciğer grafileri çekildi. Hastaların ameliyatları genel anestezi altında, adenoidektomi küretaj yöntemiyle, tonsillektomi ise diseksiyon yöntemi kullanılarak yapıldı. Ameliyat sonrası rutin kontrolleri yapılan hastalarda postoperatif sorun olmadı.

3.2. Preparatların Hazırlanması ve Boyanması

Yüzde onluk formalin solüsyonu içindeki doku örnekleri, doku takibine alınıp sırasıyla değişik dereceli etil alkol ve ksilen serilerinden geçirilip parafinize edilerek parafin bloklar hazırlandı. Her bir olgu için hazırlanan bloklardan immünohistokimyasal uygulama için bir kesit, hematoksilen ve eozin ile boyanarak patolojik inceleme yapıldı; bir kesit boyanmadan apoptoz incelenmek üzere ayrıca alındı. Pozitif yüklü lamlara 4-5 µm kalınlıkta kesit alındı. Apoptozun

immünohistokimyasal olarak gösterilebilmesi için ApopTag® Plus Peroxidase (In Situ Apoptosis Detection Kit, Chemicon (Millipore), Billerica, MA, ABD) çalışma kiti kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyama işlemi tüm gruplara ait kesitlerde kullanılan kitin kullanım tarifine uygun biçimde, aşağıda belirtilen 23 aşamada tamamlandı:

1. Alınan kesitler 60 °C etüvde 1 gece deparafinize edildi.
2. Kesitlerden parafin artıklarının iyice uzaklaştırılması için kesitler ksilolde 3'er defa 15'er dakika şeffaflandırıldı.
3. Ksilolun uçması için kesitler yarım saat kadar kurutuldu.
4. Kesitlerdeki dokunun rehidrate olması için kesitler dereceli alkollerden geçirildi (%100 - %90 - %80 - %70'lik alkollerde 10'ar dakika)
5. Alkollerden sonra kesitler distile su ile 3 defa 5'er dakika yıkandı.
6. Kesitler nötral fosfat tamponuna alınıp 5 dakika yıkandı.
7. Kesitler 1 defaya mahsus kurutularak etrafları dakopenle çizildi ve antikor damlatılacak alan seçildi ve sınırlandırıldı.
8. Tekrar fazla kurumasına izin vermediğimiz kesitler, nötral fosfat tamponu (PBS) içine alındı.
9. Her bir kesite 20 mikrolitre kadar Proteinaz K enzimi damlatıldı ve kesitler nemli ortamda (humidity chamber), 15 dakika oda ısısında inkübe edildi.
10. Sonra kesitler distile suyla yıkandı.
11. Endojen peroksidaz blokajı yapmak için kesitlere %3'lük H₂O₂ damlatıldı ve nemli ortamda oda ısısında 5 dakika inkübe edildi.
12. Sonra kesitler PBS ile 3er kez 5 dakika yıkandı.
13. Kesitlere equilibration buffer damlatıldı (75 mikrolitre/kesit) ve 10 dk oda ısısında inkübe edildi.
14. Yıkama yapılmadan kesitlere TdT enzimi damlatıldı nemli ortamda 37°C 1 saat inkübe edildi.
15. Kesitler 15 dakika stop washing buffer ile yıkandı.
16. Sonra kesitler PBS'e alındı ve 3 kez yıkandı.
17. Antidigoksinin konjugatı damlatılan kesitler, 30 dk nemli ortamda, oda ısısında inkübe edildi.

18. PBS ile yıkama yapıldı.
19. DAB(Diaminobenzidine) ile 5 dakika inkübe edildi.
20. Distile su ile yıkandı.
21. Zemin boyanması için metil green boyası ile 5 dk boyandı.
22. Distile su ile yıkanan kesitler, dereceli alkollerden geçirilerek (%70-80-90-100) kurutuldu.
23. Ksilolde 20 dakika tutuldu ve entellan ile kapatılarak mikroskopta incelendi.

3.3. Apoptoz Miktarının Saptanması

TUNEL ile boyanmanın en yoğun olduğu uygun alanlarda ışık mikroskopunda (Leica DMR ışık mikroskobu, Wetzlar, Almanya, x400) inceleme yapıldı. Apoptozun pozitif olduğu, kahverengi boyanan, morfolojik olarak oval - yuvarlak şekilli, dar - yoğun sitoplazmalı nükleer kondansasyon ve fragmantasyon gözlenen Kerr (1972) (38) kriterlerine uygun olan apoptotik hücreler sayıldı. Bütün spesimenlerde her mikrokompartman için 3 farklı alanda sayım yapılarak ortalaması alındı.

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmada SPSS 15.0 istatistik programı kullanılmıştır. Gruplar arası farkın değerlendirilmesinde Kruskal Wallis varyans analizi, Student t testi ve Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Korelasyon için Spearman's rho korelasyon testi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlılığın değerlendirilmesinde $P < 0.05$ olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

Adenoid Bulguları

Çalışmaya 43 hasta alınmıştır. Adenoid dokunun koanal açıklığa oranının yüzde değeri hastaların adenoid büyüklüklerini değerlendirmede kullanılmış olup, %50 ve altı yüzdeye sahip olanlar bir grup, %50 üstü yüzdeye sahip olanlar ikinci grup olarak alınmıştır. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$). Grupların apoptoz değerleri, Tablo 4.1 de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Adenoid dokunun koanal açıklığa oranının yüzde değerine göre sınıflandırılmış adenoidlerde ortalama apoptotik hücre sayıları.

Adenoid/Koanal açıklık % değeri	Ortalama apoptotik hücre sayısı \pm Standart sapma(SS)	Student t testi
\leq %50 (n=21)	12.29 \pm 5.04	t= 3.39 p =0.001
$>$ %50 (n=25)	18.20 \pm 6.53	

\leq %50 ve $>$ %50 büyüklüğe sahip olan adenoidlerde, her alt mikrokompartment için (intrafoliküler, interfoliküler, subepitelyal ve intraepitelyal) apoptoz değeri saptanmıştır. Bu fark istatistiksel olarak intrafoliküler ve intraepitelyal alanlar için anlamlı, interfoliküler alan için anlamsız bulunmuştur. Subepitelyal alanın p değerinin anlamlılık sınırına yakın oluşu dikkati çekmiştir. (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Adenoid dokusunda her alt mikrakompartment için apoptoz değerleri.

Adenoid/Koanal açıklık % değeri	Ortalama apoptotik hücre sayısı \pm SS			
	İntrafoliküler	İnterfoliküler	Subepitelyal	İntraepitelyal
\leq %50 (n=21)	6.90 \pm 0.77	2.05 \pm 0.20	2.10 \pm 0.26	1.24 \pm 0.24
$>$ %50 (n=25)	10.16 \pm 0.96	2.72 \pm 0.30	3.08 \pm 0.48	2.24 \pm 0.27
Mann-Whitney U testi	Z= 2.369 p= 0.018	Z= 1.562 p= 0.118	Z=1.781 p= 0.075	Z= 2.801 p= 0.005

Mikrokompartmanlar arasındaki apoptoz değerlerinin korelasyonu Tablo 4.3 te gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Adenoid dokusunun mikrokompartmanlar arasındaki apoptoz değerlerinin korelasyonu.

Mikrokompartmanlar	Spearman korelasyon katsayısı
İntrafoliküler & interfoliküler	r=0.276 (p =0.064)
İnterfoliküler & subepitelyal	r=0.280 (p= 0.060)
İnterfoliküler & intraepitelyal	r=0.316 (p= 0.032)
Subepitelyal & intraepitelyal	r=0.627 (p<0 .001)

≤6 yaş olan hastalarda, adenoid büyüklüğü %50 ve altı değere sahip olanlarla, %50 üstü değere sahip olan hastaların dokuları karşılaştırılmış, aralarında apoptoz açısından istatistiksel anlamlı fark elde edilmemiştir.(Tablo 4.4)

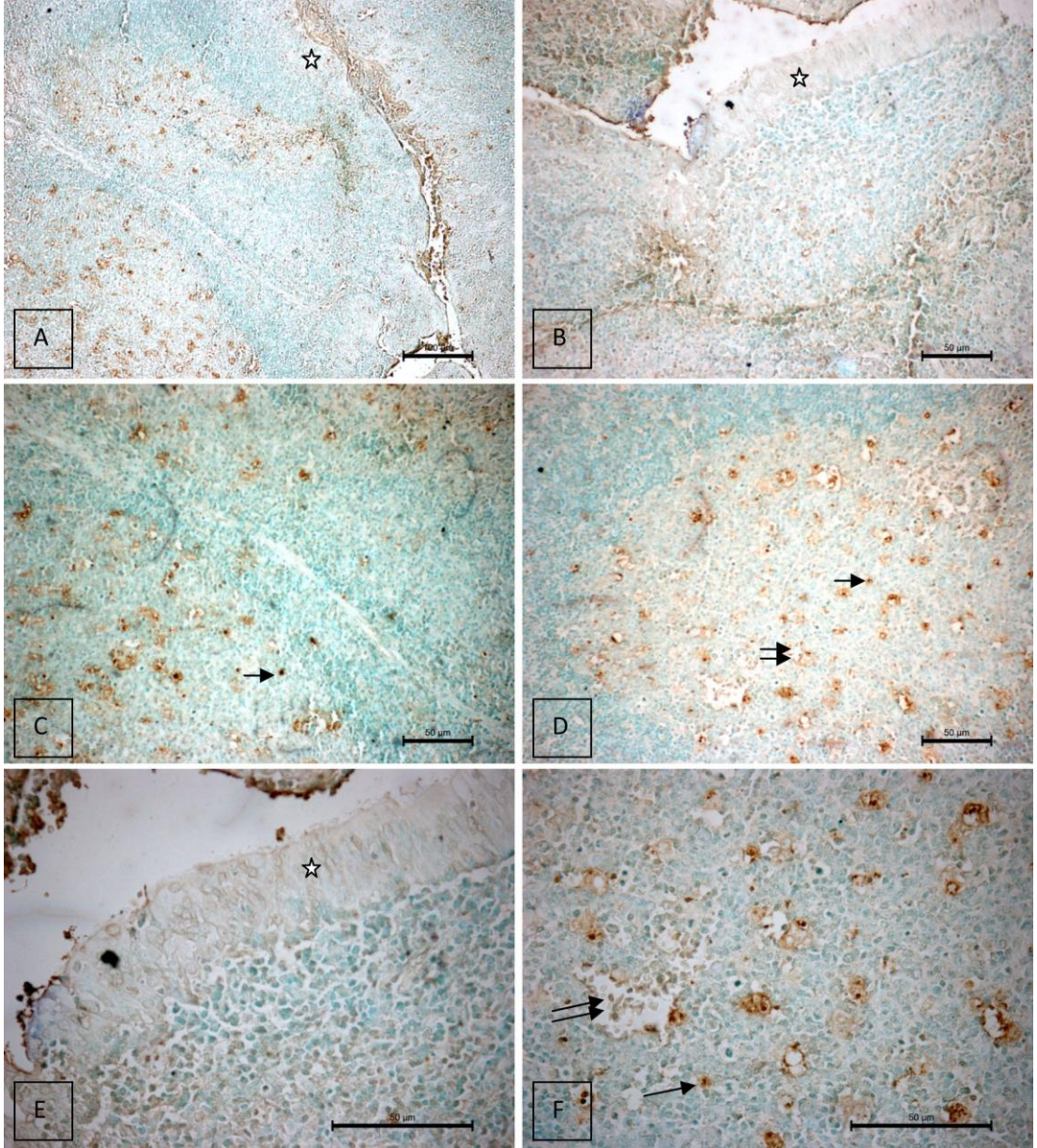
Tablo 4.4. ≤6 yaş hastalarda büyüklüklerine göre sınıflandırılmış adenoidlerde ortalama apoptotik hücre sayılarının karşılaştırılması

Adenoid/Koanal açıklık % değeri	Ortalama apoptotik hücre sayısı ± Standart sapma(SS)	Mann Whitney U testi
≤%50 (n=11)	13.91± 4.3	Z= 1.50 p =0.131
>%50 (n=16)	17.44 ± 5.97	

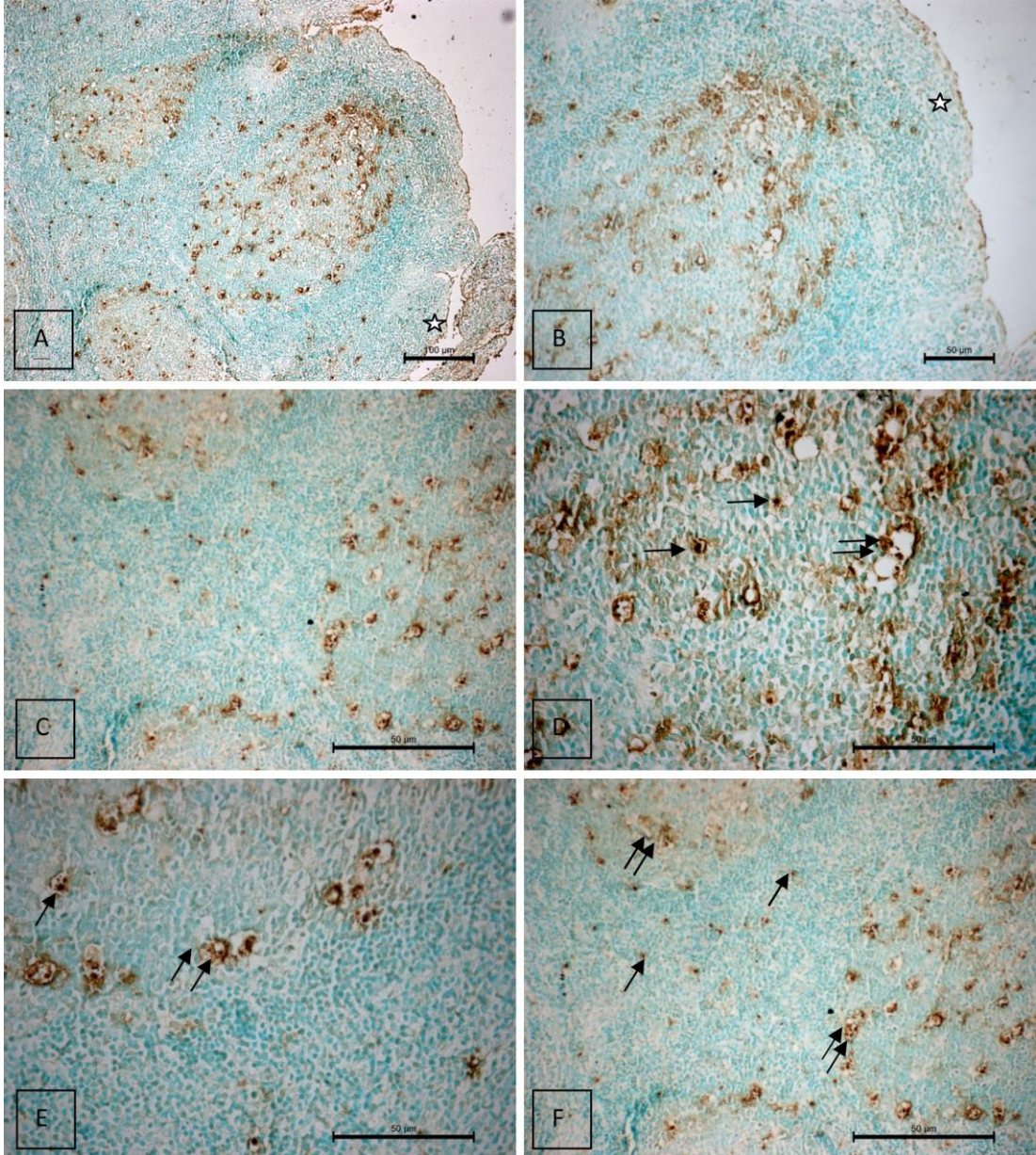
>6 yaş olan hastalarda, adenoid büyüklüğü %50 ve altı değere sahip olanlarla, %50 üstü değere sahip olan hastaların dokuları karşılaştırılmış, aralarında apoptoz açısından istatistiksel anlamlı fark elde edilmiştir.(Tablo 4.5)

Tablo 4.5. >6 yaş hastalarda büyüklüklerine göre sınıflandırılmış adenoidlerde ortalama apoptotik hücre sayılarının karşılaştırılması

Adenoid/Koanal açıklık % değeri	Ortalama apoptotik hücre sayısı ± Standart sapma(SS)	Mann Whitney U testi
≤%50 (n=10)	10.50± 5.40	Z= 2.87 p =0.004
>%50 (n=9)	19.56 ± 7.58	



Şekil 4.1. ≤%50 adenoid grubunda, adenoid ışık mikrograflarında Tunel pozitif hücreler izlenmektedir. A, B ve E de epitel (☆), C-D-F de apoptotik hücreler intrafoliküler intravasküler lenfositler (çift ok), ekstrasvasküler lenfositler (tek ok) ile işaretli olarak görülmektedir. (TUNEL, çekirdek boyası light green).



Şekil 4.2. >%50 adenoid grubundan alınan adenoid ışık mikrografında TUNEL pozitif hücreler, A-B: Epitel (☆) ve epitel altı bağ dokusu içinde TUNEL pozitif hücreler izlenmektedir. C-E-F: intrafoliküler ve interfoliküler alanlarda intravasküler apoptotik lenfositler (çift ok) ve ekstrasvasküler apoptotik TUNEL pozitif lenfositler (tek ok) izlenmektedir. (TUNEL, çekirdek boyası light green).

Tonsil Bulguları

Çalışmaya 43 hasta alınmıştır. Hastaların tonsil büyüklükleri Friedman evreleme sistemine göre evre 1, evre 2, evre 3 ve evre 4 olarak sınıflandırılmış olup, tüm bu evre değerlerindeki tonsiller, apoptoz miktarı açısından karşılaştırılmıştır. Tonsil evrelerinin apoptoz değerleri, Tablo 5.1 de gösterilmiştir. Tonsil evrelerinin apoptoz değerleri arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.266$).

Tablo 5.1. Tonsil evrelerine göre ortalama apoptotik hücre sayıları.

Evre	Ortalama apoptotik hücre sayısı ± SS	Kruskal Wallis Varyans Analizi
Evre 1 (n=6)	9.5±5.54	$\chi^2=3.96$ p= 0.266
Evre 2 (n=16)	12.88±7.29	
Evre 3 (n=13)	13.31±5.69	
Evre 4 (n=8)	12±2.14	

Evre 1 ve evre 2 tonsil grupları ile evre 3 ve evre 4 tonsil grupları birleştirilerek birer grup yapılmıştır ve bu iki gruptaki apoptoz değerleri karşılaştırılmıştır. Bulgular Tablo 5.2 de gösterilmiştir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. ($p=0.175$)

Tablo 5.2. Gruplandırılan tonsil evrelerinin toplam apoptoz hücre sayılarının karşılaştırılması.

Evre	Ortalama apoptotik hücre sayısı ± SS	Mann Whitney U testi
Evre 1 + Evre 2 (n=22)	11.95± 6.90	Z= 1.355 p= 0.175
Evre 3 + Evre 4 (n=21)	12.81± 4.63	

Tüm evre değerlerindeki tonsillerde, her alt mikrokompartman için (intrafoliküler, interfoliküler, subepitelyal ve intraepitelyal) apoptoz değeri saptanmıştır. Bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir. (Tablo 5.3)

Tablo 5.3. Tonsil evrelerinde, her alt mikrokompartman için apoptoz değerleri.

Evre	Ortalama apoptotik hücre sayısı \pm SS			
	İntrafoliküler	İnterfoliküler	Subepitelyal	İntraepitelyal
Evre 1 (n=6)	5.67 \pm 1.87	1.67 \pm 0.56	1.33 \pm 0.33	0.83 \pm 0.31
Evre 2 (n=16)	8.06 \pm 1.12	2.06 \pm 0.34	1.50 \pm 0.28	1.25 \pm 0.42
Evre 3 (n=13)	7.23 \pm 1.00	2.15 \pm 0.32	2.15 \pm 0.32	1.77 \pm 0.43
Evre 4 (n=8)	6.75 \pm 0.59	2.25 \pm 0.31	1.38 \pm 0.32	1.63 \pm 0.49
Kruskal Wallis Varyans Analizi	$\chi^2 = 2.875$ p= 0.411	$\chi^2 = 1.624$ p= 0.654	$\chi^2 = 3.703$ p= 0.295	$\chi^2 = 2.902$ p= 0.407

Evre 1 ve evre 2 tonsillerle, evre 3 ve evre 4 tonsiller birer grup yapılarak bu iki gruptaki tonsiller, mikrokompartmanlardaki apoptotik hücre sayıları açısından karşılaştırılmıştır. Bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir. (Tablo 5.4)

Tablo 5.4. Tonsillerin mikrokompartmanlardaki apoptoz miktarları açısından karşılaştırılması.

Evre	Ortalama apoptotik hücre sayısı \pm SS			
	İntrafoliküler	İnterfoliküler	Subepitelyal	İntraepitelyal
Evre 1 + Evre 2	7.41 \pm 4.52	1.95 \pm 1.33	1.45 \pm 1.06	1.14 \pm 1.49
Evre 3 + Evre 4	7.05 \pm 2.97	2.19 \pm 1.03	1.86 \pm 1.11	1.71 \pm 1.45
Mann-Whitney U testi	Z= 0.086 p= 0.932	Z= 1.017 p= 0.309	Z= 1.197 p= 0.231	Z= 1.661 p= 0.097

Mikrokompartmanlar arasındaki apoptoz değerlerinin korelasyonuna bakıldığında, intrafoliküler-interfoliküler, interfoliküler-intraepitelyal ve subepitelyal-intraepitelyal alan korelasyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş olup, interfoliküler-subepitelyal alan korelasyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. (Tablo 5.5)

Tablo 5.5. Tonsil dokusunda mikrokompartmanlar arasındaki apoptoz değerlerinin korelasyonu.

Mikrokompartmanlar	Spearman korelasyon katsayısı
İntrafoliküler & interfoliküler	r= 0.453 (p= 0.002)
İnterfoliküler & subepitelyal	r= 0.273 (p= 0.076)
İnterfoliküler & intraepitelyal	r= 0.296 (p= 0.05)
Subepitelyal & intraepitelyal	r= 0.576 (p< 0.01)

≤6 yaş hastalarda, evre 1+evre 2 tonsillerle evre 3+evre 4 tonsil grupları arasında apoptoz açısından karşılaştırma yapılmış, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.(Tablo 5.6)

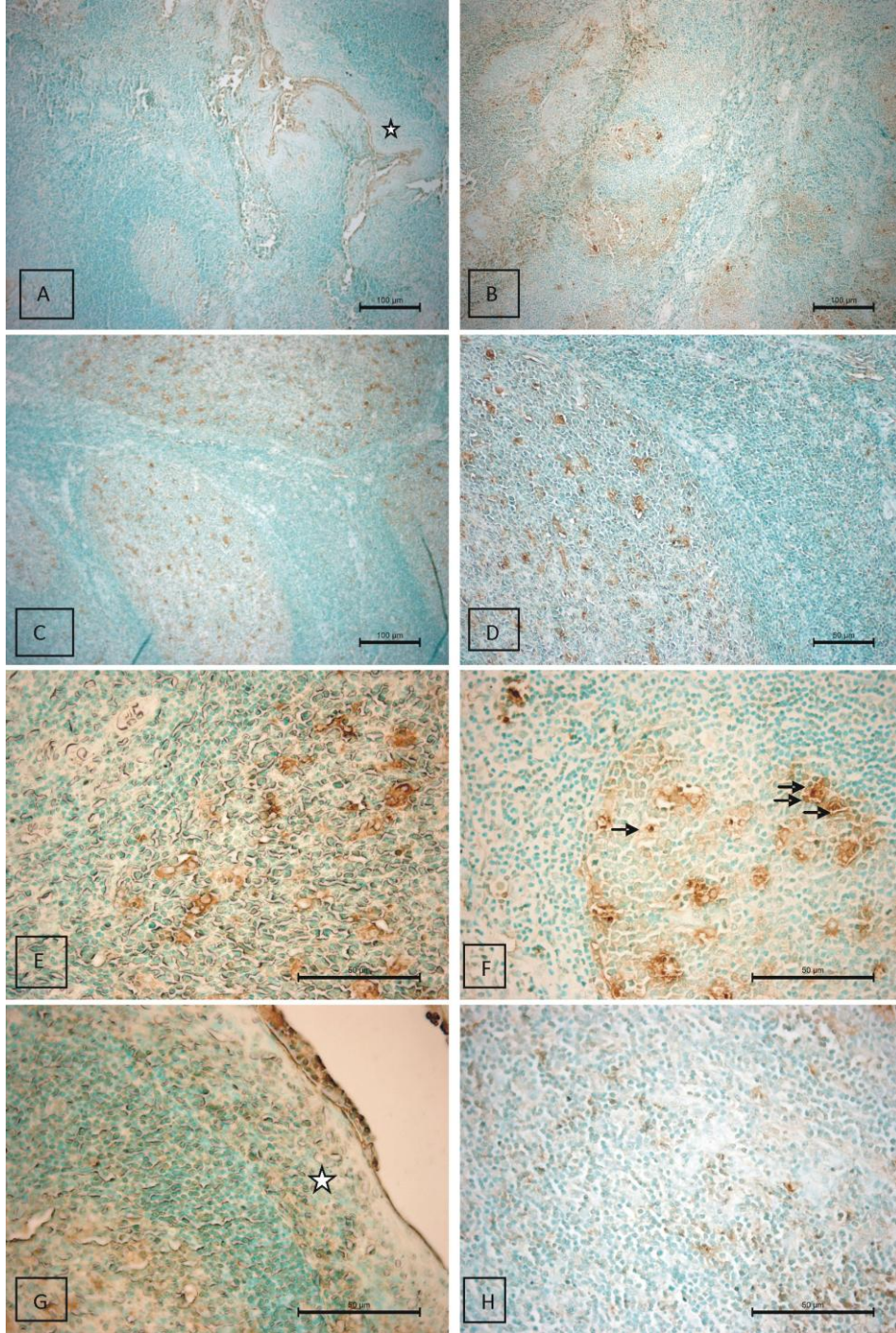
Tablo 5.6. ≤6 yaş hastalarda gruplandırılan tonsil evrelerinin toplam apoptotik hücre sayılarının karşılaştırılması.

Evre	Ortalama apoptotik hücre sayısı ± SS	Mann Whitney U testi
Evre 1 + Evre 2 (n=11)	14.27± 8.41	Z= 0.302 p= 0.762
Evre 3 + Evre 4 (n=14)	12.50± 4.95	

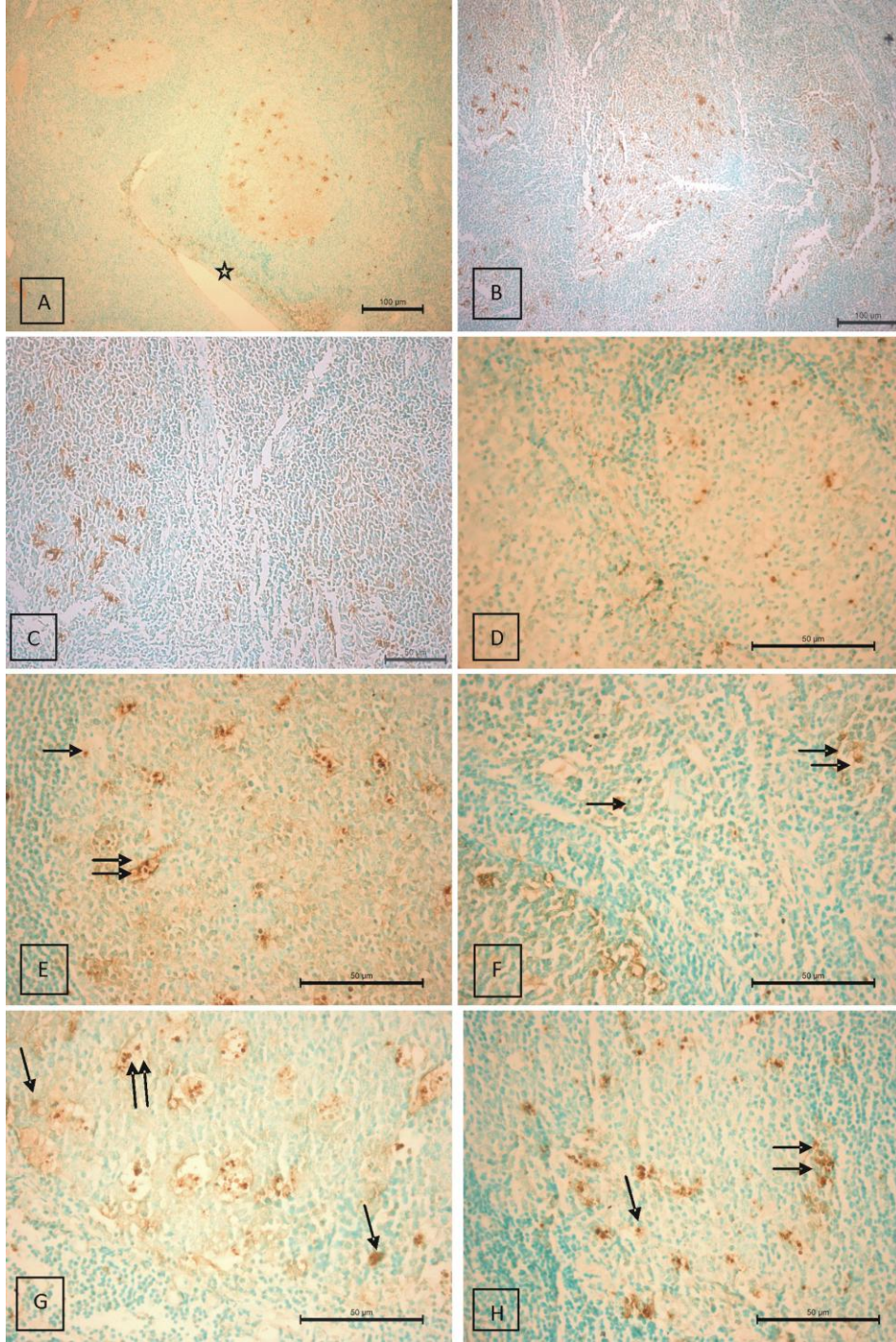
>6 yaş hastalarda, evre 1+evre 2 tonsillerle evre 3+evre 4 tonsil grupları arasında apoptoz açısından karşılaştırma yapılmış, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır.(Tablo 5.6)

Tablo 5.7. >6 yaş hastalarda gruplandırılan tonsil evrelerinin toplam apoptotik hücre sayılarının karşılaştırılması.

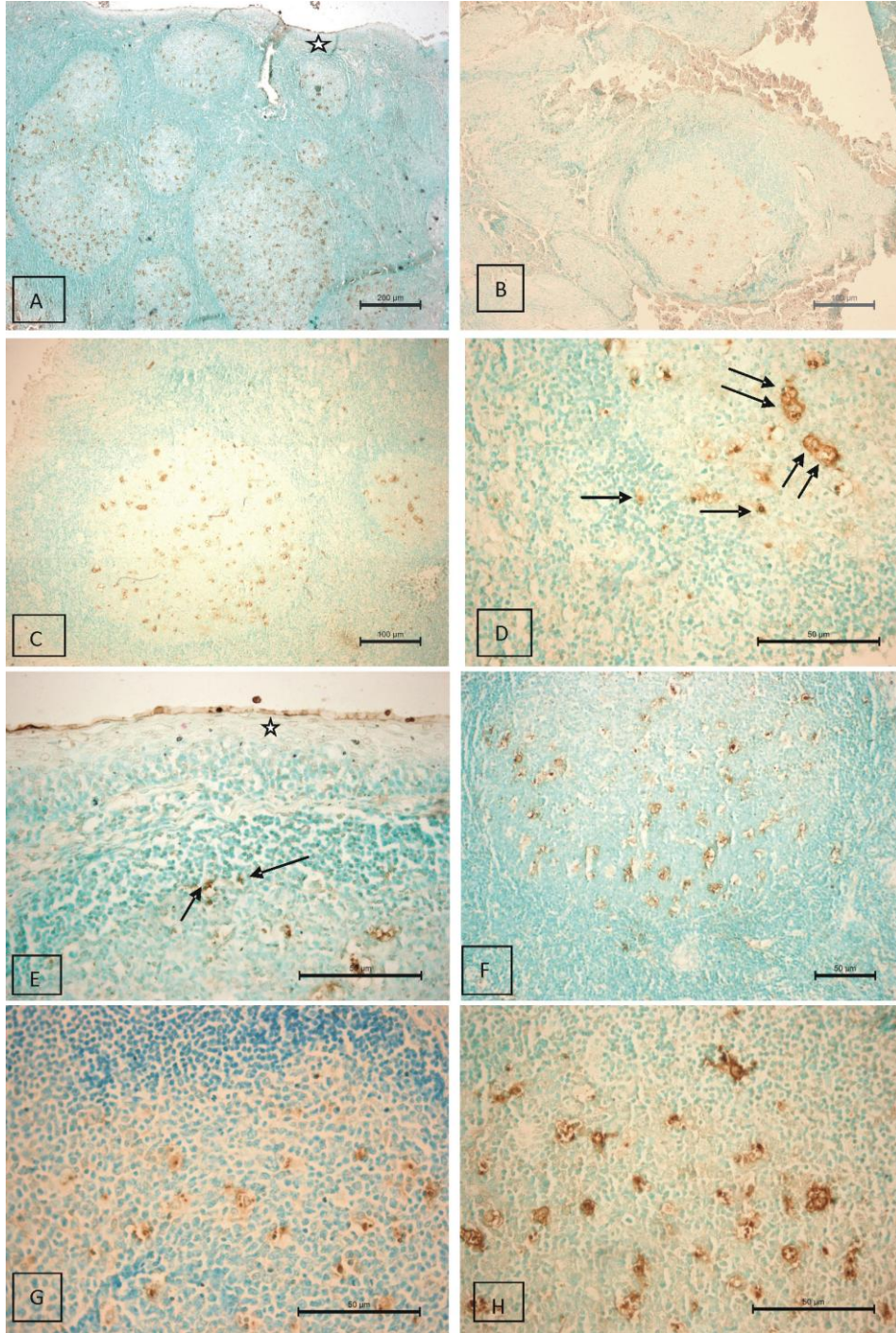
Evre	Ortalama apoptotik hücre sayısı ± SS	Mann Whitney U testi
Evre 1 + Evre 2 (n=11)	9.64± 4.17	Z= 2.195 p= 0.028
Evre 3 + Evre 4 (n=7)	13.43± 4.19	



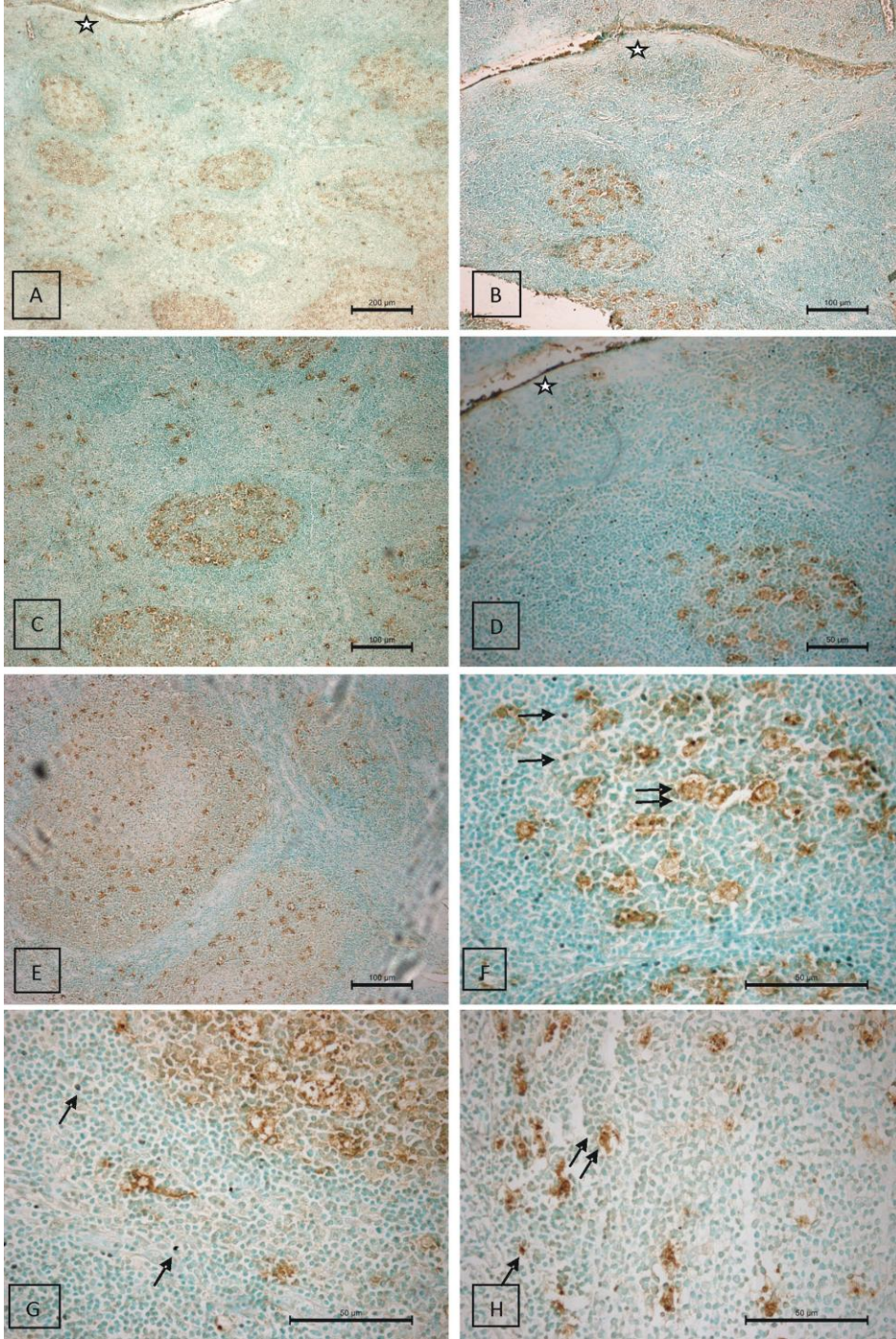
Şekil 5.1. Evre 1 tonsilde TUNEL pozitif hücreler izlenmektedir (TUNEL, çekirdek boyası light green). A ve G’de epitel (☆), B-C-D-E-F-G-H’de apoptotik hücreler intrafoliküler intravasküler lenfositler (çift ok), ekstrasvasküler lenfositler (tek ok) ile işaretli olarak görülmektedir.



Şekil 5.2. Evre 2 tonsilde TUNEL pozitif hücreler izlenmektedir (TUNEL, çekirdek boyası light green). A ve G’de epitel (☆), B-C-D-E-F-G-H’de apoptotik hücreler intrafoliküler intravasküler lenfositler (çift ok), ekstrasvasküler lenfositler (tek ok) ile işaretli olarak görülmektedir.



Şekil 5.3. Evre 3 tonsilde TUNEL pozitif hücreleri izlenmektedir (TUNEL, çekirdek boyası light green). A ve E: Epitel (☆) ve epitel altı bağ dokusu farklı büyütmelerde izlenmektedir. B-C-D-F-G-H: Tonsildeki lenf folikülleri, interfoliküler alanlar farklı büyütmelerde izlenmektedir. Lenf folikülü içerisinde TUNEL pozitif intravasküler apoptotik lenfositler (çift ok) ve ekstravasküler apoptotik lenfositler (tek ok) görülmektedir.



Şekil 5.4. Evre 4 tonsilde TUNEL pozitif hücreler izlenmektedir (TUNEL, çekirdek boyası light green). A-B-D: Epitel (☆) ve epitel altı bağ dokusu içinde TUNEL pozitif hücreler izlenmektedir. C-E-F-G-H: lenf folikülleri ve foliküller arası alanlarda intravasküler apoptotik lenfositler (çift ok) ve ekstrasvasküler apoptotik TUNEL pozitif lenfositler (tek ok) görülmektedir.

5. TARTIŞMA

Adenotonsillektomi, KBB kliniklerinde en sık yapılan ameliyatlardan biridir. Yirminci yüzyılın başlarında değişik solunum yolu ve sistemik hastalıkların tedavisinde yaygın olarak başvuru tonzillektomi ve adenoidektomi, günümüzde daha sınırlı endikasyonlarla uygulanmaktadır. Bu endikasyonlar içinde, gelişmiş ülkelerde kronik adenotonsiller hipertrofi, ülkemizde ise kronik adenotonsillit ilk sırada gelmektedir(64). Literatürde, kronik adenotonsillit ile adenotonsiller hipertrofinin histopatolojik özellikleri birbirinden net ayrılmadığı gibi, histopatolojik bakımdan her iki hastalık bugüne kadar genellikle reaktif lenfoid hiperplazi olarak bildirilmiştir. İmmünolojik parametreler, genetik yatkınlık ve lokal lenfosit disfonksiyonu, rekürren tonsilit ve tonsiller hipertrofi etiyolojisinde rol oynar (65). Lokal ve sistemik immünitedeki hipofonksiyon sonucu bu hastalıkların geliştiği, birçok çalışmada gösterilmiştir (15,66). Bieluch ve ark.(67) histopatolojik bakımdan kronik tonsillit ile rekürren tonsillit arasında fark olmadığını bildirmişler ve kronik tonsillit ölçütü olarak kript epitelinde lenfosit infiltrasyonunu ve kript epitel defektini kabul etmişlerdir.

Adenotonsiller hipertrofi ise adenoid ve palatal tonsillerin rekürren ve kronik enfeksiyonu sonucu ortaya çıkar (65). Hipertrofik tonsillerde T ve B hücre sayısında artış, bakteri miktarı ve tonsil boyutu ile korelasyon göstermektedir (67). Bununla beraber, adenotonsiller hipertrofilerin nedeni tam olarak açıklığa kavuşturulmamıştır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, sigara, alerji ve rekürren respiratuar enfeksiyonların lenfoadenoid dokunun geçici veya kalıcı hipertrofisiyle alakalı olduğunu göstermiştir(68).

Germinal merkez artışı, kronik adenotonsiller hipertrofili hastalarda daha fazla görülmüştür. Ancak, kronik adenotonsillitli hastalarda 1+ büyüklükte palatin tonsiller olması, kronik adenotonsillitin atrofik palatin tonsiller ile seyredebileceğini göstermiştir. Zhang ve arkadaşlarının (69) yaptığı çalışmada tonsiller hipertrofi olan grupta, rekürren tonsilit grubuna göre ortalama folikül alanında artış saptanırken, folikül sayısında farklılık görülmemiştir. Baba ve Alataş'ın (2) yaptığı çalışmada ise, rekürren tonsilit ve rekürren tonsilit+tonsil hipertrofisi olan hasta gruplarının

spesimenleri karşılaştırılmış, tonsil hipertrofisi artmış tonsil ağırlığına, folikül sayısına, alanına ve çapına bağlanmıştır.

Apoptoz, gelişim sırasında doku remodelasyonunu ve hücrel homeostazı koruma adına mitozu dengeleyecek tarzda gerçekleşir. Bu nedenle lenfositler arasındaki dengeyi sağlayarak dokularda hiperplazinin kontrolünde önemli bir role sahiptir (6). Normal lenfoid dokularda, total lenfosit sayısının sabit bir seviyede tutulması kuralına göre, apoptoz ve proliferasyon arasında bir denge olmak zorundadır (42). Başka bir deyişle apoptoz, proliferatif aktivitenin bir indikatörüdür. Yani hücre proliferasyonunun olduğu yerde apoptozun da fazla olması beklenir. Çalışmamızda bunu doğrular nitelikte %50 üzeri adenoid büyüklüğü olan dokularda, %50 ve altı değere sahip olan dokulara göre istatistiksel olarak anlamlı, apoptoz miktarında artış saptanmıştır. Rekürren enfeksiyonlara sekonder gelişen lenfoid hücre artışının sınırlandırılması, adenoid dokuda apoptozun da artmasıyla sağlanmaktadır. Ayrıca immün cevapta lenfosit artışının en yoğun olduğu intrafoliküler alandaki apoptotik hücre sayısında, diğer mikrokompartmentlara oranla istatistiksel olarak anlamlı artış bulunmuştur. Ancak tonsilde, bu ilişki bulunamamıştır. Kronik tonsilitle tonsil hipertrofisi arasında apoptoz açısından istatistiksel fark saptanmamıştır. Bu durumun, rekürren tonsilite karşın, B hücre popülasyonunu korumak için gerekli immüno-regulator şartların daha iyi korunduğu yerler olan adenoid hiperplazide değişikliklerin daha az olmasından (70) kaynaklandığını düşünülmektedir. Böylece tonsillere göre adenoidlerin enflamasyondan daha az etkilenmesi olasıdır. Bu nedenle fizyolojik işleyişi daha az bozulmuş olan adenoidde, antijenik uyarı-lenfoid hücre artışı-hücre ölümünde artış sırasına göre hipertrofik adenoidde apoptozun daha fazla olması beklenenle uyumludur. Çalışmamız göstermiştir ki, tonsilde daha fazla bozulmuş olan immüno-regulator mekanizmalar, bu durumun adenoidden farklı olmasına neden olmuştur. Bu sebeple apoptozun, tonsil hipertrofisi ya da atrofi patofizyolojisinde, etkin rol oynamadığını düşünmekteyiz.

Tonsillerde en belirgin immüno-lojik aktivite 3-10 yaş civarında gözlenmekte olup, maksimum postnatal büyüme, 4-7 yaşlarda ortaya çıkmaktadır. Çalışmamız 2-16 yaş arası hastaları kapsamaktadır. Apoptozun yaşla olan ilişkisini araştırmak için hastalarımızı 6 yaş sınır değeri olarak iki gruba ayırdık. Bu yaş almamızın nedeni,

hem en fazla büyümenin olduğu yaş aralığında olması, hem de hastalarımızda ortalama yaş değerinin 6 olmasıdır. Hem tonsil, hem de adenoid çalışma grubumuzda gördük ki, 6 yaşından küçük hastalarda, lenfoid dokunun büyük ya da küçük olması ile apoptozun herhangi bir ilişkisi yoktur. Ancak 6 yaşından büyük hastalarda ,tonsil ve adenoidlerde, hipertrofik dokularda apoptoz daha fazla saptanmıştır. Demek ki apoptoz küçük yaşlarda hipertrofi ve atrofi mekanizmasında etkin yer almazken ,yaşın artmasıyla dokuların gösterdiği apoptoz miktarlarında anlamlı farklılıklar ortaya çıkabilmektedir.

Apoptoz inflamatuvar hücrelerin yaşam sürelerini düzenler. Bu nedenle apoptozisin arttığı ve azaldığı durumlar inflamatuvar sürecin gidişini de belirlemektedir. Apoptozun azalması inflamasyonun kronikleşmesine ve hastalığın ciddiyetinin artmasına neden olmaktadır. Kucera ve ark. (71) kronik inflamasyon durumunda, proliferasyonun ve hücre ölümünün en çok B hücrelerinde olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda bizim kullandığımız TUNEL yöntemi ile rakamsal olarak en fazla apoptozun intrafoliküler alanda bulunması, B hücrelerinden zengin foliküllerin inflamasyona sekonder artmış aktivitesini göstermektedir. Bu metot halihazırda en güvenilir metot gibi görünmekle beraber, nekrotik hücrelerin de boyanabilmesi nedeniyle yanlış pozitiflik oranını arttırmaktadır. Bununla beraber, tek başına ışık mikroskopisi ile kıyaslandığında TUNEL metodunda daha doğru sonuçlar verdiği için, apoptozisin değerlendirilmesinde hala en geçerli metot olarak kabul edilmektedir. Biz de bu yüzden çalışmamızda TUNEL yöntemini kullanmayı seçtik. Bununla birlikte, TUNEL metodu ile sadece apoptotik prosesin son aşamasına gelmiş hücreler tanınabilmektedir. Bu sebeple bizim boyama yaptığımız esnada, apoptoz sürecine girmiş ancak son aşamaya henüz ulaşamamış hücreler de mevcuttur. Bu durumun nihai sonucu belirlemede ne derecede etkin olduğunu, apoptozu gösteren diğer yöntemlerin TUNEL ile eş zamanlı olarak yapılmasıyla anlaşılabilceğini düşünmekteyiz.

Hipertrofik tonsil bakteriolojisinin kronik enfeksiyon gösteren tonsillerden farklı olabileceği ileri sürülmektedir (67). Izak ve arkadaşlarının (72) yaptığı çalışmada, rekürren tonsilit grubunda kültürde *Staphylococcus aureus* daha fazla bulunmuşken, hipertrofik tonsil grubunda *S. pyogenes* daha fazla saptanmıştır. Kuhn ve arkadaşlarının (73) yaptığı çalışmada ise rekürren enfeksiyonu olsun ya da

olmasın, hipertrofik tonsilde *S. aureus* ve *H. influenza* konsantrasyonunun, rekürren tonsilite göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. Erken RSV enfeksiyonuna maruz kalan hastalarda, yoğun proliferatif cevap sonrası OSAS'a neden olan adenotonsiller hipertrofi olabileceği iddia edilmiştir (74). Al-Salam ve ark. (75) tonsillektomi spesimenlerinde %43, adenoidektomi spesimenlerinde %13 oranında EBV saptamışlar ve tonsil dokusunun EBV için başlıca kaynak olduğunu, bunun da tonsiller hipertrofiye yol açtığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada tonsil dokusundaki EBV ile enfekte hücrelerin tümünün B lenfositler olduğunu ve büyük oranda interfoliküler alanlarda bulduklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda tonsilde bakılan apoptoz değerlerinde, intrafoliküler alan ile interfoliküler alan apoptoz oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunmuştur. Evrelerine göre gruplandırılan 43 tonsil spesimeninde, bu iki alandaki apoptotik hücre sayıları incelenmiştir. Özellikle grade 3 ve 4 olan grupta, intrafoliküler alanda sayılan apoptotik hücre sayısının interfoliküler alandaki apoptotik hücre sayısına oranı bazı hastalarda 1,5-2 katı iken, bazı hastalarda 8-10 katı olarak bulunmuştur. Bu farklılıklar, çalışmamızdaki bazı adenoid spesimenleri arasında da saptanmıştır. EBV ile enfekte B hücrelerin büyük çoğunluğunun interfoliküler alanda olduğu düşünülürse, alanlar arasında bulduğumuz apoptoz oranlarındaki bu farklılık, bazı hasta tonsillerinin EBV ile enfekte olması, diğerlerinin ise olmamasından kaynaklanmış olabilir.

Patojenik ajanlar tarafından tekrarlayan uyaranlar, monosit ve makrofajlarda aktivasyona sebep olur, bunun sonucunda dokuda yüksek miktarda salgılanan bazı sitokinler, immünolojik etkiyi arttırmaktan çok, endotelial hücrelerin ve fibroblastların proliferasyonuna neden olurlar. Böylece zamanla immünolojik olarak aktif olan doku, fibrotik dokuyla yer değiştirir. Yani tonsilin inflamatuvar prosesi her zaman tonsil hipertrofisi ile değil, skleroatrofik tonsil oluşumu ile de sonuçlanabilir (76). Tonsil ve adenoidde apoptozu incelediğimiz çalışmamızda, kronik enfekte ancak boyutu küçük olan dokularda, lenfoid dokuda azalma ve fibrozis gelişmesi nedeniyle, hücre proliferasyonu ve apoptozunda azalma saptamayı bekledik. Tüm evre değerindeki tonsiller, apoptoz açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilememiştir, ancak +1 tonsillerde apoptozun en az olduğu görülmüş, diğer +2, +3 ve +4 tonsillerde yakın apoptoz değerleri saptanmıştır. Ancak

evre 1 ve 2 tonsillerden oluşan gruptaki apoptoz değeri, evre 3 ve 4 tonsillerden oluşan grubun apoptoz değeri ile karşılaştırıldığında, rakamsal olarak yakın değerler saptanmıştır. Bu nedenle +2 tonsillerin, apoptoz açısından 'hipertrofik' tonsil paternine sahip olduğunu düşünmekteyiz.

Foliküler dendritik hücreler ve T lenfositler, germinal merkezdeki B lenfositlerin proliferasyonunu ve apoptozunu düzenler (77). Bu germinal merkez B hücrelerinin sağ kalımları, foliküler dendritik hücrelerden alacakları sinyallere bağlıdır. Yapılan bir çalışmada yaşlı farelerde, foliküler dendritik hücrelerin fonksiyonlarındaki düşüşe bağlı olarak germinal merkez reaksiyonlarında azalma saptanmıştır (78). Sonuç olarak, dendritik hücrelerle ilişki halinde bulunan B lenfositler apoptoza uğramazlar, ancak tekrarlayan yabancı antijen maruziyetleri, foliküler dendritik hücre aktivitesinde azalmaya neden olabilir (79). Buna bağlı olarak rekürren kronik enfeksiyona maruz kalan tonsil ve adenoidin patolojilerinde, normal lenfoid dokuya göre apoptozun azalması beklenmelidir. Etik nedenlerden dolayı insandan hasta olmayan dokular alınamayacağı için patolojik tonsillerle apoptoz miktarı açısından karşılaştırmak mümkün değildir. Ancak çalışmamızda hipertrofik adenoidlerde apoptozu daha fazla saptamış olmamız, hipertrofik adenoidlerde foliküler dendritik hücre aktivitesindeki azalmanın daha fazla olduğunu düşündürmektedir.

Yapılan bir çalışmada, Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığında (KOA) bronkoalveolar lavaj sıvısındaki apoptotik T-hücre sayısındaki artışın yaklaşık %103 olduğu gösterilmiştir. T hücre apoptozisinin artması ile immün yanıtta değişiklikler meydana gelebileceği ve bu değişikliklerin KOA'da enfeksiyon sıklığının artmasına yol açabileceği belirtilmiştir (80). Aynı şekilde adenotonsiller enfeksiyonlarda artan lenfoid hücre apoptozu da, enfeksiyon rekürrensinde artışa neden olarak, belki de bu olayın kısır döngü halinde tekrarlamasına neden olmaktadır. Buradan yola çıkarak ileride yapılacak çalışmalarda enfeksiyon sıklığı ve apoptoz oranı arasındaki ilişki incelenerek, tonsil ve adenoid patofizyolojisi hakkında yeni bilgiler edinilebilir.

Literatürde apoptozun lenfoid doku kompartmanlarındaki oranlarını karşılaştıran az sayıda çalışma mevcuttur. Kelseo ve ark. (77) apoptozun germinal merkezde, interfoliküler alana göre daha fazla olduğunu söylemişlerdir. Bunu da antijenik cevabın germinal merkezde gelişmesinden dolayı, yoğun hücre

proliferasyonuna bağlamışlardır. Bizim çalışmamızda istatistiksel olarak en fazla apoptoz intrafoliküler alanda bulunmuştur. Bunu sırasıyla subepitelyal ve interfoliküler alan takip etmekte, en az apoptoz miktarı ise intraepitelyal alanda saptanmıştır. En fazla apoptozun intrafoliküler alanda bulunmasını, rekürren enfeksiyonlara verilen immün cevapta germinal merkezdeki lenfoid hücre proliferasyonunun çok olmasına ve buna sekonder apoptozun artmış olmasına bağlamaktayız. Rakamsal olarak da intrafoliküler alandaki apoptoz, diğer bölgelere oranla belirgin olarak fazladır. Ancak daha önce de belirttiğimiz gibi adenoid hipertrofinde saptadığımız bu istatistiksel anlamlılığı, tonsil çalışmamızda gözlemlemedik. Bunun nedeni, tonsil büyüklüğünü değerlendirmede kullandığımız derecelendirme sistemi olabilir. Çalışmamızdaki tonsil büyüklükleri Friedman (11) derecelendirme sistemine göre değerlendirilmiş ve sınıflandırılmıştır. Ancak bazı hasta tonsillerinin, ameliyat esnasında hacimce büyük olduğunun görülmesine karşın, bu tonsillere tonsiller fossada gömülü olmasından dolayı derecelendirmede olduğundan daha küçük evre değeri verilmiştir. Adenoid ve tonsil arasındaki apoptoz farkının diğer bir nedeninin de, spesimen sınıflamadaki objektif olmayan bu durum kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz. İleride yapılacak çalışmalarda muayene ile yapılacak değerlendirmeler yerine, spesimenlerin hacim ve ağırlıklarının ölçülmesi, daha doğru sonuçlar elde edilmesini sağlayacaktır.

Dono ve ark. (81) yaptığı çalışmada, subepitelyal B hücreleri ile manto alanında ve germinal merkezde bulunan B hücrelerinin morfolojik açıdan farklı olduklarını iddia etmişlerdir. In vitro ortamda EBV ile enfekte edilen tonsillerde, germinal merkez B hücreleri spontan apoptoza uğrarken, subepitelyal B hücrelerinde bu durum gözlenmemiştir. Çalışmamızda subepitelyal apoptoz miktarının, intrafoliküler apoptozdan daha az olduğunu saptadık. Germinal merkezde apoptozun daha fazla olmasının nedeninin, lenfoid hücre proliferasyondaki artışın en fazla burada olmasından kaynaklandığını bilmekteyiz. İki alan arasında bulduğumuz bu farkın, sadece intrafoliküler apoptoz artışına bağlı değil, aynı zamanda subepitelyal B hücrelerindeki apoptozun daha az olmasından da kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Allerjik rinitli ve astımlı hastalarda inflamasyonun sınırlandırılması amacıyla eozinofil apoptozisinin azaldığı tespit edilmiştir. Allerjik inflamasyonda eozinofillerin yanı sıra T hücrelerinin de yaşam süresi uzamaktadır. Buna göre allerjik

durumların, tonsil ve adenoidlerdeki apoptoz sürecini de etkilemesi beklenmelidir. M. Sadeghi ve ark. (82)'nin yaptığı çalışmada alerji ve farklı alerjenlere karşı sensitivitenin, çocuklarda adenotonsiller hipertrofi için bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, adenoid hipertrofinin alerjik çocuklarda daha fazla görüldüğünü belirten birçok çalışma mevcuttur (83,84). Çengel ve Akyol (85)'un yaptığı çalışmada alerjik hastalarda topikal nazal steroidlerle adenoid hipertrofide gerileme olduğu saptanmıştır.

Alerjik cevabın erken ve geç evresinde rol alan bazofiller, lenfoid dokunun uzamış inflamasyonunda da yer alır. Etkilenmiş lenfoid dokuya göç, tonsiller hipertrofinin alerjik reaksiyonlara bağlı olan patogenezi açıklar. Hipertrofik tonsillerin histolojik incelemesinde bazofillerin artmış yüzdesi de bu teoriyi destekler niteliktedir.

Endojen endonükleazların aktivasyonu, birçok hücrede apoptoz ile ilişkilidir. Lopez ve ark. (6) 'nın yaptığı çalışmada enfeksiyöz ve hipertrofik tonsil patolojilerinde endonükleaz aktivitesinde farklılık görülmüştür. Bazofiller tarafından salınan IL-4, apoptotik endonükleazları regüle ederek tonsil ve adenoid dokunun proliferasyonunu sağlar. IL-4, T, B ve NK hücrelerinin lökemik hücre serilerindeki apoptoz indüksiyonunu engeller. Bu çalışmada rekürren tonsilitte, apoptotik endonükleazların aktivasyonu sonucu lenfoid apoptozun geliştiği, buna karşın tonsiller hipertrofide, bazofillerin kronik inflamatuvar prosesi tetikleyerek apoptoza engel olduğu belirtilmiştir. Ayrıca Agren ve ark. (86) yaptığı bir çalışmada rekürren tonsilit ve tonsiller hipertrofi gruplarını karşılaştırmışlar, tonsiller hipertrofi grubunda IL-4 miktarının arttığını saptamışlardır. Bazofil sayısı, tonsiller hipertrofi grubunda, rekürren tonsilit+tonsiller hipertrofi ve adenoid hipertrofi grubuna göre daha fazla bulunmuştur. Dolayısıyla bu çalışmada tonsil hipertrofisinde apoptozun daha az olmasını, bazofil sayısındaki bu artışa bağlamışlardır. Aynı şekilde en az bazofil sayısı rekürren tonsilit grubunda bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise adenoid hipertrofisinde apoptoz daha fazla saptanmış olup, atrofik tonsillerle hipertrofik tonsiller arasında apoptoz açısından fark saptanmamıştır. Literatürde tonsilde apoptoz ve bazofil ilişkisini araştıran ve kanıtlayan başka çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca çalışmanın materyal-metodunda hastalar tonsil patolojilerine göre 3 gruba ayrılmış olup, adenoid patolojisi olan herhangi bir hasta

grubundan bahsedilmemektedir. Ancak, sonuçlarda bu 3 tonsil grubunun yanı sıra, karşılaştırmalarda adenoid hasta grubu da kullanılmıştır. Bu nedenle çalışmanın güvenilirliği ile ilgili kuşkularımız mevcuttur. Bizim çalışmamızın, bu konu ile ilgili literatürde yapılan ilk çalışmalardan biri olması sebebiyle, bundan sonra yapılacak yeni çalışmalar için öncülük edeceğine ve yol gösterici olacağına inanıyoruz.

DNA metilasyonundaki değişiklikler, hücre siklusunda, apoptozda veya diğer biyolojik süreçlerde yer alan genlerin ekspresyonunda değişiklik yaratan durumlardır. Lopez-Gonzalez ve ark. (87)'nin yaptığı çalışmada tonsiller hipertrofi ve rekürren tonsilit hastalarının dokularında hipometilasyona bakılmış, tonsiller hipertrofi olan hastalarda daha fazla hipometilasyon saptanmıştır. Hipometilasyonun, bu hastalarda hücre siklusundaki veya apoptozla ilgili genlerin ekspresyonunda değişime veya bazofiller tarafından salınan IL-4 miktarında artışa neden olarak tonsiller hipertrofi patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir. Khalyfa ve ark. (88) ise bir fosfotransferaz olan PSPH (phosphoserine phosphatase)'yi çalışmışlardır. Bu enzimin farelerde proliferen olan embriyonik, hematopoetik ve nöral progenitör hücrelerde çok miktarda salındığı gösterilmiştir. Khalyfa ve ark. bu enzimin inhibisyonunun, T ve B hücre apoptozunu arttırdığını göstermişler ve OSAS'ı olan tonsiller hipertrofi hastalarda çok miktarda ekprese edildiğini göstermişlerdir. Bu iki çalışmaya göre tonsiller hipertrofi de apoptozun daha az olması beklenmektedir. Oysaki yaptığımız çalışmada, hipertrofik olan ve olmayan tonsiller arasında apoptoz farkı saptanmamışken, adenoid hipertrofisinde apoptozu daha fazla bulduk. Bu çalışmalarda alınan tonsiller hipertrofi grubu, sadece obstrüksiyon yapan ve enfeksiyon bulgusu göstermeyen hastalardır. Bizim çalışmamızdaki hipertrofik tonsil grubu ise aynı zamanda rekürren enfeksiyon atakları geçiren hastalara aittir. Buna bağlı olarak lenfoid dokuda apoptotik mekanizmaları asıl etkileyen durumun enfeksiyonun varlığı olduğunu düşünmekteyiz ve çalışmamızda yukarıdaki çalışmalardan farklı sonuçlar elde etmemizi, çalışmalara dahil edilen hasta profilindeki bu farklılıktan kaynaklandığı kanaatindeyiz. Ayrıca, hasta sayımızın az olmasından dolayı tonsil apoptozunda istatistiksel olarak anlamlı fark elde edememiş olabiliriz. Bu nedenle bu çalışmanın daha geniş serilerde yapılmasının yararlı olacağını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, adenoid ve tonsiller hipertrofinin, enfeksiyonlara sekonder lenfoid doku artışından kaynaklandığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Ancak, bu durumu, bu kadar kompleks bir yapıda tek bir patogeneze bağlamak mümkün değildir. Diyet, genetik faktörler, alerji gibi nedenler etyolojide rol alırken, lenfoid doku artışı, apoptoz ve fibrozis, hücresel boyutta ortaya çıkan sonuçlardır. Bize göre apoptoz, hipertrofi veya atrofi patofizyolojisinde rol oynayan temel etkenlerden biridir. Ayrıca tonsil ve adenoid dokusunun değişik klinik durumlarda başta immünohistokimyasal yöntemler olmak üzere değişik uygulamalarla araştırılmasının lenfoid doku mikroanatomisinin daha iyi anlaşılmasında, klinik tabloların patogeneze aydınlatılmasında ve bunların takip, tedavi ile profilaksi esaslarının oluşturulmasında yararlı ve yol gösterici olacağı kanaatindeyiz.

6. SONUÇLAR

1. Apoptozis, tonsil ve adenoidde lenfositlerin yaşam sürelerini düzenler. Tonsil ve adenoidde apoptozun varlığı immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir.
2. Kronik enfekte olan adenoidlerde hipertrofi olanlarla olmayanlar arasında apoptoz açısından fark, istatistiksel olarak anlamlıdır. Bunun nedeni, lenfoid hemostazı sağlamak için, hücre proliferasyonunun olduğu yerde hücre ölümünün de fazla olması gerekliliğidir.
3. Kronik enfekte olan tonsillerde hipertrofi olanlarla olmayanlar arasında apoptoz açısından fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.
4. Mikrokompartmentlara bakıldığında en fazla apoptoz intrafoliküler, en az intraepitelyal alanda bulunmuştur.
5. İlk kez bir çalışmada apoptoz, dört tonsil grade değerine göre ayrı olarak bakılmıştır ve yine ilk kez bir çalışmada adenoid büyüklüğü ile apoptoz arasındaki ilişkiye bakılmıştır.
6. Apoptozunun intrafoliküler, intraepitelyal, interfoliküler ve subepitelyal alan gibi mikrokompartmentların hepsinde ayrı ayrı bakıldığı başka çalışma bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

1. Bicknell PG. Role of adenotonsillectomy in the management of pediatric ear, nose and throat infections. *Pediatr Infect Dis J* 1994;13:75-8.
2. Alatas N, Baba F. Proliferating active cells, lymphocyte subsets, and dendritic cells in recurrent tonsillitis: their effect on hypertrophy. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2008;134(5):477-83.
3. Kaya S. Tonsil. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2005: 38-48.
4. Alan D, Kornblut A. Non neoplastic diseases of the tonsils and adenoids. In: Paparella M, Shumrick DA, Gluckman JL, Meyerhof WL (eds). *Otorhinolaryngology*. W. B. Saunders Company, 1991;3:2129-47.
5. Kutluhan A, ve ark. Kronik adenotonsillit ile kronik adenotonsiller hipertrofi arasındaki klinik ve histopatolojik farklılıklar. *Kulak Burun Boğaz İhtis Derg* 2003;10(2):61-7.
6. López-Gonzalez MA, Diaz P, Delgado F, Lucas M. Lack of lymphoid cell apoptosis in the pathogenesis of tonsillar hypertrophy as compared to recurrent tonsillitis. *Eur J Pediatr* 1999;158:469-73.
7. Guicciardi ME, Gores GJ. Life and death by death receptors. *FASEB J* 2009;23:1625-37.
8. Moore KL, Persaud TVN. The developing human. In: *Clinically Oriented Embriyology*. 6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Comp., 1988.
9. Koç S et al. Ghrelin levels in children with adenoid or chronic tonsil hypertrophies before and after surgery. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 73 (2009) 685-687
10. Brodsky L, Poje C. Tonsillitis, tonsillectomy and adenoidectomy. In: *Head & Neck Surgery Otolaryngology*. Bailey BJ, Johnson JT, Newlands SD (eds). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, Fourth edition, 2006:1183-98.
11. Friedman M, Tanyeri H. Clinical Predictors of Obstructive Sleep Apnea. *Laryngoscope* 2009;109(12):1901-1907

12. Gross CW, Harrison SE. Tonsils and adenoids. *Pediatr Rev* 2000;21(3):75-8.
13. Dolen WK, Spofford B, Selner JC. The hidden tonsils of Waldeyer's ring. *Ann Allergy* 1990;65:244-50.
14. Chole RA, Faddis BT. Anatomical evidence of microbial biofilms in tonsillar tissue possible mechanism to explain chronicity. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;129:634-6
15. Bernstein JM, Rich GA, Odziemiec C, Ballow M. Are thymus-derived lymphocytes (T cells) defective in nasopharyngeal and palatine tonsils of children? *Otolaryngol Head Neck Surg* 1993;109:693-700.
16. Brandtzaeg P. Immune functions of human nasal mucosa and tonsils in health and disease. In: J. Bienenstock (Ed.), *Immunology of the Lung and Upper Respiratory Tract*, Mc- Graw Hill, New York, 1984, pp. 28—95 (Chapter 2).
17. Hibbert J. *Scott-Brown's Otolaryngology, Pediatric Otolaryngology, Tonsils and Adenoids*, 5th edition: 368-383
18. Batman Ç. Tonsil ve Adenoid Hipertrofilerinde Burun Fonksiyonlarının Rinomanometrik ve Sefalometrik olarak İncelenmesi, Uzmanlık tezi, Hacettepe Üniversitesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, 1988
19. Kuby J. Cells and organs of the immune system. In: *Immunology*, Kuby J (Ed). New York, W.H. Freeman and Company, Second Edition, 1996; 47-84.
20. Perry M, Whyte A. Immunology of the tonsils. *Immunol Today* 1998;19:414-421.
21. Boyaka PN, Wright PF, Marinaro M, et al. Human Nasopharyngeal-Associated Lymphoreticular Tissues. *Am J Pathol* 2000;157(6):2023-35.
22. Van Kempen MJP, Rijkers GT, Van Cauwenberge PB. The immune response in adenoids and tonsils. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;122:8-19.
23. Graeme-Cook F, Bhan AK, Harris NL. Immunohistochemical characterization of intraepithelial and subepithelial mononuclear cells of the upper airways. *Am J Pathol* 1993;143:1416-22.
24. Richtsmeier WJ, Shikhani AH. The physiology and immunology of the pharyngeal lymphoid tissue. *Otolaryngol Clin North Am* 1987;20(2):219-28.

25. Olofsson K, Hellström S, Hammarström ML. The surface epithelium of recurrent infected palatine tonsils is rich in gammadelta T cells. *Clin Exp Immunol* 1998;111:36-47.
26. Doğu F. Tonsil ve Adenoidlerin İmmunobiyolojisi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2002;55(4):291-296
27. Bretscher P. The two signal model of lymphocyte activation twenty one years later. *Immunol Today*. 1992;13:74-76.
28. Dubois B, Vandervliet B, Fayette J, et al. Dendritic cells enhance growth and differentiation of CD40 activated B lymphocytes. *J Exp Med* 1997;185:941-51.
29. Ogra PL. Effect of tonsillectomy and adenoidectomy on nasopharyngeal antibody response to poliovirus. *N Engl J Med* 1971;284:59-64.
30. Sennaroglu L, Onerci M, Hascelik G. The effect of tonsillectomy and adenoidectomy on neutrophil chemotaxis. *Laryngoscope*. 1993 Dec;103(12):1349-51.
31. Jeschke R, Ströder J. Continual observation of clinical and immunological parameters, in particular of salivary IgA, in tonsillectomised children. *Arch Otorhinolaryngol* 1980;226(1-2):73-84.
32. Cantani A et al. Serum immunoglobulins and secretory IgA deficiency in tonsillectomized children. *Ann Allergy* 1986;57(6):413-6.
33. İkinciogulları A, ve ark. Is immune system influenced by adenotonsillectomy in children? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2002;66:251-7.
34. Yılmaz T, Koçan EG, Besler HT. The role of oxidants and antioxidants in chronic tonsillitis and adenoid hypertrophy in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* (2004);68:1053-1058
35. Yılmaz MD, Hoşal Ş, Oğuz H, Yordam N, Kaya S. The Effects of Tonsillectomy and Adenoidectomy on Serum IGF-I and IGFBP3 Levels in Children. *Laryngoscope* 2002;112:922-925
36. Gerschenson LE, Rotello RJ. Apoptosis: a different type of cell death. *Faseb J* 1992;6:2450-55.

37. Allen PD, Bustin SA, Newland AC. The role of apoptosis (programmed cell death) in haemopoiesis and the immune system. *Blood Reviews* 1993;7:63-73.
38. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26(4):239-57.
39. Searle J, Kerr JF, Bishop CJ. Necrosis and apoptosis: distinct modes of cell death with fundamentally different significance. *Pathol Annu* 1982;17:229-59.
40. John Cohen J. Apoptosis. *Immunology Today* 1993;14:126.
41. Elmore S. Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007;35(4):495-516.
42. Rathmell JC, Thompson CB. Pathways of Apoptosis in Lymphocyte Development, Homeostasis, and Disease. *Cell* 2002;109(2):97-107.
43. Pınarbaşı E. Apoptozis (Programlı Hücre Ölümü). In: *Moleküler Biyoloji*. Yıldırım A, Bardakçı F, Karataş M, Tanyolaç B (Editör). Ankara: Nobel Yayın, 2007:423-68.
44. Mountz JD, Zhou T. Apoptosis and autoimmunity. In: *A Textbook of Rheumatology: Arthritis and allied conditions*. WJ Kopman (Ed), Lippincott-Williams&Wilkins, 2001.
45. Trump BF, Berezesky IK, Chang SH, Phelps PC. The pathways of cell death: oncosis, apoptosis, and necrosis. *Toxicol Pathol* 1997;25:82-8.
46. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis of autoimmune disease. *Clin Immunol Immunopathol* 1995;267:1456-62.
47. Altunkaynak BZ, ve ark. Programlanmış Hücre Ölümü: Apoptoz Nedir? *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2008;6(2):93-104.
48. Schwartzman RA, Cidlowski JA. Apoptosis: the biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocrine Review* 1993;14:133-50.
49. Yalınay Çırak AM, İmir T. Apoptozis. *T Klin Tıp Bilimleri* 1995;15:319-26.
50. Tsujimoto Y. Role of Bcl-2 family of proteins in apoptosis, apoptosomes or mitochondria? *Genes Cell* 1998;3:697-707.

51. Schwartz LM, Osborne BA. Programmed cell death, apoptosis and killer genes. *Immunology Today* 1993;14:582-90.
52. Saikumar P, Dong Z, Mikhailov V, Denton M, Weinberg JM, Venkatachalam MA. Apoptosis definition, mechanism and relevance to disease. *Am J Med* 1999;107:489-506.
53. Chen CN, Wu CL, Lin JK. Propolis C from propolis induces apoptosis through activating caspases, bid and cytochrome c release in human melanoma cells. *Biochem Pharmacol* 2004;67:53-66.
54. Danial NN, Korsmeyer SJ. Cell death: Critical control points. *Cell* 2004;116:205-19.
55. Walker NI, Harnon BW, Gobe GC, Kerr JF. Patterns of cell death. *Methods Achiev Exp Pathol* 1988;13:18-54.
56. Bahadır Erdoğan B, Kunt Uzaslan E. Apoptozis Mekanizmaları: Tümör Gelişiminde Fas-FasL Bağımlı Apoptozis. *Türkiye Klinikleri Akciğer Arşivi* 2003;4(3):165-74.
57. Norbury CJ, Hickson ID. Cellular response to DNA damage. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:367-401.
58. Soini Y, Törmänen U, Pääkkö P. Apoptosis is inversely related to bcl-2 but not to bax expression in salivary gland tumours. *Histopathology* 1998;32(1):28-34.
59. Güleş Ö, Eren Ü. Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. *Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi* 2008;2:73-8.
60. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 1992;119:493-501.
61. Kressel M, Groscurth P. Distinction of apoptotic and necrotic cell death by in situ labelling of fragmented DNA. *Cell Tissue Res* 1994;278:549-56.
62. Baykal Y ve ark. Apoptozis ve İmmün Sistem. *T Klin Tıp Bilimleri* 1998;18:11-14
63. Caylakli F, Hızal E, Yılmaz I, Yılmaz C. Correlation between adenoid-

- nasopharynx ratio and endoscopic examination of adenoid hypertrophy: A blind, prospective clinical study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2009;73:1532–1535
64. Erişen L, Basut O, Çoşkun H, Tezel İ, Hızalan İ, Onart S. Adenotonsillektomi olgularımız ve endikasyonların değerlendirilmesi. *KBB Klinikleri* 1999;1:85-8.
 65. Koch RJ, Brodsky L. Qualitative and quantitative immunoglobulin production by specific bacteria in chronic tonsillar disease. *Laryngoscope* 1995;105:42-8.
 66. Hata M, Asakura H, Morimoto K, Kataura A. Profile of immunoglobulin production in adenoids and tonsil lymphocytes. *Acta Oto-Laryngol* 1996;523 (Suppl.):84-6.
 67. Bieluch VM, Martin ET, Chasin WD, Tally FP. Recurrent tonsillitis: histologic and bacteriologic evaluation. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989;98(5):332-5.
 68. Kaditis AG, Finder J, Alexopoulos EI, Starantzis K, Tanou K, Gampeta S, Agorogiannis E, Christodoulou S, Pantazidou A, Gourgoulisanis K, Molyvdas PA. Sleep-disordered breathing in 3,680 Greek children. *Pediatr Pulmonol* 2004;37:499-509.
 69. P.C. Zhang., Comparison of histology between recurrent tonsillitis and tonsillar hypertrophy. *Clin Otolaryngol*. 2003;28:235-239
 70. Cummings CW. *Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi* 4. Baskı. Farenjit ve adenotonsiller hastalıklar . s4138.
 71. Kucera T. Apoptosis and cell proliferation in chronic tonsillitis and oropharyngeal carcinoma: Role of nitric oxide and cytokines. *Biomed Papers* 2004;148(2):225-7.
 72. Izak H, et al. Microbiology of Obstructive Tonsillar Hypertrophy and Recurrent Tonsillitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1989;115(6):721-4.
 73. Kuhn JJ, et al. Quantitative bacteriology of tonsils removed from children with tonsillitis hypertrophy and recurrent tonsillitis with and without hypertrophy. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995;104(8):646-52.

74. Goldbart A, et al. Neurotrophins and Tonsillar Hypertrophy in Children With Obstructive Sleep Apnea. *Pediatr Res* 2007;62(4):489-94.
75. Al-Salam, et al. Prevalence of Epstein-Barr virus in tonsils and adenoids of United Arab Emirates nationals. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2011;75(9): 1160-6.
76. Tulunay Ö ve ark. Değişik Klinik Patolojilerde Palatin Tonsillektomi Materyelleri Morfolojisi. *KBB-Forum* 2007;6(4):105-111
77. Kelsoe G. The germinal center reaction. *Immunol Today* 1995;16:324-6.
78. Szakal AK, Taylor JK, Smith JP, Kosco MH, Burton GF, Tew JJ. Kinetics of germinal center development in lymph nodes of young and ageing immune mice. *Anat Rec* 1990;227:475–85.
79. Mattila PS. Age-Associated Changes in the Cellular Composition of the Human Adenoid. *Scand J Immunol* 1997;45:423-7.
80. Küçükaltun SS. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığında Hava Yolu Epitel Hücreleri, Lenfosit, Nötrofil ve Makrofaj Apoptozisi. Uzmanlık tezi, Çukurova Üniversitesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı,2007
81. Dono M. et al. Phenotypic and Functional Characterization of Human Tonsillar Subepithelial (SE) B Cells. *Annals New York Academy Sciences* 2006;815(1):171-181
82. Sadeghi-Shabestari M, Jabbari Moghaddam Y, Ghaharri H. Is there any correlation between allergy and adenotonsillar tissue hypertrophy? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2011;75(4):589-91.
83. Lack G. Pediatric allergic rhinitis and comorbid disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108(1):9-15
84. Huang SW, Giannoni C. The risk of adenoid hypertrophy in children with allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001; 12(2) :102-106
85. Çengel S, Akyol MU. The role of topical nasal steroids in the treatment of children with otitis media with effusion and/or adenoid hypertrophy. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2006;70(4):639-645
86. Ågren K, et al. What is wrong in chronic adenoiditis/tonsillitis, immunological factor. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1999;49(Suppl 1):137-9.

87. Jiménez A, López-González et al. Hypomethylation of DNA and resistance to apoptosis in tonsillar hypertrophy in children. *Pediatr Allergy Immunol* 2006;17:218-20.
88. Khalyfa A. Transcriptomic Analysis Identifies Phosphatases as Novel Targets for Adenotonsillar Hypertrophy of Pediatric Obstructive Sleep Apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181:1114-20.