

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KULAK-BURUN-BOĞAZ
ANABİLİM DALI

32742

FARE ORTA KULAK MUKOZASI REJENARASYONUNUN
IŞIK VE SCANNİNG ELEKTRON MİKROSKOP İLE
İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

DR. BÜLENT MAMIKOĞLU

İSTANBUL - 1994

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ÖZET

FARE ORTA KULAK MUKOZASI REJENARASYONUNUN
IŞIK VE SCANNİNG ELEKTRON MİKROSKOP İLE
İNCELENMESİ

Farelerde orta kulak mukozasının bir kısmı soyularak rejenerasyon aşamaları incelenmiştir. Bir grup hayvanda ise mukoza soyulduktan sonra orta kulağa silastik levha yerleştirilmiştir. Her iki gruptaki hayvanlar belirli aralıklarla sakrifiye edilerek orta kulak mukozaları ışık ve scanning elektron mikroskopla incelenmiştir. Sadece orta kulak mukozasının soyulduğu hayvanlarda mukozanın iki hafta içinde tekrar rejenerere olup orta kulak yüzeyini kapladığı gözlenmiştir. Silastik yerleştirilen hayvanlarda ise mukoza rejenerasyonu daha yavaş ilerlemiştir. Bu gruptaki hayvanların incelenmesinde daha fazla inflamatuvar reaksiyona ve iyileşme tamamlandığında daha fazla fibrozise rastlanmıştır.

GİRİŞ:

Orta kulak havalanan bir kavitedir. Bu kavitenin havalanması üstaki ağızından olmaktadır. insanda orta kulak mukozasının ilk sistematik incelemesi Sade tarafından yapılmıştır (1). Günümüze kadar birçok araştırmacının katkılarıyla orta kulak mukozası hakkındaki bilgilerimiz genişlemiştir (2,3,4,5). Orta kulağın histolojik incelemelerinde büyük bölümünün yassı veya kübik epitelle döşeli olduğu gözlenmiştir. Üstaki ağızı çevresinde yoğun siliyalı yüksek kolümnar epitel hücrelerine ve goblet hücrelerine rastlanılmaktadır. Bu hücreler siliyer aktiviteleri ve sekresyonlarıyla orta kulağın drenajını sağlamaktadırlar.

Timpanoplasti, orta kulak ve mastoidi ilgilendiren patolojilerin temizlenmesi, temel fizyolojik prensiplere uygun bir orta kulak kavitenin oluşturulmasıyla işitmenin tekrar sağlanması olarak tanımlanabilir. Orta kulak mukozasının ileri derecede tahrip olduğu veya orta kulak mukozasının soyulduğu hastalarda timpanoplastinin başarılı olması, uygulanan teknik dışında mukozanın düzgün yüzey halinde tümüyle tekrar rejenere olmasına da bağlıdır. Operasyonda havalanan orta kulak kavitesi oluşturulmalı; rejenere olan mukozada orta kulağın drenajı tekrar sağlanmalıdır. Bu yeni mukozayı oluşturan hücreler, normal orta kulak mukozasının yapısına benzerlikleri oranında

orta kulağın havalanması ve drenajına katkıda bulunacaklardır. Mukoza yüzeyindeki yapışıklıklar ve iyileşmeyen bölgeler ise mukozanın bu görevlerini yerine getirmesini zorlaştıracaktır.

Parafin bloklar, gelatin film, teflon ve silastik levhalar mukozanın kesintisiz iyileşmesini sağlamak ve adhezyonları önlemek amacıyla kullanılan materyellerdir (6,7,8,9). Bunların içinde lastik yumuşaklığında ve inert bir madde olan silastik levhalar en sık kullanılanlardan biridir. Silastik levhalar timpanoplasti operasyonlarında kullanımı, orta kulakta adhezyonları önlemek, yeni rejenere olan mukozaya düzgün bir yüzey sağlamak ve operasyon esnasında orta kulakta oluşturulan havalı boşluğu korumak amacıyla önerilmektedir. Sık kullanılan bir materyel olduğu halde, timpanoplastide silastik kullanımı ile ilgili deneysel çalışmaların sayısı sınırlıdır (6,7,8,9). Bu deneysel çalışmalarda genel olarak silastiğin yabancı cisim reaksiyonuna yol açmadığı kabul edilmektedir.

Bu çalışma orta kulak mukozasının iyileşme aşamalarını izlemek ve silastik levhaların iyileşmeye olan etkisini araştırmak amacıyla planlandı. Silastiğin orta kulak mukozasının iyileşmesine etkisi, sadece mukozası soyulan grupta alınan sonuçlarla beraber değerlendirildi. Her iki grup hayvanda elde edilen sonuçlar, daha önce orta kulak mukozasının rejenerasyonu ve silastik levhalarla ilgili

yapılmış çalışmalardaki bulgular ışığında karşılaştırılarak tartışıldı.



TEMEL BİLGİLER:

insanda orta kulak boşluğu embriyolojik dönemin ikinci ayından başlayarak, birinci farengial yarıktan gelişmektedir. Orta kulak mukozası endodermal kökenli epitel olup, mukoza ile kaplanması yedinci ve sekizinci aylar içinde tamamlanmaktadır.

insanda orta kulak mukozasının görüntüsü şu şekilde özetlenebilir. Östaki ağızı çevresinde yoğun olarak silyalı hücreler ile sekresyon yapan goblet hücrelerin oluşturduğu yüksek kolümner epitelle rastlanılmaktadır. Shimade ve Lim, silyalı hücrelerin ve sekresyon yapan hücrelerin oluşturduğu yüksek kolümner epitelin hipotimpanumdan, promontoryumdan ve epitimpanumdan başlayıp, orta kulak medial duvarı boyunca, östaki ağızına doğru ilerlediklerini tarif etmişlerdir (5). Aynı araştırmacılara göre, bu hücrelerle yapılan mukosilyer sistem orta kulağın ana direnç yolunu oluşturmaktadır. Orta kulak ve mastoidin kalan kısımları kübik ve yassı epitelle döşelidir. Bu yassı ve kübik epitel hücrelerinde yüzeyleri düzgün olmayıp, hücre yüzeylerinin periferinde mikrovilluslara rastlanılmaktadır.

Hentzer orta kulak mukozasında beş tip hücre tarif etmiştir (2). 1) silyasız ve sekretuar granülleri olmayan hücreler 2) Silyasız ve sekretuar granülleri olan hücreler 3) Silyalı hücreler 4) Geçiş hücreleri 5) Basal hücreler. Basal

hücreler, geçiş hücreleri üzerinden silyalı veya sekresyon granülleri taşıyan mikrovilluslu hücrelere dönüşmektedir. Yüksek kolümnler mikrovilluslu hücrelerin bir bölümü sekresyon yaparlar. Bu hücrelerin içindeki sekresyon granülleri artınca goblet hücresi olarak adlandırılmaktadırlar. Mikrovillus, orta kulağın hemen tüm hücrelerinde görülmektedir ve primer görevinin absorpsiyon yapmak olduğu düşünülmektedir. Orta kulak mukozasının absorpsiyon ve transepitelial transport görevinin de hücre yüzeylerindeki mikrovilluslar tarafından yapıldığı düşünülmektedir (5). Silyalı hücreler ise sekresyon yapmamaktadırlar. Bakteriyel enfeksiyonlar veya deneysel orta kulak enfeksiyonlarında silyalı ve sekresyon yapan hücreler artmaktadır. Sekresyon yapan hücrelerin artması, buna karşılık rölatif olarak diğer hücrelerdeki absorpsiyon yeteneğinin bozulması effüzyonlu orta kulak hastalıklarının oluşmasında yardımcı faktör olarak rol oynamaktadır.

Ortakulak boşluğu steril bir ortam olduğu halde gevşek subepitelial dokuda lenfositler, nötrofiller, plasma hücreleri, fibroblast ve yer yer mast hücrelerine rastlanılmaktadır. Bu hücreler immunoglobülünler gibi bağışıklık sisteminin diğer elemanlarıyla birlikte zayıf bir koruyucu fonksiyonuda gerçekleştirirler (6).

Fare orta kulak mukozası insan orta kulak mukozasına yakın benzerlik göstermekte ve deneysel çalışmalar için uygun

bir model oluşturmaktadır (3). Bu hayvanların orta kulak mukozası genel olarak çift katlı yassı kübik epitelle döşelidir. Bu epitel hücrelerin yüzlerinde de mikrovilluslara rastlanılmaktadır. Silyalı yüksek kolümnar hücreleri ise daha çok üstaki ağızı çevresinde gözlenmektedir. Bu hücreler, aralarındaki goblet hücreleriyle birlikte orta kulak kavitesinin medial duvarı boyunca epitimpanuma ve promontoryum altından yuvarlak pencere nişine doğru ilerlemektedirler. Albiin, sekresyon yapan hücrelerin soluk granüller içerenlerinin yüksek kolümnar epitel hücrelerinde tuba çevresinde yoğunlaştıklarını, yassı ve kübik epitel hücrelerinin ise koyu granüller içerdiklerini belirtmektedir (2). Soluk granüllü olan goblet hücrelerin seromüköz, koyu granüllü hücrelerin sekresyonlarının ise seröz olduğu düşünülmektedir.

Kolümnar epitelin altında lenfosit, polimorf, fibroblast, mast hücreleri ve ince kapiller içeren gevşek bir stroma mevcuttur. Kübik ve yassı epitelle döşeli bölgelerde ise stroma incelmekte ve yer yer kaybolmaktadır.

MATERiAL VE METOD:

Bu çalışmada 200-300gram ağırlılığında kırk Sprague-Dawley faresi kullanıldı. iki hayvan deney süreleri dolmadan öldüklerinden dolayı çalışmadan çıkarılıp otuzsekiz hayvanda elde edilen sonuçlar değerlendirildi. Hayvanlara intraperitoneal ketamin (100mg/kg) enjeksiyonu ile anestezi yapıldı. Tüm hayvanların sol kulakları opere edildi karşı kulaklar kontrol grubu olarak kullanıldı. Operasyon ncesi kulak çevresindeki kıllar tıraşlandı. Kulak evresi % 10 Povidon iyotlu solusyonla (Isosol antiseptik solusyon) yıkandıktan sonra steril örtü örtülerek operasyona başlandı. Operasyonlar esnasında steril malzemeler kullanıldı. Aurikulanın yaklaşık 0.5 cm arkasından 2 cm'lik longitudinal insizyon yapıldıktan sonra cerrahi mikroskop (Karl Kaps D-6334 ABlar) altında çalışılmaya başlandı. Submaksiller gland ekarte edilip digastrik adale arka karnı kesilerek timpanik bulla ve fasyal sinir ortaya konuldu. Timpanik bulla lateral duvarında alt orta kısımdan tur yardımıyla yaklaşık 6-7 mm'lik delik açılarak orta kulağa girildi. işlem esnasında timpanik membran ve dış kulak yolu cildini ve kemikçik sistemi yaralamamaya zen gösterildi. staki ağzı cevresindeki mukoza korunarak promontoryum hizasına kadar olan hypotimpanumu döşeyen mukoza soyuldu. Ondört hayvanın kulağına silastik levha yerleştirildi. Soyulan mukozanın üstünü kapatacak kadar büyüklükte 0.3 mm kalınlığındaki silastik levha orta kulakta soyulan bölge

üzerine yerleştirildi. Silastiğin üstaki ağzını kapatmamasına dikkat edildi. işlemler sonunda kavite 2ml'lik 1000.000 IU penisilin kristalize içeren solusyon ile yıkandı. Kanama kontrolünün ardından cilt 4:0 ipekle suture edildi.

Orta kulak mukozaları soyularak iyileşmeye bırakılan hayvanlardan oniki tanesi ve soyulan bölge üzerine silastik levha yerleştirilen hayvanlardan sekiz tanesi scanning elektron mikroskop ile değerlendirildi. Hayvanlar sırası ile 3 gün, 1 hafta, 2 hafta, 3 hafta , 1 ay ve 2 ay aralıkla yüksek dozda pentobabital verilerek dekapite edildiler. Hayvanların timpanik bulları çıkartıldıktan hemen sonra fosfat tamponla hazırlanan % 5 gluteralaldehit içinde 24 saat fikse edildiler. Fosfat tamponla 2 saat yıkandıktan sonra, 1 N HCl ile 17 saat tutularak dekalsifiye edildiler ve tekrar fosfat tamponla 2 saat yıkandılar. Daha sonra scanning elektron mikroskopla incelenecek parçalar ön arka yönünde kesilerek medial ve lateral olarak ikiye ayrıldılar. Alkol serilerinin ardından scanning elektron mikroskopi yapılacak parçalar amil asetta bir gece (15 saat) bekletildikten sonra kritik point metodu ile kurutuldular ve altın (SEM Coating System, Bio RAD, Microscience Division -SC502) ile kaplanarak scanning elektron mikroskopuyle (Jeol, JSM-5200 scanning microscope) incelenmeye ve fotoğraflanmaya hazır hale getirildiler.

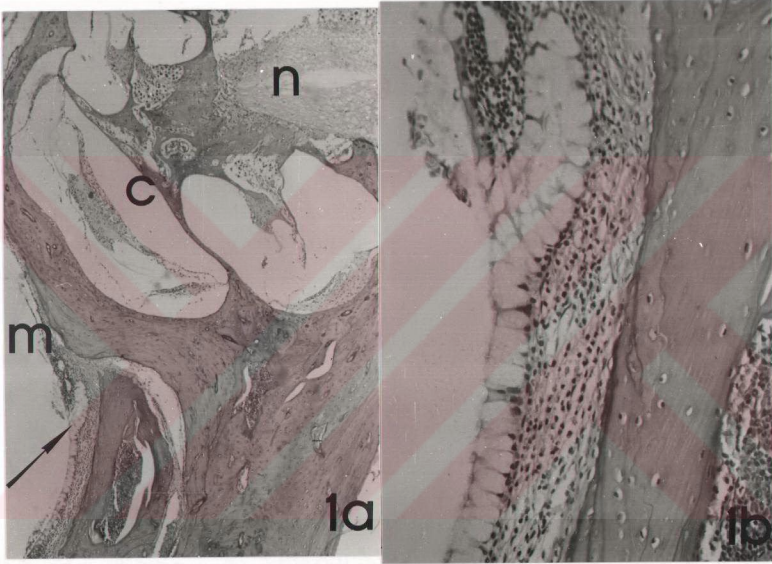
Orta kulak mukozaları soyularak iyileşmeye bırakılan

sekiz hayvan ve soyulan bölgeye elastik yerleştirilen altı hayvan ışık mikroskopisi ile incelenmek üzere hazırlandı. Bu hayvanlarda sırası ile 3 gün, 1 hafta, 2 hafta, 3 hafta, 1 ay ve 2 ay aralıklarla yüksek dozda pentobabital verilerek dekapite edildip timpanik bulları çıkartıldı. Timpanik bullalar % 10 formaladehit içinde 24 saat fikse edildikten sonra fosfat tamponla 2 saat yıkandı. 1 N HCl asit içinde 17 saat bekletilerek dekalsifikasyonları tamamlandı. Alkol serileriyle dehidratasyonları tamamlanıp timpanik bullalar parafin bloklara gömüldü. Hayvanın mastoid bölgesinden öne, üstaki ağızına doğru gelinerek 5 um kalınlığında 100 um aralıklarla koronal planda kesitler alındı. Kesitler hemotoksilen eosinle boyandılar ve ışık mikroskobu (Olympus BH-2, Japon) ile incelenerek fotoğraflandılar.

Dört hayvanın kulakları ışık ve scanning elektron mikroskopuyla normal orta kulak mukozasını incelenmek amacıyla kullanıldılar.

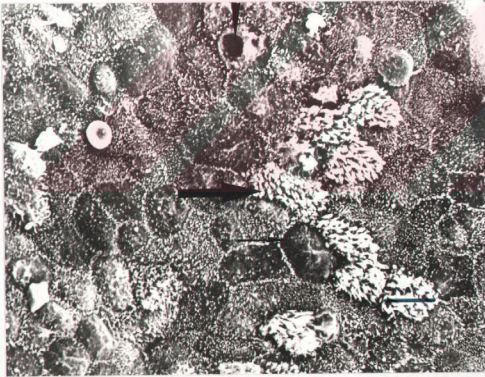
BULGULAR :

Normal orta kulak mukozasının ışık mikroskobu ile incelenmesinde, kavitenin genellikle tek veya çift katlı yassı veya kübik epitel hücreleriyle döşeli olduğu izlendi. Östaki ağızı çevresinde yoğun silyalı yüksek kolümner epitel hücrelerine rastlandı. Östaki ağızından uzaklaştıkça promontoryumu oluşturan mukozanın hemen altında dar bir alanda yüksek kolümner epiteli yapan goblet hücreleri ve seyrek silyalı hücrelerin yuvarlak pencereye doğru uzandıkları görüldü. (Resim 1A, 1B). Goblet hücreleri ve silyalı hücrelerin altındaki stroma gevşek bir bağ dokusundan oluşmaktaydı. Burada fibrositler, plazma hücreleri, lenfosit, mast hücreleri ve ince kapiller damarlar izlendi. Hipotimpanuma ve epitimpanuma doğru gidildikçe mukoza önce kübik ardından tek veya iki katlı yassı epitele dönüşmekteydi. Bu bölgelerde subepitelyal doku da incelmekteydi. Hipotimpanum ve epitimpanumunun bazı kısımlarında ise tek katlı ve çift katlı epitel altındaki stroma tümüyle kaybolmaktaydı. Epitel bu bölgelerde basal membranı hemen periost hücrelerinin üzerine yerleşmekteydi.



Resim 1. Normal orta kulak mukozasının ışık mikroskopisi. A) Siyah okun gösterdiği bölgede, promontoryumun hemen altında gevşek stroma üzerinde yerleşen yüksek kolümnar hücreler izlenmektedir. Bu alanda yüksek kolümnar epitelin invaginasyonu ile oluşan gland benzeri yapı mevcuttur. m: Orta kulak boşluğu c: koklea, n: sekizinci sinir. (Original büyütme 3 X 4) B) Okla gösterilen bölgenin yakın plandan çekiminde ince bağırsak epiteline benzer çekirdekleri tabana itilmiş mikrovilluslu sekresyon yapan hücreler görülüyor. (Original büyütme 3 X 20)

Scanning elektron mikroskopide silyalı ve goblet hücrelerinin, üstaki ağızından başlayarak promontoryum altından yuvarlak pencereye doğru uzandığı izlendi (Resim 2). Bu hücrelerin yüzeylerinde yoğun mikrovilluslar görülmekteydi. Bu hat dışında kalan diğer hücrelerin de yüzeylerinde mikrovilluslara rastlandı. Sekresyon granülleriyle dolan bazı hücreler orta kulak boşluğuna doğru kabarıntı oluşturmuşlardı. Bu hücrelerin arasında silyalı hücrelerin de olduğu gözlemlendi. Üstaki ağızı çevresine yaklaşıldıkça silyalı hücreler artmakta, mikrovilluslu hücreler ve goblet hücreleri ise azalmaktaydı.



Resim 2. Resim 1B'deki alanın scanning elektron mikroskopla incelenmesinde sekresyon yapan mikrovilluslu hücreler, aralarındaki sekresyon granülleriyle şişkinleşen hücrelerle birlikte izleniyor (kısa kalın ok). Bu hücrelerden birinde sekresyon granüllerini boşalttığı gözleniyor (ok başı). Yer yer silyalı epitel hücreleri izlenmekte (kalın ok). Mukoza üzerinde ise bir eritrosit izlenmekte (ince ok).

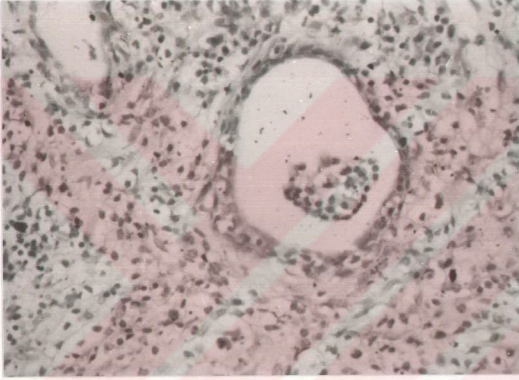
üçüncü gün sakrifiye edilen hayvanların ışık mikroskopisi ile incelenmesi sonucunda orta kulak kavitesinde, iltihabi hücrelere ve eritrositlere rastlandı. Kemik yapıda da periost reaksiyonu izlenmekteydi. Scanning elektron mikroskopide kavite de yaygın fibrin ağların içinde trombosit, eritrosit ve yer yer lökositler görüldü (Resim 3). Ayrıca kavitenin çeşitli yerlerinde çıplak periost hücrelerin görüldüğü bölgeler izlendi. Kavitenin epitelizasyonu başlamıştı.



Resim 3 . Operasyondan 3 gün sonra. Scanning elektron mikroskopide kaviteyi döşeyen fibrin bantlar arasında eritrositler ve kümeler yapmış trombositler izleniyor.

1. hafta sonunda her iki grupta da kavitenin epitelizasyonu henüz tamamlanmamıştı. Bu dönemde subepitelial dokuda retansiyon kistleri ve granülasyon dokularına daha sık rastlandı (Resim 4). Scanning elektron mikroskopi

bulgularında, sağlam mukozadan ayrılan şişman epitel hücrelerinin kısa pseudopodlar çıkararak kavitede yaptığı migrasyonlar izlenmekteydi. Bu hücrelerin küçük kümeler oluşturarak birbirlerine tutunmaya çalıştıkları gözlemlendi.



Resim 4 . Operasyondan 1. hafta sonra. Submukozada oluşan büyük bir retansiyon kisti izleniyor. (Original büyütme 3X20)

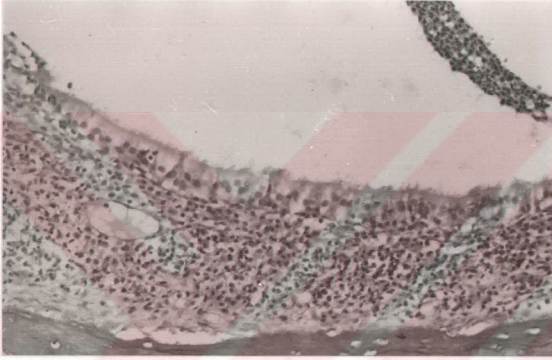
1. hafta sonunda epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar tam oluşmamıştı. Hücreler arasında yer yer mitozda izlenilmekteydi (Resim 5). Epitelizasyon, silastik yerleştirilen grupta daha yavaş ilerlemekteydi ve subepitelial dokuda daha yoğun iltihabi hücrelere rastlanmaktaydı.



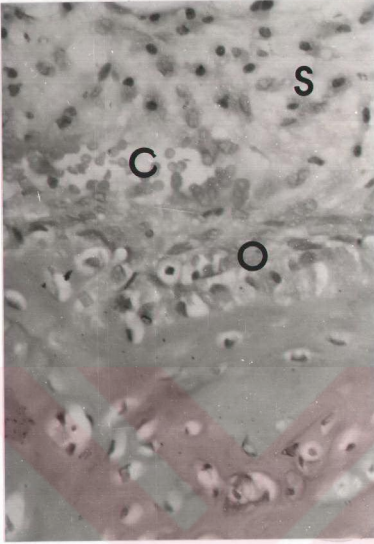
Resim 5 . Operasyondan 1 hafta sonra. Scanning elektron mikroskopisinde sağlam epitelden orta kulağa dağılan epitel hücreleri hücreleri görölüyor. Siyah ok bölünme safasındaki bir hücreyi gösteriyor. e: Epitel hücreleri

2. hafta sonunda ışık mikroskopisi bulgularında silastik yerleştirilen grupta epitelizasyon tamamlanmadığı halde, diğer grupta kavitenin tam differansiye olmamış, tombul, büyük santral yerleşimli çekirdekli, küçük sitoplazmalı ve bazofilik boyanan epitel hücreleriyle döşendiği izlendi. (Resim 6). Subepitelial dokuda fibroblast, polimorf lökositler ve lenfositler mevcuttu. Kemik yapıda ise osteoblastik aktivite en yoğun düzeyindeydi (Resim 7). Yeni

kemik oluşumuna katılan palisat oluşturmuş osteoblastlara ve osteit yapılarına da sık rastlandı. Orta kulak kavitesine turla açılan deliğin fibröz doku ile kapandığı ve üzerinin epitelize olduğu gözlemlendi.



Resim 6 . Operasyondan 2 hafta sonra. Işık mikroskopisinde tam differansiye olmamış yeni rejenera mikrovilluslu hücreler görülüyor. Subepitelial dokuda yoğun iltihabi hücreler bulunuyor. (Orginal büyütme 3X20)

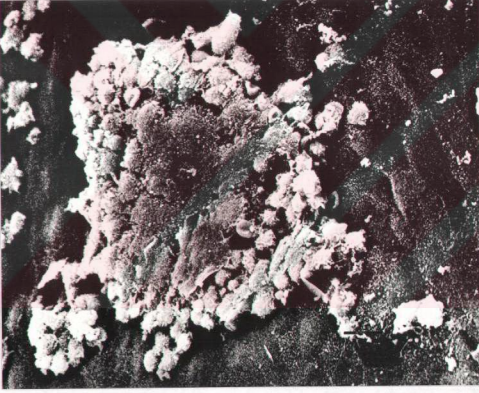


Resim 7 . Operasyondan 2 hafta sonra. Işıık mikroskopisinde yeni kemik oluşumu ve palisat yapmış osteoblastlar görüldü. O: Palisat yapan osteoblastlar, S: iltihabi hücreler içeren subepitelyal doku, C: içi eritrositle dolu kapiller damar. (Original büyüme 3X20)

2. hafta sonunda incelenen orta kulakların scanning elektron mikroskopik incelemesi ışık mikroskopisi bulgularını destekler nitelikteydi. Ancak scanning elektron mikroskopide iyileşmenin devam ettiği küçük alanlar izlenmekteydi. Yeni rejenere epitelde mikrovilluslu hücrelere de rastlanıldı. Bu hücrelerin yüzeylerinde kontrol grubunda izlenelere göre daha az sayıda mikrovilluslar mevcuttu.

3 hafta sonunda ışık mikroskopisi bulgularında her iki grupta da epitelizasyon tamamlanmıştı. Epitel daha

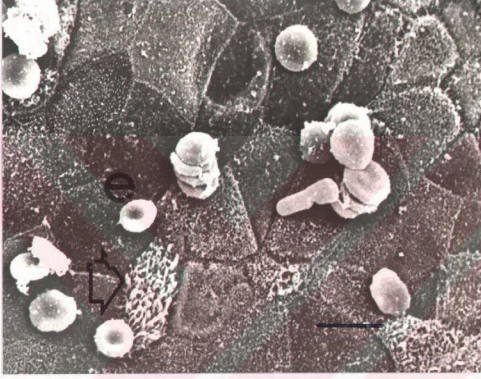
differentiated appearance. Subepithelial tissue showed inflammatory cells, fibroblasts and new bone formation. The density of osteoblasts that had formed the bone decreased. Scanning electron microscopy showed leukocytes on the epithelium in small clusters (Figure 8). However, the inflammatory reaction in the epithelium had not yet completed. Small lacunae were present.



Resim 8 . Operasyondan 3 hafta sonra orta kulağın scanning elektron mikroskopisi. Rejenere epitel hücreleri üzerinde kümeler yapmış lökositler görülüyor. C : Küme yapmış lökositler.

One month and two months after the operation, the inflammatory reaction in the subepithelial tissue and the osteoblastic activity decreased, the middle ear mucosa was inflamed

hücrelerin tümüyle normal görünümünü aldıkları saptandı (Resim 9). Bu örneklemelerde silyalı hücrelerle birlikte goblet hücrelerinin de normal görünümünü aldıkları tespit edildi.



Resim 9 . Operasyondan iki ay sonra. Scanning elektron mikroskopide orta kulak kavitesi normal görünümündedir. Mikrovilluslu hücrelerin arasında ender silyalı hücreler de görülüyor. Epitel üzerinde eritrositler mevcut. Kalın ok: Silyalı hücre. E: Eritrositler.

Ancak silastik levha yerleştirilen gruptan bir spesmende iki ay geçmiş olmasına rağmen epitelizeasyonu tamamlanmadığı bölgeler de görüldü. Subepitelyal dokuda iltihabi hücre infiltrasyonu devam etmekteydi. Scanning elektron mikroskopide kavite yüzeyinin düzgün görünüm almadığı ve mukoza üzerinde yoğun fibrin artıklarının bulunduğu gözlemlendi.

(Resim 10). Bazı spesmenlerde mevcut kemik aktivite üzerinde silastiğin oluşturduğu baskıya ait izler görüldü.



Resim 10: Operasyondan 2 ay sonra. Scanning elektron mikroskopide Silastik levha yerleştirilen grupta yeni oluşan epitelin yüzeyi diğer grupta aynı dönemde incelenen spesmenlere göre daha düzensiz. Epitel üzerinde yaygın fibrin ağları izleniyor.

Tüm hayvanlarda elde edilen bulgular tablo 1'de özetlenmiştir.

sakrifiye edildikleri zaman	Işık mikroskobu bulguları	scanning elektron mikroskobu bulguları
3. gün	Kavitede lökosit ve eritrositelere rastlanıldı	Fibrin ağları içinde lökosit ve eritrositler
3.gün Silastik konulanda	Yukardakilere benzer bulgular	Yukardakilere benzer bulgular
1. hafta	Epitelizasyon tamamlanmamış yoğun granülasyon dokuları mevcut	Kaviteye dağılan epitel hücreleri izleniyor
1.hafta Silastik konulanda	Subepiteliyal dokuda yoğun iltihabi hücreler	Kavite üzerinde migrasyon yapan epitel hücreleri ve bol lökosit
2.hafta	Epitelizasyon tamamlanmış, ancak differansiye değil	Hücre yüzeylerinde normalden daha az mikrovillus var
2.hafta Silastik konulanda	Epitelizasyon tamamlanmamış, Bol lökosit var	Epitelizasyon tamamlanmamış
3.hafta	Hücreler daha differansiye görünümde	iyileşmenin devam ettiği küçük alanlar mevcut
3. hafta Silastik konulanda	Epitelizasyon tamamlanmış Lökositler izleniyor	Işık mikroskopik bulgulara benzer görüntüler
1. ay ve 2. ay	Orta kulağın tüm hücreleri izleniyor	Siliyer yapı ve sekresyon yapan hücreler oluşmuş
1. ay ve 2. ay Silastik konulanda	Epitelizasyonun tamamlanmadığı spesmen mevcut	Bol fibrin artıkları ve kavite yüzeyi düzensiz

Tablo 1: Işık ve scanning elektron mikroskopla incelenen otuzdört hayvandaki bulgular toplu olarak izleniyor.

TARTIŞMA:

Bu deneysel çalışmada fare orta kulak mukozasının insan orta kulağına oldukça benzerlik gösterdiği görüldü. Östaki ağızı çevresinde yoğun olarak silyalı epitel hücrelerine ve goblet hücrelerine rastlanması bu hücrelerin orta kulağın drenajında, havalanmasında önemli rol oynayabileceklerini düşündürmektedir (5). Bu yüzden, özellikle mukozanın soyulduğu hastalarda bu hücrelerin tekrar rejenerasyonu olması timpanoplastinin başarısı için gereklidir.

Yara iyileşmesi komplike bir olaydır. Ancak yara iyileşmesini neyin başlatığı bilinmemektedir. iyileşme esas olarak üç mekanizma ile olmaktadır. Bunlar proliferasyon, migrasyon ve differansiasyondur (11,12,13). Epitel hücrelerinin bütünlüğü bozulunca meydana gelen ülser, fibrin ağları içinde trombositler, eritrositler ve koagülasyon proteinleriyle kapatılmaya çalışılmaktadır. Bu iyileşmenin ilk basamağıdır. Tüm epitel hücreleri serbest yüzeyleri kapatabilme özelliği taşırlar. Yara iyileşmesinde epitel migrasyonu ve mitoz iki önemli faktördür. Migrasyon, yara iyileşmesinde daha önemli olduğu izlenimini vermektedir. Mitozun engellendiği durumlarda, migrasyon devam etmekte ve yara kapanması geçikmemektedir. Reepitelizasyon bazal membranın sağlam kaldığında ve enfeksiyonun olmadığı durumlarda daha hızlı olmaktadır (12). Epitel hücreleri arasında intersellüler sıkı bağlantılar bulunmaktadır. Tek

veya çift katlı epitel migrasyonu bu intersellüler sıkı bağlantılar sayesinde küçük kitleler halinde olmaktadır. Öndeki hücrelerde migrasyon izlenirken arkadakilerde proliferasyon gözlenmektedir. Yara alanı çevresindeki istirahat eden hücrelerde ise 12-16 saat içinde protein sentezi artmakta ve sentezin özellikleri değişmektedir.

Orta kulak epitelindeki rejenerasyonun benzer şekilde olabileceğine dair çeşitli delillerde mevcuttur. Örneğin deneysel effüzyonlu otit oluşturulan kulaklarda hücre proliferasyonu en çok ilk 3 günde görülmektedir. Bu aktif proliferasyonun arttığı dönemde fibroblast growth factor, epidermal growth factor, transforming growth faktör ve birçok sitokinlerin rol oynadığı düşünülmektedir (14).

Bu çalışmada sağlıklı orta kulak mukozalarının bir kısmı soyulan farelerde, mukoza iyileşmesinin üçüncü günde başladığı görüldü. Migrasyon yapan hücrelerin kaviteye dağılırarak ve birbirlerine tutunarak epitelizasyonu tamamlamaya çalıştıkları izlendi. İki hafta içinde orta kulak mukozası tekrar epitelize oldu. Yeni rejenere olan epitel hücreleri kısa zamanda tekrar differansiye olarak normal orta kulak mukozasında görülen tüm hücreler tekrar oluştu. Bu epitelde silyalı hücrelerin ve yüksek kolümner epitel hücrelerinin iki ay sonra incelenmesinde kontrol grubundaki hücrelerden belirgin fark göstermediği izlendi. İyileşme tamamlandığında da mukozada belirgin fibrozise ve

düzensizliklere rastlanmadı.

Burun ve sinus mukozası orta kulak mukozasına benzer şekilde silyalı hücreler ve goblet hücreleri içeren iki veya üç katlı pseudostratifiye silyalı epitel ile döşelidir. Kennedy ve Shaalan sinus mukozanın radikal olarak soyulduğu tavşanlarda mukosilyer aktivitenin azaldığını göstermişlerdir (15). Benzer bir epitelle döşeli orta kulak mukozasının da rejenerasyon sonrası direnaja aksaklıklar görülebilmesi olasılık dışı değildir.

Silastik yerleştirilen grupta belirgin olarak daha fazla inflamatuvar reaksiyonla karşılaşıldı. Mukozadaki iyileşmenin silastik yerleştirilen grupta diğer gruba benzer şekilde devam ettiği görüldü. Ancak inflamatuvar reaksiyonun mukoza rejenerasyonunu belirgin olarak yavaşlattığı gözlemlendi. Bir spesimde ise operasyondan iki ay geçmesine rağmen scanning elektron mikroskopik gözlemlerde mukozada iyileşmeyen alanlar mevcuttu. iyileşmenin tamamlandığı spesmenlerde submukozada daha fazla fibrozise mukozada da yoğun fibröz bantlar rastlandı. Ayrıca mukoza yüzeyi, silastik kullanım amacının aksine düzensizdi.

Kithens ve Gross' da silastik yerleştirilen kedilerde inflamatuvar reaksiyonla karşılaşıldığını ancak bunun epitelizasyonu yavaşlatmadığını belirtmektedirler (9). Fakat araştırmacılar kulaklarda inflamatuvar reaksiyona bağlı

olarak mukoza ve submukozada fibrozis gördüklerini bildirmişlerdir. İki aşamalı intakt kanal timpanoplasti yapılan hastalarda yapılmış klinik çalışmalarda hastalarının ilk operasyonlarında ileri derecede enfekte orta kulak mukozaları tümüyle soyulmuş ve soyulan mukoza yerine silastik yerleştirilmiştir (16,17,18). İkinci operasyon esnasında orta kulaktan alınan biyopsi örneklerinde mukozanın tümüyle normal görünümünü aldığı belirtilmektedir. Bir başka çalışmada silastik yerleştirilen kulakların 1 ile 20 yıl sonra temporal kemikleri incelenmiştir (19). Silastik, incelenen temporal kemiklerin hiçbirinde yabancı cisim reaksiyonuna yol açmamıştır. Bazı spesmenlerin orta kulak mukozalarında değişen derecelerde fibrozise rastlanılmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar daha önceden yapılmış deneysel çalışmaları desteklemektedir. Wullstein klinik gözlemlerinde orta kulak mukozasının oldukça hızlı rejenerasyon olup eski görüntüsünü aldığını belirtmektedir (20). Ancak silastik kullanımının iyileşmeyi geçiktirdiğini ve yapışıklıklara yol açtığını bu yüzden silastik kullanımının önerilmemesini önermektedir.

Bu çalışmadaki farelerde silastik levha kullanımına ilişkin gözlemler, silastik kullanımının enfeksiyona ve fibrözis yol açabileceği ve epitelizasyonu geçiktirebileceği şeklindedir. Bu bulgulara dayanılarak silastik levhaların orta kulak mukozası epitelizasyonu üzerinde olumsuz etkisi olabileceğini kanaatine varılmıştır.

SONUÇ:

Fare orta kulak mukozasının rejenerasyonu incelemek amacıyla yapılan bu deneysel çalışmada elde edilen sonuçlar şu şekilde özetlenebilir.

- 1) Fare orta kulak mukozasında sadece dar bir alanda silyalı, sekresyon yapan, yoğun mikrovilluslar içeren yüksek kolümner epitele rastlanıldı. Kavitenin kalan kısımlarınının yassı ve kübik epitelle döşeli olduğu görüldü.
- 2) Bu çalışmada orta kulak mukozası soyulduğunda, orta kulak mukozasını oluşturan hücrelerin iki haftalık süreçte tekrar rejenere olduğu gözlenmiştir. Normal tekrar rejenere olmaktadır.
- 3) Silastik yerleştirilen grupta epitelizasyonun diğer gruba göre daha yavaş ve inflamatuvar reaksiyonun daha fazla olduğu görülmüştür. Ayrıca mukoza ve submukozada daha fazla fibrozisle karşılaşmıştır.

KAYNAKLAR:

- 1) Sade, J.: Middle ear mucosa. Arch Otolaryn 1966; 84, 41-47.
- 2) Hentzer, E.: Ultrastructure of the middle ear mucosa. Acta-Otolaryngology-Suppl-Stockh. 1984; 414: 19-27
- 3) Albiin N., Hellstrom S., Stenfors L.E., Cerne A.: Middle ear mucosa in rats and humans. Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl. 1986; 126: 2-15
- 4) Tos M, Bak-Pedersen, K.: Goblet cell population in the normal middle ear and eustachian tub of children and adults. Ann Otol Rhino Laryngol 1976: 85 (Suppl 125); 44-50
- 5) Shimada, T., Lim D.J.: Distribution of ciliated cells in the human middle ear. Electron and light microscopic observations. Ann Otol Rhinol Laryngol 1972: 81; 203-211.
- 6) Ichimiya, I., Kawauchi, H., Mogi, G.: Analysis of immunocompetent cells in the middle ear mucosa. Arch Otolaryngol 1990: 116; 324-330.
- 7) Paparella, M.M.: Experimental tympanoplasty. Laryngoscope 1967: 77(10); 1755-1797.

- 8) Sheehy, J.L.: Plastic sheeting in tympanoplasty.
Laryngoscope 1973: 83; 1144-1159.
- 9) Kithens, G.G., Gross, C.W.: Investigation of the mesotympanum's reaction to silastic and gelatin film.
Arch Otolaryngol 1976: 102; 547-551.
- 10) Colman, B.H.: Silastic implants in the ears of cats.
Acta-Otolaryngol 1972: 73; 296-303.
- 11) Stenn, K.S., Malhotra, R.: Epithelialization. In Edited by Cohen, K.L., Diegelmann R.F., Lindblad, W.J. Wound healing. Biochemical & clinical aspects. 1st ed., Philadelphia, W.B. Saunders Company, Harcourt Brace Jovanovich, Inc., 1992; pp 115-127.
- 12) Gibbin, J.R.: Migration of stratified squamous epithelium. The development of phagocytic ability.
53 (6), 929-951.
- 13) Pang, S.C., Daniels, W.H., Buck, R.C.: Epidermal migration during healing of suction blisters in rat skin: A scanning and transmission electron microscopic study.
Am J Anat 1978; 153: 177-192.

- 14) Ryan, A.F., Baird, A.: Growth factors during proliferation of the middle ear mucosa. Acta-Otolaryngol-Stockh. 1993; 113(1): 68-74.
- 15) Kennedy, D.W., Shaalan, H.: Reevaluation of maxillary sinus surgery: experimental study in rabbits. Ann Otol Rhinol Laryngol 1989; 98: 901-906.
- 16) Gamoletti, R., Zini, C., Sanna, M., Bellomi, A.: Regenerated middle ear mucosa after tympanoplasty. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec. 1982; 44(6): 310-7.
- 17) Gamoletti, R., Lanzarini, P., Sanna, M., Zini, C.: Regenerated middle ear mucosa after tympanoplasty. Part II scanning electron microscopy. Otolaryngol Head Neck Surg 1986 94(4): 430-4.
- 18) Gamoletti, R., Lanzarini, P., Sanna, M., Zini, C.: Regenerated middle ear mucosa after tympanoplasty. Part I Transmission electron microscopy. Otolaryngol Head Neck Surg 1986 94(3): 339-43.
- 19) Ng, M., Linthicum, F.H.: Long term effects of silastic sheeting in the middle ear. Laryngoscope. 1992; 102(10): 1097-102.

- 20) Wullstein, H.L., Wullstein, S.R.: Tympanoplasty.
Osteoplastic epitympanotomy, Georg Thieme Verlag
Stuttgart, 1990.

