THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL RESEARCH COUNCIL OF TURKEY · 1963 ·
TÜBİTAK

doğa

TURKISH JOURNAL OF MEDICAL SCIENCES

TÜRK SAĞLIK BİLİMLERİ DERGİSİ

ISSN 1010 - 7584

VOLUME CİLT 14 NUMBER SAYI 4 1990

Doğa - Tr. J. of Medical Sciences
14 (1990), 626-631
© TÜBİTAK

TAVŞAN VE KOBAYLARDA DENEYSEL KOLESTEATOMA OLUŞTURULMASI İLE DIŞ KULAK YOLU EPİTELİ VE KULAK ZARINDA MEYDANA GELEN DEĞİŞİKLİKLER

Mehmet KOYUNCU, Osman AKDURUCAK, Esra BOLAT
Fırat üniversitesi, Tıp Fakültesi, K.B.B. Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE
Nursal METİN
Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE
Mustafa YILMAZ
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE
Erkan KARADAŞ
Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi 10/1/1989

ÖZET: *Çok katlı yassı epitelin orta kulak ve mastoidde toplanması olan kolesteatoma'nın etyopatogenezi henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Kolesteatoma oluşmasındaki çeşitli teoriler yanında eksternal inflamasyon son derece önemli rol oynar. Normalde dış kulak yolunda bulunan bakteri ve mantarlar bazı şartlarda enfeksiyon meydana getirmeden bu ortamda sürekli inflmasyon kaynağı olabilirler.*

Çalışmamızda dış kulak yolunda bulunabilen Staphylccoccus coag (-), Streptoccoccus pneumoniae gibi bakteriler ile Microsporum, Trichophyton, E.floccosum gibi mantarlar çeşitli işlemlerden sonra inaktive edilmişlerdir. İnflamasyon meydana getirebilecek şekilde hazırlanan solusyonlarından tavşan ve kobay kulak zararlarına gelecek şekilde dış kulak yoluna bırakılarak dış kulak yolu vazelinli pamukla kapatılmıştır. 3 hafta sonunda yapılan kesitlerin ışık mikroskopik incelemesinde dış kulak yolu sebepitelial tabakasında mononükleer hücre infiltrasyonu ile hiperemi, zarda hiperkeratoz ve kıvrımlar, zarın iç mukozal tabakasında amorf kitle gözlenmiştir. Çalışmamızda tam olarak kolesteotoma oluşmamasına rağmen kolesteatoma oluşumuna öncülük edebilecek bulgular dikkati çekmiştir.

Anahtar kelimeler: Kolesteatoma.

EXPERIMENTAL INDUCTION OF CHOLESTEATOMA IN RABBITS AND GUINEA PIGS; PATHOLOGIC CHANGES IN THE AUDITORY CANAL AND TYMPANIC MEMBRANE

ABSTRACT: *Cholesteatoma is the collection of the squamous epithelium in the middle ear and mastoid and its etiopathogenesis has not yet been firmly estabilished. Cholesteatomas may arise in the middle ear by a variety of mechanisms particularly external inflammation processes*

have an important effect. Some bacteria and fungi found in the external auditory canal may be permanent inflammatory source under some circumstances without causing any infection.

In our study, microorganisms such as Staphylococcus coag (-), Streptococcus pneumoniae, Microsporum, Trichophyton, E. floccosum that may be found in the external auiditory canal were inactivated after some treatment. Solution including these microorganism was dropped on the tympanic membrane through the external auditory canal and the canal was sealed off with cotton embeded vaseline. At the end of three weeks, the microscopic slides were prepared an examined under light microscope. Hyperaemia and slight inflitration of mononuclear cells in the subepithelial layer of the external auditory canal; hyperkeratosis and infoldings in the tympanic membrane and amorphous material on the mucosal layer of the tympanic membrane were observed. In our study, the cholesteatoma was not firmly induced but some interesting results which were concerned in cholesteatoma were noticed.

Key words: Cholesteatoma.

GİRİŞ

Keratinize çok katlı yassı epitelin orta kulak ve mastoidde toplanması manasına gelen kolesteatoma yaygın görülen bir orta kulak hastalığıdır (1,2). Uzun yıllardır kliniği ve patolojisi ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmasına rağmen patogenezi hakkında henüz fikir birliğine varılmamıştır. Etypatogenezinde bir taraftan dış kulak yolundaki yassı epitelin daha önce mevcut perforasyon yerinden orta kulağa yürümesi ve orada toplanması ileri sürülürken, diğer taraftan orta kulakdaki küboidal epitelin yassı epitel metaplazisine uğramasını savunanlar vardır. Bazı yazarlar da embriyonik epidermoid hücre artıklarının sonradan gelişmeğe başlamasını kolesteatoma oluşmasından sorumlu tutmaktadırlar (2).

Kolesteatoma oluşmasında üst solunum yolları obstruksiyonu, eksternal inflamasyon, herediter bozukluk, orta kulak havalanmasının azalması ve negatif basınç, cocuklukta geçirilen orta kulak boşluklarının enfeksiyonları gibi nedenler sorumlu tutulmuşlardır (1,3,4).

Bu çalışmada kulak zarı ve dış kulak yolunun zara yakın kısımları ışık mikroskobu ile incelenerek meydana gelen değişmeler ve kolesteatoma olgusuna götürebilecek bulgular araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmamız 4-5 aylık ve 3-3,5 kg ağırlığında Elazığ Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsünden alanan 10 adet tavşanın 20 kulağı ile yine 4-5 aylık ve 350-400 gram ağırlığında Karadeniz Üniversitesi Tıp Fakültesinden alınan 10 kobayın 20 kulağında yapılmıştır.

İnflamasyon oluşturmak için hazırlanan solusyonda bakteri olarak Staphylococcus Coag (-) ve Streptococcus pneumoniae kullanılırken, mantar olarak ise Microsporum, Trichophyton ve E. floccosum kullanılmıştır. Rutin kültürler sonucu üretilen mantarlar serum fizyolojik ile sulandırılmayı takiben 70°C yaklaşık 1 saat tutularak kısmi bir inaktivasyon sağlanmıştır (5). Kültürel sonucu elde edilen bakteriler ise Mac Farland sistemine göre sulandırılarak 10^9 germ/ml olacak şekilde hazırlanmıştır (6). Hazırlanan bu solusyonlar Microsporum, Trichophyton, E.floccosum ve Staphyloccus Coag (-) + Streptoccocus pneumoniae olarak ayrı gruplar halinde tavşan ve kobayların her kulağına ayrı grup solusyondan 0,5-1 ml olarak verildi. Bu solusyonların dışarı akışını engellemek için ise kulaklar vazelinli pumukla sıkıca kapatıldı. Gün aşırı olarak her kulağa daha önce tatbik edilen solusyonun aynısı olacak şekilde solusyonlar tekrar verildi ve bu işlem 3 hafta devam etti. Bu süre sonunda hayvanlar öldürüldü. Articulus atlantooccipitalis'den ayrılan kafalar % 10'luk formalin solusyonunda tespit edildikten sonra dekalsifiye edilerek dış kulak yolu kıkırdak kısmından itibaren dış kulak yolu cildi, orta kulak mukozası ve kulak zarını da içine alabilecek trimler yapıldı. Elde kedilen kesitlerden parafin bloklar hazırlandı. Bloklar 6 mikrona ayarlanmış mikrotomda kesilerek hematoksilen eozin ve keratin için Ayoub-Shklar boya metodu ile boyanıp ışık mikroskobunda incelendi (7).

BULGULAR

Çalışma grubumuzu oluşturan tavşan ve kobaylardan elde ettiğimiz bulgular toplu olarak değerlendirilmiş ve şekillenen olaylar arasında bir ayırım gözetilmemiştir. Gerek tavşan gerekse kobayların kulaklarına gün aşırı solusyonların verilmesini takiben 1.ci haftada otoskopik muayenede kulak zarlarında hafif kızarıklık dikkati çekmiş ancak hiç bir perforasyon görülmemiştir. 2 tavşan auricula cildinde belirgin enfeksiyon alması nedeniyle çalışma dışı bırakılmıştır.

Kesitlerin ışık mikroskobunda incelenmesinde; squamoz epitel ile örtülü olan dış kulak yolunda ileri derecede hiperkeratoz ile birlikte subepitelial tabakada mononukleer hücre infiltrasyonu dikkati çekmiştir (Şekil 1,2). Hiperkeratozun şekillendiği bölümlerde keratin koyu eozinofilik bantlar halinde hemen squamoz epitelin üstünde başlıyarak ince bir tabaka halinde gözlendiği gibi bazı bölümlerde yer yer kırılmalarla birlikte tabakalı bir görünümde almıştır. Olayların bir bölümünde keratin tabakasının hemen altındaki hücrelerde keratohyalin granülleri görülmüş ancak squamoz epiteli oluşturan hücrelerde dejenaratif olaylar gözlenmemiştir. Subepitelial tabakada şekillenmiş olan mononükleer hücre infiltrasyonu ise diffuz bir yayılım göstermiştir.



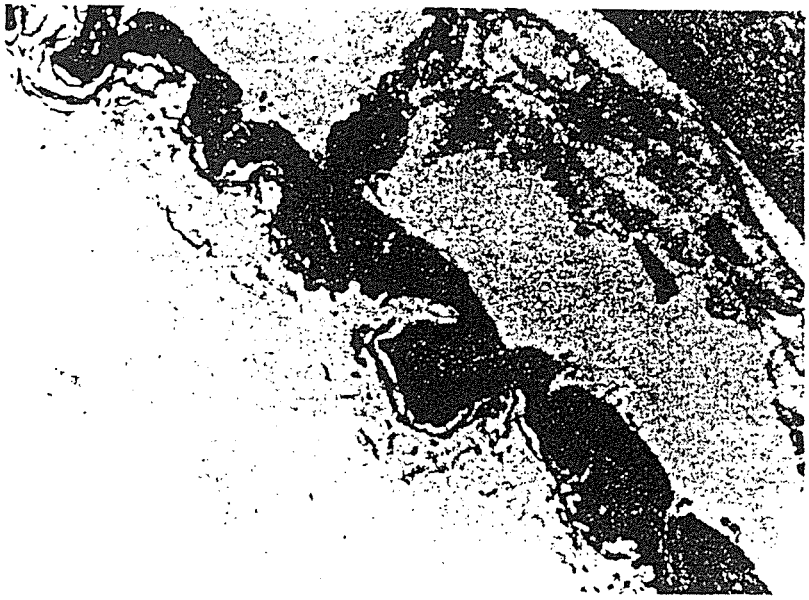
Şekil 1. Dış kulak yolu subepitelial tabakada mononukleer hücre infiltrasyon; H.E. x 264

— Dış kulak yolu epitelinin kulak zarına geçiş bölgesinde damarlarda hiperemi dikkati çekmiştir.

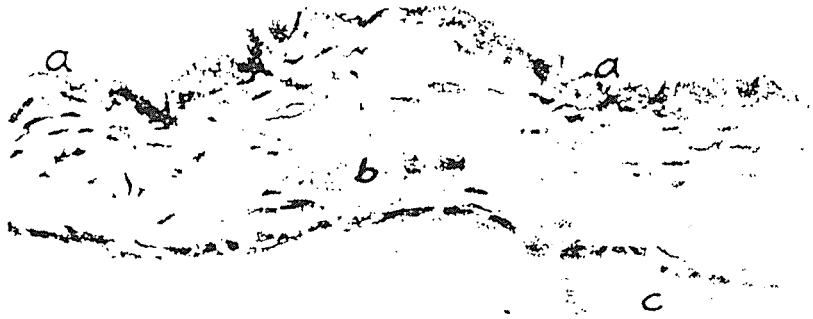
— Kulak zarında ise epitel (dış) tabakada hafif derecede hiperkeratoz ve kıvrımlar gözlenmiş olup eosinofilik yapılışdaki keratinde parçalanmalar dikkati çekmiştir. Bazal tabaka normal görünümünü korumuş ve herhangi bir proliferasyon göstermemiştir.

— Kulak zarı fibröz (orta) tabakasında damarlardaki hiperemi dışında hücresel ve vasküler reaksiyonlar gözlenmemiştir. Ancak bazı bölümlerinde mukozal (iç) tabakadan ayrılmalar dikkati çekmiştir.

— Kulak zarının mukozal (iç) tabakası normal görünüşte ve bütünlüğünü korumuştur. Ancak orta kulağa bakan yüzünde ona yapışık keratin içermeyen amorf bir kitle gözlenmiştir (Şekil 3). Ayrıca bir olayda da dış kulak yolunda squamoz epitel ile çevrili, içi yine amorf bir kitle ile dolu kistik bir oluşum gözlenmiştir (Şekil 4).



Şekil 2. Dış kulak yolu epitelinde hiperkeratoz; H.E. x 132



Şekil 3. Kulak zarında hiperkeratoz ve kıvrımlar (a), fibroz tabakada hiperemi (b) ve amorf kitle (c); H.E. x 529.2



Şekil 4. Kistik oluşum; H.E. x 80

TARTIŞMA

Kulak zarı dışda epidermal, ortada fibröz, içeride ise mukozal tabakadan oluşur. Kolesteatom oluşmasında konjenital, metaplazi ve migrasyon teorileri ile sürülmüş, ayrıca zarın invaginasyonuna bağlı kolesteatoma geliştiği de gösterilmiştir (1,8,12).

Kolesteatomların meydana gelmesinde inflamasyon en büyük nedenlerden biri olarak görülmektedir. Çalışmamızda inflamasyon meydana getirmek için kulak yolunun normal florasını oluşturan bakterileri ve mantarları seçtik. Mantarların inaktive edilmesi, Staphylococcus coag (-) ve Streptoccoccus pneumoniae'nin ise hayvanların dış kulak yolu ve zarlarında travma veya yırtılma olmaması nedeniyle enfeksiyon oluşturmaları çok zordur (13,14).

Bu tür hazırlanmış solusyonun kulak zarına ve dış kulak yoluna sürekli teması irritasyon ve inflamasyon meydana getirmiştir. 1. hafta sonunda yaptığımız kontrolde zarda kızarıklık görülmesi de bunun doğrular görüştedir.

Chole (15) 1985 yılında yaptığı çalışmada mongol gerbil'lerinin dış kulak yollarını ipekle bağladıktan sonra geniş kolestetomların geliştiğini görmüştür. Bunun dışında keratinize epitelin normale göre daha da kalınlaştığı, bazal laminanın yer yer incelerek kaybolduğu ve buradan keratinize epitelin içeri doğru büyüyerek subepitalyal tabakada mikrokolesteatomların meydana geldiğini göstermiştir. Daha önceleri de Friedman (16) kobaylarda otitis media sonucu mikroskolesteatoma meydana geldiğini göstermiştir. Steinbach ve Gruninger (17) irritan olmayan gelfoam, biolojik glue gibi maddeleri tavşan kulak zarları üzerine vererek epitelial tabakada büyüme, bazal hücre hiperplazisi ve pars flaccida'da mikrokolesteatoma; Lim ve Saunders (18) ise insan kolesteatomlarında lamina propria içine doğru proliferasyon gördüklerini makalelerinde belirtmişlerdir.

Galiè ve arkadaşları (19) 1985 yılında kobaylarda histoakril ile çalışma yapmışlardır. Histoakrili kulak zarı ve dış kulak yolu arka üst kısmına yerleştirmişlerdir. 3 hafta sonraki kesitlerde ışık mikroskobunda düzensiz ve kalınlaşmış yassı epitel, depresse olmuş zarla birlikte komşu konnektif doku içersine doğru invaze olan çok sayıda farklı yapılar görmüşlerdir. Vakuollerle dolu geniş hücreler içeren epitel hücre grupları dikkati çekmiştir.

Bizim yaptığımız çalışma sonucu ortaya çıkan bulgular, daha önceki yazarların çalışmalarında tespit ettikleri zarda oluşan mikrokolesteatoma veya orta kulakta oluşan makroskopik ve mikroskopik kolesteatoma gibi bulgular vermemiştir. Ancak Galiè'nin yaptığı çalışmaya uyumlu olarak kulak zarında kıvrımlar ve hiperkeretoz ile dış kulak yolunda mononükleer hücre infiltrasyonu ve hiperkeratoz görülmüştür. Ancak asıl reaksiyon özellikle dış kulak yolu ile kulak zarı birleşim yerlerinde dikkati çekmiştir. Klasik kitaplarda da kolesteatoma potansiyelinin en yüksek olduğu bölgeler bu birleşim yerleridir. Ayrıca kulak zarı iç mukozal tabakasına yapışık görülen amorf kitleler ile bir kesitte rastladığımız kistik oluşum yorumlamaya açık bırakılmıştır.

Tartışmasını yaptığımız bulgularımız ışık mikroskobu ile değerlendirilebilen bulgular olup, daha ayrıntılı çalışmalar için elektron mikroskopu kullanımının uygun olacağı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Nager, G.T.: Cholesteatoma of the middle ear: Pathogenesis and surgical indication. *Aesculapius Publishing Company, Birmingham, Alabama 212 - 232, 1977.*

2. Michaels, L., Path, F.R.C.: An epidermoid formation in the developing Middle ear: Possible source of cholesteatoma. The Journal of Otoloryngology *15: 169 - 174, 1986.*

3. Portmann, M.: The choice of techniques for the surgery of chronic otitis media with cholesteatoma. The Journal of Laryngology and Otology *99: 533 - 537, 1985.*

4. Amiri, C.S.: Hypothesis based on anatomical aberration and certain conditions responsible for cholesteatoma formation. *Aesculapius Publishing Company, Birmingham, Alabama, 204 - 207, 1977.*

5. Larone, D.H.: Medically important fungi. *Medical Depart. Harper 8 Row. New York. 115 - 122, 1976.*

6. Çetin, E.T.: Genel ve Pratik Mikrobiyoloji. *3. Baskı Serment Matbaası, İstanbul, 358 - 359, 386 - 388, 1973.*

7. Luna, L.G.: Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. *3 rd ed Mc Graw-Hill Book Comp. new York, 1968.*

8. Yamashita, T.: histology of the tympanic perforation and the replacement membrane. Acta Otolaryngol. *100: 67 - 71, 1985.*

9. Johnson, A., Hawke, M. An ultrastructural study of the skin of the tympanic membrane and external ear canal of the guinea pig. The Journal of Otolryngology. *14: 357 - 364, 1985.*

10. Johnson, A., Hawke, M.: The function of migratory epidermis in the healing of tympanic membrane perforations in guinea-pig. Acta Otolaryngol. *103: 81 - 86, 1987.*

11. Sade, J. Pathogenesis of attic cholesteatoma: The metaplasia theory. First international conference: *Aesculapius Publishing Company, Birmingham, Alabama. 212 - 232, 1977.*

12. Derlaki, E.L.: Etiological aspect in congental cholesteatoma. First International Conference: *Aesculapius Publishing Company, Birmingham, Alabama. 208 - 211, 1977.*

13. Stone, M., Fulghum, R.S.: Bactericidal activity of wet cerumen. Ann Otal Rhinol Laryngol. *93: 183 - 186, 1984.*

14. Brook, I.: Microbiological studies of the bacterial flora of the external auditory canal in children. Acta Otolaryngol. *91: 285 - 287, 1981.*

15. Chole, R.A.: Basal lamina breaks in the histogenesis of cholesteatoma. Laryngoscope 95: *270 - 275, 1985.*

16. Friedman, I. : The comperative pathology of otitis media-Exprimental and human II. The histopathology of experimental otitis of the guinea pig with particular reference to experimental cholesteatoma. J. Laryngol otol. *69: 588 - 601, 1955.*

17. Steinbach, E., Gruninger, G.: Experimental production of cholesteatomas in rabbits by using non-irritants. J. Laryngol. Otol. *94: 269 - 279, 1980.*

18. Lim, D.S., Saunders, W.H.: Acquired cholesteatoma: Light and electron microscopic observations. Ann otol Rhinol Laryngol. *81: 2 - 11, 1982.*

19. Galiè, M., Pohl, D., Steinbach, E.: The formation of ultrastructural epithelial and subepithelial connective tissue changes in experimentally induced cholesteatomas in guinea pigs. Archives of Oto-Rhino-Laryngology. *241: 267 - 270, 1985.*