



ARAŞTIRMA

MİDE İÇERİĞİNİN NEDEN OLDUĞU ÖSTAKİ HASARININ HİSTOPATOLOJİK ÖZELLİKLERİ NELERDİR ?

Dr. Tamara ARSLANTAŞ¹, Dr. Giray AYNALI², Dr. Mustafa TÜZ², Dr. Murat YARIKTAŞ², Dr. Hasan YASAN², Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN³, Dr. Mustafa DOĞAN²

¹Afyon Sandıklı Devlet Hastanesi, KBB Kliniği, Afyon, Türkiye ²Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, KBB BBC AD, Isparta, Türkiye ³Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji AD, Aydın, Türkiye

ÖZET

Amaç: Ekstraözefageal reflü kulakta östaki tüp hasarı yoluyla otitis mediaya neden olmaktadır. Bu çalışmanın amacı ratlarda deneysel reflünün neden olduğu östaki hasarının histopatolojik özelliklerini multifaktöryel olarak değerlendirmektir.

Yöntem: Toplam 19 albino rat HCl/Pepsin göre iki gruba ayrıldı. İnfüzyonları uygulayabilmek amacıyla ratların tümünün nazofarenksine polietilen tüpler yerleştirildi. Tüp yoluyla 7 gün boyunca gruplardan birine HCl/Pepsin diğerine Fosfat tamp. %0.9 NaCl uygulandı. Uygulamanın 7.'nci gününde tüm ratlar sakrifiye edildi. Ratların her iki kulaklarında ve östakinin nazofarenks ve timpanum bölgelerine ait kesitlerde, goblet hücre yoğunluğu, submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, submukozal bezlerdeki hasar, hipertrofi ve bağ doku artışı gruplar arasında karşılaştırıldı. Elde edilen değerler için gruplar arasındaki çoklu karşılaştırmalarda Mann-Whitney U, grup içindeki kulak (sağ/sol) ve bölgeye ('N'/'T') göre yapılan istatistiklerde yine non-parametrik Wilcoxon testi kullanıldı.

Bulgular: Östakinin nazofarenks ve timpanum bölgeleri, sağ ve sol kulaklar bütüncül olarak karşılaştırıldığında da, ayrı ayrı karşılaştırıldığında da iki grup arasında goblet hücre yoğunluğu açısından anlamlı bir fark yoktu. Diğer bütün parametreler ise HCL-pepsin verilen grupta kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksekti (submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, submukozal bezlerdeki hasar, bez hipertrofisi ve bağ doku artışı). Ayrıca bir çok inflamatuvar parametre nazofarenks bölgesinde timpanum bölgesine göre anlamlı olarak daha yüksekti.

Sonuç: Çalışmamız göstermiştir ki, deneysel olarak nazofarenkse ulaşan mide içeriği (HCL-pepsin) rat östakilerinde belirgin multifaktöryel histopatolojik değişikliklere neden olmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Gastroözefageal Reflü, Östaki Tüpü, Orta Kulak

WHAT ARE THE MULTIFACTORIAL HISTOPATHOLOGIC FEATURES OF EUSTACHIAN TUBE DAMAGE CAUSED BY CONTENTS OF THE STOMACH?

SUMMARY

Objective: The purpose of this study is to evaluate the histopathological characteristics of Eustachian tube damage caused by experimentally induced reflux in rats.

Methods: Total of 19 albino rats were divided into two groups according to being exposed to HCl/Pepsin and saline. Nasopharyngeal tube inserted to all rats through left nasal cavity for administration of HCl/Pepsin and saline. Five parameters were compared among the groups (goblet cell density, submucosal inflammatory cell infiltration, hypertrophy and depredation level of the submucosal glands and fibrous tissue proliferation) according to side of ear and nasopharyngeal or tympanic localization of Eustachian tube. Mann-Whitney U and Wilcoxon tests were used to compare the parameters.

Results: There was no difference with respect to goblet cell density between the groups. The other parameters were higher in HCL-pepsin group than control group (submucosal inflammatory tissue density, submucosal gland damage, submucosal gland hypertrophy and fibrous tissue proliferation). In addition, several inflammatory parameters were significantly higher in the nasopharynx localization compared to the timpanum localization.

Conclusion: In this study, we have shown that experimental contents of stomach (HCL-pepsin) which reached to nasopharynx cause significant multifactorial histopathological changes and harmless effects in Eustachian tube of rats.

Keywords: Gastroesophageal Reflux, Eustachian Tube, Middle Ear

GİRİŞ

Üst sindirim yolu farenks ile ilişki içerisinde ve bu nedenle gastroözofageal reflü (GÖR) içeriği, potansiyel olarak orofarenks, oral kavite, nazofarenks, sinonazal kavite, östaki, orta kulak, larinks ve trakeobronşiyal yapılara ulaşma yani ekstraözofageal reflü (EÖR) riskine sahiptir.

İletişim kurulacak yazar: Dr. Giray Aynali, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, KBB BBC AD, Isparta, Türkiye, E-mail: giraynali@yahoo.com

Gönderilme tarihi: 10 Ağustos 2012, revizyonun gönderildiği tarih: 18 Ekim 2012, yayın için kabul edilme tarihi: 05 Kasım 2012

Yemeklerden sonraki gastrik salgıların, yani reflü içeriğinin büyük kısmını HCl ve pepsin oluşturur.^{1,2} Klinik olarak bu hastalık sindirim sistemine ait bulgularla ortaya çıkabileceği gibi, alt ya da üst solunum sistemine ait bulgularla da ortaya çıkabilir.³ 2 yaşından küçük çocuklarda GÖR %20, kulak patolojileri %90 oranında görülebilmektedir.⁵ EÖR, özellikle çocuklarda östaki disfonksiyonu vasıtasıyla efüzyonlu otitis media (EOM)⁵⁻⁹ ve rekürren otitis



media (ROM)^{10,11} için olası bir predispozan faktör olarak bildirilmektedir.

Bu çalışmada, HCl-pepsin uygulanarak deneysel olarak oluşturulmuş EÖR'si olan ratların östaki histopatolojileri incelenerek, reflünün östaki üzerine akut dönemdeki etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

HASTALAR VE YÖNTEM

Bu çalışma esnasında 5199 numaralı "Hayvanları Koruma Kanunu"ve Helsinki Nihai Senedi (1986)'nin deney hayvanları ile ilgili maddelerine uyuldu (Etik kurul onayı 23.05.2008/03/01). Çalışmada, ağırlıkları 300-340 gram arasında değişen, sağlıklı, timpanogram ve otomikroskopileri olağan olarak izlenen, yirmi adet Wistar tipi albino rat alınarak, onarlı iki gruba ayrıldı. Sıçanlar çalışma boyunca, ayrı kafeslerde, 12 saat

aydınlık - 12 saat karanlıkta, 21-22 0 sıcaklıkta, serbest yemek ve su alabildikleri bir ortamda barındırıldı.

Tüm ratlara nazofarenkse ilaç infüzyonu uygulamak amacıyla Ketamin+ Xylazin (90/10 mg IP) anestezisi altında 0.8 mm çapında polietilen tüpler uygulandı. Öncelikle nazal kemiklerin orta hattındaki cilde insizyonla girildi. Tüpler cilt altından ilerletilerek sol nazal kaviteye bir uçları nazofarenkse gelecek şekilde tek taraflı olarak implante edildi ve sütürlenerek sabitlendi. Transoral olarak tüp ucunun yumuşak damağı geçtiği ve ET ağzının 4 mm yakınına ulaştığı izlendi. Post-operatif 1.'nci haftada otomikroskopi, timpanogram yenilenerek, değerleri normal olmayan ratlar çalışma dışı bırakıldı.

Daha sonra sırasıyla gruplara şu uygulamalar yapıldı (Tablo 1);

Tablo 1: Gruplardaki ratlara yapılan uygulamalar, n; uygulamalar sonrası histopatolojik incelemeye alınan rat sayısı

Gruplar	Grup 1	Grup 2
	Kontrol	Reflü
Nazal polietilen tüp tatbiki	+	+
Fosfat tamp. %0.9	+	-
NaCl uygulama		
HCl+ Pepsin uygulaması	-	+
n	10	9



Grup 1: Fosfat tamponlu % 0.9 NaCl günde iki kez polietilen tüp infüzyonu yolu ile 2x20 dk/gün şeklinde ve 1 ml/ sa hızında 7 gün süre ile nazofarenkse infüze edildi.

Grup 2: Yapay gastrik sıvı 0.01HCl/ 0.5 mg/ml Pepsin 2x20 dk/ gün şeklinde 7 gün süre ile 1 ml/ sa şeklinde infüzyon ile nazofarenkse uygulandı.

Uygulamanın 7. gününde tüm ratlara Ketamin+ Xylazin (90/10 mg İP) anestezisi altında timpanogram ve otomikroskopi uygulandı, değerler kaydedildi ve ardından ratlar dekapite edildi. Tümünün bilateral timpanik bulla ve östaki örnekleri, %4'lük paraformaldehit solüsyonunun sol kardiyak ventriküle verilmesi ile perfüzyon fiksasyon yöntemi uygulanarak hayvan fiske edildikten sonra çıkarıldı. Örnekler %4'lük paraformaldehit solüsyonunda en az 24 saat süreyle fikse edildi. Dokudaki kemik yapılarının yumuşatılması için fiksatiften alınan dokular %10'luk formik asit çözeltisinde 12 saat boyunca dekalsifiye edildi. Ardından 12 saat akan suda yıkama işlemine tabi tutulduktan sonrasında dehidratasyon, şeffaflaştırma, emdirmeye ve gömme işlemlerden geçirildi.

Gömme işleminden önce örnekler östaki bulladan timpanik orifis korunacak şekilde bistüri ile ayrıldı. Takip işlemine alınmadan önce östakinin nazofarengeal ve timpanik orifisi incelenmek üzere örnekler östaki uzun aksına dik olarak ikiye bölündü. Her kulak için nazofarengeal ostium komşuluğundan (N)ve timpanik kavite ostium komşuluğundan (T) olmak üzere iki parafin blok hazırlandı. Hazırlanan parafin bloklardan, Leica tipi kızaklı mikrotom kullanılarak 4-5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Histolojik değerlendirme için preparatlar Hematoksilen- Eozin (HE) ve Periodik Asit Schiff (PAS) boyaları ile boyandı. Boyanan örnekler Olympus BX50 tipi binoküler mikroskopta incelendi ve fotoğraflar elde edilerek değerlendirildi.

Elde edilen dokular submukozal doku inflamatuvar hücre infiltrasyonu, submukozal bez hasarı ve hipertrofisi ve bağ dokusu artışı açısından 4 ana patoloji ele alınarak değerlendirildi. Değerlendirmede her bir preparata yukarıdaki sözü edilen parametreler doğrultusunda (yok, hafif, orta ve şiddetli olmak üzere) sırasıyla 0'dan 3'e kadar puanlandı ve doku hasarı skorlandı. Mikroskopik değerlendirmeler 3 histolog tarafından birbirinden ve hangi hayvanın preparatını incelediğinden habersiz olarak (körlemesine) yapıldı. Ayrıca oküler mikrometresi olan mikroskopta non-keratinize skuamöz epitelin tüm östaki epiteline olan oranı belirlendi. Yalancı çok katlı mukosilyer epitelin

uzunluğu ölçülerek goblet hücreleri sayıldı. Elde edilen sayı epitelin 1 mm'sindeki sayıya oranlandı. Bu değer çalışmada araştırılan 5. parametre idi. Östakiye ait histolojik materyaller aşağıdaki parametrelere göre değerlendirildi;

A- Goblet hücre yoğunluğu (ET'nin 1 mm'sinde sayı olarak 0-20 (1), 21-40 (2), 41-60 (3), 61-80 (4), 81-100 (5), 100'ün üstü (6))

B- Submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu düzeyi (0- yok, 1- minimal, 2-orta, 3-şiddetli) C- Submukozal sero-müsinöz bezlerin hasar düzeyi (0- yok, 1- minimal, 2-orta, 3-şiddetli) D- Submukozal sero-müsinöz bezlerin hipertrofi düzeyi (0- yok, 1- minimal, 2-orta, 3-şiddetli) E- Bağ dokusu artışı düzeyi (0- yok, 1- minimal, 2-orta, 3-şiddetli)

Elde edilen değerler için gruplar arasındaki çoklu karşılaştırmalarda Mann-Whitney U, grup içindeki kulak (sağ/sol) ve bölgeye ('N/' 'T') göre yapılan istatistiklerde yine non-parametrik Wilcoxon testi kullanıldı.

BULGULAR

Ratlar tüp uygulanmasının ardından 1 hafta süre ile herhangi bir işlem yapılmadan takip edildiler. 1. haftanın sonunda timpanogram ve otomikroskopiler tekrarlanarak bütün ratlar için normal olarak değerlendirildi. Ratlardan 10'u Grup 1, 10'u da Grup 2'ye dahil edildi. Grup 2'deki 1 adet ratta % 20'yi aşan ağırlık kaybı tespit edilerek çalışma dışına alındı (Tablo 1).

Uygulamanın 7.'nci gününde tüm ratlar dekapite edildi. Histolojik çalışmamız sonuç olarak 19 rat üzerinde gerçekleştirildi. Her rattan iki kulak için ve östakinin "T" ve "N" bölgelerinden olmak üzere 4 adet histolojik materyal çalışıldı. Toplam olarak 76 materyal incelendi.

Östakinin "N" ve "T" bölgeleri, sağ ve sol kulaklar ayırt edilmeksizin iki grup arasında bütün olarak karşılaştırıldığında da, ayrı ayrı da karşılaştırıldığında da iki grup arasında goblet hücre yoğunluğu dışındaki değerlendirilen bütün parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p<0.05). "N" ve "T" bölgeleri, sağ ve sol kulaklar ayırt edilmeksizin iki grup arasında bütün olarak karşılaştırıldığında da, ayrı ayrı da karşılaştırıldığında da iki grup arasında goblet hücre yoğunluğu açısından bir fark yoktu. HCL-pepsin verilen grupta bunun dışındaki bütün parametreler belirgin olarak daha yüksekti (goblet hücre yoğunluğu, submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, submukozal bezlerdeki hasar, hipertrofi ve bağ doku artışı) (Tablo 2).



Aynı grup içinde yapılan karşılaştırmalarda Grup 2'de submukozal inflamatuvar hücre parametresinde hem sağ ve sol kulaklar arası karşılaştırmada ve hem de "N" ve "T" bölgeleri arası karşılaştırmada bir fark yoktu. Goblet hücre yoğunluğu açısından sağ ile sol arasında bir fark

bulunmazken "N" bölgesinde "T" bölgesine göre anlamlı olarak daha yüksekti. Bunun dışında bütün parametreler heriki grupta sol kulakta (sağa oranla) ve "N" bölgesinde ("T" bölgesine oranla) anlamlı olarak daha yüksekti. (Tablo 3).

Tablo 2: Gruplar arasında sağ ve sol kulaklara göre, "N" ve "T" bölgelerine göre ve bölge-yön gözetmeksizin (toplam) submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, bez hasarı, bez hipertrofisi, bağ doku artışı ve goblet hücre yoğunluğu parametrelerinin karşılaştırılması ($p < 0.05$ anlamlı)

	Grup1 <-> Grup 2				
	Sağ	Sol	N	T	Toplam
İnflamatuvar hücre	0(0-1) <-> 2(0-3)	0(0-1) <-> 2(1-3)	0(0-1) <-> 1,5(0-3)	0(0-1) <-> 2(0-3)	0(0-1) <-> 2(0-3)
İnfiltrasyonu	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$
Submukozal bez hasarı	0(0-2) <-> 1(0-2)	0(0-2) <-> 1(0-2)	0(0-2) <-> 1(0-2)	0(0-2) <-> 1(0-2)	0(0-2) <-> 1(0-2)
Submukozal bez hipertrofisi	$p = 0.004$	$p = 0.013$	$p = 0.002$	$p = 0.021$	$p < 0.001$
Bağ doku artışı	0(0-2) <-> 1(0-1)	0(0-2) <-> 1(0-2)	0(0-2) <-> 1(0-2)	0(0-2) <-> 1(0-1)	0(0-2) <-> 1(0-2)
Goblet hücre yoğunluğu	$p = 0.044$	$p = 0.031$	$p = 0.030$	$p = 0.040$	$p = 0.030$
	0(0-2) <-> 1(0-2)	0(0-1) <-> 1(0-3)	0(0-1) <-> 1(0-3)	0(0-2) <-> 1(0-2)	0(0-2) <-> 1(0-3)
	$p = 0.011$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$
	2,5(1-5) <-> 3(1-5)	3(1-5) <-> 3(1-5)	4(2-5) <-> 4(3-5)	2(1-4) <-> 2(1-4)	3(1-5) <-> 3(1-5)
	$p = 1.000$	$p = 0.573$	$p = 0.496$	$p = 0.806$	$p = 0.480$

Tablo 3: Aynı grup içinde sağ-sol kulaklar arasında ve "N" "T" bölgeleri arasında submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, bez hasarı, bez hipertrofisi, bağ doku artışı ve goblet hücre yoğunluğu parametrelerinin karşılaştırmalı test sonuçları ($p < 0.05$ anlamlı) (Betimleyici değerler Tablo 2'de sunulmuştur.)

p değeri	Grup1		Grup 2	
	Sağ <-> Sol	Sağ <-> Sol	N <-> T	N <-> T
Submukozal inflamatuvar hücre	$p < 0.001$	$p = 0.162$	$p < 0.001$	$p = 0.108$
İnfiltrasyonu				
Submukozal bez hasarı	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$
Submukozal bez hipertrofisi	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$
Bağ doku artışı	$p < 0.001$	$p = 0.019$	$p < 0.001$	$p = 0.029$
Goblet hücre yoğunluğu	$p = 0.494$	$p = 0.952$	$p < 0.001$	$p = 0.001$



TARTIŞMA

EÖR, östaki fonksiyonlarını olumsuz olarak etkileyen bir faktördür. Literatürde östaki ve orta kulaktaki hastalıklar (EOM, ROM) ile gastrik reflü bağlantısını araştıran çalışmalar vardır. EOM'li hastaların kulak efüzyon mayiinde pepsin/pepsinojenin veya *Helicobacter pilori* bakterisinin varlığının saptanması, GÖR tanısının konması^{10,12-15}, GÖR öyküsü olan hastalarda orta kulak patolojilerinin ortaya konması¹⁰, gastrik mayii verilerek veya cerrahi ile deneysel olarak reflü oluşturulan hayvan modellerinde östaki disfonksiyonunun veya EOM'nin oluştuğunun gösterilmesi^{5,16,17} bu ilişkiyi açıkça ortaya koymaktadır. Fakat bütün bu çalışmalar ilişkiyi klinik muayeneler ve tetkikler yanında çeşitli testlerle veya bazı hücresel çalışmalarla göstermelerine rağmen literatürde östaki hasarı temelindeki histopatolojik değişiklikleri özellikle de “N” ve “T” bölgeleri için çok parametrelili rapor etmiş bir çalışma yoktur. Biz bu çalışmada çok parametrelili histopatolojik inceleme ile reflünün neden olduğu östaki hasarının histopatolojik özelliklerini multifaktöriyel olarak ortaya koymayı hedefledik.

Çalışmamızda David White ve ark.'nın⁵ tanımladığı modelde olduğu gibi sol nazal kaviteden nazofarenkse kadar uzanan polietilen tüp vasıtasıyla tekrarlayan nazofarengeal HCl ve pepsin (0.01ml HCl içinde 0.05 mg/mL pepsini, 20 dakikada ve günde üç kez infüze ederek) uygulayarak deneysel gastrik reflü oluşturduk. Östakideki erken dönem histopatolojik değişiklikleri değerlendirdik. Aside maruz bırakılan ratları uzun süre yaşatamayacağımızı düşünerek çalışmamızı sadece erken dönemle (1 hafta) sınırlı tuttuk.

Östaki epitel nazofarenksteki psödostratifiye mukosilier epitele benzer şekilde goblet hücreleri, silialı ve silialı olmayan hücreler ve bazal membran üzerindeki bazal hücrelerden oluşur. Mukosilier epitel östakinin tabanında yer alır ve nazofarenkse doğru gidildikçe kapladığı alan genişler. Tüpün çatısına gidildikçe ise yoğunluğu azalır. Tüpün çatısını keratinize olmayan skuamöz epitel kaplar ve timpanik kaviteye doğru gidildikçe kapladığı alan artar.¹⁸⁻²⁰ Biz de çalışmamız esnasında yaptığımız değerlendirmede ratların östakilerinde mukosilier epitelin kapladığı alanın ve goblet hücre yoğunluğunun timpanik orifis düzeyinde nazofarengeal orifise göre daha az olduğunu tespit ettik.

Çalışmalar akut otitis media (AOM) atağı sırasında erken dönemde goblet hücrelerinin hacim

olarak küçük olduğunu ve sayılarının değişmediğini (4. ve 8. günlerde) östaki tıkanıklığı da mevcut ise orta kulağın medial duvarında ve östakinin timpanik bölgesinde goblet hücre sayısında ve anormal müköz bez oluşumunda geç dönemde belirgin bir artış saptandığını göstermişlerdir.^{21,22} Enfeksiyona sekonder olarak östakide ortaya çıkan histopatolojik değişiklikler açısından düşünüldüğünde inflamatuvar süreçte etkili olan mediatörler enfeksiyon ve gastrik reflünün sonucunda gelişen enflamasyon için ortaktır.^{16,23,24} Enfeksiyondan farklı olarak ilk aşamada gastrik sıvı ile mukozanın direkt temasının ardından gastrik sıvının düşük pH'sının etkisi ile silia stazı oluşmakta; pepsinin proteolitik etkisi ve aside bağlı olarak da ödem ve inflamasyon ile kendini gösteren doku hasarı gelişmektedir. Böylelikle mukosilier klirens bozukluğu ve östaki inflamasyonunun tetiklediği orta kulağın ventilasyon bozukluğu ortaya çıkmaktadır.^{5,16} Caye- Thomasen ve Tos²⁵ AOM'de bakteri türlerine göre östakiye ait bezlerdeki değişikliklerin incelendiği çalışmalarında bakterinin türünden bağımsız olarak goblet hücre dansitesinin 6 aya kadar arttığı saptamışlardır.

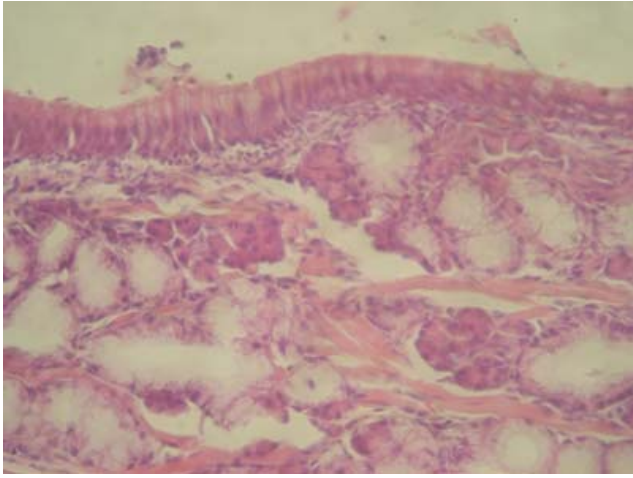
Caye- Thomasen ve Tos'un²² enfeksiyona sekonder olarak timpanik orifisi düzeyinde izledikleri mukus glikoproteinlerinin goblet hücre sitoplazmalarında birikimi ile oluşan kupa şeklindeki goblet hücrelerini çalışmamızda biz de saptadık ve bu kesitlerde mukosiliyer epiteldeki goblet hücre yoğunluğunun arttığını izledik ancak, onlardan farklı olarak reflü olan veya olmayan ratların hiç birinde östaki çatısı düzeyinde patolojik goblet hücrelerine rastlamadık. Diğer bir çalışmada reflü oluşturulan ratların östakilerinde ilk hafta goblet hücrelerin değişmediği, ikinci haftadan itibaren artmaya başladığı bildirilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada nazofarengeal orifis düzeyinde daha belirgin polimorfonükleer ve lenfosit infiltrasyonu saptanmıştır.¹⁶ Çalışmamızda gastrik sıvı uygulaması 1 hafta sürdürülmüş ve bu erken dönemde nazofarengeal ve timpanik orifisler ve sağ/sol kulaklar kıyaslandığında goblet hücre sayısı açısından iki grup arasında fark saptanmamıştır (Tablo 2).

Submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, sero-müsünöz bez hasarı, bez hipertrofisi ve bağ doku artışı açısından kontrol grubu ile kıyaslandığında deney grubunda bu parametrelerin tümü anlamlı olarak daha yüksekti (Tablo 2)(Resim 1,2).

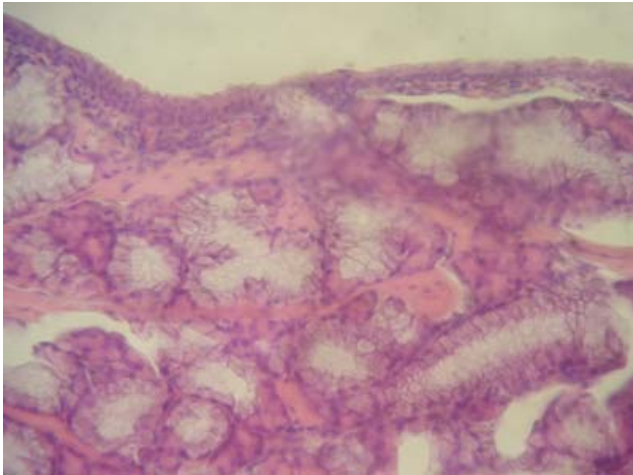
Caye Thomasen ve Mirko Tos'un²⁵ daha sonraki yıllarda AOM'de bakteri türlerine göre östakideki bez dokusu değişiklikleri üzerine



yaptıkları çalışmalarında: submukozal bezlerde, 4. günde hacim artışının başladığını ve 16. günde pik yaptığını, daha sonraki dönemde bir miktar normale dönüş olmasına karşın hipertrofinin 3. aya kadar devam ettiğini tespit etmişlerdir. Bu artışta primer olarak bezlerin müköz komponentinin hipertrofinin etkili olduğu ifade edilmektedir. Bu araştırma ile AOM sonucunda östakinin aşırı artmış olan salgı kapasitesinin östaki fonksiyonunu bozarak orta kulağın hastalığını kötüleştirdiği sonucuna varılmıştır. Bizim de reflü oluşturulan çalışmamızda, AOM'de olana benzer şekilde 7. günde HCl-pepsin grubunda paratubal (submukozal) bezlerde daha yüksek oranda hipertrofi izlendi.



Resim 1: Grup 1'teki bir ratın sağ kulak 'N' bölgesinde submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, submukozal bez hipertrofisi ve bağ doku artışı (PASx 40)



Resim 2: Grup 2'teki bir ratın sağ kulak 'N' bölgesinde bez hasarı ve daha belirgin submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, submukozal bez hipertrofisi ve bağ doku artışı (PASx 40)

Grup içinde sağ ve sol kulaklar kıyaslandığında heriki grupta goblet hücre yoğunluğu ve HCl-pepsin grubunda submukozal hücre infiltrasyonu dışındaki bütün parametrelerin sol kulakta daha yüksek olması, uygulamaların sol nazal kavitedeki polietilen tüpten yapılmasından kaynaklandığı düşünüldü. Ancak HCl-pepsin grubunda sağ kulakta da soldakine yakın düzeyde submukozal inflamasyon saptanması Sudhoff'un²⁶ 'bir kulağa ulaşan mide içeriği genellikle diğer kulağa da ulaşmaktadır' hipotezini doğrulamaktadır.

Grup içinde aynı kulak için "N" ve "T" bölgeleri kıyaslandığında HCl-pepsin grubunda submukozal inflamatuvar hücre yoğunluğu dışındaki bütün parametreler heriki grupta "N" bölgesinde "T" bölgesine göre anlamlı olarak daha yüksekti (Tablo 3). Bu sonuçlar bize östakinin nazofarengeal orifisine oranla timpanik orifis bölgesinin gastrik reflüye daha az maruz kaldığını göstermiştir. Sudhoff 26 çalışmasında larinksinde gastrik reflü saptadığı deneklerin tümünün östaki ve timpanik kavitesinde de asit saptamıştır. Bizim çalışmamızda da deney grubunun "T" bölgesinde kontrol grubunun "T" bölgesine oranla parametrelerin daha yüksek bulunması ve her iki grubun "N" bölgesinde parametrelerin "T" bölgesinden daha yüksek bulunması "N" bölgesi kadar olmasa da "T" bölgesinde de asit maruziyetinin olduğunu göstermektedir.

SONUÇ

Sonuç olarak deneysel olarak oluşturulan reflü ratlarda erken dönemde bile submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, bez hasarı, bez hipertrofisi, bağ doku artışı gibi birçok faktörde meydana getirdiği olumsuz değişiklikler ile östaki yapısını bozmaktadır. Bu da östaki disfonksiyonu ve efüzyon başta olmak üzere orta kulak hastalıklarına zemin hazırlıyor olabilir. Bu bilgi klinik çalışmalardan elde edilen bilgi ile örtüştürüldüğünde kronik ve rekürren kulak hastalıklarında zeminde reflünün de olabileceği ve reflülü hastalarda özellikle çocuklarda orta kulak patolojileri açısından takibin önemi ortaya çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Karahatay S, Akçam T, Gerek M, Tosun F, Özkaptan Y. Larengofarengeal Reflü Hastalığı Tanısında 24 Saatlik Ph Takip Testi Gerekli Midir? T Klin KBB 2002;2:140-147.
2. Blumin JH, Merati AL, Toohill RJ. Duodenogastroesophageal reflux and its effect on extraesophageal tissues: a review. Ear Nose Throat J. 2008;87(4):234-7.
3. Yılmaz Ö, Kasırga E, Yüksel H. [Gastroesophageal reflux disease during childhood]. T Klin J Pediatr 2006;15:66-72.



4. Schreiber S, Garten D, Sudhoff H. Pathophysiological mechanisms of extraesophageal reflux in otolaryngeal disorders. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2009;266(1):17-24.
5. White DR, Heavner SB, Hardy SM, Prazma J. Gastroesophageal reflux and Eustachian tube dysfunction in an animal model. *Laryngoscope* 2002;112(6): 955-61.
6. Serra A, Cocuzza S, Poli G, La Mantia I, Messine A, Pevone P. Otologic findings in children with gastroesophageal reflux. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2007;71(11):1693-7.
7. Gibson WS Jr, Cochran W. Otolgia in infants and children--a manifestation of gastroesophageal reflux. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1994;28(2-3):213-8.
8. Keleş B, Oztürk K, Günel E, Arbağ H, Ozer B. Pharyngeal reflux in children with chronic otitis media with effusion. *Acta Otolaryngol.* 2004;124(10):1178-81.
9. Velepici M, Rozmanic V, Velepici M, Bonifacic M. Gastroesophageal reflux, allergy and chronic tubotympanic disorders in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2000;55(3):187-90.
10. Sone M, Yamamuro Y, Hayashi H, Yanagi E, Niwa Y, Nakashima T. Prediction of gastroesophageal reflux in otitis media with effusion in adults. *Acta Oto-Laryngologica* 2007;127(5):470-3.
11. Sade J. Middle ear mucosa. *Arch Oto-Laryngologica* 1966;84(2):137-43.
12. Tasker A, Dettmar PW, Panetti M, Koufman JA. Is gastric reflux a cause of otitis media with effusion in children? *Laryngoscope* 2002;112(11):1930-4.
13. Crapko MBA, Kerschner JE. MD, Syring, MBA, Johnston N. PhD. Role of extraesophageal reflux in chronic otitis media with effusion. *Laryngoscope* 2007; 117(8):1419-23.
14. Tasker A, Dettmar PW, Panetti M, Koufman JA, Birchall JP, Pearson JP: Reflux of gastric juice and glue ear in children. *Lancet* 2002;359(9305): 493.
15. He Z , O'Reilly RC, Bolling LBS, Soundar S. Detection of gastric pepsin in middle ear fluid of children with otitis media. *Otolaryngol Head and Neck Surg* 2007; 137(1):59-64.
16. Yazici ZM, Sari M, Uneri C, Midi A, Tugtepe H. Histologic changes in eustachian tube mucosa of rats after exposure to gastric reflux. *Laryngoscope* 2008;118(5):849-53.
17. Heavner SB, Hardy SM, White DR. Function of eustachian tube after weekly exposure to pepsin/ hydrochloric acid. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;125(3):123-9.
18. Tos M, Bak-Pedersen K. Goblet cell population in the normal middle ear and Eustachian tube of children and adults. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1976;85(2):44-50.
19. Albiin N, Hellström S, Salen B. The Anatomy of the Eustachian tube in the rat: A macro- and microscopical study. *Anatomical Record* 1983;207(3):513-21.
20. Lee IW, Goh EK, Roh HJ, Lee CH, Chung BJ, Chon KM.. Histologic changes in the eustachian tube mucosa of rats after short- term exposure to cigarette smoke. *Otol Neurotol* 2006 27(3):433-40.
21. Matsune S, Sando I. Distributions of eustachian tube goblet cells and glands in children with and without otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1992;101(9):750-4.
22. Caye-Thomasen P, Tos M. Eustachian tube Goblet cell density during and after acute otitis media caused by *Streptococcus pneumoniae*: A morphometric analysis. *Otol Neurotol* 2003; 24(3):365-70.
23. Skoner D. Complications of allergic rhinitis. *J Allergy and Clin Immunol* 2000;105(6), 605-9.
24. Rhee CK, Jang YJ, Jeong PS. The effects of leukotriene and its inhibitor on the mucociliary clearance of the eustachian tube in guinea pig. Thomasen, Tos, Belle Eds. *Otitis Media Today*, Kugler publications, 1999:199-203.
25. Caye-Thomasen P, Tos M. Eustachian tube gland tissue changes are related to bacterial species in acute otitis media. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2004;68(1):101-10.
26. Sudhoff H, Bücken R, Groll C, Shagdarsuren S, Dazert S, Schreiber S. Tracing of gastric reflux into the middle ear in a mongolian gerbil model. *Otol Neurotol* 2007;28(1):124-8.