

TRAVMATİK ZAR PERFORASYONLARINDA HYALURONİK ASİT (DENEYSEL ÇALIŞMA)

İrfan Yorulmaz* Alp Demireller** Gürsel Dursun* Tevfik Aktürk**
Canan Akbay*** Nurşen Sayın***

Çeşitli nedenlerle oluşan kulak zarı perforasyonlarına pratikte sıklıkla rastlanır. Perforasyonun nedeni akut veya kronik otitis mediada olduğu gibi bir orta kulak patolojisine veya travmaya bağlı olabilir. Travmatik ve akut otitis mediaya bağlı perforasyonların çoğu spontan iyileşir; ancak bazıları cerrahi yöntemlerle onarımı gerektirecek şekilde devamlılık gösterir. Miringoplastide kulak zarındaki perforasyon genellikle bir doku transplantı ile onarılır. Miringoplasti ile başarılı perforasyon tamarine rağmen, sıklıkla kulak zarının yapısı değişir. Perforasyonun kapanmasına rağmen, gelişen skar dokusu ve greft olarak kullanılan materyalin cinsine göre işitme kaybı da devam edebilir. Onarılan kulak zarının yapı ve fonksiyon yönünden daha iyi kalitede olması için yeni tedavi metodları üzerinde çalışılmaktadır. Böyle bir alternatif metod aynı zamanda cerrahi girişim, hospitalizasyon ve hastanın iyileşme sürelerini de kısaltacaktır (1, 2,4-7).

Travmatik zar perforasyonlarında genellikle spontan iyileşme, yara kenarlarında hemen gelişen eksudasyonla başlar. Eksuda altta yatan dokuyu koruduğu ve lokal dehidratasyonu önlediği gibi, epitel migrasyonu ve iyileşme için uygun bir ortam da sağlar. Birkaç gün içinde perforasyon kenarlarında keratin yapımı ile birlikte zarın dış skuamoz epitelinde proliferasyon başlar. Oluşan keratin hem perforasyonun merkezine doğru ilerleyerek iyileşmenin yönünü belirler, hem de defektin kapanmasını sağlayan ilk tabakayı oluşturur. Bunu, keratin tabakasının rehberliğinde destek bağ dokusu üzerinde ilerleyen epitel hücrelerin karşılıklı birleşmesi izler (5,7).

* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi K.B.B. Anabilim Dalı, Uzman Dr.

** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi K.B.B. Anabilim Dalı, Öğretim Üyesi

*** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı, Öğr. Üyesi

Yeni travmatik perforasyonlarda amaç, en kısa sürede bu iyileşme sürecinin tamamlanması ve fibröz tabakasında minimal skatris dokusunun oluştuğu normal yapı ve fonksiyonda bir zar elde edilmesidir. Organizmada bağ dokusu ekstrasellüler matriks elemanı olarak bulunan ve oftalmolojide sık kullanılan Hyaluronan (Hyaluronik asit)'ten, bu amaca yönelik olarak otolojide de yararlanılmaya başlanmıştır. Hyaluronik asit (HA), N-asetilglukozamin ve glukronik asit içeren disakkaridlerden oluşan ağır moleküllü bir poolisakkarid dir. Organizmada bağ dokusu matriksinin organizasyonunda fizyolojik rolü bulunduğundan, zar perforasyonlarında da iyileşmeye katkısını beklemek mantıklıdır (1,3,7).

Standart olarak oluşturulan kulak zarı perforasyonlarının otomikroskop ile in-vivo ve ışık mikroskopisi ile histolojik olarak değerlendirilmesi için kobay, iyi bir hayvan modelidir. İnsanlarda olduğu gibi kobaylarda da kulak zarı, iki epitel tabakası arasında çoğunluğu radial liflerden meydana gelen fibröz tabakada oluşur; aradaki fark insanda kulak zarının 60-90 μm , kobaylarda ise 5-6 μm kalınlıkta olmasıdır. Hayvan modelinde yapılan bu deneysel çalışmanın amacı, HA'nın travmatik zar perforasyonlarında iyileşmeye etkisini değerlendirmektir.

MATERYAL VE METOD

Çalışma 200 - 250 gr ağırlıkta 10 albino kobayın 20 kulak zarında yapıldı. Kobaylara 50 mg/m² intramusküler Ketamin hidroklorür anestezi uygulandı ve otomikroskop altında dış kulak yolundan her iki kulak zarının arka-üst kadranlarının tamamını içerecek şekilde miringotomi yapıldı. Kobayların sağ kulak zarları deney grubu, sol kulak zarları kontrol grubu olarak çalışmaya alındı. Anestezi etkisi altında sağ kulak zarlarında oluşturulan perforasyon % 1'lik HA solüsyonu (Healon^R Pharmacia AB, Uppsala, Sweden, 1 % Hyaluronan) ile kaplanarak işleme son verildi. Deney grubundaki kulak zarlarında perforasyona % 1'lik HA solüsyonu uygulaması 24 saatte bir tekrarlandı ve bütün perforasyonlar kapanmanın değerlendirilmesi için hergün otomikroskop altında incelendi. % 1'lik HA solüsyonu uygulamasına perforasyonun tamamen kapanmasına kadar devam edildi.

Kobaylar perforasyonun kapanmasını takiben bir ay süreyle yaşatıldı, bu sürenin sonunda dekapite edildi ve temporal kemikleri çıkartıldı. % 10'luk Formalin'de 24 saat fikse edilen temporal kemiklere

20 gün süreyle % 5'lik nitrik asitte dekalsifikasyon uygulandı. Dekalsifiye temporal kemiklerden timpanik halka ile birlikte kulak zarları diseke edildi, dereceli alkollerde dehidratasyon parafin bloklara gömüldü. 5 mm kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyandı ve Zeiss fotomikroskop ile fotoğraflar elde edildi.

Deney ve kontrol gruplarında perforasyonların kapanma süreleri ile zarlardaki histolojik iyileşme dereceleri karşılaştırıldı.

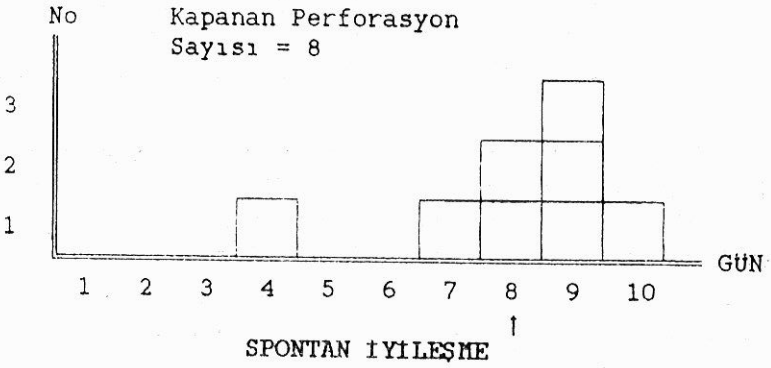
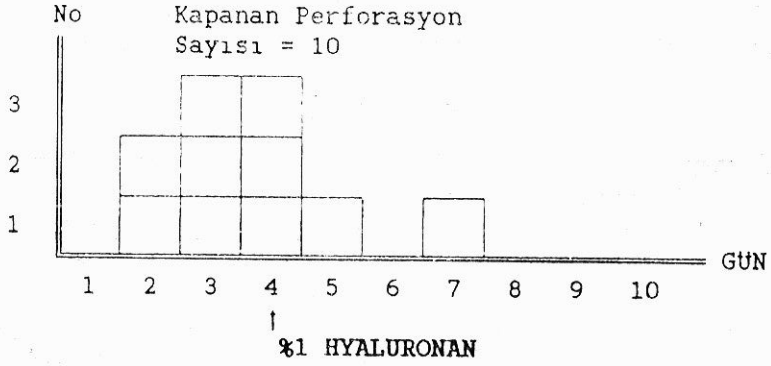
SONUÇLAR

Perforasyonun spontan iyileşmeye bırakıldığı kontrol grubunda ve % 1 HA solüsyonu uygulanan deney grubunda, perforasyonun kapanma sürelerinin denek sayısına göre dağılımı Şekil 1'de gösterilmiştir. Spontan iyileşmeye bırakılan kulak zarlarının ikisinde bir aylık süre içinde kapanma olmamıştır. % 1 HA solüsyonu uygulanan zarların tamamında yedi gün içinde otomikroskop ile kapanmanın tamamlandığı gözlenmiş ve bir aylık süre içinde reperforasyon saptanmamıştır.

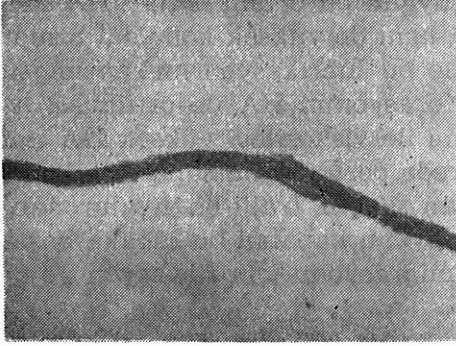
Spontan iyileşmeye bırakılıp kapanan 8 kulak zarında ortalama kapanma süresi 8 ± 1.85 gün, % 1 HA solüsyonu uygulanan 10 kulak zarında ise 3.7 ± 1.49 gündür. Perforasyonun kapanma süresine ait bu iki ortalama arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

Histolojik kesitlerde normal kulak zarının dışta keratinize çok katlı, içte tek katlı skuamoz epitel ile döşeli tabakaları arasında sıkı kollajen liflerin oluşturduğu fibröz bağ dokusu tabakası içerdiği ve ortalama $6 \mu\text{m}$ kalınlıkta olduğu gözlendi (Şekil 2).

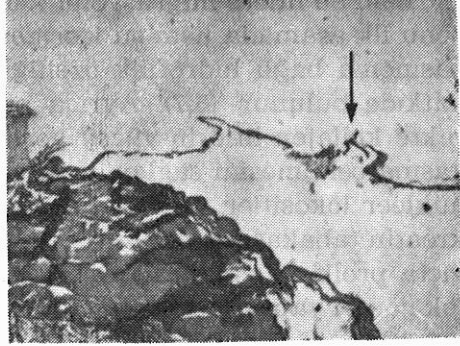
Spontan iyileşmeye bırakılıp kapanma olmayan zarlarda iç ve dış epitel tabakalarının birleşmediği, gevşek bağ dokusundan oluşan irregüler bir fibröz dokunun perforasyon sahasını yer yer örttüğü görüldü (Şekil 3). Spontan iyileşen zarlarda ise genellikle epitelizasyonun tamamlandığı iki tabaka arasında fibröz tabaka içermeyen atrofik bir görüntüye (Şekil 4) veya düzensiz gevşek bağ dokusundan oluşan bir skatris dokusuna rastlandı. % 1 HA solüsyonu uygulanan zarlarda kulak zarı kalınlığında artış olmakla birlikte, tamamlanmış epitelizasyon ve birbirine paralel kollajen liflerin oluşturduğu fibröz tabakayı içeren, normal zar morfolojisine yakın histolojik veriler elde edildi (Şekil 5).



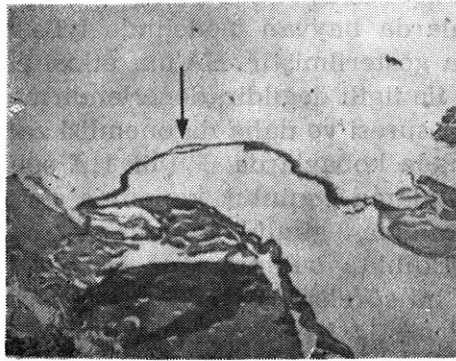
Şekil 1 : % 1 HA solüsyonu uygulanan deney grubu ve spontan iyileşmeye bırakılan kontrol grubunda perforasyonların kapanma günleri (X-ekseni perforasyonun kapanma gününü, Y-ekseni denek sayısını göstermektedir. [↑] : Ortalama kapanma süresini işaret etmektedir).



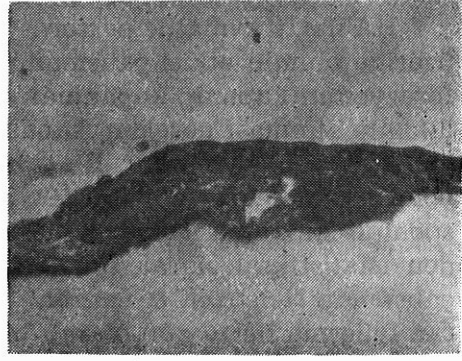
Şekil 2 : Normal kulak zarı (H.E.)



Şekil 3 : Spontan iyileşmenin tamamlandığı kulak zarı. Histolojik olarak tamamlanmamış epitelizasyon ve düzensiz fibröz doku (okla). (H.E.)



Şekil 4 : Spontan iyileşen zarda fibröz tabaka içermeyen atrofik görünüm (okla). (H.E.)



Şekil 5 : % 1 HA uygulanan zarda tamamlanmış epitelizasyon ve kalınlaşmış, ancak düzenli kollajen liflerden oluşan fibröz tabaka. (H.E.)

TARTIŞMA

Hyaluronik asitin kulak zarı perforasyonlarında iyileşme üzerine etki mekanizması henüz kesinleşmemiştir. HA'nın fizyolojik rolü genellikle fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlanmıştır, ancak aynı zamanda hücre fonksiyonları üzerine biyolojik aktivitesi de vardır. Travmayı takiben perforasyon kenarlarındaki ilk reaksiyon eksudasyondur. Eksuda hem perforasyon kenarlarının dehidratasyonunu ön-

ler, hem de hücre migrasyonu için uygun bir ortam sağlar. HA solüsyonu ilk aşamada hem su içermesi, hem de yüksek kolloidal ozmotik basıncına bağlı hidrofilik özelliğiyle bu lubrikasyon mekanizmasına katkıda bulunur (5,7). Ayrıca perforasyonun HA ile örtülmesi, retrakte kollajen liflerin yüzey gerilimi ile viskozitesi yüksek HA tabakasına çekilmesini sağlar. Kısa sürede perforasyon sahası polimorfonükleer lökositler ve makrofajlardan zengin, frajil bir hyaluronan + kreatin tabakası ile örtülür. Perforasyonu kapatana bu tabaka başlangıçta proliferen epitel hücrelerinin migrasyonu için fiksasyon ve destek görevi yapar (1,4,6).

Başlangıçta destek görevi yaparak epitel proliferasyonunu düzenleyen HA'nın, doku iyileşmesi safhasında hücre migrasyonunu yönlendirici bir biyolojik aktivitesi de vardır. Kollajen sentezleyen temel hücreler olan fibroblastların proliferasyonu, HA ile direkt veya indirekt olarak stimüle olur; bu da düzgün bir fibröz tabaka oluşumunu sağlar, istenmeyen skatris gelişimini önler (1,3,4).

HA'nın travmatik perforasyonlarda hayvan modelinde iyileşme üzerine olumlu etkisi çalışmamızda gösterilmiştir. HA'nın etkisi perforasyonun kapanıp kapanmaması ile ilgili değildir; değerlendirmede dikkate alınması gereken, kapanma süresi ve daha da önemlisi zarın yapısı ve fonksiyonudur. Bu çalışmada kobaylarda % 1'lik HA solüsyonu uygulaması ile elde edilen ortalama 4 günlük kapanma süresi, spontan kapanma ile elde edilen ortalama 8 günlük kapanma süresinden istatistiksel olarak anlamlı farklılıkta bulunmuştur. Benzer bir çalışmada Helström & Laurent (1) bu süreleri HA ile 2-3 gün, spontan iyileşme ile 10 gün olarak bildirmiştir. HA uygulaması ile oluşan histolojik yapıdaki olumlu etki, yani düzenli fibröz tabaka ve epitel proliferasyonu, insan modeline adapte edilmesi amaçlanan bu deneysel çalışmanın en önemli sonucudur.

HA'nın insan travmatik zar perforasyonlarında ve kronik persistan perforasyonlarda farklı etkide bulunması beklenebilir. Ancak literatürde gerek travmatik, gerekse kronik persistan zar perforasyonlarında HA uygulaması ile olumlu sonuçlar bildiren klinik çalışmalar yer almaya başlamıştır (2,5-7). Eğer insanda da HA'nın iyileşme hızını artırması yanında skatris dokusu oluşumunu azalttığı da gösterilebilirse, istenen morfolojik ve fonksiyonel zar yapısına yaklaşıldığı anlaşılacaktır. Ayrıca bu yöntem miringoplastiye alternatif olarak kullanılabilirse cerrahi girişim, hospitalizasyon ve hastanın iyileşme sürelerini de kısaltacaktır.

SONUÇ

1. Kobaylarda travmatik zar perforasyonlarında % 1'lik HA solüsyonunun topikal uygulaması ile perforasyonun kapanma süresi kısalmıştır.
2. HA uygulaması ile, spontan iyileşmeye oranla zarda ışık mikroskopisinde histolojik olarak da görülebilen daha iyi bir morfolojik iyileşme elde edilmiştir.
3. Bu deneysel hayvan modeli, HA solüsyonunun insan kulak zarı perforasyonlarında da kullanılabileceğini ve yarar beklenileceğini desteklemektedir.

ÖZET

Kobaylarda oluşturulan travmatik kulak zarı perforasyonlarında % 1'lik Hyaluronik asit (HA) solüsyonunun etkisi ve spontan iyileşme, perforasyonun kapanma süresi ve histolojik yapı kriterleri dikate alınarak incelenmiştir. Topikal HA solüsyonu uygulaması ile perforasyonun kapanma süresi kısalmış ve daha iyi bir yapısal iyileşme sağlanmıştır. HA özellikle zarın fibröz tabakasında proliferasyonu düzenleyerek etkili olmaktadır. Bu deneysel bulgular, HA solüsyonunun insan kulak zarı perforasyonlarında da kullanılabileceğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler : Hyaluronik Asit, Kulak Zarı Perforasyonu

SUMMARY

Hyaluronic Acid In Traumatic Tympanic Membrane Perforations (An Experimental Study In Guinea Pigs)

The effect of 1 % Hyaluronic acid (HA) solution and spontaneous healing on traumatic perforations of the guinea pig tympanic membrane are examined, regarding closure time of the perforation and histological structural criteriae. Topically applied HA solution enhanced the healing rate and resulted in better structural healing pattern of the tympanic membrane perforations. HA particularly improved the proliferation of fibrous connective tissue. These experimental findings suggested that HA solution should also be considered in the treatment of tympanic membrane perforations in man.

Key Word : Hyaluronic Acid, Tympanic Membrane Perforations

KAYNAKLAR

1. Hellström S Laurent C : Hyaluronan and healing of tympanic membrane perforations. An experimental study, ACTA Otolaryngol (Stockh) Suppl. 442 : 54-61, 1987.
2. LaCarte MPR Casasin T Pumarola F Alonso A : An alternative treatment for the reduction of tympanic membrane perforations. Sodium Hyaluronate, ACTA Otolaryngol (Stockh) 110 : 110-114, 1990.
3. Laurent C : Biochemistry of Hyaluronan, ACTA Otolaryngol (Stockh) Suppl. 442 : 7-24, 1987.
4. Laurent C Hellström S Fellenius E : Hyaluronan improves the healing of experimental tympanic membrane perforations, Arch Otolaryngol Head Neck Surg 114 : 1435-1441, 1988.
5. Stenfors LE : Treatment of tympanic membrane perforations with Hyaluronan in an open pilot study of unselected patients, ACTA Otolaryngol (Stockh) Suppl. 442 : 81-87, 1987.
6. Stenfors LE : Repair of traumatically ruptured tympanic membrane using Hyaluronan, ACTA Otolaryngol (Stockh) Suppl. 442 : 88-91, 1987.
7. Stenfors LE : Repair of tympanic membrane perforations using hyaluronic acid. An alternative to myringoplasty, J Laryngol Otol 103 : 39-40, 1989.