

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
CERRAHİ TIP BİLİMLERİ BÖLÜMÜ
KULAK BURUN BOĞAZ
ANABİLİM DALI**

**RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL
AKUT OTİTİS MEDIA MODELİNDE
PENİSİLİN VE MONTELUKAST SODYUM'UN
ORTA KULAK MUKOZASINA ETKİSİNİN
HİSTOPATOLOJİK AÇIDAN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. SEÇİL UÇAR TOPALSAN

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. BÜLENT ŞERBETÇİOĞLU

İZMİR-2009

İÇİNDEKİLER

1. ÖZET	1
2. SUMMARY	3
3. GİRİŞ VE AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	10
4.1 Orta kulağın yapısı	
4.2 Histolojik yapı	
4.3 Akut süperatif otitis media oluşumu	
4.4 Cystenil Lökotrienler	
4.5 Montelukast Sodyum	
5. GEREÇ VE YÖNTEM	25
5.1 Otomikroskopik bakı ve Streptokokus pneumonia enjeksiyonu	
5.2 Çalışma grupları	
5.3 Histopatolojik inceleme	
5.4 İstatistiksel Analiz	
6. BULGULAR	34
6.1 Otomikroskopik değerlendirme	
6.2 Histopatolojik değerlendirme	
7. TARTIŞMA	51
8. SONUÇ	63
9. KAYNAKLAR	65

TABLO LİSTESİ

TABLO 1	18
Cystenil Lökotrienlerin cys LT1- cys LT2 reseptörü üzerinden etkileri	
TABLO 2	37
Çalışmada erken dönemde gözlenen histopatolojik skorların dökümü	
TABLO 3	38
Erken dönemde tüm parametreler için grupların skorlarının ortalamaları	
TABLO 4	38
Erken dönemde gruplar arası fark olan parametreler	
TABLO 5	38
Erken dönemde mukozal vaskülarizasyon açısından grupların karşılaştırılması	
TABLO 6	42
Çalışmadaki geç dönem tüm histopatolojik skorlarının dökümü	
TABLO 7	43
Geç dönemde tüm parametreler için grupların skorlarının ortalamaları	
TABLO 8	43
Geç dönemde gruplar arası fark olan parametreler	
TABLO 9	44
Geç dönemde anlamlı fark olan parametreler açısından grupların karşılaştırılması	

RESİM LİSTESİ

RESİM 1	11
Rat dış kulak yolu	
RESİM 2	11
Rat sağ timpanik kavite	
RESİM 3	12
Rat kemikçikleri	
RESİM 4	12
Rat kranial kavite, orta ve iç kulak yapıları	
RESİM 5	26
Tüm ratların otomikroskopik incelemelerinin düzeneği	
RESİM 6	26
Ratların orta kulaklarına transtimpanik pnömokok enjeksiyonu	
RESİM 7	27
Ratların normal orta kulak ve timpanik membranlarının otomikroskopik görünümü	
RESİM 8	27
Pnömokok enjeksiyonu öncesi timpanik membrana açılan delikler	
RESİM 9	27
Pnömokok enjeksiyonu sonrası otit oluşmuş timpanik membran	
RESİM 10	30
Çıkarılan temporal kemiklerin ortadan ikiye horizontal olarak kesilmesi	
RESİM 11	31
Kesitlerin Hemotoksilen Eosin ile boyanması, dış kulak yolu, timpanik membran, orta kulak, kemikçiklerin bir kısmı, bulla ve bazı iç kulak yapıları	
RESİM 12a	32
Kesitlerin Alcian blue ile boyanması	
RESİM 12b	32
Grade 2 olarak değerlendirilen goblet hücre metaplazisi örneği	
RESİM 12c	33
Grade 1 olarak değerlendirilen goblet hücre metaplazisi örneği	
RESİM 13	40
Erken dönemde penisilin grubunun histopatolojik kesiti	

RESİM 14	40
Erken dönemde penisilin+montelukast grubunun histopatolojik kesiti	
RESİM 15	40
Erken dönemde montelukast grubunun histopatolojik kesiti	
RESİM 16	41
Erken dönemde plasebo grubunun histopatolojik kesiti	
RESİM 17	49
Geç dönemde penisilin grubunun histopatolojik kesiti	
RESİM 18	49
Geç dönemde penisilin+montelukast grubunun histopatolojik kesiti	
RESİM 19	50
Geç dönemde montelukast grubunun histopatolojik kesiti	
RESİM 20	50
Geç dönemde plasebo grubunun histopatolojik kesiti	

GRAFİK VE ŞEKİL LİSTESİ

GRAFİK 1	39
Erken dönem ortalama mukozal vaskülarizasyonun gruplar arası karşılaştırılması	
GRAFİK 2	46
Geç dönem TM kalınlığının gruplar arası karşılaştırılması	
GRAFİK 3	46
Geç dönem mukozal kalınlığının gruplar arası karşılaştırılması	
GRAFİK 4	47
Geç dönem mukozal vaskülarizasyonun gruplar arası karşılaştırılması	
GRAFİK 5	47
Geç dönem mukozal inflamasyonun gruplar arası karşılaştırılması	
GRAFİK 6	48
Geç dönem mukozal sekretuar metaplazinin gruplar arası karşılaştırılması	
GRAFİK 7	48
Geç dönem timpanik membran inflamasyonunun gruplar arası karşılaştırılması	
ŞEKİL 1	17
Membran fosfolipidlerinden araşidonik asit metabolitlerinin ve cystenil lökotrienlerin oluşumu	

KISALTMALAR

OM	Otitis media
AOM	Akut otitis media
ASOM	Akut süpüratif otitis media
EOM	Efüzyonlu otitis media
PNL	Polimorfonükleer lökosit
TM	Timpanik membran
LT	Lökotrien
Ig	İmmünglobulin
PAF	Platelet aktive edici faktör
PG	Prostoglandin
γ-GT	γ-glutamil transpeptidaz
FLA2	Fosfolipaz A2
Cys LT	Cystenil Lökotrien
Cys LT1/2	Cystenil Lökotrien Reseptörü 1 ve 2
TGF	Tumor growth factor
SRS-A	Slow reacting substance of anaphylaxis (Anafilakside yavaş salınan maddeler)
TNF	Tumor necrosis factor (Tümör nekroz edici faktörü)
VT	Ventilasyon tüpü

1.ÖZET

RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL AKUT OTİTİS MEDIA MODELİNDE PENİSİLİN VE MONTELUKAST SODYUM'UN ORTA KULAK MUKOZASINA ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Seçil Uçar Topalsan

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı
İnciraltı, İZMİR

Akut otitis mediada (AOM) virüsler ve bakteriler, inflamatuvar hücreleri stimüle ederek inflamatuvar mediatörlerin salınımına neden olurlar. Bu mediatörlerden biri olan lökotrienler (LT) ödem oluşumu, mukus üretimi ve tuba Eustachii disfonksiyonundan sorumlu tutulmuşlardır. Montelukast, selektif cys-lökotrien reseptör antagonistidir ve Cys LT1 reseptörüne bağlanarak etki gösterir.

Bu çalışmada, ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş akut süpüratif otitis media (ASOM) tablosunda, uygulanan penisilin ve LT antagonisti kombinasyonlarına verdikleri yanıtlar, erken ve geç dönemde histopatolojik gözlemlere dayalı olarak karşılaştırılmıştır.

Bu çalışmada 56 adet Winstar rat kullanılmıştır. Ratların her iki kulaklarına da otomikroskopik bakı yapılmış, sağlıklı timpanik membrana (TM) sahip olan 83 kulak çalışmaya alınmıştır. Tüm ratlara transtimpanik olarak 0,03 ml pnömokok süspansiyonu enjekte edilmiştir. Kırksekiz saat sonra otomikroskopik bakıları yapılarak pnömokokal AOM geliştiği izlenmiştir. Hayvanlar, her grupta 14 rat olacak şekilde dört gruba ayrılmıştır.

Birinci gruba 5 gün, günde tek doz 160.000 U/kg intramuskuler penisilin G enjekte edilmiştir. İkinci gruba 5 gün, günde tek doz 160.000 U/kg intramuskuler penisilin G ile birlikte 21 gün 10 mg/kg dozda intraperitoneal montelukast enjeksiyonu yapılmıştır. Üçüncü gruba 21 gün 10 mg/kg dozda intraperitoneal montelukast enjeksiyonu yapılmıştır. Dördüncü gruba ise 21 gün boyunca 1cc intraperitoneal serum fizyolojik enjekte edilmiştir. Her

gruptan rastgele seçilen 7 hayvan 7. günde, geri kalan 7 hayvan ise 21. günde sakrifiye edilmişlerdir. Hayvanların temporal kemikleri çıkarılmış, yapılan histopatolojik değerlendirmede, kesitler TM vaskülarizasyonu, TM inflamasyonu, TM kalınlığı, mukozal inflamasyon, mukozal kalınlaşma, mukozal vaskülarizasyon ve mukozal metaplazi yönünden değerlendirilmiştir

Çalışma sonunda erken dönemde TM ve mukozal parametreler açısından gruplar arasında mukozal vaskülarizasyon dışında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Geç dönemde ise penisilin tedavisi alan grupta, TM kalınlığında istatistiksel olarak anlamlı düzelme saptanmış, montelukast verilen gruplarda ise TM ve mukozal inflamasyon açısından diğer gruplardan anlamlı derecede farklı iyileşme olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Akut otitis media, Lökotrien, montelukast, orta kulak mukozası

1. SUMMARY

HISTOPATHOLOGICAL ASSESSMENT OF EFFECTS OF PENICILLINE AND MONTEKULAST SODIUM ON MIDDLE EAR MUCOSA IN RATS WITH EXPERIMENTAL ACUTE OTITIS MEDIA

Seçil Uçar Topalsan, M.D

Department of Otorhinolaryngology, Dokuz Eylül University Medical School
Izmir, Turkey

During the pathogenesis of acute otitis media, viral and bacterial antigens induce emission of various inflammatory mediators by stimulating inflammatory cells. Being one of those mediators, the leukotrienes (LT) are found to be the major factors in the formation of edema and mucus as well as development of tuba Eustachii dysfunction.

Montelukast sodium is a receptor antagonist of selective cystenyl leukotriene and exerts its effects through connecting to the receptor of cys LT1. In this study, an experiential acute suppurative otitis media (ASOM) model was developed and responses of rats to penicilline and combinations of LT antagonist were compared with respect to histopathological observations conducted at both early and late phases.

Fifty six Winstar rats were selected to be used in this study and a total of 83 ears having healthy tympanic membranes (TM) were included in the experiments as a result of otomicroscopic inspections applied to both ears of the selected rats. Transtympanical 0.03 ml of pneumococcus suspension was injected to all rats with the use of speculum under otomicroscopic control. Otomicroscopic inspection of all rats after a 48-hours time period revealed the development of pneumococcal acute otitis media. Subjects were classified under four different groups having 14 rats at each.

Intramuscular penicilline G (with a daily dose of 160,000 U/kg at a single shot) was given to rats in the first group for a period of five days. Animals in the second group were injected with a 10 mg/kg dose of intraperitoneal montelukast for 21 days in addition to a daily dose of 160,000 U/kg of

intramuscular penicilline given at a single shot for a 5 days-period. Animals in the third group were injected with only an 10 mg/kg dose of intraperitoneal montelukast for 21 days. One cc of isotonic NaCl was given to the rats in the fourth group for a period of 21 days. For each study group, 7 randomly chosen animals were sacrificed at the 7th day of the experiment where the remaining 7 animals were sacrificed at the 21st day after otomicroscopic inspection. Temporal bones of the rats were dissected and histopathologically analyzed. Cross-sections were semi-quantitatively graded with respect to TM vascularization, TM inflammation, TM thickness, mucosal inflammation, mucosal thickness, mucosal vascularization and mucosal metaplasia.

Results of the study indicated no significant differences between the groups, apart from mucosal vascularization with respect to mucosal and TM parameters at early phases. However, statistically significant differences were detected for the improvement of TM thickness with the help of penicillin treatment. Furthermore, considerable deviations were observed for the recuperation of TM and mucosal inflammation for groups where subjects were injected with montekulast as compared to other groups of the study.

Keywords: Acute otitis media, Leukotriene, montelukast, tympanic mucosa

3. GİRİŞ VE AMAÇ:

Otitis media (OM), orta kulak boşluğunu çevreleyen mukozanın ve bazen de bu mukozanın altındaki periostun inflamasyonudur (1,2). Bu inflamasyon infeksiyöz veya infeksiyöz olmayan bir nedene bağlı olabilir, herhangi bir etiyolojik faktör veya patogenezden bağımsız bir kavramdır. Orta kulaktaki bu inflamasyon, temporal kemik içindeki havalı boşlukların birbirleriyle devamlılık göstermesinin bir sonucu olarak, mastoid hava hücrelerini de ilgilendirir. Otitis media genel olarak ASOM, efüzyonlu AOM (EOM), efüzyonlu kronik otitis media, kolesteatomlu veya kolesteatomsuz kronik süpüratif otitis media olarak gruplanabilir. ASOM, TM hiperemisi, orta kulakta sıvı birikimi (bazen perforasyon ve akıntı), kulak ağrısı, ateş yüksekliği, huzursuzluk gibi semptom ve bulgulardan oluşan, orta kulağın ani başlangıçlı ve şiddetli bir hastalık tablosudur. ASOM her yaşta insanı ilgilendirmekle birlikte özellikle çocukluk çağıının en sık görülen hastalıklarından biridir (3-5). Üç yaşına kadar çocukların üçte ikisinden fazlası en az bir kez, üçte biri de üçten fazla AOM atağı geçirmektedir (6). Yapılan çeşitli çalışmalarda çocukların %84'ünün tüm hayatları boyunca bir kez, %50'sinin üç ya da daha fazla ve %25'inin ise altı veya daha fazla AOM atağı geçirdiği saptanmıştır (7). Bazı çocukların neden tekrarlayan AOM atakları geçirdiği henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Tubal disfonksiyon veya adenoid hipertrofisi gibi bazı mekanik sorunların predispozan faktörler olduğu düşünülmektedir (2). AOM tedavisi büyük harcamalara neden olarak kişi ve ülke ekonomisine önemli yükler getirmektedir (2). Streptococcus pneumonia ve Haemophilus influenzae çocuklarda görülen AOM'nin en sık etkenleri olarak gösterilmişlerdir (8-10). ASOM geçiren bir kişide infeksiyon ve inflamasyon olmak üzere iki önemli problem ortaya çıkar (5). Akut epizod sırasındaki hayatı tehdit edici komplikasyonların oluşması riskinin yanı sıra, orta kulakta oluşan efüzyonun gerilemesi aylarca sürebilir (4,5). Orta kulakta oluşan infeksiyon, birçok olguda spontan gerilemekle beraber akut gelişebilecek komplikasyonlar nedeniyle antibiyotik tedavisi tercih edilmekte ve akut inflamasyon günler içinde gerilemektedir (5,9,10). Bunun yanında antibiyotiklere karşı gelişen direnç ve çocukluk çağıında sıkça kullanımına

bağlı görülebilen yan etkiler, antibiyotiklerin otitis mediadaki yerinin sorgulanmasına neden olmaktadır (11). ASOM sonrasında, akut dönemde ortaya çıkabilen bazı ciddi komplikasyonların yanı sıra, geç dönemde ortaya çıkan işitme kaybı ve çocuklarda dil algılama bozuklukları, konuşma gelişiminde gerilik, öğrenme ve okul başarısı üzerindeki olumsuz etkileri de çok önemlidir. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki orta kulak mukozasındaki değişiklikler akut infeksiyon döneminde başlamakta, TM mikroskopik olarak düzelse bile mukozal değişimler devam etmektedir (8,10). Her AOM bir efüzyonla seyrettiğinden, akut otitin gerilemesi sırasında akut infeksiyon bulgularının ortadan kalkmasına karşın, efüzyonun devam etmesi doğal bir durumdur. Bu durumda, orta kulaktaki efüzyon, ASOM sıvısının pürülan olmayan biçimde devam etmesi şeklindedir. İki aydan uzun süren orta kulak efüzyonlarında izole edilen bakteriler Streptococcus pneumonia (%25) ve Haemophilus influenzae (%38) olup, AOM'dekilerle uyumludur. Efüzyondaki farklı bakterilerin oranı altıncı aya kadar değişmez. Altıncı aydan sonra patojenlerin kültürde gösterilememesi, iki aydan kısa süren efüzyonların, AOM ile EOM arasında bir geçiş fazını temsil ettiğini göstermektedir. Uzayan efüzyonlarda orta kulak mukozasında oluşan değişikliklerden kaynaklanan salgılama süreçlerinin devreye girmesi de söz konusudur. EOM saptanan çocukların %80-90'ında ASOM öyküsüne rastlanmaktadır. Özellikle yaşamlarının ilk yılında ASOM geçiren çocuklarda EOM riski çok artmaktadır (6,7).

Akut dönemde orta kulakta submukozal yoğun polimorfonükleer lökositler (PNL) gibi akut inflamatuvar hücre göçü, mukozal kalınlıkta ve vaskülarizasyonda artış, TM'da kalınlaşma, malleus çevresinde vaskülarizasyonda artış izlenmektedir (8). Kronik dönemde ise akut döneme göre mukoza kalınlığı azalmakla beraber normal mukozayla karşılaştırıldığında daha kalın izlenmektedir. Bağ dokusunda glanduler yapılar görülmekte ve erken dönemde TM bulguları normale dönse de orta kulakta inflamasyonun devam ettiği izlenmektedir (8). ASOM sonrası orta kulak mukozasında meydana gelen değişiklikler EOM gelişiminden ve tekrarlayan AOM ataklarından sorumlu tutulmaktadır (3,8-10,12). Günümüzde ASOM tedavisinde antibiyotikler rutin olarak kullanılmakta,

bunun yanında ortaya çıkan inflamasyonu azaltmaya yönelik antiinflamatuvar ilaçlar, lokal ve sistemik dekonjestanlar ile antihistaminikler de tedaviye eklenmektedir. Bu tedaviler sonucunda hastaların büyük bir kısmı iyileşmekte, bir kısmında süpürasyon devam etmekte, daha sonra rezolüsyona uğramakta veya kalıcı perforasyonla sekel ortaya çıkmakta veya kronik süpüratif otitis mediaya dönüşmektedir. Bir grup hastada EOM gelişmekte, bu kronik EOM'ye dönüşmekte, özellikle çocuk hasta grubunda ventilasyon tüpü (VT) takılması gibi cerrahi girişime gereksinim doğmakta veya işitme kaybı, dil gelişim bozukluğu gibi sekeller oluşabilmektedir. Tedavi edilmeyen veya yetersiz tedavi edilen ASOM sonucunda menenjit, beyin absesi, fasiyal paralizi, mastoidit, subperiostal abse gibi çeşitli komplikasyonlar da ortaya çıkabilmektedir (2).

Bir hastanın 6 ay içinde 3 ya da daha fazla veya bir yıl içinde 4 veya daha fazla ASOM geçirmesi tekrarlayan ASOM olarak kabul edilir (9,13). Yaşamın ilk 3 yılında tekrarlayan ASOM sorunu olan çocuklar işitme kaybının yanısıra, dil gelişiminde ve öğrenmede gecikme bakımından yüksek riske sahiptirler. Tekrarlayan ASOM'un önlenmesinde amaç; ağrı ve ateş sıklığını azaltmak, işitme kaybının süresini kısaltmak, muayene ve tedavi masraflarını düşürmek, hasta ve yakınlarını rahatlatmak ve uzun dönemde sekelleri önlemektir (2).

Tekrarlayan ASOM tanısı alan bir hastada atakların önlenmesi için antibiyotik profilaksisi ve VT uygulaması olmak üzere iki temel tedavi seçeneği vardır. Antibiyotik profilaksisi, tekrarlayan ASOM sıklığını azaltmada etkili olduğu halde, tedavide küçük bir uygulama alanına sahiptir. Bir metaanalizde, antibiyotik tedavisinin plasebodan %11 oranında daha etkili olduğu ortaya konmuştur (14). Sülfonamidler ve aminopenisilinler en çok incelenen antibiyotiklerdir ve eşit etkinliğe sahip oldukları görülmüştür. İki yaşından küçük, atakları şiddetli geçiren ve kreşe giden çocuklar antibiyotik profilaksisinden daha fazla yarar görmektedirler (7). Antibiyotik profilaksisi sürekli veya aralıklı profilaksi şeklinde uygulanabilmektedir. Sürekli profilaksi, 6 ay süreyle, özellikle kış aylarında uygulanır. Aralıklı profilaksi ise üst solunum yolu infeksiyonunun başlangıcından itibaren semptomlar düzeline kadar uygulanır ve etkinliği daha azdır. Bununla birlikte, profilaktik antibiyotik tedavisinde maliyet, yan

etki, dirençli bakterilerin prevalansında artma gibi önemli faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. Altı ay süren profilaksi sırasında yine de ASOM atakları görülebilir. Ancak günümüzde ilaca dirençli pnömokok suşlarının giderek artması nedeniyle antibiyotik profilaksisi sadece seçilmiş hastalarda uygulanmaktadır. Bu nedenle VT uygulaması daha gerçekçi ve cazip hale gelmiştir. VT uygulaması ile tekrarlayan ASOM riskini anlamlı derecede azalmakla birlikte, TM'da retraksiyon ve atrofi riskinin arttığı gösterilmiştir (15). Adenoidektomi ya da adenotonsillektominin de tekrarlayan ASOM riskini azalttığı gösterilmiştir ancak VT uygulaması ve antibiyotik tedavisine yanıt vermeyen olgularda tercih edilmelidir (16). Cerrahinin komplikasyon riski, olası morbiditesi ve maliyet, karar verilirken dikkate alınması gereken faktörlerdir. Ayrıca tekrarlayan ASOM atağı geçiren ve aynı zamanda Down sendromu, serebral palsi veya ek hastalığı olan çocuklarda, cerrahi tedavinin morbiditesi daha da artmakta, özellikle böyle durumlarda medikal tedaviye daha fazla ihtiyaç duyulmaktadır (7).

AOM'de oluşan efüzyonun patogenezi çok komplekstir (5). Viral, bakteriyel ve/veya solunum antijenleri; makrofajlar, mast hücreleri, T hücreleri, eozinofiller ve nötrofiller arasında komplike bir etkileşimi stimüle eder (17). Bu hücreler çok çeşitli inflamatuvar mediatörlerin salınımına neden olurlar ve bunun sonucunda orta kulakta epitel harabiyeti ve metaplazisi ile ödem ve mukus formasyonu ortaya çıkar. Orta kulak efüzyonunun oluşumunda çok fazla mediatör rol oynar ve bunlardan biri olan LT'ler ödem oluşumu, mukus üretimi ve tuba Eustachii disfonksiyonu gelişmesinde major faktörler olarak gösterilmişlerdir (18-20). LTC₄ ve D₄'ün in vitro ortamda insan hava yolu hücrelerinde mukus sekresyonunu artırdığı ve insan siliya hücreleri üzerinde de siliyer aktiviteyi baskılayıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (5,21,22). LTC₄, D₄ ve E₄; cystenil lökotrienler (cys LT) olarak adlandırılırlar, araşidonik asit metabolitlerdir ve inflamasyon basamaklarında yer alan birçok hücreden salınırlar. İnflamasyonda, vasküler permeabilite artışı, ödem oluşumu, mukus sekresyonunda artış, mukosilyer transportta azalma, inflamatuvar hücre göçünü artırma gibi etkileri vardır. Araşidonik asit metabolitlerinin orta kulak efüzyonunun patogenezinde önemli bir rol oynadıkları kesin olarak

anlaşılmıştır (5,23) ve EOM'de ortaya çıkan sensorinöral işitme kayıplarından sorumlu olabilecekleri düşünülmektedir (5,24).

Montelukast sodyum (Na), selektif cys LT reseptör antagonistidir ve cys-LT1 reseptörüne bağlanarak etki gösterir. Allerjik rinit ve astımı olan 2 yaş üzeri çocuklarda yaygın olarak kullanılmaktadır (5,25).

Hastalıklar sonucunda ortaya çıkan klinik bulgular aslında dokularda yaşanan histopatolojik süreçlerin klinik sonucudur. AOM'de gözlenen yakınma ve bulguların altında yatan fizyopatolojik süreçlerin analiz edilebilmesi için hayvanlar üzerinde patolojik tablonun modellenmesine gereksinim duyulmaktadır.

Bu çalışmada deneysel olarak pnömokok suşu kullanılarak ratlarda oluşturulan ASOM tablosunda montelukast Na ve penisilin G preparatları ayrı ayrı ve kombine şekilde uygulanmıştır.

Bu çalışmanın amacı, deneysel ASOM tablosu oluşturulmuş ratlarda uygulanan penisilin ve LT antagonisti kombinasyonlarına karşı ortaya çıkan yanıtların, erken ve geç dönemde histopatolojik gözlemlere dayalı olarak karşılaştırılmasıdır.

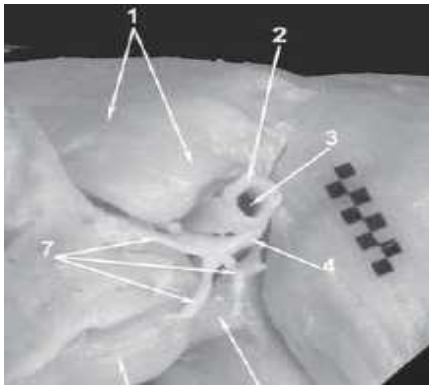
4.GENEL BİLGİLER

4.1 Orta Kulağın Yapısı

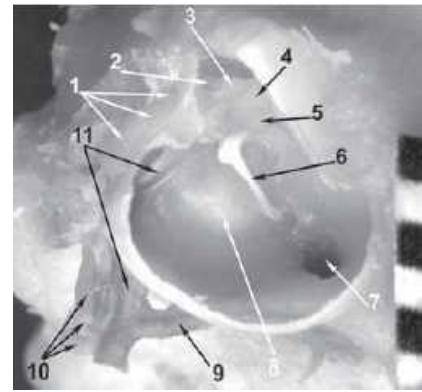
Timpanik kavite, TM ve kemik labirent arasında bulunan bir boşluktur. Kavitenin vertikal ve anteroposterior uzunluğu 15 mm, mediolateral uzunluğu epitimpanumda 6 mm, mezotimpanumda umbo seviyesinde 2 mm, hipotimpanumda 4 mm'dir. Kavitenin lateralinde TM, medialinde promontoryum (kokleanın bazal kıvrımı), superiorda tegmen timpani, inferiorda juguler bulbus, anteriorda internal karotid arter, tuba Eustachii ve posteriorda aditus ad antrum, mastoid hava hücreleri olmak üzere altı duvarı mevcuttur. Orta kulak boşluğu süperior ve inferiorda TM'ye teğet geçen horizontal plandaki iki çizgi ile üç alt boşluğa ayrılır: epitimpanum (attik), mezotimpanum ve hipotimpanum. Bu boşlukta bulunan üç kemikçik malleus, incus ve stapes, ses dalgalarının dış kulak yolundan iç kulağa iletilmesinden sorumludur. TM'ye manubrium mallei parçası ile yapışan malleus, gövde kısmı ile malleus ile eklem yapan incus ve incus lentikuler çıkıntısı ile eklem yapan stapes, bir köprü gibi orta kulak boşluğunda uzanır. Stapes, tabanı ile vestibülün lateral duvarında bulunan oval pencereye oturur ve iç kulak ile bağlantıyı sağlar. Kemikçikler kendi aralarında ve orta kulakla çeşitli tendon ve kaslarla bağlantılıdır. Tuba Eustachii kavitenin anterior duvarındadır, mediale ve anteriora ilerleyerek nazofarenkse açılır, ortalama 37 mm uzunluğundadır. Lümeni normalde kapalı durumdadır, yutkunma, esneme ve hapşırma esnasında aktif olarak açılır. Tüpü açan asıl güç, tensor veli palatini kasının kasılması ile sağlanır. Tuba Eustachii bebeklerde erişkinlere göre daha kısa (doğumda yaklaşık 13 mm), daha yatay (doğumda horizontal 10°, erişkinde 45°) pozisyonundadır ve bu farklılıklar yedi yaşına kadar devam eder. Bu farklar çocuklarda tuba Eustachii'nin koruma fonksiyonunun daha zayıf oluşunu açıklar. Tuba Eustachii'nin orta kulak boşluğunun havalanması, temizlenmesi, orta kulak basıncının atmosfer basıncı ile eşitlenmesi, nazofarengeal sekresyonlardan ve sestten korunması gibi önemli görevleri vardır. Timpanik antrum, kavitenin

posterolateralinde yer alır ve aditus ad antrum yolu ile mastoid hücrelerle devamlılık gösterir (27).

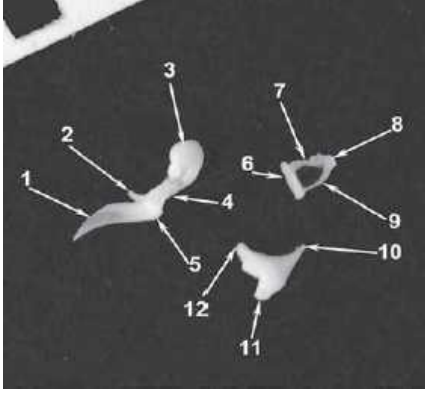
Rat ve insan timpanik kavitesi, benzer anatomik özelliklere sahip olmakla beraber birtakım farklılıklar göstermektedir (26). İnsanlarda bulunan tüm anatomik yapılar rat temporal kemiğinde de mevcuttur. Rat timpanik kavitesi hipotimpanum, mezotimpanum ve epitympanum olmak üzere üç bölüme ayrılabilir. Kavitenin yüksekliği 6.18 mm, genişliği 6.28 mm'dir. Malleus, incus ve stapes sırasıyla 3.12, 1.28, 0.98 mm'dir. İnsandaki mastoid hücreler yerine tek bir büyük hücre olan bulla mevcuttur. Bullanın posteromedial duvarı juguler foramende bulunan damar ve sinirlerle komşudur. Kokleanın bazal kıvrımı kavitede promontoryumu oluşturur. Malleus başı, diğer kısımlarına göre oldukça büyüktür, uzun bir boynu vardır ve uzun kolu ile TM'a yapışır. Malleus, incus ve stapes ile devamlılık gösterir ve stapes aracılığıyla iç kulak ile bağlantılıdır (26).



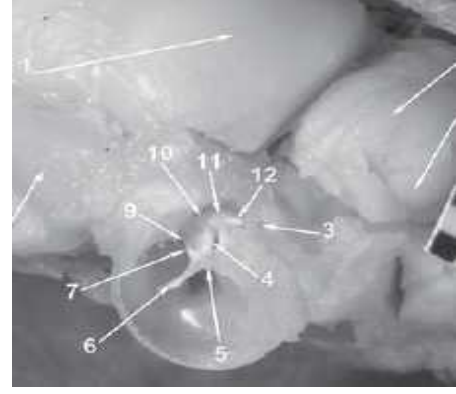
Resim 1.Rat dış kulak yolu 1 -temporal kas, 2 -eksternal akustik meatus, 3- eksternal akustik meatusun girişi, 4- fasiyal sinir, 7- fasiyal sinir dalları (26)



Resim 2. Rat sağ timpanik kavite. 1- fasiyal sinirin ekstratemporal kısmı, 2-incus kısa kolu, 3-incusun gövdesi, 4-malleus başı, 5- malleus anterior çıkıntısı, 6-malleus kolu, 7-auditor kanalın timpanik açıklığı, 8-promontoryum, 9-internal karotis arter, 10-jugular foramendeki sinir yapıları, 11-stapedial arter (26)



Resim 3. Rat kemikçikleri. 1-malleus kolu, 2-malleus muskular çıkıntısı, 3-malleus başı, 4-malleus boynu, 5-malleus lateral çıkıntısı, 6-stapes tabanı, 7-Stapes anterior kuruğu, 8-stapes başı, 9-stapes posterior kuruğu, 10-incus kısa kolu, 11-incus gövdesi, 12-incus uzun kolu (26)



Resim 4. Kranial kavite, orta ve iç kulak yapıları. 1-beyin frontal lob, 3-superior semisirkuler kanal, 4-malleus boynu, 5-korda timpaniki posterior kısmı, 6-malleus kolu, 7- malleus anterior çıkıntısı, 9- korda timpaniki anterior kısmı, 10-malleus başı, 11-incus gövdesi, 12-incus kısa kolu (26)

4.2 Histolojik Yapı

Mastoid kavite, timpanik kavite ve tuba Eustachii, tubotimpanik kompleksin alt parçalarıdır ve mukoza ile kaplıdır. Timpanik kavitenin tüm duvarları psödostratifiye silendirik epitel ile döşenmiştir. Ancak yapılan elektron mikroskopik çalışmalarda erişkinlerde promontoryum üzerinde %10 oranında siliyalı epitel bulunduğu gösterilmiştir. Orta kulağın duvarlarını kaplayan bu epitel anteriorda tuba Eustachii mukozası, posteriorda ise timpanik antrum ve mastoid hücrelerle devamlılık gösterir. Ancak tuba Eustachii'nin kemik kısmında, epitelin %80'ini siliyalı kolumnar epitel oluşturur, kıkırdak kısmını ise siliyalı psödostratifiye kolumnar epitel döşer. Faringeal orifiste mukus salgılayan goblet hücreler ve tubuloasiner glandlar bulunmaktadır. Normal orta kulak mukozasında ise sekretuar goblet hücreleri bulunmaz. Veriler göstermektedir ki orta kulak kavitesi ve tuba Eustachii, mukosilyer transport sisteminin ve orta kulak savunma sisteminin bir parçasıdır (27).

Yapılan çalışmalarda rat orta kulağı detaylı olarak incelenmiş ve insan orta kulağı ile benzer histolojik yapıya sahip olduğu görülmüştür. İnsanlarda olduğu gibi ratlarda da epitimpanumda, tuba Eustachii ağzında siliyalı sekretuar hücreler bulunmaktadır. Geri kalan orta kulak mukozasının büyük kısmı basit skuamoz-kuboid, siliyasız epitel ile

kaplıdır. Normal rat orta kulak mukozasında subepitelyal dokuda hiçbir alanda glanda rastlanmamaktadır, ancak buralarda damarlar, fibroblastlar, sinirler, makrofaj ve mast hücreleri hemen hemen her alanda yer almaktadır (8). Timpanik orifis ve sulkus promontoralis inferiorun posterior kısmı psödostratifiye kolumnar epitel ile döşelidir ve epitelin yüksekliği yuvarlak pencere nişine doğru azalmaktadır. Fossa nasalis ve attik bölge ise siliyalı hücreler içeren kuboid veya düz epitel ile kaplıdır. Tüm bu medial duvar bölümlerinde subepitelyal alan incedir, ince bir konnektif doku ve küçük kan damarları içermektedir. Ancak yapılan başka bir çalışmada ratta orta kulak mukozasında promontoryum çevresinde belli bölgelerde sınırlı goblet hücrelerinin olduğu gösterilmiştir (11).

4.3 Akut Süpüratif Otitis Media Oluşumu

Kolayca tanınan bir klinik durum olmasına karşılık AOM'nin standartlaşmış bir tanımı yoktur. Paparella ve ark., AOM'yi infeksiyöz bir orijin olsun veya olmasın orta kulak kavitesinin inflamasyonu olarak tanımlamıştır. Orta kulağın akut inflamasyonları değişen uzunluktaki periyotlarda kalıcı orta kulak efüzyonları ile sonlanır (28).

Otitis media gelişimine yatkın çocukların özellikleri tanımlanmıştır (6). Altı ay içinde 3, oniki ay içinde 4 veya daha fazla AOM geçiren çocuklar, altı aydan önce AOM geçiren bebek ve bu bebeğin otitis mediaya yatkın kardeşinin olması ya da yaşamının ilk yılı içinde iki kez AOM geçiren çocuklar, otitis mediaya yatkın çocuklardır. Bir çalışmada bir yaşına kadar etkeni pnömokok olan AOM geçiren çocukların daha sonra en az 6 kez AOM geçirdiği gösterilmiştir(6).

AOM için en önemli etiyolojik faktör, üst solunum yolu infeksiyonlarıdır. Tuba Eustachii'nin ödem, tümör veya intratimpanik basınçla etkilenmesi, buradaki mukosilyer aktiviteyi bozarak, infeksiyonun farenks yoluyla timpanik kaviteye doğrudan yayılması ve AOM gelişmesine neden olur. Hayatın ilk yılında ortalama ayda bir defa üst solunum yolu infeksiyonu geçirilir ve bunun bir komplikasyonu olarak da 1/3 ile 1/2 oranında AOM görülür (6).

ASOM'un bakteriyel bir hastalık olduğu genel kabul görmektedir. Virüsler, erken dönemdeki ASOM olgularının %20'sinde orta kulakta saptanmakla birlikte tek başına etken olarak rol oynamaları nadirdir, genellikle patojen bakterilerle birlikte bulunmaktadırlar. Timpanik kavite eksudalarından yapılan kültürlerde, respiratuar sinsityal virüs, adenovirüs, rinovirüs, influenza A ve B virüsleri elde edilmiştir. Bu viral patojenlerin ASOM patogeneziindeki rolleri günümüzde tartışılmaya devam etmektedir, bazı olgularda tek başlarına, bazılarında ise bakterilerle birlikte ve bakteriyel enfeksiyona zemin hazırlayarak etkili oldukları düşünülmektedir. Timpanik kaviteden yapılan kültürlerde en sık olarak *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *Moraxella catarrhalis* elde edilmiş, bir kısmında ise herhangi bir bakteri üretilmemiştir. Bunların içinde patojenitesi en yüksek olan *S. pneumoniae*'dir. Altı haftalıktan küçük çocuklarda *S. Pneumoniae* ve *H. influenzae* en sık saptanan patojenlerdir. Erişkinlerde ve 5 yaş üstü çocuklarda pnömokokun insidansı görece artış gösterir ve *H. influenzae*'nin önemi azalır. *Pseudomonas aeruginosa* ender rastlanan bir etken olup, bağışıklık yetersizliği olan ve tedaviye yanıt vermeyen olgularda akla gelmelidir (2).

Otitis media oluşması için patojen mikroorganizmanın nazofarenks mukozasına yerleşmesi, buradan tuba Eustachii'ye ulaşması ve orta kulağa yerleşip çoğalması gerekmektedir. Patojen mikroorganizma hücre yüzey reseptörlerine oldukça spesifik bir şekilde bağlanır. Kolonize olan bakteriler adezin reseptöre bağlanarak nazofarenksin mekanik temizleme aktivitesine karşı direnmeye çalışırlar. Genel olarak nazofarengeal mukozaya daha kolay tutunabilen bir mikroorganizma, daha etkin bir patojen olacaktır. Çocuklarda adenoid dokusu önemli bir patojen bakteri kaynağıdır. AOM'li hastaların %97'sinde etken patojen nazofarenkste de saptanmaktadır (6).

Adenoid dokusunun tuba Eustachii ağzına yakınlığı nedeniyle tüpün fonksiyonunun bozulmasıyla ilgisi olduğu düşünülmüştür. Adenoid dokusunun fiziksel olarak tuba Eustachii'yi tıkadığı henüz gösterilememiştir. Tuba Eustachii'nin ventilasyon fonksiyonunda adenoidektomi öncesi ve sonrası fark saptanmamış, buna dayanarak adenoid dokusunun tuba Eustachii'yi mekanik olarak tıkamadığı sonucuna

varılmıştır. Bu bilgiler, tuba Eustachii fonksiyon bozukluğunun AOM'nin bir nedeni değil, sonucu olduğuna işaret etmektedir. Yine de adenoidektomi sonrasında tuba Eustachii fonksiyonunda meydana gelen düzelmelerin enfeksiyöz uyarının ortadan kalkmasına bağlı olduğu düşünülmektedir(2).

ASOM patolojisi hakkındaki bilgilerin çoğu, deneysel hayvan modellerinden ve temporal kemik preparatlarından elde edilmiştir. Deneysel çalışmalarda orta kulak mukozasında ödem, hiperemi, PNL infiltrasyonu sonucu oluşan subepitelyal ödem ve hemoraji, kapiller genişleme, inflamatuvar hücre ve eritrosit infiltrasyonu, orta şiddette epitelyal metaplazi, mukoperiostal kalınlaşma ve osteit kaydedilmiştir (7). Paperella ve ark., otitis mediada hastalığın ASOM'dan, sekretuar otitis mediaya veya kronik süpüratif otitis mediaya ilerlediğini ve tekrarladığını tesbit etmişler ve mukoperiosteal hastalığın devamlılık gösterdiği sonucuna varmışlardır (29).

AOM, tuba Eustachii, timpanik kavite ve TM'de mukozal inflamasyon şeklinde başlar. Mukozada önce hiperemi, sonra ödem gelişir. Başlangıçta gelişen ödeme PNL'ler, makrofajlar ve lenfositler eşlik eder. Bu sırada timpanik kavitede inflamasyona bağlı diffüz siliyer paralizisi ve periostit oluşur. Orta kulak mukozasında hipertrofi ve kuboid epitel metaplazisi gelişir. Erken dönemde orta kulakta henüz sıvı birikimi yoktur. Bu evrede yapılacak otoskopik muayenede TM'nin sağlam, hiperemik veya mat olduğu görülebilir. Bu inflamatuvar süreç, timpanik kavite mukozasından mastoid hava hücrelerini döşeyen mukozaya doğru ilerler. Daha sonra timpanik kavitedeki hava absorbe olur ve yerine seröz, hemorajik ve pürülan eksüda dolar. Bu eksüda, sekretuar hücrelerden salınan mukus, kapiller lümeninden sızan serum, lökositler, eritrositler, bakteriler ve tahrip olan epitel hücrelerinden oluşur. Timpanik kavitede bu eksüdanın birikmesiyle birlikte orta kulak içinde basınç artmış olur ve kavitenin esnek duvarı olan TM dışarı doğru itilir. Tedavi olmayan olguların %30'unda TM perforasyon olur ve kavitedeki eksüda dış kulak kanalına akar. Hastalığın bu evresi süpürasyon dönemi olarak da ifade edilebilir. Hastaların bir kısmında ASOM spontan iyileşirken, üçte birinde bir ay sonra timpanik kavitede sıvı varlığı ve 20 dB HL'ye varan iletim tipi işitme kaybı devam eder. ASOM'da, mastoid kavite mukozası hemen

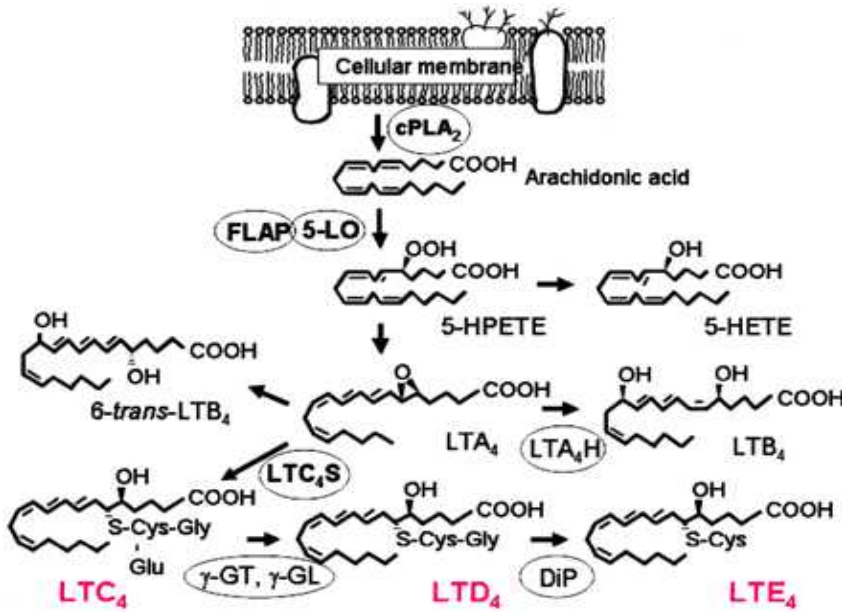
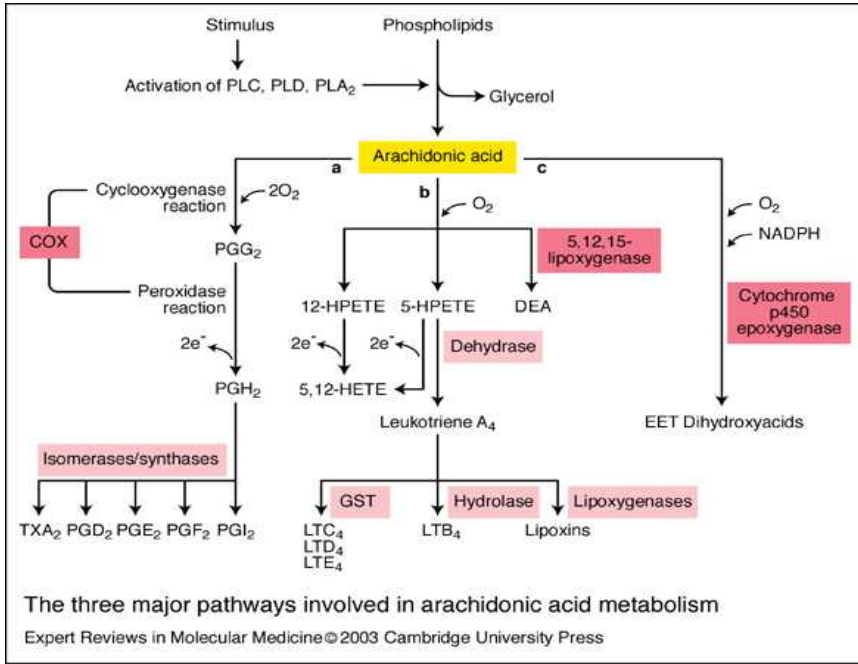
daima inflamatuvar sürece katılmaktadır. Çoğu olguda mastoid kavite normale dönmekle birlikte bazı hastalarda kolesterol granulomatozları ve hava hücrelerinin fibrotik sklerozu gelişebilir (6,7).

Serum ve orta kulaktaki infeksiyon sonrası ortaya çıkan bağışıklık reaksiyonları, otitis media patogeneğinde rol oynamaktadır. Orta kulak mukozasının sekretuar bir bağışıklık sistemine sahip olduğu bilinmektedir. Akut veya kronik bir infeksiyonda orta kulak mukozasına yerleşen antijenler; makrofajlar, mast hücreleri, T lenfositler, eozinofiller ve nötrofillerin aktivasyonuna neden olur. Orta kulak boşluğunda biriken sıvıda çeşitli immunglobulinler (Ig), inflamatuvar mediatörler (interlökin, interferon, LT vb.), oksidatif ve hidrolitik enzimler (laktat dehidrogenaz, esteraz vb.), humoral ve selüler faktörler (kompleman, kemotaktik maddeler, prostoglandinler vb.) saptanmıştır. Serumda ve orta kulakta çeşitli antijenlere karşı gelişen bağışıklık yanıtı, daha sonra oluşacak infeksiyonları önleyebilir, orta kulakta biriken efüzyonu giderebilir ya da orta kulak boşluğunda sıvıların birikiminde veya kalıcı olmasında rol oynayabilir. Orta kulak mukozasının Ig A, M, D, G ve E salgıladığı bilinmekle beraber, ASOM patogeneğinde baskın rol oynayan antikör Ig G'dir. Antikorlar, hastanın serumunda veya orta kulak sıvısında saptanabilirler (5).

4.4 Cystenil Lökotrienler

Timpanik kavite mukozasına antijenin yerleşmesi ve akut inflamatuvar hücrelerin buraya göç etmesi ile inflamasyon başlar. Aktive olan bu hücrelerden peptid, glukopeptid ve fosfolipid yapısında birçok inflamatuvar mediatör salgınır. Vazoaktif aminler, plasma proteazları, araşidonik asit metabolitleri, platelet aktive edici faktör (PAF), sitokinler, serbest radikaller ve lizozomal enzimler oluşan efüzyon sıvısında varlığı kanıtlanmış inflamatuvar mediatörlerdir (30). Bu mediatörlerin salınımı daha çok inflamatuvar hücreyi aktive eder ve daha fazla mediatör salınarak bir kısır döngüye girilmiş olur (30).

Araşidonik asit metabolitleri, membran fosfolipidlerinden salınır. Membran fosfolipidleri, fosfolipaz A2 (FLA2) enzimi ile parçalanır ve araşidonik asit oluşur. Araşidonik asit, lipoksijenaz enzimi ile parçalanırsa LT'ler, sikloksijenaz enzimi ile parçalanırsa prostaglandinler (PG) ortaya çıkar (Şekil1).



Şekil1. Membran fosfolipidlerinden araşidonik asit metabolitlerinin ve cystenil lökotrienlerin oluşumu (83).

Araşidonik asit, 5-lipoksijenaz yoluyla parçalandığı zaman 5-hidroperoksi-eikosatetraenoik asite (5-HPETE) dönüşür, bu stabil olmayan bir moleküldür ve hızla LTA₄'e metabolize olur. Nötrofillerde, LTA₄ hidrolize olarak LTB₄ oluşurken, eozinofil, bazofil, mast hücreleri ve makrofajlarda ise LTA₄'den glutatyon çıkararak LTC₄ sentetaz enzimi ile LTC₄ oluşur (Şekil 1). LTC₄ hücre yüzeyine taşınır ve γ -glutamil transpeptidaz (γ -GT) enzimi ile LTD₄'e metabolize olarak ekstraselüler ortama salınır. LTD₄ bir depeptidaz ile LTE₄'e dönüşür. LTC₄, D₄ ve E₄ cys LT'ler olarak adlandırılırlar. Peptit konjuge lipidlerdir ve aktive olmuş eozinofil, bazofil, mast hücreleri ve makrofajlardan salınırlar. İlk olarak intestinal ve bronşiyal düz kaslardaki kontraktil özellikleriyle keşfedilmişlerdir, son dönemde ise potent inflamatuvar mediatörler arasında sayılmaktadırlar. Etkilerini tip 1 ve tip 2 olmak üzere iki reseptör üzerinden gösterirler (cys-LT1 ve cys-LT2). Bunlar G protein bağımlı reseptörlerdir . Cys LT'lerin, cys-LT1 ve cys-LT2 reseptörü üzerinden etkileri tablo 1'de gösterilmiştir (33):

Tablo 1. Cystenil lökotrienlerin cys-LT1 ve cys-LT2 reseptörü üzerinden etkileri

	<u>cys LT1</u>	<u>cys LT2</u>
Vasküler yapılar ve düz kaslar	vasküler permeabilite artışı bronkokonstrüksiyon	endotelial aktivasyon
İmmun yanıt	dentritik hücre maturasyonu ve migrasyonu	
İnflamasyon	makrofaj aktivasyonu eozinofilik sitokin sekresyonu mast hücre sitokin sekresyonu mukosilier disfonksiyon havayolunda mukus sekresyonu	makrofaj aktivasyonu mast hücre sitokin sekresyonu
Doku tamiri	düz kas proliferasyonu	fibrozis

Tuba Eustachii'nin en önemli fonksiyonlarından biri olan mukosilyer klirenste bozukluk olması durumunda, inflamasyonla oluşan sıvı atılamaz ve orta kulakta sıvı birikimi ortaya çıkar. Orta kulaktan tuba Eustachii yoluyla sıvı atılımı, yutkunma esnasında tensor veli palatini kasının kasılması ile birlikte tuba Eustachii'yi döşeyen siliyalı hücrelerin mukosilyer aktivitesi ile olmaktadır (31,32). Orta kulakta var olan aktif inflamasyon ile mukosilyer klirenste ortaya çıkan disfonksiyonun yakın ilişkisi bulunmaktadır. İnflamasyon sırasında ortaya çıkan ve efüzyon sıvısında varlığı kanıtlanan immün mediatörlerin, mukosilyer disfonksiyondan sorumlu oldukları düşünülmektedir (20). LT'lerin ve PG'lerin tuba Eustachii üzerine etkilerinin belirlenmesi, EOM patogenezinin anlaşılmasında önemli bir basamaktır. LTD4'ün mukosilyer aktiviteyi baskıladığı Jung ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada gösterilmiştir (33). Ayrıca LTC4 ve D4'ün insan bronş mukozasında doz bağımlı olarak glikoprotein sekresyonunu artırdığı ve mukosiyer aktiviteyi baskıladığı gösterilmiştir (34).

Ganbo ve ark., LTC4 ve D4'ün tuba Eustachii'nin mukosilyer klirensi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sağlıklı kobayların timpanik orifislerinden ve tuba Eustachii'nin kemik kısmından siliyalı epitel diseke edilmiş, hazırlanan LTC4, LTD4 ve PGE2 süspansiyonları ile inkübe edilmiş ve siliyalı epiteldeki siliyer aktivite fotoelektriksel olarak ölçülmüştür (20). PGE2'nin geri dönüşümlü olarak mukosilyer aktiviteyi artırdığı, LTC4'ün mukosilyer aktiviteyi başlangıçta artırmışken uzun dönemde inhibe ettiği, LTD4'ün ise mukosilyer aktiviteyi belirgin olarak inhibe ettiği tesbit edilmiştir. Kontrol solusyonunun ise siliyer aktivite üzerine hiçbir etkisi olmamıştır. Ayrıca sağlıklı çinçillalara LTC4, LTD4, PGE2 ve kontrol solusyonları transbullar olarak enjekte edilmiş, PGE2 enjeksiyonu sonrası timpanogramlarda görülen effüzyon bulguları 7. günde normale dönmüştür. LTC4 verilen grupta, 14. günde, LTD4 verilen grupta ise 21. günde tüm timpanogramlar normale dönmüştür. Enjeksiyon öncesi yapılan ABR'lerde eşik değerler açısından gruplar arasında anlamlı fark yokken, enjeksiyon sonrası PGE2 ve kontrol grubunda eşik değerlerde anlamlı değişme saptanmamış, LTC4 ve LTD4 verilen

gruaplarda ise eşik değerlerde anlamlı yükselme bulunmuştur. Ondördüncü günde, yükselen değerler normale dönmüştür. Transbullar olarak verilen LT'lerin yuvarlak pencereden iç kulağa geçtiğini gösteren çalışmaya dayanarak (37), bu etki ile LT enjeksiyonu sonrası ABR eşiklerinde yükselme olabileceği düşünülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalarda LTC4'ün, insan nazal (35) ve tavuk trakeal (36) epitelinde invitro olarak siliyer aktiviteyi baskıladığı gösterilmiştir. LTC4 ve LTD4'ün vasküler permeability ve mukus sekresyonunu artırdığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (38,39). Hem mukozada oluşan değişiklikler, hem de tuba Eustachii'de gelişen relatif bir obstruksiyon sonucu orta kulakta sıvı birikmekte ve düzelmesi gecikmektedir.

Lee ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, orta kulağa verilen LT ve PG gibi araşidonik asit metabolitlerinin, verildikten otuz dakika sonra yuvarlak pencere membranından geçerek kokleada perilenfatik alana ulaştıkları gösterilmiştir (24). Bu metabolitler yirmi karbonlu yağ asitleridir; düşük moleküler ağırlıkları ve lipid yapıları sayesinde kolaylıkla yuvarlak pencere membranından geçebilmektedirler. Yine Lee'nin daha önce yaptığı bir çalışmada da salisilat ototoksitesinin perilenfte bulunan düşük düzeydeki PG'ler ve yüksek düzeydeki LT'lerden kaynaklandığı saptanmıştır (40). Otitis media sonrası oluşan sensorinöral işitme kaybının patogenezinde de LT'lerin rol aldığı düşünülmektedir.

Tada ve ark.'nın yaptığı çalışmada orta kulağa LTD4 ve izotonik NaCl verilmiş, izotonik NaCl verilen kontrol grubunda herhangi bir etki görülmezken LTD4 verilen grupta, doza bağımlı olarak artan sürelerde EOM geliştiği gösterilmiştir (41).

Cys LT'lerin düz kas hücreleri ve inflamatuvar hücreler üzerindeki etkilerinden dolayı astım ve alerjik rinit patogenezinde rol oynadıkları saptanmıştır (42). Astımda LT'lere bağlı etkiler havayolu ödemi, düz kas kontraksiyonu, inflamatuvar hücre aktivasyonu ve mukosiliyer aktivitede azalmayı kapsar. Alerjik rinitte ise cys LT'ler alerjenle karşılaştığında nazal mukozadan salgılanır, erken ve geç faz alerjik reaksiyonlarda rol oynar ve alerjik rinitteki semptomlardan sorumludurlar (42).

Warng Perng ve ark.'nın yaptığı çalışmada LTC₄'ün havayolu epitel hücrelerinin p38 kinaz yolu aracılığıyla TGF- β 1 (Tumor growth factor) salınımını artırarak fibrozise neden olduğu gösterilmiştir (43). LTC₄ ve LTE₄ SRS-A (slow-reacting substance of anaphylaxis) olarak da adlandırılırlar ve astım patofizyolojisinde kilit rol oynarlar (44).

Başlangıçta cys LT'lerin alerjik astım gibi atopik hastalıkların immunpatogenezinde rol aldıkları gösterilmişse de, bu mediatorlerin alerjik olmayan akut ve kronik inflamasyon, kardiyovasküler hastalıklar, otoimmün hastalıklar, bazı maligniteler gibi hastalıkların etiyolojisinde de önemli rol oynadıkları fikri giderek yaygınlaşmaktadır (45). İnsan nötrofilleri LTC₄ sentetaz enzimi taşımadıkları için cys LT sentezi yapamazlar, ancak nötrofillerin taşıdıkları G protein/fosfolipaz C membran reseptörlerine, LTC₄ ve LTD₄ bağlanarak nötrofilleri aktive ederler (46). Theron ve ark., sağlıklı insanların venöz kanlarından toplanan nötrofillere LTC₄ ve LTD₄ solusyonları vermişler, hücrelerin sensitize olduklarını, superoksit, MMP-8 (matriks metalloproteinaz 8) ve elastaz sentezlediklerini, kemotaktik mediatörler salgıladıklarını göstermişlerdir (47).

4.5. Montelukast Sodyum

Montelukast Na, selektif bir cys LT₁ reseptör antagonistidir. Bu reseptöre bağlanarak cys LT'lerin bağlanmasını engeller ve antagonistik etki gösterir (42). Ayrıca in vitro olarak 5-lipoksijenaz aktivitesini direkt olarak inhibe ettiği de yapılan bazı çalışmalarda ortaya konmuştur (48).

Literatüre bakıldığında montelukast tedavisi alan çocuklarda serum endotelin-1 seviyelerinin azaldığı saptanmıştır (49). Bu çalışmada ayrıca montelukastın bradikinine bağlı bronkospazmı azalttığı (50), nörokinin bağımlı bronkokonstrüksiyonu azalttığı (51) ve konsantrasyona bağlı olarak eozinofil transmigrasyonunu inhibe ettiği görülmüştür (52). Ayrıca nötrofil bağımlı mekanizma ile oluşan doku harabiyetini önlediği gösterilmiştir (53). Bunun yanında p53 bağımlı yolla T hücre apoptozunu artırdığı (54), periferik damarlardaki mononükleer lökositlerden interlökin-10 salınımını artırdığı (55) ve astımlı çocuklarda hava yolundaki inflamasyonu

azaltarak ekspirasyonla atılan havada nitrik oksit konsantrasyonunu azalttığı gösterilmiştir (56).

Cys LT'lerin alerjik rinit ve astım patofizyolojisinde kilit rol oynadıkları yapılan birçok çalışma ile tesbit edilmiştir. Bu nedenle montelukast ve diğer LT antagonistleri, 1990 yılının başlarında, inhale kortikosteroidler, β 2 agonistler gibi astımda çok sık kullanılan ilaçlara alternatif olarak astım tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Küçük çocuklarda kolaylıkla ağızdan alınabilmeleri, geniş terapötik etkilerinin olması, terapötik konsantrasyonlarda düşük toksik etkilerinin bulunması, bu ilaçların hızla rutin olarak astım tedavisinde kullanılır hale gelmesine neden olmuştur. Montelukast, 6-14 yaş arası çocuklarda kalıcı ve tekrarlayıcı astım semptomlarında (57), 2-5 yaş arası çocuklarda kalıcı veya tekrarlayıcı astım semptomlarında (58,59), 6-24 aylık çocuklarda ise astım benzeri semptomların olması durumunda kullanılmaktadır (60). Üçyüz ile altıyüz arası çocukta ve infantta yapılan çalışmalarda, montelukastın astım semptomlarını anlamlı derecede azalttığı gösterilmiştir. Özellikle 6-24 aylık infantlarda yapılan bir çalışmada, çocukların montelukastı çok iyi tolere ettikleri, oldukça güvenli olduğu ve ortaya çıkan yan etkilerin plasebo grubu ile benzer olduğu gösterilmiştir (60). Epidemiyolojik çalışmalar, viral üst solunum yolu infeksiyonlarının çocukluk çağı astım ataklarında %85 etken olduğunu ortaya koymaktadır (44). Infantlarda görülen respiratuar sınısityal virüs infeksiyonlarında, cys LT'lerin salındığı ve patolojide rol oynadıkları gösterilmiştir. Üst solunum yolu patojenlerinin tuba Eustachii yoluyla orta kulağa geçerek burada hastalık tablosu ortaya çıkardıkları göz önüne alındığında, benzer etkilerin orta kulakta da görüleceği düşünülebilir.

Montelukast Na, 1997 yılının başından itibaren alerjik rinit tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır ve şu anda bu endikasyonla dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır (61). Allerjenle sensitize olan mast hücrelerinden cys LT'ler salınmakta, bu da nazal mukozal hücrelerden mukus sekresyonunda, vasküler permabilitede, eozinofil kemotaksisinde artışa ve düz kaslarda kontraksiyona neden olarak alerjik rinit patogeneğinde rol oynamaktadır. Montelukast cys-LT1 reseptörüne bağlanarak alerjik rinit tedavisinde etkisini göstermektedir. Montelukastın alerjik rinit tedavisinde, antihistaminikler, inhale steroidler ile kombine veya

ayrı ayrı kullanıldığında etkin olduğu gösterilmiştir (61). Bu çalışmalar erişkinler üzerinde yapılmış olup, astım tedavisinin aksine pediatrik grup üzerinde alerjik rinit açısından yapılan yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bunun yanında montelukastın nazal mukosilyer klirensi artırarak alerjik rinit tedavisinde etkili olduğu düşünülmektedir. Saieed ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, iki hafta önce üst solunum yolu infeksiyonu geçiren kişiler iki gruba ayrılmış, tek doz montelukast tedavisi öncesi ve iki saat sonrası sakarin testi yapılarak mukosilyer klirens ölçülmüştür (42). Bu çalışmada montelukastın plaseboya göre anlamlı derecede sakarin transit zamanını kısalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, Sabater ve ark., tek doz profilaktik montelukast tedavisinin, koyun trakeasında, antijen bağımlı mukosilyer disfonksiyonu anlamlı derece azalttığını tesbit etmişlerdir (19).

Literatüre bakıldığında alerjik rinit, alerjik bronşial astım ve otitis media ilişkisini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Nazal alerji, kronik sekretuar otitis media için önemli bir predispozan faktördür (62). Nazal mukozada alerjenle karşılaşma sonrası mukozal mast hücrelerinden birçok immun mediatör salgılanmakta, bunlar vasküler permeabilite artışı, mukozal kan akımı artışı ve en önemlisi mukus salgılamada artışa neden olmakta ve böylece nazal obstruksiyon oluşmaktadır. Tuba Eustachii fonksiyonları, direk olarak mediatörlerin etkisi ile veya indirek olarak nazal obstruksiyon nedeniyle etkilenmekte ve tubal obstruksiyon ortaya çıkmaktadır (62,63). Bu da orta kulakta negatif basıncı artırmakta, ventilasyonu bozarak inflamasyon, mukozal metaplazi, glanduler aktivite artışı ve kronik EOM oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, üç yaş üzeri kronik otitis media geçiren çocuklarda, %40-50 oranında alerjik rinit olduğunu göstermektedir (64,65).

Geçirilen viral üst solunum yolu infeksiyonları da nazal mukoza ve nazofarenkste oluşturdukları inflamasyon sonucu tuba Eustachii fonksiyonlarını bozmak suretiyle orta kulakta efüzyona neden olmaktadır (64,66). Burada da patogeneizde en önemli rolü, immun mediatörler oynamaktadır.

Allerjik astım ve otitis media birlikteliği de klinikte sık görülen bir durumdur. Balatsouras ve ark.'nın yaptıkları bir klinik çalışmada, bilateral EOM ile birlikte astımı olan 50 çocuk hasta iki gruba ayrılmıştır. Birinci

gruba inhaler budesonid ve terbutalin tedavisine ek olarak montelukast, ikinci gruba ise sadece inhaler tedavi verilmiştir. Tedavi öncesi ve sonrası timpanogram ve saf ses odyometrisi ile değerlendirme yapılmış ve 30 günün sonunda birinci grupta %60, ikinci grupta %36 oranında efüzyonun düzeldiği görülmüştür (67). Yapılan çalışmalar, özellikle alerjik hastalık öyküsü olan çocuklarda LT antagonistlerinin orta kulak efüzyonunun giderilmesinde etkili olduğu yönündedir.

Literatüre bakıldığında, son dönemde montelukastın duodenal eozinofili, dispepsi, hepatik fibrosis, hepatopati, kardiyovasküler hastalıklar, aterogenezis, strese bağlı gastrit, fokal serebellar iskemi gibi çok çeşitli hastalıktaki etkilerine yönelik bir çok çalışma yapıldığı görülmektedir (68-74).

Montelukast oral olarak kullanılan bir ilaçtır. Bildirilmiş yan etkileri arasında baş ağrısı, abdominal ağrı ve farenjit bulunmaktadır. Yapılan klinik çalışmalarda bu yan etkilerin plasebodan daha fazla olmadığı gösterilmiştir (44). Renal ve hepatik hastalığı olanlarda doz ayarlaması gerekmemektedir.

5.GEREÇ VE YÖNTEM

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF) Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulu onayı (4/7/2008 tarih ve 87 sayılı, 55/2008 protokol numaralı yazı) alındıktan sonra DEÜTF Multidisipliner Laboratuvarı'nda üretilmiş olan ve ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen Winstar ratlar çalışmaya alındı.

5.1 Otomikroskopik Bakı ve Streptokokus Pneumonia Enjeksiyonu

Intraperitoneal 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar®, Pfizer Warner Lambert, ABD) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid (ksilazol, Provet Veteriner ürünleri Sanayi İstanbul, Türkiye) enjeksiyonuyla sağlanan anestezi sonrası tüm hayvanlara otomikroskopik bakı yapıldı (Resim 5) ve kulağında otit olmayan 56 ratın 83 kulağı çalışmaya dahil edildi. Bir kulağında otitis media saptanan ratların tek kulağı, hiç otitis media olmayan ratların ise her iki kulağı çalışmaya alındı. Aynı gün içinde tüm ratlara otomikroskopik görüş altında kulak spekulumu kullanılarak transtimpanik olarak 0,03 ml (10^9 CFU /ml konsantrasyonda) pnömokok süspansiyonu (ATCC 49619) enjekte edildi. Enjekte edilecek süspansiyonun miktarının çok az olması nedeniyle ve enjeksiyon sonrası TM'den dışarı kaçışını engellemek amacıyla, süspansiyonun bulunduğu insülin enjektörüne 0,5 cc kadar hava çekildikten sonra TM'ye, anteroinferior ve posteroinferior kadranlarda olmak üzere iki delik açıldı (Resim 7,8). Alta açılan delikten 26 G'lik branül ile enjeksiyon yapıldı (Resim 6). Kırksekiz saat sonra anestezi altında ratların otomikroskopik bakıları yapılarak pnömokokal AOM gelişip gelişmediği kontrol edildi (Resim 9). Bu değerlendirme, TM'de matlaşma, kalınlaşma, vaskülarizasyon artışı, pürülan efüzyon olup olmamasına göre yapıldı. Kırksekiz saatin sonunda tüm pnömokok süspansiyonu enjekte edilen kulaklarda AOM oluştuğu görüldü. Hayvanlar, her grupta 14 rat olacak şekilde rastgele dört gruba ayrıldı.



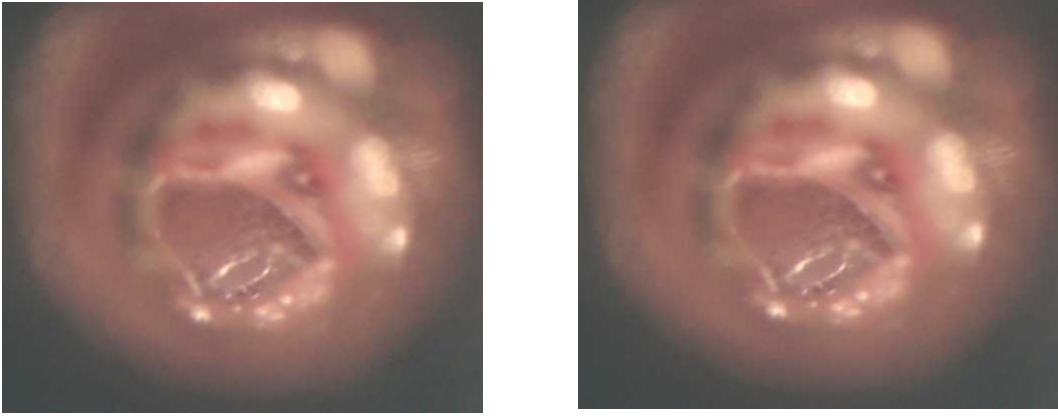
Resim 5. Tüm ratların otomikroskopik incelemelerinin düzeneği



Resim 6. Ratların orta kulaklarına transtimpanik pnömokok enjeksiyonu



Resim 7. Ratların normal orta kulak ve timpanik membranlarının otomikroskopik görünümü



Resim 8. Pnömonokok enjeksiyonu öncesi timpanik membrana açılan delikler



Resim 9. Pnömonokok enjeksiyonu sonrası otitis media oluşmuş timpanik Membran

5.1 Çalışma Grupları

Pnömonokokal otitis media oluşturulan 56 rat rastgele dört gruba ayrıldı.

Grup A Penisilin tedavisi (Penisilin) (n=20) : Bu gruptaki 14 ratın 20 TM'sine yapılan pnömokok enjeksiyonundan 48 saat sonra, 5 gün boyunca intramuskuler penisilin G (Penicillin-G®, Pfizer Warner Lambert, ABD) günde tek doz 160.000 U/kg enjekte edildi. Tedavinin 7. gününde 7 hayvanın 12 kulağı ve 21. günde 7 hayvanın 8 kulağı incelemeye alındı. Otomikroskopik bakıları yapıldıktan sonra hayvanlar sakrifiye edildi ve temporal kemikleri çıkarıldı.

Grup B Penisilin+ Montelukast tedavisi (Pen+Mon) (n=23) : Bu gruptaki 14 ratın 23 TM'sine yapılan pnömokok enjeksiyonundan 48 saat sonra, 5 gün boyunca intramuskuler penisilin G günde tek doz 160.000 U/kg ile birlikte 21 gün boyunca 10 mg/kg dozda intraperitoneal montelukast (Singulair®, Merck Sharp Dohme, ABD) enjekte edildi. Tedavinin 7. gününde 7 hayvanın 12 kulağı ve 21. günde 7 hayvanın 11 kulağı incelemeye alındı. Otomikroskopik bakıları yapıldıktan sonra hayvanlar sakrifiye edildi ve temporal kemikleri çıkarıldı.

Grup C Montelukast tedavisi (Mon) (n=21) : Bu gruptaki 14 ratın 21 TM'sine yapılan pnömokok enjeksiyonundan 48 saat sonra, 21 gün boyunca 10 mg/kg dozda intraperitoneal montelukast enjekte edildi. Tedavinin 7. gününde 7 hayvanın 9 kulağı ve 21. günde 7 hayvanın 12 kulağı incelemeye alındı. Otomikroskopik bakıları yapıldıktan sonra hayvanlar sakrifiye edildi ve temporal kemikleri çıkarıldı.

Grup D plasebo serum fizyolojik enjeksiyonu (plasebo) (n=20) : Bu gruptaki 14 ratın 20 TM'sine yapılan pnömokok enjeksiyonundan 48 saat sonra, 21 gün boyunca 1cc intraperitoneal serum fizyolojik enjekte edildi. Tedavinin 7. gününde 7 hayvanın 10 kulağı ve 21. günde 7 hayvanın 10 kulağı incelemeye alındı. Otomikroskopik bakıları yapıldıktan sonra hayvanlar sakrifiye edildi ve temporal kemikleri çıkarıldı.

Pnömonok enjeksiyonu sonrasında plasebo grubunda bir ratta boyun absesi gelişmesi nedeniyle, penisilin enjeksiyonu sırasında montelukast ve penisilin kombine tedavi grubunda boynundan çok sıkı tutmaya bağlı olarak hayvanın soluksuz kalarak ölmesi nedeniyle iki rat (toplam 3 kulak) çalışma dışı bırakıldı. Hayvanlar çalışma süresince laboratuvar koşullarında pelet yemler ile beslendiler, su ve beslenme serbest bırakıldı.

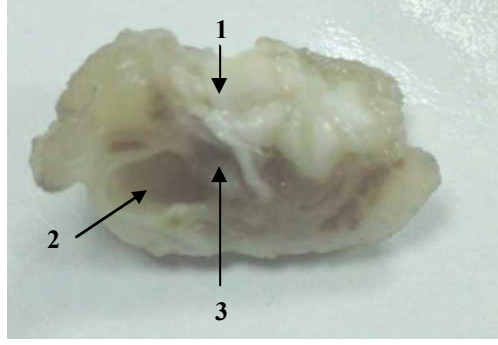
Hayvanlara 7. ve 21. günlerde otomikroskopik bakıları yapıldı. Sonrasında yüksek doz pentotal (Pental® Sodyum, İ.E.Ulagay İlaç Sanayi, İstanbul, Türkiye) (80 mg/kg) enjeksiyonunu takiben ratlar dekapite edildi. Dekapitasyon sonrası mikroskopik görüş altında ratların bullaları çıkarıldı. Bullalar horizontal olarak, uzun eksenleri boyunca mikroskop altında kesilerek ikiye ayrıldı. Yapılan kesinin TM, orta kulak ve bulla mukozasından geçecek şekilde olmasına özellikle dikkat edildi (Resim 10 a,b,c).



Resim 10a. Çıkarılan temporal kemiklerin horizontal olarak ortadan ikiye kesilmesi



Resim 10b

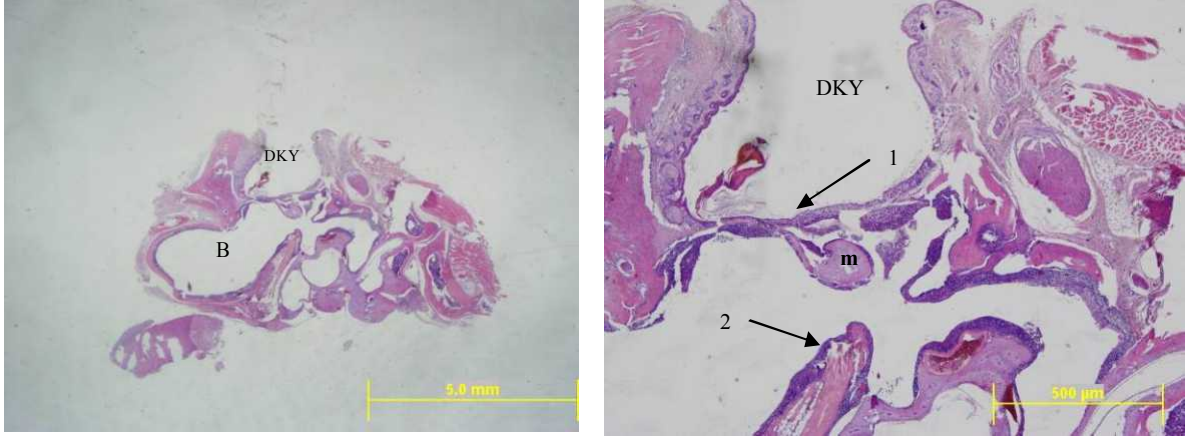


Resim 10c. 1:Dış kulak yolu, 2: Bulla, 3:Orta kulak

5.3. Histopatolojik İnceleme

Çalışmanın histopatolojik hazırlık ve değerlendirme işlemleri DEÜTF Patoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Tüm histopatolojik incelemeler, hangi çalışma grubuna hangi tedavinin uygulandığını bilmeyen aynı patolog tarafından değerlendirildi.

Hazırlanan spesmenler %10'luk formaldehit solüsyonunda fikse edilerek histopatolojik inceleme için ayrıldı. Formol fiksasyonu sonrası dekalsifikasyon amacıyla 24 saat formik asitte tutulan spesmenler daha sonra TM'den geçecek şekilde bir bistüri ile ikiye bölündü ve doku takibinden sonra her iki parçanın kesit yüzü üzerine olacak şekilde yatırılarak parafin bloklar hazırlandı (75). Alınan beş mikrometre kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-eozin (H&E) ve Alcian blue ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (Resim 11a ve b). Mukozada meydana gelen goblet hücre metaplazisinin değerlendirilmesi, Alcian blue boyalı kesitler incelenerek yapıldı. Kesitlerde orta kulak ve bulla mukozası ve TM ayrı ayrı değerlendirildi (Resim 12a).



Resim 11a ve 11b. Kesitlerin H&E ile boyanması, kesitte DKY, TM, orta kulak, kemikçiklerin bir kısmı, bulla ve bazı iç kulak yapıları görülmektedir. (DKY: Dış kulak yolu, B:Bulla, m: Malleus başı, 1: Timpanik membran, 2:Mukoza)

Mukoza ve TM'nin incelenmesi sırasında boyalı kesitlerden elde edilen mikroskopik görüntüler bir kamera (Olympus BX50, Olympus Optical Co, Tokyo, Japan) ile bilgisayara aktarıldı. Kullanılan büyütme göre kalibre edilerek mukozadaki inflamasyon, mukozal kalınlaşma, vaskülarizasyon ve goblet hücre metaplazisi değerlendirildi. Goblet hücre metaplazisinin değerlendirmesi sadece mukozada yapıldı.

Mukozadaki ve TM'deki inflamasyon ayrı ayrı 0-3 arasında bir değer verilerek semikantitatif olarak skorlandı. (İnflamasyon yok:0, hafif inflamasyon:1, orta derecede inflamasyon:2, şiddetli inflamasyon:3)

Mukozadaki ve TM'deki kalınlaşma ayrı ayrı 0-3 arasında bir değer verilerek semikantitatif olarak skorlandı. (Kalınlaşma yok:0, hafif kalınlaşmış:1, orta derecede kalınlaşmış:2, çok kalınlaşmış:3)

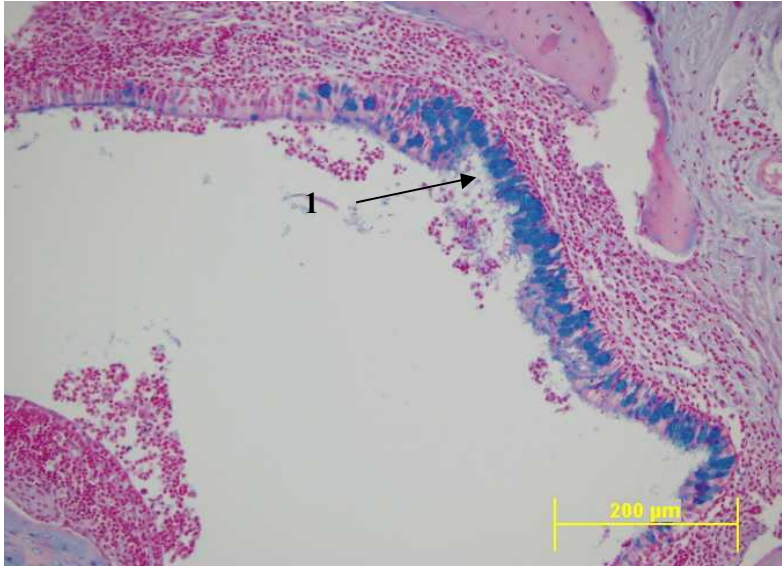
Mukozadaki ve TM'deki vaskülarizasyon artışı ayrı ayrı 0-3 arasında bir değer verilerek semikantitatif olarak skorlandı.

Mukozadaki goblet hücre metaplazisi 0-2 arasında bir değer verilerek semikantitatif olarak skorlandı (Mukozada goblet hücre metaplazisi yoksa:0, <%50 ise:1, >%50 ise:2) (Resim 12b,c). Grupların erken ve geç dönem değerlendirmeleri ayrı ayrı yapıldı. Erken dönemde temporal kemik spesmenlerine yapılan kesiden beş tanesi TM'den, iki tanesi mukozadan geçmemiş olduğu, geç dönemde ise spesmenlerin beş

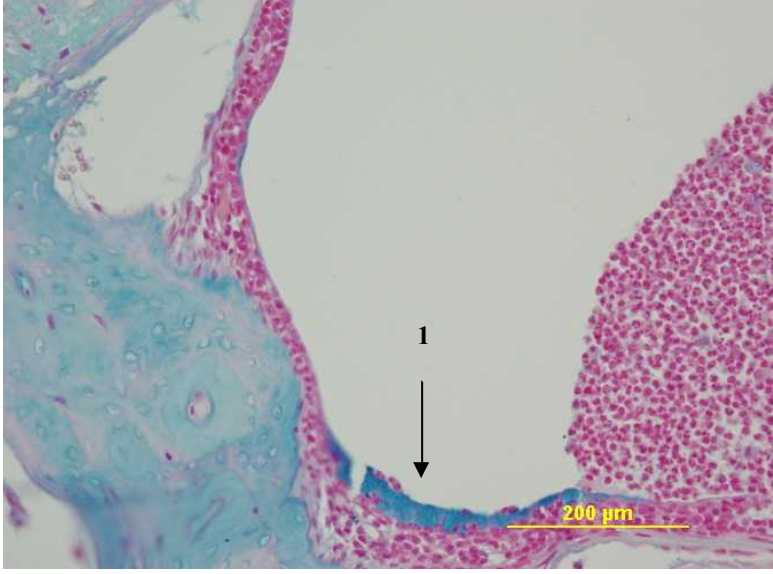
tanesinin TM'den geçmemiş, iki tanesinin de mukozadan geçmemiş olduğu görüldü ve bu spemenlere değerlendirme yapılamadı.



Resim 12a. Kesitlerin Alcian blue ile boyanması



Resim 12b. Grade 2 olarak değerlendirilen goblet hücre metaplazisi örneği (1:Goblet hücreleri)



Resim 12c. Grade 1 olarak değerlendirilen goblet hücre metaplazisi örneği (1:Goblet hücreleri)

Sonuçlar semikantitatif skorlamaya dayalı olduğu için öncelikle grupların verilerinin ortalaması alındı ve Kruskal Wallis testi ile erken ve geç dönem ayrı ayrı olmak üzere gruplar arasında hangi parametrelerde anlamlı farklılık olduğu araştırıldı. Bu aşamada p değerine Bonferonni düzeltmesi uygulandı ve $p < 0,01$ olan değerler istatistiksel olarak daha anlamlı kabul edildi. Daha sonra anlamlı farklılık bulunan parametreler, ikili gruplar arasında erken ve geç dönemde ayrı ayrı Mann-Whitney U testi kullanılarak karşılaştırıldı, $p < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analiz için Statistical Package for the Social Sciences SPSS for Windows ver 11.00 (SPSS Inc,IL,USA) programı kullanıldı.

6. BULGULAR

6.1 Otomikroskopik değerlendirme

Tedavi sonrasında, sakrifikasyondan önce tüm ratların otomikroskopik bakıları yapıldı. Bunun sonucunda TM'lerin bazılarının mat, krutlu, retrakte olduğu; bazılarında ise inflamasyonda belirgin azalma olduğu saptandı. Ancak bu bulgular için herhangi bir istatistiksel analiz yapılmadı.

Sadece Penisilin tedavisi verilen grupta (A Grubu) incelenen 7 ratın 12 kulağında erken dönemde (7. günde); 4 kulakta TM'de inflamasyonun devam ettiği, 2 kulakta TM'nin perfore olduğu, 2 kulağın akıntılı olduğu, 2 kulağın mat olduğu, 2 kulakta ise attikte retraksiyon olduğu görüldü.

Sadece Penisilin tedavisi verilen grupta incelenen 7 ratın 8 kulağında geç dönemde (21. günde); 2 kulakta efüzyonun azaldığı, 1 kulağın mat olduğu, 1 kulakta TM'de retraksiyon olduğu, 4 kulakta ise TM üzerinde yoğun krutlanma olduğu izlendi.

Bu otomikroskopik bulgular aynı hayvanların histolojik bulguları ile karşılaştırıldığında, otomikroskopik olarak efüzyonun azaldığı izlenen ratların histolojik olarak da TM bulgularında belirgin düzelme olduğu, mukozadaki inflamasyonun azalmış olduğu görüldü. TM üzerinde yoğun krutlanma olan ratlarda ise histolojik olarak TM bulgularında belirgin düzelme varken mukozadaki inflamasyonun yoğun olarak devam ettiği saptandı.

Penisilin ve montelukast tedavisinin beraber verildiği grupta (B Grubu) incelenen 7 ratın 12 kulağında, erken dönem (7. gün) bulguları olarak; 5 kulakta TM'de özellikle attikte olmak üzere belli bir alanda sınırlı matlaşma olduğu, 2 kulakta TM'nin retrakte ve mat olduğu, 2 kulakta efüzyonun ilk olduğu döneme göre azaldığı, 2 kulağın mat olduğu, 1 kulakta ise akıntı olduğu tesbit edildi.

Penisilin ve montelukast tedavisinin beraber verildiği grupta incelenen 6 ratın 9 kulağında, geç dönem (21. gün) bulguları olarak; 6

kulakta TM'nin tamamen normale döndüğü, 1 kulağın mat, 1 kulağın retrakte, 1 kulağın ise miringosklerozla iyileşmiş olduğu görüldü.

Bu otomikroskopik bulgular aynı hayvanların histolojik bulguları ile karşılaştırıldığında, otomikroskopik olarak TM'nin normale döndüğü ratların histolojik bulgularının da paralel olduğu, TM kalınlığı ve inflamasyonunda belirgin düzelme olduğu, aynı şekilde mukozadaki inflamasyonun da belirgin derecede azaldığı izlendi. Otomikroskopik olarak miringosklerozla iyileşen ve mat görülen kulaklarda ise histolojik olarak TM bulgularında iyileşme olmakla birlikte mukozal kalınlaşma ve inflamasyonun belirgin şekilde devam ettiği izlendi.

Sadece Montelukast tedavisi verilen grupta (C Grubu) incelenen 7 hayvanın 9 kulağında, erken dönem (7. gün) bulguları olarak; 4 kulakta özellikle attikte olmak üzere TM'de belirli bölgede matlaşma olduğu, 2 kulakta otitin devam ettiği, 1 kulakta inflamasyonun azaldığı, 2 kulakta ise TM'nin retrakte olduğu görüldü.

Sadece Montelukast tedavisi verilen grupta incelenen 7 hayvanın 12 kulağında geç dönem (21. gün) bulguları olarak; 6 kulakta TM'nin tamamen normale döndüğü, 3 kulakta efüzyonun azaldığı, 3 kulağın ise mat olduğu görüldü.

Bu otomikroskopik bulgular aynı hayvanların histolojik bulguları ile karşılaştırıldığında, otomikroskopik olarak TM bulgularının normale döndüğü ratlarda histolojik olarak da TM bulgularının normale yakın olduğu, mukozadaki inflamasyon ve kalınlaşmanın da belirgin derecede azalmış olduğu tesbit edildi. Otomikroskopik olarak mat olan kulaklarda ise patolojik olarak mukozal inflamasyon ve kalınlaşmanın devam ettiği görüldü.

Plasebo olarak serum fizyolojik verilen grupta (D Grubu) incelenen 7 hayvanın 10 kulağında, erken dönem (7. gün) bulguları olarak; 3 kulakta otitin devam ettiği, 3 kulağın mat olduğu, 2 kulakta TM'nin perforé olduğu, 1 kulakta akıntı olduğu, 1 kulakta ise TM bulgularının normal olduğu görüldü.

Plasebo olarak serum fizyolojik verilen grupta (D Grubu) incelenen 6 hayvanın 9 kulağında geç dönem (21. gün) bulguları olarak; 6

kulağın mat olduğu, 2 kulağın retrakte ve krutlu olduğu, 1 kulağın ise efüzyonda azalma olmakla birlikte krutlu olduğu tesbit edildi.

Bu otomikroskopik bulgular aynı hayvanların histolojik bulguları ile karşılaştırıldığında, otomikroskopik bulgulara paralel olarak tüm hayvanlarda TM'de belirgin kalınlaşma ve inflamasyonun devam ettiği, benzer şekilde mukozal inflamasyon ve kalınlaşmanın da belirgin şekilde fazla olduğu görüldü.

6.2 Histopatolojik değerlendirme

Erken dönem (7. gün):

Erken dönemde tüm parametreler için, gruptaki 43 kulağın histopatolojik skorlaması Tablo 2'de gösterilmiştir. Erken dönemde tüm parametreler için grupların ortalama değerleri Tablo 3'de gösterilmiştir. Buna göre gruplar aralarında ve plasebo ile karşılaştırıldıklarında, erken dönemde sadece mukozal vaskülarizasyon açısından anlamlı farklılık varken, TM vaskülarizasyonu, TM inflamasyonu, TM kalınlığı, mukozal inflamasyon, mukozal kalınlaşma ve mukozal metaplazi açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır (Tablo 4).

Tablo 2. Çalışmada erken dönemde gözlenen histopatolojik skorların dökümü

GRUP	Kulak no	TM kal.	TM vask.	TM infl.	Muk. kal.	Muk. vask	Muk. infl.	Sek. Met.
Penisilin	1	3	0	3	3	0	3	0
	2	2	0	2	3	1	2	2
	3	2	0	2	2	0	2	0
	4	0	0	0	1	0	1	1
	5	1	0	1	1	0	1	1
	6	-	-	-	3	1	3	0
	7	0	0	1	1	1	2	1
	8	0	0	0	1	0	1	1
	9	1	1	1	1	1	1	1
	10	3	0	3	3	1	2	0
	11	0	0	0	3	1	2	0
	12	-	-	-	-	-	-	-
Pen+Mon.	13	2	0	2	2	1	2	1
	14	2	0	2	3	1	2	0
	15	0	0	0	1	1	1	1
	16	0	0	0	1	0	1	1
	17	0	0	0	1	0	1	1
	18	0	0	0	1	0	1	1
	19	0	0	0	2	1	2	1
	20	2	2	2	3	2	3	1
	21	1	1	1	1	1	1	1
	22	-	-	-	2	1	2	1
	23	0	0	0	1	0	1	1
	24	3	0	3	3	1	2	1
Mon	25	-	-	-	3	2	3	1
	26	3	2	3	2	2	3	1
	27	0	0	0	0	0	0	0
	28	0	0	0	0	1	1	0
	29	-	-	-	0	0	1	0
	30	2	1	2	2	1	2	1
	31	0	0	0	0	0	1	1
	32	0	0	0	0	0	1	0
	33	1	0	1	0	0	1	1
Plasebo	34	1	1	1	2	2	2	1
	35	1	0	1	3	1	3	0
	36	3	0	3	2	2	2	1
	37	1	0	1	1	1	1	1
	38	2	1	2	2	2	2	1
	39	-	-	-	-	-	-	-
	40	0	0	0	1	2	1	1
	41	1	1	1	1	1	1	1
	42	1	1	1	2	2	2	0
	43	1	1	1	2	2	2	0

Tablo 3. Erken dönemde tüm parametreler için grupların skorlarının ortalamaları

	Pen.	Pen+Mon	Mon	plasebo
TM kalınlığı	1,20±1,22	0,91±1,13	0,86±1,21	1,33±0,86
TM vaskülarizasyonu	0,10±0,31	0,27±0,64	0,43±0,78	0,56±0,52
TM inflamasyonu	1,30±1,16	0,83±1,11	0,86±1,21	1,33±0,86
Mukozal kalınlık	2,00±1,0	1,75±0,86	0,78±1,20	1,78±0,66
Mukozal vaskülarizasyon	0,55±0,52	0,75±0,62	0,67±0,86	1,67±0,50
Mukozal inflamasyon	1,82±0,75	1,58±0,66	1,44±1,04	1,78±0,66
Mukozal sekretuar metaplazi	0,64±0,67	0,92±0,28	0,56±0,52	0,78±0,44

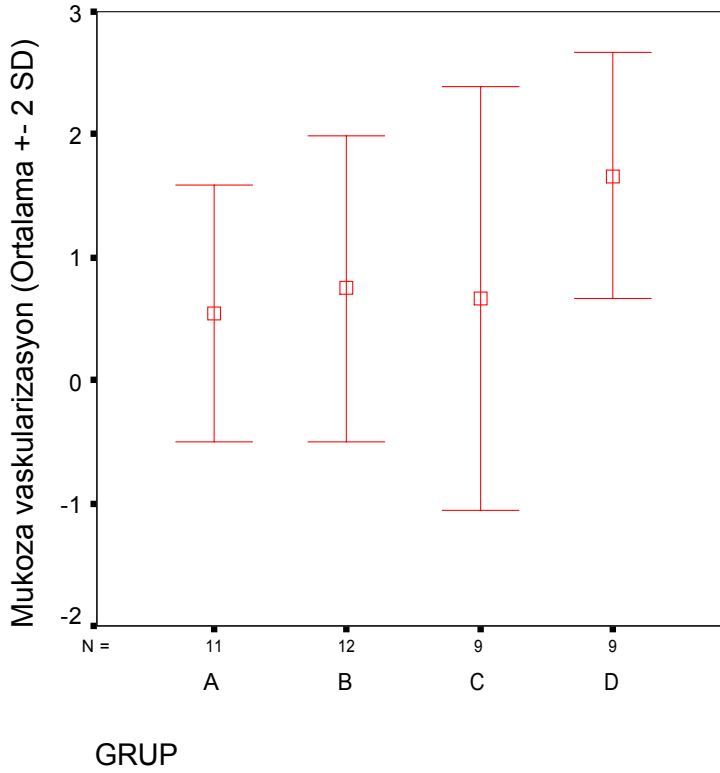
Tablo 4. Erken dönemde gruplar arası farklılık olan parametreler

TM Kalın.	TM Vaskü.	TM İnfla.	Muk. Kalınlı.	Muk. Vaskül.	Muk. İnfla	Muk. metapl
0,631	0,196	0,467	0,068	0,005**	0,619	0,299

*: p<0,05 **: p<0,008

Tablo 5. Erken dönemde mukozal vaskülarizasyon açısından grupların karşılaştırılması

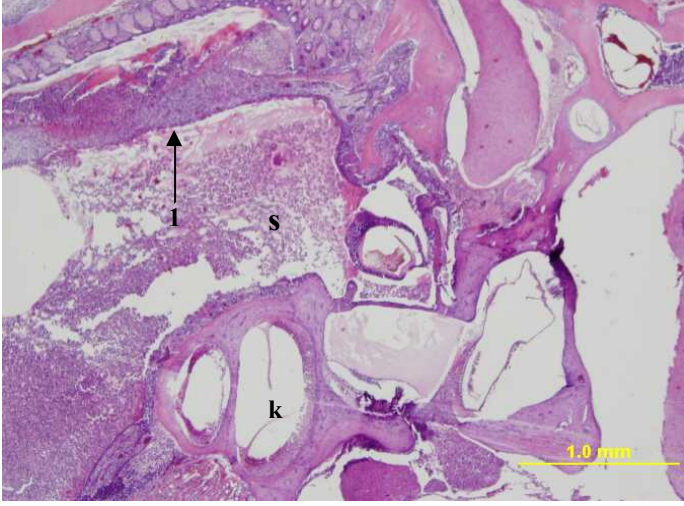
	Mukozal Vaskülarizasyon
Grup A-B	0,438
Grup A-C	0,933
Grup A-D	0,001
Grup B-C	0,642
Grup B-D	0,004
Grup C-D	0,016



Grafik 1. Erken dönem ortalama mukozal vaskülarizasyonun gruplar arası karşılaştırılması (ortalama \pm 2 SD)

Erken dönemde gruplar arasında anlamlı farklılık gösteren parametreler açısından gruplar arası farklar Mann-Whitney U testi ile değerlendirildiğinde; mukozal vaskülarizasyon açısından penisilin grubu ile plasebo grubu ve kombine grup ile plasebo grubu ve montelukast grubu ile plasebo grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görülmüştür. Yani tüm grupların mukozal vaskülarizasyon açısından plasebo grubu ile karşılaştırılmasında anlamlı farklılık varken, gruplar kendi içinde mukozal vaskülarizasyon açısından karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmemiştir (Tablo 5, Grafik 1). Ayrıca erken dönemde mukozal inflamasyonda baskın olan hücrelerin akut inflamatuvar hücreler yani PNL'ler olduğu ve bunlara lenfositlerin eşlik ettiği saptanmıştır.

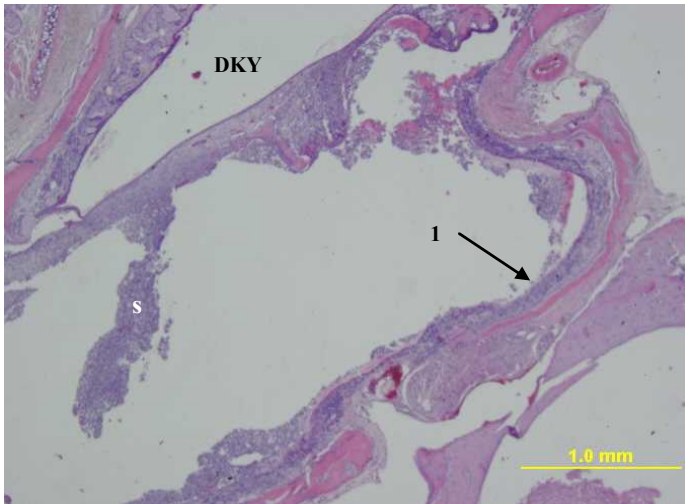
TM kalınlığı, vaskülarizasyonu ve inflamasyonu açısından erken dönemde gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Erken dönemde her gruba ait histopatolojik kesitler resim 13,14,15 ve 16'da gösterilmiştir.



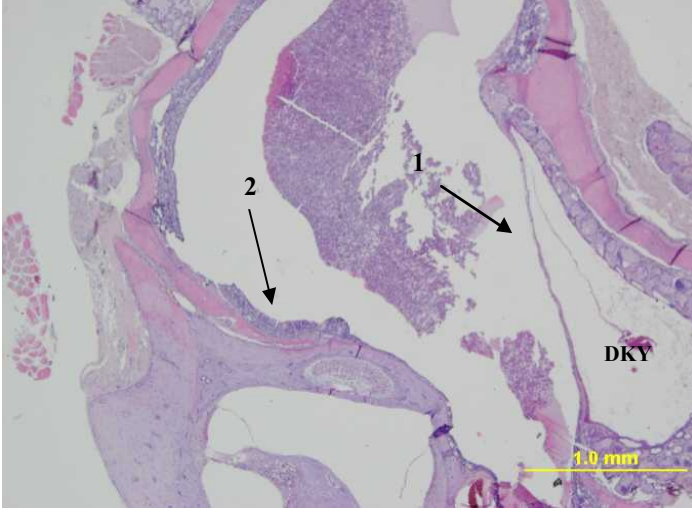
Resim 13. Erken dönemde penisilin grubunun histopatolojik kesiti (1:Orta kulak mukozası, s:orta kulağı doldurmuş sıvı, k:koklea)



Resim 14. Erken dönemde penisilin+montelukast grubundan elde edilen histopatolojik kesit (DKY: Dış kulak yolu, 1:orta kulak mukozası, 2: TM)



Resim 15. Erken dönemde montelukast grubunun histopatolojik kesiti (DKY: Dış kulak yolu, 1: orta kulak mukozası, s: orta kulakta bulunan sıvı)



Resim 16. Erken dönemde plasebo grubunun histopatolojik kesiti (DKY: Dış kulak yolu, 1:TM, 2:orta kulak mukozası, s: orta kulakta bulunan sıvı)

Geç dönem (21. gün) :

Geç dönemde tüm parametreler için, gruptaki 38 kulağın histopatolojik skorlamasının dökümü Tablo 6'da gösterilmiştir. Geç dönemde tüm parametreler için grupların ortalama değerleri Tablo 7'de izlenmektedir. Buna göre TM kalınlığı, mukozal kalınlaşma, mukozal vaskülarizasyon, mukozal inflamasyon açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenirken, TM vaskülarizasyonu, TM inflamasyonu ve mukozal sekretuar metaplazi açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 8). Geç dönemde tüm parametreler için grupların skorlarının ortalama değerleri ve gruplar arası farklılık saptanan parametreler tablo 7 ve 8'de gösterilmiştir.

Tablo 6. Çalışmadaki geç dönem tüm histopatolojik skorlarının dökümü

GRUP	Kulak no	TM kalınlık	TM vask.	TM infla.	Muk. Kal.	Muk. Vask.	Mu k. İnfl.	Muk. Meta.	
Penisilin	1	1	0	1	3	2	3	1	
	2	1	0	1	1	1	1	1	
	3	1	1	1	1	1	1	1	
	4	1	0	0	1	0	1	0	
	5	-	-	-	-	-	-	-	
	6	1	0	1	1	1	1	0	
	7	-	-	-	-	2	1	2	1
	8	-	-	-	-	3	1	3	1
Pen+Mon	9	0	0	0	3	0	2	1	
	10	2	1	3	2	2	3	1	
	11	1	0	1	1	1	1	0	
	12	1	0	1	1	1	1	1	
	13	0	0	0	1	1	1	1	
	14	-	-	-	-	-	-	-	
	15	1	0	0	1	0	1	0	
	16	1	0	0	1	1	2	1	
	17	1	0	0	0	0	1	0	
Mon	18	1	0	0	1	0	1	1	
	19	0	0	0	1	0	1	1	
	20	1	0	0	1	0	1	1	
	21	1	0	1	1	0	1	0	
	22	-	-	-	3	1	3	1	
	23	1	0	0	1	0	1	1	
	24	0	0	0	0	0	1	1	
	25	1	0	0	1	0	1	1	
	26	0	0	0	1	0	1	0	
	27	1	0	1	2	1	2	1	
	28	1	0	0	1	0	1	1	
Plasebo	29	2	0	0	2	1	1	1	
	30	2	0	1	3	1	3	2	
	31	1	0	1	2	0	2	1	
	32	2	0	1	2	1	2	1	
	33	2	0	2	3	1	3	0	
	34	2	0	1	2	1	3	0	
	35	3	0	2	3	1	3	1	
	36	1	1	1	2	1	2	1	
	37	3	0	2	3	1	3	1	
	38	2	1	3	2	1	3	2	

Tablo 7. Geç dönemde tüm parametreler için gruplarda elde edilen ortalama değerler

	Pen.	Pen+mon.	Mont.	SF
TM kalınlığı	1,00±0,00	0,88±0,64	0,82±0,60	2,00±0,70
TM vaskülarizasyonu	0,20±0,44	0,13±0,35	0,09±0,30	0,11±0,33
TM inflamasyonu	0,80±0,44	0,63±1,00	0,45±0,93	1,22±0,66
Mukozal kalınlık	2,00±1,00	1,25±0,88	1,25±0,75	2,44±0,52
Mukozal vaskülarizasyon	1,00±0,57	0,75±0,70	0,25±0,45	0,89±0,33
Mukozal inflamasyon	2,00±1,00	1,50±0,75	1,42±0,76	2,44±0,72
Mukozal sekretuar metaplazi	0,71±0,48	0,63±0,51	0,92±0,51	0,89±0,60

Tablo 8. Geç dönemde gruplar arası farklılık olan parametreler

TM Kalınlaş.	TM vasküla.	TM enflam.	Mukoza Kalınlaş.	Mukoza Vasküla.	Mukoz Enfla.	Mukoza metapl.
0,003**	0,944	0,054	0,007**	0,015*	0,036*	0,611

*: p<0,05 **: p<0,01

Geç dönemde anlamlı farklılık gösteren parametreler açısından gruplar arası karşılaştırılması Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir (Tablo 9).

Tablo 9. Geç dönemde anlamlı farklılık gösteren parametreler açısından grupların karşılaştırılması

	TM kalınlık	Mukoza kalınlık	Mukoza Vaskulari.	Mukoza Enflamas.
Grup A-B (Pen-Pen+mon)	0,620	0,144	0,428	0,308
Grup A-C (Pen-mon)	0,454	0,097	0,010	0,166
Grup A-D (Pen-plasebo)	0,010	0,361	0,641	0,358
Grup B-C (Pen+mon-mon)	0,847	0,928	0,081	0,667
Grup B-D (Pen+mon-plasebo)	0,007	0,007	0,507	0,025
Grup C-D (Mon-plasebo)	0,002	0,002	0,005	0,009

TM kalınlığı açısından tüm gruplar plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Ancak grup A, B ve C birbirleriyle karşılaştırıldığında, aralarında anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo 9, Grafik 2). Geç dönemde TM fibrozis ile iyileştiği için, her üç grupta da uygulanan tedavinin TM fibrozisini azalttığı sonucuna varılabilir.

Mukoza kalınlığı değerlendirildiğinde, grup B ile grup C'de, plasebo grubuna göre mukoza kalınlığında anlamlı derecede azalma görülmüştür ($p=0,007$, $p=0,002$). Grup A'da ise plasebo ile karşılaştırıldığında farklılık saptanmamıştır ($p=0,361$) (Tablo 9, Grafik 3). Buna karşılık her üç tedavi grubu kendi aralarında karşılaştırıldıklarında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmektedir. Ancak Grafik 3'de de görüldüğü gibi grup B ve grup C'de, grup A'ya göre mukoza kalınlığının azalmış olduğu izlenmektedir.

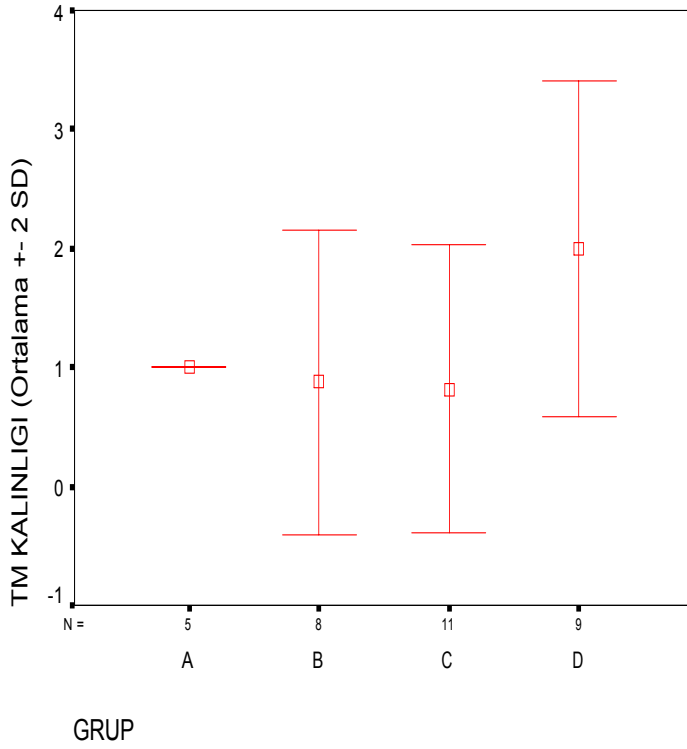
Mukozal vaskülarizasyonda, grup C'de, grup A ve plasebo grubuna göre anlamlı azalma vardır ($p=0,010$, $p=0,005$). Grup A ile grup C arasında, grup B ve grup C arasında, grup B ile plasebo grupları arasında mukozal vaskülarizasyon açısından anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 9, Grafik 4). Grafik 4'de de görüldüğü gibi C grubunda, mukozal vaskülarizasyonun diğer gruplardan daha az olduğu izlenmektedir.

Mukozaal inflamasyon değerlendirildiğinde, grup B ve grup C'de, plaseboya göre belirgin olarak azalma görülmektedir ($p=0,025$, $p=0,009$). Grup A'da ise plasebo ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,358$) (Tablo 9, Grafik 5). Buna karşılik tedavi verilen uę grup kendi içinde karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Geç dönemde, mukozal inflamasyonda baskın olan hücreler tedavi verilen gruplarda mononükleer lökositler, lenfositler ve plazma hücreleri gibi kronik inflamatuvar hücreler iken, plasebo grubunda erken dönemde olduğu gibi polimorfonükleer lökosit ve lenfosit hakimiyeti devam etmektedir. Bu da plasebo grubunda mukozada hala akut inflamasyonun devam ettiğini göstermektedir.

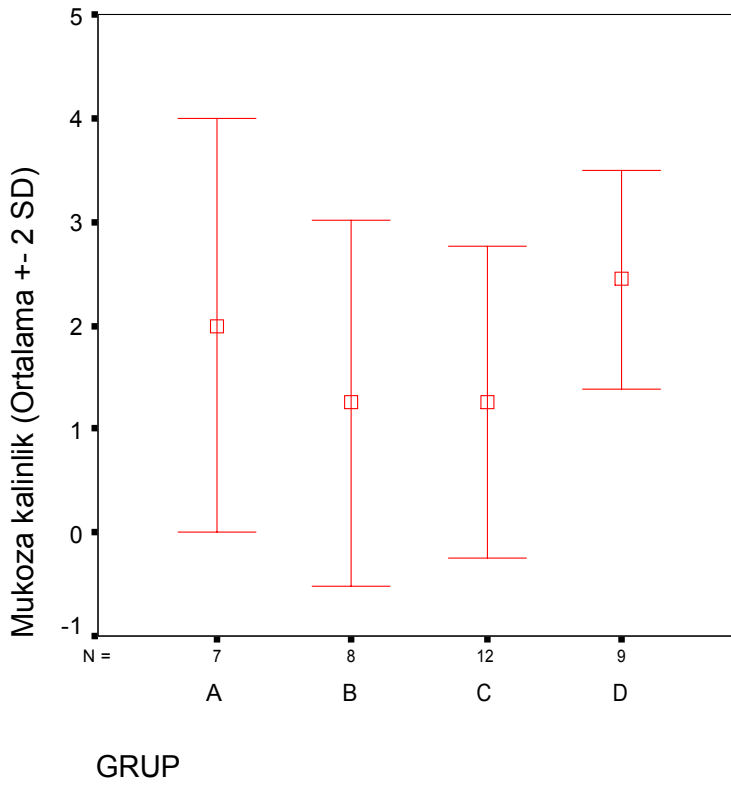
Goblet hücre metaplazisi açısından, hem erken hem geç dönemde, tedavi alan gruplar kendi içinde veya plasebo ile karşılaştırıldıklarında, aralarında anlamlı farklılık saptanmamıştır (Grafik 6). Penisilin tedavisi verilen A ve B gruplarında, Grafik 6'da da grldğu gibi plasebo ve montelukast grubuna göre bir miktar sekretuar metaplazide azalma olduğu izlenmektedir.

TM inflamasyonu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamış olsa da Grafik 7'de grldğu gibi tedavi verilen gruplarda plaseboya göre inflamasyonda azalma vardır.

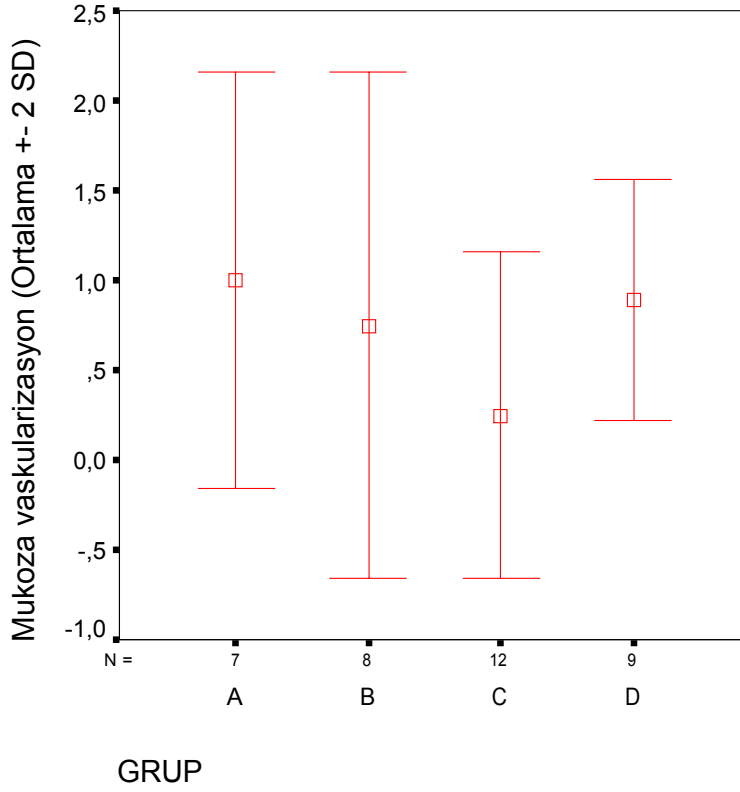
Ortaya ęıkan sonuçlara dayanarak, sadece penisilin tedavisi verildiğinde, TM kalınlığında anlamlı düzelme sağlanırken, orta kulak mukozasında hiçbir düzelme sağlanamadığı söylenebilir. Kombine pen+mon ve sadece montelukast tedavisi ile hem TM bulgularında düzelme sağlanırken, hem de orta kulak mukozasında iyileşme ortaya ęıkmıřtır. Tedaviye montelukast eklenmesinin veya montelukastın tek başına kullanılmasının sadece penisilin tedavisine stnlğu saptanmamıştır. Ancak sadece penisilin tedavisi ile mukoza kalınlığı, vaskülarizasyonu ve inflamasyonu açısından plaseboya üstünlük sağlanamazken, montelukast verilmesi veya tedaviye eklenmesi ile bu parametreler açısından plasebodan daha anlamlı iyileşme sonucu elde edilmiştir. Geç dönemde her gruba ait histopatolojik kesitler resim 17,18,19 ve 20'de gösterilmiştir.



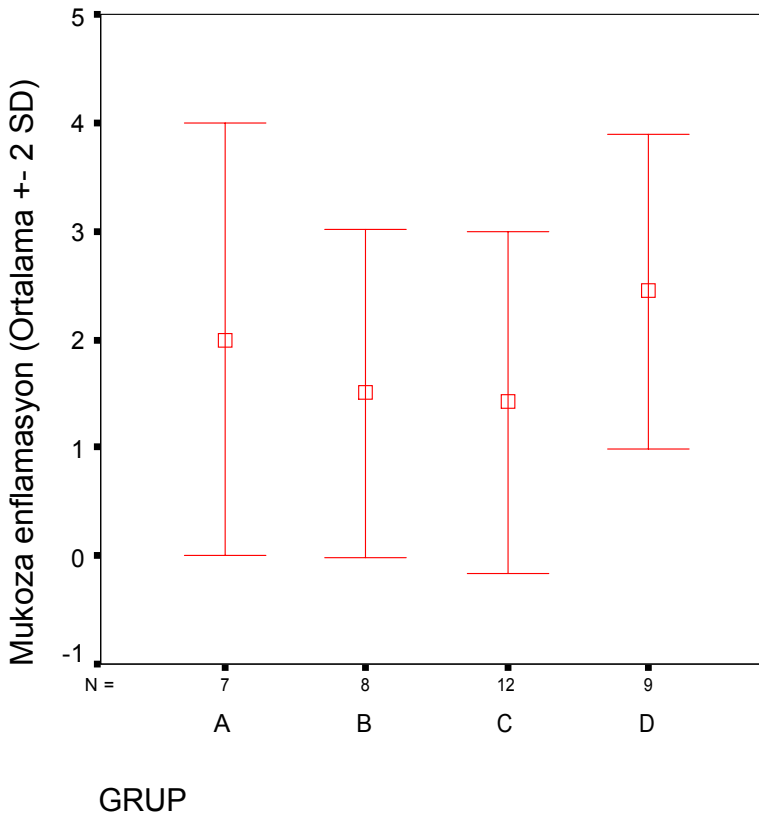
Grafik 2. Geç dönemde TM kalınlığının gruplar arası karşılaştırılması (Ortalama \pm 2SD)



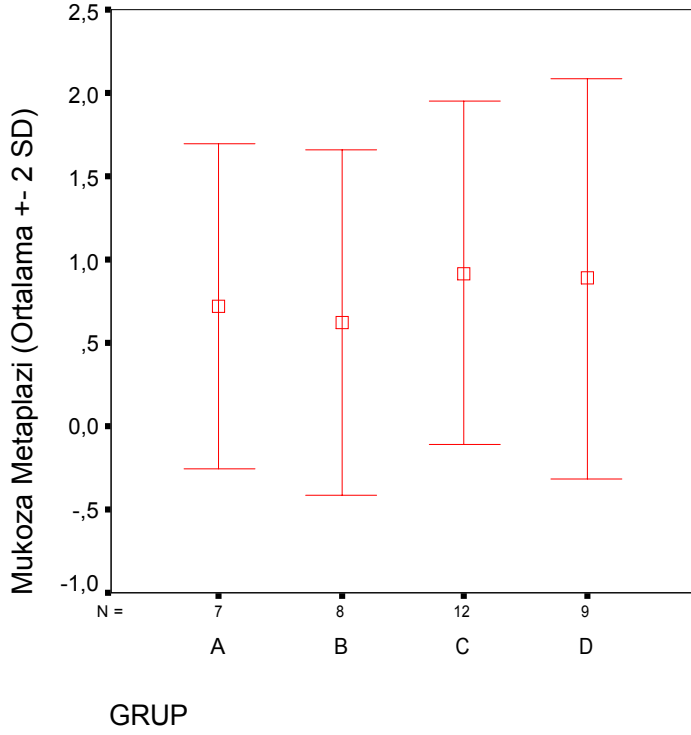
Grafik 3. Geç dönemde mukoza kalınlığının gruplar arası karşılaştırılması (Ortalama \pm 2SD)



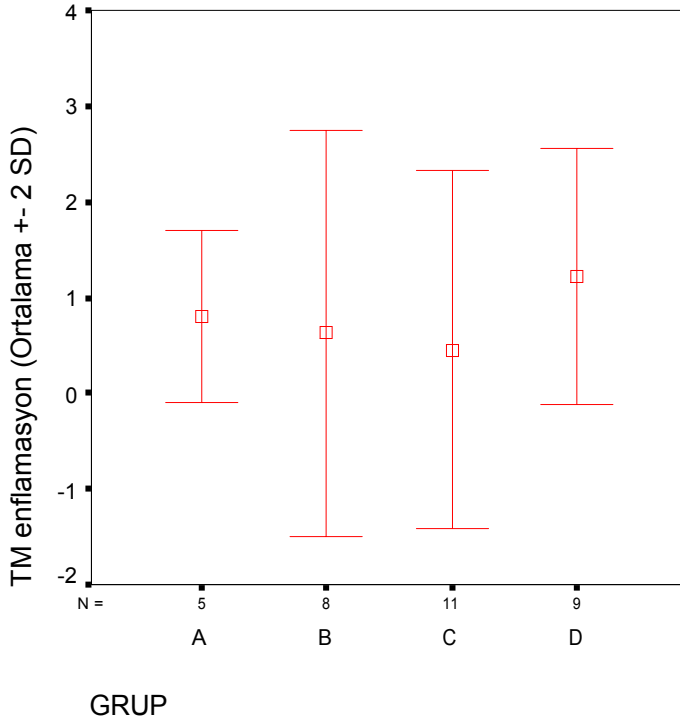
Grafik 4. Geç dönemde mukozal vaskülarizasyonun gruplar arası karşılaştırılması (Ortalama \pm 2SD)



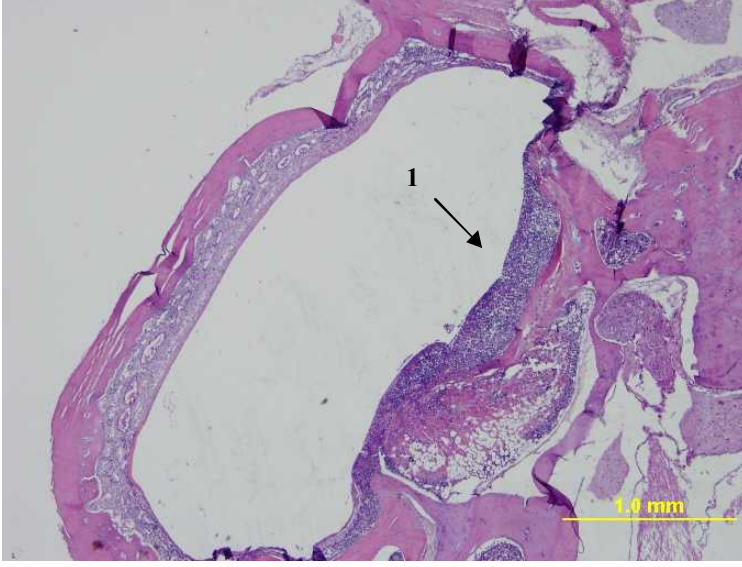
Grafik 5. Geç dönemde mukozal inflamasyonun gruplar arası karşılaştırılması (Ortalama \pm 2SD)



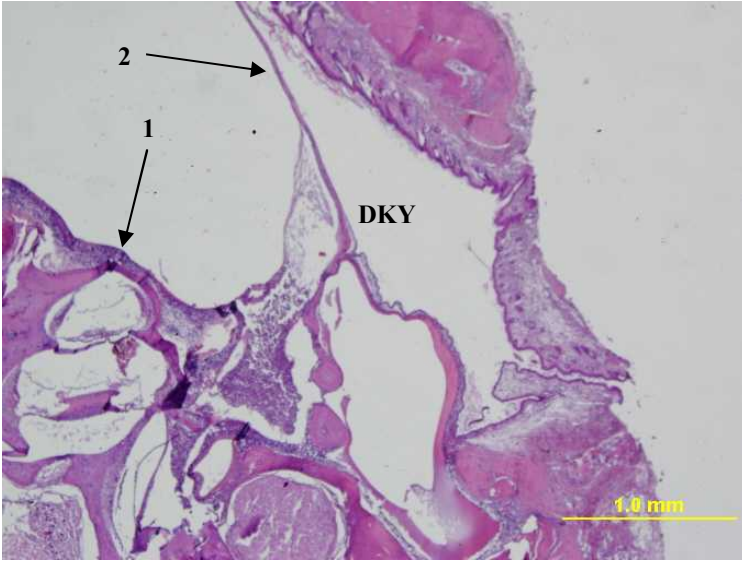
Grafik 6. Geç dönemde mukozal sekretuar metaplazinin gruplar arası karşılaştırılması (Ortalama \pm 2SD)



Grafik 7. Geç dönemde TM inflamasyonunun gruplar arası karşılaştırılması (Ortalama \pm 2SD)



Resim 17. Geç dönemde penisilin grubunun histopatolojik kesiti (1: Orta kulak mukozası)



Resim 18. Geç dönemde pen+mon grubunun histopatolojik kesiti (DKY: Dış kulak yolu 1: Orta kulak mukozası, 2:TM)



Resim 19. Geç dönemde montelukast grubunun histopatolojik kesiti (DKY: Dış kulak yolu 1: Orta kulak mukozası, 2:TM)



Resim 20. Geç dönemde plasebo grubunun histopatolojik kesiti (DKY: Dış kulak yolu 1: Orta kulak mukozası, 2:TM, s:orta kulak boşluğunda bulunan sıvı)

7. TARTIŞMA

Otitis media, orta kulak boşluğunu çevreleyen mukozanın ve bazen de bu mukozanın altındaki periostun inflamasyonudur (1,2). Akut epizod sırasındaki hayatı tehdit edici komplikasyonlar oluşma riskinin yanı sıra, orta kulakta oluşan efüzyonun gerilemesi aylar sürmektedir (4,5). Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, orta kulak mukozasındaki değişiklikler akut enfeksiyon sırasında başlamakta, TM otomikroskopik olarak düzelse bile çalışmaların süresi boyunca mukozal değişimler devam etmektedir (8,10). AOM'de oluşan efüzyonun patogenezi çok komplekstir (5). Viral, bakteriyel ve/veya solunum antijenleri; makrofajlar, mast hücreleri, T hücreleri, eozinofiller ve nötrofiller arasında komplike bir etkileşimi stimüle eder (17). Bu hücreler çok çeşitli inflamatuvar mediatörlerin salınımına neden olurlar ve bunun sonucunda orta kulakta epitel harabiyeti, epitel metaplazisi, ödem ve mukus formasyonu ortaya çıkar. Orta kulak efüzyonunun oluşumunda çok fazla tipte mediator rol oynar, LT'ler ödem oluşumu, mukus üretimi, ve tuba Eustachii disfonksiyonu oluşumunda major faktörler olarak bulunmuştur. AOM sonrası orta kulak mukozasında meydana gelen değişiklikler EOM gelişiminden ve tekrarlayan AOM ataklarından sorumlu tutulmaktadır (3,8-10,12).

7.1. Akut süpüratif otitis medianın doğal seyirinde orta kulak mukozasındaki histopatolojik değişiklikler

Hermansson ve ark., ratlarda pnömokokal AOM modeli oluşturmuş ve enfeksiyon sonrası belirli günlerde orta kulak mukozasında meydana gelen değişiklikleri incelemişlerdir. Enfeksiyonun 4. gününde tüm mukozada PNL'lerin hakim olduğu yoğun inflamasyon, genel mukozal kalınlaşma, vaskülarizasyon artışı ve pars tensada kalınlaşma izlenmiştir. Sekizinci günde 4. gündeki değişikliklere benzer özellikler bulunmakla birlikte epitelin subepitelyal alana penetre olarak gland benzeri yapılar oluşturduğu gözlenmeye başlanmış, siliyalı epitelde artış izlenmiş, TM'nin hala kalın olduğu görülmüştür. Onikinci günde attik bölge dışında inflamatuvar hücrelere rastlanmamış, medial duvarda hemen her bölgede

gland benzeri yapılar izlenmiştir. Attik bölgede granülasyon dokusu olmadığı, TM'nin hala kalın olduğu ve dış kulak kanalına bakan yüzünde keratin debrisleri olduğu görülmüştür. İkinci ayda TM dışında tüm bölgelerde epitelin hala kalın olduğu, konnektif dokuda gland benzeri yapıların sebat ettiği, attik dışında orta kulakta hiç inflamatuvar hücre olmadığı izlenmiştir. TM'nin tamamen normale döndüğü görülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalara paralel olarak bu çalışmada da pnömokokal otitis medianın yaklaşık on günde kendini sınırlayan ve spontan gerileyen bir infeksiyon olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak bu çalışmada ek olarak otomikroskopide TM tamamen normal olarak görülse de mukozada gözlenen yapısal değişikliklerin aylar boyunca kalıcı olduğu gösterilmiştir (8). Bu değişimler, epitelin daha düşük bir tipten daha yüksek bir tipe transforme olması, (örneğin düz epitelin kuboid epitele veya psödostrafiyeye epitele dönüşmesi) ve epitelin subepitelyal alana penetre olarak gland benzeri yapılar oluşturması olarak ortaya konabilir. Bu bulguların yeni doğanlarda orta kulakta hiç glanduler yapı bulunmazken birçok yetişkinde bulunmasını açıklayabileceği düşünülmüştür. Bu çalışmanın sonucunda, yaklaşık on gün içinde TM bulgularının düzelmesine rağmen mukozada epitelyal ve glanduler değişikliklerin devam etmesinin tekrarlayan AOM ataklarından ve EOM gelişiminden sorumlu olabileceği düşünülmüştür (8).

Bizim tarafımızdan yapılan çalışmada ise, tedavi verilmeyen plasebo grubunda, otomikroskopik TM bulgularında, 7. günde sadece bir kulak dışında düzelme saptanmadı ve çoğunda akut otit bulgularının devam ettiği gözlemlendi. Geç dönemde (21. günde) TM'de akut otit bulguları gerilemiş olmakla birlikte TM'lerinin çoğunun mat ve retrakte oldukları izlendi. Histopatolojik olarak da erken ve geç dönemde TM ve mukozal parametrelerin hiçbirinde düzelme saptanmadı, bunun yanında mukozada akut inflamasyonun devam ettiği görüldü.

7.2. Penisilin tedavisinin AOM üzerine etkisi

AOM tedavisinde rutin olarak kullanılan penisilinin, ASOM tedavisindeki yeri ve orta kulak mukozası üzerine etkileri ile ilgili literatürde

birçok çalışma bulunmaktadır. Hermansson ve ark.'nın yaptığı benzer bir çalışmada bir grur rata pnömokok enjeksiyonunun ikinci gününde erken dönemde penisilin tedavisi verilmiş, bir gruba pnömokok enjeksiyonu öncesi penisilin tedavisi başlanmış, bir gruba ise hiçbir tedavi uygulanmamıştır. Pnömokok enjeksiyonu öncesi penisilin tedavisi verilen grupta hiç AOM oluşmadığı, diğer grupta ise AOM oluştuğu ancak fulminan hale geçmeden infeksiyonun gerilediği, tedavi verilmeyen grupta ise belirgin AOM oluştuğu gözlenmiştir. Bunun sonucunda profilaktik penisilin kullanımının tekrarlayan AOM ataklarını engelleyebileceği, erken dönemde penisilin kullanımının ise infeksiyonun daha hafif atlatılmasını sağlayabileceği sonucuna varılmıştır (76). Buna paralel olarak Persico ve ark. (77) uzun dönem yaptıkları klinik çalışmada, profilaktik olarak antibiyotik kullanımı ile çocuklarda tekrarlayan AOM ataklarının sadece % 40 oranında engellenebildiğini göstermişlerdir. Burada pnömokokların penisiline çok duyarlı olmaları nedeniyle penisilin tedavisinden çok iyi yanıt alınmış olmasına karşın özellikle üst solunum yolu infeksiyonu sonrası gelişen AOM'da pnömokoklar dışında birçok faktörün de etken olabileceği gerçeğinden yola çıkarak klinikte profilaktik antibiyotik kullanımının deneysel çalışmalar kadar etkin cevap vermeyebileceği sonucuna varılmıştır.

Hermansson ve ark.'nın yaptığı bir başka çalışmada gruplar bir önceki çalışmada olduğu gibi belirlenmiş fakat bu çalışmada izlem süresi 6 aya kadar uzatılmış ve histopatolojik inceleme yapılmıştır (10). Otomikroskopik bulgular bir önceki çalışma ile benzer bulunmuştur. Tedavi verilmeyen enfekte kontrol grubunda 4. ve 8. günlerde akut inflamasyon bulguları, mukozal kalınlaşma, siliyalı hücrelerde artış izlenirken, 6. ayda inflamatuvar hücrelerin kaybolduğu, vasküler dilatasyonun azaldığı ancak mukozada epitelyal değişikliklerin hala sebat ettiği izlenmiştir. Erken tedavi grubunda (pnömokok enjeksiyonu sonrası 2. günde tedavi başlanan grup), 2. ayda mukozal değişiklikler devam ederken, 6. ayda mukozanın tamamen düzeldiği görülmüştür. Profilaktik antibiyotik verilen grupta ise 2. ve 6. ayda mukozanın tamamen düzeldiği izlenmiştir. Hiç tedavi verilmeyen grupta ikinci haftada TM görünümü tamamen normal olmasına karşın mukozal değişikliklerin 6 ay daha

devam etmesi, penisilin tedavisi ile kalıcı mukozal değişikliklerin gerilemiş olması, antibiyotik tedavisi ile hem akut komplikasyonların önlenebileceği, hem de AOM atağı sonrası tekrarlayan AOM ve EOM gelişiminin engellenebileceği görüşlerini desteklemektedir (10).

Thomasen ve ark., EOM gelişiminden, AOM atağı sonrası mukozada oluşan kalıcı goblet hücre metaplazisinin sorumlu olduğunu, bunun da orta kulağın sekretuar kapasitesini artırdığını düşünmüş ve penisilin tedavisi ile goblet hücre metaplazisini azaltabilecekleri yönünde çalışmalar yapmışlardır (11-13). Bu çalışmada normal rat orta kulak mukozasında promontoryumun çevresinde iki hat halinde goblet hücrelerinin bulunduğu gösterilmiştir. Pnömonokokal AOM modelinde penisilin tedavisi verilen ve tedavisiz bırakılan gruplara 4, 8, 12, 90 ve 180. günlerde histopatolojik inceleme yapılmıştır. Altı ayın sonunda tedavisiz grupta mukozada her alanda goblet hücrelerinin olduğu, penisilin tedavisi alan grupta ise 8. günden itibaren goblet hücrelerinde azalma gözleendiği, 6. ayda ise normalde goblet hücre bulunan alanlar dışında goblet hücrelerin olmadığı saptanmıştır. Orta kulakta bulunan goblet hücreleri koruyucu müsin salgılamaktadır ve bu müsinin esas komponenti glikoproteindir. Bir battaniye gibi mukozayı sarmakta, iritanlara, partiküllere ve mikroorganizmalara karşı koruyucu görev üstlenmektedir. Daha sonra mukus siliyer aktivite ile rinofarenksten atılmaktadır. Goblet hücrelerinin aşırı artışının mukusun orta kulakta birikimine neden olduğu ve bunun sonucunda da EOM geliştiği düşünülmektedir. EOM'de goblet hücre sayısının belirgin derecede arttığı gösterilmiştir (78). Benzer çalışmalar H. influenzae ile oluşturulan AOM modelinde de yapılmış, pnömonokokal otitis mediaya benzer sonuçlar bulunmuş, hatta H. influenzae'ya bağlı AOM'de goblet hücre metaplazisinin pnömonokokal AOM'dekine göre anlamlı derecede fazla olduğu ve EOM patogeneğinde daha fazla rolü olduğu savunulmuştur. Goblet hücre hiperplazisi ve epitelyal hücrelerin goblet hücrelere metaplazisinin mekanizması henüz net olarak açıklanamamış ancak inflamatuvar cevap sonucu salınan mediatörlerin, özellikle araşidonik asitten sentezlenen lipoksijenaz ve sikloksijenaz yollarının metabolitlerinin goblet hücre metaplazi ve hiperplazisine neden olduğu düşünülmüştür. Ayrıca yine Thomasen ve

ark.'nın yaptığı bir çalışmada, pnömokokal AOM modelinde penisilin tedavisinin tek başına goblet hücre dansitesini azaltmasının yanı sıra yeni kemik oluşumunu da engellediği, ancak polip oluşumu ve adezyon formasyonuna etkisi olmadığı gösterilmiştir (78).

Bizim tarafımızdan yapılan çalışmada, sadece penisilin verilen grupta, 7. günde TM bulgularında hiçbir düzelme saptanmadı, 21. günde ise bulgularda gerileme olmakla birlikte TM üzerinde krutlarla iyileşme olduğu görüldü. Mukozal bulgularda 7. günde sadece mukozal vaskülarizasyonda düzelme saptandı, 21. günde ise sadece TM kalınlığında düzelme olduğu görüldü. Bunun dışındaki hiçbir mukozal patolojide düzelme saptanmadı. Ayrıca diğer çalışmalarda penisilin tedavisini izleyen dönemde gözlenen goblet hücre metaplazisindeki düzelme, bu çalışmada gözlenmedi.

7.3. Antibiyotik tedavisine ek olarak ASOM'da uygulanan tedavi seçenekleri ve orta kulak mukozası üzerine etkileri

ASOM'da bakteriler primer patojenler olmakla birlikte, orta kulağa göç eden inflamatuvar hücreler ve bunlardan salınan inflamatuvar mediatörler patogeneizde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle, ASOM tedavisinde, bakterilerin eradikasyonunun sağlanması ile birlikte mukozada oluşan değişiklikleri gidermeye yönelik tedavi seçenekleri üzerinde de çalışmalar yapılmaktadır.

ASOM, bakterilerin orta kulak mukozasına yerleşmesi sonucu, tuba Eustachii, timpanik kavite ve TM'de mukozal inflamasyon şeklinde başlar. Mukozada önce hiperemi, sonra ödem gelişir. Başlangıçta gelişen ödeme PNL'ler eşlik eder. Bu sırada timpanik kavitede inflamasyona bağlı diffüz siliyer paralizi ve periostit oluşur. Orta kulak mukozasında hipertrofi ve kuboidal epitel metaplazisi gelişir. Bu erken dönemde orta kulakta sıvı birikimi yoktur. Orta kulak mukozasına yerleşen antijenler; makrofajlar, mast hücreleri, T lenfositler, eozinofiller ve nötrofillerin aktivasyonuna neden olur. İmmün mediatörler; epitel hücreleri, infiltre olan hücreler ve endotel hücrelerinden salgılanır ve inflamatuvar hücrelerin orta kulağa göçünü artırır. Vazoaktif aminler, plasma proteazlar, araşidonik asit

metabolitleri, platelet aktive edici faktör, sitokinler, serbest radikaller ve lizozomal enzimler, oluşan efüzyon sıvısından varlığı kanıtlanmış inflamatuvar mediatörlerdir (30). Bu mediatörlerin salınımı daha çok inflamatuvar hücreyi aktive eder ve daha fazla mediatör salınarak bir kısır döngüye girilmiş olur. Birçok immün mediatör yanında özellikle araşidonik asit metabolitleri, TNF ve PAF gibi mediatörlerin daha etkin rol oynadıklarından yola çıkarak, bu mediatörleri inhibe eden ilaçların orta kulakta oluşan efüzyon ve inflamasyonu azaltabilecekleri düşünülmüş ve bu konuda birçok çalışma yapılmıştır.

Kortikosteroidler, membran fosfolipidlerinden araşidonik asit ve PAF salınımı basamağındaki FLA2 enzimini inhibe ederek etki göstermektedirler. Bu ilk basamakta oluşturulan inhibitör etki ile efüzyona neden olduğu düşünülen tüm mediatörlerin salınımı engellenmiş olmaktadır. Park ve ark., oluşturdukları pnömokokal AOM modelinde penisilin tedavisi ile birlikte steroid tedavisinin daha etkin olabileceğini düşünmüş ve tedavi verdikleri hayvanlarda 4, 7 ve 14. günlerde histopatolojik inceleme yapmışlardır (9). Sadece penisilin tedavisi alan grupta kontrol grubuna göre sekretuar metaplazi, mukozal kalınlaşma ve inflamasyon açısından anlamlı fark olmakla birlikte, kombine şekilde penisilin ve deksametazon verilen grupta tüm parametrelerde diğer gruplara göre belirgin anlamlı azalma saptanmıştır. Steroid tedavisi sitokin genlerini bloke ederek hem hücresele, hem humoral immüniteyi baskılamakta, ayrıca inflamatuvar hücrelerden interlökin-1 (IL), IL-6, TNF ve adezyon moleküllerinin salınımını engelleyerek nötrofil adezyonunu durdurmakta ve inflamasyonu azaltmaktadır. Yine bu çalışmada da steroid tedavisinin kombinasyonu ile birlikte AOM sonrası kalıcı mukozal değişikliklerin ve bunun sonucu olarak da tekrarlayan AOM ataklarının önlenebileceği sonucuna varılmıştır.

Yaman ve ark., ratlarda oluşturdukları deneysel EOM modelinde düşük ve yüksek doz metilprednizolon tedavisi uygulamış, steroid verilen gruplarda kontrol grubuna göre efüzyonda anlamlı düzelme saptamış, ayrıca orta kulak efüzyon sıvısında TNF α ve IL-1 β seviyelerinin çok daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Ancak steroid tedavisinin düşük ve yüksek dozlarının etkileri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (79).

Otitis medianın özellikle çocukluk çağında sık görülen bir hastalık olması ve steroid tedavisinin oldukça fazla yan etkilerinin olması göz önüne alındığında, sık görülen bu hastalıkta rutin steroid tedavisi pek tercih edilmemekte ve dolayısıyla inflamasyonu azaltmaya yönelik yeni ilaç arayışları devam etmektedir (79).

Kim ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, ratlarda oluşturulan deneysel EOM modelinde, inflamatuvar mediatörleri azaltmak amacıyla TNF α inhibitörü, PAF inhibitörü ve nitrik oksit sentetaz inhibitörü L-NAME) tedavi olarak verilmiş, bu tedavilerin verildiği gruplarda orta kulak mukozasında kapiller permeabilite, subepitelyal ödem ve inflamatuvar hücre göçü açısından kontrol grubuna göre anlamlı bir fark saptanmıştır (80). Yine Park ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ratlarda oluşturulan deneysel EOM modelinde, TNF inhibitörü ile oxatomidin etkileri karşılaştırılmıştır. Oxatomid bir antihistaminiktir, LT sentez ve salınımını azaltır, bunun yanında mast hücrelerinden histamin salınımını inhibe eder. Bu çalışmada TNF α inhibitörünün oxatomide ve kontrol grubuna göre çok daha anlamlı olarak efüzyon oluşumunu, inflamasyonu, mukozal kalınlaşmayı ve vasküler permeabiliteyi azalttığı gösterilmiştir (81).

Aladağ ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, ratlarda oluşturulan deneysel pnömokokal AOM modelinde, sadece ampisilin sulbaktam verilen grup ile kombine biçimde ampisilin sulbaktam ile vitamin A uygulanan ikinci grup karşılaştırılmıştır (3). Mukozal inflamasyon açısından iki grup arasında anlamlı fark bulunmazken, epitel bütünlüğünün korunması açısından vitamin A uygulanan grupta epitelin daha düzgün ve bütünlüğünün daha korunmuş olduğu görülmüş, sadece antibiyotik uygulanan grupta ise epitelin bazı alanlarda tamamen veya kısmen harap olduğu izlenmiştir.

7.4. Lökotrienlerin otitis media etiyopatogenezindeki ve tedavisindeki rolleri

LT'ler, orta kulakta inflamasyonun ve efüzyonun oluşumunda rol alan en önemli immün mediatörlerdendir. Membran fosfolipidlerinden salınan araşidonik asit, lipoksijenaz enzimi ile parçalandığında LT'ler,

sikloksijenaz enzimi ile parçalanırsa prostoglandinler oluşmaktadır. Araşidonik asit, 5-Lipoksijenaz yoluyla parçalanınca LTA4 oluşmakta, polimorfonükleer lökositlerde LTA4 hidrolize olmakta ve LTB4 oluşmaktadır. Eozinofil, bazofil, mast hücreleri ve makrofajlarda ise LTA4'den LTC4, LTD4 ve LTE4 oluşmaktadır. Bunlar cys- LT'ler olarak adlandırılmaktadırlar.

Sütbeyaz ve ark.'nın yaptığı çalışmada kobaylarda oluşturulan deneysel EOM modelinde tedavi amacıyla SC-41930, selektif bir LTB4 reseptör antagonisti kullanılmıştır (1). LTB4, nötrofil kemotaksisini artıran, myeloperoksidaz, kollajenaz, elastaz gibi lizozomal enzimlerin degranulasyonunu sağlayan etkin bir mediatördür. Çalışmanın sonucunda SC-41930 verilen grupta kontrol grubuna göre orta kulak mukozasının kalınlığında, subepitelyal ödem, inflamasyon ve kapiller permeabilitede azalma olduğu saptanmıştır. Ayrıca toplanan orta kulak sıvılarında bu grupta kontrol grubuna göre myeloperoksidaz aktivitesinde azalma olduğu görülmüştür (1). McCormik ve ark.'nın AOM geçiren 80 çocukta yaptıkları çalışmada, çocuklara tek doz seftriakson uygulamasının yanında 5 gün boyunca bir gruba bir antihistaminik olan klorfeniramin maleat, diğer bir gruba ise prednisolon tedavisi uygulanmıştır. Araştırmacılar bu tedavinin sonunda çocukların orta kulak sıvılarını toplayarak histamin ve LTB4 seviyelerini incelemişlerdir. Her iki grupta da histamin ve LTB4 seviyelerinde kontrol grubuna göre farklılık saptanmamış, sadece steroid alan çocuklarda orta kulakta efüzyonun daha kısa sürede geçtiği gözlenmiştir (82).

Jung, çinçillalarda H. influenza ile oluşturduğu deneysel EOM modelinde, PAF antagonisti (WEB-2170) ve LT inhibitörünü (SCH-37224) ayrı ayrı ve kombine ederek tedavide kullanmış ve kontrol grubu ile karşılaştırmıştır (30). Tedaviye inokulasyondan 2 saat önce başlanmış, 48. saatte orta kulak sıvıları toplanmış, araşidonik asit metabolitleri ve PAF miktarları incelenmiş, 6, 24, 36 ve 48. saatlerde otomikroskopik bakıları yapılmış, temporal kemikleri çıkarılarak histopatolojik incelemeye gönderilmiştir. Kırksekizinci saatin sonunda otomikroskopik olarak kontrol grubunda % 100, LT inhibitörü grubunda %17, PAF antagonisti ve kombinasyon tedavisi alanlarda ise % 0 efüzyonlu otit geliştiği

görülmüştür. Yapılan histopatolojik incelemede inflamatuvar değişiklikler en fazla kontrol grubunda olmak üzere sırasıyla LT inhibitörü, PAF antagonisti ve kombinasyon gruplarında giderek azalmış olarak saptanmıştır. Çalışmanın sonucunda PAF antagonisti ve LT inhibitörü kombinasyonunun EOM gelişimini engellemede daha etkin olduğu ve bu tedavilerin gelecekte EOM tedavisinde kullanılabilecekleri sonucuna varılmıştır (30). Yapılan bir çok çalışmada toplanan orta kulak sıvılarında PG'ler, LT'ler, PAF, TNF α gibi mediatörlere rastlanmış ve bunların inflamasyonun başlaması ve devamında önemli rol oynadıkları kanıtlanmıştır (33).

Tada ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, ratlara transtimpanik olarak çeşitli dozlarda LTD4 süspansiyonu verilmiş, karşı kulaklara kontrol grubu olarak fosfat buffer salin enjekte edilmiş, hayvanlar 1, 3, 5, 7, 10 ve 14. günlerde sakrifiye edilmiş, orta kulak sıvıları toplanarak mukozada histopatolojik inceleme yapılmıştır (41). İncelenen hayvanların orta kulak sıvılarında IL-1 β , TNF α , GRO/CINC-1 (insandaki IL-8 analogu) değerlerine bakılmıştır. Ayrıca bir gruba LTC4 ve D4 reseptör antagonisti pranlukast, enjeksiyondan 1 gün önce verilerek terapötik etkinliği değerlendirilmiştir. Düşük dozda LTD4 enjekte edilen grupta 1. günde tüm kulaklarda efüzyon oluşurken 3. günde bunun tamamen ortadan kalktığı görülmüştür. Ancak daha yüksek dozda LTD4 enjekte edilen kulaklarda efüzyonun 14. güne kadar sürdüğü tesbit edilmiştir. Oysa kontrol grubunun hiçbirinde orta kulakta sıvıya rastlanmamıştır. Toplanan orta kulak sıvılarında verilen LTD4 miktarlarıyla orantılı olarak, IL-1 β , TNF, GRO/CINC-1 seviyelerinin artmış oldukları saptanmıştır. Histopatolojik incelemede ise orta kulak mukozasının kalınlığının doza bağımlı olarak artış gösterdiği, kontrol grubunda ise mukozal kalınlıkta artış olmadığı tesbit edilmiştir. Mukozal PNL, lenfosit ve makrofaj göçünün 14. günde en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüştür. İnfamatuvar hücre göçü ve inflamasyonun süresi, verilen LTD4 miktarına bağımlı olarak artış göstermektedir. Profilaktik olarak pranlukast verilen grupta orta kulakta efüzyona rastlanmamış ve GRO/CINC-1 seviyelerinin tedavisiz gruba göre anlamlı olarak az olduğu saptanmıştır. Mukozal ödemin minimal olduğu ve inflamatuvar hücre göçünün belirgin azaldığı izlenmiştir. Bu

çalışma göstermiştir ki tuba Eustachii'de herhangi bir obstruksiyon olmadan da LTD4 orta kulakta inflamasyon ve efüzyona neden olmakta, ayrıca bir çok sitokinin salınımını da artırmaktadır. LTD4, LTC4'e göre on kat daha fazla vasküler permeabiliteyi artırmaktadır. LTD4'e bağımlı oluşan orta kulak efüzyonunun da mukozadaki vasküler permeabilite artışına bağlı olduğu düşünülmüştür. Orta kulak mukozasında LT reseptörlerinin varlığı henüz kanıtlanmamış olsa da bu çalışmada pranlukastın direkt orta kulağa etki ettiğini ve orta kulak mukozasındaki veya inflamatuvar hücrelerdeki LT reseptörlerini bloke ederek lokal sitokin salınımını ve inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, LT'lerin orta kulak efüzyonunun oluşumunda çok önemli rol oynadıklarını ve pranlukastın gelecekte EOM tedavisinde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (41). Ganbo ve ark.'nın çalışmasında, LT'lerin mukosilyer klirens üzerine olan inhibe edici etkileri ortaya konmuş ve buna bağlı olarak da LT antagonistlerinin orta kulakta inflamasyonun giderilmesinde etkili olabileceği düşünülmüştür (20).

Montelukastın AOM tedavisinde etkinliğinin araştırıldığı, Combs'un yaptığı bir randomize, çift kör klinik çalışmada, 2-12 yaş arası AOM geçiren ve tip B timpanogramları olan 67 çocuk iki gruba ayrılmış, bir gruba 10 gün amoksisilin, bir gruba ise 10 gün amoksisilin ile birlikte 30 gün montelukast tedavisi verilmiştir. Bir ay sonunda çocukların tekrar muayene ve timpanogramları yapılmış, sadece amoksisilin verilen grupta %16 oranında, amoksisilin ile birlikte montelukast verilen grupta ise %58 oranında efüzyonun tam olarak düzeldiği görülmüştür. AOM sonrası gelişen efüzyonun giderilmesinde, montelukastın plasebo grubuna göre anlamlı olarak etkili olduğu, oluşan efüzyonun giderilme süresini kısalttığı gösterilmiştir (5).

Bu tez çalışmasında, otitis media patogenezinde bakterilerle oluşturulan infeksiyon sonrasında ortaya çıkan inflamasyon ve efüzyonda, immün mediatörlerden özellikle LT'lerin efektif olması nedeniyle cys-LT1 reseptör antagonisti montelukast, penisilin ile kombine olarak ve ayrı ayrı kullanıldı. Böylece penisilin tedavisi ile bakteri eradikasyonu sağlanmasının yanı sıra montelukast ile inflamasyonun azaltılması ve efüzyonun önlenmesi amaçlandı. AOM sonrası gelişen EOM'den sorumlu

tutulan goblet hücre metaplazisi açısından, daha önce birçok çalışmada sadece penisilin tedavisi ile belirgin düzelme sağlanırken, bu çalışmada erken ve geç dönemde gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Bu da hem penisilinle bakteri eradikasyonunun hem de montelukast ile inflamasyonun azaltılmasının epitelde oluşan goblet hücre metaplazisine etkisi olmadığını gösterdi.

Erken dönemde TM bulguları ve mukozal bulgular açısından, mukozal vaskülarizasyon dışında gruplar arasında anlamlı fark saptanmaması, erken dönemde AOM tedavisi için verilen bu ilaçların etkisinin olmadığını ortaya koydu. Geç dönemde ise penisilin tedavisi verilen grupta sadece TM kalınlığı açısından kontrol grubu ile arasında anlamlı farklılık saptanmadı. Yani sadece antibiyotik tedavisi ile TM bulguları düzeldiği halde, 21. günde hala mukozal patolojinin yoğun biçimde devam ettiği izlendi. Sadece montelukast verilen grupta, 21. günde hem TM bulguları, hem de mukozadaki inflamasyon bulguları açısından kontrol grubuna göre anlamlı derecede farklı iyileşme saptandı. Penisilin ve montelukastın beraber uygulandığı grupta da benzer sonuçlara varıldı. Bu da bakteri eradikasyonu dikkate alınmadığı takdirde sadece inflamasyonu azaltıcı etkisiyle montelukastın AOM tedavisinde etkin olduğunu gösterdi. Ancak montelukast tedavisi verilen grupların, sadece penisilin verilen gruba, mukozal vaskülarizasyon dışında hiçbir parametrede istatistiksel olarak üstün olmadıkları izlendi. Her ne kadar klasik bilgi, AOM'nin hiçbir tedavi verilmesinde de kendi kendini sınırlayan bir infeksiyon olduğu yönündeyse ve yapılan diğer bazı çalışmalarla bu desteklense de, bu çalışmada plasebo grubunda, 21. günde hiçbir parametrede düzelme olmadığı, bunun yanında akut inflamasyon bulgularının da devam ettiği saptandı.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar montelukastın etkisini, LT1 reseptörüne bağlanarak, inflamatuvar hücre göçünü ve vasküler permeabilityi azaltarak gösterdiği, hem TM kalınlığını, hem de mukozal ödem, kalınlık ve inflamasyonunu azalttığı, buna bağlı olarak da akut inflamasyonu anlamlı olarak baskıladığı düşündürmektedir. Buna karşın montelukastın AOM sonrası gelişen EOM ve tekrarlayan AOM ataklarından sorumlu tutulan goblet hücre metaplazisine ise hiçbir etkisi

saptanmamıştır. Reseptör üzerinden yaptığı etkiye ek olarak tuba Eustachii'de mukosilyer aktiviteyi artırarak, buradaki ödem ve inflamasyonu azaltmak suretiyle relatif tubal obstruksiyonu ortadan kaldırarak orta kulaktaki efüzyonu azalttığı düşünülmüştür. Ayrıca otomikroskopik bulgular, aynı hayvanların histopatolojik bulguları ile karşılaştırıldığında, otomikroskopik bulguların, mukozal bulgularla korele olduğu ve bir anlamda mukozal patolojiyi yansıttığı sonucuna da varılmıştır. İnflamasyonun giderilmesinde steroid gibi ilaçların etkinliği daha önceki çalışmalr ile ortaya konmuştur; ancak otitis medianın bir çocukluk çağı hastalığı olması ve montelukastın altı aylıktan itibaren kullanılabilir olması, tedavide tercih edilmesi için avantajlı bir faktör olabilir.

8. SONUÇ

Bu çalışmada, deneysel olarak oluşturulmuş ASOM'da penisilin ve montelukast tedavisinin ayrı ayrı ve kombine olarak etkinliği erken ve geç dönemde araştırılmıştır. Erken dönemde hem penisilin, hem de montelukastın TM ve mukozaya herhangi bir iyileştirici etkisinin olmadığı, ancak geç dönemde her iki ilaç tedavisinin de plaseboyla karşılaştırıldığında TM ve mukoza üzerine belirgin tedavi edici etkilerinin olduğu saptanmıştır. Sadece penisilin tedavisi ile TM bulgularında iyileşme sağlanırken mukozal parametrelerin (mukozal kalınlık, vaskülarizasyon, inflamasyon ve sekretuar metaplazi) hiçbirinde plaseboya kıyasla düzelme sağlanamamıştır. Bu grupta plaseboya göre tek fark, geç dönemde mukozada, plasebo grubunda görülen PNL ve makrofaj gibi akut inflamatuvar hücrelerin yerini kronik inflamatuvar hücrelerin almasıdır, bu da mukozanın iyileşme sürecine girdiğinin bir göstergesidir. Ayrıca literatürde penisilin tedavisi ile sağlanan goblet hücre metaplazisindeki azalma, bu çalışmada penisilin tedavisi verilen grupta bir miktar görülmekle beraber, plaseboya göre anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır. TM'de, plasebo grubunda akut inflamasyon devam ederken, penisilin grubunda fibrozis ile iyileşme görülmüştür. Montelukast tedavisi verilen gruplarda hem TM bulgularında iyileşme ve buna paralel olarak da sekretuar metaplazi dışındaki mukozal parametrelerin tümünde iyileşme saptanmış, mukozanın neredeyse tama yakın düzeldiği görülmüştür. Montelukast tedavisi verilen gruplarda özellikle orta kulak mukozasında plaseboya göre anlamlı düzelme sağlanmış olmasına rağmen sadece penisilin grubu ile karşılaştırıldığında, parametrelerde düzelme olduğu görülmüş ancak istatistiksel olarak aralarında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bu çalışma ASOM modeli üzerinde yapılmış olsa da, EOM patogenezi düşünüldüğünde benzer etkilerin aynı mekanizma ile EOM tedavisinde de ortaya çıkacağı varsayılabilir. ASOM'un kendi kendini sınırlayan bir hastalık olduğu bilirse de plasebo grubunda hem TM'de, hem de mukozada 21. günde akut inflamasyon bulgularının devam etmesi, orta kulak boşluğunda yoğun debris olması gibi bulgular, tedavisiz iyileşme olsa da bu sürecin uzun sürdüğü ve bu aşamada bazı sekellerin

ortaya çıkabileceğini ortaya koymuştur. Montelukastın alerjik rinit ve alerjik astım tedavisinde etkin olarak kullanılmasından yola çıkarak özellikle özgeçmişinde alerjik hastalık öyküsü olan kişilerde daha etkili olacağı düşünülebilir. Literatürde yapılan çalışmalarda, mukozal goblet hücre metaplazisinin, AOM sonrası EOM gelişiminden ve tekrarlayan AOM ataklarından sorumlu tutulmasından yola çıkarak, hem penisilin hem de montelukast tedavisinin bu hastalıkları engelleyici etkisi olmadığı sonucuna varılabilir. Ayrıca ratlara yapılan otomikroskopik bakı sonuçları, aynı ratların birebir patolojik bulguları ile karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlar, otomikroskopik bulguların mukozal bulgularla paralellik gösterdiği ve otomikroskopik bakının hastalığın gidişatını göstermede önemli bir veri olduğu yönündedir.

Bu çalışmada elde edilen histopatolojik veriler odyolojik tetkiklerle desteklenmemiştir. Ayrıca inceleme süresi 21 gün ile sınırlı tutulmuştur. Montelukastın ASOM tedavisinde geç dönemde tedavi etkinliği ortaya konmuş olmakla birlikte çocuklarda çok önemli bir sorun olan EOM'deki etkinliğinin de araştırılması, bunun odyolojik verilerle desteklenmesi, izlem süresinin daha uzun tutulması ve sonuçların diğer klinik verilerle de desteklenmesi açısından geniş kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır.

9. KAYNAKLAR:

1. Sütbeyaz Y, Yakan B, Özdemir H, Karasen M, et al. Effect of SC-41930, a potent leukotriene B4 receptor antagonist, in the guinea pig model of middle ear inflammation. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1996;105:476-80.
2. Çelik O, Çelik O. (Ed.). Akut süpüratif otitis media, Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi, 2. Baskı, Asya Tıp Kitabevi, İzmir, 2007, Cilt 1, s.154-172.
3. Aladağ İ, Güven M, Eyibilen A, Sahin S, et al. Efficacy of vitamin A in experimentally induced acute otitis media. *Int. J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2007;71: 623-8.
4. Shurin PA, Pelton SI, Klein JO, Donner A. Persistence of middle-ear effusion after acute otitis media in children. *N Engl J Med.* 1979;300:1121-3.
5. Combs JT. The effect of Montelukast sodium on the duration of effusion of otitis media. *Clinic pediatri (Phila).* 2004;43:529-33.
6. Sütbeyaz Y, Koç C. (Ed.). Sekretuar otitis media, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi, Güneş Kitabevi, Ankara, 2004,s.153-197.
7. Ağırđır B, Koç C. (Ed.). Akut otitis media, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi, Güneş Kitabevi, Ankara, 2004,s.173-213.
8. Hermansson A, Prellner K, Hellström S. Persistent structural changes in the middle ear mucosa of the rat, after an experimentally induced episode of pneumococcal otitis media. *Acta Otolaryngol.* 1990;109:421-30.

9. Park SN, Yeo SW. Effects of antibiotics and steroid on middle ear mucosa in rats with experimental acute otitis media. *Acta Otolaryngol.* 2001;121:808-12.
10. Hermansson A, Hellstrom S, Prellner K. Mucosal changes induced by experimental pneumococcal otitis media are prevented by penicillin V. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1991;105:578–85.
11. Caye-Thomasen P, Hermansson A, Tos M, Prellner K. Penicillin reduces secretory capacity in rat middle ear mucosa in acute otitis media. *Am J Otol.* 1996;17:354-9.
12. Caye-Thomasen P, Hermansson A, Tos M, Prellner K. Increased secretory capacity of the middle ear mucosa after acute otitis media caused by *Haemophilus influenzae* type B. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1997;117:263-7.
13. Caye-Thomasen P, Hermansson A, Tos M, Prellner K. Changes in mucosal goblet cell density in acute otitis media caused by non-typeable *Haemophilus influenzae*. *Acta Otolaryngol.* 1998;118: 211-5.
14. Williams RL, Chalmers TC, Stange KC, Chalmers FT, et al. Use of antibiotics in preventing recurrent acute otitis media and in treating otitis media with effusion. A meta-analytic attempt to resolve the brouhaha. *JAMA.* 1993;270:1344-51.
15. Erramouspe J, Heyneman CA. Treatment and prevention of otitis media. *Ann Pharmacother.* 2000;34:1452-68.
16. Rosenfeld RM. Surgical prevention of otitis media. *Vaccine.* 2000;19:134-9.

17. Barnes PJ. Pathophysiology of allergic inflammation. *Allergy Principles and Practice*, 4th ed. St Louis: Mosby. 1993:243-266.
18. Jung TT. Prostaglandins, leukotrienes, and other arachidonic acid metabolites in the pathogenesis of otitis media. *Laryngoscope*. 1988;98:980-93.
19. Sabater JR, Wanner A, Abraham WM. Montelukast prevents antigen-induced mucociliary dysfunction in sheep. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166:1457-60.
20. Ganbo T, Hisamatsu K, Shimomura S, Nakajima T, et al. Inhibition of mucociliary clearance of the Eustachian tube by leukotrienes C4 and D4. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1995;104:231-6.
21. Maron Z, Shelhamer JH, Bach MK, Marton DR, et al. Slow-reaction substances, leukotrienes C4 and D4, increase the release of mucus from human airways in vitro. *Am Rev Respir Dis*. 1982;126:449-51.
22. Bisgaard H, Pederson M. SRS-A leukotrienes decrease the activity of human respiratory cilia. *Clin Allergy*. 1987;17:95-103.
23. Tachibana F, Shimada T, Hori Y, Wada Y, et al. Platelet activation factor and leukotrienes in acute otitis media, secretory otitis media and chronic otitis media on the acute exacerbation. *Auris Nasus Larynx*. 1996;23:20-5.
24. Lee SH, Woo HW, Jung TT, Lee C, et al. Permeability of arachidonic acid metabolites through the round window membrane in chinchillas. *Acta Otolaryngol Supp*. 1992;493:165-9.
25. Van Adelsberg J, Philip G, LaForce CF, Menten J, et al. Randomized controlled trial evaluating the clinical benefit of montelukast sodium for

treating spring seasonal allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003;90:214-22.

26. Wysocki J. Topographical anatomy and measurements of selected parameters of the rat temporal bone. *Folia Morphol (Warsz).* 2008;67:111-9.

27. Paparella M.M., Shumrick D.A. (Ed.)., *Otolaryngology*, W.B. Saunders Company, Philadelphia, ABD, Volume 1, s.1169-1287.

28. Paparella MM, Bluestone CD, Arnold W. Definition and classification. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1985;94:8-9.

29. Paparella MM, Schachern PA, Yoon TH, Abdelhamid MM, et al. Otopathologic correlates of the continuum of otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl.* 1990;148:17-22.

30. Jung TT. Prostaglandins, leukotrienes, and other arachidonic acid metabolites in the pathogenesis of otitis media. *Laryngoscope.* 1988;98:980-93.

31. Honjo I, Okazaki N. Nozoe T, Ushiro K. Experimental study of pumping function of eustachian tube. *Acta Otolaryngol (Stockh).* 1981;91:85-9.

32. Sade J. Ciliary activity and middle ear clearance. *Arch Otolaryngol.* 1967;86:128-35.

33. Jung TT. Prostaglandins, leukotrienes, and other arachidonic acid metabolites in pathogenesis of otitis media. *Laryngoscope.* 1988;98:980-993.

34. Rhee CK, Jung TT, Miller S, Weeks D. Experimental otitis media with effusion induced by platelet activating factor. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1993;102:600-5.
35. Bisgaard H, Pederson M. SRS-A leukotrienes decrease the activity of human respiratory cilia. *Clin Allergy*. 1987;17:95-103.
36. Weisman Z, Fink A, Alon A, Poliak Z, et al. Leukotriene C4 decreases the activity of respiratory cilia in vitro. *Clin Exp Allergy*. 1990;20:389-93.
37. Junk TT, Park YM, Miller SK, Rosehnal S, et al. Effect of exogenous arachidonic acid metabolites applied on round window membrane on hearing and their levels in perilymph. *Acta Otolaryngol Suppl*. 1992;493:171-6.
38. Ueno A, Tanaka K, Katori M, Hayashi M, et al. Species difference in increased vascular permeability by synthetic leukotriene C4 and D4. *Prostaglandins*. 1981;21:637-48.
39. Marom Z, Shelhamer JH, Bach MK. Slow-reacting substance, leukotriene C4 and D4, increase the release of mucus from human airway in vitro. *Am Rev Respir Dis*. 1982;126:449-51.
40. Junk TTK, Miller SK, Park YM. Effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on levels of lipoxygenase products in perilymph and hearing. *Assoc Research Otolaryngol Abstract*. 1989;12:15-8.
41. Tada N, Furukawa M, Ogura M, Arai S, et al. Experimental otitis media with effusion induced by leukotriene D4. *Auris Nasus Larynx*. 2002;29:127-32.
42. Saieed WN, AlPachachi IA, Almashhadani WM. The Effect of Montelukast on Nasal Mucociliary Clearance. *J Clin Pharmacol*. 2006; 46; 588-90.

43. Perng DW, Wu YC, Chang KT, Wu MT, et al. Leukotriene C4 induces TGF- β 1 production in airway epithelium via p38 kinase pathway. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2006;34:101-7.
44. Harmancı K. Montelukast: its role in the treatment of childhood asthma. *Ther Clin Risk Manag.* 2007;3:885-92.
45. Golden PM, Henderson WR. Leukotrienes. *N Engl J Med.* 2007;357:1841-54.
46. Heimbürger M, Palmblad J. Effects of leukotriene C4 and D4, histamine and bradykinin on cytosolic calcium concentrations and adhesiveness of endothelial cells and neutrophils. *Clin Exp Immunol* 1996;103:454-60.
47. Theron A. J, Gravett C. M, Steel H. C, Tintinger GR, et al. Leukotrienes C4 and D4 sensitize human neutrophils for hyperreactivity to chemoattractants. *Inflamm Res.* 2009;58:263-8.
48. Rmires R, Caiaffa M, Tursi A. Novel inhibitory effect on 5-lipoxygenase activity by antiasthma drug montelukast. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;324:815-821.
49. Kopriva F, Janoštková A. Montelukast decreases serum endothelin-1 levels in pediatric asthma patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115:72-77.
50. Crimi N, Mastruzzo C, Pagano C, Lisitno N, et al. Montelukast protects against bradykinin-induced bronchospasm. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115:870-2.

51. Crimi N, Pagano C, Palermo F, Mastruzzo C, et al. Inhibitory effect of a leukotriene receptor antagonist (montelukast) on neurokinin α -induced bronchoconstriction. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111:833-9.
52. Kato Y, Fujisawa T, Kamiya H, Yoshie O. Autocrine activation of eosinophil transmigration with cyteinyll leukotrienes. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:166-171.
53. Kabasakal L, Sener G, Çetinel S, Contuk G, et al. Burn-induced oxidative injury of the gut is ameliorated by the leukotriene receptor blocker montelukast. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2005;72:431-40.
54. Spinozzi F, Agea E, Russano M, Piattoni S, et al. T-cell apoptotis induced by cysteinyl leukotriene receptor (CysLT-R) antagonist montelukast occur through p53-dependent pathway. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:34-40.
55. Stelmach I, Majak P, Sobocinska A, Stelmach W, Kuna P. Montelukast sodium increased IL-10 production by peripheral blood mononuclear cells (PBMC). *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:33-39.
56. Straub D, Moeller A, Minocchieri S, Hamacher J, et al. The effect of montelukast on lung function and exhaled nitric oxide in infants with early childhood asthma. *Eur Respir J.* 2005;25:289-94.
57. Knorr B, Martz J, Bernstein JA, Nguyen H, et al. Montelukast for chronic asthma in 6-14 year old children: A randomized double-blind trial. *Pediatr Montelukast study group. JAMA.* 1998;276:1181-6.
58. Bisgaard H, Zielen S, Garcia-Garcia ML, Johnston SL, et al. Montelukast reduces asthma exacerbations in 2 to 5 year old children with intermittant asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;17:315-22.

59. Knorr B, Franchi LM, Bisgaard H, Vermeulen JH, et al. Montelukast, a leukotriene receptor antagonist, for the treatment of persistent asthma in children aged 2 to 5 years. *Pediatrics*. 2001;108:48-53.
60. Van Adelsberg J, Moy J, Wei LX, Tozzi CA, et al. Safety, tolerability and exploratory efficacy of montelukast in 6 to 24 month old patients with asthma. *Curr Med Res Opin*. 2005;21:971-9.
61. Nayak A, Langdon RB. Montelukast in treatment of allergic rhinitis. *Drugs*. 2007;67:887-901.
62. Pelikan Z. The role of nasal allergy in chronic secretory otitis media. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2009;9:107-13.
63. Bernstein JM, Doyle WJ. Role of IgE-mediated hypersensitivity in otitis media with effusion: pathophysiologic considerations. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl*. 1994;163:15-9.
64. Fireman P. Otitis media and eustachian tube dysfunction in allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 1997;99:787-97.
65. Doyle WJ. The link between allergic rhinitis and otitis media. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2002;2:21-5.
66. Gentile D. Evolving role of leukotrienes in the pathogenesis of viral infections, including otitis media. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2006;6:316-20.
67. Balatsouras DG, Eliopoulos P, Rallis E, Sterpi P, et al. Improvement of otitis media with effusion after treatment of asthma with leukotriene antagonists in children with co-existing disease. *Drugs Exp Clin Res*. 2005;31:7-10.
68. Friesen CA, Neilan NA, Schurman JV, Taylor DL, et al. Montelukast in the treatment of duodenal eosinophilia in children with dyspepsia: Effect

on eosinophil density and activation in relation to pharmacokinetics. *BMC Gastroenterol.* 2009;9:32-38.

69. El-Swefy S, Hassanen SI. Improvement of hepatic fibrosis by leukotriene inhibition in cholestatic rats. *Ann Hepatol.* 2009;8:41-9.

70. Ge S, Zhou G, Cheng S, Liu D, et al. Anti-atherogenic effects of montelukast associated with reduced MCP-1 expression in a rabbit carotid balloon injury model. *Atherosclerosis.* 2009;205:74-9.

71. Jawien J, Gajda M, Wołkow P, Zurańska J, et al. The effect of montelukast on atherogenesis in apoE/LDLR-double knockout mice. *J Physiol Pharmacol.* 2008;59:633-9.

72. Tolazzi AR, Tolazzi KD, Garcia M, Graf RM, et al. Influence of leukotriene inhibitor montelukast on wound contraction and cutaneous healing process in rats. *Aesthetic Plast Surg.* 2009;1:84-9.

73. Riccioni G, Capra V, D'Orazio N, Bucciarelli T, Bazzano LA. Leukotriene modifiers in the treatment of cardiovascular diseases. *J Leukoc Biol.* 2008;84:1374-8.

74. Ersoy Y, Cikler E, Cetinel S, Sener G, Ercan F. Leukotriene D4 receptor antagonist montelukast alleviates water avoidance stress-induced degeneration of the gastrointestinal mucosa. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2008;78:189-97.

75. Guneri EA, Tekin S, Yilmaz O, Ozkara E et al. The effects of hyaluronic acid, epidermal growth factor and mitomycin in an experimental model of acute traumatic tympanic membrane perforation. *Otol Neurotol.* 2003;24:371-6

76. Hermansson A, Prellner K, Hellstrom S. Prevention of experimental acute otitis media with penicilin V. *Acta Otolaryngol.* 1990;109:119-23.
77. Persico M, Podoshin L, Fradis M, Grushka M, et al. Recurrent acute otitis media- prophylactic penicilin treatment: a prospective study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1985;10:37-46.
78. Caye-Thomasen P, Hermansson A, Tos M, Prellner K. Effect of Penicillin on Experimental Acute Otitis Media. *Acta Otolaryngol Suppl.* 2000;543:56-57.
79. Yaman H, Öztürk K, Uyar Y, Gürbilek M. Effectiveness of corticosteroids in otitis media with effusion: an experimental study. *J Laryngol Otol.* 2008;122:25-30.
80. Kim DH, Park YS, Jeon EJ, Yeo SW, et al. Effects of tumor necrosis factor alpha antagonist, platelet activating factor antagonist and nitric oxide synthase inhibitor on experimental otitis media with effusion. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2006;8:617-23.
81. Park YS, Jeon EJ, Auo HJ, Chang KH, et al. Effect of Inhibitor of Tumor Necrosis Factor and Oxatomide on Immune Mediated Otitis Media. *Laryngoscope.* 2006;116:1642-6.
82. McCormick DP, Saeed K, Uchida T. Middle ear fluid histamine and leukotriene B4 in acute otitis media: effect of antihistamine or corticosteroid treatment. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2003;67:221-30.
83. Kanaoka Y, Boyce JA. Cysteinyl leukotrienes and their receptors: cellular distribution and function in immune and inflammatory responses. *J Immunol.* 2004;173:1503-10.

