

OTOSKLEROZA: PATOLOGIJA LOKALNOG ŽARIŠTA I PERILIMFE

Ljiljana Janošević¹, Vojko Đukić¹, Slobodanka Janošević²,
Vladimir Nešić¹, Zoran Dudvarski¹

¹Institut za otorinolaringologiju i maksilofacijalnu hirurgiju, Klinički centar Srbije

²Institut za socijalnu medicinu, statistiku i istraživanja u zdravstvu, Medicinski fakultet, Beograd

Kratak sadržaj: Izvršena je sistematizacija i korelacija do sada akumuliranih saznanja iz brojnih patohistoloških, histohemijskih, imunohistohemijskih i biohemijskih proučavanja lokalnog žarišta i perilimfe u otosklerozi, sa ciljem da se kompletnije i ispravnije sagledaju događaji na ćelijskom i molekularnom nivou u obolelom tkivu kapsule otike. Fokusi interesovanja su bili: predilekciona mesta i distribucija otosklerotičnih žarišta, klasifikacija lokalnih događaja u otosklerozi, aktivna i neaktivna otosklerotična žarišta, osteoidne ćelije, enzimska aktivnost otosklerotičnih žarišta i perilimfe, komponente koštanog matriksa i neorganski sastojci kosti. Definisane su morfološke promene koje karakterišu proces bolesti i mikroskopski izgled otosklerotičnih lezija, kao i metabolički procesi i dizbalansi u žarištu otoskleroze. Posebno su istaknute celularne promene i dizbalans u enzimskim sistemima u fazi resorpcije kosti. Autori naročito naglašavaju potrebu praćenja i kritičke procene kako pojedinih nalaza tako i generalnih pravaca naučnoistraživačkog rada u multifaktorijalnoj bolesti kakva je otoskleroza.

Ključne reči: otoskleroza, etiopatogeneza, lokalni faktori

Uvod

Od kada je Politzer, 1894. godine pretpostavio da je otoskleroza primarno oboljenje kosti kapsule labirinta, mnogobrojne studije usmerene su na ispitivanje lokalnih faktora ovog područja. Najveći doprinos ekspanziji saznanja o nastanku, izgledu i razvoju otosklerotične lezije proistekao je iz patohistoloških, histohemijskih i biohemijskih studija. Patohistološke studije su omogućile definisanje morfoloških promena koje karakterišu proces bolesti i opisivanje mikroskopskog izgleda otosklerotične lezije. Histohemijske studije su pokazale da su otosklerotične lezije metabolički aktivne, naročito za vreme perioda rasta i invazije, a imunohistohemijski u njima je dokazano prisustvo nekoliko vrsta autoantitela. Primena osetljivih tehnika biohemijskih analiza i visokoosetljivih hemijskih reakcija otvorila je put ka identifikaciji i kvantitativnom merenju malih molekularnih dizbalansa u žarištu otoskleroze. Raznovrsnost i obimnost kliničkih i eksperimentalnih podataka koji su se akumulirali tokom vremena doveli su,

međutim, do paradoksalne situacije, koja bi se mogla najbolje okarakterisati kao produktivna konfuzija (1, 2). Ona obezvređuje rad mnogih istraživača uslovljavajući smanjenje interesovanja za naučnoistraživački rad u ovoj oblasti, koje se uočava poslednjih godina. Verujemo da bi sistematizacija dosadašnjih saznanja i korelacija histoloških, histohemijskih i biohemijskih informacija omogućila da se dobije kompletnija i ispravnija slika događaja u otosklerotičnom žarištu i tako podstaknu istraživački potencijali, zbog čega je preduzet rad na ovoj studiji (3, 4).

Predilekciona mesta i distribucija otosklerotičnih žarišta

Promene u koštanoj kapsuli labirinta i stajpesa najčešće postoje simetrično na obe strane i na istim mestima. Incidenca bilateralne otoskleroze kreće se između 78 i 85 procenata. Unilateralne promene veći na autora nalazi u 10 do 15 procenata slučajeva, a vrlo su retke studije po kojima je jednostrana otoskleroza češća od obostrane.

U odnosu na proširenost otosklerotičnih promena mora se napraviti razlika između relativno retke difuzne otoskleroze, koja zahvata veće delove kohleje i vestibuluma, pa čak i semicirkularnih kanala, i mnogo

Adresa autora

Prof. dr Ljiljana Janošević
Institut za otorinolaringologiju i maksilofacijalnu hirurgiju
Klinički centar Srbije, Beograd
Tel.: 643 694

češće fokalne otoskleroze, gde su cirkumskriptni fokusi prisutni na određenim tipičnim lokalizacijama. Prvi se javlja u oko 10 procenata, a druga u oko 90 procenata svih slučajeva.

Iako svaki deo labirintne kapsule može biti zahvaćen fokusom otoskleroze, solitarne lezije nove kosti pokazuju afinitet za pojedina područja. Najčešće mesto je region ovalnog prozora, a druga mesta predilekcije su okrugli otvor, prednji zid unutrašnjeg slušnog hodnika i bazalna ploča stapesa. Lokalizacija otosklerotičnih žarišta u suprastrukturama stapesa nije, međutim, mogla biti potvrđena visoko osetljivim imunološkim tehnikama (5-10).

Fokusi otoskleroze su opisani i izvan labirintne kapsule, u drugim delovima temporalne kosti, kao na primer u descendentnom delu facijalnog kanala, kohleariformnom nastavku, karotidnom kanalu i tegmenu. Ekstremno je retka pojava otosklerotičnih žarišta na inkusu i glavi maleusa, gde je njihovo prisustvo teško objasniti.

U većini slučajeva istovremeno postoje fokusi na nekom od predilekcionih mesta, najčešće u tzv. otosklerotičnom uglu (predeo ispred ovalnog prozora, između prednje ivice bazalne ploče stapesa, gornje ivice promontorijuma i kohleariformnog nastavka) i drugim delovima labirintne kapsule. Izolovani fokusi su nađeni samo u 25 procenata slučajeva. Proučavanje malih fokusa u predelu ovalnog otvora je pokazalo da neki od njih počinju u spoljnom, periostalnom delu fissule *ante fenestram*, dok su u drugim slučajevima oni nalaženi u blizini ovalnog prozora, ali bez ikakve veze sa fissulom, što govori protiv mišljenja da otosklerotični fokusi vode poreklo od hrskavičavih embrionalnih zadržanaka u fisurama kapsule labirinta.

Klasifikacija događaja u otosklerozi

Osnovna struktura koja u procesu otoskleroze trpi preobražaje je hondro-osteoidno tkivo u nivou koštane kapsule labirinta i stepesa. Identifikovana su četiri stadijuma transformacije (4). U prvom stadijumu dolazi do destrukcije stare kapsularne kosti i formiranja patološke kostne srži unutar resorptivnih prostora. Zamena apsorbovane stare kosti novom, patološkom, veoma nezrelom kosti, predstavlja drugi stadijum. U trećem stadijumu stupnjevito se povećava stepen zrelosti novoformirane kosti. I najzad, u četvrtom stadijumu, stvara se prava lamelarna dobro mineralizovana kost. U literaturi postoji niz drugih klasifikacija događaja u otosklerozi, koji se ne razlikuju bitno od opisanih (2, 11). Ne postoji regularnost progresije iz jednog stadijuma u drugi (9). Treba istaći činjenicu da se svi stadijumi bolesti mogu nekada videti zajedno u jednom istom otosklerotičnom fokusu.

Za otoskleroza su karakteristična dva tipa žarišta, mlada, aktivna i stara, neaktivna, u okviru kojih se izučavaju dva tipa kosti, spongiozna i lamelarna, i dva tipa ćelija, osteoblasti odnosno osteociti i osteoklasti.

Aktivno otosklerotično žarište i spongiozna kost

Mlado, aktivno žarište otoskleroze je meko, sastavljeno od širokih vezivno-vaskularnih prostora, između kojih se deponuju tanke trabekule fibrozne, odnosno spongiozne kosti. U samom početku formiranja aktivnog žarišta dolazi do proširivanja perivaskularnih prostora labirintne kapsule, sa stvaranjem resorptivnih sržnih prostora i proliferacijom mladog visokocelularnog vezivnog tkiva. U početku aktivno žarište sadrži brojne ćelije odgovorne za resorpciju kosti osteoklaste, a kada se njegova aktivnost smanji, pojavljuju se ćelije koštane sinteze osteoblasti. U slučajevima kada proces bolesti napreduje polako, što se najčešće dešava, broj osteoklasta ne mora biti izrazito veliki i pored toga što se radi o aktivnoj regiji fokusa. Prva kost koja nastaje posle liziranja stare potpuno je nezrela. Ona se odlikuje spongioznom strukturom i povećanjem vaskularnosti i celularnosti u odnosu na neotosklerotičnu kost. Ova je kost bogata cementnom supstancom, a siromašna kolagenim vlaknima. Hematoksilinom i eozinom se boji plavo, zbog čega se označava kao bazofilna ili plava kost. Sržne ćelije koje se pretvaraju u osteocite povremeno se za vreme naglog stvaranja nezrele kosti spajaju međusobno, ostavljajući šupljine povezane kanalićima tako da novoformirana kost izgleda kao sito. Ove sitaste perforacije jedno vreme su pogrešno smatrane degenerativnim promenama stare labirintne kapsule. Dokazano je, međutim, da je otosklerotična kost potpuno nova tvorevina i da ne sadrži delove stare kapsule što je vredan nalaz koji služi kao polazna činjenica u etiopatogenetskim istraživanjima otoskleroze. Novoformirana spongiozna, plava kost deponovana primarno u perivaskularne resorptivne prostore stare kapsule labirinta često se u literaturi označava kao plavi omotač (blue mantle).

Neaktivno otosklerotično žarište i lamelarna kost

Unutar nezrele kosti kontinuirano teku procesi resorpcije i obnavljanja, što dovodi do pojave narednih generacija drugačije, sve zrelije kosti. Kost stupnjevito postaje bogatija u fibrilima, a siromašnija u cementnoj supstanci. Ona dobija acidofilne karakteristike i boji se crveno hematoksilinom i eozinom.

Kada se prava lamelarna, visokomineralizovana kost deponuje unutar spongiozne, otosklerotični fokus dobija mozaični izgled. Staro, neaktivno žarište otoskleroze je beličaste boje, rekalifikovano, sastavljeno iz kompaktne kosti veoma siromašne krvnim sudovima i ne sadrži ćelije odgovorne za resorpciju kosti.

Prema nekim autorima nova lamelarna kost je deblja i celularnija i manje čvrsta u poređenju sa normalnom kosti (9). Većina istraživača, međutim, ne konstatuje značajne razlike između zdrave labirintne kosti i zrele neoformacije u otosklerozi. Kalcifikacija u otosklerozi sledi sličan put kao u drugim procesima gde fibrogeneza i mineralizacija imaju primarnu ulogu (12).

Osteoidne ćelije

Na mestu gde dolazi do resorpcije i izgradnje kosti mogu se videti osteoidne ćelije u nekoj od svojih formi: osteoblasti, osteociti i osteoklasti. U istraživanjima otoskleroze pitanje uloge pojedinih osteoidnih ćelija se posebno potencira pošto postoji potreba da se definišu vrste ćelija odgovornih za resorpciju normalne i depozicije nezrele otosklerotične kosti. S obzirom na to da se radi o područjima kojima je proces remodelacije kosti normalno stran, treba očekivati odstupanja od fizioloških odnosa.

Kako su osteoklasti tradicionalno smatrani odgovornim za fiziološku resorpciju kosti i pošto su prisutni u regijama otosklerotične resorpcije, logično se razvila hipoteza da su osteoklasti odgovorni za resorptivne procese u inicijalnom stadijumu bolesti. Prema klasičnoj osteoklastnoj teoriji otosklerozu predstavlja proces osteoklastične destrukcije kosti kapsule otike. Međutim, detaljnija istraživanja su pokazala da osteoklasti nisu, ili bar nisu jedini odgovorni za resorpciju kosti u procesu otoskleroze (13). Prvo, nije se mogla dokazati celularna aktivnost osteoklasta u otosklerozu (intracelularni lizozomi i pericelularna liza kolagena). Pored toga, osteoklasti su nađeni samo u malom broju visokoaktivnih fokusa. Praktično su svi locirani centralno u žarištu, a ne u njegovim perifernim delovima gde se odigrava resorpcija prvobitne labirintne kapsule. Citohemijska ispitivanja su potvrdila da se resorpcija kosti u otosklerozu odigrava duž jasno ograničenog fronta, koji ne pokazuje lakune (Howshipove lakune) karakteristične za dejstvo osteoklasta u tkivu. Takođe, nalaz mikrofokusa otoskleroze ne može biti objašnjen na osnovu osteoklastne teorije. Danas se smatra da osteoklasti igraju ograničenu ulogu u aktivnoj fazi otoskleroze i da se uglavnom vide pri kraju procesa tj. u fazi rekonstrukcije pseudohaverzijalnog sistema. Za vreme fiziološke resorpcije, osteoklasti pokazuju intenzivnu aktivnost sukcinat-dehidrogenaze i citohrom-oksidge za razliku od osteoblasta gde je ova aktivnost umereno izražena, ako uopšte postoji (14, 15). Identična situacija utvrđena je u otosklerotičnoj resorpciji: aktivnost ovih enzima je bila intenzivna u osteoklastima, a blaga ili nije postojala u osteocitima (16). Ovaj visoki nivo oksidativne aktivnosti očekuje se tamo gde je ćelija angažovana u aktivnoj fagocitozi. Zato nalaz velike količine enzima kisele fosfataze u osteoklastima (16) ne bi trebalo da bude ni malo neobičan pošto može biti posledica osteoklastne ingestije ostataka dezintegrisanog matriksa. Sugestiji da osteoklastima treba pripisati prvenstveno ulogu u procesima fagocitoze nedostaju kompletniji eksperimentalni argumenti. Najzad, pošto osteoklasti u otosklerotičnom fokusu ne pokazuju morfološke ili histoheмиjske abnormalnosti, što znači da su njihov izgled i aktivnost identični kao u fiziološkim resorptivnim centrima, smatra se malo verovatnim da oni mogu biti primarni u patogenezi otoskleroze.

Postoje dokazi da u resorptivnim procesima otoskleroze primarnu ulogu imaju posebne ćelije, čija vrsta i poreklo još nisu definitivno razjašnjeni. Izneto je mišljenje da se radi o izmenjenim osteocitima (9, 12). Neki autori smatraju da se radi o histiocitima (13). Postoji mišljenje da su u pitanju monoci, koji izlaze iz kapilara u perivaskularne prostore i tu se transformišu u histiocite odnosno tkivne ili fiksne fagocite (17). Bez obzira na njihovo poreklo, redovno se konstatuje prisustvo ovih ćelija u perifernim delovima otosklerotičnog žarišta dakle tamo gde se odigravaju resorptivni procesi, a mogu se naći i na izvesnoj udaljenosti od osnovnog fokusa u tzv. mikrofokusima. Elektronskom mikroskopijom je utvrđeno da ove ćelije sadrže redak endoplazmatični retikulum i jedan broj mitohondrija. U njihovoj citoplazmi se nalaze citoplazmatična tela ograničena prostom membranom, čija veličina i karakteristična gustina pokazuju da se radi o lizozomima. U okolini ovih ćelija prisutna je liza kolagena. Kako hidrolitički enzimi u lizozomima mogu da disociraju proteine, to istovremeno prisustvo lizozoma i pericelularne lize kolagena ukazuje na ulogu ovih ćelija u koštanoj resorpciji kao inicijalnom stadijumu otoskleroze (12). S obzirom da su dosadašnja ispitivanja osteogeneze humanog fetusa, uključujući studije o rastu kapsule otike, pokazala da histiociti mogu prouzrokovati destrukciju kosti i hrskavičavog matriksa i da se možda osteoklasti formiraju fuzijom ovih ćelija, misli se da bi sličan proces mogao nastati u kasnijem životu o toku otoskleroze. Prema ovom shvatanju ćelije sa lizozomima (histiocitima slične ćelije) miruju u fetalnoj hrskavici, koja perzistira u labirintnoj kapsuli ili nastaju transformacijom primitivnih mezenhimalnih ćelija, možda prenesenih putem krvi. Ćelije sa lizozomima nema u normalnom tkivu labirintne kapsule.

Otkriće ćelija koje sadrže lizozome, bilo da se radi o izmenjenim osteocitima, ćelijama sličnim histiocitima ili nekom drugom tipu ćelija, čini osnovu lizozomalne teorije otoskleroze (13, 18). Po ovoj teoriji primarni faktor u razvoju otosklerotičnog fokusa predstavlja oštećenje ćelija sa lizozomima, zbog čega nastaje bubrenje i ruptura lizozoma. Proteolitički enzimi oslobođeni iz lizozoma prouzrokuju razgradnju ne samo matične ćelije, već otpušteni iz citoplazme, oni takođe mogu razoriti okolnu kost. Na ovaj način ćelije sa lizozomima bile bi aktivno angažovane u lizi i resorpciji kosti tokom destruktivne faze otoskleroze, tako da se mogu smatrati odgovornim za resorpciju kosti. Pored toga, hidrolitički enzimi oslobođeni iz otosklerotičnog fokusa mogu ispoljiti toksične efekte na osetljive sensorineuralne strukture unutrašnjeg uva. Zahvaljujući brojnim istraživanjima lizozomalna teorija je prerasla u enzimošku koncepciju otosklerotične bolesti.

Način na koji započinje enzimski proces je nepoznat. Moglo bi se pretpostaviti da svi agensi koji su sposobni da oštete matičnu ćeliju sa lizozomima ili da umnože i aktiviraju ova citoplazmatična tela mogu biti početni stimulus otosklerotičnog procesa (19-31). U

in vivo eksperimentima ekscitirajući agensi su porast kiseonika u ćelijama, davanje parathormona i mnogi drugi fizički i hemijski agensi. Jedan od najvažnijih ekscitirajućih faktora lizozoma svakako su estrogene hormoni za koje je utvrđeno da fragilizuju membrane lizozoma. Izneto je pretpostavka da su ćelije sa lizozomima u otosklerozi genetski inferiorne i da su njihovi lizozomi subnormalno rezistentni na ekscitirajuće kako lokalne tako i sistemske uticaje. Uz ostale poznate faktore, kao što su pubertet, trudnoća, inflamacija, posebno je ispitivana mogućnost imunološke povrede u nestabilnoj kapsuli labirinta. Imunohistohemijskim i biohemijskim analizama utvrđeno je da u aktivnom otosklerotičnom fokusu postoji inflamatorna reakcija tkiva koju karakteriše prisustvo makrofaga, T- i B-limfocita, HLA-DR pozitivne ćelije, plazma ćelije, komplementa i imunoglobulina (IgG, IgA), koji su identifikovani kao autoantitela (nekoliko vrsta anti-virusnih antitela, antitela protiv kolagena II prisutnog u kapsuli labirinta). Iz ovih nalaza proizašla je pretpostavka da otoskleroza predstavlja autoimunu bolest.

Enzimski aktivnost otosklerotičnih žarišta i perilimfe

Pokušaji da se otoskleroza objasni lokalnim poremećajima enzimski aktivnosti doveli su do brojnih citoenzimoloških i biohemijskih studija otosklerotičnih ognjišta i perilimfe. Ova su proučavanja usmerena na definisanje sastava enzimskih sistema, kao i na otkrivanje eventualnih kvantitativnih i kvalitativnih aberacija pojedinih enzima ili njihovih grupa u matičnom otosklerotičnom tkivu. Utvrđeno je prisustvo i određena lokalizacija i aktivnost većeg broja enzima, među kojima su: kiselna i alkalna fosfataza, laktatna dehidrogenaza, citohrom oksidaza, leucin aminopeptidaza, nespecifični esteraza kompleks, aldolaza, glukozo-6-fosfat dehidrogenaza, tripsin, α_1 -antitripsin, α_2 -makroglobulin i drugi (16, 32, 33).

Velike količine kisele fosfataze su nađene u osteoklastima i matriksu otosklerotične kosti, a velike količine sukcinat dehidrogenaze i citohrom oksidaze u osteoklastima, fibroblastima, zidovima krvnih sudova i nešto manje količine u osteocitima otosklerotičnih fokusa. Alkalna fosfataza je utvrđena kako u ćelijama (osteoblastima, osteoklastima, fibroblastima) tako i matriksu otosklerotične lezije, a konstatovano je i njeno značajno povećanje u bolešću zahvaćenim stapesima. Količina laktat dehidrogenaze u otosklerotičnom tkivu je snižena. Leucin aminopeptidaza i nespecifični esteraza kompleks nađeni su u zidovima krvnih sudova, perivaskularnim fibroblastima i delom osteocitima u blizini krvnih sudova otosklerotičnog fokusa.

Posebno su interesantne studije enzimski aktivnosti u aktivnom otosklerotičnom ognjištu i perilimfi (13, 18). Utvrđeno je da u stadijumu resorpcije kosti u otosklerotičnom fokusu povećava ukupna enzimski aktivnost i lokalno se snižava pH. Ukupno povećanje

enzimski aktivnosti predstavlja indikator povišenog nivoa metaboličke aktivnosti. Povišena metabolička aktivnost otkrivena je ne samo u otosklerozom zahvaćenim već i u normalnim stapesima (enhondralna kost), iako ne u istom stepenu, dok je značajno niža u maleusu, inkusu i kortikalnoj kosti (lamelarna kost). Dosta je logično zaključiti da visoka metabolička aktivnost može biti jedan od faktora koji određuju predispoziciju enhondralne kosti za razvijanje otosklerotičnih fokusa. Ukupno povećanoj enzimskoj aktivnosti u otosklerotičnom žarištu, naročito značajno doprinosi povišenje aktivnosti kisele fosfataze, enzima za koji se zna da je prisutan u lizozomima. Smatra se da je nalaz povišene aktivnosti kisele fosfataze karakterističan za otosklerotično tkivo, tim više što postoji korelacija između nivoa njegove aktivnosti i stepena rasta otosklerotične kosti. Citotoksični enzimi, koji rastvaraju kost mogu se dokazati u perifernim delovima žarišta. U ognjištu aktivne otoskleroze povećana je količina kataboličkih produkata ćelijske degeneracije.

Citotoksični enzimi i produkti ćelijske razgradnje lako difunduju u labirintne tečnosti kada aktivni otosklerotični fokus dopre do endostijuma. Oni određuju pH perilimfe, čijim se merenjem može utvrditi stepen resorpcije kosti po principu obrnute proporcije: niži pH perilimfe je znak intenzivnije koštane resorpcije. Biohemijskim ispitivanjima perilimfe identifikovani su sledeći citotoksični enzimi: kiselna fenil-fosfataza, kolagenaza, tripsin, alfa-himotripsin, ribonukleaza i laktat dehidrogenaza. Stepem hidrolitičke aktivnosti perilimfe, a posebno aktivnost kisele fenil-fosfataze, pouzdani su pokazatelji stepena koštane resorpcije u otosklerotičnom žarištu (13). Veći stepen enzimski aktivnosti označava veći stepen resorpcije kosti i obrnuto. Uspostavljena je takođe visoka korelacija između stepena sensorineuralnog oštećenja sluha i hidrolitičke aktivnosti u perilimfi. Korelacija postoji i u odnosu na razgradne ćelijske produkte dospеле u perilimfu. U kohlearnoj otosklerozi povišeni su nivoi jona i proteina u perilimfi i oni direktno koreliraju sa stepenom sensorineuralnog oštećenja. Izučavanje tripsina, α_1 -antitripsina i α_2 -makroglobulina u uzorcima perilimfe otosklerotičnih bolesnika pokazalo je da je bitan mehanizam u otosklerotičnom procesu poremećaj enzimski ravnoteže, s tim što kohlearno oštećenje nastaje kada se ravnoteža poremeti u korist tripsinski aktivnosti (14, 15). Izgleda da α_2 -makroglobulin igra podjednako važnu ulogu kao i α_1 -antitripsin u odnosu sa tripsinom. Ovo je naročito značajno u otosklerotičnoj bolesti u kojoj je α_1 -antitripsin po pravilu nizak. Saradnja između α_1 -antitripsina i α_2 -makroglobulina, prema ovim studijama, od esencijalne je važnosti za mehanizam otoskleroze. Rezultat sloma normalne enzimski ravnoteže u korist tripsina je povećanje tripsinskih vrednosti, to oštećuje ćelije sa dlačicama, vodi kohlearnoj deteriorizaciji i razara kolagene fibrile za vreme prve faze lize kosti. Kao posledica nastaje sekundarna izgradnja pseudohaverzijalne kosti.

Ravnoteža između tripsina i α_1 -antitripsina, kao i drugih inhibitora proteaza, nije jedini mehanizam koji je oštećen otosklerotičnom bolešću. Drugi enzimi nađeni u perilimfi, takođe, su poremećeni u otosklerozi.

Aktivnost laktat dehidrogenaze u otosklerotičnom ognjištu je abnormalno niska (33, 34). Oksalati inhibiraju laktat dehidrogenazu iz otosklerotične kosti u većem stepenu nego onu iz normalne kosti, što govori o predominaciji srčanih izoenzima nad mišićnim. Sniženi nivo aktivnosti laktat dehidrogenaze može biti u vezi sa povećanjem količine sulfhidrilnih grupa u otosklerotičnoj leziji. Izgleda da se enzim na neki način depolimerizuje na subjedinice koje su neaktivne. Hiperemija, za koju se tvrdi da predstavlja karakteristiku aktivnog fokusa, može takođe prouzrokovati sniženje aktivnosti laktat dehidrogenaze putem povratne inhibicije.

Nivo aktivnosti fosfofruktokinaze u otosklerotičnoj kosti nije izmenjen u odnosu na neotosklerotičnu, ali ovaj enzim pokazuje kvalitativne abnormalnosti u odnosu na normalu (33). Fosfofruktokinaza iz otosklerotične kosti je neosetljiva na negativnu povratnu spregu putem citrata. Identifikacija aberantnog enzima fosfofruktokinaze u otosklerozi govori da se otoskleroza karakteriše defektnom regulacijom glikolize što se odražava povećanim aerobnim metabolizmom.

Izneta podaci daju osnova da se pretpostavi uticaj enzimskih sistema u mehanizmima koji deluju u otosklerotičnoj bolesti, a takođe služe kao teorijska osnova pokušaja medikamentoznog lečenja otoskleroze natrijum-fluoridom.

Komponente koštanog matriksa i neorganski sastojci kosti

Deponovanje nezrele otosklerotične kosti prati resorptivne procese. Nedvosmisleno je utvrđeno da kost bilo koje vrste stvaraju isključivo osteoblasti (26), koji imaju sve karakteristike sekretorne ćelije. Brojne karakteristične razlike između fibrozne i lamelarne kosti ukazuju na to da osteoblasti koji formiraju fibrozu kost imaju drugačiju hemijsku aktivnost od osteoblasta koji stvaraju lamelarnu kost. Pored toga, postoje razlike u mehanizmima koji otkočuju sintezu ova dva tipa kosti, kao i mehanizmima koji kontrolišu modalitet, brzinu i dužinu koštane sinteze (35). Ovi faktori mogu biti lokalni i sistemski ili i jedni i drugi. Nedostatak informacija koje se odnose na hemiju i fiziologiju osteoblasta i faktore koji na njih utiču unose konfuziju u tekuća shvatanja fiziologije i patofiziologije kosti. Da bi pribavile ove informacije, mnoge su studije otosklerotičnih žarišta fokusirane na produkte osteoplastne aktivnosti odnosno osnovne komponente intercelularne supstance: koštani matriks i neorganske konstituente kosti.

Koštani matriks (osnovna supstanca) kao organski deo kosti, sadrži kolagen (95%) i cementnu supstancu (5%). Koštani kolagen formiraju osteoblasti u

vidu molekula tropokolagena koji su ultramikroskopskih dimenzija, konstantnog hemijskog sastava i određene molekulske mase. Molekuli tropokolagena polimerizuju izvan citoplazme osteoblasta u fibrile različite dužine i debljine. Izgleda da je kolagen u koštanom tkivu sličan kolagenu u drugim tkivima, kao što su koža, tetive, zubi i vezivna tkiva (35). Cementna supstanca je sačinjena od mukopolisaharida, uglavnom hondroitin sulfata. Postoje i druge supstance u ovoj frakciji koštanog matriksa koje mogu biti važne za razumevanje njegovog formiranja. Bliske hemijske i fizičke veze postoje između koštanog kolagena i koštane cementne supstance.

Histohemijske studije pokazuju da je osnovna supstanca u otosklerozi aktivna. Ukupni mukopolisaharidi u otosklerozi nisu poremećeni, ali postoje poremećaji u proporciji specifičnih tipova mukopolisaharidnih molekula (kiselih, neutralnih, sulfatnih i nesulfatnih mukopolisaharida), kao i u stepenu njihove polimerizacije. Histohemijski i biohemijski podaci govore da je u aktivnim fokusima otoskleroze povećana količina kiselih mukopolisaharida. Ovo znači istovremeno i proporcionalno sniženje neutralnih mukopolisaharida kako bi ukupna količina ostala nepromenjena. Utvrđeno je da se aktivnost osnovne supstance u otosklerozi ne razlikuje bitno u odnosu na druge novoformirane kosti (16). Gustina PAS pozitivnog materijala varira u različitim delovima otosklerotične lezije što ukazuje na promene u građi, verovatno u smislu poremećaja stepena polimerizacije intercelularne supstance. Izgleda da u otosklerozi postoji stanje veće kondenzacije i manje dinamike osnovne supstance (34). Mada neke biohemijske studije ukazuju na povećanje fibrilarnog sadržaja u otosklerotičnoj kosti, pod polarizacionim mikroskopom nepravilno aranžirani kolageni fibrili fokusa pokazuju izrazitu sličnost sa drugim novoformiranim fibrozim kostima (36). Oni se, međutim, razlikuju od mnogo pravilnije složenih fibrila normalne enhondralne kosti. Iz ovog proizilazi da su promene u kolagenim fibrilima osnovne supstance pretežno organizacione. Čelije fokusa mogu biti abnormalno nezrele, zbog čega se samo povremeno i polako nezreli matriks remodelira u tipičnu lamelarnu, haversizjalnu kost.

S obzirom na to da je kolagen u različitim tkivima gotovo identičan sa kolagenom u kostima, dok je cementna supstanca (hijaluronska kiselina) različita, veruje se da su neke posebne karakteristike cementne koštane supstance odgovorne za sposobnost kosti da se mineralizuje. Iz ovog se može izvući zaključak da posebnosti koje postoje u otosklerozi treba prvenstveno tražiti u ispitivanju cementne supstance, a naročito njene hemijske dinamike (35).

Osnovne frakcije koštanih minerala koje učestvuju u mineralizaciji kosti su fosfati, karbonati, citrati, magnezijum i natrijum. Iako je mineralizacija multifazički proces, danas je prilično razjašnjena. Taloženje mineralnih soli u intercelularnu supstancu je posledica fermentativne aktivnosti osteoblasta, koji u normalnim

uslovima proizvode ferment alkalnu fosfatazu. Ovaj enzim deluje samo u alkalnoj sredini, a za njegovo aktiviranje neophodno je prisustvo jona magnezijuma. U takvim uslovima fosfataza odvaja iz krvi jone fosfora, koji se talože u intercelularnu supstancu i privlače suprotno naelektrisane jone kalcijuma. Oni se pod uticajem vitamina D vezuju sa fosforom, pa nastaje tvrda koštana supstanca.

U ranim studijama stepen mineralizacije otosklerotičnih lezija je procenjivan na osnovu karakterističnog prebojavanja kostiju (6). Mekotivne mikroradiografije su bile prvi egzaktni metod za procenjivanje sadržaja minerala u kosti, a danas se mogu koristiti savremene radiološke tehnike kompjuterizovane tomografije (37, 38). Regioni kartilaginoznih zaostataka («globuli interossei») *fissule ante fenestram* i *fossule post fenestram* u labirintnoj kapsuli, proučavani kao mesta predilekcije za otoskleroze, pokazuju visok sadržaj kalcijuma ili novu koštanu formaciju ili i jedno i drugo.

Novije tehnike ispitivanja neorganskih sastojaka kosti su mnogo preciznije. Pored ukupnog mineralnog sastava, njima se mogu ispitati i pojedini elementi i joni u otosklerotičnim lezijama. Od elemenata su naročito detaljno proučavani kalcijum i fosfor, a od jona magnezijum, bakar, hlor, natrijum, kalijum i sumpor. Rezultati ovih istraživanja tako su različiti da slaganje među njima predstavlja izuzetak. Izgleda da se metodološke

razlike pojavljuju kao faktor koji značajno doprinosi ovoj konfuziji. Tako je biohemijskom tehnikom utvrđen snižen sadržaj kalcijuma i fosfora u stapesima otosklerotičnih bolesnika, iz čega proizilazi da je mineralizacija u otosklerozi nekompletna (36). Suprotno tome, analizom neutronske aktivacije nisu ustanovljene promene u sadržaju ovih elemenata u normalnoj i otosklerotičnoj kosti (39). Proučavanje metabolizma kalcijuma u kulturama tkiva otosklerotičnih bolesnika metodom vezivanja radioaktivnog izotopa $^{45}\text{Ca}^{+3}$, pre i posle stimulacije kalcitoninom ili dibutilil-cikličnim adenozin monofosfatom nisu nađene razlike u vezivanju $^{45}\text{Ca}^{+3}$ između normalne i otosklerotične kosti, ali su one ustanovljene posle dodavanja propranolola, što ukazuje na mogućnost parcijalne alteracije celularnih receptora za kalcitonin u otosklerozi (21, 22).

Iskustvo je pokazalo da je neophodno izgraditi određene metodološke kriterijume i precizirati tehnike ispitivanja da bi se moglo računati sa mogućnošću upoređivanja rezultata raznih autora. U metodološkom pogledu treba imati na umu da kvantitativno merenje ukupnog mineralnog sadržaja u otosklerotičnoj kosti, u najboljem slučaju odražava samo trenutni odnos između dinamičkih procesa resorpcije i izgradnje kosti. Apsolutno povećanje ili smanjenje sadržaja minerala govori samo koja je od ove dve faze dominantna u fokusu u trenutnu analizu. Merenje pojedinih elemenata logičniji je pristup istraživanju ovih dinamičkih procesa.

OTOSCLEROSIS: PATHOLOGY OF THE LOCAL FOCUS AND PERILYMPH

Ljiljana Janošević¹, Vojko Đukić¹, Slobodanka Janošević²,
Vladimir Nešić¹, Zoran Dudvanski¹

¹Institute of Otorhinolaryngology and Maxillofacial Surgery, Clinical Centre of Serbia

²Institute for Social Medicine, Statistics and Health Research, University Medical School, Belgrade

Summary: Data from numerous pathohistological, histochemical, immunohistochemical and biochemical studies of the otosclerotic tissue in the otic capsule are reviewed and correlated systematically in order to get more complete insight of the local cellular and molecular events in otosclerosis and to derive the basic knowledge from them. The following parameters are focused: sites and distribution of the otosclerotic foci, classification of the local events in otosclerosis, active and inactive otosclerotic foci, osteoid cells, enzyme activity of the otosclerotic foci and perilymph, components of the bone inorganic constituents and matrix. Characteristic morphologic changes and microscopic appearance of the otosclerotic foci are defined as well as the metabolic processes and enzyme disbalances of the disorder with respect to the phase of the otosclerotic bone resorption and formation. The authors specially stress the necessity of constant monitoring and critical evaluation of both the research data and the general concepts in the multifactorial field of otosclerosis.

Key words: otosclerosis, etiopathogenesis, local factors

Literatura

1. Ben Arab S, Besbes G, Hachicha S. Otosclerosis in population living in northern Tunisia: epidemiology and etiology. *Ann Otolaryngol Chir Cervicofac* 2001; 118 (1): 19-25.
2. Szekanecz Z, Szekanecz E, Morvai K, Racz T, Szegedi G, Sziklai I. Current aspects of the pathogenesis and clinical characteristics of otosclerosis: possibilities of drug therapy. *Orv Hetil* 1999; 140 (44): 2435-40.
3. Janošević Lj, Janošević S. Etiopatogeneza otoskleroze. Beograd: Naučna knjiga, 1986, 1-214.
4. Janošević Lj. Hormonski funkcionalni krug u bolesnika sa otosklerozom. Doktorska disertacija. Beograd: Medicinski fakultet, 1983.
5. Guild SR. Histological otosclerosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1944; 53 (2): 246.
6. Nager GT. Histopathology of otosclerosis. *Arch Otolaryngol* 1969; 89 (2): 341.
7. Schuknecht HF. Pathology of the ear. Cambridge: Harvard University Press, 1974.
8. Ribari O, Sziklai I. Examination of noncollagen protein composition of the footplate and suprastructures of the otosclerotic stapes. *Acta Oto-Laryngol* 1983; 95: 58.
9. Beales PH. Otosclerosis. Bristol: John Wright and Sons, 1981.
10. Lindsay JR. Histopathology of otosclerosis. *Arch Otolaryngol* 1973; 97 (1): 24.
11. Parahy C, Linthicum FH Jr. Otosclerosis and otospongiosis: clinical and histological comparisons. *Laryngoscope* 1984; 94: 508.
12. Friedmann I. Otosclerosis. Histopathology, light and electron microscopy. *Acta Oto-Rhino-Laryngol Belg* 1981; 35 (5-6): 419.
13. Chevance LG, Bretlau P, Jorgensen MB, Causse J. Otosclerosis: an electron microscopic and cytochemical study. *Acta otolaryngol (Stockh)* 1970; 1: 272.
14. Burstone MS. Histochemical demonstration of succinic dehydrogenase activity in otosclerosis. *Nature* 1960; 185: 866.
15. Burstone MS. Histochemical demonstration of cytochrome oxidase activity in otosclerosis. *J Histochem Cytochem* 1960; 8: 225.
16. Albernaz PLM, Covell WP. Otosclerosis of the stapes: a study of the lesion by histochemical procedures and fluorescence microscopy. *Laryngoscope* 1961; 71: 1333.
17. Savić D, Radulović R, Haralampiev K, Oprić M, Đerić D, Janošević Lj. Otoskleroza. Aranđelovac: Udruženje otorinolaringologa Jugoslavije, 1980.
18. Causse J, Chevance LG, Uriel J. Cellular and enzymatic concept of otosclerosis. Cyto-clinical relationship. *Excerpta Medica Interlational Congress Series* 1973; 337: 376.
19. Grayeli AB, Sterkers O, Roulleau P, Elbaz P, Ferrary E, Silve C. Parathyroid hormone-parathyroid hormone related peptide receptor expression and function in otosclerosis. *Am J Physiol* 1999; 277 (6): E1005-12.
20. Lacosta JL, Infante JC, Sanchez Galan L. Calcitonin and otosclerosis: a preliminary clinical note. *Acta Otorrinolaryngol Esp* 1997; 48 (7): 561-4.
21. Fano G, Venti-Donti G, Belia S, Peludetti G, Antonica A, Donti E, Maurizi M. PTH induces modification of transductive events in otosclerotic bone cell cultures. *Cell Biochem Funct* 1993; 11 (4): 257-61.
22. Della Torre G, Fulle S, Venti-Donti G, Palludetti G, Maurizi M, Donti E, Fano G. Altered adenylate cyclase activity in human otosclerotic bone cell cultures. *Mol Cell Endocrinol* 1989; 62 (1): 119-23.
23. Maurizi M, Donti E, Fano G, Paludetti G, Ottaviani F, Fulle S, Venti-Donti G. Study on normal and otosclerotic bone cell cultures: an advance in understanding the pathogenesis of otosclerosis. *Am J Otolaryngol* 1988; 9 (2): 68-78.
24. Arnold W, Neidermeyer HP, Altermatt HJ, Neubert WJ. Pathogenesis of otosclerosis. »State of art«. *HNO* 1996; 44 (3): 121-9.
25. Svatko LG. Pathogenetic aspects of otosclerosis. *Vestn Otorinolaringol* 1995; 3: 4-7.
26. Harris JP, Keithley EM. Inner ear inflammation and round window otosclerosis. *Am J Otol* 1993; 14 (2): 109-12.
27. Huang CC, Yabe Y, Yan SD. Effects of indomethacin and calcitonin on bone resorption in type II collagen-induced otosclerosis-like lesions in rats. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1990; 103 (6): 1002-8.
28. Yoo TJ, Shea JJ Jr, Floyd RA. Enchondral cartilage rests collagen-induced autoimmunity: a possible mechanism of otosclerosis. *Am J Otolaryngol* 1987; 8 (5): 317-24.
29. Brodie HA, Chole RA. The possible role of immunologic injury in the dysplastic bone lesion in LP/J mice. *Am J Otolaryngol* 1987; 8 (5).
30. Thalmann I, Thallinger G, Thalmann R. Otosclerosis: a local manifestation of a generalized connective tissue disorder? *Am J Otolaryngol* 1987; 8 (5): 308-16.
31. Lim DJ, Robinson M, Saunders WH. Morphologic and immunohistochemical observation of otosclerotic stapes: a preliminary study. *Am J Otolaryngol* 1987; 8 (5): 282-95.
32. Arslan M, Ricci V. Histochemical investigation of otosclerosis with special regard to collagen disease. *J Laryngol Otol* 1963; 77: 365.
33. Holdsworth C, Endahl GL, Soifer N. Comparative biochemical study of otosclerosis and osteogenesis imperfecta. *Arch Otolaryngol* 1973; 98: 336.
34. Soifer N, Altmann F, Endahl GL, Holdsworth C, Weaver K. Biochemical studies of otosclerosis: protein and enzy-

- mes in stapes and cortical bone. Acta Oto-laryng (Stockh) 1969; 68: 78.
35. Frost HM. Observations on the fundamental nature of otosclerosis. In: Schuknecht HF. ed. Otosclerosis. Boston: Little Brown, 1962.
36. Maurer H. Biochemical aspects of otosclerosis. Arch Oto-laryng 1967; 85: 24.
37. Karlsson K, Engström H. Microradiographic studies of the auditory ossicles and of the osseous labyrinth. Acta Radiol 1954; 42: 381.
38. Shinkawa A, Sakai M, Ishida K. Cochlear otosclerosis 30 years after stapedectomy confirmed by CT, MRI. Auris Nasus Larynx 1998; 25 (1): 95-9.
39. Soifer N, Thompson M, Fasano A, Morrow J, Endahl G, Holdsworth C. Otosclerosis. A further investigation of inorganic constituents by neutron activation analysis. Acta Otolaryngol (Stockh) 1970; 69: 320.

Rad primljen: 11. 08. 2003

Prihvaćen za štampu: 21. 08. 2003