

## A nem-otosclerosisos stapes fixációk kórszövettani osztályozása

Karosi Tamás dr., Csomor Péter dr., Z. Szabó László dr.<sup>1</sup>, Liktör Bálint dr.<sup>1</sup>,  
Petkó Mihály dr.<sup>2</sup>, Pytel József dr.<sup>3</sup>, Jóri József dr.<sup>4</sup>, Sziklai István dr.

**ÖSSZEFOGLALÁS:** A stapes ankylosis változatos betegségek együttese, melyet sajátos, eddig még nem osztályozott kórszövettani elváltozások jellemeznek. Irodalmi adatok alapján az otosclerosis klinikai és demográfiai jellemzői valójában a stapes ankylosisra vonatkoznak. A klinikai gyakorlatban az otosclerosis és a stapes ankylosis diagnózisa gyakran átfedésbe kerül: a két fogalmat rendszerint helytelenül, szinonimaként értelmezik. Tanulmányunkban 284, stapedectomia során eltávolított, nem-otosclerosisos stapes szövettani vizsgálatát végeztük el. Az otosclerosis szövettani vizsgálattal kizártuk. A metszetek maradványait homogenizáltuk, majd a teljes nukleinsav tartalmat kivontuk és végül kanyaróvírus specifikus RT-PCR-t végeztünk. A nem-otosclerosisos stapes fixációt a kanyaróvírus RNS teljes hiánya jellemezte. Szövettanilag a nem-otosclerosisos stapes ankylosis hat fő megjelenési formája különíthető el: *annuláris kalcifikáció* (N=152, 53,5%), *globuláris fibrózis* (N=49, 17,25%), *lymphoplasmocytar infiltráció* (N=31, 10,9%), *haemosiderosis* (N=22, 7,75%), *cholesterol- és mucin granulóma* (N=17,6%) és végül *amyloidosis* (N=13, 4,6%). Fontos hangsúlyozni, hogy az ankyloticus stapes talpak kétharmada patológiás csontátépülést mutatott. Nem-otosclerosisos stapes fixációk esetén a stapes talp fragmentációja és az úgynevezett „floating footplate” kialakulása meglehetősen ritka volt (7%; 0,35%). A nem-otosclerosisos stapes fixációk olyan alapvető hisztopatológiai elváltozásokat mutattak, melyek az otosclerosis szemből más szervekben és számos betegség esetén is előfordulhatnak, ezért kórszövettanuk nem szervspecifikus. A nem-otosclerosisos stapes fixációk prevalenciája kb. 30% az összes stapes ankylosis között, ennek megfelelően epidemiológiai és klinikai jelentőségük nagy. A stapes ankylosisok differenciáldiagnózisa alapvetően fontos, hiszen hosszú távú prognózisukban és a sebészi megoldások terén különbségek vannak.

**KULCSSZAVAK:** nem-otosclerosisos stapes fixációk, otosclerosis, kanyaróvírus, kórszövettani osztályozás

**SUMMARY:** Stapes ankylosis can be caused by different diseases without exact histopathological classification. Otosclerosis is a complex bone remodeling disorder of the otic capsule due to persisting measles virus infection and consecutive inflammatory reaction. Clinical and demographic features of otosclerosis have reference to stapes ankylosis in fact. In the clinical practice, otosclerosis and stapes ankylosis are incorrect synonyms. Non-otosclerotic stapes footplates (N=284) removed during stapedectomy were histologically analyzed. Otosclerosis was excluded during the histological pre-selection. Total RNA was extracted and measles virus specific RT-PCR was performed. Non-otosclerotic stapes ankylosis was associated with total absence of measles virus RNA. Six main types of non-otosclerotic stapes fixations could be distinguished histologically: *annular calcification* (N=152, 53.5%), *globular fibrosis* (N=49, 17.25%), *lymphocytic infiltration* (N=31, 10.9%), *hemorrhoidosis* (N=22, 7.75%), *granulomas* (N=17, 6%) and *amyloidosis* (N=13, 4.6%). Fragmentation of non-otosclerotic stapes footplates was infrequent (7%) during stapes surgery. Only one floating footplate (0.35%) was reported. Two third of non-otosclerotic stapes footplates represented complete pathological bone remodeling. Unlike otosclerosis, non-otosclerotic stapes fixations were characterized by basic histopathological findings without organ specificity that can also be identified in case of different diseases. Prevalence of non-otosclerotic stapes ankylosis is about 30-40% among stapes fixation cases. The long-term prognosis and surgical considerations differ from those of otosclerosis.

**KEYWORDS:** non-otosclerotic stapes fixation, otosclerosis, measles virus, histological classification

Közlésre érkezett: 2008.12.01.

DE OEC, Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika

Cím: 4032 Debrecen, Nagyerdei Krt. 98.

Telefon/Fax: +(36-52) 414-763

E-mail: karosi@freemail.hu,

karositas@gmail.com

## Bevezetés

A stapes ankylosis különböző eredetű kóros állapot, melyet változatos és eddig még nem osztályozott kórszövettani elváltozások jellemeznek (1–3). A stapes ankylosisban szenvedő betegeket rendszerint normális otoscopos kép és vezetékes- esetleg kevert típusú halláscsökkenés jellemzi, mint általános klinikai tünet (3, 4). A stapes fixáció klinikai diagnózisa azonban nem egyenértékű az otosclerosis szövettani diagnózisával (1, 3, 5).

Az otosclerosis csak egy nagy és speciális csoportot képvisel a stapes ankylosisok között (6, 7). Az otosclerosis patológiai értelemben gyulladáshoz vezető betegség, melyet az emberi oticus capsula perisztáló kanyaróvírus fertőzése okoz (8, 9). Az otosclerosis oticus capsula összetett csontátépülési zavara progresszív vezetékes- és/vagy szenzorineurális halláscsökkenést okoz, melynek oka egyrészt a stapes ankylosis, másrészt a pericochleárisan és a modiolusban zajló csont remodelláció (6, 10). A kaukázusi fehér populációban a klinikai otosclerosis prevalenciája 0,3–0,4% körüli, az összes halláscsökkenés között 5–9%, míg a vezetékes halláscsökkenések között 18–22%-ra tehető (5, 6). Az otosclerosis prevalenciája kb. háromszor nagyobb az aktív, fertiles korban lévő nők között (6, 11).

Az otosclerosis kórszövettanát az elmúlt évtizedekben igen intenzíven tanulmányozták, és pontosan leírták, ugyanakkor ezen megfigyelések egyáltalán nem egyenértékűek a stapes ankylosisok kórszövettani jellemzésével (5, 11–13). Az otosclerosisra jellemző szövettani elváltozásokat fokális, hypervascularisált és hypercelluláris osteolyticus csontléziók jellemzik, melyek általában a pericochleáris-, perilabyrinthae régióban, a stapes fülke és a kerekablak környékén valamint a stapes talpban jelentkeznek (14, 15). A stapes szárai az otosclerosis csontátépülésben nem érintettek, mivel fejlődéstani eredetük különbözik a stapes talptól (5, 6, 14, 15).

A fentiek hangsúlyozása azért is fontos, mert számos szakmai közlemény mutat be „otosclerosisos” betegekre vonatkozó genetikai és epidemiológiai adatokat anélkül, hogy a stapedectomy vagy stapedotomia során eltávolított stapes talpak szövettani vizsgálatát elvégezték volna, megerősítve ezzel az otosclerosis pontos szövettani diagnózisát (15–17). Már ezen a ponton fontos hangsúlyozni, hogy irodalmi adatok alapján az otosclerosis klinikai és demográfiai jellemzői valójában a stapes ankylosisra vonatkoznak. A klinikai gyakorlatban az otosclerosis és a stapes ankylosis diagnózisa rendszerint átfedésbe kerül (1, 3, 13). Napjainkban a különböző típusú stapes fi-

xációk differenciáldiagnózisa kizárólag az eltávolított stapes talp szövettani vizsgálatával lehetséges, még akkor is, ha a preoperatív klinikai vizsgálatok (otoscopia, audiometria, HRCT, MRI, kanyaróvírus szerológia) jelentős segítséget jelentenek (1, 18, 19).

Tanulmányunkban statisztikai adatokat közlünk a nem-otosclerosisos stapes fixációk epidemiológiai jellemvonásairól, nemek- és kor szerinti megoszlásáról, hangsúlyozva az otosclerosisos képest jelentkező klinikai és sebészi különbségeket. Mindezek mellett a nem-otosclerosisos stapes fixációk kórszövettani leírását és osztályozását is elvégeztük a kanyaróvírus specifikus RT-PCR eredményekkel összefüggésben.

## Anyagok és módszerek

### *Nem-otosclerosisos stapes ankylosissal jellemzett betegek*

Kétszáznyolcvannégy ankyloticus, de nem-otosclerosisos stapes talpat (N=284, férfiak=151, nők=133, nő-férfi arány=0,88) vizsgáltunk. A stapedectomy során eltávolított stapes mintákat azonnal 10%-os (tömeg/térfogat) formalinban fixáltuk. Az otosclerosisos eseteket a szövettani vizsgálatok során a további elemzésből kizártuk. A további vizsgálatokból szintén (provizórikusan) kizártuk a szisztémás csontrendszerbetegségben (Paget-kór, osteopetrosis, osteogenesis imperfecta stb.) valamint az osteoarthralis rendszert érintő anyagcserezavarban (mucopolysaccharidosis, histiocytosis-X stb.) szenvedő betegeket (20). Két familiáris, feltehetőleg örökletes stapes ankylosist találtunk. Mindkét esetben hypertelorismust, széles ujjakat, széles nagy lábujjat és progresszív vezetékes halláscsökkenést találtunk. Ezen eseteket „*noggin*” mutációknak tartottuk és a további vizsgálatokból kizártuk (21–23). A betegek átlagéletkora 39,95 év (tartomány: 25–79 év) volt. A stapes ankylosis diagnózisát a klinikai, audiológiai és a tympanometriás leletek támasztották alá. Minden betegnél normális küllemű dobhártyát találtunk. A tympanometriás leletek normális fülkürt funkcióra utaltak (98%-ban As-típusú tympanogram). Az 1000 Hz-es frekvencián mért csont-lég köz minden esetben elérte a 30 dB-t. Hatvanhét beteg emlékezett gyermekkorban lezajlott kanyaróvírus fertőzésre (N=67), míg másik negyvennyolc beteg (N=48, 1969 után születettek) részesült dokumentált kanyaróvírus ellenes, monovalens védőoltásban. A stapes fixáció 187 betegben klinikailag kétoldali volt, azonban minden beteg esetén csak egy stapes mintát elemeztünk, mivel a vizsgálati időszakban az esetek nagy többségében csak egy oldali stapedectomy tör-

tént. A stapes mintákat 2005. január és 2008. szeptember között gyűjtöttük. A tanulmányt az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos Kutatásért Bizottsága az ETT-TUKEB/200811354789 nyilván tartási számon engedélyezte.

### Szövetteni vizsgálat

A 284 stapes mintát 10%-os (tömeg/térfogat), pufferelt formalinban fixáltuk, majd 0,5 M-os Na-EDTA (nátrium etilén-diamino-tetraacetát, 72 óra, 4 °C) dekalcináltuk. A mintákat 15%-os (tömeg/térfogat), tisztított zselatinba ágyaztuk (24 óra, 56 °C), majd 4%-os (tömeg/térfogat) paraformaldehidben újrafixáltuk (24 óra, 20 °C). A szövetteni blokkokat krioprotekció céljából 20%-os (tömeg/térfogat) szacharóz-oldatba helyeztük (2 óra, 4 °C), majd kriomikrotómmal 10 µm vastagságúra metszettük (-25 °C). A metszeteket 0,1 M-os, nátrium-azidot tartalmazó PBS-oldatban (phosphate-buffered saline) tároltuk 4 °C-on. A 10 µm vastagságú, fagyasztott metszeteket mintánként két csoportra osztva a következők szerint vizsgáltuk:

1. Nukleinsav extrakció és RT-PCR amplifikáció;
2. Hematoxinil-eozin festés.

A képek rögzítése normális és polarizált fény alatt történt. A fényképeket *jpeg* fájl formátumban archiváltuk (Axioskop2 MOT, Axiovision 3.0, Zeiss, Jena, Németország) (1).

### RNS extrakció

A homogenizált metszetek teljes nukleinsav tartalmát kivontuk, melyhez TRI Reagent oldatot használtunk (Sigma-Aldrich, Missouri, St. Louis, Egyesült Államok); a nukleinsav extrakció minden részletében a gyártó utasításainak megfelelően történt. A TRI Reagent oldattal összekevert és felszuszpendált homogenizátumot felráztuk, majd 10 percen át szobahőmérsékleten állni hagytuk. Az így kezelt mintákhoz kloroformot adtunk (100 µl; Sigma-Aldrich), majd erős rázást követően a szuszpenziót további 10 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk. A mintákat lecentrifugáltuk (13 000 fordulat/perc 15 percen át 4 °C-os hőmérsékleten; Jouan 5145C típusú ultracentrifuga). Centrifugálást követően a felső vizes fázist eltávolítottuk. A mintákhoz izopropanolt (250 µl; Sigma-Aldrich) adtunk, majd egy teljes éjszakán át tartó, -70 °C-os hőmérsékleten végzett inkubáció következett. Ezalatt megtörtént az RNS precipitáció. A kicsapódott RNS-t tartalmazó szuszpenziókat 30 percen át centrifugáltuk (13 000 fordulat/perc 30 percen át, 4 °C-on). A lecentrifugált és összecsapódott nukleinsav egy kis RNS pehelyként jelent meg a centrifugacső alján. Az RNS pelyheket 70%-os etanolal mostuk, szárítottuk, végül 20 µl dietil-pirokar-

bonát (DEPC) tartalmú, steril desztillált vízben újradoldottuk. Az így kapott oldat -70 °C-os hőmérsékleten évekig eltartható, a reverz transzkripcióhoz pedig azonnal felhasználható (9).

### Kanyaróvírus specifikus RT-PCR

A kanyaróvírus nukleoproteint (NP) kódoló RNS-t specifikus primerekkel (MV2 5'-3': GTT CTT CCG AGA TTC CTG CCA és MV3 5'-3': GCA TCT GAA CTC GGT ATC AC) sokszorosítottuk. Az RT (reverz transzkriptáz) és a cDNS-PCR során rTth-enzimet alkalmaztunk (Applied Biosystems, Lincoln, Foster City, Egyesült Államok). A komplementer DNS-t *Red-Taq DNS-polimerázzal* (Sigma-Aldrich) amplifikáltuk a „semi-nested” PCR során. Két NP RNS-specifikus primer kombinációt alkalmaztunk (MV3 és MV4 5'-3': AGC TCT CGC ATC ACT TGC TCT; MV2 és NP14 5'-3': GCA AGG AAG ATA GGA GGG TC). Az otosclerosis stapes talpak pozitív kontrolljaként élő, attenuált, Edmonston-típusú kanyaróvírus törzset használtunk. A keresztszennyeződések elkerülése végett, RNS-mentes negatív kontrollokat is beállítottunk.(9).

### Emberi celluláris kontroll RT-PCR

Az RNS minták validitását az emberi riboszómális RNS-re tervezett h36B4+ (5'-3': AGA TGC AGC AGA TCC GCA T) és h36B4- (5'-3': ATA TGA GGC AGG AGT TTC TCC AG) primerek alkalmazásával ellenőriztük. A celluláris kontroll RT-PCR során „*enhanced avian*” *reverz-transzkriptázt* (Sigma-Aldrich) és *genomikus Red-Taq DNS polimerázt* alkalmaztunk (Sigma-Aldrich). (9).

### Eredmények

Az ankyloticus stapes talpából készített sorozatmetszeteket hematoxinil-eozin-nal festettük, a metszetek maradékából kivontuk a teljes nukleinsav tartalmát, majd kanyaróvírus specifikus reverz transzkriptáz-alapú, polimeráz láncreakciót végeztünk. A nem-otosclerosis stapes fixáció szövetteni diagnózisát a szövettenilag előzetesen szelektált anyagban, 284 alkalommal állítottuk fel. Tanulmányunkban nem elemeztünk részlegesen eltávolított stapes talpakat, illetve stapes fragmentumokat, mert ezekben az esetekben a stapes talp elülső- vagy hátsó pólusának rögzülését okozó lézió nagy valószínűséggel a stapes fülkében maradt. A fragmentumok feldolgozása csak abban az esetben történt meg, ha operációs mikroszkóp alatt vizsgálva a teljes stapes talp rekonstruálható volt. Az emberi celluláris RNS-t mind a 284 mintában kimutattuk, demonstrálva ezzel a nukleinsav extrakció sikerességét, valamint a kanyaróvírus spe-

cifikus RT-PCR validitását. A 284 ankyloticus, de nem-otosclerosisos stapes talpban a kanyaróvírus kimutatása sikertelen volt, amely arra utalhat, hogy ezen folyamatok etiopathogenezise lényegesen különbözik az otosclerosistól (1. táblázat). Az otosclerosissal szemben a nem-otosclerosisos stapes fixációkat kiegyensúlyozott nő-férfi arány (0,88) jellemezte, mely azt sejteti, hogy a nem-otosclerosisos stapes fixációk kialakulásában a hormonális hatások jelentősége elhanyagolható (1. táblázat).

### Annuláris kalcifikáció

Mindenek előtt kiemeljük, hogy az igen találó elnevezés Z. Szabó professzor úrtól származik (személyes közlés). Az ankyloticus stapes minták többségében annuláris kalcifikációt találtunk (N=152, 53,5%, nők=72, férfiak=80, nő-férfi arány=0,9) (1. táblázat, 1. ábra). A ligamentum annulare kalcifikációját és a stapes talp következményes, gyűrűszerű meszesedését homogén eosinophil festődés és hypocelluláris, hypovascularizált osteoid alapállomány jellemezte. A cement vonalak teljesen átépültek és homogén, összefolyó szerkezetet alkottak, melyben a normális koncentrikus rajzolat teljesen hiányzott. A fixációt okozó alapfolyamat lokalizációja minden esetben an-

nuláris volt, a stapes pólusai tömegesek voltak, míg a stapes talp rendszerint megvastagodott. A stapes talp vestibuláris felszínének hyalinporc borítása rendszerint hiányzott, néhány esetben megszakadt és feltöredezett. A porcréteg helyét rendszerint tömeges és acelluláris osteoid alapállomány foglalta el. A vestibuláris felszín ennek ellenére mindig sima maradt, szemben a végstádiumú otosclerosisos csontátépüléssel. Az eltávolított stapes szélei jellegzetesen éles törési felszíneket képeztek, a pólusok pedig virtuálisan elongáltak voltak. Ennek oka az lehet, hogy a ligamentum annulare és a stapes talp összefolyó struktúrát alkotott, melyet szövettanilag már nem lehetett elkülöníteni. Az annuláris kalcifikáció és a végstádiumú (kiégett) otosclerosissal elkülönítésére a fáziskontraszt mikroszkópos vizsgálat alkalmas: az előrehaladott otosclerosist fonatos és örvénylő osteoid mintázat jellemzi, szemben az annuláris kalcifikáció esetén tapasztalható szabálytalan és összefolyó csontszerkezettel.

### Globuláris fibrózis

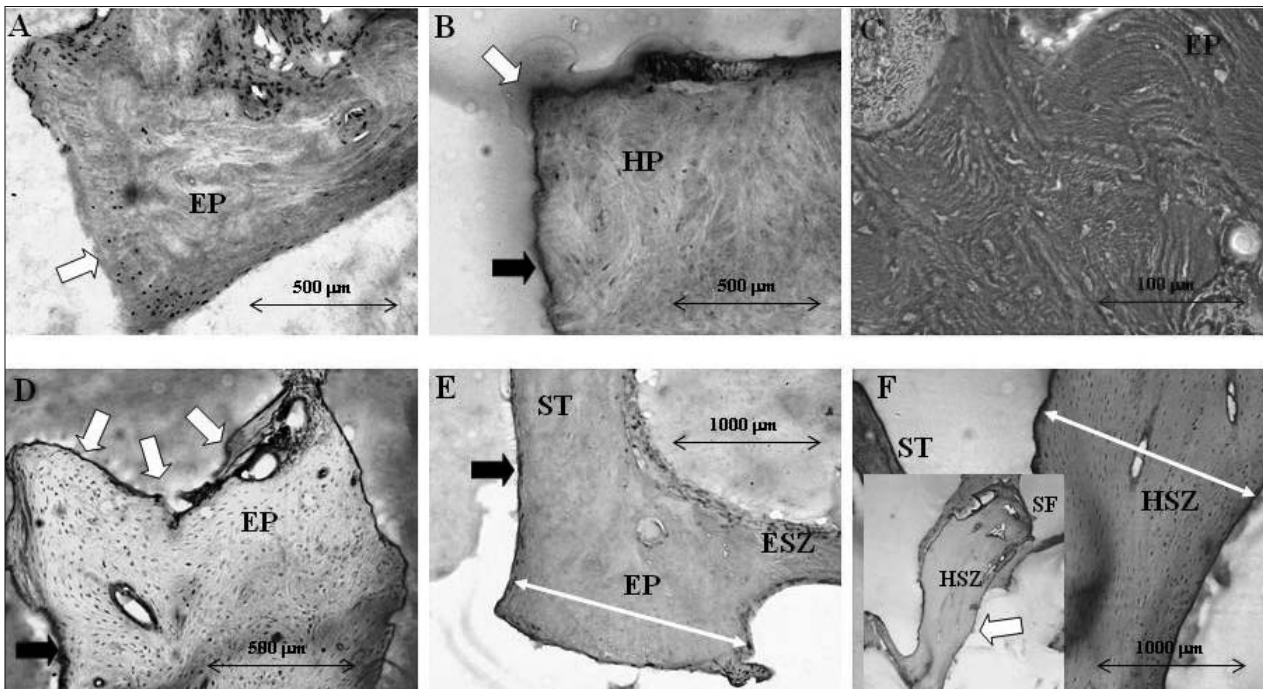
Globuláris fibrózist negyvennégy esetben diagnosztizáltunk (N=49, 17,25%, nők=24, férfiak=25, nő-férfi arány=0,96) (1. táblázat, 2. ábra). Az elnevezés abból adódik, hogy a dobüregi mucosa felől kis

1. táblázat

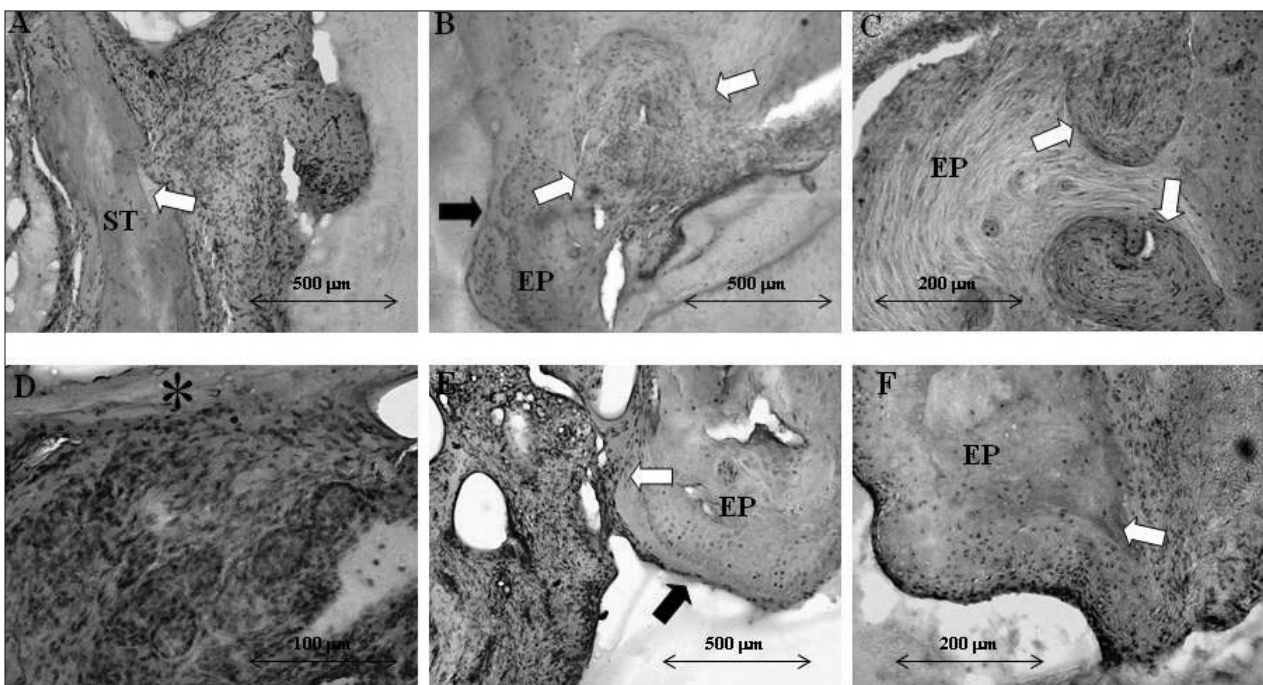
## A nem-otosclerosisos stapes fixációk szövettani- és morfológiai jellemzői a kanyaróvírus kimutathatóságával összefüggésben

Szövettan	A minták száma (%) N=284	Nő/Férfi arány	A lézió helye	Csont átépülés	Stapes fragmentáció	Stapes deformitás	Osteolysis	MV* specifikus RT-PCR
Annuláris kalcifikáció	152 (53.5)	0.9	Annuláris	Igen	14 (9.2)	Igen	Nem	-
Globuláris fibrózis	49 (17.25)	0.96	Monopoláris (hátsó pólus)	Nem	0 (0)	Nem	Igen	-
Mononukleáris infiltráció	31 (10.9)	1.21	Multifokális	Nem	0 (0)	Nem	Igen	-
Haemosiderosis	22 (7.75)	0.57	Monopoláris (elülső pólus)	Igen	4 (18.8)	Igen	Nem	-
Granulómák	17 (6)	0.7	Obliteráció (stapes fülke)	Nem	0 (0)	Nem	Nem	-
Amyloidosis/ Hyalinosis	13 (4.6)	0.62	Monopoláris (elülső pólus)	Igen	2 (15.4)	Igen	Nem	-

\*MV: Measles virus - kanyaróvírus



1. ábra. Az annuláris kalcifikáció kórszöveti jellemzői (A-F), hematoxin-eozin (H.E.) festés. Az annuláris kalcifikációt homogénean eosinophilén festődő, szinte acelluláris, hypovascularisált csontállomány jellemzi (A, B, E). Néhány esetben a cement vonalak között, az osteocyták egykori helyét jelző üres sejttárnnyékok is megfigyelhetők (D, F). Az osteoid trabeculák szabálytalan, lamelláris szerkezetet mutatnak (C). A stapes talp éles törvégeit fehér nyilak mutatják (A, B, D). Az osteoid alapállomány teljes, patológiás átépülést mutat, a vestibuláris felszín hyalinporc rétege azonosíthatatlan (B, C, D, E, fekete nyilak). A stapes talp és a pólusok tömegesek, deformáltak és jelentősen kiszélesedtek (E, fehér kettős nyilak). Bizonyos esetekben a stapes szárai is megvastagodtak és elmeszesedtek hasonlóan a stapes talpban zajló kalcifikációs folyamathoz (F ábra kis inzertje). Polarizált fényben jól kivehető az osteoid lamellák patológiás szerkezete (C). EP: elülső pólus, HP: hátsó pólus, ESZ: elülső szár, ST: stapes talp, HSZ: hátsó szár, SF: stapes fejecs



2. ábra. A globuláris fibrózis kórszöveti jellemzői (A-F), H.E. festés. Ebben az esetben nem tapasztaltunk számottevő csontremodellációt (A-F). Az osteoid alapállomány szabályos, lamelláris struktúrát mutat (C). A fibrózis és a következményes osteolysis mindig monopolárisan jelentkezik (A, B, E). A fibroticus globulusok a dobüregi mucosa felől indulnak ki, majd a stapes talpban csontfelszívódást okoznak (A – fehér nyíl, B, C, D, E). A vestibuláris felszín hyalinporc rétege jól felismerhető marad (B, E, fekete nyilak). A fibroticus góccokat éles határu osteolyticus zóna övezi (B, C, F, fehér nyilak). ST: stapes talp, EP: elülső pólus, a fekete csillag a stapes talp dobüregi felszínét jelöli (D)

fibroticus gömbök indulnak ki a stapes talp felé, melynek csontállományában osteolysis okoznak. A stapes talp maradványa teljesen normális csontszerkezetet mutatott a csontremodelláció legkisebb jele nélkül. A fibroticus globulusok a csontállománytól jól elkülönült, hypercelluláris, basophil képletekként azonosíthatóak, melyeket éles osteolyticus szegély övezett. A léziók elhelyezkedése rendszerint monopoláris volt.

### Lymphoplasmocyaer infiltráció és gyulladásos osteolysis

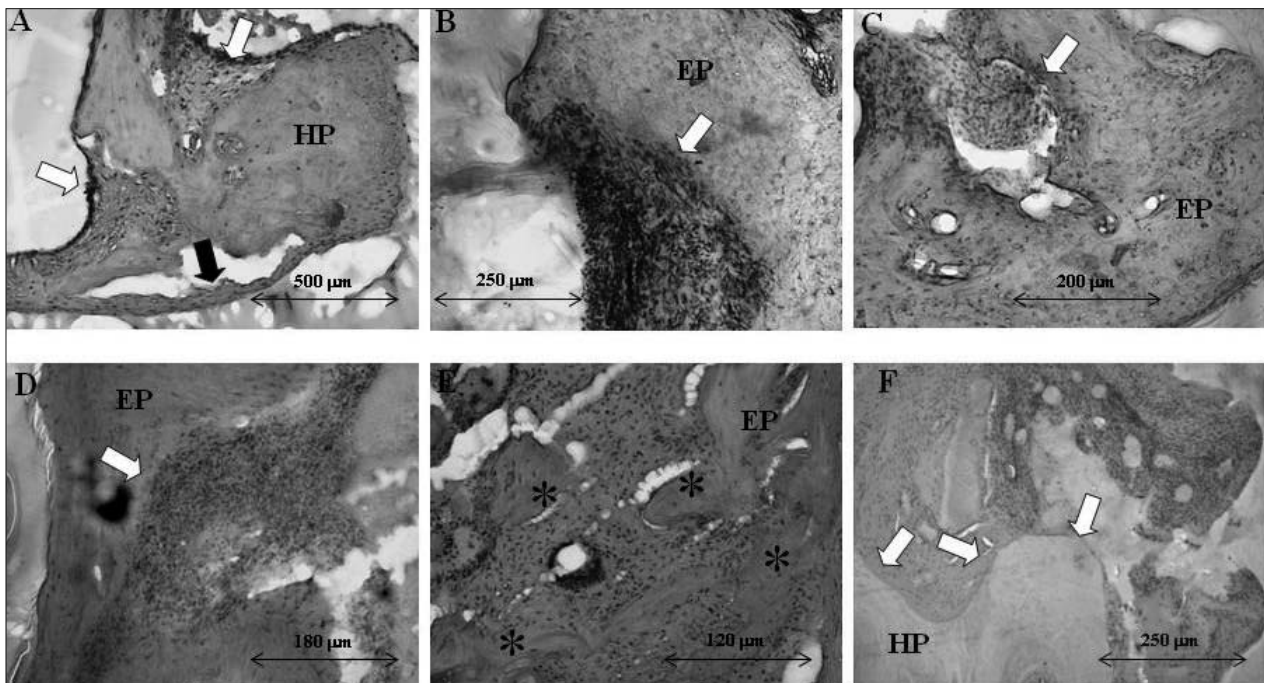
A mononukleáris infiltráció és a következményes, gyulladásos osteolysis diagnózisát szövettanilag harmincegy ankyloticus stapes talp esetében erősítettük meg (N=31, 10,9%, nők=17, férfiak=14, nő-férfi arány=1,21) (1. táblázat, 3. ábra). A stapes talp gócos lymphoplasmocyaer beszűrődését élénken basophilen festődő, sejtűs, számos mononukleáris sejtből álló, osteolyticus fókusként azonosítottuk. A gócookban néha még lymphoid folliculusok is kialakulhatnak. Az infiltráció minden esetben a vaskos dobüregi mucosa felől indult ki, az osteolysis szinte mindig multifokális volt. A dobüregben a műtési leletek szerint gyulladásos jelek nem voltak. Az osteoid alapállomány szerkezete és a cement vonalak elrendeződése normális volt. A vestibuláris felszín hyalinporc rétege rendszerint ép volt.

### Haemosiderosis

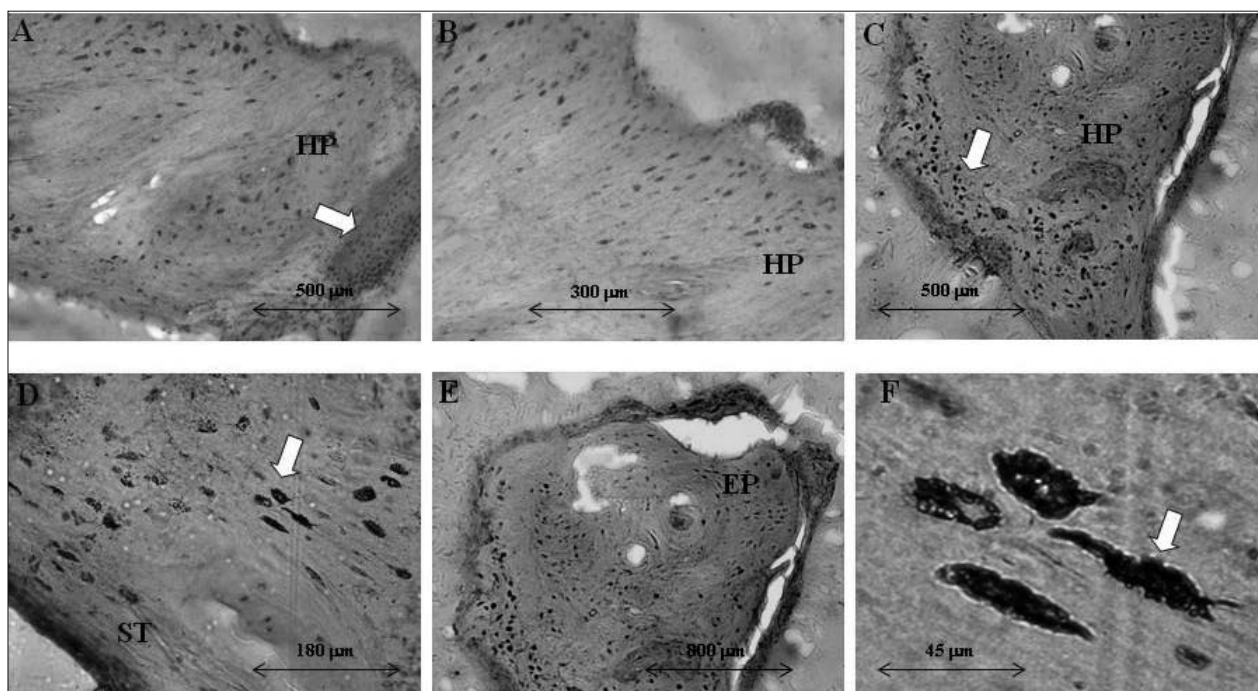
A lokalizált haemosiderosis szövettani diagnózisát huszonnégy esetben állítottuk fel (N=22, 7,75%, nők=8, férfiak=14, nő-férfi arány=0,57) (1. táblázat, 4. ábra). A stapes talp teljes és patológiás csontátépülést mutatott, melyet élénk és homogén eosinophilia kísért. A cement vonalak kerítéslécszerű, ún. palizád elrendeződést mutattak, az osteocyták teljesen hiányoztak, helyüket parallel módon beékelt haemosiderophágok foglalták el. A haemosiderophágok aranybarnán csillogó haemosiderin granulomákat tartalmaztak. A vestibuláris felszín hyalinporc rétege jól azonosítható maradt. A stapes talp és a pólusok tömegesek és deformáltak voltak. A stapes talp fragmentáció ebben a kórszövettani csoportban magas előfordulási gyakoriságot mutatott (18,8%), amely a masszív ankylosissal és a teljesen átépült stapes talp fokozott törékenységgel magyarázható (1. táblázat).

### Granulómák (mucin, cholesterol)

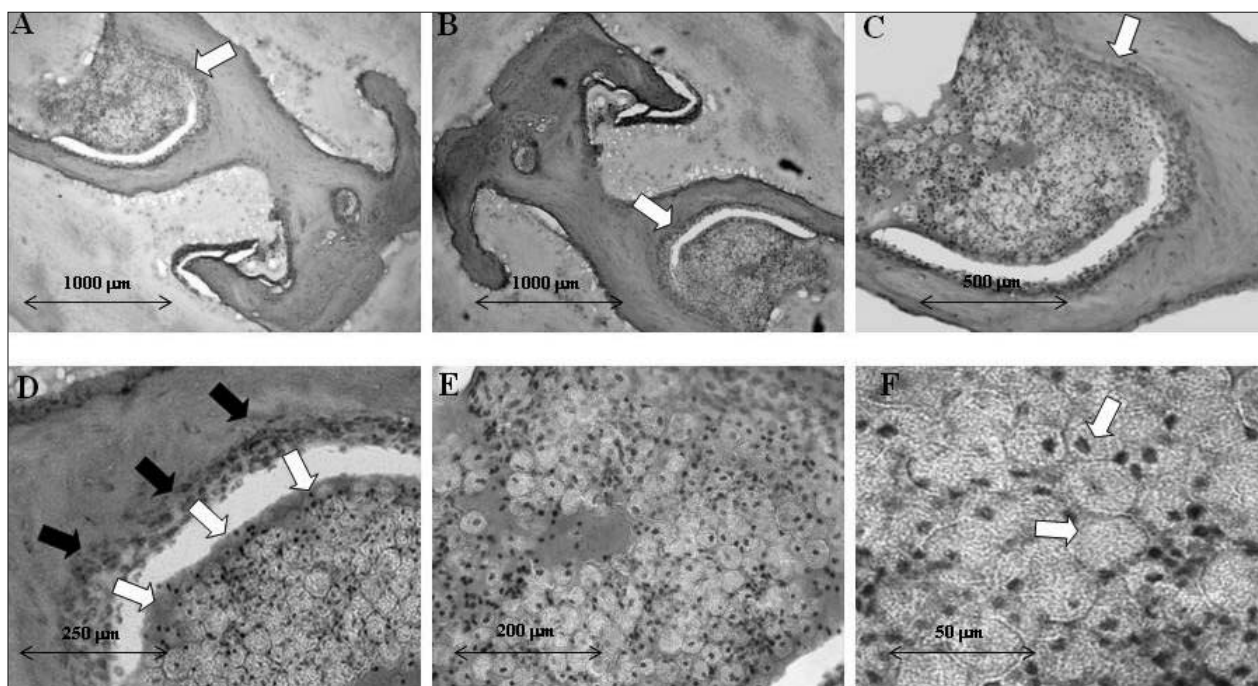
Tizenhét nem-otosclerosis stapes ankylosis esetén találtunk különböző típusú középfül granulómát (N=17, 6%, nők=7, férfiak=10, nő-férfi arány=0,7) (1. táblázat, 5. ábra). A stapes szuperstruktúra és a stapes talp alapvetően normális volt. Nem észleltünk csontátépülést és említésre méltó osteolysis sem. A granulómákat rendszerint jól definiált, a kör-



3. ábra. A mononukleáris infiltráció és a következményes gyulladásos osteolysis kórszövettani jellegzetességei (A-F), H.E. festés. Az osteoid szerkezete normális, csontremodellációt nem észleltünk (A-F). A cement vonalak lefutása szabályos (B, C). A lymphocyaer infiltráció és a következményes osteolysis szinte mindig többgócú elhelyezkedést mutat (A, fehér nyilak). Figyelemre méltó a gyulladásos gócot övező éles osteolyticus határzóna (A, B, C, D, F, fehér nyilak). A vestibuláris felszín hyalinporc borítása ép (A, fekete nyíl). HP: hátsó pólus, EP: elülső pólus. A fekete csillagok az infiltratív, gyulladásos gócot még éppen maradt csontszigeteket jelölik (D)



4. ábra. A lokalizált haemosiderosis kórszövettani jellegzetességei (A-F), H.E. festés. Az osteoid alapállomány tökéletesen átépült, festődése élénken eosinophil (A, B). A stapes talp osteocytái eltűntek, helyüket sötét haemosiderin granulomákat tartalmazó macrophágók foglalták el (C, D, E, F – fehér nyilak). A csontszerkezet és a cement vonalak palizád elrendeződést mutatnak, melyek közrefogják a közéjük párhuzamosan beékelte haemosiderophágokat (B, D, F). Érdekes módon, a vestibuláris hyalinporc jól azonosítható (fehér nyíl, A). A talp és a stapes pólusai tömegesek, vaskosak és deformáltak (C, E). HP: hátsó pólus, ST: stapes talp, EP: elülső pólus



5. ábra. A mucin- és cholesterol granulómák kórszövettani jellegzetességei (A-F), H.E. festés. A stapes szuperstruktúrára normális (A, B). Nem észleltünk csontátépülést és számottevő osteolysist sem. A-C: A stapes szárai között elhelyezkedő mucin granulóma kisszűrésű képe. A granulóma jól definiált, vékony kötőszöveti tokkal rendelkezik és nem okoz csontdestrukciót (fehér nyilak). A stapes szuperstruktúra külső felszínét is granulóma fedte, de ezt a stapedectomy során eltávolították. A tok maradványait fehér nyilak jelölik. D-E: Az előző metszet közepes nagyítású képe. A granulóma vékony tokját egy rétegben sorakozó fibrocyták alkotják (fehér nyilak). A dobüregi mucosa borítás vaskos, a normális egyrétegű köbhámszerkezet eltűnt (fekete nyilak). F: Az előző elváltozás nagy nagyítású, fáziskontraszt mikroszkópos felvétele. A mucin granulómát hatalmas macrophágók töltik ki, melyek prominens, centrálisan elhelyezkedő sejtmaggal rendelkeznek és habos, csillogó mucintartalommal bírnak (fehér nyilak)

nyezettől élesen elkülönülő, kötőszövetes tok övezte. A granulómák dobüregi felszínét fedő mucosa borítás rendszerint megvastagodott, a hám többrétegűvé vált, a normális köbhám szerkezet eltűnt. A mucin- és cholesterol granulómákat nagy, habos és csillogó anyaggal telt macrophágok jellemezték.

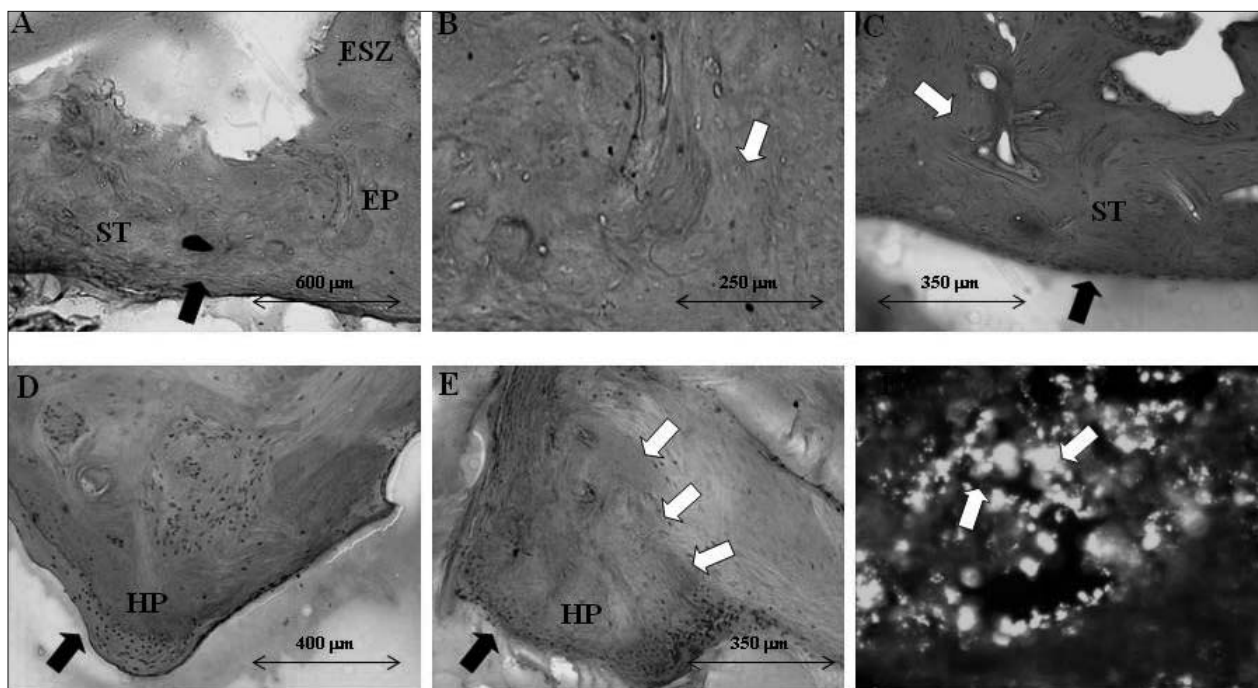
### Amyloidosis és hyalinosis

Az amyloidosis és a hyalinosis meglehetősen ritkán fordult elő (N=13, 4,6%, nők=5, férfiak=8, nő-férfi arány=0,62) (1. táblázat, 6. ábra). A csontalappállomány teljes patológiás átépülést mutatott acelluláris és érmentes szerkezettel. A cement vonalak összefolyó, homogén festődést mutattak. Az amyloidosist a hyalinosis szemben homogén eosinophilia jellemezte, hyalinosis esetén homogén basophil festődést észleltünk. A stapes talp és a pólusok deformáltak és kifejezetten tömegesek voltak. Az amyloidosissal szemben a hyalinosis ép vestibuláris hyalinporc réteg jellemezte. A hyalin akkumuláció és az amyloidosis pontos szövettani elkülönítése kongóvörös festéssel lehetséges: amyloidosis esetén polarizált fényt alkalmazva, a kongóvörössel festődött amyloid granulumok élénk, almazöld fluoreszcenciát mutatnak.

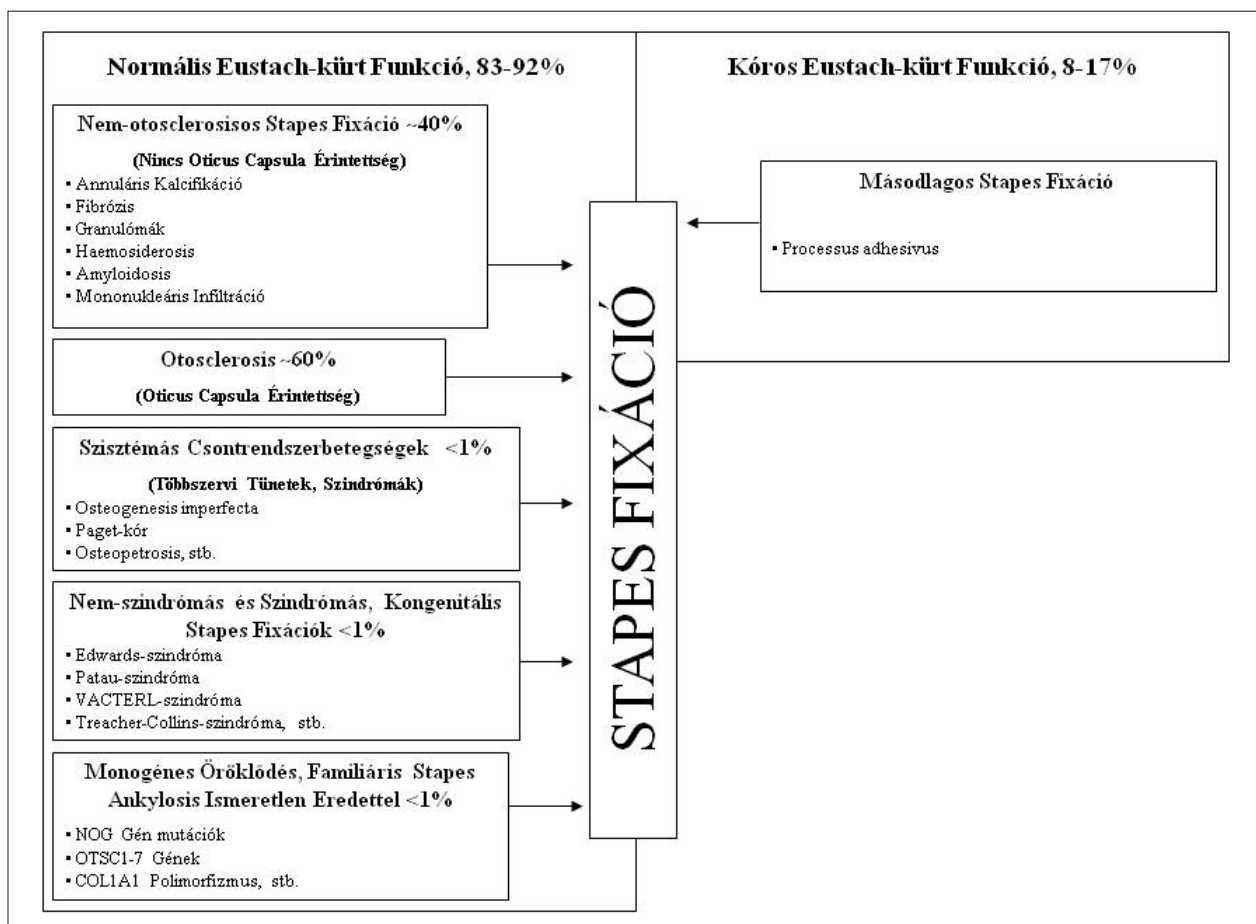
### Megbeszélés

Jelenleg, az otosclerosis és a nem-otosclerosis stapes fixációk differenciáldiagnózisára kizárólag a műtételeg eltávolított, ankyloticus stapes talpak szövettani vizsgálata alkalmas, ugyanis a különböző preoperatív klinikai vizsgálatok (HRCT, MRI, és audiometria) eredménye sokszor megbízhatatlan és nem reprodukálható (1, 3, 5, 17). A stapes fixációk közel harmada nem-otosclerosis stapes ankylosis, ami a gyakorlatban azt jelenti, hogy a stapedectomiák/stapedotomiák mintegy harmadát nem-otosclerosis stapes ankylosis miatt végzik (1, 3). A definíció egyszerűsítése érdekében, enyhe túlzással azt állíthatjuk, hogy szinte minden otosclerosisos eset stapes fixációt eredményez, azonban nem minden stapes fixáció jelent otosclerosisot. A két diagnózis tehát átfed, de szinonimaként való alkalmazásuktól tartózkodnunk kell.

Fontos kiemelni, hogy a stapes ankylosis változatos etiológiával jellemzett, vezetékes halláscsökkenést okozó, heterogén betegség, melyet okozhat *otosclerosis*, *annuláris kalcifikáció*, *globuláris fibrózis*, *mononukleáris infiltráció*, *haemosiderosis*, *granulómák* és *amyloidosis* egyaránt. A kanyaróvírus eredetű RNS kimutathatósága vagy hiánya az eltávolított stapes



6. ábra. Az amyloidosis és a hyalinosis kórszövettani jellemzői (A-F), H.E. festés. Az osteoid alapállomány teljesen átépült, sej- és érmentes patológiás szerkezetet mutat (B, C, fehér nyilak). Az osteoid lamellák összefolynak, homogén festődést mutatnak (A-E). Az amyloidosist homogén eosinophil festődés jellemzi (A-C), szemben a hyalinosisal, amely homogén, basophil festődést mutat (E, fehér nyilak). A stapes talp és a pólusok tömegesek és deformáltak, kontúrjaik elmosottak, ecsetvonásszerűek (D, E). Amyloidosis esetén a vestibuláris hyalinporc réteg teljesen eltűnt (A, C, fekete nyilak). Hyalinosis esetén a porcréteg prominens képletként azonosítható maradt (D, E, fekete nyilak). A hyalinosis és az amyloidosis szövettani elkülönítése kongóvörös festéssel lehetséges: amyloidosis esetén polarizált fényt alkalmazva, a kongóvörössel festett amyloid granulumok élénk almazöld fluoreszcenciát adnak (F, fehér nyilak). ESZ: elülső szár, EP: elülső pólus, ST: stapes talp, HP: hátsó pólus



7. ábra: A stapes fixációk etiológiai osztályozása és epidemiológiai jellemzői

talp szövetanatólától függött: nem-otosclerosis stapes ankylosis esetén még a kanyaróvírus genom részleteit sem tudtuk azonosítani. A kanyaróvírus negatív, ankyloticus stapes talpak változatos, nem-otosclerosis kórszövetanálal jellemzett, degeneratív elváltozásokat mutattak (1, 8, 9). Az otosclerosis az oticus capsula és a stapes talp speciális és egyedülálló csontremodellizációs zavaraként tartják számon, azonban a nem-otosclerosis stapes fixációk mintegy kétharmada szintén patológiás csontátépülést okoz a stapes talpban. Az otosclerosis szemben, amely egy szervspecifikus betegség, a nem-otosclerosis stapes fixációkra jellemző alapvető kórszövetani elváltozások más betegségek esetén és különböző szervekben is előfordulnak (pl. hemosziderózis, fibrózis, stb.).

A nem-otosclerosis stapes fixációk gyorsan progrediáló vezetési halláscsökkenést és nagy csontlég közt eredményeznek (4, 6, 18, 19). Nem-otosclerosis stapes ankylosis esetén a hallászavart a vezetési halláscsökkenés uralja, a szenzorineurális halláscsökkenés nem jellemző (1). Az otosclerosis kezdeti stádiumaiban, az aktív otosclerosis gócból nagymennyiségű cytotoxikus enzim (elasztáz, kollagenáz, katepszin-D/B stb.), gyulladáshoz vezető citokin mediátor (TNF-alfa, TGF-béta, VEGF stb.) és proinflamm-

matorikus komplement fragmentum (C3a, C4b stb.) szabadulhat fel (6, 7, 15, 17). Ezek az anyagok bejuthatnak a perilympha (Cortilympha) térbe, ahol megváltoztathatják a külső szőrsejtek elektromotilitását, amely magyarázhatja az otosclerosis által okozott szenzorineurális halláscsökkenést (24). A nem-otosclerosis stapes fixációk hosszú távú prognózisa, kezelésük sebészi- és funkcionális eredményei lényegesen jobbak az otosclerosiséhoz képest, mivel ezekben az esetekben nincs oticus capsula érintettség és következményes szenzorineurális halláscsökkenés (1,3,6,15). Ismert tény, hogy cochleáris otosclerosis esetén az egyébként sikeres stapedectomy sem képes feltartóztatni a szenzorineurális halláscsökkenés progresszióját (4,6,15).

Eseteink között az összes ankyloticus stapes stapedectomy során távolították el. A nem-otosclerosis stapes ankylosis sebészi jelentőségét az adja, hogy a stapes talp fragmentációja igen ritkán fordul elő (N=20, 7%). A kétszáznyolcvannégy nem-otosclerosis eset között csak egy „floating footplate” (0,35%) fordult elő. Korábbi dolgozatok többször is hangsúlyozták, hogy az otosclerosis stapes igen nehezen, vagy egyáltalán nem távolítható el talp fragmentáció nélkül (1, 4, 12, 25). Ezek a tanulmányok

már éreztették, hogy a fragmentáció nélkül elvégzett stapedectomy nagy valószínűséggel nem-otosclerosisos stapes ankylosis miatt történt (1, 3, 4, 18, 19, 25). Csatlakozva ezen empirikus megfigyelésekhez, eredményeink alátámasztják, hogy nem-otosclerosisos stapes ankylosis esetén a stapedectomy technikailag könnyebben és kevesebb komplikációval végezhető el, mint abban az esetben ha a stapes talpat otosclerosisos góc rögzíti (3, 4, 25). Jól tudjuk, hogy a fragmentáció előfordulási gyakoriságát a sebészeti technika és az operatőr személyes tapasztalata is befolyásolja, azonban a fenti eredmények mégis figyelemre méltóak.

Végül, az úgynevezett *pseudo-otosclerosis* elnevezés zavaros és nem elfogadható fogalom a nem-otosclerosisos stapes fixációk csoportosításakor. A stapes ankylosis egyik lehetséges etiológiai- és nevezéktani osztályozását a 7. ábra szemlélteti (1, 2, 18–21). A nem-otosclerosisos stapes fixáció elnevezést azokra a gyakran előforduló, nem szindrómás esetekre érdemes fenntartani, amelyek között nincs bizonyított genetikai eltérés illetve fülkürt funkciózavar. Minden más esetben az otosclerosis, a tympanosclerosis diagnózisát vagy a specifikus szindróma nevét (Paget-kór, osteogenesis imperfecta, osteopetrosis, Treacher-Collins-szindróma, noggin mutáció stb.) célszerű használni (13, 15, 17).

## Következtetések

A stapes ankylosis heterogén betegség, melyet változatos és eddig még nem osztályozott kórszövetten jellemez. Fontos hangsúlyozni, hogy a nem-otosclerosisos stapes fixációk mintegy 30–40%-os prevalenciát mutatnak az összes stapes ankylosis között. Ezért a nem-otosclerosisos stapes fixációk klinikai- és epidemiológiai jelentősége nagy. Tanulmányunkban a stapes fixációk kórszövetten- és etiológiai osztályozását végeztük el.

## Köszönetnyilvánítás

Munkánk az Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok (OTKA PD75371, OTKA K63743) és a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Mecenatúra Pályázatának (DEOEC MEC 17/2008) anyagi támogatásával készült.

## Irodalomjegyzék

1. Karosi T, Kónya J, Petkó M, Szabó LZ, Pytel J, Jóri J, Sziklai I. Two subgroups of stapes fixation: otosclerosis and pseudo-otosclerosis. *Laryngoscope*. **115**(11): 1968-73, 2005.
2. Nomura Y, Nagao Y, Fukaya T. Anomalies of the middle ear. *Laryngoscope*. **98**(4): 390-3, 1988.

3. Adkins WY Jr, Gussen R. Nonotosclerotic ankylosis of the stapedial footplate. *South Med J*. **71**(1): 78-80, 1978.
4. Nadol JB Jr. Histopathology of residual and recurrent conductive hearing loss after stapedectomy. *Otol Neurotol*. **22**(2): 162-9, 2001.
5. Iyer PV, Gristwood RE. Histopathology of the stapes in otosclerosis. *Pathology*. **16**(1): 30-8, 1984.
6. Chole R.A., McKenna M.J. Pathophysiology of otosclerosis. *Otol Neurotol*. **22**(2): 249–257, 2001.
7. Cureoglu S, Schachern PA, Ferlito A, Rinaldo A, Tsuprun V, Paparella MM. Otosclerosis: etiopathogenesis and histopathology. *Am J Otolaryngol*. **27**(5): 334-40, 2006.
8. Niedermeyer H.P., Arnold W., Schuster M., Baumann C., Kramer J., Neubert W.J., Sedlmeier R. Persistent measles virus infection and otosclerosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. **110**(10): 897-903, 2001.
9. Karosi T, Kónya J, Z Szabó L., Sziklai I. Measles virus prevalence in otosclerotic stapes footplate samples. *Otol Neurotol*. **25**(4): 451–456, 2004.
10. Gristwood RE, Bedson J. Observations on bilateral symmetry of the stapedial footplate lesion and narrowing of the oval window niche in otosclerosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. **117**(8): 569-73, 2008.
11. Linthicum FH. Jr. Histopathology of otosclerosis. *Otolaryngol Clin North Am*. **26**(3): 335–352, 1993.
12. Schuknecht HF, Barber W. Histologic variants in otosclerosis. *Laryngoscope*. **95**(11): 1307-17, 1985.
13. Michaels L. The temporal bone: an organ in search of a histopathology. *Histopathology*. **18**(5): 391-4, 1991.
14. Merchant SN, Incesulu A, Glynn RJ, Nadol JB Jr. Histologic studies of the posterior stapediovestibular joint in otosclerosis. *Otol Neurotol*. **22**(3): 305-10, 2001.
15. Milroy CM, Michaels L. Pathology of the otic capsule. *J Laryngol Otol*. **104**(2): 83-90, 1990.
16. Cremers CW, Teunissen E. The impact of a syndromal diagnosis on surgery for congenital minor ear anomalies. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. **22**(1): 59-74, 1991.
17. Paparella MM, Schachern PA, Goycoolea MV. Multiple otopathologic disorders. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. **97**(1): 14-8, 1988.
18. Raveh E, Hu W, Papsin BC, Forte V. Congenital conductive hearing loss. *J Laryngol Otol*. **116**(2): 92-6, 2002.
19. Bachor E, Just T, Wright CG, Pau HW, Karmody CS. Fixation of the stapes footplate in children: a clinical and temporal bone histopathologic study. *Otol Neurotol*. **26**(5): 866-73, 2005.
20. Friedmann I, Spellacy E, Crow J, Watts RW. Histopathological studies of the temporal bones in Hurler's disease [mucopolysaccharidosis (MPS) IH]. *J Laryngol Otol*. **99**(1): 29-41, 1985.
21. Brown DJ, Kim TB, Petty EM, Downs CA, Martin DM, Strouse PJ, Moroi SE, Milunsky JM, Lesperance MM. Autosomal dominant stapes ankylosis with broad thumbs and toes, hyperopia, and skeletal anomalies is caused by heterozygous nonsense and frameshift mutations in NOG, the gene encoding noggin. *Am J Hum Genet*. **71**(3): 618-24, 2002.
22. Hirshoren N, Gross M, Banin E, Sosna J, Bargal R, Raas-Rothschild A. P35S mutation in the NOG gene associated with Teunissen-Cremers syndrome and features of multiple NOG joint-fusion syndromes. *Eur J Med Genet*. **51**(4): 351-7, 2008.
23. Ueda H, Miyazawa T, Fujimoto T, Yanagita N. Stapes fixation associated with symphalangia. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. **122**(10): 1124-8, 1996.

24. Ribári O, Sziklai I. Cathepsin D activity in otosclerotic bone and perilymph. *Acta Otolaryngol.* **105**(5-6): 549-52, 1988.
25. Shea JJ Jr. Forty years of stapes surgery. *Am J Otol.* **19**(1): 52-5, 1998.

**ZUSAMMENFASSUNG:** Die Stapesankylose ist eine Gruppe von unterschiedlichen Erkrankungen, die durch spezielle, bisher nicht klassifizierte histologische Veränderungen gekennzeichnet sind. Aufgrund von Literaturangaben beziehen sich die klinischen und demographischen Charakteristika der Otosklerose in Wahrheit auf die Stapesankylose. Die Diagnose der Otosklerose und der Stapesankylose deckt sich häufig in der klinischen Praxis: die beiden Begriffe werden in der Regel als Synonyma verstanden. In unserer Studie führten wir an 284, bei der Stapedektomie entfernten, nicht otosklerotischen Stapes die histologische Untersuchung durch. Die Otosklerose wurde mit einer vorhergehenden histologischen Untersuchung ausgeschlossen. Der Rest der Schnitte wurden homogenisiert, der gesamte Nukleinsäure-Anteil entzogen und dann der auf Masernvirus spezifische RT-PCR –Test durchgeführt. Die nicht-otosklerotische Stapesfixation war durch das völlige Fehlen der Masernvirus-RNS charakterisiert. Histologisch lassen sich bei den nicht-otosklerotischen Stapesankylosen sechs Haupterscheinungsformen unterscheiden: annuläre Kalzifikation (N=152; 53,5 %), globuläre Fibrose (N=49; 17,25 %), lymphoplasmozytäre Infiltration (N=31; 10,9 %), Haemosiderose (N=22; 7,75 %), Cholesterol- und Mucingranulom (N=17; 6%) und Amyloidose (N=13; 4,6%). Es muß betont werden, dass zwei Drittel der ankylotischen Stapes-Fußplatten einen pathologischen Knochenumbau zeigten. Bei den nicht-otosklerotischen Stapesfixationen waren die Entstehung der Fußplattenfragmentation und die sog. „floating footplate“ außerordentlich selten (7% bzw. 0,35 %). Die nicht-otosklerotischen Stapesfixationen zeigten solche grundlegenden histopathologischen Veränderungen, die im Gegensatz zur Otosklerose auch in anderen Organen und bei anderen Krankheiten vorkommen können – deshalb ist ihr histologischer Befund nicht organ-spezifisch. Die Prävalenz der nicht-otosklerotischen Stapesfixation macht etwa 30 % aller Stapesankylosen aus, demzufolge ist ihre epidemiologische und klinische Bedeutung groß. Die Differenzialdiagnostik der Stapesankylosen ist grundsätzlich wichtig, denn sowohl in ihrer Langzeit-Prognose als auch in den chirurgischen Möglichkeiten bestehen grundlegende Unterschiede.

**SCHLÜSSELWÖRTER:** Nicht-otosklerotische Stapesfixation, Otosklerose, Masernvirus, histologische Einteilung.