

Descrição histológica de colesteatomas adquiridos: comparação entre amostras de crianças e de adultos

Histologic description of acquired cholesteatomas: comparison between children and adults

Cristina Dornelles¹, Luíse Meurer², Sady Selaimen da Costa³, Cláudia Schweiger⁴

Palavras-chave: colesteatoma, inflamação, perimatriz.
Keywords: inflammation, perimatrix, cholesteatoma.

Resumo / Summary

O colesteatoma é constituído de matriz, perimatriz e conteúdo cístico. Alguns autores afirmam que, em crianças, seu comportamento clínico é mais agressivo do que em adultos. **Objetivos:** Comparar histologicamente colesteatomas de crianças e adultos. **Metodologia:** Foram analisados 74 colesteatomas, sendo 35 de pacientes pediátricos (<18 anos) e 39 de adultos (>18 anos). Foram avaliados o número de camadas celulares e hiperplasia na matriz; espessura, epitélio delimitante, fibrose, inflamação e granuloma na perimatriz. A análise estatística foi realizada com o programa SPSS 10.0, utilizando os coeficientes de Pearson e de Spearman, testes t e de qui-quadrado. O número de camadas celulares na matriz foi de $8,2 \pm 4,2$. A hiperplasia aparece em 17%, a fibrose em 65%, o granuloma em 12% e o epitélio delimitante em 21%. A perimatriz apresentou uma mediana de 80 micrômetros (37 a 232), valor mínimo zero e valor máximo 1.926. O grau histológico de inflamação foi considerado de moderado a acentuado em 60%. Ao aplicarmos o coeficiente de Spearman entre o grau de inflamação e média de camadas celulares da matriz com as variáveis sumarizadoras da medida de espessura da perimatriz encontramos correlações, significativas, com magnitudes de moderadas a grandes ($r_s=0,5$ e $P<0,0001$). **Conclusão:** Não foram identificadas diferenças morfológicas entre os colesteatomas de adultos e crianças. Encontramos correlação entre a intensidade da inflamação e da média de camadas celulares da matriz com a espessura da perimatriz, o que pode prever sua agressividade, mais estudos são necessários para definir o papel deste achado na patogênese do colesteatoma.

Cholesteatoma is constituted of matrix, perimatrix and cystic content. Some authors affirm that, in children, its clinical behavior is more aggressive of the than in adults. **Aims:** Histologic compared cholesteatomas of children and adults. **Methodology:** 74 cholesteatomas been analyzed, being 35 of pediatrics patients (<18 years). The average number of cellular layers and hyperplasia in the matrix had been evaluated; thickness, delimitante epithelium, fibrosis, inflammation and granuloma in the perimatrix. The analysis statistics was carried through with program SPSS 10,0, using the coefficients of Pearson and Spearman, test of qui-square and t test. The number of cellular layers in the matrix was of $8,2 \pm 4,2$. The hyperplasia appears in 17%, fibrosis in 65%, granuloma in 12% and the delimitante epithelium in 21%. The perimatrix presented a medium one of 80 micrometers (37 the 232), minimum value zero and maximum value 1.926. The histological degree of inflammation was considered of moderate the accented one in 60%. When applying the coefficient of Spearman enters the inflammation degree and average of cellular layers of the matrix with the variables of the measure of thickness of the perimatrix we find correlations, significant, with moderate magnitudes of the great ones ($r_s=0,5$ and $P<0,0001$). **Conclusion:** Adults colesteatomas of and child had not been identified to morphologic differences between. We find correlation enters the intensity of the inflammation and of the average of cellular layers of the matrix with the thickness of the perimatrix, what it can predict its aggressiveness, more studies are necessary to define the paper of this finding in pathogenesis of cholesteatoma.

¹ Mestre em Ciências Médicas, Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Bióloga no Centro de Otiite Média do Brasil, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia da UFRGS.

² Doutora em Gastroenterologia, Professora Substituta.

³ Doutor em Cirurgia, Professor Adjunto.

⁴ Residente do 2º ano de Otorrino.

Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Endereço para correspondência: Cristina Dornelles - Rua Cangussu 1343 Porto Alegre RS 90830-010.

Tel. (0xx51) 3249-2275

FIPE - Fundo de Investimento em Pesquisa e Eventos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Este artigo foi submetido no SGP (Sistema de Gestão de Publicações) da RBORL em 18 de março de 2005. Cod. 183.

Artigo aceito em 23 de junho de 2005.

INTRODUÇÃO

Na otite média crônica colesteatomatosa, o descontrole da proliferação celular leva ao crescimento de um cisto de epidermóide, o colesteatoma¹, sendo caracterizado pela presença de epitélio escamoso estratificado queratinizado no interior de qualquer área pneumatizada do osso temporal². Histologicamente é constituído por matriz (epitélio), perimatriz (tecido conjuntivo subepitelial) e conteúdo cístico (lamelas de queratina)³. O colesteatoma pode ser considerado como uma desordem no controle do crescimento celular, compreendendo uma série de complexos e dinâmicos eventos, os quais envolvem componentes celulares e extracelulares; seu crescimento requer angiogênese no tecido conjuntivo da perimatriz, sendo que substâncias da cascata de cicatrização podem ter um importante papel no seu desenvolvimento e crescimento⁴. Porém, não se sabe, ao certo, se esse descontrole é causado por defeitos em genes que controlam a proliferação, pelas citocinas liberadas de células inflamatórias ou por outros mecanismos ainda desconhecidos⁵. Sendo assim, determinar a existência de defeitos na sua biologia, bioquímica e genética é crítico para o conhecimento da sua patogênese.

Os colesteatomas apresentam grande poder de erosão, podem atingir a cadeia ossicular, os ossos do crânio e, inclusive o osso mais rígido do corpo humano, o labirinto, o que demonstra sua forte ação destrutiva sobre o tecido ósseo. A destruição parcial ou total dos ossículos é observada em cerca de 80% dos pacientes com colesteatoma, ao passo que otite média crônica não colesteatomatosa há erosão da cadeia ossicular em, aproximadamente, 20% dos casos⁶. Os mecanismos que levam a este aumento na degradação óssea e invasão ainda estão em investigação⁵.

Esta patologia pode ocorrer tanto em crianças como em adultos, porém, existem controvérsias na literatura quanto às manifestações clínicas nas diferentes faixas etárias. Sheehy⁷, Tos⁸ e Edelstein⁹ acreditam que o colesteatoma infantil poderia ser menos expansivo, o que levaria a uma incidência menor de complicações. Por outro lado, Galsscock¹⁰, Ruah¹¹, Bujia¹², Palva¹³ e Sudhoff¹⁴ consideram que o colesteatoma adquirido, na criança, apresentar-se-ia de maneira mais agressiva e com crescimento mais extenso. No ponto extremo desta discordância encontram-se Smythe et al.¹⁵ os quais consideram as diferenças clínicas, entre as crianças e adultos, tão grandes que deveriam ser consideradas doenças distintas.

Em uma tentativa para verificar se, em crianças, o comportamento clínico dos colesteatomas depende de características histomorfológicas da perimatriz, Quaranta et al.¹⁶ realizaram um estudo com amostras retiradas de 30 pacientes com menos de 16 anos e de 30 adultos. Os resultados mostraram que, nas crianças, a perimatriz é rica

em elementos inflamatórios mononucleares. A persistência da inflamação poderia causar um processo permanente de cicatrização na perimatriz, fato que provocaria a proliferação de fibroblastos (tecido de granulação) e do epitélio⁶. Com base neste comportamento, os autores concluíram que as características da perimatriz poderiam exercer um importante papel na patogênese do colesteatoma e sugeriram que esta explicaria as diferenças clínicas entre colesteatomas em crianças e em adultos¹⁶.

Vários poderiam ser os fatores e mediadores químicos envolvidos na agressividade e poder de erosão óssea dos colesteatomas, porém, se estes fossem produzidos pela perimatriz, poderíamos determinar a agressividade de um colesteatoma através da análise da sua constituição histológica, em especial da perimatriz. Sendo assim, este trabalho tem por objetivo descrever, histologicamente, a perimatriz dos colesteatomas adquiridos de crianças e adultos, vistos à microscopia óptica, bem como correlacionar estes achados com a idade do paciente à cirurgia.

MÉTODO

Este trabalho foi aprovado, em suas questões éticas e metodológicas, pelo Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA, em 2002. Todos os pacientes, que aceitaram participar desta pesquisa assinaram Termo de Consentimento Livre Informado, para a utilização, anônima dos dados, em publicações científicas e para documentação e arquivo das filmagens realizadas. A obtenção ou não do consentimento informado não influenciou o tratamento dos pacientes. Sua metodologia enquadra-se em um estudo transversal comparativo e contemporâneo.

Os pacientes incluídos foram provenientes do Ambulatório de Otite Média Crônica no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (AOMC-HCPA).

A inclusão dos pacientes neste estudo obedeceu aos seguintes critérios:

1. Diagnóstico de Otite Média Crônica Colesteatomatosa;
2. Presença de matriz e perimatriz no colesteatoma coletado.

E a exclusão foi por diagnóstico de colesteatoma congênito.

Foram estudados 90 colesteatomas, coletados em cirurgias otológicas, entre maio de 2003 e julho de 2004, sendo 43 de pacientes pediátricos (0 a 18 anos) e 47 de adultos (acima de 18 anos).

O material foi coletado pelo cirurgião otologista, imediatamente fixado em formol a 10% e processado pelas técnicas histológicas habituais, com inclusão em parafina. Foram preparadas duas lâminas para análises morfológicas de cada amostra. As lâminas foram coradas em Hematoxilina-Eosina (HE) e Picrossírius (Sirius Red) e analisadas em microscópio óptico (Figura 1).

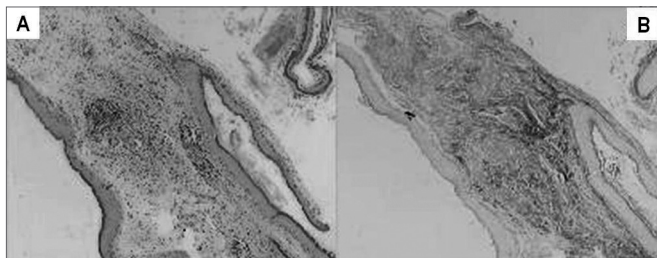


Figura 1. Nesta imagem podemos ver a mesma amostra corada em HE (A) e Picrosirius (B). Notar que o contraste obtido na segunda coloração é bem maior, pois nela as fibras de colágenos coram-se em bordô, o que facilita a diferenciação da espessura a ser medida.

Notar, na Figura 1, que o contraste obtido na segunda coloração é bem maior, pois nela as fibras de colágenos coram-se em bordô, o que facilita a diferenciação da espessura a ser medida.

A leitura do material foi “cega” e controlada pela pesquisadora. Foram observados os seguintes constituintes: número médio de camadas de células e presença de hiperplasia na matriz; espessura e epitélio delimitante da perimatriz; fibrose, inflamação e granuloma na perimatriz.

O número médio de camadas celulares da matriz foi obtido pela contagem destas, em cinco campos distintos da lâmina, e coletado de maneira contínua. Para o grau histológico de inflamação foi criada uma variável ordinal, com valores de zero a três, sendo 0 = ausente, 1 = discreto, 2 = moderado e 3 = acentuado, sendo caracterizado pela intensidade da permeação da perimatriz por linfócitos, neutrófilos, plasmócitos e macrófagos¹⁷. As demais variáveis, presença de hiperplasia na matriz, espessura e epitélio delimitante da perimatriz, fibrose, inflamação e granuloma na perimatriz, foram coletados de forma qualitativa, categorizados como presença ou ausência.

A espessura da perimatriz foi obtida através de análise de imagens computadorizadas utilizando o software ImagePro Plus Media Cybernetics (Figura 2). De cada amostra foram realizadas 20 medidas da espessura da perimatriz, as quais foram sumarizadas em média, mediana, tamanho mínimo, tamanho máximo, soma e delta (máximo menos mínimo), sendo estes os parâmetros utilizados para testar a correlação da espessura da perimatriz com a idade do paciente à data da cirurgia.

Para a análise estatística foi utilizado o coeficiente de Pearson e de Spearman na análise da correlação do número médio de camadas celulares da perimatriz e do grau histológico de inflamação com a espessura da perimatriz, para os dados descritivos foram utilizadas tabelas de frequência e a comparação entre os grupos foi realizada através dos testes de χ^2 e t de Student, utilizando-se o software SPSS 10.0 for Windows. Foram considerados como estatisticamente significativos os valores de P menores que 0,05.

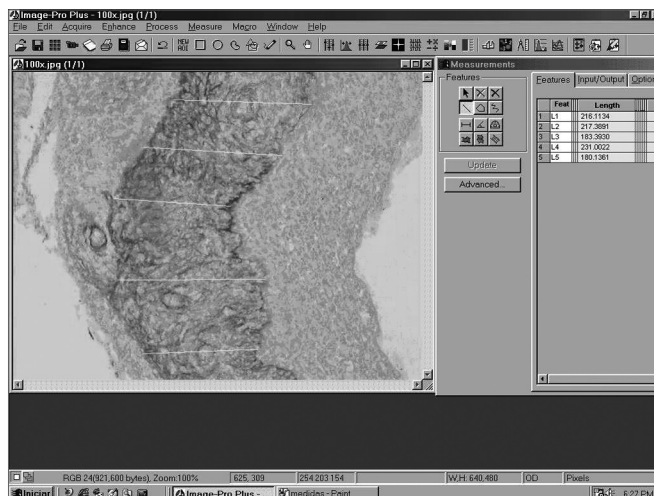


Figura 2. Imagem da tela do software ImagePro Plus Media Cybernetics.

RESULTADOS

Dados Epidemiológicos

A amostra contou com 86 pacientes, sendo nove com patologia bilateral (seis pediátricos e três adultos), totalizando 95 colesteatomas, porém 21 foram excluídos da análise, pois suas lâminas apresentavam somente lamelas córneas.

No grupo de pacientes excluídos tivemos nove com idade até 18 anos, com média +- desvio padrão igual a 12,74 +- 3,59 anos. Com mais de 18 anos havia 12 pacientes, com idade média +- desvio padrão igual a 39,75 +- 12,87 anos. Quanto ao gênero, havia 67% do sexo masculino, sendo 44% no grupo pediátrico e 83% nos adultos.

Dos 74 pacientes incluídos a média +- desvio padrão da idade foi de 25,66 +- 16,31. Neste grupo tivemos 35 com idade até 18 anos, com média +- desvio padrão igual a 12,85 +- 3,63 anos. Com mais de 18 anos havia 39 pacientes, com idade média +- desvio padrão igual a 36,78 +- 14,68 anos. Quanto ao gênero, a amostra apresenta 48% do sexo masculino. No grupo de crianças este percentual era de 52%, já no grupo adulto era de 44%.

Achados histológicos

Conforme as descrições da literatura, os colesteatomas incluídos nesta amostra apresentaram-se, ao microscópio óptico, como uma formação cística, revestida por epitélio escamoso estratificado e queratinizado, a chamada matriz, assentada sobre tecido conjuntivo denso de espessura variável, a perimatriz. Estas inconstâncias apareceram tanto quando observamos colesteatomas provenientes de diferentes pacientes, quanto no material do mesmo indivíduo. Um mesmo espécime apresentou regiões de espessura bastante delicadas até áreas muito

espessas. A perimatriz, por vezes, exibia infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e/ou tecido de granulação e reação de corpo estranho, especialmente se tivesse ocorrido ruptura da lesão. O conteúdo cístico, por sua vez, consistia de lamelas de queratina. Na Figura 3, podemos ver um exemplo bastante representativo da constituição

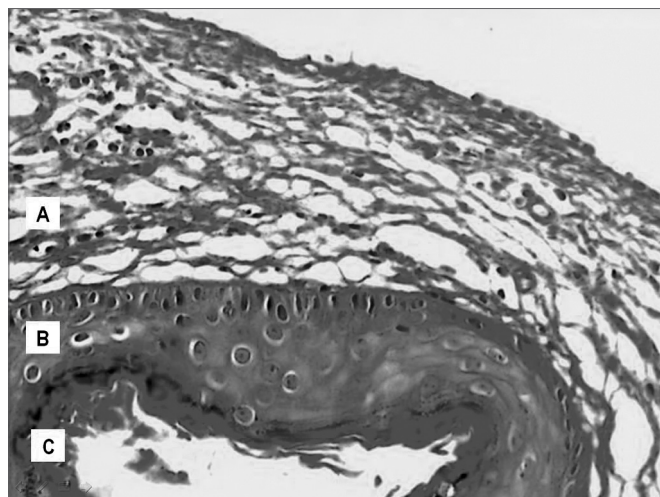


Figura 3. Imagem digitalizada de lâmina, com corte transversal de colesteatoma, corada em Hematoxilina-Eosina; apresentando suas partes constituintes: A. Perimatriz; B. Matriz; C. Conteúdo Cístico.

histológica dos colesteatomas adquiridos.

Pode-se afirmar que o revestimento (matriz) dos colesteatomas é indistinguível de uma mucosa escamosa (epitélio escamoso estratificado com um córion - lâmina própria - subjacente, como os encontrados no revestimento da boca, vagina, esôfago) e da pele, exceto pelo fato desta última exibir os anexos cutâneos (pêlos e glândulas). Também não podem ser distinguidos dos cistos epidérmicos ou infundibulares, de qualquer localização.

Na Figura 4, podem ser vistas algumas imagens de cortes transversais de colesteatomas adquiridos, mostrando a grande variabilidade na espessura da perimatriz, bem como de seus componentes histológicos.

O número de camadas celulares do epitélio escamoso estratificado variou de 3 a 23 ($7,94 \pm 4,15$). Quando estratificado por grupo etário não há muita modificação, sendo $7,87 \pm 4,22$ (mínimo = 3 e máximo = 22), no grupo pediátrico e $8,00 \pm 4,15$ (mínimo = 4 e máximo = 23), no grupo adulto ($P=0,89$).

A perimatriz aparece como uma rede inflamatória que envolve o colesteatoma, de espessura variável, tanto intra como interpacientes. No grupo total apresentou uma mediana de 80 micrômetros com intervalo interquartil de 37 a 232, tendo como valor mínimo zero e valor máximo 1.926. Quando a medida da espessura da perimatriz foi estratificada por idade, apresentou, no grupo pediátrico, uma mediana de 79 (41 a 259), com valor mínimo igual a zero e valor máximo de 484; e no grupo adulto, uma

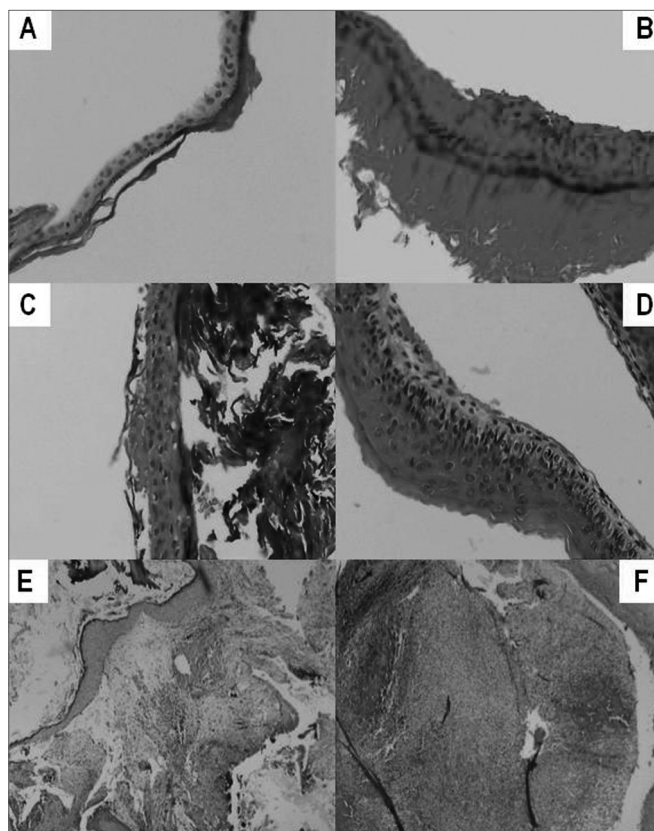


Figura 4. **A** - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de três camadas de células. Perimatriz ausente. **B** - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de seis camadas de células. Perimatriz estreita, fibrótica, com raros linfócitos. Ausência de granulomas. **C** - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de quatro camadas de células. Perimatriz muito estreita, sem fibrose e sem infiltrado inflamatório. **D** - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de seis camadas de células. Perimatriz estreita e delicada, sem fibrose e com infiltrado inflamatório muito discreto. **E** - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de doze camadas de células epiteliais. A perimatriz exibe fibrose densa, infiltrado inflamatório crônico acentuado e está delimitada em seu plano profundo por epitélio cubóide simples. **F** - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de treze camadas de células epiteliais apresentando hiperplasia epitelial. Perimatriz mostra fibrose discreta com infiltrado inflamatório acentuado e exsudação neutrocitária, estando delimitada em seu plano de profundo por epitélio cubóide simples. Ausência de granulomas.

mediana de 83 (26 a 174), tendo como valor mínimo zero e valor máximo 1.926.

Quando analisamos o grau de inflamação na perimatriz, vista ao microscópio ótico, 60% das amostras foram classificadas como moderada a acentuada. Ao aplicarmos o coeficiente de correlação de Spearman entre o grau de inflamação e as variáveis sumarizadoras da medida de espessura da perimatriz (média, mediana, valor máximo, valor mínimo, delta e soma) encontramos correlações, significativas, com magnitudes de moderadas a grandes. Na Figura 5 são apresentados os gráficos de correlação.

Ao correlacionarmos o número médio de camadas

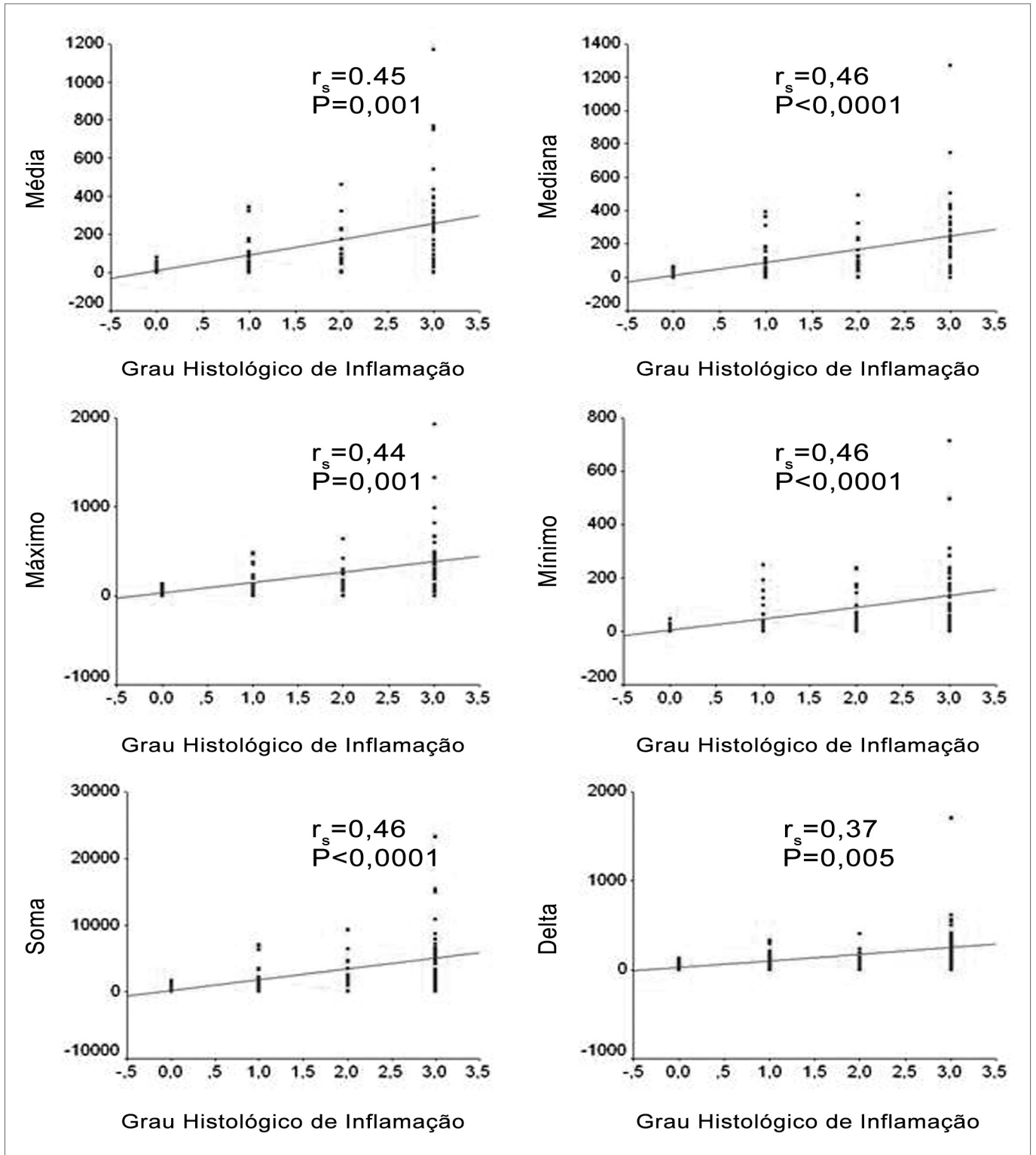


Figura 5. Gráficos de correlação entre o grau histológico de inflamação e as variáveis média, mediana, valor mínimo, valor máximo, delta e soma.

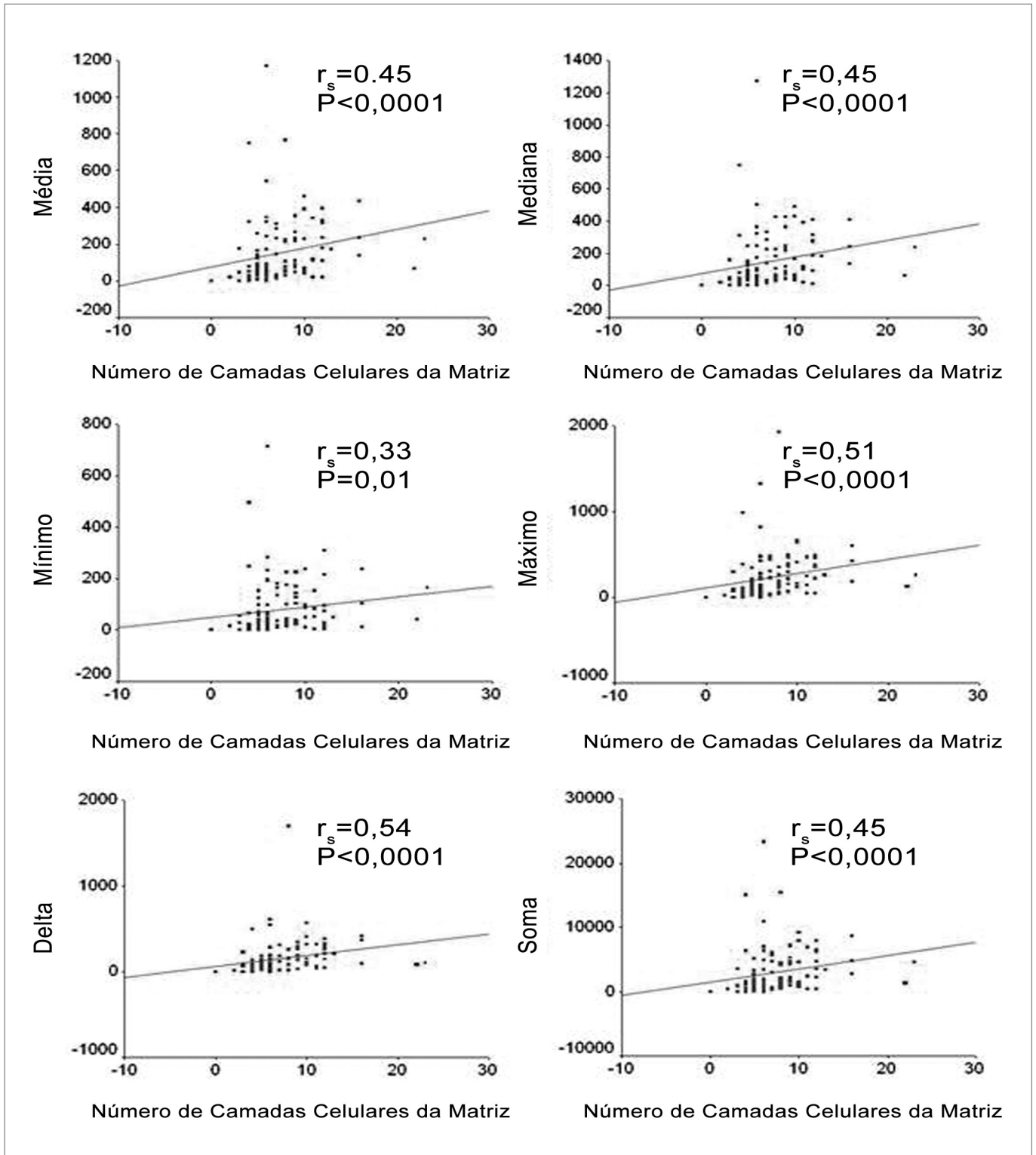


Figura 6. Gráfico de correlação entre o número médio de camadas celulares na matriz e as variáveis média, mediana, valor mínimo, valor máximo, delta e soma.

de células epiteliais com a espessura da perimatriz encontramos correlações, de moderadas a fortes, com todas as variáveis testadas (Figuras 6).

Ao utilizarmos o coeficiente de Pearson com o número médio de camadas celulares da matriz e a idade do paciente, não foi encontrada correlação. Porém, o mesmo coeficiente apresenta correlação entre a idade e o grau histológico de inflamação na perimatriz (Figuras 7 e 8).

Quando estratificado por grupo etário, os demais componentes histológicos analisados - hiperplasia na matriz, epitélio delimitante, fibrose e granuloma - também apresentaram distribuição semelhante nos dois grupos (Tabela 1).

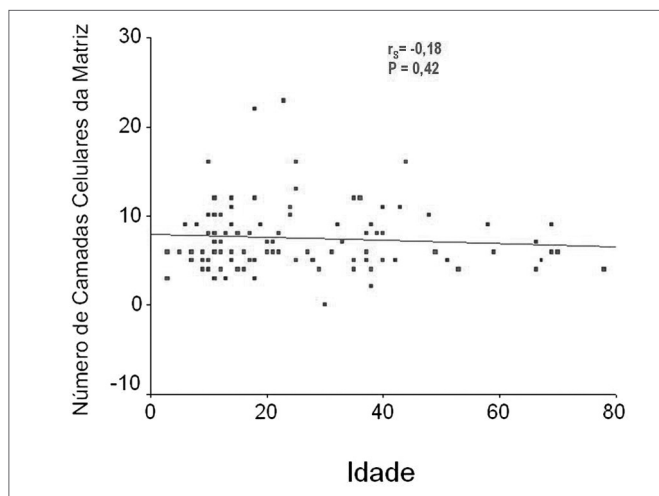


Figura 7. Gráfico da correlação linear entre a idade e o número médio de camadas de células epiteliais na matriz.

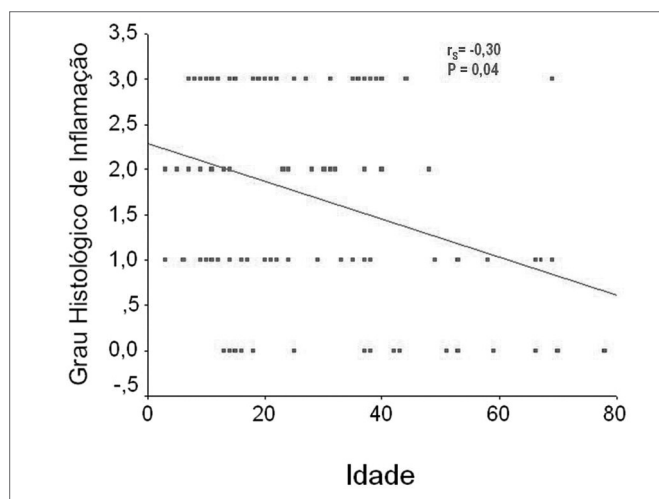


Figura 8. Gráfico da correlação linear entre a idade e o grau histológico de inflamação na perimatriz.

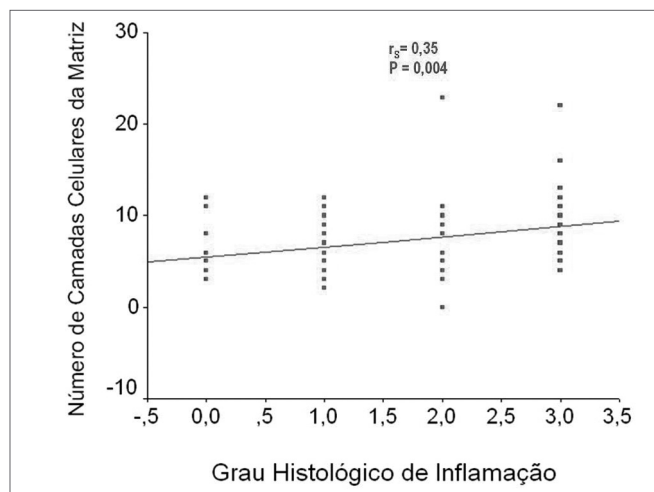


Figura 9. Gráfico da correlação linear entre o número médio de camadas celulares na matriz e o grau histológico de inflamação na perimatriz.

Tabela 1. Comparação dos grupos pediátrico e adultos quanto às características histomorfológicas do colesteatoma

Características	Grupo Pediátrico	Grupo Adulto	Valor P
Camadas Celulares na Matriz	7,9 ± 4,2	8,0 ± 4,1	0,89*
Hiperplasia na Matriz	16,7%	25,0%	0,41**
Epitélio Delimitante	26,7%	16,7%	0,32**
Fibrose	73,3%	63,9%	0,41**
Granuloma	13,3%	16,7%	0,71**

DISCUSSÃO

Lim e Saunders³ foram um dos primeiros a apresentaram uma análise histológica detalhada dos colesteatomas. Descrevem que o colesteatoma possui um epitélio escamoso estratificado queratinizado, com as quatro camadas idênticas às da epiderme normal (basal, espinhosa, granulosa e córnea), células de Langerhans (em maior quantidade do que na epiderme normal) e grânulos querato-hialinos, chamaram este epitélio de matriz do colesteatoma. Observaram, ainda, a presença de um tecido conjuntivo frouxo, contendo fibras colágenas, fibrócitos e células inflamatórias, que foi denominado de perimatriz. Esta se encontrava em contato, na maioria dos casos, com uma camada de células escamosas ou cilíndricas ciliadas, remanescentes da mucosa da orelha média. Em alguns casos, apesar da perimatriz estar ausente à microscopia óptica, era sempre presente quando estudada com o microscópio eletrônico de transmissão, mostrando-se extremamente fina, com as fibras colágenas praticamente ausentes e contendo cristais de carbonato de cálcio. No presente estudo pudemos confirmar os achados de Lim e Saunders³. Encontramos uma grande variabilidade na

espessura da perimatriz dos colesteatomas, tanto intra quanto interpapilares, em ambos os grupos.

Porém, ao realizamos a comparação histológica dos colesteatomas, entre as faixas etárias (adulto e pediátrico), não encontramos diferenças estatisticamente significativas no número médio de camadas celulares da matriz, na presença de hiperplasia na matriz, na existência de epitélio delimitante da perimatriz, na presença de fibrose e de granuloma na perimatriz. No entanto, através do coeficiente de correlação de Pearson, encontramos indícios de que o grau histológico de inflamação da perimatriz diminui com o aumento da idade. Da mesma maneira, o coeficiente de Spearman demonstra uma tendência de diminuição da espessura da perimatriz em relação ao acréscimo na idade do paciente à cirurgia.

Podemos fazer uma analogia da perimatriz com um "campo de batalha" onde ocorreria a disputa pelo território da orelha média. De um lado, no ataque, encontra-se o colesteatoma; de outro, os tecidos adjacentes da mucosa da caixa timpânica. Com a expansão do colesteatoma, a reação inflamatória aumentaria, conseqüentemente produziria mais elementos da cascata inflamatória. Acreditamos que é na perimatriz, e nos processos que nela acontecem, que reside a agressividade dos colesteatomas; sendo assim, baseados em nossos achados, podemos sugerir que as características clínicas diferenciadas dos colesteatomas pediátricos estariam relacionadas à exuberância da sua inflamação.

Além dos indícios de um maior grau de inflamação nos colesteatomas pediátricos, também encontramos correlação, neste caso direta, de moderada a forte, entre o número médio de camadas de células epiteliais na matriz com as medidas de espessura da perimatriz. Este fato poderia indicar que não só a perimatriz encontra-se mais ativa nos colesteatomas pediátricos, mas também a matriz teria um estado proliferativo, atual ou passado, mais acentuado. Nossos achados corroboram a hipótese de Bujia et al.¹² os quais sugeriram que os colesteatomas pediátricos apresentariam um estado proliferativo mais acentuado.

Estudos sobre o impacto dos mecanismos inflamatórios na OMCC, e o papel da perimatriz neste processo, são necessários para elucidar estas questões, devendo ser o próximo passo nesta linha de pesquisa. Apesar de a técnica utilizada, no presente estudo, ser precisa para a medição da espessura da perimatriz, esta não é específica para detectar qual elemento está diminuído na sua estrutura. Para tanto, pretendemos dar seguimento a esta linha, avançando para a quantificação de elementos constituintes da perimatriz de colesteatomas adquiridos.

CONCLUSÕES

Não há evidências, nesta amostra, de que haja diferenças nos componentes histológicas de colesteatomas adquiridos em crianças e adultos.

Houve correlação inversa, de fraca a moderada, entre o tamanho da perimatriz, medida em micrômetros, com a idade do paciente na data da cirurgia.

O grau de inflamação da perimatriz apresentou

correlação, de moderada à forte, com a espessura da perimatriz.

O grau de inflamação da perimatriz apresentou correlação inversa com a idade do paciente à cirurgia.

As espessuras da matriz e da perimatriz estavam fortemente correlacionadas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos serviços de Otorrinolaringologia e Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela cedência de sua estrutura, para o desenvolvimento deste projeto.

Ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG-HCPA) por seu apoio técnico.

Ao Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) pelo financiamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ferlito O, Devaney KO, Rinaldo A, Milroy C, Wenig B, Iurato S, McCabe BF. Clinicopathological consultation ear cholesteatoma versus cholesterol granuloma. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1997; 106: 79-85.
2. Schuknecht HF. The pathology of the ear. Cambridge: Harvard University; 1974.
3. Lim DJ, Saunders WE. Acquired cholesteatoma: light and electron microscopic observations. *Ann Otol* 1972; 81: 2-12.
4. Milewski C. Role of perimatix fibroblast in development of acquired middle ear cholesteatoma. A hypothesis. *HNO* 1998; 46(5): 494-501.
5. Cruz O, Costa SS. *Otologia Clínica e Cirúrgica*. Ed. Revinter; 1999.
6. Dornelles C, Weber R, Schimdt VB, Schimdt L, Dall Igna D, Carvalho LHSK, Kruse L, Costa SS. Descrição da cadeia ossicular no transoperatório de pacientes com otite média crônica. Pesquisa: Logos e Práxis. Unidade de Pesquisa do Instituto de Cardiologia; 2002. p. 221.
7. Sheehy JL. Management of cholesteatoma in children. *Adv Oto-Rhinolaryng* 1978; 23: 58-64.
8. Tos M. Treatment of cholesteatoma in children: A long-term study of results. *J Otol* 1983; 4: 189-97.
9. Edelstein DR. Acquired Cholesteatoma in Pediatric Age Group. *The Otolaryngol Clin North Am* 1989; 22(5) 955-64.
10. Glasscock ME, Dickins JFE, Wiet R. Cholesteatoma in children. *Laryngoscope* 1981; 91: 1743-53.
11. Ruah CB, Schachem PA, Paparella MM, Zelterman D. Mechanisms of retraction pocket formation in the pediatric tympanic membrane. *Arch. Otolaryngol Head Neck Surgery* 1992; 118(12): 1298-305.
12. Bujia J, Holly A, Antoli-Candela F, Tapia M.G. Immunobiological peculiarities of cholesteatoma in children: quantification of epithelial proliferation by MIB1. *Laryngoscope* 1996; 106(7): 865-8.
13. Palva A, Karma P, Kärjä J. Cholesteatoma in children. *Arch Otolaryngol* 1997; 103(2): 74-7.
14. Sudhoff H, Dazert S, Gonzales AM, Borkowski G, Park SY, Baird A, Hildmann H, Ryan AF. Angiogenesis and angiogenic growth factors in middle ear cholesteatoma. *Am J Otol* 2000; 21: 793-8.
15. Smythe JL, Brachman D, Graham M. Complications of cholesteatoma: A report on 1.024 cases. In: Swartz JD. *Colesteatomas of the middle ear. Diagnosis Etiology and Complications*. *Radiol Clin north Am* 1984; 22: 15-34.
16. Quaranta A, Resta L, Santangelo A. Otomastoid cholesteatoma in children: histopathological findings. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1986; 12(2): 121-6.
17. Baak JPA. *Manual of quantitative pathology in cancer diagnosis and prognosis*. Springer-Verlag; 1991.