

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: PEDIATRIA

***Colesteatomas Adquiridos:  
Análise Comparativa da Perimatriz entre Pacientes  
Pediátricos e Adultos***

CRISTINA DE CARVALHO DORNELLES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre, Brasil

2004

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: PEDIATRIA

***Colesteatomas Adquiridos:  
Análise Comparativa da Perimatriz entre Pacientes  
Pediátricos e Adultos***

***Cristina de Carvalho Dornelles***

***Orientador: Prof. Dr. Sady Selaimen da Costa***

***Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luíse Meurer***

A apresentação dessa dissertação é exigência do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para a obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, Brasil

2004

Dedico essa dissertação aos meus três grandes amores: Beto, Manuella e Nathálie,  
pois sem a compreensão deles e sem o seu apoio nas horas difíceis, este grande passo  
em minha vida não teria sido possível.

## **Agradecimentos**

Ao Prof. Dr. Sady Selaimen da Costa, orientador dessa dissertação, por todo seu apoio, compreensão e exigência; por sua instigante sede de conhecimento; mas, principalmente, por sua confiança e amizade.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luíse Meurer, co-orientadora, por sua prestimosa ajuda e interesse, mas, sobretudo, por ter se tornado uma amiga fiel.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Newra Telechea Rotta, pelos inestimáveis conselhos, pela dedicação ao ensino e por sua paixão à educação, no sentido mais amplo que este substantivo possa ter.

Ao Dr. Mário Wagner, pelas belas discussões, pela orientação e ajuda.

Ao Prof. Arnaldo Linden, por ser uma fonte de inspiração a muitos pesquisadores da otologia.

Aos médicos Dr. Celso Dall'Ígna, Prof. Dr. Oswaldo Laércio Cruz, Prof. Dr. Luís Lavinsky e Simão Piltcher, pelo auxílio na coleta das amostras.

À Profª Drª Celina Pereira, por seu apoio e contribuição.

Ao Prof. Dr. Carlos Thadeu Cerski, por sua importante contribuição na montagem do projeto.

Ao Prof. Dr. João Carlos Prolla, pela gentileza e hospitalidade, as quais muito contribuíram para a execução do projeto.

Ao Dr. Richard Chole, pela atenção dispensada às nossas discussões virtuais e pela contribuição para os encaminhamentos dessa dissertação.

À amiga Lisiane Segato Kruse, por sua inestimável contribuição à elaboração de textos e artigos, pelo grande estímulo e confiança e, principalmente, pelas frutíferas horas dedicadas à discussão de assuntos “científicos”.

À minha mãe, Helena Costa de Carvalho, *in memoriam*, por ter sido a pessoa que segurou minha mão quando eu estava perdida e solitária.

À minha irmã, Ceres Carvalho Marzano, por ser meu exemplo de vida.

À amiga Cláudia Schweiger, acadêmica do Curso de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pelo auxílio na execução deste projeto.

Ao acadêmico de medicina Alexandre Coelho, por seu auxílio na finalização deste trabalho.

Aos Residentes do Serviço de Otorrinolaringologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Mariana Smith, Fernanda Monteiro, Cristiano Rushel, Letícia Schmidt, Fábio

Anselmi, Marcelo Antunes, Michelle Lavinsky, Daniela Preto, Afonso Mariante, Fabiana Scarton, Vanessa Teixeira e Andressa Fiorentin, pela dedicação na coleta das amostras utilizadas neste trabalho.

Aos funcionários do Serviço de Otorrinolaringologia e do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por sua ajuda.

Aos serviços de Patologia e Otorrinolaringologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela cedência de suas instalações.

À Comissão de Seleção do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria, pela confiança em mim depositada.

Ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e ao Fundo de Investimento à Pesquisa e Eventos, pelo apoio e financiamento concedido.

Aos pacientes que aceitaram participar dessa pesquisa, pois sem eles nenhuma dessas páginas estaria escrita.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução dessa pesquisa.

## Lista de Tabelas

- Tabela 1:** Comparação dos grupos pediátrico e adulto quanto às características histomorfológicas do colesteatoma.....47
- Tabela 2:** Medidas-sumário da espessura da perimatriz por grupo etário.....47

## Lista de Quadros

<b>Quadro 1:</b> Principais hipóteses para a etiopatogênese dos colesteatomas.....	9
<b>Quadro 2:</b> Frequência de colesteatomas residuais e recorrentes, estratificados pela técnica cirúrgica, apresentados na literatura.....	26
<b>Quadro 3:</b> Incidência de colesteatomas residuais e recorrentes, estratificados por grupo etário, apresentados na literatura.....	26
<b>Quadro 4:</b> Descrição demográfica da amostra.....	127
<b>Quadro 5:</b> Resumo das variáveis e dos parâmetros utilizados para comparação entre os grupos pediátrico e adulto.....	130



## Lista de Figuras

<b>Figura 1:</b> Imagem digitalizada de lâmina, com corte transversal de colesteatoma, corada em Hematoxilina-Eosina. Podemos ver suas três partes constituintes: A – perimatriz; B – matriz; C – conteúdo cístico.....	12
<b>Figura 2:</b> Cortes transversais de colesteatomas corados em Picrossírios: A – perimatriz; B – matriz; C – conteúdo cístico.....	22
<b>Figura 3:</b> Imagem digitalizada de lâmina, com corte transversal de colesteatoma, corada em Hematoxilina-Eosina. Podemos ver suas três partes constituintes: A – perimatriz; B – matriz; C – conteúdo cístico.....	33
<b>Figura 4:</b> Nessa imagem podemos ver a mesma amostra corada em HE (A) e Picrossírios (B). Notar que o contraste obtido na segunda coloração é bem maior.....	35
<b>Figura 5:</b> Imagem capturada no programa <i>ImagePro Plus</i> , representando o módulo de medição.....	36
<b>Figura 6:</b> Fluxograma da inclusão e distribuição da amostra.....	40
<b>Figura 7:</b> Imagens digitalizadas da lâmina do colesteatoma do paciente 12.....	42
<b>Figura 8:</b> Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 1.....	42
<b>Figura 9:</b> Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 6.....	43
<b>Figura 10:</b> Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 7.....	43
<b>Figura 11:</b> Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 11.....	44
<b>Figura 12:</b> Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 29.....	44
<b>Figura 13:</b> Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 32.....	45
<b>Figura 14:</b> Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 50.....	45

<b>Figura 15:</b> Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 66.....	46
<b>Figura 16:</b> <i>Box plot</i> da média das medidas da espessura da perimatriz por faixa etária.....	48
<b>Figura 17:</b> <i>Box plot</i> da mediana das medidas da espessura da perimatriz por faixa etária.....	48
<b>Figura 18:</b> <i>Box plot</i> dos valores mínimos das medidas da espessura da perimatriz por faixa etária.....	49
<b>Figura 19:</b> <i>Box plot</i> dos valores máximos das medidas da espessura da perimatriz por faixa etária.....	49
<b>Figura 20:</b> <i>Box plot</i> dos deltas das medidas da espessura da perimatriz por faixa etária...	50
<b>Figura 21:</b> <i>Box plot</i> da soma das medidas da espessura da perimatriz por faixa etária.....	50
<b>Figura 22:</b> Gráfico da correlação linear entre a idade, em anos, e a média da espessura da perimatriz dos colesteatomas, em micrômetros.....	51
<b>Figura 23:</b> Gráfico da correlação linear entre a idade, em anos, e a mediana da espessura da perimatriz dos colesteatomas, em micrômetros.....	52
<b>Figura 24:</b> Gráfico da correlação linear entre a idade, em anos, e os valores mínimos da espessura da perimatriz dos colesteatomas, em micrômetros.....	52
<b>Figura 25:</b> Gráfico da correlação linear entre a idade, em anos, e os valores máximos da espessura da perimatriz dos colesteatomas, em micrômetro.....	53
<b>Figura 26:</b> Gráfico da correlação linear entre a idade, em anos, e o delta da espessura da perimatriz dos colesteatomas, em micrômetros.....	53
<b>Figura 27:</b> Gráfico da correlação linear entre a idade, em anos, e a soma da espessura da perimatriz dos colesteatomas, em micrômetros.....	54
<b>Figura 28:</b> Gráfico da correlação linear entre o grau histológico de inflamação e a média da espessura da perimatriz dos colesteatomas .....	54
<b>Figura 29:</b> Gráfico da correlação linear entre o grau histológico de inflamação e a mediana da espessura da perimatriz dos colesteatomas.....	55
<b>Figura 30:</b> Gráfico da correlação linear entre o grau histológico de inflamação e o valor máximo da espessura da perimatriz dos colesteatomas.....	55

- Figura 31:** Gráfico da correlação linear entre o grau histológico de inflamação e o valor mínimo da espessura da perimatriz dos colesteatomas.....56
- Figura 32:** Gráfico da correlação linear entre o grau histológico de inflamação e a soma da espessura da perimatriz dos colesteatomas .....56
- Figura 33:** Gráfico da correlação linear entre o grau histológico de inflamação e o delta da espessura da perimatriz dos colesteatomas .....5-58 -
- Figura 34:** Gráfico da correlação linear entre o valor médio da espessura da perimatriz e o número médio de camadas de células epiteliais na matriz.....5-58 -
- Figura 35:** Gráfico da correlação linear entre a mediana da espessura da perimatriz e o número médio de camadas de células epiteliais na matriz.....58
- Figura 36:** Gráfico da correlação linear entre o valor máximo da espessura da perimatriz e o número médio de camadas de células epiteliais na matriz.....5**Erro! Indicador não definido.**
- Figura 37:** Gráfico da correlação linear entre o valor mínimo da espessura da perimatriz e o número médio de camadas de células epiteliais na matriz.....59
- Figura 38:** Gráfico da correlação linear entre o delta da espessura da perimatriz e o número médio de camadas de células epiteliais na matriz.....59
- Figura 39:** Gráfico da correlação linear entre a soma da espessura da perimatriz e o número médio de camadas de células epiteliais na matriz.....60
- Figura 40:** Gráfico da correlação linear entre a idade e o número médio de camadas de células epiteliais na matriz.....60
- Figura 41:** Gráfico da correlação linear entre a idade e o grau histológico de inflamação na perimatriz.....61
- Figura 42:** Otoscopias de dois pacientes do AOMC-HCPA. Em A: Otite Média Crônica Não-Colesteatomatosa. Em B: Otite Média Crônica Colesteatomatosa.....69



### Lista de Abreviaturas

Å - Angstrom

AOMC-HCPA – Ambulatório de Otite Média Crônica no Hospital de Clínicas de Porto Alegre

$\beta$ -FGF – Fator de Crescimento de Fibroblastos

Ck 16 – Citoqueratina 16

dB - decibel

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

EFG – Fator de Crescimento Epitelial

HE – Coloração Histológica em Hematocilina-Eosina

IL-1 $\alpha$  - Interleucina alfa

Ki 67 – Antígeno Nuclear

$\mu$ m – Micrômetro

ME – Microscópio Eletrônico

MMP – Metaloproteinases

MO – Microscopia Óptica

OCL – Orelha Contra Lateral

OMC – Otite Média Crônica

OMCC – Otite Média Crônica Colesteatomatosa

OMCNC – Otite Média Crônica Não-Colesteatomatosa

PCR – Reação em Cadeia de Polimerase

PGE<sub>2</sub> – Prostaglandinas

SPSS – Statistical Package for Social Science

TGF – Fator de Crescimento Tumoral

TNF – Fator de Necrose Tumoral

## Resumo

### ***Colesteatoma adquirido: análise comparativa da perimatriz entre pacientes pediátricos e adultos***

*Introdução:* Os colesteatomas podem ocorrer tanto em crianças como em adultos, porém nas crianças pareceriam ter um crescimento mais agressivo e extenso. A atividade das colagenases poderia explicar este perfil. *Objetivo:* Comparar, histologicamente, a perimatriz de colesteatomas adquiridos de crianças com os de adultos. *Métodos:* Foram estudados 74 colesteatomas, 35 pediátricos, coletados em cirurgias otológicas, fixados em formol 10% e processados pelas técnicas histológicas habituais. Foram preparadas uma lâmina em Hematoxilina-Eosina (HE) e outra em Picrossírios, de cada amostra, e analisadas ao microscópio óptico. A leitura foi “cega”, efetuada por meio de imagens digitais, no *software ImagePro Plus*. A análise estatística foi realizada através dos coeficientes de correlação de Pearson e Spearman e dos testes t e  $\chi^2$ , sendo considerados como estatisticamente significativos os valores de  $P < 0,05$ . *Resultados:* Dos 74 colesteatomas coletados, 17 - sete do grupo pediátrico e dez do adulto - foram excluídos por não terem presença de matriz e perimatriz nas lâminas processadas. A média $\pm$ dp da idade, no grupo pediátrico, foi de 12,85 $\pm$ 3,63; e no adulto, 33,69 $\pm$ 13,10. Na análise histológica, o número médio de camadas de células epiteliais da matriz foi igual a oito, nos dois grupos, 60% das amostras

apresentavam inflamação, de moderada a acentuada; quanto à fibrose, nas crianças, 71,4% e nos adultos, 62,1%; o granuloma apareceu em 10,7% e 13,8%, respectivamente; a presença de epitélio cubóide simples delimitando a perimatriz foi encontrada em 29% dos infantis e 14% dos adultos, entretanto, nenhuma dessas variáveis apresentou diferença estatisticamente significativas quando comparadas por faixa etária ( $P>0,05$ ). Quanto à espessura da perimatriz, no grupo pediátrico, as medianas (intervalo interquartil) dos parâmetros foram: média=79 (41 a 259); mediana=77 (40 a 265); soma=1.588 (831 a 5.185); delta=82 (44 a 248); mínimo=53 (16 a 165) e máximo=127 (64 a 398); já no grupo de adultos foram: média=83 (26 a 174); mediana=68 (30 a 181); soma=1.801 (558 a 3.867); delta=92 (45 a 190); mínimo=27 (12 a 100) e máximo=136 (53 a 280). O coeficiente de Spearman mostrou correlação inversa, moderada, entre a espessura da perimatriz e a idade; também houve correlação, forte, entre a espessura da perimatriz e o número de camadas da matriz, porém não houve correlação entre essa com a idade. *Conclusão:* Histologicamente, a perimatriz de colesteatomas adquiridos, de crianças e adultos, vista à microscopia óptica, apresenta-se como um tecido conjuntivo denso de espessura variável (intra e interpacientes), que, por vezes, exibe infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e/ou tecido de granulação e reação de corpo estranho; em alguns casos é delimitada em plano profundo por epitélio cubóide simples. Há correlação inversa, de fraca a moderada, entre o tamanho da perimatriz, medida em micrômetros e a idade do paciente na data da cirurgia. O grau de inflamação da perimatriz apresenta correlação, de moderada a forte, com a espessura da perimatriz. As espessuras da matriz e da perimatriz estão fortemente correlacionadas.

#### Palavras-Chave:

Colesteatoma, Perimatriz, Inflamação



## Abstract

### ***Cholesteatoma acquired: comparative analysis of the perimatrix thickness between adults and children patients***

Introduction: Cholesteatoma may occur either in children or in adults; in children, however, they have a more aggressive and extensive growth. Collagenases may play a role in this set. Objective: To compare, histologically, adults and children's cholesteatomas. Methods: A total of 74 cholesteatomas (35 of children) obtained from otologic surgeries were included. They were fixed in formol 10% and processed by usual histologic techniques. Two laminas were performed for each cholesteatoma, one stained with HE and other with Picrossisus. Images were obtained at the optic microscope and were digitally processed using Image Pro-Plus software. For statistical analysis were used Pearson and Spearman's correlation coefficient, t test and chi square test. The analysis was blind. Differences were considered statistically significant if  $P < 0,05$ . Results: We obtained 74 cholesteatomas, but 17 (7 pediatrics and 10 adults) were excluded because of the absence of their matrix and perimatrix in the microscopic images. Mean age  $\pm$  sd was  $12,85 \pm 3,63$  in children and  $33,69 \pm 13,1$  in adults. Histologically, mean number of matrix epithelial cell layers was 8 in both groups. Sixty percent of samples showed a moderate-to-severe inflammation. In the children group, 71,4% of samples contained fibrosis and, between adults, 62,1% contained it; granuloma appears

in 10,7% and in 13,8%, respectively. The presence of simple cuboidal epithelium around the perimatrix was found in 29% of children's and in 14 % of adult's laminas. No statistical difference was found in these variables between the two groups ( $P>0,05$ ). In the pediatric group, perimatrix mean thickness was 79 (41 - 259), median = 77 (40-265), sum = 1588 (831 - 5185), delta = 82 (44 - 248), minimum = 53 (16 - 165) and maximum = 127 (64 - 398). In the adult group, perimatrix mean thickness was 83 (26 - 174), median = 68 (30 - 265), sum = 1801 (558 - 3867), delta = 92 (45 - 190), minimum = 27 (12 - 100) and maximum = 136 (53 - 280). Spearman correlation coefficient showed an inverse weak correlation between the perimatrix thickness and age. There was also a moderate correlation between perimatrix thickness and the number of matrix layers, but there wasn't a correlation between matrix layers and age. Conclusions: At the optic microscope, children's and adult's acquired cholesteatoma perimatrix appears as a dense conjunctive tissue of variable thickness. It exhibits an infiltrate consisting by plasma cells and lymphocytes and/or a granulation tissue and foreign body reactions. It is delimited at the profound plan by simple cuboidal epithelium. We found some evidence that there is an inverse weak-to-moderate correlation between the acquired cholesteatoma perimatrix thickness and the age of the patient at the occasion of surgery. The degree of perimatrix inflammation presents a moderate-to-strong correlation with the perimatrix thickness. Matrix and perimatrix thickness have a strong correlation.

#### KEY WORDS

Cholesteatoma, Perimatrix, Inflammation

## Sumário

Introdução.....	- 1
-----------------	-----

-

### PARTE I - PRESSUPOSTOS TEÓRICOS

1 Revisão da Literatura.....	4
1.1 O Vocábulo .....	4
1.2 Definição.....	5
1.3 Epidemiologia .....	5
1.4 Classificação.....	6
1.5 Etiopatogênese.....	8
1.6 Estrutura .....	10
1.7 Biologia do Colesteatoma.....	12
1.8 Poder de Erosão Óssea .....	17
1.9 Colágeno e Colagenase .....	20
1.10 Colesteatoma Pediátrico.....	23
1.11 Manejo do Colesteatoma.....	24

### PARTE II - A PESQUISA

2 Justificativa.....	29
----------------------	----

3	Objetivos.....	30
3.1	Objetivo Geral.....	30
3.2	Objetivos Específicos .....	30
4	Métodos.....	31
4.1	Delineamento.....	31
4.2	Pacientes .....	31
4.3	Processo de Amostragem .....	32
4.3.1	Cálculo do Tamanho da Amostra .....	32
4.3.2	Critérios de Inclusão.....	32
4.3.3	Critério de Exclusão.....	34
4.4	Colesteatomas.....	34
4.5	Descrição Histológica .....	35
4.6	Medição da Perimatriz .....	36
4.7	Considerações Éticas .....	37
4.8	Análise Estatística .....	37
5	Resultados.....	39
5.1	Dados Epidemiológicos .....	39
5.2	Dados Clínicos e Histológicos .....	41
6	Discussão.....	62
6.1	Descrição Histológica e Espessura da Perimatriz .....	64
6.2	Agressividade dos Colesteatomas .....	67
6.3	O Processo Inflamatório .....	69
	Conclusões .....	74
	Referências.....	75

## PARTE III - ANEXOS

Anexo 1 – Comparação da espessura da perimatriz, de colesteatomas adquiridos, entre pacientes pediátricos e adultos.....	87
Anexo 2 – Descrição histológica de colesteatomas adquiridos: comparação entre amostras de crianças e de adultos.....	104
Anexo 3 – Protocolo de Primeira Consulta.....	124
Anexo 4 – Termo de Consentimento Informado.....	126
Anexo 5 – Carta de Aprovação do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação.....	127
Anexo 6 – Descrição demográfica da amostra.....	127
Anexo 7 – Espessura da Perimatriz.....	130
Anexo 8 – CD com a coleção histológica completa.....	134

## Introdução

O colesteatoma é uma doença caracterizada pela presença de epitélio escamoso estratificado queratinizado no interior de qualquer área pneumatizada do osso temporal (Schuknecht, 1974). Histologicamente, é constituído por matriz (epitélio), perimatriz (tecido conjuntivo subepitelial) e conteúdo cístico (lamelas de queratina) (Lim e Saunders, 1972).

Meu interesse em estudar os colesteatomas iniciou-se com a implantação do Ambulatório de Otite Média Crônica no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (AOMC-HCPA) no ano de 2000.

Especificamente, o tema dessa dissertação surgiu ao ler o trabalho da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Celina Pereira (2002), que procurou identificar diferenças imuno-histoquímicas (citoqueratina 16 e antígeno nuclear Ki-67) entre os colesteatomas pediátricos e adultos. Como achado casual, observou, ao pesquisar as células inflamatórias na perimatriz, que essa era mais espessa nas amostras de adultos. Sugeriu que a menor espessura da perimatriz nas crianças poderia ser atribuída a uma diminuição das fibras de colágeno, decorrente da ação das colagenases. A confirmação dessa hipótese indicaria uma maior agressividade dos colesteatomas pediátricos.

Apesar de diversos autores acreditarem que o colesteatoma pediátrico tenha um crescimento mais agressivo e extenso (Galsscock, 1981; Ruah, 1992; Bujia e col., 1996a, Palva e col, 1997; Sudhoff e col, 2000a) e, por conseguinte, deva ser manejado com técnicas cirúrgicas mais radicais, até o momento não existe consenso na literatura sobre este tema. Além da polêmica em torno do comportamento biológico dos colesteatomas na

infância, inexistem, ainda, dados comparativos consistentes, entre crianças e adultos, acerca dos seus constituintes histológicos, ultra-estruturais e bioquímicos.

Na tentativa de acrescentar subsídios a essa discussão, decidi dedicar-me a este projeto, que tem como objetivo a comparação histológica da perimatriz de colesteatomas adquiridos pediátricos com a de adultos.

## **PARTE I – PRESSUPOSTOS TEÓRICOS**



## 1 - Revisão da Literatura

### 1.1 O Vocábulo

A palavra “colesteatoma” foi utilizada pela primeira vez pelo anatomista alemão Johannes Mueller, em 1838 (Cruz e Costa, 1999). As raízes deste vocábulo significam *cole* – colesterol; *esteado* – gordura; *oma* – tumor, ou seja, um tumor onde estão presentes tecido gorduroso e cristais de colesterol. Etimologicamente, este termo é completamente incorreto, sendo, inclusive, considerado o segundo termo mais errôneo em otologia (em primeiro está o “neurinoma do acústico”, visto que, na verdade, trata-se de um Schwannoma do nervo vestibular (Costa e col., 1992). O uso dessa denominação é inadequado porque o colesteatoma origina-se de epitélio escamoso queratinizado da membrana timpânica e/ou conduto auditivo externo, sem presença de cristais de colesterol ou gordura na sua estrutura, além da natureza tumoral ser totalmente discutível.

Outras denominações foram sugeridas, como *tumor peroláceo*, por Cruveilhier, em 1829; *margaritoma*, por Craigie, em 1891, *colesteatoma epidérmico* por Cushing, em 1922, *epidermóide* por Critchley e Ferguson, em 1928 e *queratoma*, por Shuknecht, em 1974; todos estes termos, apesar de mais adequados e descritivos, não são empregados e o vocábulo colesteatoma é consagrado entre os otologistas.

## 1.2 Definição

Os colesteatomas foram definidos por Friedmann, em 1959, como estruturas císticas revestidas por epitélio escamoso estratificado, repousando sobre um estroma fibroso de espessura variável, o qual pode conter alguns elementos do forro mucoso original.

Mais simplesmente, Schuknecht, em 1974, define-os como acúmulo de queratina esfoliada dentro da orelha média ou de qualquer área pneumatizada do osso temporal, nascendo a partir de um epitélio escamoso queratinizado. Informalmente, este autor afirmou que os colesteatomas caracterizam-se por “pele no lugar errado”.

## 1.3 Epidemiologia

A incidência anual de colesteatomas está em torno de 3 por 100.000 em crianças e 9 por 100.000 em adultos, sendo mais predominante no gênero masculino (Tos e col. 1989; Kemppainen e col., 1999; Potsic e col., 2002; Quantin e col., 2002).

Dados epidemiológicos mostram uma alta prevalência do colesteatoma entre os caucasianos, seguidos pelos descendentes do povo africano, sendo raramente visto em asiáticos. De acordo com Ratnesar (1977), essa prevalência é bem mais baixa nos esquimós Inuit, sugerindo que suas características anatomomorfológicas poderiam facilitar a aeração da orelha média e prevenir as seqüelas das otites crônicas.

No Ambulatório de Otite Média Crônica no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (AOMC-HCPA), dos 450 pacientes acompanhados desde agosto de 2000, 30% eram portadores de Otite Média Crônica Colesteatomatosa (OMCC), apresentando-se bilateralmente em 12% da amostra total. Dos pacientes com OMCC, 45% tinham até 18 anos, considerados, portanto, pediátricos. Quanto ao gênero, encontramos 70% de casos do sexo masculino (Dornelles e col., 2004a).

## 1.4 Classificação

Habitualmente, os colesteatomas são classificados como congênitos e adquiridos, sendo estes subdivididos em primários e secundários.

Os congênitos são restos epiteliais, encontrados em orelhas com membranas timpânicas intactas e sem história prévia de infecções (Derlacki e Clemis, 1965). De acordo com Valvassori (1974), são encontrados em quatro regiões do osso temporal: tímpano-mastoideo, ápice petroso, ângulo pontocerebelar e forame jugular. Há ainda uma quinta localização, descrita por Sobol (1980), o qual relatou a existência de pequenas pérolas epiteliais entre as camadas da membrana timpânica.

Os colesteatomas adquiridos primários seriam decorrentes de retrações timpânicas, que acumulariam epitélio descamado e perderiam seu poder de autolimpeza. Já os secundários seriam formados a partir da migração do epitélio através de uma perfuração marginal na membrana timpânica (Costa e col., 1999).

Meyerhoff e Truelson (1986) tentaram classificar os colesteatomas de acordo com sua patofisiologia, localização, defeitos ossiculares e presença de complicações, dividindo-os em congênitos e adquiridos, sendo que os últimos em primário, secundário e terciário.

Tos (1988) propôs uma classificação otoscópica, dividindo os colesteatomas em:

- 1 – Aticais;
- 2 - Parte Tensa I (doença marginal);
- 3 - Parte Tensa II (doença central).

Em 1993, o mesmo autor propôs uma outra classificação, baseada no local de origem do colesteatoma, o qual considera como um importante fator para o procedimento cirúrgico e para o prognóstico. Esta taxonomia apresenta três categorias:

1 – Colesteatoma Atical - uma retração da parte flácida ou membrana de Shrapnell, estendendo-se do ático, passando pelo ádito, e chegando, eventualmente, até o antro.

2 – Colesteatoma do Seio Timpânico - retração póstero-superior ou perfuração da parte tensa, estendendo-se para o seio timpânico e porção posterior do tímpano.

3 – Colesteatoma da Parte Tensa - retração e adesão total da parte tensa da membrana timpânica envolvendo o orifício timpânico da tuba auditiva.

Saleh e Mills (1999) propuseram outra classificação, de acordo com os locais afetados pelo colesteatoma, assim caracterizada:

S1 – se o colesteatoma estiver restrito ao local onde tenha começado;

S2 - quando a doença se estende para outro local;

S3 – se afetar três locais;

S4 – se estiver instalado em quatro locais;

S5 – para os casos em que o primeiro local afetado e, além deste, quatro ou mais estão envolvidos.

Estes mesmos autores distinguem sete locais utilizados para essa classificação: ático e antro, orelha média, mastóide, tuba auditiva, labirinto e fossa média. Este estadiamento é uma solução prática para descrever a extensão da doença e é clinicamente relevante, podendo ser aplicado para todas as lesões exceto às do ápice petroso, as quais não podem ser diagnosticadas por otoscopia.

Saleh e Mills (1999) também apresentam uma classificação da condição da cadeia ossicular, baseada nas descrições de Wullstein (1956) e Austin (1969), através da seguinte pontuação:

0 – se a cadeia ossicular estiver intacta;

1 – se a bigorna estiver erodada e com descontinuidade da cadeia;

2 – se a bigorna e a supraestrutura do estribo estiverem erodadas;

3 – se a cabeça do martelo e a bigorna estiverem ausentes e a supraestrutura do estribo estiver erodada.

Quanto às complicações pré-operatórias, Saleh e Mills (1999) classificaram a otite média crônica colesteatomatosa como:

C0 – quando não há complicações;

C1 – para a ocorrência de uma complicação;

C2 – para a existência de duas ou mais.

Como complicações, os autores consideram a fístula do canal semi-circular lateral, a paralisia facial, a perda auditiva sensorineural total, a trombose do seio e a invasão intracraniana.

Um profundo entendimento sobre a patogênese do colesteatoma da orelha média é particularmente importante, visto que sua natureza destrutiva é responsável por muitas das complicações referidas. A tendência de erosão óssea dos colesteatomas e a falta de um tratamento não-cirúrgico justificam a importância da investigação dos mecanismos básicos relacionados ao desenvolvimento da otite média crônica colesteatomatosa.

### 1.5 Etiopatogênese

Ferlito (1997) descreve que seriam necessárias três condições predisponentes para o desenvolvimento de um colesteatoma: a) o encontro de dois epitélios diferentes na fenda auditiva; b) a destruição crônica da camada submucosa da orelha média pelos processos infeccioso e inflamatório; c) o processo de cicatrização ou fase de proliferação.

Porém, a etiopatogênese dos colesteatomas é ainda muito discutida, havendo, basicamente, seis hipóteses principais (Quadro 1), as quais geram controvérsia há mais de 100 anos.

**Quadro 1:** Principais hipóteses para a etiopatogênese dos colesteatomas

Hipótese	Autor	Ano
Colesteatomas congênitos	Korner e Virchow	1863
Metaplasia	Wendt	1873
Migração	Habermann Bezold	1889 1889
Invaginação	Bezold	1908
Hiperplasia	Manasse	1917
Implantação	Schöer	1958

Existem diversos estudos a respeito da patogênese dos colesteatomas, porém ainda resta muito a ser esclarecido (Sculerati e Bluestone, 1989). Conforme observações no AOMC-HCPA, e vários trabalhos deste grupo (Dornelles e col., 2002; Dornelles e col., 2003; Dornelles e col., 2004a; Hemb e col., 2003; Schweiger e col., 2003; Matter e col., 2003; Schmidt e col., 2002; Scheibe e col., 2002), essas hipóteses, individualmente, não explicariam a patogênese de todos os colesteatomas.

É inequívoca a existência de colesteatomas congênitos e o surgimento de colesteatomas por invaginação e por implantação, mas essas situações, não poderiam ser responsáveis por todos os casos de OMCC. Acreditamos que a patogênese dos colesteatomas, na verdade, envolveria várias dessas hipóteses agregadas (Quadro 1), podendo haver a interposição de duas ou mais delas em um mesmo paciente.

Em consequência dessa constatação, parece-nos que a hipótese do *continuum*, postulada pelo Dr. Michael Paparella, em 1970, aproxima-se de uma concepção multifatorial, mais abrangente de patogênese. Segundo essa, a otite média pareceria existir ao longo de uma série contínua de eventos epiteliais e subepiteliais, onde, após um insulto inicial, uma otite serosa ou purulenta tornar-se-ia seromucóide, mucóide e, finalmente, caso não houvesse regressão espontânea ou terapêutica do quadro, sobreviria a cronificação. Podemos dizer, baseados nessa hipótese, que o colesteatoma é a apoteose de uma única patologia da orelha média, a otite média crônica, e não, portanto, um evento isolado.

## **1.6 Estrutura**

O colesteatoma, macroscopicamente, é uma lesão cística redonda ou oval com configuração e tamanho variáveis. Ferlito e col. (1997) caracterizaram o colesteatoma como um cisto epidermóide, de crescimento independente e progressivo, com destruição dos tecidos adjacentes, em especial o tecido ósseo, com tendência a recorrer.

O advento da microscopia eletrônica de transmissão possibilitou muitos avanços no conhecimento da estrutura celular. Utilizando esse instrumento, em 1972, Lim e Saunders apresentaram uma descrição histológica detalhada dos colesteatomas. Descreveram 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, contendo fibras colágenas, fibrócitos e células inflamatórias, que foi denominado de perimatriz, a qual estava em contato, na maioria dos casos, com uma camada de células escamosas ou cilíndricas ciliadas, remanescentes da mucosa original da orelha média. Em alguns casos, apesar de a perimatriz estar ausente à microscopia óptica, fazia-se 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. Já em trabalho realizado por Paludetti e col. (1989), a perimatriz consistia de tecido de granulação ou tecido conectivo subepitelial inflamado.

Segundo Milewski e col. (1998b), o crescimento de um colesteatoma poderia requerer angiogênese no tecido conjuntivo da perimatriz, e que, células e substâncias da cascata de cicatrização poderiam ter um importante papel no desenvolvimento e crescimento dos colesteatomas. Esses processos envolveriam o fator de crescimento fibroblástico b (b-FGF), o qual, segundo esses autores, poderia estimular a produção de colagenase. Sugeriram, ainda, que a persistência da inflamação causaria um processo permanente de cicatrização na perimatriz, a proliferação de fibroblastos (tecido de granulação) e do epitélio (matriz).

Ferlito e col. (1997) descrevem a perimatriz como a porção mais periférica do colesteatoma, constituída de tecido de granulação ou tecido conjuntivo subepitelial inflamatório, com linfócitos, histiócitos e neutrófilos. Spretelsen e col. (2001) afirmam que a matriz e a perimatriz, em tecidos normais ou patológicos, são formadas por colágeno tipo IV,

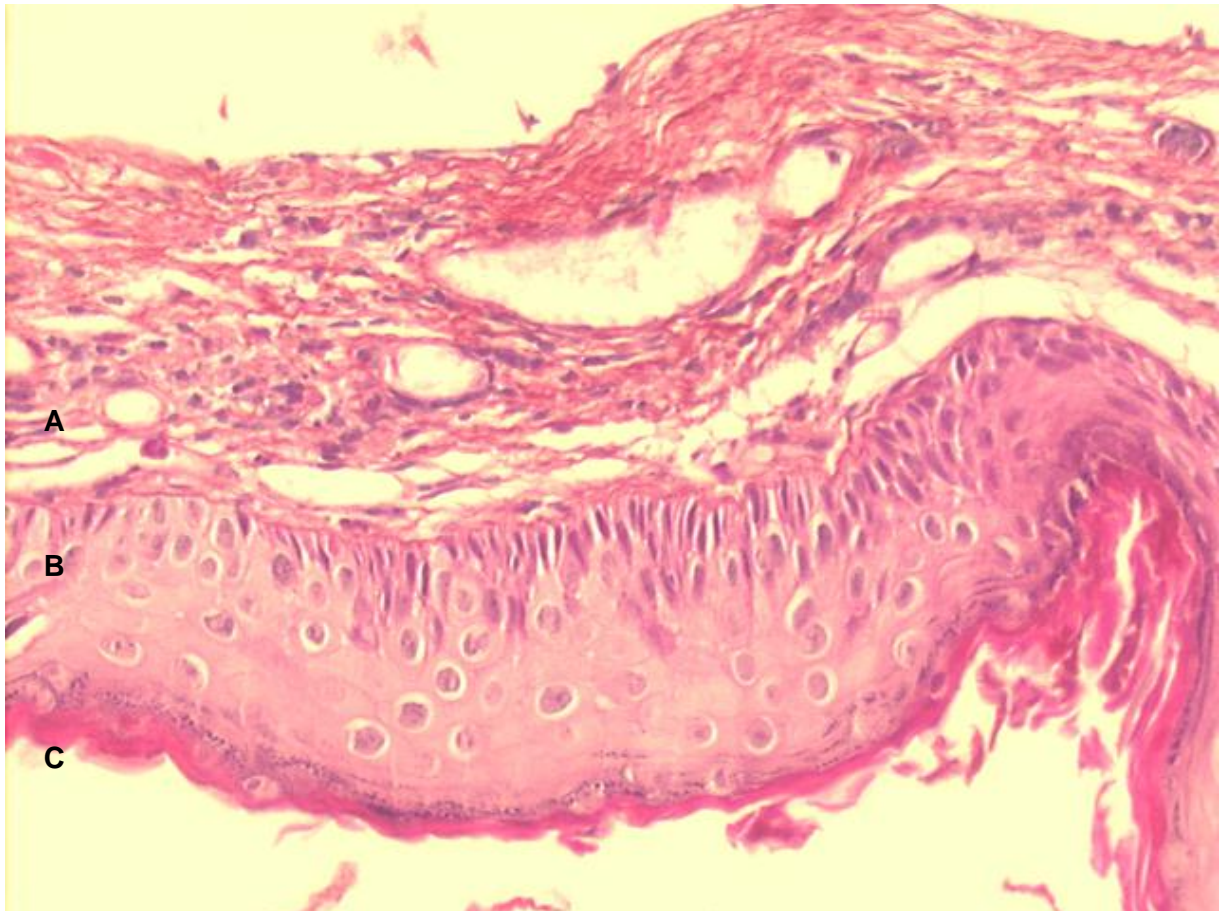
tenascina, fibronectina, b-FGF e metaloproteinases (MMP). Segundo Jacob e col. (2001), o incremento na proliferação da matriz do colesteatoma seria resultado do processo de inflamação, sugerindo que a perimatriz seria o principal fator do desenvolvimento dos colesteatomas.

Resumidamente, podemos definir a perimatriz como uma rede inflamatória que envolve o colesteatoma. A Figura 1, a seguir, apresenta um corte histológico de um colesteatoma, onde podemos ver seus componentes estruturais: a perimatriz, a matriz e o conteúdo cístico.

Pereira e col. (2002), estudando 31 colesteatomas, sendo 20 de adultos e 11 de crianças, encontraram nove espécimes sem perimatriz, visível à microscopia óptica, sendo dois de adultos e sete pediátricos. Estes achados corroboram com os de Lim e Saunders (1972), os quais constataram que algumas perimatrizes só podem ser vistas em microscopia eletrônica. Estes autores sugerem que uma possível causa dessa diminuição das fibras de colágeno poderia ser resultado de uma ação diferencial das colagenases.

Hamsei e col. (2003) analisaram 21 colesteatomas, através de reação em cadeia de polimerase (PCR), imunohistoquímica e histologia, com o objetivo de investigar os fatores de estimulação e diferenciação de osteoclastos em colesteatomas, utilizando pele do meato acústico externo como controle. A análise imunohistoquímica demonstrou uma elevação de células precursoras de osteoclastos e macrófagos nos colesteatomas. A análise da perimatriz demonstrou que, nesta região do colesteatoma, há todos os fatores necessários para a osteoclastogênese e para a estimulação da reabsorção óssea.





**Figura 1:** Imagem digitalizada de lâmina, com corte transversal de colesteatoma, corada em Hematoxilina-Eosina. Podemos ver suas três partes constituintes: A – perimatriz, B – matriz, C – conteúdo cístico. Aumento: 200x

### 1.7 Biologia do Colesteatoma

O estudo das células, em microscopia óptica e eletrônica, pode dar a impressão enganosa de que essas são estruturas estáticas. Porém, ao contrário, muitos processos e movimentos estão constantemente acontecendo na intimidade celular, ocorrendo em alguns tecidos de forma mais rápida, em outros mais vagarosa. É fácil compreender que, à medida que as células vão se diferenciando, paralelamente vão adquirindo certas particularidades estruturais e fisiológicas.

Os epitélios são tecidos com vida limitada, com renovação constante, decorrente de uma atividade mitótica contínua. A velocidade dessa reposição celular é variável, podendo ser de dois a 50 dias, dependendo do tecido considerado (Junqueira e Carneiro, 1985).

Já o tecido conjuntivo, constituinte da perimatriz do colesteatoma, apresenta um processo de crescimento mais complexo, pois é formado por diversos tipos de células – fibroblastos, macrófagos, mastócitos, plasmócitos, leucócitos – separadas por abundante material intercelular. A riqueza desse material é uma das suas características mais importantes. Constitui-se por uma parte com estrutura microscópica definida – fibras do conjuntivo – e por outra não estruturada – substância fundamental amorfa (Junqueira e Carneiro, 1985). Por toda essa complexidade, é de esperarmos que o processo de renovação deste tecido seja bastante elaborado.

A otite média crônica colesteatomatosa poderia ser resultado de um descontrole da proliferação celular, mais simplesmente, nessa doença há o crescimento de um cisto de epitélio escamoso queratinizado, o colesteatoma (Ferlito e col., 1997). Este poderia ser considerado como uma desordem no controle do crescimento celular, compreendendo uma série de complexos e dinâmicos eventos envolvendo componentes celulares e extracelulares com alterações em seu comportamento biológico, como desregulação dos queratinócitos (Vennix e col., 1996), os quais apresentam um crescimento hiperproliferativo e alterações na diferenciação celular. Porém, não se sabe ao certo se esse descontrole é causado por defeitos em genes que controlam a proliferação, por citocinas liberadas de células inflamatórias ou por outros mecanismos ainda desconhecidos (Cruz e Costa, 1999). Sendo assim, determinar a existência de defeitos na sua biologia, bioquímica e genética é crítico para o conhecimento da sua patogênese.

Conforme descrito anteriormente, a capacidade de invasão, migração, alteração na diferenciação, proliferação e recorrência dos colesteatomas é muito similar às neoplasias, porém há relutância, entre os pesquisadores, em aceitar o enquadramento dos colesteatomas nessa categoria (Desloge e col., 1997a; Albino e col., 1998a). Para os colesteatomas serem considerados uma lesão neoplásica é necessário a evidência de

instabilidade genética; esta pode ser manifestada através de alterações no DNA ou de anormalidades cromossômicas específicas. Em 1995, Shinoda e Huang detectaram a proteína p53 em colesteatomas, sugerindo que estes poderiam ser tumorais. Porém, Desloge e col. (1997a) demonstraram não haver alterações no DNA, descartando, assim, essa hipótese.

Como as pesquisas citadas não indicam nenhuma instabilidade genética dessas lesões, devemos investigar uma outra possível razão para o desenvolvimento da OMCC, sendo necessário perguntar sobre a origem do epitélio escamoso queratinizado nos colesteatomas. Para estudar essa questão, muitas investigações utilizando análise imunohistoquímica têm sido realizadas para comparar a localização de marcadores de diferenciação nos colesteatomas e na pele do canal auditivo externo. Pelas propriedades apresentadas pelas citoqueratinas, essas têm sido consideradas, por muitos investigadores (Bujia e col., 1993; Kuijpers e col., 1996; Vernix e col., 1996), como um dos melhores instrumentos para este propósito.

As citoqueratinas são proteínas que constituem uma das duas categorias de filamentos intermediários, localizados no citoplasma das células epiteliais; possuem vinte subclasses, sendo sua expressão dependente do tipo de epitélio e do seu estágio de diferenciação (Moll e col., 1982). Pereira (1997), Albino e col. (1998b) e Kim e Chung (1999) relatam que a matriz dos colesteatomas expressa citoqueratina 16 (CK16) nas camadas suprabasais, sendo que a expressão deste filamento protéico é característica de epitélios hiperproliferativos. Lepercque e col. (1993) descrevem que a CK16 não aparece no epitélio normal, a não ser em áreas sob pressão e atrito, ou no epitélio de revestimento dos folículos pilosos. Segundo Broekaert e col. (1992), a CK16 é expressa em regiões específicas, como o anel timpânico e as regiões medial e inferior do meato acústico externo. Pereira e col. (2002) afirmam que o colesteatoma possui um padrão de citoqueratinas semelhante à do meato acústico externo e à da camada epitelial da membrana timpânica. A presença de CK16 na matriz do colesteatoma poderia indicar seu comportamento hiperproliferativo, semelhante ao de doenças epidérmicas hiperproliferativas, mesmo que o aspecto

histológico do colesteatoma seja igual ao da epiderme normal. De acordo com Albino e col. (1998b), o colesteatoma forma-se como decorrência da tentativa de reparar uma lesão, o que poderia explicar a presença de CK16, caracterizando este epitélio como imaturo com predomínio de proliferação celular. Kujipers e col. (1996) analisaram o padrão de citoqueratinas e sugeriram que a matriz do colesteatoma não é resultado de uma mudança metaplásica. Em seu estudo, encontraram um epitélio semelhante ao da membrana timpânica e ao da pele do canal auditivo externo, mas em diferentes estágios de proliferação, dependendo do grau de inflamação presente.

Um sinal característico dos colesteatomas é a infiltração da perimatriz por células do sistema imune. Piltcher (2000), em sua tese sobre citocinas na otite média crônica com efusão, afirma que, além dos já conhecidos fatores de risco, como a disfunção tubária e as infecções, muitas pesquisas sobre otite média têm-se direcionado ao estudo dos diferentes componentes da resposta inflamatória. O ponto fundamental é se a inflamação deve ser considerada apenas como um processo de defesa ou se ela tem papel na perpetuação da otite média crônica colesteatomatosa. Milewski (1998a) sugeriu que as citocinas inflamatórias, os fibroblastos e os macrófagos seriam os responsáveis pela origem, crescimento e destruição óssea dos colesteatomas. Várias citocinas e fatores de crescimento poderiam estar envolvidos no mecanismo de proliferação e desenvolvimento do epitélio do colesteatoma (Aumente e col., 1996; Bujia e col., 1996b). Tomita (2000) afirma que existem várias hipóteses de que os fatores de crescimento e as citocinas, presentes nos colesteatomas, induzam a ativação de genes, como o *c-myc*, causando a desregulação da proliferação celular. Sudhoff e colaboradores (1997) investigaram a distribuição e expressão do fator de crescimento tumoral (TGF-alfa), do fator de crescimento epitelial (EGF-R) e do oncogene *c-myc* em células epiteliais normais da orelha média e em colesteatomas. Estes fatores foram encontrados na matriz de colesteatomas, porém não em células normais. Além da regulação autócrina do epitélio, pela produção de fator de crescimento epitelial (EGF), a hiperproliferação do colesteatoma poderia depender da interação do tecido subepitelial e das mudanças inflamatórias que ocorrem nessa doença. Sudhoff e col.

(2000b) investigaram a expressão e localização dos fatores de crescimento na angiogênese em 22 colesteatomas, em comparação à epiderme normal do canal auditivo externo (8) e à mucosa de orelha média normal (5), para identificar alguns fatores de crescimento envolvidos na patogênese dos colesteatomas. Esses pesquisadores encontraram, na pele e na mucosa normais,  $5,3 \pm 1,2$  vasos/ $\text{mm}^2$ , enquanto que no grupo dos colesteatomas havia  $21,1 \pm 11,7$  vasos/ $\text{mm}^2$ , essa média variou conforme o grau de inflamação na perimatriz:  $9,0 \pm 3,5$  vasos/ $\text{mm}^2$  em grau I,  $19,2 \pm 3,6$  vasos/ $\text{mm}^2$  em grau II e  $31,7 \pm 9,4$  vasos/ $\text{mm}^2$  em grau III. Também relataram uma diminuição do colágeno tipo IV e da laminina na membrana basal no colesteatoma, em comparação aos controles.

Uma característica comum na patogênese dos vários tipos de colesteatomas é a presença de bactérias. A presença de bactérias poderia promover um vínculo crítico entre o colesteatoma e o hospedeiro, impedindo que o epitélio neoformado concluísse o seu processo de diferenciação, o que o deixaria em um estado quiescente, minimamente proliferativo, sem ser migratório ou invasivo nessa etapa (Chole e Faddis, 2002). As interações entre células inflamatórias e o epitélio do colesteatoma poderiam ser responsáveis pela indução das características biológicas aberrantes dessa doença.

Chole e Faddis (2002) estudaram, por microscopia eletrônica de transmissão, 24 colesteatomas humanos e 22 de esquilo da Mongólia (gerbil). Das amostras provenientes de humanos, 16 apresentaram achados histológicos consistentes com bactérias em biofilme, enquanto no material de gerbil, 21 mostraram evidências dessa forma. Esse achado poderia estar relacionado com a atividade dos colesteatomas, principalmente com as infecções persistentes ou recorrentes e com sua resistência aos antimicrobianos tópicos e sistêmicos. Os autores sugeriram que a matriz do colesteatoma é um meio ideal para o desenvolvimento de um misto de biofilme microbiológico. Estes autores afirmam, ainda, que as bactérias com biofilme são resistentes a antibióticos por mecanismos diferentes dos usados por bactérias planctônicas, porém o exato mecanismo de resistência das colônias de bactérias em biofilme é desconhecido.

Os estudos publicados até agora apresentam muitos dados a respeito da biologia dos colesteatomas, porém muitas dúvidas persistem. Como anteriormente referido, os colesteatomas apresentam características neoplásicas (invasão, migração, alteração na diferenciação), mas, até o momento, não foi encontrada nenhuma indicação de instabilidades genéticas na sua estrutura, fato que descarta a possibilidade de enquadrá-los como neoplasia. Outra propriedade que parece constante nos colesteatomas é a sua atividade hiperproliferativa, residindo aqui, talvez, uma possível resposta para suas características de agressividade e crescimento descontrolado. Além desse fato, os estímulos da resposta imune, representados pelas citocinas relacionadas às células inflamatórias da perimatriz, representam um forte candidato ao papel de ator principal desta trama intrincada de mecanismos. Todas essas hipóteses levam-nos a considerar a complexidade envolvida na biologia dos colesteatomas e, conseqüentemente, ao emaranhado de eventos relacionados a sua patogênese.

### **1.8 Poder de Erosão Óssea**

Os colesteatomas apresentam grande poder de erosão óssea (Sadé e Halevy, 1974; Bretlau e col., 1982). Usualmente atingem a cadeia ossicular e, menos freqüentemente, os ossos do crânio, inclusive o osso mais rígido do corpo humano, a cápsula ótica, 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 na otite média crônica não-colesteatomatosa há erosão da cadeia ossicular em aproximadamente 20% dos casos (Chole, 1997; Costa, 1991). Os mecanismos que levam a esse aumento na degradação óssea e invasão ainda estão em investigação (Dornelles e col., 2002).

Conforme Fisch (1984), as complicações causadas pelos colesteatomas podem ser divididas em dois grupos: as intracraniais – meningites, abscessos e trombose do seio

venoso – e as do osso temporal – mastoidite, fístula labiríntica, paralisia do nervo facial, labirintites e destruição ossicular.

Sadé e Berco (1974) realizaram exame histológico em 80 ossículos, obtidos em cirurgia, sendo 41 desses provenientes de pacientes com OMCNC, e 39 de OMCC. A erosão óssea foi encontrada em 42,5% dos ossículos de pacientes sem colesteatoma e em 84% dos pacientes com colesteatoma, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,001$ ). Em estudo de Prescott (1999), foram acompanhadas 81 crianças com Otite Média Crônica Colesteatomatosa; de um total de 96 colesteatomas (15 bilaterais), havia apenas 19 cadeias ossiculares íntegras, 23 apresentavam erosão no martelo com a supraestrutura intacta, 51 com erosão no martelo e perda da supraestrutura, três não foram descritos.

Sadé e Fuchs (1994) compararam os achados da erosão ossicular em adultos (idade  $\geq 14$  anos) com aqueles achados em crianças (idade  $\leq 13$  anos). O percentual de destruição do estribo e do martelo foram similares nos dois grupos; já a bigorna apresentou destruição significativamente maior em adultos. Também a paralisia do nervo facial e a fístula labiríntica apresentaram percentual maior nos adultos. Dornelles e col. (2002) realizaram um estudo de descrições dos achados, da orelha média, no trans-operatório de 55 pacientes com Otite Média Crônica, acompanhados no AOMC-HCPA. Desses pacientes, 49% tinham diagnóstico de Otite Média Crônica Colesteatomatosa (OMCC). No conjunto da amostra, havia algum envolvimento da cadeia ossicular em 66%, sendo que, na OMCC, este índice era de 96% e na OMCNC caía para 37%. A presença de colesteatoma estava associada à existência de dois ou mais ossículos afetados, assim como à maior prevalência de ausência ou erosão dos ossículos. Esses achados indicam que a maioria dos pacientes com OMC, submetidos à intervenção cirúrgica, possui algum acometimento da cadeia ossicular, e que a frequência e a extensão do comprometimento estavam muito mais relacionados com a presença de colesteatoma. Em nosso grupo, categorizamos as idades como: crianças até 18 anos e adultos a partir de 19 anos; quando analisamos o conjunto da cadeia ossicular, observado no trans-operatório de pacientes com otite média crônica colesteatomatosa,

encontramos 100% de comprometimento nas crianças e 92% nos adultos. Quando comparamos os ossículos, separadamente, temos 30% de alterações no martelo, 30% no estribo e 90% na bigorna, sem diferenças entre adultos e crianças. Ao refazermos essa análise utilizando a mesma classificação etária de Sadé e Fuchs (1994), não foram reproduzidos os resultados desses autores, pois não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas, quando comparado o estado dos ossículos em crianças e adultos (Dornelles e col., 2002).

Segundo Swartz (1984), a destruição ossicular é a mais comum entre as complicações dos colesteatomas, sendo que o tipo de destruição depende da sua origem e do seu modo de expansão. Segundo seus dados, a cadeia ossicular está intacta em apenas 26% dos colesteatomas aticais, sendo o processo longo da bigorna a região mais afetada, seguida pelo corpo da bigorna e a cabeça do martelo. Já os colesteatomas da parte tensa apresentam um poder de erosão de 90%.

A absorção óssea é estimulada por uma variedade de fatores, incluindo a inflamação, a pressão local, citoqueratinas específicas e queratina (Olszwska e col., 2004). O conceito enzimático, no qual enzimas de origem epitelial são consideradas as responsáveis pela destruição óssea, foi definido por Abramson (1969, 1971a, 1971b e 1976), o qual demonstrou a presença de colagenases e hidrolases no colesteatoma, hipótese posteriormente confirmada por Thompsen (1977). Ken e Gordon, 1972, indicaram que a colagenase pode estar envolvida na reabsorção óssea, mas não como um fator isolado. Ferlito e col. (1997) sugeriram que a propriedade destrutiva dos colesteatomas, a erosão óssea, é causada pela produção de colagenase pelos componentes dos tecidos epitelial escamoso e fibroso. Não está bem demonstrado, ainda, se o osso mineralizado possa ser absorvido pela colagenase. À hipótese de reabsorção óssea por ação bioquímica, exclusivamente exercida por enzimas colagenolíticas, foram incorporados, posteriormente, outros agentes, como o fator de necrose tumoral (TNF), as interleucinas (IL-1 $\alpha$ ) e as prostaglandinas (PGE<sub>2</sub>) (Minotti, 1996; Kurihara, 1991; Hansen e col., 2001).



Peek e col. (2003) estudaram a concentração de lipopolissacarídeos (componente da membrana de bactérias Gram-negativas – Schorder e col., 2004) em colesteatomas e compararam com os níveis encontrados em amostras de pacientes com otite média crônica não-colesteatomatosa. Encontraram concentrações mais altas em pacientes com colesteatoma e sugeriram que estes resultados estariam correlacionados com os altos índices de absorção óssea.

### **1.9 Colágeno e Colagenase**

O colágeno é a proteína formadora das fibras colágenas, sendo a mais abundante proteína do reino animal e o principal constituinte dos ossos, peles e tecidos conectivos de todos os mamíferos. No ser humano, representa 30% do conteúdo protéico total do corpo. É sintetizado por diversos tipos de células, como os fibroblastos, osteoblastos, e condrócitos. Essa proteína tem como principal função impedir a deformação dos tecidos, mantendo sua forma estrutural. Suas fibras são responsáveis, além de outras funções, pela estrutura de tendões e ligamentos (Junqueira e Carneiro, 1985).

O nome colágeno deve-se ao fato de que, quando fervida em água, forma uma substância que pode ser usada como cola. Essas fibras são birrefringentes, brancas e constituídas por moléculas alongadas e paralelas; possuem uma estriação transversal típica, fato que possibilita sua fácil identificação nas micrografias eletrônicas (Kramer e col., 2001). A molécula de colágeno apresenta-se em forma de bastão, formado por uma tríplice hélice, com cerca de 3.000 Å de comprimento e 15 Å de diâmetro (Okuyama e col., 1981). A estabilidade dessa tríplice hélice é mantida por pontes de hidrogênio entre os filamentos e por um efeito estérico de suas prolinas e hidroxiprolinas (Berisio e col., 2002). Em condições laboratoriais, o colágeno é obtido a partir da hidrólise enzimática de matérias-primas colágenas selecionadas, onde, através de processos bioquímicos, se quebra a estrutura

original da molécula, resultando, assim, num produto completamente solúvel em água fria, sem as características geleificantes da gelatina e de sabor e odor neutros (Stryer, L., 1996).

Em otologia, materiais compostos de colágeno são utilizados como esponjas degradáveis que, depois de umedecidas, têm uma apresentação gelatinosa, sendo utilizadas como um suporte-base para os enxertos nas cirurgias, em cubos, empregadas como um legítimo colchão de apoio ao enxerto, ou em pequenas tiras ou “trilhos” (Dornelles e col., 2003).

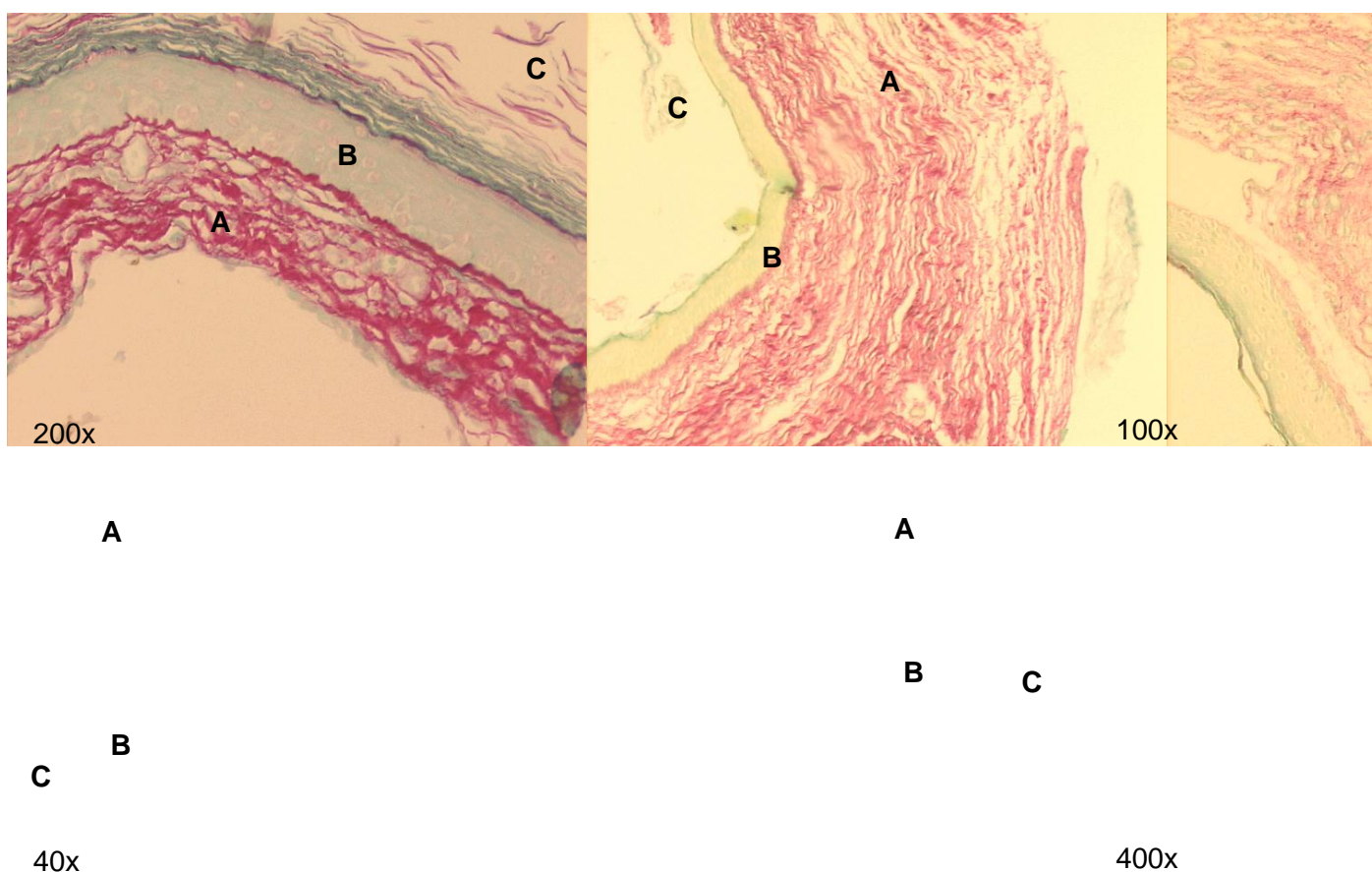
A degradação do colágeno, na matriz extracelular, é obtida por uma família de collagenases que clivam suas fibras intactas em fragmentos menores que podem ser fagocitados e, subseqüentemente, degradados por enzimas lisossômicas até seus aminoácidos constituintes (Champe e Harvey, 1996).

Wysocki e col. (1998) sugeriram que altos níveis de collagenase aumentariam a degradação de componentes moleculares essenciais ao processo cicatricial e, também, que a diminuição das collagenases e das metaloproteínas, em feridas, impediria a cronicidade das lesões e as dificuldades de cicatrização. Os fibroblastos são induzidos, pela interleucina-1 (IL1) e pela linfatóxina (TNF), a produzirem collagenases e gelatinases, as quais são mediadoras de eventos importantes de proteção e regeneração de tecidos lesados, mas que, em condições especiais, podem estar envolvidas em destruição de tecido sadio (Wysocki e col., 1998).

Como já mencionado anteriormente, o colesteatoma é um cisto epidermóide, tendo como um dos fatores de significância clínica sua associação com uma progressiva destruição óssea. A possibilidade de que o colesteatoma possua uma substância capaz da lise óssea foi sugerida por Lautensclager, em 1927. Em 1969, Abramson demonstrou a capacidade dos colesteatomas de produzirem collagenase.

A perimatriz possui, em sua composição, fibras de colágeno, além de outros elementos (Lim e Saunders, 1972). Na Figura 2, apresentamos uma imagem digital de um corte transversal de colesteatoma corado em Picrossírus, a qual cora as fibras dessa proteína em bordô (A), contrastando com a coloração verde do epitélio(B). Nessa figura,

podemos perceber a grande quantidade de colágeno na estrutura da perimatriz. Os achados de Pereira e col. (2002), relativos à menor espessura da perimatriz nos colesteatomas pediátricos, poderiam estar relacionados a atividade de collagenases, se nestes espécimes houvesse uma diminuição das fibras colágenas. Confirmando-se os achados desses autores, e confirmando-se uma maior quantidade de enzimas colagenolíticas, ou uma ação diferencial destas em crianças, estaríamos mais próximos de uma explicação sobre o porquê de o colesteatoma pediátrico poderia ser mais agressivo.



**Figura 2:** Cortes transversais de colesteatomas corados em Picrosirius.  
A – perimatriz; B – matriz; C – conteúdo cístico

### **1.10 Colesteatoma Pediátrico**

Existem referências a que o colesteatoma seria mais agressivo e teria um prognóstico menos favorável em crianças do que em adultos (Galsscock, 1981; Ruah, 1992; Bujia e col., 1996, Palva e col, 1997; Sudhoff e col, 2000a). Smythe e col. (1984) consideram, inclusive, que o comportamento clínico do colesteatoma pediátrico é tão diferente do adulto, que deveriam ser consideradas duas doenças distintas.

Quaranta e col. (1986) tentaram verificar se, em crianças, o comportamento clínico dos colesteatomas depende de características histomorfológicas da perimatriz. Compararam o número de plasmócitos, linfócitos, macrófagos, granulócitos e células gigantes na perimatriz de amostras retiradas de 30 pacientes com menos de 16 anos com as de 30 adultos, utilizados como controle. Os resultados sugeriram que, nas crianças, o número de elementos inflamatórios mononucleares da perimatriz seria maior que nos adultos, com evidente atividade da enzima colagenase. Com base nesse comportamento, os autores sugeriram que as características da perimatriz poderiam exercer um importante papel na patogênese do colesteatoma, podendo ser um dos fatores que justificaria as diferenças clínicas entre crianças e adultos.

Bujia e col. (1996) analisaram a expressão de MIB1 (anticorpo monoclonal marcador de proliferação celular) em 20 colesteatomas de crianças, tendo como controles 15 colesteatoma de adultos e pele do conduto auditivo externo. A análise imunohistoquímica mostrou índices normais na epiderme do canal, e níveis aumentados em ambas as categorias de colesteatomas. Entretanto, o número de células em proliferação foi significativamente maior no grupo pediátrico ( $P < 0,01$ ). Quando foram comparados colesteatomas infectados com não-infectados, não foi encontrada diferença significativa, sugerindo que o índice de proliferação poderia ser independente de fatores externos.

Por outro lado, Edelstein (1989) afirma que o colesteatoma infantil seria menos expansivo, o que levaria a uma incidência menor de complicações, e que os adultos seriam mais suscetíveis à paralisia facial, infecção intracraniana, fístula labiríntica e erosão

ossicular. Discordando desse autor, Darrouzet e col. (2000) sugeriram que a menor quantidade de complicações, no grupo pediátrico, poderia dever-se ao fato de que neste grupo o tempo de evolução da doença está, em média, abaixo do encontrado nos adultos.

Entretanto, é consenso entre a maioria dos autores que o colesteatoma recorrente, ou seja, o desenvolvimento de um novo colesteatoma após tratamento cirúrgico, e o colesteatoma residual, que é o originado do crescimento de partes do colesteatoma não removidas totalmente durante a cirurgia (Caldas e Caldas, 1988), são mais comuns no grupo pediátrico, sendo de 30% a taxa de recorrência média, comparada com 3% a 15% em adultos (Edelstein, 1989; Sien, 1996). Prescott (1999) acompanhou 81 crianças com Otite Média Crônica Colesteatomatosa, em uma coorte de 10 anos, encontrando um percentual de recorrência de colesteatoma foi de 12%. Já Lino e col. (1997) realizaram um estudo em 83 crianças com OMCC e encontraram 25% de recorrência, enquanto o colesteatoma residual foi diagnosticado em 42%. Estes autores sugeriram que a recorrência de colesteatomas poderia estar intimamente relacionada à disfunção da tuba auditiva e que a alta taxa de proliferação da matriz poderia ser a responsável pelos colesteatomas residuais.

Ruah e col. (1992) sugerem que a persistência do mesênquima e a grande reação inflamatória observadas na parte flácida e no quadrante pósterio-superior da parte tensa da membrana timpânica, bem como as alterações no colágeno e na elastina, observadas nas otites médias purulentas e serosas, podem representar uma justificativa patológica para o desenvolvimento típico dos colesteatomas em crianças.

### **1.11 Manejo do Colesteatoma**

O tratamento da otite média crônica colesteatomatosa é essencialmente cirúrgico. O objetivo primário é a erradicação completa da doença, proporcionando ao paciente uma orelha seca e segura de complicações. O objetivo secundário, mas não menos importante, é

a preservação ou a melhora da função do sistema timpanossicular, quando isso for possível (Costa e col., 1991).

O primeiro é cumprido através da remoção meticulosa de todo o colesteatoma (incluindo-se a matriz e a perimatriz, na técnica fechada) e dos demais tecidos doentes. Para tanto, uma variedade de técnicas cirúrgicas têm sido utilizadas, mas essas podem ser resumidas em basicamente duas, conforme a remoção ou a manutenção da parede posterior do conduto auditivo externo: as mastoidectomias aberta e fechada. Seja qual for a técnica, o segredo para o sucesso do tratamento cirúrgico é a erradicação completa da doença. A seleção do procedimento é baseada no tipo, no grau e na extensão do colesteatoma; na avaliação auditiva pré-operatória; na existência ou não de complicações associadas; no estado da orelha contralateral; em conjunto com a função da tuba auditiva e grau de pneumatização da mastóide. Essa escolha também dependerá das condições gerais do paciente, da sua idade, da sua procedência e da sua profissão (Cruz e Costa, 1999).

A técnica aberta poderia ser mais segura quanto à erradicação e à prevenção da recidiva, porém não possibilita a manutenção da anatomia e, por vezes, do nível de audição pré-operatória (Hartwein e col., 1990). Não devemos esquecer que essa abordagem cria uma cavidade que irá requerer um acompanhamento médico minucioso e longo, além de demandar, em geral, cuidados por toda a vida do paciente, sendo um fator limitante para alguns esportes como natação e mergulho (Ahn e col, 2003). Porém, a técnica aberta, quando comparada com a técnica fechada, apresenta uma menor incidência de colesteatoma residual (Paparella e col., 1988), não obstante essa taxa mostrar grande variação nos relatos de diversos autores (Sheehy e col., 1977; Shambaugh, 1959; Brandow, 1980; Schuknecht, 1976; Glasscock, 1977; Smyth, 1976). Em todos os estudos, mostra-se sempre maior em crianças (Quadros 2 e 3, a seguir).

**Quadro 2:** Frequência de colesteatoma residuais e recorrente, estratificados pela técnica cirúrgica conforme apresentados na literatura

Autor	Orelhas	Colesteatoma Residual (%)		Colesteatoma Recorrente (%)	
		Tec. Fechada	Tec. Aberta	Tec. Fechada	Tec. Aberta
Mutlu e col.	83	38	----	11	----
Sanna e col.	151	40	50	11	25
Schmid e col.	57	24	7	12	7
Glasscock e col.	43	23	----	23	----
Lau e Tos	137	12	12	6	10
Schuring e col.	88	40-49	----	24-27	----
Sheehy	181	36	----	----	----
Edelstein e col.	127	8	8	3	3
Mills a Padgham	57	----	6	----	----
Magnan e col.	210	26	----	19	----
Triglia e col.	80	41	35	16	8
Desaulty e col.	80	63	----	7	----
Roger e col.	199	54	72	19	----
Lerosey e col.	57	26	28	12	12
Dodson e col.	66	19	12	22	0
Charachon e col.	160	31	38	20	----
Darrouzet e col.	215	20	24	9	19

Adaptado de Darrouzet e col., 2000.

**Quadro 3:** Incidência de colesteatomas residuais e recorrentes, estratificados por grupo etário, conforme apresentados na literatura

Autor	Crianças	Adultos
Charachon e col.	51	23
Glasscock e col.	46	27
Magnan e col.	45	24
Sanna e col.	55	24
Schuring e col.	70	44
Vartiainen e Nuutinen	15	7

Adaptado de Darrouzet e col., 2000.

Desde o primeiro relato da técnica de mastoidectomia, em 1649, por Riolanus, até os dias atuais, essa cirurgia passou por uma evolução gradual, auxiliada por pesquisas nesse campo e pelo desenvolvimento tecnológico. Entretanto, o manejo cirúrgico dos

colestatomas em crianças permanece sendo a principal controvérsia entre os otologistas (Edelstein e col., 1988; Quaranta e col., 1988; Mutlu e col.,1993). Para a definição da melhor estratégia terapêutica, principalmente neste grupo especial de pacientes, é necessário considerarmos muitos fatores tais como a erradicação total da doença e a preservação da função auditiva; para a decisão definitiva, estas devem ser colocadas em uma balança e muito bem equilibradas. O ponto crucial da questão é que, até o momento, não foram encontradas diferenças histológicas ou bioquímicas, entre os colestatomas nas diferentes faixas etárias, que confirmem ou não a maior agressividade da otite média crônica colestatomatosa na infância, fato que poderia justificar o emprego de técnicas cirúrgicas menos conservadoras.



## **PARTE II – A PESQUISA**

## **2 - Justificativa**

Existem controvérsias quanto às características clínicas dos colesteatomas pediátricos. Alguns autores sugerem que, na infância, a otite média crônica colesteatomatosa seria mais agressiva e teria um prognóstico menos favorável do que em adultos (Galsscock, 1981; Ruah, 1992; Bujia e col., 1996, Palva e col, 1997; Sudhoff e col, 2000a). Porém, ainda não há achados histológicos conclusivos que confirmem essa hipótese. A comparação histológica dos colesteatomas, em especial da perimatriz, entre pacientes pediátricos e adultos, poderá acrescentar subsídios para a determinação da maior agressividade ou não da OMCC em crianças.

### **3 - Objetivos**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Descrever, histologicamente, a perimatriz dos colesteatomas adquiridos de crianças e adultos vistos à microscopia óptica.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- 1 - Correlacionar a espessura da perimatriz, medida em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ), com a idade do paciente na data da cirurgia.
- 2 - Correlacionar a espessura da perimatriz, medida em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ), com o número médio de camadas celulares da matriz.
- 3 - Correlacionar a espessura da perimatriz, medida em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ), com grau histológico de inflamação.

## **4 - Métodos**

### **4.1 Delineamento**

Estudo transversal, comparativo e contemporâneo, onde o fator em estudo foram os colesteatomas, e o desfecho foram os componentes histológicos da perimatriz, em especial sua espessura.

### **4.2 Pacientes**

Os pacientes incluídos neste estudo foram provenientes do Ambulatório de Otite Média Crônica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (AOMC-HCPA), não havendo discriminação quanto a sexo e etnia. Os pacientes foram separados em dois grupos: pediátrico, constituídos por pacientes na faixa entre 0 e 18 anos, 11 meses e 30 dias; e adulto, com pacientes a partir de 19 anos (conforme a Convenção das Nações Unidas sobre os Direitos da Criança, 1989), sendo considerada a idade do paciente à data da cirurgia.

No AOMC-HCPA, na primeira consulta, foram coletados: dados básicos de identificação (nome, sexo, data de nascimento, data da consulta, número do prontuário, telefone de contato) e motivo do encaminhamento para o Serviço de Otorrinolaringologia. Foi realizada anamnese dirigida, acumetria com diapasão de 512 Hz, teste de Rinne, teste

de Weber e otoscopia das duas orelhas. No Anexo 3, encontra-se o modelo do protocolo de primeira consulta do AOMC-HCPA.

Ainda nessa consulta inicial, foi realizada uma filmagem das duas orelhas para análise das doenças, discussão da patogênese e arquivo. Essas imagens foram captadas através do *Vídeo Digital Recorder* e armazenadas em CD.

Conforme a rotina do Serviço de Otorrinolaringologia e a disponibilidade de horários, os pacientes foram encaminhados para cirurgia.

### **4.3 Processo de Amostragem**

#### **4.3.1 Cálculo do Tamanho da Amostra**

Como não foram encontrados trabalhos similares em nossa revisão da bibliografia especializada, tornou-se necessária a realização de um teste piloto com o objetivo de definir o tamanho da amostra, utilizando como variável em estudo a espessura da perimatriz. O teste piloto foi realizado com 11 amostras, seis de crianças e cinco de adultos.

Com base no teste piloto e considerando-se  $\alpha = 0,05$ ,  $\beta = 0,10$  e um tamanho de efeito padronizado de 0,90, foi calculado um número total de 38 pacientes, sendo 19 de cada grupo. Este tamanho de amostra é suficiente para encontrar uma correlação igual ou maior que 0,50, entre a idade do paciente à data da cirurgia e a espessura da perimatriz.

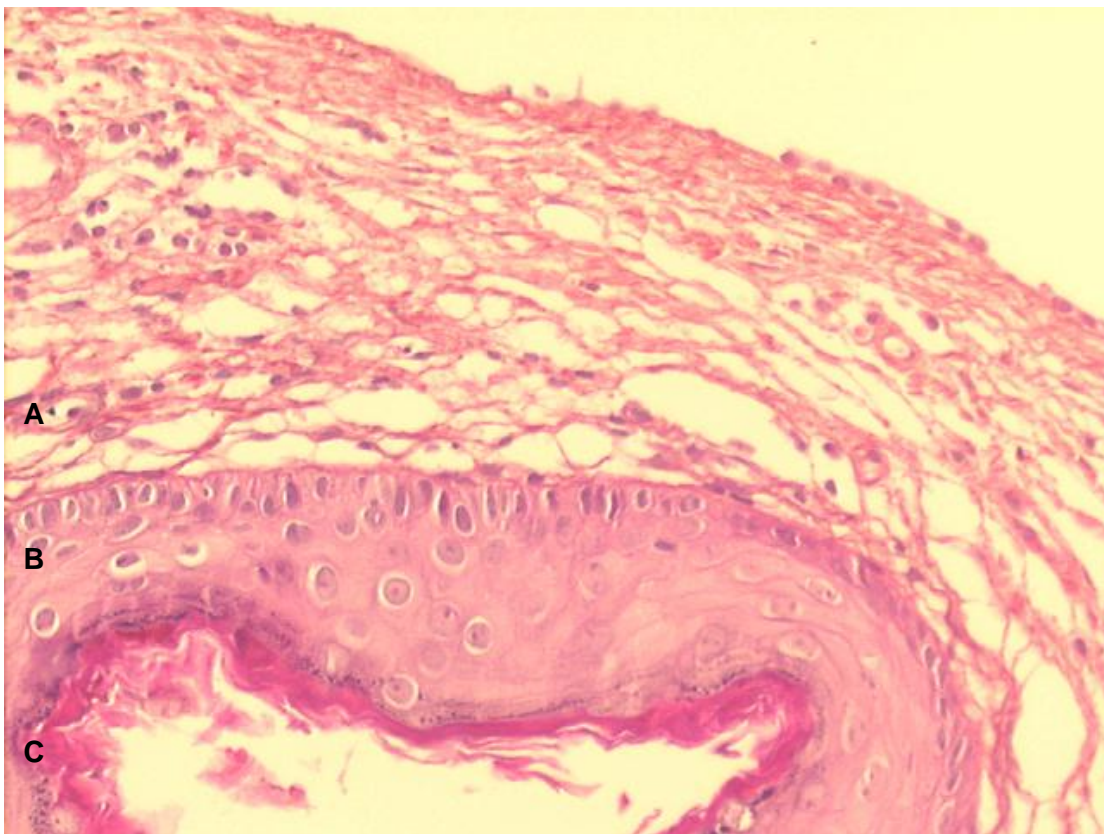
#### **4.3.2 Critérios de Inclusão**

A inclusão dos pacientes neste estudo obedeceu dois critérios:

1. Diagnóstico de Otite Média Crônica Colesteatomatosa

2. Presença histológica de matriz e perimatriz no colesteatoma coletado.

Para auxiliar o entendimento do segundo critério de inclusão, caso clássico de representação histológica da presença de matriz e perimatriz no material processado pode ser visto na Figura 3, a seguir. Em A, vê-se a perimatriz constituída por tecido conjuntivo subepitelial, contendo fibras colágenas, elásticas, fibroblastos e células inflamatórias. A matriz está identificada pela letra B, sendo um epitélio semelhante ao da epiderme da pele normal. O conteúdo cístico, formado por queratina, é visualizado na região identificada com C.



**Figura 3:** Imagem digitalizada de lâmina, com corte transversal de colesteatoma, corada em Hematoxilina-Eosina. Podemos ver suas três partes constituintes: A – perimatriz, B – matriz, C – conteúdo cístico. Aumento: 100x

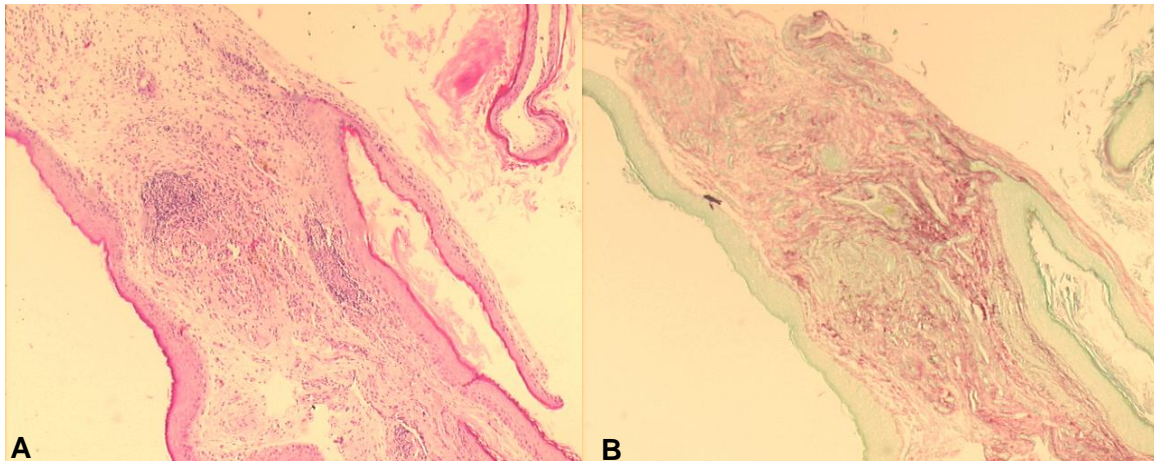
#### **4.3.3 Critério de Exclusão**

Foi critério de exclusão o diagnóstico de colesteatoma congênito.

#### **4.4 Colesteatomas**

Os colesteatomas foram coletados, no período de maio de 2003 a julho de 2004, pelo cirurgião otorrinolaringologista em locais específicos da orelha média, sendo eles no mesotímpano, no ático e sobre o canal semicircular lateral. Estes locais foram selecionados para tentar garantir que as amostras coletadas, as quais deveriam ter no mínimo 5 milímetros, tivessem matriz e perimatriz. O material coletado foi imediatamente fixado em formol a 10% e posteriormente processado pelas técnicas histológicas habituais, com inclusão em parafina.

Foram preparadas duas lâminas para análise morfológicas de cada amostra de colesteatoma. As lâminas foram coradas em Hematoxilina-Eosina (HE) e Picrossírius (Sirius Red) e analisadas em microscópio óptico (Figura 4). A coloração em HE foi utilizada para as descrições histológicas dos componentes dos colesteatomas; já a de Picrossírius serviu para a medição da espessura da perimatriz, pois nela as fibras de colágenos coram-se em bordô, o que facilita a delimitação do campo a ser medido.



**Figura 4:** Nessa imagem podemos ver a mesma amostra corada em HE (A) e Picrosirius (B). Notar que o contraste obtido na segunda coloração é bem maior. Aumento: 40x

#### 4.5 Descrição Histológica

Todas as descrições foram realizadas pela mesma patologista, de maneira “cega”, sendo observados os seguintes constituintes: número médio de camadas celulares da matriz, 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 dessas, em cinco campos diferentes, e coletado de maneira contínua. Os dados de hiperplasia na matriz, o epitélio delimitante da perimatriz, fibrose e granuloma na perimatriz foram coletados de maneira qualitativa do tipo sim ou não. Para o grau, utilizou-se uma escala ordinal, com os valores de zero a três, sendo 0 = ausente, 1 = mínimo, 2 = moderado e 3 = acentuado, os quais foram caracterizados pela intensidade da permeação da perimatriz por linfócitos, neutrófilos, plasmócitos e macrófagos (Baak, 1991; Pereira e col., 2002).

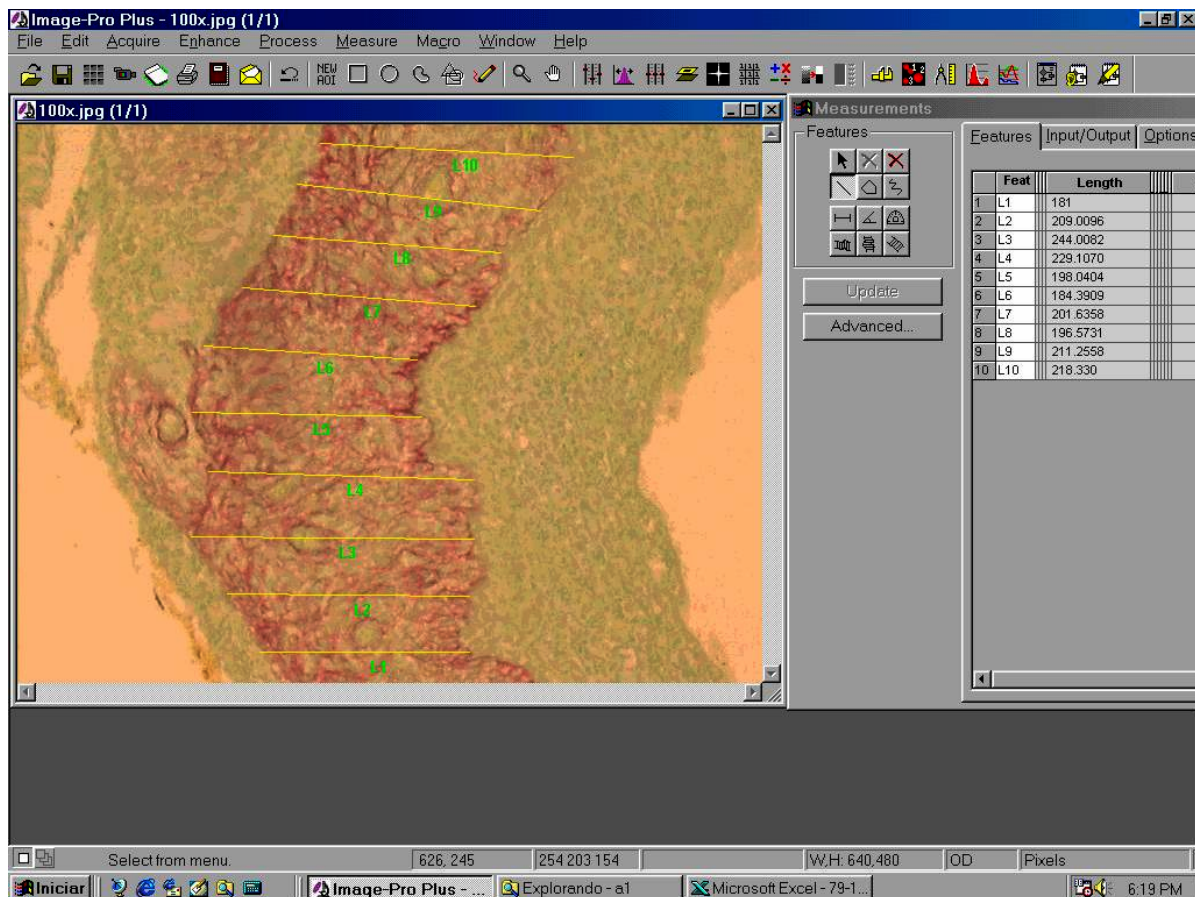
O método de medida da espessura da perimatriz será descrito no próximo item.



#### 4.6 Medição da Perimatriz

As lâminas com cortes transversais de colesteatoma foram analisadas no microscópio Olympus modelo BX40, acoplado a uma câmera digital Sony, conectada a um microcomputador com placa de captura de imagens, para a obtenção das imagens digitais do material. A leitura foi “cega” e controlada pela pesquisadora.

A espessura da perimatriz, medida em micrômetros, foi obtida através de análise de imagens computadorizadas, utilizando-se o *software ImagePro Plus* (Figura 5, a seguir).



**Figura 5:** Imagem capturada no programa *ImagePro Plus*, representando o módulo de medição. Aumento: 100x

De cada amostra foram realizadas 20 medidas da espessura da perimatriz. Dessas medidas, foi obtida a média, a mediana, o tamanho mínimo, o tamanho máximo, o delta

(tamanho máximo – tamanho mínimo) e a soma, sendo esses os parâmetros utilizados para as comparações entre os grupos.

Para a obtenção das 20 medidas de espessura, a lâmina foi percorrida em toda a sua extensão, sendo digitalizadas quantas imagens fossem necessárias para retratarmos a variabilidade intrapacientes.

Os dados coletados foram registrados em planilhas do aplicativo *Excel*.

#### **4.7 Considerações Éticas**

Foi obtido Termo de Consentimento Livre Informado (Anexo 4) para a utilização anônima dos dados dos pacientes e para coleta do material em cirurgia. A obtenção ou não do consentimento informado não influenciou o tratamento dos pacientes. Este projeto foi aprovado, quanto às questões éticas e metodológicas, pelo Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA, em outubro de 2002 (Anexo 5).

#### **4.8 Análise Estatística**

A comparação entre os grupos foi realizada através dos testes de qui-quadrado e t de Student. Para verificar a existência de correlação, foram utilizados os coeficientes de correlação de Pearson e de Spearman. A análise estatística foi executada no *software Statistical Package for Social Science (SPSS) 10.0 for Windows*.

1) Coeficiente de correlação de Spearman: Foi utilizado para o estudo das correlações entre duas variáveis contínuas, comparando-se a variável idade com a média, a mediana, o tamanho mínimo, o tamanho máximo, o delta e a soma das

espessuras da perimatriz. Também foi utilizado para verificar a existência de correlação entre o grau de inflamação e as variáveis sumarizadoras da espessura da perimatriz.

2) Coeficiente de correlação de Pearson: Foi utilizado para o estudo das correlações entre duas variáveis contínuas, comparando-se a variável idade com o grau histológico de inflamação e com o número médio de camadas celulares da matriz.

3) Teste de t de Student: Foi utilizado para testar a homogeneidade dos dois grupos em relação ao número médio de camadas celulares da matriz.

4) Teste de  $\chi^2$ : Foi utilizado para testar a homogeneidade dos dois grupos em relação às variáveis hiperplasia na matriz, fibrose, granuloma e epitélio delimitante da perimatriz.

A análise descritiva da idade foi realizada por meio da observação do cálculo de médias e desvios-padrão. Para a variável gênero, foi calculada a frequência absoluta.

Todos os testes foram realizados na forma bi-caudal, admitindo-se como estatisticamente significativos os valores de P menores que 0,05.

## 5 - Resultados

### 5.1 Dados Epidemiológicos

Foram estudados 69 pacientes, cinco com doença bilateral (74 colesteatomas), porém 17 não foram incluídos: 14 porque não havia presença de matriz nem perimatriz na amostra processada, apresentando, portanto, somente queratina na lâmina vista ao microscópio óptico; os outros três, apesar de apresentarem matriz e perimatriz na amostra, estavam rompidos, fato que impossibilitou a realização de suas medidas com precisão. No grupo de pacientes excluídos tivemos sete com idade até 18 anos, com média  $\pm$  desvio-padrão igual a  $12,92 \pm 3,77$  anos. Com mais de 18 anos, havia dez pacientes, com idade média  $\pm$  desvio-padrão igual a  $34,41 \pm 13,37$  anos. Quanto ao gênero, havia 70% do sexo masculino, sendo 43% no grupo pediátrico e 90% nos adultos.

Dos 52 pacientes incluídos, a média  $\pm$  desvio-padrão da idade foi de  $24,08 \pm 14,68$ . Neste grupo, tivemos 25 com idade até 18 anos, com média  $\pm$  desvio-padrão igual a  $12,85 \pm 3,63$  anos. Com mais de 18 anos, havia 27 pacientes, com idade média  $\pm$  desvio-padrão igual a  $33,69 \pm 13,10$  anos. Quanto ao gênero, a amostra apresentou 64% do sexo masculino. No grupo de crianças, este percentual era de 60%; já no grupo adulto, era de 67%.

A Figura 6, a seguir, apresenta o fluxograma da amostra e o Anexo 6 apresenta uma descrição detalhada do grupo de pacientes, identificando os excluídos.

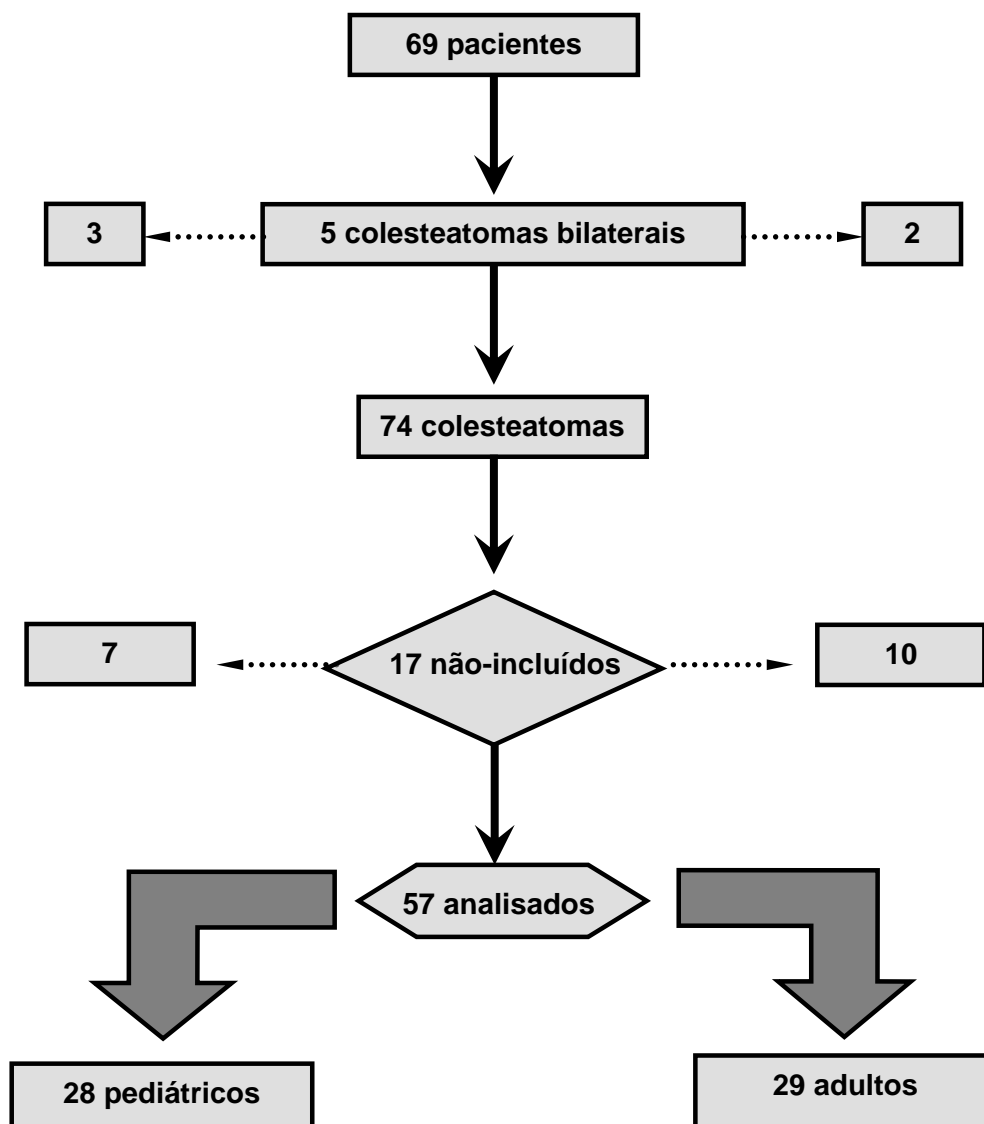


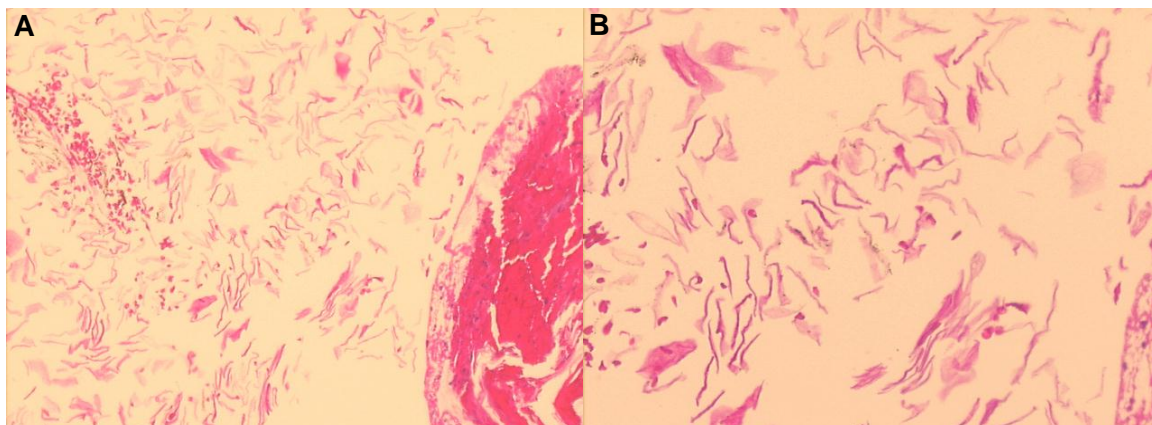
Figura 6: Fluxograma da inclusão e distribuição da amostra.

## 5.2 Dados Clínicos e Histológicos

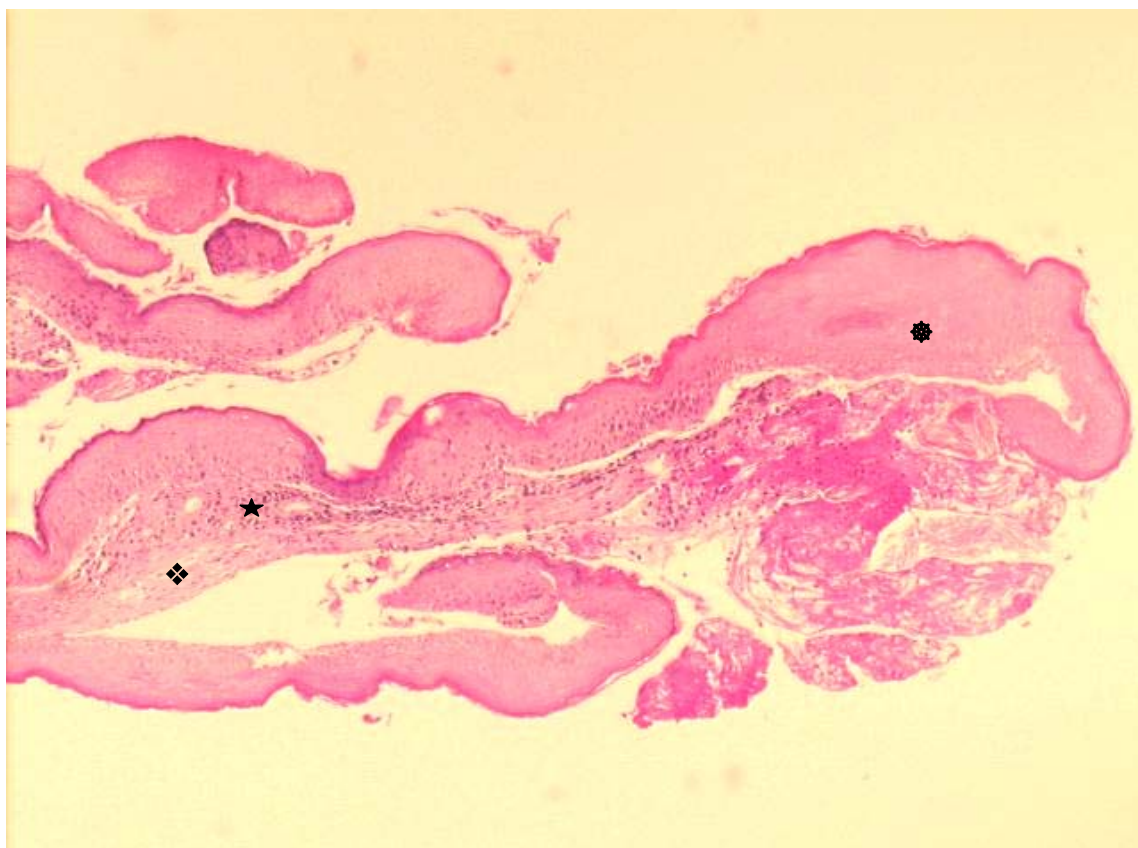
Nesta seção, são relatados dados obtidos dos protocolos de primeira consulta do AOMC-HCPA dos pacientes, descrições histopatológicas das lâminas referentes aos casos estudados, bem como as imagens digitais representativas dos resultados encontrados (Figuras 7 a 15). Como a maioria dos pacientes excluídos apresentava somente lamelas córneas, será apresentada apenas uma imagem representativa desses pacientes (Figura 7). Alguns colesteatomas também foram excluídos, apesar de apresentarem material biológico além da queratina, por não possuírem integridade tecidual. As lâminas dos colesteatomas do paciente 30 tinham toda a estrutura histológica, porém a perimatriz estava rompida, o que impossibilitou sua medida; o material do paciente 67 constituía-se de perimatriz com inflamação e fibrose densa, mas não exibia matriz; já na lâmina do caso 69 só havia exsudato e material córneo. Essas imagens, como as demais da coleção histológica, são apresentadas em CD anexado a este volume.

Os colesteatomas 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, tanto intra como interpacientes, designado de perimatriz. Essa, 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.

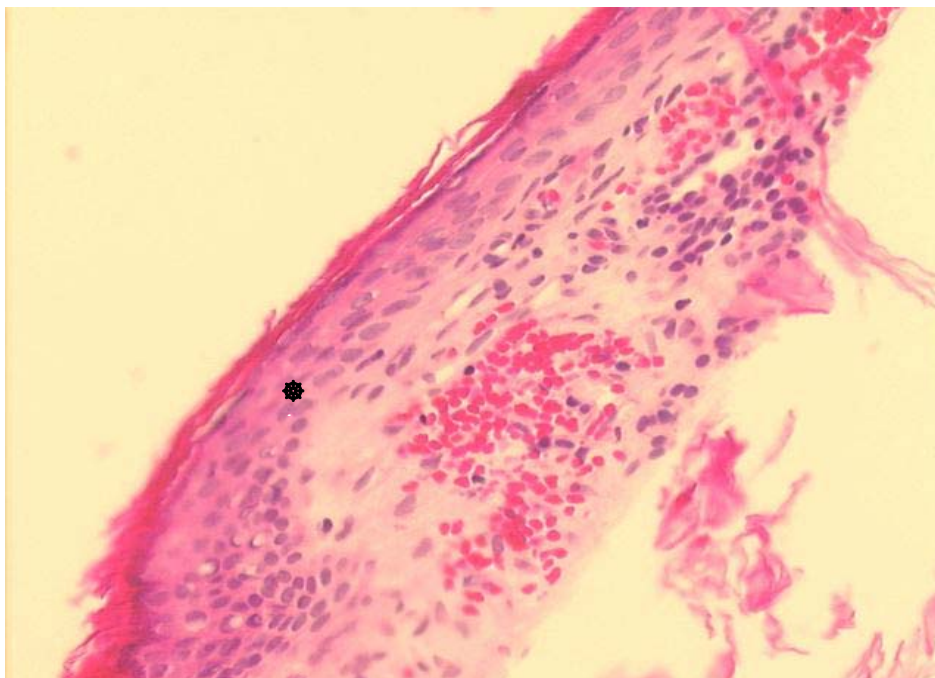
Pode-se afirmar que o revestimento (matriz) dos colesteatomas é indistinguível de uma mucosa escamosa (epitélio escamoso estratificado com um córion – lâmina própria – subjacente, como os encontrados no revestimento da boca, vagina, esôfago) e da pele, exceto pelo fato de esta última exibir os anexos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



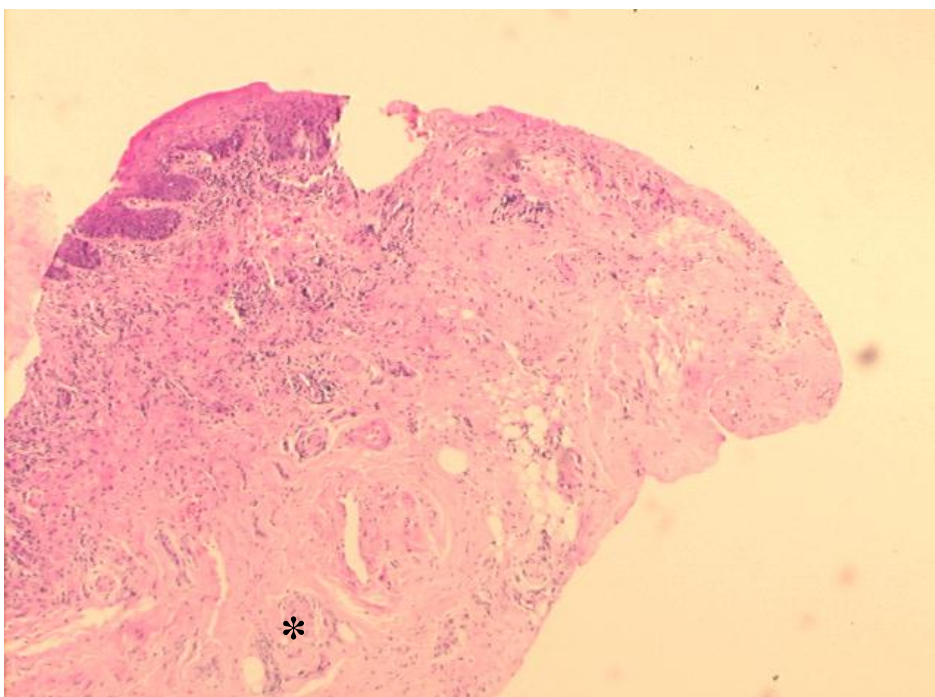
**Figura 7:** Imagens digitalizadas da lâmina do colesteatoma do paciente 12. C.M.V., 9 anos, feminino. Coloração: HE; Aumento: A – 100x e B – 200x. Anatomopatológico: Material constituído exclusivamente por lamelas córneas. Imagem representativa das amostras dos pacientes números 3, 12, 14, 16, 17, 23, 34, 35, 40, 41, 46, 49, 51 e 66.



**Figura 8:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 1. F.P.R.S., 15 anos, feminino. Coloração: HE; Aumento: 40x. Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado (★), queratinizado, exibindo uma média de oito camadas de células em sua matriz, com áreas de hiperplasia (✱). A perimatriz (◇), delicada, mostra discreto infiltrado inflamatório linfocitário, e é delimitada, em seu plano profundo, por camada única de epitélio cúbico-achatado. Ausência de granulomas.

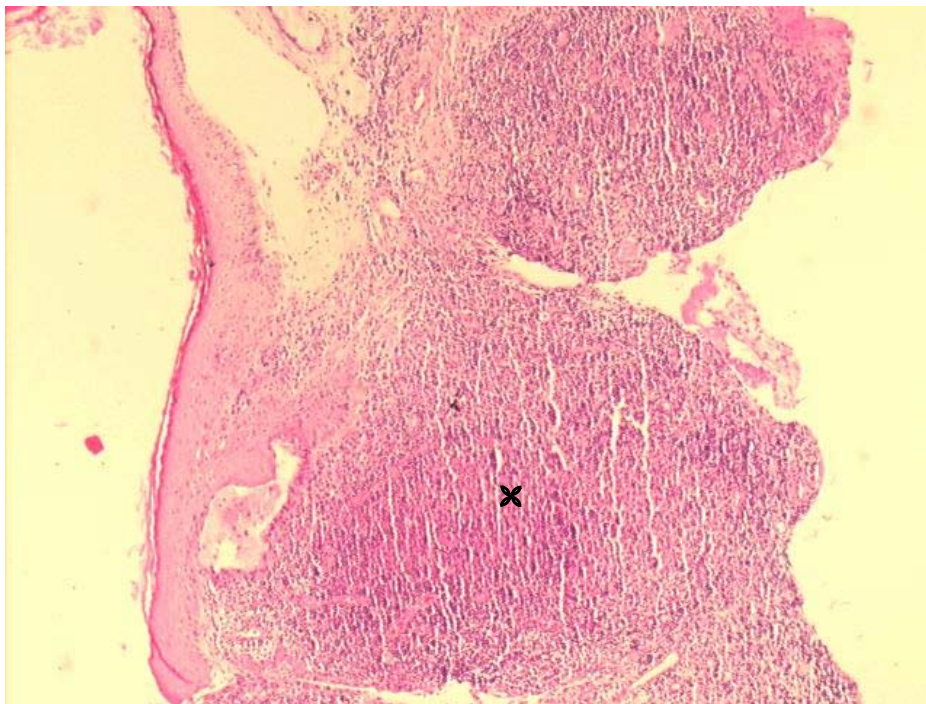


**Figura 9:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 6. L.V., 16 anos, feminino. Coloração: HE; Aumento: 200x. Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado queratinizado (\*), com quatro camadas de células. Perimatriz muito delicada, sem infiltrado inflamatório ou granulomas.

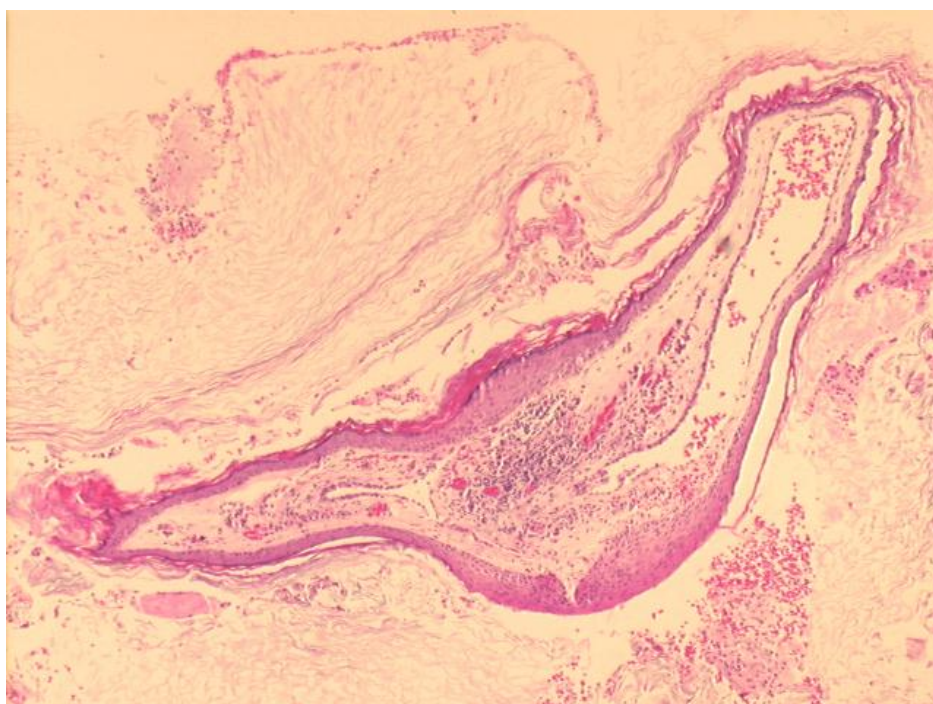


**Figura 10:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 7. N.L.R., 36 anos, masculino. Coloração: HE; Aumento: 40x. Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, exibindo média de 12 camadas de células. A perimatriz mostra fibrose densa (\*) e infiltrado inflamatório linfoplasmocitário moderado. Ausência de granulomas.

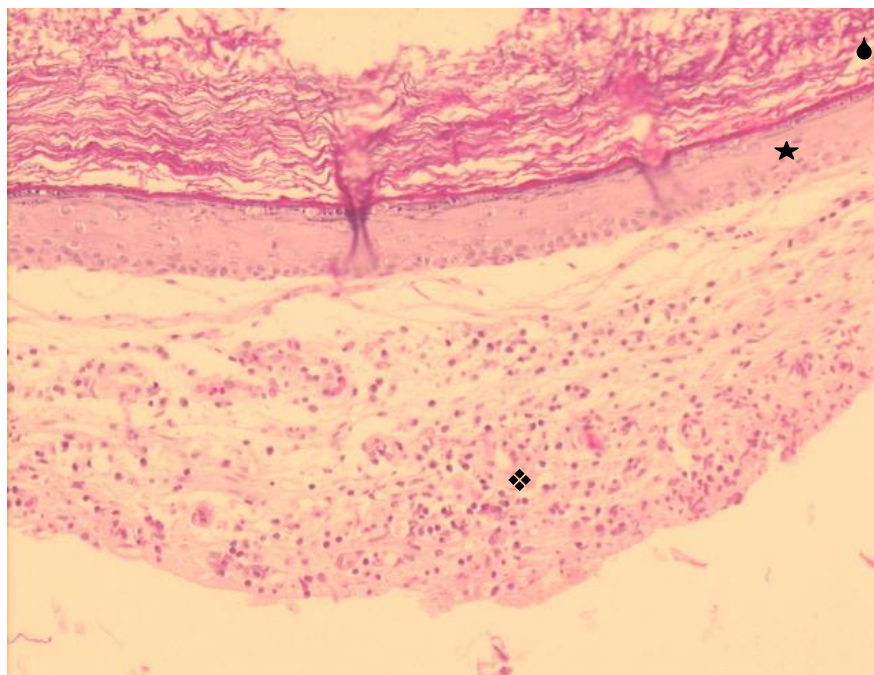




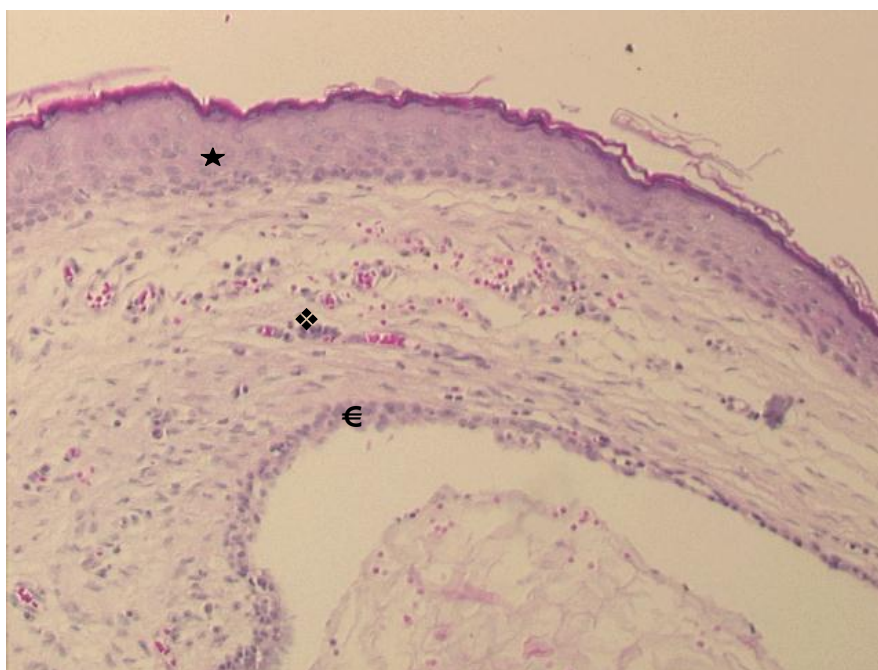
**Figura 11:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 11. J.F., 12 anos, feminino. Coloração: HE; Aumento: 100x. Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de 12 camadas de células. Perimatriz com infiltrado inflamatório (X) linfoplasmocitário moderado e fibrose densa. Ausência de granulomas.



**Figura 12:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 29. D.K., 18 anos, masculino. Coloração: HE; Aumento: 40x. Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de cinco camadas de células. Perimatriz com discreta fibrose, infiltrado linfoplasmocitário moderado, limitada em sua porção inferior por epitélio cúbico simples. Ausência de granulomas.



**Figura 13:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 32. A.K.O., 10 anos, feminino. Coloração: HE; Aumento: 100x. Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado (★), queratinizado, com média de oito camadas de células. Perimatriz (◆) com áreas de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário moderado. Fibrose discreta. Ausência de granulomas. (● Conteúdo Cístico)



**Figura 14:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 50. S.W., 21 anos, feminino. Coloração: HE; Aumento: 100x. Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado (★), queratinizado, com média de sete camadas de células epiteliais. Perimatriz (◆) mostra fibrose frouxa com infiltrado inflamatório moderado, sendo delimitada em seu plano profundo por epitélio cubóide simples (€). Ausência de granulomas.



**Figura 15:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 66. F.J.R., 13 anos, masculino. Coloração: HE; Aumento: 200x. Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de três camadas de células. Perimatriz ausente.

O número médio de camadas celulares do epitélio escamoso estratificado variou de 3 a 23 ( $8,2 \pm 4,2$ ). A hiperplasia na matriz apareceu em 17% dos colesteatomas, 12% apresentavam granuloma e em 67% havia fibrose presente. A presença de um epitélio cubóide simples, delimitando a perimatriz em seu plano profundo, ocorreu em 21% dos casos. Quando analisamos o grau histológico de inflamação na perimatriz, vista ao microscópio ótico, 60% das amostras foram classificados como moderado a acentuado.

Quando estratificado por grupo etário, o número médio de camadas celulares da matriz não é modificado, sendo  $8,1 \pm 4,2$  (mínimo=3 e máximo=22), no grupo pediátrico e  $8,2 \pm 4,2$  (mínimo=4 e máximo=23), no grupo adulto. Os demais componentes histológicos analisados – hiperplasia na matriz, epitélio delimitante, fibrose e granuloma – também apresentaram distribuição semelhante nos dois grupos (Tabela 1).

**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	8,2 ± 4,2	8,2 ± 4,2	0,93*
Hiperplasia na matriz	14,3%	20,7%	0,53**
Epitélio delimitante	28,6%	13,8%	0,17**
Fibrose	71,4%	62,1%	0,45**
Granuloma	10,7%	13,8%	0,72**

\* Teste t; \*\* Teste de  $\chi^2$ 

A perimatriz aparece como uma rede inflamatória que envolve o colesteatoma, de espessura variável, tanto intra como inter-pacientes (Anexo 7). Havia quatro amostras com perimatriz igual a zero, sendo três do grupo de adultos e apenas um do grupo pediátrico.

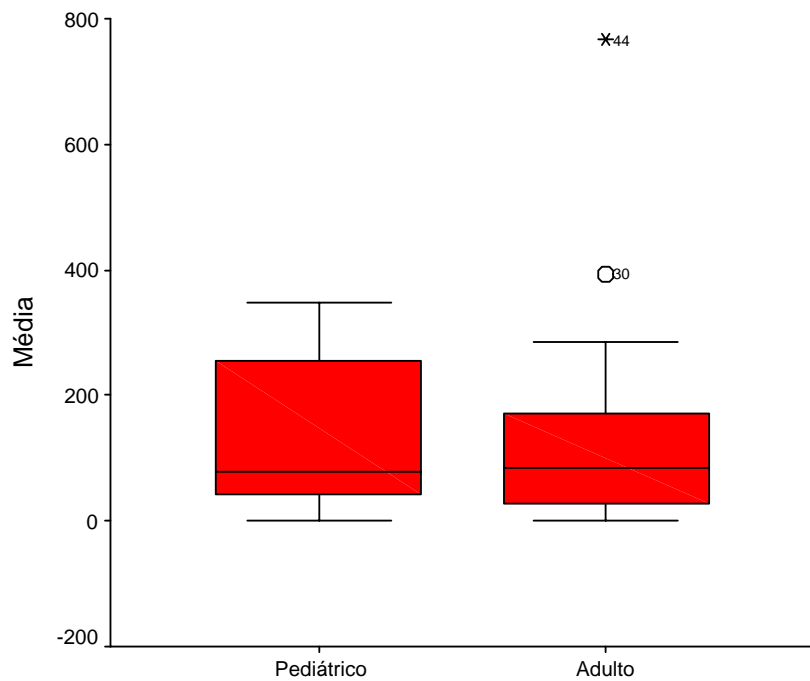
Na tabela 2, são apresentadas as medidas-sumário das variáveis analisadas, todas expressas em micrômetros, através de suas medianas acompanhadas pelos intervalos interquartil (percentil 25 a percentil 75), separadas por grupo.

**Tabela 2:** Medidas-sumário da espessura da perimatriz por grupo etário.

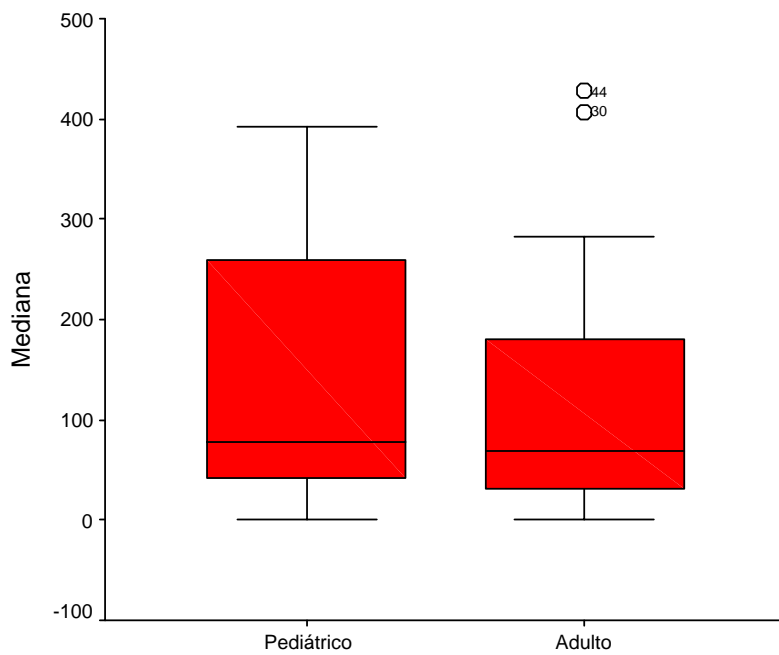
Parâmetro	Grupo Pediátrico med (IQ) n=28	Grupo Adulto med (IQ) n=29
Média	79 (41 a 259)	83 (26 a 174)
Mediana	77 (40 a 265)	68 (30 a 181)
Mínimo	53 (16 a 165)	27 (12 a 100)
Máximo	127 (64 a 398)	136 (53 a 280)
Delta	82 (44 a 248)	92 (45 a 190)
Soma	1.588 (831 a 5.185)	1.801 (558 a 3.867)

med (IQ) = Mediana e intervalo interquartil (percentil25 a percentil75), medidos em micrômetros

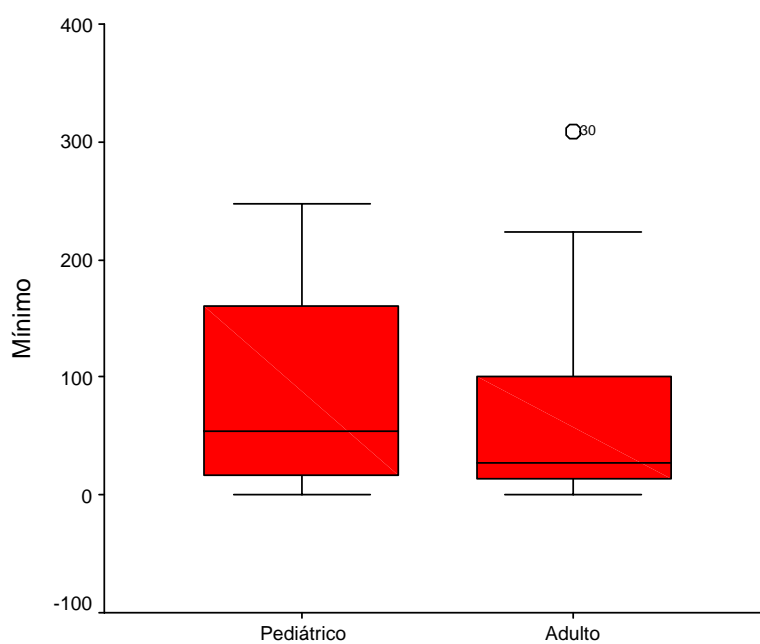
As figuras de número 16 a 21, a seguir, apresentam os gráficos de *box plot* das medidas da espessura de perimatriz com a faixa etária.



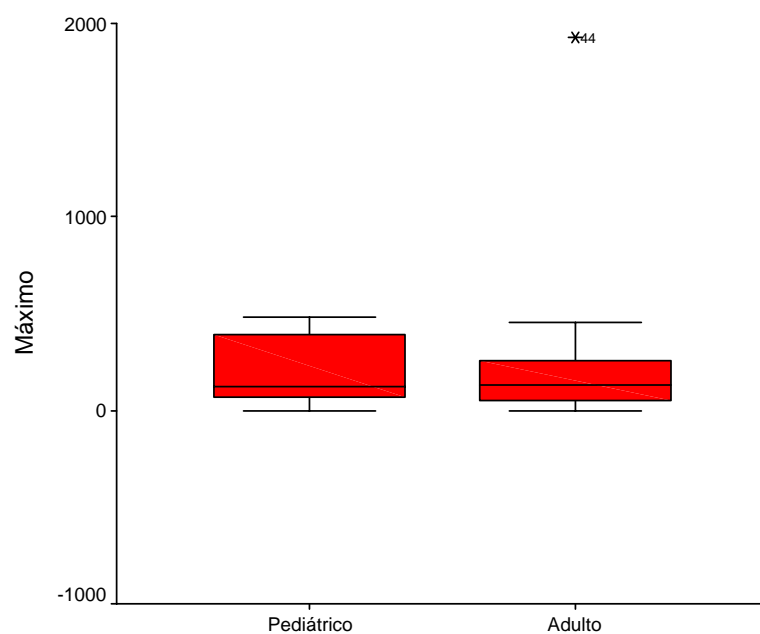
**Figura 16:** *Box plot* da média das medidas da espessura da perimatriz por faixa etária



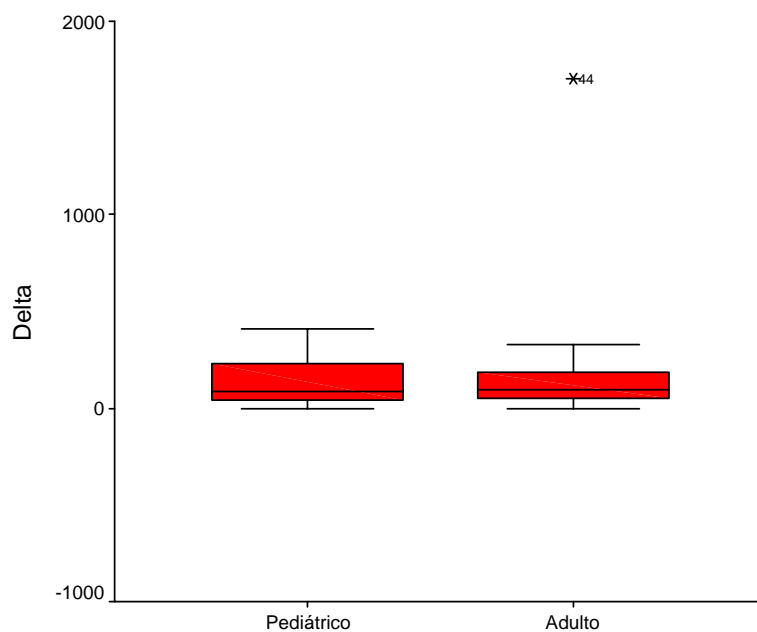
**Figura 17:** *Box plot* da mediana das medidas da espessura da perimatriz por faixa etária



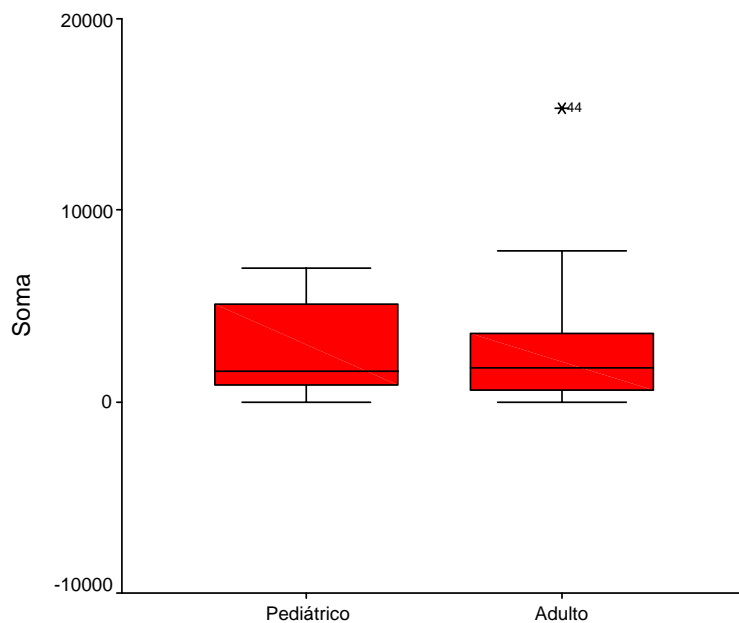
**Figura 18:** *Box plot* dos valores mínimos das medidas da espessura da perimatriz por faixa etária



**Figura 19:** *Box plot* dos valores máximos das medidas da espessura da perimatriz por faixa etária

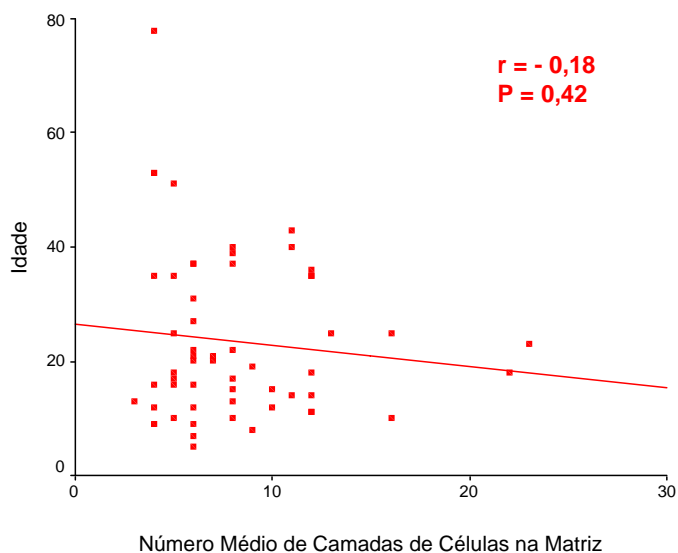


**Figura 20:** *Box plot* dos deltas das medidas da espessura da perimatriz por faixa etária

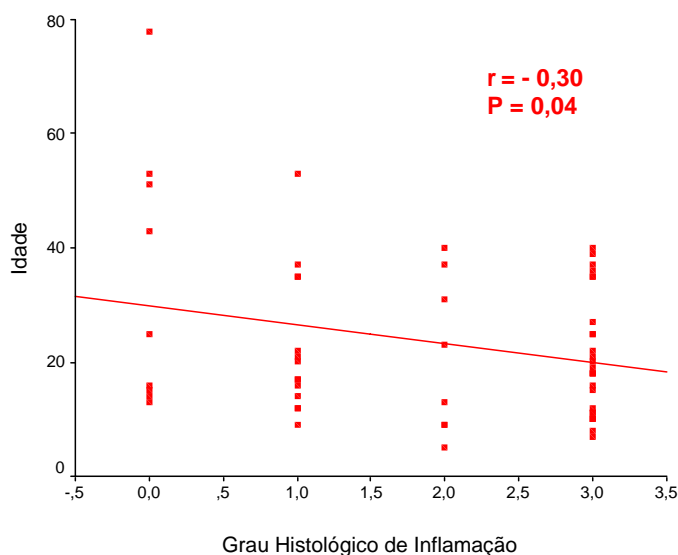


**Figura 21:** *Box plot* da soma das medidas da espessura da perimatriz por faixa etária

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 22 e 23).



**Figura 22:** Gráfico da correlação linear entre a idade e o número médio de camadas de células epiteliais na matriz

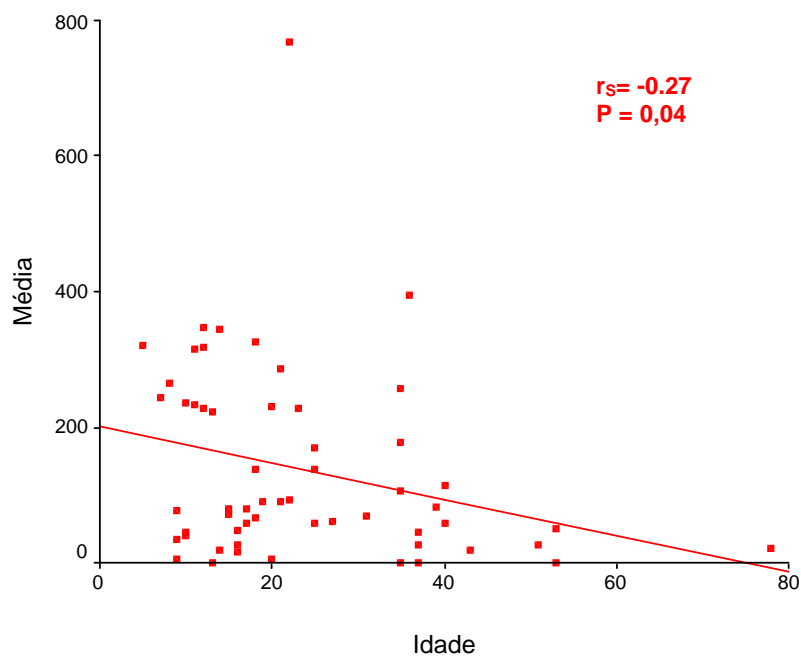


**Figura 23:** Gráfico da correlação linear entre a idade e o grau histológico de inflamação na perimatriz

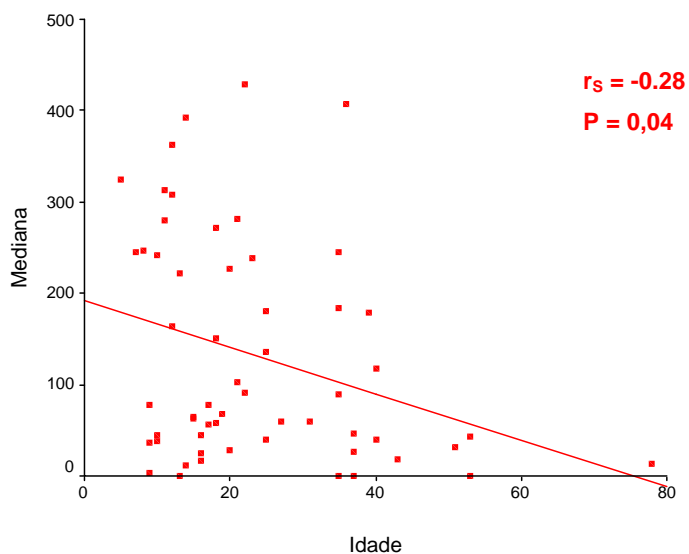


Apesar de as variáveis utilizadas para a análise da espessura da perimatriz serem quantitativas, os dados não apresentaram uma distribuição normal, ou seja, comportaram-se com assimetria; por este motivo, não foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson.

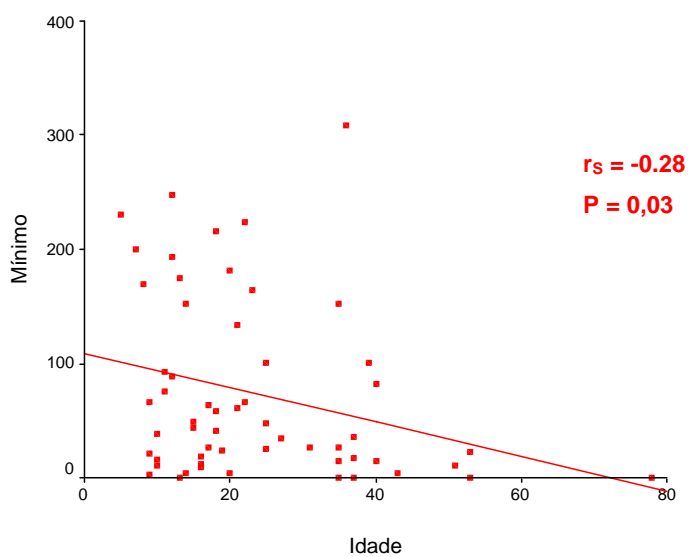
Ao utilizarmos o coeficiente de Spearman, para analisar a correlação entre a idade do paciente à cirurgia e as variáveis média, mediana, valor mínimo, valor máximo, delta e soma da espessura da perimatriz, somente não encontramos correlação da idade com o valor máximo e o delta; as demais apresentaram correlação negativa, de fraca a moderada (Figuras de 24 a 29).



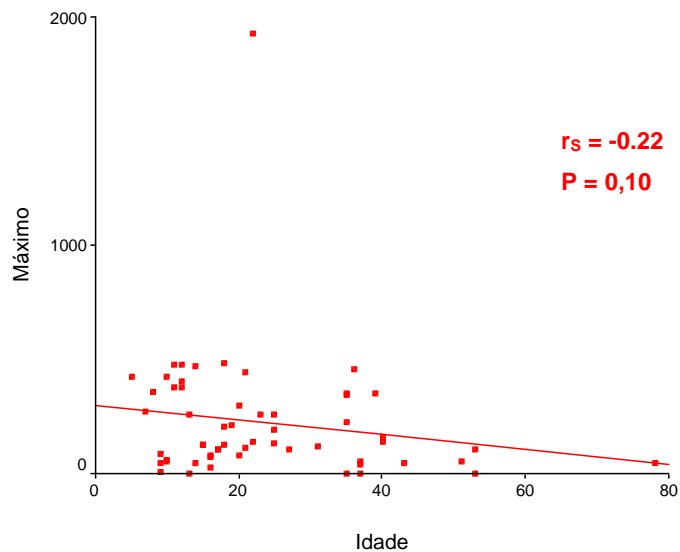
**Figura 24:** Gráfico da correlação linear entre a idade, em anos, e a média da espessura da perimatriz dos colesteatomas, em micrômetros



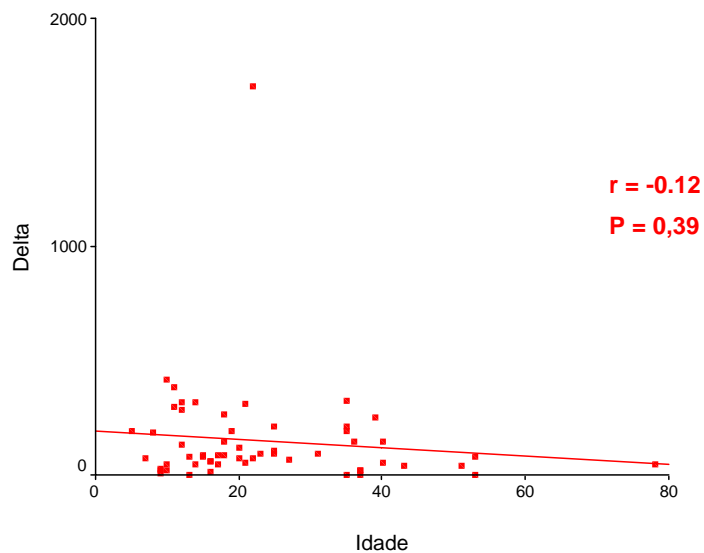
**Figura 25:** Gráfico da correlação linear entre a idade, em anos, e a mediana da espessura da perimatriz dos colesteatomas, em micrômetros



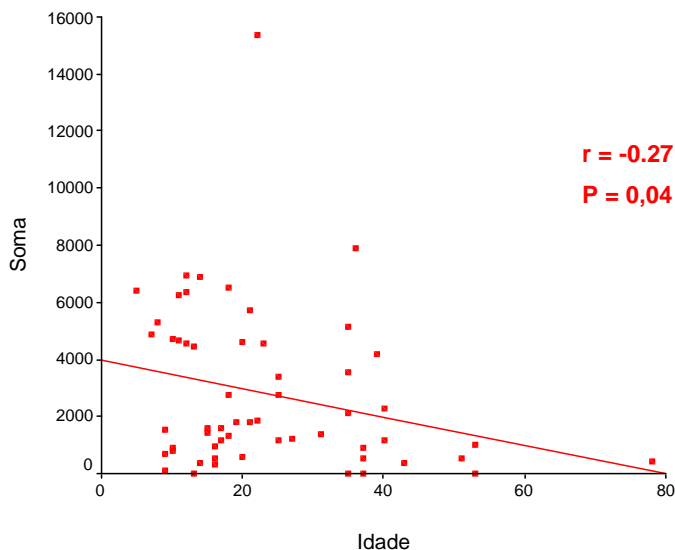
**Figura 26:** Gráfico da correlação linear entre a idade, em anos, e os valores mínimos da espessura da perimatriz dos colesteatomas, em micrômetros



**Figura 27:** Gráfico da correlação linear entre a idade, em anos, e os valores máximos da espessura da perimatriz dos colesteatomas, em micrômetro

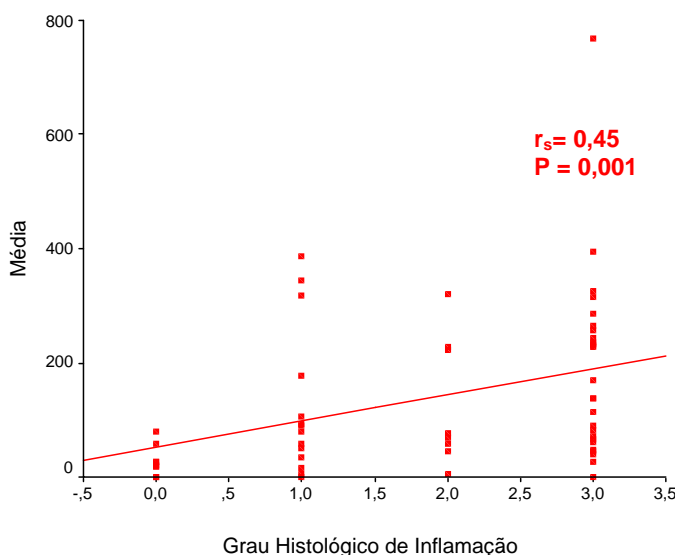


**Figura 28:** Gráfico da correlação linear entre a idade, em anos, e o delta da espessura da perimatriz dos colesteatomas, em micrômetros

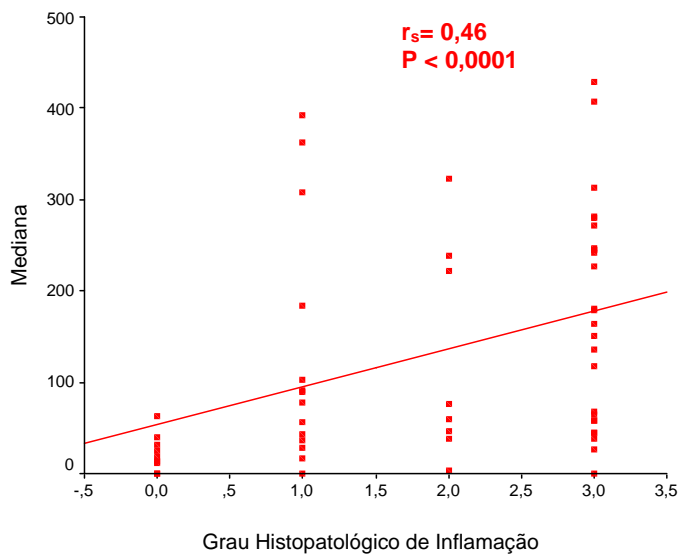


**Figura 29:** Gráfico da correlação linear entre a idade, em anos, e a soma da espessura da perimatriz dos colesteatomas, em micrômetros

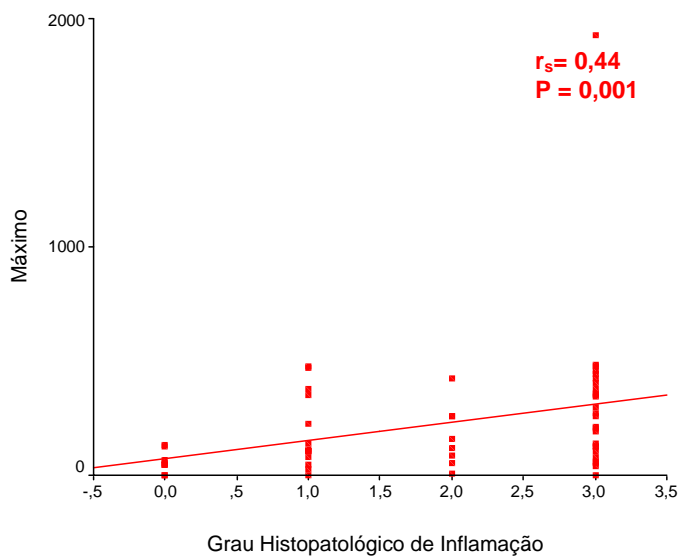
Ao aplicarmos o coeficiente de Spearman entre o grau histológico de inflamação e as variáveis sumarizadoras da medida de espessura da perimatriz (média, mediana, valor máximo, valor mínimo, delta e soma), encontramos correlações, significativas, com magnitudes de moderadas a fortes. Nas figuras 30 a 35, são apresentados os gráficos de correlação.



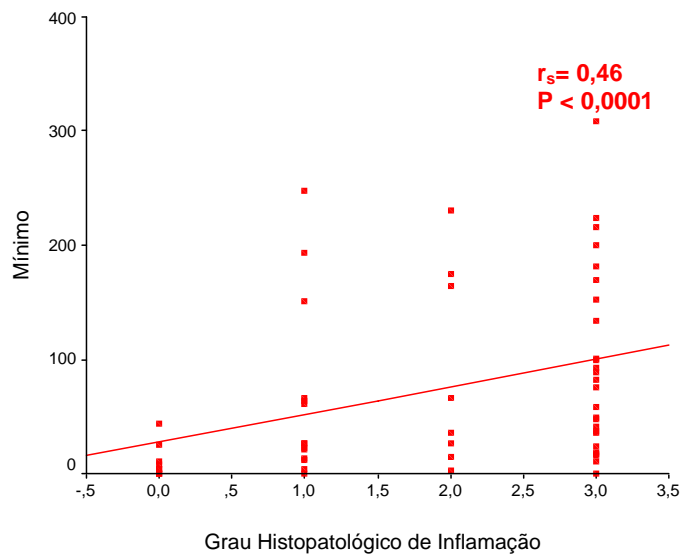
**Figura 30:** Gráfico da correlação linear entre o grau histológico de inflamação e a média da espessura da perimatriz dos colesteatomas



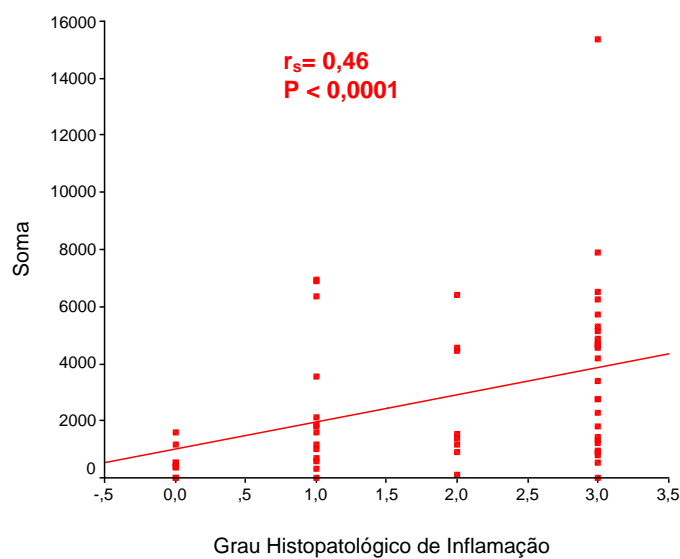
**Figura 31:** Gráfico da correlação linear entre o grau histológico de inflamação e a mediana da espessura da perimatriz dos colesteatomas



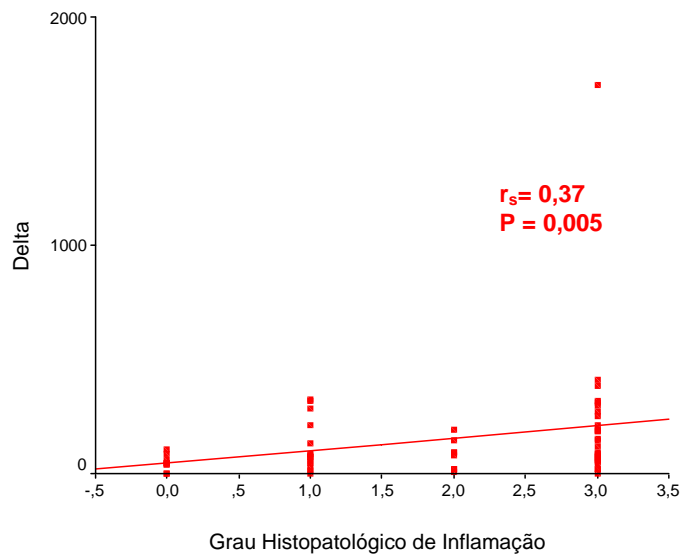
**Figura 32:** Gráfico da correlação linear entre o grau histológico de inflamação e o valor máximo da espessura da perimatriz dos colesteatomas



**Figura 33:** Gráfico da correlação linear entre o grau histológico de inflamação e o valor mínimo da espessura da perimtriz dos colesteatomas

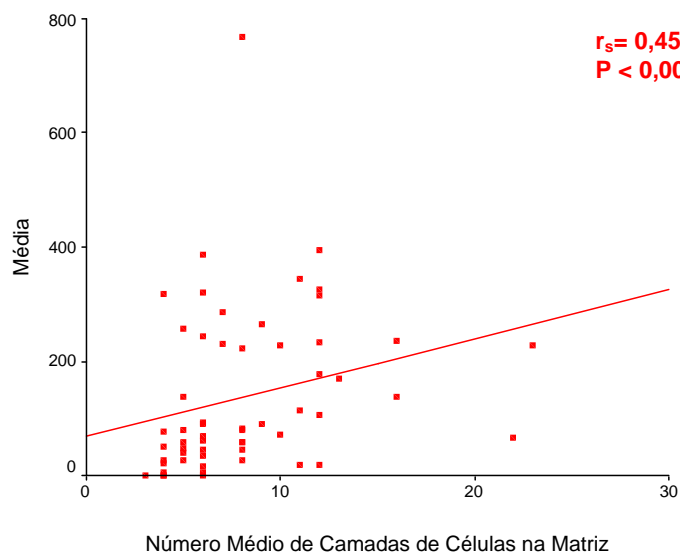


**Figura 34:** Gráfico da correlação linear entre o grau histológico de inflamação e a soma da espessura da perimtriz dos colesteatomas

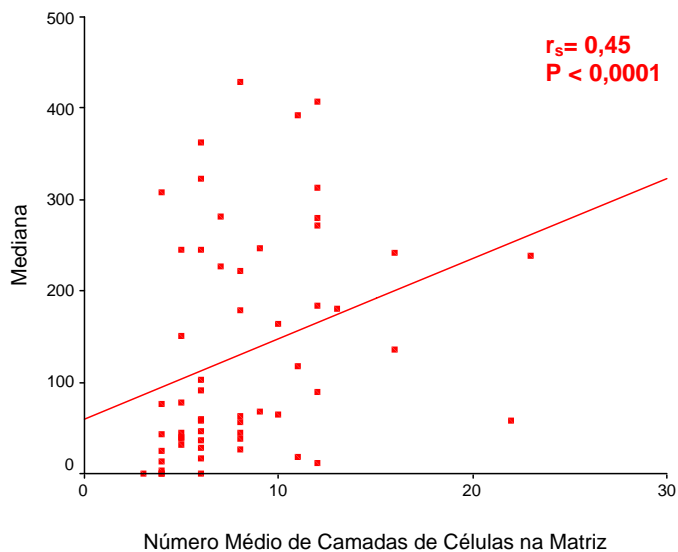


**Figura 35:** Gráfico da correlação linear entre o grau histológico de inflamação e o delta da espessura da perimatriz dos colesteatomas

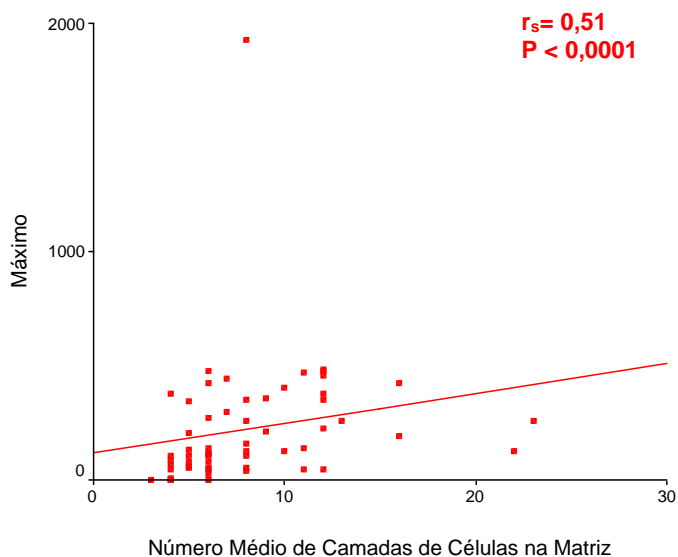
Ao correlacionarmos o número médio de camadas de células epiteliais com a espessura da perimatriz, encontramos correlações, de moderadas a fortes, com todas as variáveis testadas (Figuras 36 a 41).



**Figura 36:** Gráfico da correlação linear entre o valor médio da espessura da perimatriz e o número médio de camadas de células epiteliais na matriz

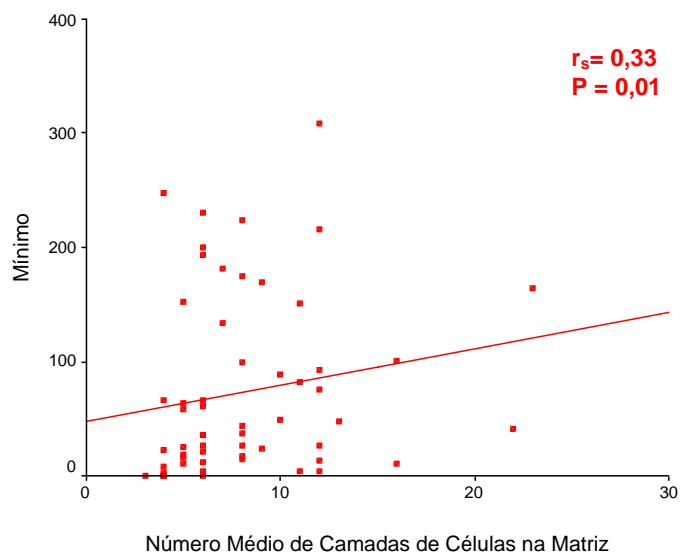


**Figura 37:** Gráfico da correlação linear entre a mediana da espessura da perimatriz e o número médio de camadas de células epiteliais na matriz

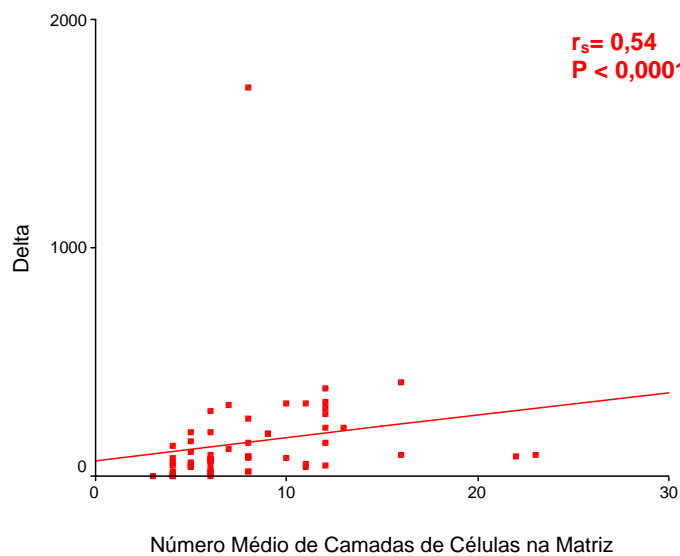


**Figura 38:** Gráfico da correlação linear entre o valor máximo da espessura da perimatriz e o número médio de camadas de células epiteliais na matriz

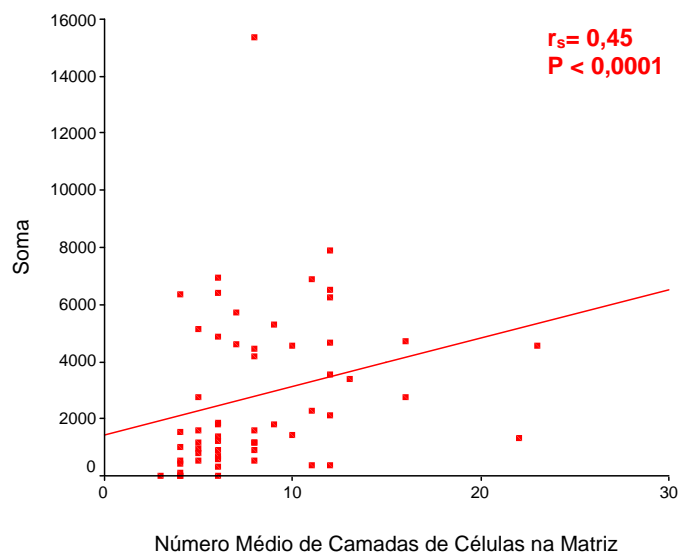




**Figura 39:** Gráfico da correlação linear entre o valor mínimo da espessura da perimatrix e o número médio de camadas de células epiteliais na matriz



**Figura 40:** Gráfico da correlação linear entre o delta (valor máximo – valor mínimo) da espessura da perimatrix e o número médio de camadas de células epiteliais na matriz



**Figura 41:** Gráfico da correlação linear entre a soma da espessura da perimatriz e o número médio de camadas de células epiteliais na matriz

## 6 - Discussão

Os colesteatomas têm sido tema de numerosos estudos, tanto clínicos quanto experimentais, com o objetivo de definir sua patogênese e características, bem como aprimorar o seu tratamento (Albino e col., 1998b; Aumente e col., 1996; Axon e col., 1999; Bernal e col., 2001; Bollmann e col., 1991; Broekaert e col., 1992; Bujia e col., 1996; Chao e Shen, 1996; Chole e col., 2001a; Chole e col., 2001b; Chole e col., 2002; Costa e col., 1992; Cruz e col., 2003; Cureoglu, 2004; Darrouzedt e col., 2000; Desloge e col., 1997b; Dornelles e col., 2002; Edelstein, 1989; Ergun e col., 1994; Glasscock, 1981; Goycoolea e col., 1999; Hamzei e col., 2003; Hildmann e Sudhoff, 1999; Hueb, 1997; Jahnke e Falk, 1976; Jansen, 1978; Junh e Paparella, 1976; Kim e Chung, 1999; Lim e Saunders, 1972; Lino e col., 1998; Marcato e col., 1991; Mayot e col., 1991; Milewski e col., 1998b; Mitrovic, 1991; Palva e col., 1997; Palva e col., 2000; Pereira, 1997; Pereira e col., 2002; Quaranta e col., 1986; Rignér e col., 1991; Scheibe e col., 2002; Schmidt e Hellstrom, 1994; Sheehy, 1978; Sheehy, 1985; Sien, 1996; Stankovic, 2003; Sudhoff e col., 1996; Sudhoff e col., 2000a; Sudhoff e col., 2000b; Tomita, 2000; Toner e Smyth, 1990; Tos, 1983; Vartiainen, 1993). Porém, mesmo com estes vários trabalhos, ainda existem questões em aberto, necessitando de respostas, tais como: Os colesteatomas pediátricos são uma doença diferente da que ocorre em adultos? Qual a melhor técnica cirúrgica a ser utilizada em crianças?

Essas dúvidas persistem porque existem, ainda, controvérsias quanto à melhor abordagem cirúrgica em crianças com colesteatoma. Jansen (1978), Sheehy (1978) e

Glasscock (1981) preferem técnicas cirúrgicas mais conservadoras, com o objetivo de preservação anatômica e funcional das estruturas da orelha média. Jahnke (1976) e Palva (1997) são favoráveis a um manejo mais agressivo para evitar a ocorrência de doença residual ou recorrente e as complicações associadas. A determinação da maior agressividade ou não dos colesteatomas pediátricos poderá acrescentar subsídios para a escolha da abordagem cirúrgica, para essa faixa etária.

A discussão quanto ao manejo dos colesteatomas está acompanhada de resultados conflitantes em estudos a respeito do comportamento clínico destes, em crianças, quando comparados com os de adultos (Jansen, 1978; Sheehy, 1978; Glasscock, 1981; Jahnke e Falk, 1976; Palva e col., 1997). Muitos autores sugerem que os colesteatomas pediátricos sejam mais agressivos, mostrando uma alta atividade proliferativa e com taxas mais altas de recorrência (Edelstein e col, 1988; Galsscock, 1981; Palva e col., 1997), porém outros reportam baixas taxas de complicação e menores índices de expansão (Sanna e col., 1994; Sheehy, 1978; Tos, M., 1983). Iwanaga e Yamamoto (1983) sugeriram que o potencial invasivo dos colesteatomas poderia estar diretamente relacionado à atividade colagenolítica da perimatriz. Para Quaranta e col. (1986), a patogênese do colesteatoma em crianças está intimamente ligada a essa teoria, visto que, para estes autores, aparentemente, a otite média crônica colesteatomatosa é mais agressiva quando ocorre na infância do que quando em adultos. Porém, Hildmann e Sudhoff (1999) sugeriram que as complicações, a destruição ossicular e o comportamento biológico dos colesteatomas possam estar relacionados mais com o estado de pneumatização da mastóide, com a duração da doença e com o grau de inflamação, do que com a idade do paciente. Essa controvérsia persiste porque, até o momento, não foram encontradas diferenças histológicas ou bioquímicas que justifiquem essas aparentes divergências clínicas entre as faixas etárias.

Outras questões fundamentais, ainda sem respostas, estão relacionadas à patogênese dos colesteatomas. Qual a origem do epitélio escamoso estratificado? Qual a influência do comportamento invasivo e proliferativo da epiderme? Muitos trabalhos (Bernal e col., 2001; Broekaert e col., 1992; Bujia e col., 1996; Chao e Shen, 1996; Chole e col.,

2002; Cureoglu, 2004; Durko e Kaczmarczyk, 2004; Ergun e col., 1994; Goycoolea e col., 1999; Hamzei e col., 2003; Hassmann-Poznanska e col., 2003; Jacob e col., 2001; Kuijpers e col., 1996; Lepercque e col., 1993; Marena e Audfemorte, 1995; Milewski e col., 1998b; Nair e col., 2004; Pereira, 1997; Pereira e col., 2002; Shinoda e Huang, 1995; Sudhoff e col., 1996; Sudhoff e Tos, 2000; Sudhoff e col., 2004; Tanaka e col., 1998; Tomita, 2000) tentaram, sem sucesso, responder plenamente a essas interrogações. Acreditamos que um dos caminhos para esclarecê-las poderá ser encontrado no conhecimento aprofundado das características histomorfológicas dos colesteatomas.

### **6.1 Descrição Histológica e Espessura da Perimatriz**

Foi com o intuito de buscar algumas respostas para essas indagações que realizamos a descrição histológica dos colesteatomas, bem como a comparação dos achados entre as faixas etárias. Para tanto, foram coletados os dados do número médio de camadas celulares da matriz, presença de hiperplasia na matriz; espessura e epitélio delimitante da perimatriz, fibrose, inflamação e granuloma na perimatriz. No entanto, ao compararmos os componentes histológicos dos colesteatomas, entre os grupos etários, não encontramos diferenças. Ao revisarmos a literatura, em especial o trabalho de Ferlito e col. (1997), encontramos um dado destoante dos nossos achados, pois estes autores afirmam que a matriz dos colesteatomas adquiridos é, geralmente, composta por 15 camadas de células, enquanto, em nosso estudo encontramos, em média, oito camadas celulares ( $8,16 \pm 4,20$ ; mínimo= 3; máximo = 23), tanto em adultos como em crianças. Não nos é possível fazer uma análise estatística para averiguar se há significância nessa diferença entre as médias encontradas no nosso estudo e no de Ferlito e col. (1997); da mesma maneira como não temos elementos para fazer alguma inferência sobre estes números destoantes.

Um dos primeiros relatos histológicos sobre colesteatomas foi o de Lim e Saunders (1972). Como referido anteriormente, estes autores observaram, à microscopia óptica

(M.O.), que, em alguns casos, a perimatriz não era percebida, sendo somente visualizada com o auxílio do microscópio eletrônico de transmissão, apresentando-se extremamente fina, com poucas fibras de colágeno, achados confirmados em nosso estudo. Encontramos uma grande variabilidade na espessura da perimatriz dos colesteatomas, tanto intrapacientes, ou seja, num mesmo espécime encontramos regiões mais delgadas do que outras; quanto interpacientes. Ao microscópio óptico, as espessuras médias variaram desde expressivamente delicadas, por nós consideradas igual a zero, até extremamente espessas (1.926 micrômetros). Pereira e colaboradores (2002) também confirmaram os achados de Lim e Saunders (1972) ao encontrarem diferenças na espessura da perimatriz dos colesteatomas de sua amostra. Porém, o objetivo de Lim e Saunders (1972) era a descrição histológica dos colesteatomas e de sua ultraestrutura, não havendo investigação referente à origem dessa diferença no tamanho da perimatriz, nem à possível relação daquela com a idade do paciente. Pereira e col. (2002) compararam a existência de perimatriz visível a M.O. por grupo etário e observaram que um número significativamente maior de colesteatomas provenientes de adultos apresentava perimatriz visível à microscopia óptica.

As funções fisiológicas das macromoléculas da perimatriz estão relacionadas com adesão, migração, crescimento e diferenciação celulares (Olszewska e col., 2004). A partir dessas características e dos achados de Lim e Saunders (1972) e de Pereira e col. (2002), e considerando que a ação das colagenases pode ser um dos fatores envolvidos na erosão óssea, universalmente encontrada nas otites médias colesteatomatosas e que clinicamente esta doença poderia ser mais agressiva em crianças do que em adultos, buscamos, através de medidas objetivas, verificar se havia correlação da espessura da perimatriz com a idade do paciente à cirurgia. Uma diminuição dessa, em crianças, poderia ser explicada por uma menor quantidade das fibras de colágeno, causada, por sua vez, pela ação de colagenases.

Em nosso trabalho, os dados não coincidiram com os achados de Pereira e col. (2002). A falta de confirmação estatística da hipótese de diminuição da perimatriz em crianças, pode dever-se ao fato de que, no trabalho citado, as medições foram

semiquantitativas, que resultam em dados menos precisos do que os quantitativos, utilizados nessa pesquisa. Outro fato que poderia explicar essa diferença seria o método de coleta do material, visto que, como o objetivo daqueles pesquisadores não exigia a integridade histológica dos colesteatomas, poderiam ter sido incluídos na amostra, colesteatomas excluídos da nossa. Esse possível viés de seleção, no trabalho de Pereira e col. (2002), acarretaria uma distorção das medidas e não refletiria uma real ausência da perimatriz no grupo pediátrico.

No presente estudo, dentre os 57 colesteatomas da amostra, encontramos apenas quatro com perimatriz tão fina que não puderam ser medidas, sendo consideradas com espessura igual a zero. Além disso, ao contrário dos achados de Pereira e col. (2002), em nossa amostra havia mais casos de ausência no grupo de adultos (13, 35, 37 e 53 anos). Mais do que isso, ao utilizarmos o coeficiente de Spearman entre a idade do paciente à cirurgia e a espessura da perimatriz, encontramos correlações moderadas e inversas, fato que demonstra que a espessura da perimatriz diminui conforme aumenta a idade do paciente. Um possível viés em relação à variável idade é o de termos coletado este dado referente ao momento da cirurgia e não ao início do desenvolvimento do colesteatoma. A justificativa para essa postura está no fato de que a informação do paciente, referente ao início da doença, é um dado muito subjetivo, dependendo da sua memória. Além disto, os colesteatomas podem permanecer assintomáticos por um longo período, postergando seu diagnóstico.

Os achados de correlação inversa redirecionam nossa discussão para outras evidências. Através das descrições relatadas, e das nossas próprias, constata-se que a perimatriz é constituída por vários outros elementos. Além das fibras de colágeno, é nessa região do colesteatoma que encontramos as células inflamatórias. A inflamação, que geralmente acompanha o quadro clínico de paciente com colesteatoma, representa uma seqüência de complexos e inter-relacionados eventos decorrentes de lesão tecidual, podendo ser induzida por diferentes estímulos (Olszewska e col., 2004). A resposta inflamatória é essencial para reparar e restaurar a estrutura e função do tecido lesado; em

situações onde haja a persistência do estímulo inflamatório, essa resposta pode tornar-se crônica, resultando em alteração patológica no comportamento tecidual (Wysocki e col., 1998).

## **6.2 Agressividade dos Colesteatomas**

No caso da otite média crônica, as defesas do sistema imune, provenientes da mucosa da orelha média, são recrutadas e contribuem para a patogênese do colesteatoma (Mayot e col., 1991), podendo a inflamação da perimatriz contribuir para o comportamento aberrante do colesteatoma (Palva, 1997). Alguns autores acreditam que haja a necessidade do tecido inflamatório de granulação (perimatriz) para que ocorra a erosão óssea, característica na otite média crônica colesteatomatosa (Swartz, 1984; Mafee, 1993; Jung, 2002).

O papel desempenhado pela perimatriz no estabelecimento da agressividade dos colesteatomas já havia sido aventado por Quaranta e col. (1986), havendo esses autores sugerido que as diferenças clínicas dos colesteatomas entre crianças e adultos poderiam estar relacionadas às características histomorfológicas da perimatriz, e que esta exerceria um importante papel no desenvolvimento do colesteatoma. Corroborando essa hipótese, Jacob e col. (2001) sugeriram que o crescimento do colesteatoma não seria estimulado pela matriz, mas sim seria decorrente do processo inflamatório.

A persistência da inflamação causaria um processo contínuo de cicatrização na perimatriz, com conseqüente aumento no nível das citocinas (moléculas de inflamação e da resposta imune). A existência de citocinas nos colesteatomas foi comprovada com a imunolocalização de cinco diferentes tipos dessas moléculas na perimatriz (Marenda e Aufdermorte, 1995). As citocinas, dentre outros fatores, poderiam ser responsáveis pelo crescimento do colesteatoma e pela destruição óssea por este causada (Milewski, 1998a;



Michaels, 1989 e Ferlito, 1997). Baseados nos achados de Lazarus e col. (1969), os quais sugeriram que a atividade química da perimatriz tem um papel na absorção óssea, Gantz e col. (1979), demonstraram que as células mononucleares inflamatórias produzem enzimas colagenolíticas. A importância da perimatriz na reabsorção óssea também foi destacada por Abramson e col. (1975), tendo sido estes autores os primeiros a sugerir que o potencial de infiltração dos colesteatomas estaria correlacionado com atividades quimioenzimáticas da perimatriz.

Em nossa análise, encontramos indícios, através do coeficiente de correlação de Pearson, de que o grau histológico de inflamação da perimatriz diminui com o aumento da idade do paciente na data da cirurgia. Da mesma maneira, o coeficiente de Spearman demonstra uma tendência de diminuição da espessura da perimatriz conforme a elevação da idade. Podemos fazer uma analogia da perimatriz com um “campo de batalha”, onde ocorreria uma 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 e, 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, com fundamento em nossos achados, podemos sugerir que as características clínicas diferenciadas dos colesteatomas pediátricos estariam relacionadas à exuberância da sua inflamação.

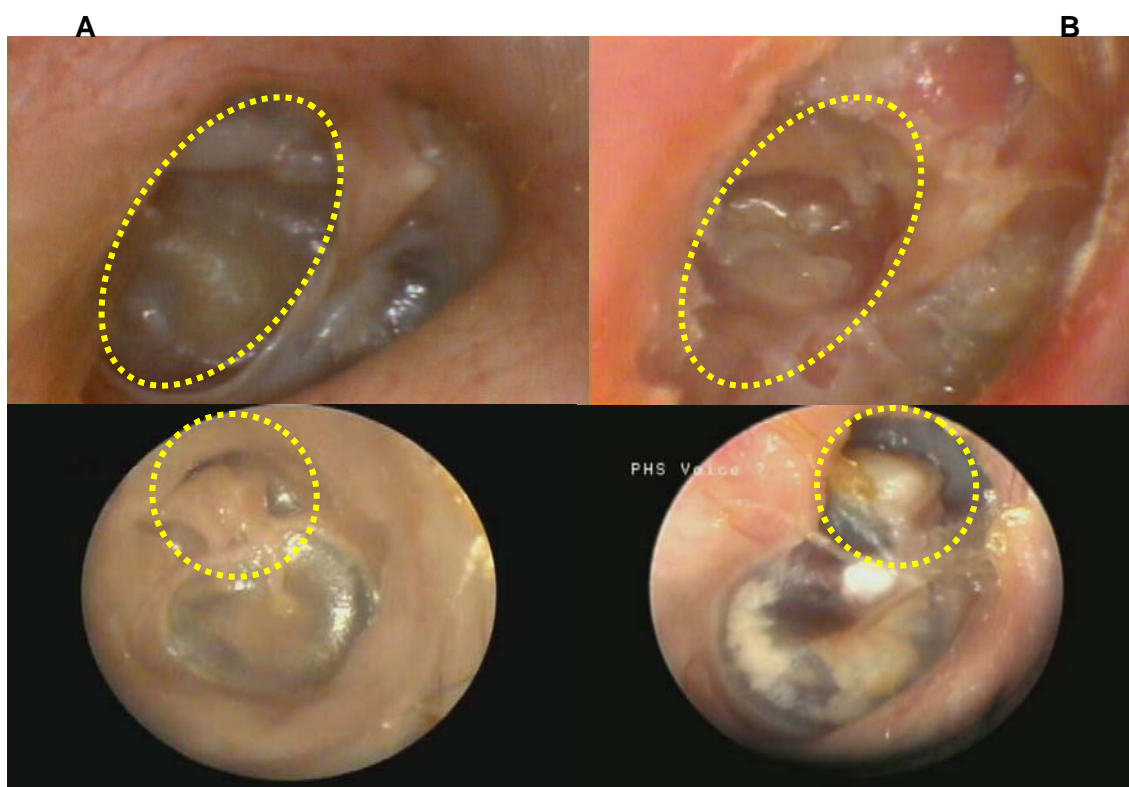
Porém, a diminuição da perimatriz à medida que aumenta a idade do paciente, também poderia estar relacionada com a estabilização da doença. Neste caso, mesmo que o colesteatoma tenha surgido na infância, e somente tenha sido extraído na fase adulta, seria possível que estivéssemos diante de um decréscimo na sua resposta inflamatória, fato que levaria a uma regressão no tamanho da perimatriz.

Além dos indícios de um maior grau de inflamação nos colesteatomas pediátricos, também encontramos correlação de moderada a forte, e neste caso direta, entre o número médio de camadas de células epiteliais na matriz e as medidas de espessura da perimatriz.

Esse fato poderia indicar que não só a perimatriz se encontra 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 e col. (1996), os quais sugeriram que os colesteatomas pediátricos apresentariam um estado proliferativo mais evidente.

### 6.3 O Processo Inflamatório

Neste ponto instiga-nos uma indagação: qual seria o papel das características intrínsecas dos indivíduos na patogênese dos colesteatomas? Na Figura 42 podemos ver duas otoscopias digitais. Em A está representada uma OMCNC e em B, uma OMCC.



**Figura 42:** Otoscopias de dois pacientes do AOMC-HCPA. Em A: Otite Média Crônica Não-Colesteatomatosa. Em B: Otite Média Crônica Colesteatomatosa

As semelhanças entre essas duas imagens são impressionantes, fato que não ocorre somente nestas fotos, mas que também é constante na prática clínica. Entretanto, é de se questionar por que no primeiro paciente o processo, até este momento, se estabilizou em uma retração severa, porém seca, e não se desenvolveu o colesteatoma, como no segundo paciente? Apesar dos muitos estudos já citados, os mecanismos que levariam ao surgimento de um colesteatoma, e não puramente à epitelização da orelha média, ainda não foram bem determinados.

Sabemos que, para o desenvolvimento do colesteatoma, uma das condições necessárias é o encontro de dois epitélios dentro da orelha média (Ferlito, 1997); parece-nos claro, porém, que esta condição é insuficiente.

Uma evidência de que há inúmeros fatores, intrínsecos e extrínsecos, envolvidos na formação de colesteatomas são os trabalhos experimentais com animais. Apesar de serem submetidos às mesmas condições, as cobaias não apresentam uma incidência plena de colesteatomas. Wright e col. (1985) conseguiram 39%; Wolfman e Chole (1986), 40,6%; Vassali e col. (1988), 54,1%; Huang e col. (1988), 76,1%; Jove e col. (1990), 75%; Meyerhoff e col. (1990), 66,6%; Sobol (1980), 53,5%; Pownell e col. (1994), 50%; Schimdt e Hellstrom (1994), 89,5%; White e col. (1995), 70,6% e Hueb (1997), 53,5%.

Dentre estes trabalhos, o de Hueb (1997) apresenta dados interessantes para a presente discussão. Este autor realizou um estudo experimental com chinchilas, tendo como objetivo o estabelecimento de um novo modelo animal para o desenvolvimento de colesteatoma através de uma perfuração timpânica, utilizando uma “ponte facilitadora” para a migração do epitélio ao interior da orelha média e um irritante tecidual (estímulo inflamatório). Nesse procedimento, em quase metade dos animais (46,5%) houve fechamento da perfuração da membrana timpânica através da migração de células do epitélio escamoso sobre a efusão organizada. Nos animais com maior sobrevivência, observou-se a recuperação da orelha média, após a interrupção do estímulo inflamatório. Hueb (1997) relata, ainda, que a presença de colesteatoma ocorreu, predominantemente, na bula timpânica anterior, região onde foi observada uma reação inflamatória mais intensa.

Parece-nos claro o envolvimento da inflamação na patogênese da OMCC, pois a persistência dessa poderia perpetuar o processo de cicatrização e proliferação epitelial na matriz do colesteatoma (Milewsky, 1998). Tomita (2000) afirma que a inflamação foi um fenômeno constante, na sua amostra em estudo, e sugere que essa talvez se constitua no único parâmetro que possa ser correlacionado com o caráter agressivo dos colesteatomas.

A partir dos resultados encontrados no presente estudo, demos início a um projeto, em desenvolvimento no AOMC-HCPA, com o objetivo de correlacionar os achados clínicos de inflamação macroscópica na orelha média de pacientes com otite média crônica colesteatomatosa, com o grau de inflamação dos exames histopatológicos, bem como com a espessura da perimatriz. Nossos dados preliminares (20 pacientes, 10 com menos de 18 anos) não demonstraram estas correlações. Quando analisamos a atividade da doença, através da otoscopia, 77% dos pacientes apresentavam inflamação acentuada (Dornelles e col., 2004). Estes achados, em conjunto com os relatados por Tomita (2000), poderiam indicar que a inflamação macroscópica da orelha média seria um fator desencadeante para o desenvolvimento dos colesteatomas.

A mobilização do sistema imunológico poderia estar envolvida no desenvolvimento da perimatriz; como sabemos, os processos inflamatórios estão presentes em todas as otites médias crônicas e, segundo a hipótese do continuum, não existem entidades patológicas específicas nas otites médias serosa, secretora, não-colesteatomatosa e colesteatomatosa, mas sim uma única doença, que atravessa estágios evolutivos crescentes de eventos epiteliais e subepiteliais. Considerando-se esse caminho contínuo, desde as otites médias serosas até a formação do colesteatoma, podemos dizer que a otite média crônica colesteatomatosa seria o epílogo dramático de um espetáculo dinâmico e grandioso.

Os estudos sobre a orelha contralateral em OMC sugerem que essa doença seja um evento constitucional e não isolado da orelha média (Scheibe, 2002). Muitos são os fatores que poderiam estar envolvidos na formação dos colesteatomas, tais como o estado de pneumatização da mastóide e a capacidade de aeração da tuba auditiva, podendo-se,

portanto, considerar a OMCC uma doença multifatorial. Hueb (1997) afirma que as variações observadas em seus resultados, referentes à quantidade de absorção da membrana de colágeno, à formação de colesteatoma, à presença de fibrose, à existência de perfuração da membrana timpânica e de granuloma de colesterol são sugestivas de diferenças inter-indivíduos entre os animais estudados. No entanto, com base em nossos achados sobre o grau histológico de inflamação, acreditamos que os processos e elementos inflamatórios são condição primordial e essencial para a formação e agressividade dos colesteatomas.

Parece-nos, por fim, que os processos vistos na perimatriz poderiam refletir uma intensidade da resposta inflamatória, a qual seria gerada por eventos na matriz do colesteatoma e na mucosa da orelha média.

Apesar de a espessura da perimatriz talvez não ser a melhor medida do processo inflamatório, pois essa poderia não representar a espessura real, visto que algumas seções poderiam ser resultantes de cortes oblíquos, esta situação é um artefato constante de toda técnica histológica, não sendo possível evitá-la. Além disso, como em um mesmo paciente foram encontradas áreas espessas e delgadas, não pudemos estabelecer um padrão de eqüidistância entre as medidas, apesar de termos feito uma varredura minuciosa de toda a lâmina, efetuando várias medidas (20) de cada amostra e de utilizarmos variáveis sumarizadoras dessas (média, mediana, valor mínimo, valor máximo, delta e soma), poderíamos, ainda assim, não ter uma representatividade da variação total do espécime; uma possibilidade para minimizarmos este fato teria sido a coleta de dados referentes à área total da perimatriz ao invés da sua espessura, porém este recurso foi inviabilizado em decorrência da própria irregularidade da perimatriz.

Estudos sobre o impacto dos mecanismos inflamatórios na OMCC e sobre o papel da perimatriz neste processo são necessários para elucidar tais questões, devendo ser o próximo passo nessa linha de pesquisa. Apesar de a técnica utilizada no presente estudo ser precisa para a medição da espessura da perimatriz, essa não é específica para detectar qual elemento está diminuído na sua estrutura. Para tanto, pretendemos dar seqüência a

esta investigação, avançando para a quantificação de elementos constituintes da perimatriz de colesteatomas adquiridos. Uma possibilidade para tais estudos é a medição das densidades relativas das células, acompanhada da comparação entre a proporção das células inflamatórias em diferentes faixas etárias. Outra opção seria a quantificação da vascularidade e a subsequente comparação dessa entre adultos e crianças. Devemos, é claro, mencionar que a análise dos colesteatomas, em âmbito molecular poderia nos esclarecer estas indagações.

## **7 - Conclusões**

7.1 Histologicamente, a perimatriz de colesteatomas adquiridos, de crianças e adultos, vista à microscopia óptica, apresentou-se como um tecido conjuntivo denso de espessura variável (intra e interpacientes) que, por vezes, exibia infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e/ou tecido de granulação e reação de corpo estranho. Em 21% dos casos mostrou-se delimitada em plano profundo por epitélio cubóide simples. Essa estrutura histológica não mostrou diferenças entre crianças e adultos, quando estudados comparativamente.

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

7.1.2 As espessuras da matriz e da perimatriz mostraram-se fortemente correlacionadas.

7.1.3 O grau de inflamação da perimatriz apresentou correlação, de moderada a forte, em relação à espessura da perimatriz. O grau de inflamação da perimatriz apresentou correlação inversa em relação à idade do paciente à cirurgia.

## Referências

1. ABRAMSON, M. Collagenolytic activity in middle ear cholesteatoma. *Ann. Otol.*, 1969, 78: 112-125.
2. ABRAMSON, M. Collagenase in the mechanisms of action of cholesteatoma. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 1971(a), 80(3): 414.
3. ABRAMSON, M.; GROSS, J. Further studies on a collagenase in middle ear cholesteatoma. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 1971(b), 80: 177-185.
4. ABRAMSON, M.; ASARCH, R.G.; LITTON, W.B. Experimental aural cholesteatoma causing bone resorption. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 1975, 84: 425-432.
5. ABRAMSON, M.; HUANG, C.C. Localization of collagenase in human middle ear cholesteatoma. *Laryngoscope*, 1976, 86: 771-791.
6. AHN, S.H.; OH, S.H.; CHANG, S.O.; KIM, C.S. Prognostic factors of recidivism in pediatric cholesteatoma surgery. *Int. J. Pediatric. Otorhinolaryngol.*, 2003, 67(12): 1325-1330.
7. ALBINO, A.P.; REED, J.A.; BOGDANY, J.K.; SASSOON, J.; DESLOGE, R.B.; PARISIÉ, S.C. Expression of p53 protein in human middle ear cholesteatomas: pathogenetic implications. *Am. J. Otol.*, 1998(a), 19(1): 30-6.
8. ALBINO, A.P.; KIMMELMAN, C.P.; PARISIÉ, S.C. Cholesteatoma: a molecular and cellular puzzle. *Am. J. Otol.*, 1998(b), 19: 7-19.
9. AUMENTE, P.O.; BUJIA, J.; KIM, C.; JIMENEZ-GIMENEZ, J.; LOPEZ-VILLAREJO, P. Estudio cuantitativo de la presencia de interleucina-1 e interleucina-6 en el colesteatoma de oído medio. *Acta Otorrinolaringol Esp.*, 1996, 47(4):259-262.
10. AXON, P. R.; FERGIE, N.; SAEED, S. R.; TEMPLE, R. H.; RAMSDEN, R. T. Petrosal Cholesteatoma: Management considerations for minimizing morbidity. *The Am. J. Otol.*, 1999, 20(4): 505-510.
11. BAAK, J.P.A. *Manual of quantitative pathology in cancer diagnosis and prognosis.* Springer-Verlag, 1991.



12. BERISIO, R.; VITAGLIANO, L.; MAZZARELLA, L.; ZAGARI, A. Crystal structure of the collagen triple helix model [(Pro-Pro-Gly)<sub>10</sub>]<sub>3</sub>. *Protein Science*, 2002, 11: 262-270.
13. BERNAL SPREKELSEN, M.; EBMEYER, J.; ANTONOPOULOS, A.; BORKOWSKI, G.; SUDHOFF, H. Alterations of the basal membrane in middle ear cholesteatoma. *Acta Otorrinolaringol Esp*, 2001, 52(4): 330-335.
14. BOLLMANN, R.; KOPP, U., TOLSDORFF, P. DNA cytometric studies of cholesteatoma of the middle ear. *HNO*, 1991, 39: 313-314.
15. BRANDOW, E.C. Jr. Surgical procedure for the mastoid cavity problem. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 1980, 88(5): 622-524.
16. BRETLAU, P.; JORGENSENS, M.B.; SORENSES, C.H.; DABELSTEEN, E. Bone resorption in human cholesteatomas. *Ann. Otol.*, 1982, 91: 131-135.
17. BROEKAERT, D.; COUCKE, P.; LEPERCQUE, S.; RAMAEKERS, F.; Van MUIJEN, G.; BOEDTS, D.; LEIGH, I.; LANE, B. Immunohistochemical analysis of the Cytokeratin expression in middle ear cholesteatoma and related epithelial tissues. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 1992, 101: 931-938.
18. BUJIA, J.; SCHILING, V.; HOLLY, A.; STAMMBERGER, M. KASTENBAUER, E. Hyperproliferation-associated keratin expression in human middle ear cholesteatoma. *Acta Otolaryngol.*, 1993, 113: 364-368.
19. BUJIA J; HOLLY A; ANTOLI-CANDELA F; TAPIA MG Immunobiological peculiarities of cholesteatoma in children: quantification of epithelial proliferation by MIB1. *Laryngoscope*, 1996(a), 106(7): 865-8
20. BUJIA J; KIM C; OSTOS P; KASTENBAUER E; HULTNER L Role of interleukin 6 in epithelial hyper proliferation and bone resorption in middle ear cholesteatomas *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, 1996(b), 253(3): 152-7
21. CALDAS, N.; CALDAS, S. Considerações sobre colesteatomas residuais e iatrogênicos. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, 1988, 54: 51-53.
22. CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. *Bioquímica Ilustrada*. 2ª Ed. Editora Artes Médicas, 1996.
23. CHAO, W.Y.; SHEN, C.L. Ultrastructure of the middle ear mucosa in patients with chronic otitis media with cholesteatoma. *Arch. Otorhinolaryngol.*, 1996, 253(1-2): 56-61.
24. CHOLE, R.A. The molecular biology of bone resorption due to chronic otitis media. *Ann. New York Acad. Sci.*, 1997, 830: 95-109.
25. CHOLE, R.A.; HUGHES, R.M.; FADDIS, B.T. Keratin particle-induced osteolysis: a mouse model of inflammatory bone remodeling related to cholesteatoma. *J. Assoc. Res. Otolaryngol.*, 2001(a), 2(1): 65-71.
26. CHOLE, R.A.; FADDIS, B.T.; CHAMBERLAIN, S.; MAGILKE, D. Invasiveness of fibroblasts from experimental cholesteatomas. *Otol. Neurol.*, 2001(b), 22(1): 15-17.

27. CHOLE, R.A.; FADDIS, B.T. Evidence for microbial biofilms in cholesteatomas. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 2002, 128: 1129-1133.
28. COSTA, S.S. Contribuição ao Estudo das Otites Médias Crônicas. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, 1991.
29. COSTA, S.S.; de SOUZA, L.C.A.; ANDRADE, M.I. Procedimentos sobre o temporal – revisando a nomenclatura. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, 1991, 57(4): 170-179.
30. COSTA, S.S.; ROITHMANN, R.; MATHEUS, M.C. A patogênese dos colesteatomas. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, 1992, 57(4): 30-35.
31. COSTA, S.S.; HUEB, M.M.; RUSCHEL, C. Otite média crônica colesteatomatosa. In: CRUZ, O.L.; COSTA, S.S. *Otologia Clínica e Cirúrgica*. Ed. Revinter, 1999.
32. CRUZ, O.L.; COSTA, S.S. *Otologia Clínica e Cirúrgica*. Ed. Revinter, 1999.
33. CRUZ, O.L.; KASSE, C.A.; LEONHART, F.D. Efficacy of surgical treatment of chronic otitis media. *Otolaryngol. Head and Neck Surg.*, 2003, 1: 263-266.
34. CUREOGLU, S. Immunohistochemistry and histopathological assessment of the cholesteatoma of the ear. *Otol. Neurotol.*, 2004, 25(3): 416-417.
35. DARROUZET, V.; DUCLOS, J.Y.; PORTMANN, D.; BEBEAR, J.P. Preference for the closed technique in the management of cholesteatoma of the middle ear in children: a retrospective study of 215 consecutive patients treated over 10 years. *Am. J. Otol.*, 2000, 21(4): 474-481.
36. DERLACKI, E.L.; CLEMIS, J.D. Congenital cholesteatoma of the middle ear and mastoid. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 1965, 74:706-727. In: CRUZ, O.L.; COSTA, S.S. *Otologia Clínica e Cirúrgica*. Ed. Revinter, 1999.
37. DESLOGE, R.B.; CAREW, J.F.; FINSTAD, C.L.; STEINER, M.G.; SASSOON, J.; LEVENSON, M.J.; STAIANO-COICO, L.; PARISIER, S.C.; ALBINO, A.P. DNA analysis of human cholesteatomas. *Am. J. Otol.*, 1997(a), 18(2): 155-159.
38. DESLOGE, R.B.; FINSTAD, C.L.; SASSOON, J.; HAN, J.C.; PARISIER, S.C.; ALBINO, A.P. Altered regulation of cell surface peptidases in human cholesteatoma. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 1997(b), 116(1): 58-63.
39. DORNELLES, C.; WEBER, R.; SCHIMDT, V.B.; SCHIMDT, L.; DALL'IGNA, D.; CARVALHAL, L.H.S.K.; KRUSE, L.; COSTA, S.S. Descrição da cadeia ossicular no trans-operatório de pacientes com otite média crônica. *Pesquisa: Logos e Práxis*. Unidade de Pesquisa do Instituto de Cardiologia, 2002, p. 221.
40. DORNELLES, C.; COSTA, S.S.; LAUX, M.; WEBER, R. Estudo comparativo da dissolução de três diferentes marcas de colágeno utilizadas em técnicas cirúrgicas otológicas. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, 2003, 69(6):744-751.
41. DORNELLES, C.; HEMB, L.; SCHWEIGER, C.; MATTER, R. SMITH, M.; SCHIMDT, L.; COSTA, S.S. Epidemiologia dos pacientes pediátricos do ambulatório de otite média crônica no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (AOMC-HCPA). *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, 2004a, no prelo.
42. DORNELLES, C.; COSTA, S.S.; MEURER, L.; COELHO, A.; CURSINO, A. Correlação entre a inflamação clínica e a espessura da perimatriz de

colestatomas adquiridos. Revista On-Line do HCPA, [www.hcpa.ufrgs.br](http://www.hcpa.ufrgs.br), 2004b.

43. DURKO, M.; KACZMARCZYK, D. Proliferation activity and apoptosis in granulation tissue and cholesteatoma in middle ear reoperations. *Folia Morphol*, 2004, 63(1): 119-121.
44. EDELSTEIN, D.R.; PARISIER, S.C.; AHUJA, G.S. Cholesteatoma in the pediatric age group. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 1988, 97: 23-29.
45. EDELSTEIN, D.R., Acquired cholesteatoma in pediatric age group. *The Otolaryngol. Clin. North Am.*, 1989, 22(5): 955-964.
46. ERGUN, S.; ZHENG, X.; CARLSOO, B. Antigen expression of epithelial markers, collagen IV and Ki-67 in middle ear cholesteatoma. An immunohistochemical study. *Acta Otolaryngol.*, 1994, 114 (3): 295-302.
47. FERLITO, O.; DEVANEY, K.O.; RINALDO, A.; MILROY, C.; WENIG, B.; IURATO, S.; McCabe, B.F. Clinicopathological consultation ear cholesteatoma versus cholesterol granuloma. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 1997, 106:79-85.
48. FISCH, U. Intracranial complications of cholesteatoma. In: Swartz, J. D. *Colesteatomas of the middle ear. Diagnosis, etiology and complications.* *Radiol. Clin. North. Am.*, 1984, 22: 15-34.
49. FRIEDMANN, I. Epidermoid cholesteatoma and granuloma. *Ann Otol. Rhin. Laryngol.*, 1959, 68:57-59.
50. GANTZ, B.F.; MAYNARD, J.; BUMSTEAD, R.M.; HUANG, C.C.; ABRAMSON, M. Bone resorption in chronic otitis media. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 1979, 88: 639-700.
51. GLASSCOCK, M.E.; KANOK, M.M. Tympanoplasty – a chronological history. *Otolaryngol. Clin. North Am.*, 1977, 10(3): 469-477.
52. GLASSCOCK, M.E.; DICKINS, J.F.E.; WIET, R. Cholesteatoma in children. *Laryngoscope*, 1981, 91: 1743-1753.
53. GOYCOOLEA, M.V.; HUEB, M.M.; MUCHOW, D. PAPARELLA, M.M. The theory of trigger, the bridge and the transmigration in the pathogenesis of acquired cholesteatoma. *Acta Otolaryngol.*, 1999, 119(2), 244-248.
54. HAMZEI, M.; VENTRIGLIA, G.; HAGNIA, M.; ANTONOPOLOUS, A.; BERNAL-SPREKELSON, M. DAZERT, S.; HILDMANN, H. SUDHOFF, H. Osteoclast stimulating and differentiating factors in human cholesteatoma. *Laryngoscope*, 2003, 113(3): 436-442.
55. HANSEN, T.; UNGER, R.E.; GAUMANN, A. HUNDORF, I.; MAURER J.; KIRKPATRICK, J. KRIEGSMANN, J. Expression of matrix-degrading cysteine proteinase cathepsin K in cholesteatoma. *The United States and Canadian Academy of Pathology*, 2001, 14(12): 1226 – 1231.
56. HARTWEIN, J.; HORMANN, K. A technique for the reconstruction of the posterior canal wall and mastoid obliteration in radical cavity surgery. *Am. J. Otol.* 1990, 69(6): 333-336.

57. HASSMANN-POZNANSKA, E.; SKOTNICKA, B.; DZIECIOL, J. Markers of epidermal proliferation in middle ear cholesteatoma. *Otolaryngol. Pol.*, 2003, 57(4): 505-511.
58. HEMB, L.; SCHWEIGER, C.; MATTER, R.; DORNELLES, C.; SMITH, M.; SCHMIDT, L.; COSTA, S.S. Papel da via de formação do colesteatoma na orelha contralateral em pacientes pediátricos do AOMC-HCPA. *Revista On-Line do HCPA*, [www.hcpa.ufrgs.br](http://www.hcpa.ufrgs.br), 2003.
59. HILDMANN, H.; SUDHOFF, H.. Cholesteatoma in children. *Int. J. Ped. Otor.*, 1999, 49(1): S81-S83.
60. HUEB, M.M. Colesteatoma adquirido: avanços experimentais na compreensão de sua patogênese. Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1997.
61. IWANAGA, M.; YAMAMOTO, E. Collagenase activity in cholesteatoma. *Otorhinolaryngology (Basel)*, 1983, 45: 166-175. In QUARANTA, A.; RESSA, L.; SANTANGELO, A. Otomastoid cholesteatoma in children: histopathological findings. *Int. J. Pediatric Otorhinolaryngol.*, 1986, 12(2): 121-126.
62. JACOB, R.; WELKOBORSKY, H.J.; MANN, W. Epithelium-stroma interaction in cholesteatoma of the middle ear. *Laryngorhinootologie*, 2001, 80(1): 11-17.
63. JAHNKE, V. and FALK, W. Clinical, pathological and therapeutic aspects of cholesteatoma in children. *Laryngol. Rhinol. Otol.*, 1976, 55(7): 556-60.
64. JANSEN, C: Cholesteatoma in children. *Clin. Otolaryngol.*, 1978, 3: 249-352.
65. JUNQUEIRA, L.C. E CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. Editora Guanabara, Rio de Janeiro, 1985.
66. JUNG, J.; CHOLE, R. Bone resorption in chronic otitis media: the role of the osteoclast. *ORL*, 2002, 64: 95-107.
67. JUNH, S.K.; PAPARELLA, M. Pathogenesis of otitis media. *Ann. Rhinol. Otol. Laryngol.*, 1976, 85(25): 8-11. In SCHEIBE, A.B.; SMITH, M.M.; SCHMIDT, L.P.; SCHMIDT, V.B.; DORNELLES, C.; CARVALHAL, L.H.S.K.; KRUSE, L.; COSTA, S.S. Estudo da orelha contralateral na otite média crônica: "Efeito Orloff". *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, 2002, 68(2): 245-249.
68. KIM, C.S. e CHUNG, J.W. Morphologic and biologic changes of experimentally induced cholesteatoma in Mongolian gerbils with anticytokeratin and lectin study. *Am. J. Otol.*, 1999, 20(1):13-18.
69. KRAMER, R.Z.; BELLA, J.; BRODSKY, B.; BERMAN, H.M. The crystal and molecular structure of a collagen-like peptide with a biologically relevant sequence. *J. Mol. Biol.*, 2001, 311: 131-147.
70. KUIJPERS, W.; VERNIX, P.P.; PETERS, T.A.; RAMAEKERS, F.C. Squamous metaplasia of the middle ear epithelium. *Acta Otolaryngol*, 1996, 116: 293-298.
71. KURIHARA, A.; TOSHIMA, M.; YUASA, R.; TAKASAKA, T. Bone destruction mechanisms in chronic otitis media with cholesteatoma: specific production by cholesteatoma tissue in culture of bone-resorbing activity attributable to interleukin-1 alpha. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1991, 100(12): 989-98.

72. LEPERCQUE, S.; BROEKAERT, D.; Van COWWENBERGE, P. Cytokeratin expression patterns in the human tympanic membrane and external ear canal. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, 1993, 250: 78-81.
73. LIM D.J. e SAUNDERS W.E. Acquired cholesteatoma: light and electron microscopic observations. *Ann Otol*, 1972, 81: 2-12.
74. LINO, Y.; IMAMURA, Y.; KOJIMA, C.; TAKEGOSHI, S.; SUZUKI, J.I. Risk factors for recurrent and residual cholesteatoma in children determined by second stage operation. *Int. J. Pediatric. Otorhinolaryngol.*, 1998, 46(1-2): 57-65.
75. MAFEE, M. MRI and CT in the evaluation of acquired and congenital cholesteatomas of temporal bone. *J. Otolaryngol.*, 1993, 22: 239-248. In TESSA, J.R.G.; VIVENTE, A.O.; ABREU, C.E.C.; BENDASSAT, S.F.; ANTUNES, M.L.; BARROS, F.A. Colesteatoma causando paralisia facial. *Rev. Bras. de Otorrinolaringol.*, 2003, 69(5): 657 – 662.
76. MARENDA, B.A. e AUDFEMORTE, T.B. Localization of cytokines in cholesteatoma tissue. *Otolaryngol. Head Neck. Surg.*, 1995, 112 (3): 359-368.
77. MARCATO, P.; GIURITTI, P.; POZZO, T.; VITIELLO, R.; VALENTE, G.; GIORDANO, C.; SARTORIS, A. Chronic cholesteatomatous otitis media: the histopathological and clinical aspects. *Acta Otorhinolaryngol. Ital.*, 1991 11(5): 465-470.
78. MATTER, R.; SCHWEIGER, C.; HEMB, L.; SMITH, M.; SCHMIDT, L.; DORNELLES, C.; COSTA, S.S.. Estudo da orelha contralateral na otite média crônica, em pacientes pediátricos. *Revista On-Line do HCPA*, [www.hcpa.ufrgs.br](http://www.hcpa.ufrgs.br), 2003.
79. MAYOT, D.; BÉNÈ, M.C.; FAURE, G.C.; WAYOFF, M.; PERRIN, C. Immunohistologic analysis of the cholesteatoma matrix in children. *Int. J. Pediatric. Otorhinolaryngol.*, 1991, 22(2):115-24.
80. MICHAELS, L. Biology of cholesteatoma. *Otolaryngol. Clin. North Am.*, 1989, 22(5): 869-881.
81. MILEWSKI, C. Role of perimatrix fibroblast in development of acquired middle ear cholesteatoma. A hypothesis. *HNO*, 1998(a), 46(5): 494-501.
82. MILEWSKI, C.; FEDOROWSKI, A.; STAN, A.C.; WALTER, G.F. Basic fibroblast growth factor (b-FGF) in the perimatrix of cholesteatoma. *HNO*, 1998(b), 46(9): 804-808.
83. MINOTTI, A.M.; KOUNTAKIS, S.E.; LEIGHTON, W.R.; CABRAL, F.R. Effects of extracellular calcium on cholesteatoma migration and adhesion in vitro. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 1996, 115(5): 458-63
84. MITROVIC, M.; HARALAMPIEV, K.; DCINIC, M. Problems in diagnosis and treatment of cholesteatoma in children. *Int. J. Ped. Otor.*, 1991, 21(2): 149-153.
85. MOLL, R.; FRANKE, V.W.; SCHILLER, D.L. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell*, 1982, 31: 11-24.

86. MUTLU, C.; KHASHABA, A.; SALEH, E. Surgical treatment of cholesteatoma in children. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 1993, 113: 56-60.
87. NAIR, S.; WATTS, S.; FLOOD, L. Fibroblast growth factor receptor expression in aural polyps: predictor of cholesteatoma? *J. Laryngol. Otol.*, 2004, 118(5): 338-342.
88. OLSZEWSKA, E.; WAGNER, M.; BERNAL-SPREKELSEN, M. EBMEYER, J.; DAZERT, S.; HILDMANN, H.; SUDHOFF, H. Etiopathogenesis of cholesteatoma. *Eur. Arch Otorhinolaryngol.*, 2004, 261(1): 6-24.
89. OKUYAMA, K.K.; OKUYAMA, S.; ARNOTT, M.; TAKAYANAGI, M.; KAKUDO. Crystal structure of the collagen-like polypeptide (Pro-Pro-Gly)<sub>10</sub>. *J. Mol. Biol.*, 1981, 152(2):427-443.
90. PALUDETTI, G.; ALAMADORI, G.; OTTAVIANI, F.; ROSIGNOLI, M.; ROSSODIVITA, M. D'ALATRI, L. Ultrastructural aspects of cholesteatoma of the middle ear. *Acta Otorhinolaryngol. Ital.*, 1989, 9(2): 169-180.
91. PALVA, A.; KARMA, P.; KÄRJÄ, J. Cholesteatoma in children. *Arch. Otolaryngol.*, 1997, 103(2): 74-77.
92. PALVA, T.; NORTHROP, C.; RAMSAY, H. Effect of amniotic fluid cellular content on attic aeration pathways. Histologic observations on infants aged 2 to 4 months. *Am. J. Otol.*, 2000, 21(1): 62-70.
93. PAPARELLA, M.M.; HIDAIDE, F.; JUHN, S.K.; KANECO, J. Cellular events involved in middle ear fluid production. *Ann. Rhinol. Otol. Laryngol.*, 1970, 79(4):389-397.
94. PAPARELLA, M.M.; MORIS, M.S; COSTA, S.S. A one stage compromise of the open vs closed method. The IBM Procedure, Proco of the Third Intern Conf on Cholesteatoma and Mastoid Surg. Amsterdam: Kluger Publications, 1988.
95. PEEK, F.A.; HUISMAN, M.A.; BERCKMANS, R.J.; STURK, A.; VAN LOON, J.; GROTE, J.J. Lipopolysaccharide concentration and bone resorption in cholesteatoma. *Otol. Neurotol.*, 2003, 24(5): 709-713.
96. PEREIRA, C.S.B. Análise de estudos da expressão das citoqueratinas no colesteatoma adquirido. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, 1997.
97. PEREIRA, C.S.B.; ALMEIDA, C.I.R.; VIANNA, M.R. Imunoexpressão da citoqueratina 16 e do antígeno nuclear Ki-67 no colesteatoma adquirido da orelha média. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, 2002, 68(4): 453-460.
98. PILTCHER, O. Um novo modelo experimental para investigação da otite média com efusão e sua aplicação no estudo das citocinas durante as diferentes fases dessa doença. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, 2000.
99. PRESCOTT, C.A.J. Cholesteatoma in children – the experience at The Red Cross War Memorial Childrens Hospital in South Africa 1988-1996. *Int. J. Pediatric. Otorhinolaryngol.*, 1999, 49(1):15-9.

100. QUARANTA, A.; RESSA, L.; SANTANGELO, A. Otomastoid cholesteatoma in children: histopathological findings. *Int. J. Pediatric. Otorhinolaryngol.*, 1986, 12(2): 121-126.
101. QUARANTA, A.; CASSANO, P.; CARBONARA, G. Cholesteatoma surgery: open vs closed tympanoplasty. *Am. J. Otol*, 1988, 9(3): 229-231.
102. RATNESAR, P. Aeration: a factor in the sequels of chronic ear disease along the Labrador and northern Newfoundland Coast, 1977. In OLSZEWSKA, E.; WAGNER, M.; BERNAL-SPREKELSEN, M. EBMEYER, J.; DAZERT, S.; HILDMANN, H.; SUDHOFF, H. Etiopathogenesis of cholesteatoma. *Otology*, 2004, 261(1): 6-24.
103. RIGNÉR, P.; RENVALL, U.; TJELLSTROM, A. Late results after cholesteatoma surgery in early childhood. *Int. J. Ped. Otorhinolaryngol.*, 1991, 22(2): 213-218.
104. RUAH, C.B.; SCHACHEM, P.A.; PAPARELLA, M.M.; ZELTERMAN, D. Mechanisms of retraction pocket formation in the pediatric tympanic membrane. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 1992, 118(12): 1298-1305.
105. SADÉ, J.; BERCO, E. Bone destruction in chronic otitis media. A histopathological study. *J. Laryngol Otol*, 1974, 88(5): 413-422.
106. SADÉ, J.; HALEVY, A. The aetiology of bone destruction in chronic otitis media. *J. Laryngol. Otol.*, 1974, 88(2): 139-143.
107. SADÉ, J.; FUCHS, C. Cholesteatoma: ossicular destruction in adults and children. *J. Laryngol. Otol.*, 1994, 108(7): 541-544.
108. SALEH, H.A.; MILLS, R.P. Classification and staging of cholesteatoma. *Clin. Otolaryngol.*, 1999, 24: 355-359.
109. SANNA, M.; MAZZONI, A.; LANDOLFI, M.; ARISTEGNI, M. Treatment of petrous bone cholesteatoma. *Acta Otorrinolaringol. Esp.*, 1994, 45:143-152.
110. SCHEIBE, A.B.; SMITH, M.M.; SCHMIDT, L.P.; SCHMIDT, V.B.; DORNELLES, C.; CARVALHAL, L.H.S.K.; KRUSE, L.; COSTA, S.S. Estudo da orelha contralateral na otite média crônica: "Efeito Orloff". *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, 2002, 68(2): 245-249.
111. SCHMIDT, S.H.; HELLSTROM, S. Experimental cholesteatoma in the rat. *Acta Otolaryngol. (Stockh)*, 1994, 114: 430-434.
112. SCHMIDT, V.; DORNELLES, C.; WEBER, R.; SCHIMDT, L.; DALL'IGNA, D.; CARVALHAL, L.; KRUSE, L.; COSTA, S.S.. Perda auditiva condutiva na otite média crônica com perfuração central ou marginal. *Pesquisa: Logos e Praxis. Unidade de Pesquisa do Instituto de Cardiologia*, 2002, p. 220.
113. SCHORDER, N.W.; HEINE, H.; ALEXANDER, C.; MANUKYAN, M.; ECKERT, J.; HAMANN, L. Lipopolysaccharide binding protein binds to triacylated and diacylated lipopeptides and mediates innate immune responses. *J. Immunol.*, 2004, 173(4): 2683-2691.
114. SCHUKNECHT, H.F. *The pathology of the ear*. Cambridge: Harvard University, 1974.
115. SCHUKNECHT, H.F. Myringoplasty. *Clin Otolaryngol.*, 1976, 1(1): 53-65.

116. SCHWEIGER, C.; HEMB, L.; MATTER, R.; SCHMIDT, L.; SMITH, M.; DORNELLES, C.; COSTA, S.S. Perda auditiva sensorineural em crianças com otite média crônica. Revista On-Line do HCPA. www.hcpa.ufrgs.br, 2003.
117. SCULERATI, N.; BLUESTONE, C. Pathogenesis of cholesteatoma. The Otol. Clin. North Am., 1989, 22 (5): 859-868.
118. SHAMBAUGH, G.E. Jr. Endocrine aspects of Meniere's disease. Laryngoscope, 1959, 69: 1027-1032.
119. SHEEHY, J.L. Management of cholesteatoma in children. Adv. Oto-Rinolaryng, 1978, 23: 58-64.
120. SHEEHY, J.L. Management of cholesteatoma in children. Am. J. Otol., 1985, 6: 170-172.
121. SHEEHY, J.L.; BRACKMANN, D.E.; GRAHAM, M.D. Cholesteatoma surgery: residual and recurrent disease. A review of 1.024 cases. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol., 1977, 86(4): 451-462.
122. SHINODA, H.; HUANG, C.C. Expressions of c-jun and p53 proteins in human middle ear cholesteatoma: relationship to keratinocyte proliferation, differentiation and programmed cell death. Laryngoscope, 1995, 105(11): 1232-1237.
123. SIEN, K.C.Y. Cholesteatoma in children. Pediatric Clin. North Am., 1996, 43(6): 1245-1252.
124. SMYTH, G.D. Postoperative cholesteatoma in combined approach tympanoplasty. Fifteen year report on tympanoplasty. Laryngol. Otol., 1976, 90(7):597-621.
125. SMYTHE, J. L.; BRACHMAN, D.; GRAHM, M. Complications of cholesteatoma: A report on 1.024 cases. In: Swartz, J. D. Colesteatomas of the middle ear. Diagnosis, etiology and complications. Radiol. Clin. North Am., 1984, 22: 15-34.
126. SOBOL, S.M. Intramembranous and mesotympanic cholesteatomas associated with an intact tympanic membrane in children. Ann. Otol, 1980, 98:312-317. In CRUZ, O.L.; COSTA, S.S. Otologia Clínica e Cirúrgica. Ed. Revinter, 1999.
127. SPREKELSEN, B.M.; EBMEYER, J.; ANONOPOULOS, A.; SUDHOFF, H.; Alteraciones de la membrana basal en el colesteatoma de oído medio. Acta Otor. Esp., 2001, 52: 330-335.
128. STANKOVIC, M. Results of cholesteatoma surgery: the influence of age. Int. Congress Series, 2003, 1240: 133-137.
129. STRYER, L. Bioquímica. 4ª Ed. Rio de Janeiro. Editora Guanabara, 1996.
130. SUDHOFF, H.; BUJIA, J.; BORKOWSKI, G.; KOC, C.; HOLLY, A.; HILDMANN, H.; FISSELER-ECKHOFF, A. Basement membrane in middle ear cholesteatoma. Immunohistochemical and ultrastructural observations. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol., 1996, 105: 804-810.
131. SUDHOFF H; BORKOWSKI G; BUJIA J; HILDMANN, H. Immunhistochemische Untersuchungen Von Mittelohrschleimhautresten im Cholesteatom. HNO, 1997, 45(8): 630-5.



132. SUDHOFF, H.; TOS, M. Pathogenesis of attic cholesteatoma: clinical and imunohistochemical support for combination of retraction theory and proliferation theory. *Am. J. Otol.*, 2000(a), 21: 786-792.
133. SUDHOFF, H.; DAZERT, S.; GONZALES, A.M.; BORKOWSKI, G.; PARK, S.Y.; BAIRD, A.; HILDMANN, H.; RYAN, A.F. Angiogenesis and angiogenic growth factors in middle ear cholesteatoma. *Am. J. Otol.* , 2000(b), 21: 793-798.
134. SUDHOFF, H.; LIEBEHENZ, Y.; ASCHENBRENNER, J. EUTENEURER, S.; EBMEYER, J.; BERNAL-SPREKELSEN, M.; STARK, T.; DAZERT S. Expression of osteoclast stimulating and differentiating factors in a murine model of localized inflammatory bone resorption. *Laryngorhinootologie*, 2004, 83(1): 14-19.
135. SWARTZ, J. D. Colesteatomas of the middle ear. Diagnosis, Etiology and Complications. *Radiol. Clin. North Am.*, 1984, 22: 15-34.
136. TANAKA, Y.; SHIWA, M.; KOJIMA, H.; MIYAZAKI, H.; KAMIDE, Y.; MORIYAMA, H. A study on epidermal proliferation ability in cholesteatoma. *The Am. Laryngol. Rhinol. Otol. Society*, 1998, 4: 537-542.
137. TESSA, J.R.G.; VIVENTE, A.O.; ABREU, C.E.C.; BENDASSAT, S.F.; ANTUNES, M.L.; BARROS, F.A. Colesteatoma causando paralisia facial. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, 2003, 69(5): 657-662.
138. THOMPSEN, J. Bone resorption in chronic otitis media. In: McCabe, B.F.; Sade, J e Abramson, M. eds. Cholesteatoma: first international conference. Aescupulus Publishing Co.: Birmingham Ala p. 136, 1977.
139. TOMITA, S. Aspectos moleculares do colesteatoma – imunoexpressão das proteínas controladas do ciclo celular: p53, BAX e BCL-2. SP Tese de Doutorado. Escola Paulista de Medicina, 2000.
140. TONER, J.G.; SMYTH, G.D.L. Surgical treatment of cholesteatoma: a comparison of three techniques. *Am. J. Otol.*, 1990, 11(4): 247-249.
141. TOS, M: Treatment of cholesteatoma in children: a long-term study of results. *J. Otol.*, 1983, 4: 189-197.
142. TOS, M: Incidence, etiology and pathogenesis of cholesteatoma in children: a long-term study of results. *Otol. Rhinol. laryngol.*, 1988, 40: 110-117.
143. TOS, M: Recurrence and the condition of the cavity after surgery for cholesteatoma using various techniques. Kugler and Ghedini, 1989. In OLSZEWSKA, E.; WAGNER, M.; BERNAL-SPREKELSEN, M. EBMEYER, J.; DAZERT, S.; HILDMANN, H.; SUDHOFF, H. Etiopathogenesis of cholesteatoma. *Eur. Arch Otorhinolaryngol.*, 2004, 261(1): 6-24.
144. TOS, M: A new pathogenesis of mesotympanic (congenital) cholesteatoma. *Laryngoscope*, 2000, 110(11): 1890-1897.
145. TOS, M. Manual of middle ear surgery. Thieme, Stuttgart, New York, 1993. In OLSZEWSKA, E.; WAGNER, M.; BERNAL-SPREKELSEN, M. EBMEYER, J.; DAZERT, S.; HILDMANN, H.; SUDHOFF, H. Etiopathogenesis of cholesteatoma. *Eur. Arch Otorhinolaryngol.*, 2004, 261(1): 6-24.

146. VALVASSORI, G.E. Benign tumors of the temporal bone. *Radiol. Clin. North Am.*, 1974, 12: 533-542. In CRUZ, O.L.; COSTA, S.S. *Otologia clínica e cirúrgica*. Ed. Revinter, 1999.
147. VARTIAINEN, E. Fate of patients with bilateral cholesteatoma. *Am. J. Otolaryngol.*, 1993, 14(1): 49-52.
148. VENNIX, P.P; KUIJPERS, W.; PETERS, T.A.; TONNAER, E.L.; RAMAEKERS, F.C. Keratinocyte differentiation in acquired cholesteatoma and perforated tympanic membranes. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 1996, 122: 825-832.
149. WYSOCKI, A.; SCHULTZ, G.; PARKS, W.C. Proteinases e feridas: vantagens e desvantagens. *Revista Pelle Sana Soc. Bras. de Enfermagem em Dermatologia*, 1998, 1(1): 27-28.

### **PARTE III - ANEXOS**

**Comparação da espessura da perimatriz, de colesteatomas adquiridos, entre  
pacientes pediátricos e adultos**

*\*Cristina Dornelles, \*\*Sady S. da Costa, \*\*\*Luíse Meurer e \*\*\*\*Cláudia Schweiger*

\*Bióloga no Centro de Otite Média do Brasil, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia da UFRGS, Mestranda do curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

\*\*Médico Otolologista, Doutor em Cirurgia, Professor Adjunto no Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia e dos cursos de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria e Pós-Graduação em Ciências Médicas: Cirurgia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

\*\*\* Médica Patologista, Doutora em Ciências em Gastroenterologia; Médica Contratada do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre; Professora Orientadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Gastroenterológicas

\*\*\*\* Acadêmica de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Bolsista do Centro de Otite Média do Brasil - ComBr

Centro de Otite Média do Brasil – ComBr

Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria

Serviço de Otorrinolaringologia - Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA

Serviço de Patologia - Hospital de Clínicas de Porto Alegre – HCPA

Autora para Correspondência:

Cristina Dornelles

Rua Cangussu, 1343 - Porto Alegre - RS – 90830-010 - (51) 32492275

[cristinadornelles@hotmail.com](mailto:cristinadornelles@hotmail.com)

## Resumo

### ***Comparação da espessura da perimatriz, de colesteatomas adquiridos, entre pacientes pediátricos e adultos***

**Introdução:** Os colesteatomas podem ocorrer tanto em crianças como em adultos, porém nas crianças apresentam um crescimento mais agressivo e extenso. **Objetivo:** Comparar a espessura da perimatriz, em  $\mu\text{m}$ , entre colesteatomas adquiridos de crianças e de adultos. **Métodos:** Estudamos 74 colesteatomas, 35 pediátricos, coletados em cirurgias otológicas, fixados em formol 10% e preparadas uma lâmina em Hematoxilina-Eosina (HE) e outra em Picrossírios, para análise ao microscópio óptico. A leitura foi “cega”, através de imagens digitais, no *ImagePro Plus*. A análise estatística foi realizada através do coeficiente de Spearman, sendo considerados como estatisticamente significativos os valores de  $P < 0,05$ . **Resultados:** Dos 74 colesteatomas coletados, 17 foram excluídos, sete do grupo pediátrico e dez do adulto. A média $\pm$ dp da idade, no grupo pediátrico, foi de  $12,85 \pm 3,63$ ; e, no adulto,  $33,69 \pm 13,10$ . A espessura da perimatriz, nas crianças, apresentadas por mediana (intervalo interquartil) foi: média=79(41 a 259); mediana=77(40 a 265); soma=1.588(831 a 5.185); delta=82(44 a 248); mínimo=53(16 a 165) e máximo=127(64 a 398); já nos adultos foram: média=83(26 a 174); mediana=68(30 a 181); soma=1.801(558 a 3.867); delta=92(45 a 190); mínimo=27(12 a 100) e máximo=136(53 a 280). O coeficiente de Spearman mostrou correlação inversa, fraca ( $r_s = - 0,28$  ;  $P < 0,05$ ), entre a espessura da perimatriz e a idade. **Conclusão:** Há evidências de que haja uma correlação inversa, de fraca a moderada, entre a espessura da perimatriz de colesteatomas adquiridos e a idade do paciente na data da cirurgia.

Palavras-Chave:

Colesteatoma, Colágeno, Perimatriz

## Summary

### **Comparison of acquired cholesteatoma's perimatrix thickness between adults and children**

Introduction: Cholesteatoma may occur either in children as in adults; in children, however, they have a more aggressive and extensive growth. Objective: To compare the thickness of the perimatrix, in  $\mu\text{m}$ , between adults (>18 years old) and children cholesteatomas. Methods: 74 cholesteatomas (35 of children) obtained from otologic surgeries were included, fixed in formol 10%. It was made laminas with HE and Picrossisus, with were studied at the optic microscope. We obtained digital images of the laminas at the Image Pro-Plus and we used Spearman's coefficient for data analysis. Differences were considered statistically significant if  $p < 0,05$ . Results: We obtained 74 cholesteatomas, but 17 (7 pediatrics and 10 adults) were excluded. Mean age $\pm$ sd was  $12,85 \pm 3,63$  in children and  $33,69 \pm 13,1$  in adults. In the pediatric group, perimatrix mean thickness was  $79(41 - 259)$ , median= $77(40-265)$ , sum= $1588(831 - 5185)$ , delta= $82(44 - 248)$ , minimum= $53(16 - 165)$  and maximum= $127(64 - 398)$ . In the adult group, perimatrix mean thickness was  $83(26 - 174)$ , median= $68(30 - 265)$ , sum= $1801(558 - 3867)$ , delta= $92(45 - 190)$ , minimum= $27(12 - 100)$  and maximum= $136(53 - 280)$ . Spearman coefficient showed an inverse weak correlation ( $r_s = -0,28$  de a;  $P < 0,05$ ) between the perimatrix thickness and age. Conclusions: We found some evidence that there is an inverse weak-to-moderate correlation between the acquired cholesteatoma perimatrix thickness and the age of the patient at the occasion of surgery.

#### KEY-WORDS

Cholesteatoma, Collagen, Perimatrix

## **Introdução**

Os colesteatomas foram definidos por Schuknecht<sup>(1)</sup> como acúmulo de queratina esfoliada dentro da orelha média ou de qualquer área pneumatizada do osso temporal, nascendo a partir de um epitélio escamoso queratinizado. Podem ocorrer tanto em crianças como em adultos, mas existem controvérsias quanto ao seu comportamento clínico nas diferentes faixas etárias em que se manifestam.

De acordo com Sheehy<sup>(2)</sup>, Tos<sup>(3)</sup> e Edelstein<sup>(4)</sup>, o colesteatoma infantil seria menos expansivo, o que levaria a uma incidência menor de complicações. Por outro lado, Galsscock<sup>(5)</sup>, Ruah<sup>(6)</sup>, Bujia<sup>(7)</sup>, Palva<sup>(8)</sup> e Sudhoff<sup>(9)</sup> referem que o colesteatoma adquirido, na criança, apresentar-se-ia com mais agressividade e com crescimento mais extenso. No ponto extremo dessa discordância encontra-se Smythe e col.<sup>(10)</sup> o qual considera as diferenças clínicas entre as crianças e adultos tão grandes que deveriam ser tidas doenças distintas.

Histologicamente, o colesteatoma é constituído por perimatriz, matriz e conteúdo cístico<sup>(11)</sup>. Segundo Lim e Saunders, a perimatriz do colesteatoma é um tecido conjuntivo subepitelial, que contém fibras colágenas, fibras elásticas, fibroblastos e células inflamatórias. Afirmam que todos os colesteatomas apresentam perimatriz, porém que algumas são extremamente finas, só podendo ser visualizadas à microscopia eletrônica de transmissão. Constataram igualmente que a diminuição da espessura da perimatriz era decorrente da diminuição das fibras de colágeno, postulando que esse achado poderia indicar uma maior ação das colagenases, enzimas que atuam na lise dessas fibras.

Abramson<sup>(12)</sup> demonstrou a presença de colagenase nos colesteatomas. Posteriormente, Thompsen<sup>(13)</sup> demonstrou que essa enzima era produzida pelos queratinócitos. Dessa forma, a atividade das colagenases poderia explicar o poder de erosão óssea que os colesteatomas geralmente apresentam. Em 1997, Ferlito e col.<sup>(14)</sup> sugeriram que a erosão óssea é causada pela produção dessa enzima nos tecidos epitelial escamoso e fibroso dos colesteatomas.

Quaranta e colaboradores<sup>(15)</sup> compararam as características histomorfológicas da perimatriz, em amostras cirúrgicas retiradas de 60 pacientes, 30 adultos e 30 menores de 16 anos. Os resultados mostraram que, nas crianças, a perimatriz é rica em elementos inflamatórios mononucleares com evidente atividade da enzima colagenase, e que, em adultos, esses elementos mostravam-se menos abundantes. Com base nesses dados, os autores propuseram que as características da perimatriz podem exercer um importante papel na patogênese do colesteatoma, sugerindo que essas características histomorfológicas influenciariam na maior recorrência e invasão dos colesteatomas pediátricos.

O único tratamento conhecido para o colesteatoma é a cirurgia chamada de mastoidectomia. Existem, basicamente, duas técnicas: a aberta (Wall-Down) e a fechada (Wall-Up); tanto uma como outra encontram defensores entre os cirurgiões, mas, definitivamente, não há unanimidade sobre qual a melhor abordagem em crianças. Jansen<sup>(16)</sup>, Sheehy<sup>(2)</sup> e Glasscock<sup>(5)</sup> preferem técnicas cirúrgicas mais conservadoras (fechada), com o objetivo de preservação anatômica e funcional das estruturas da orelha média. Jahnke e Falk<sup>(17)</sup> e Palva<sup>(8)</sup> são favoráveis a um manejo mais agressivo (aberta), para evitar a ocorrência de doença residual ou recorrente, bem como as complicações associadas. A determinação da maior agressividade ou não dos colesteatomas pediátricos poderá acrescentar subsídios à escolha da abordagem cirúrgica, na infância.

Sendo assim, este trabalho tem como objetivo comparar as medidas de espessura da perimatriz, em colesteatomas adquiridos, entre os pacientes pediátricos e adultos.

### ***Método***

Este caracteriza-se como 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). Em primeira consulta, os pacientes foram submetidos, como é praxe, a anamnese, com o preenchimento de protocolo

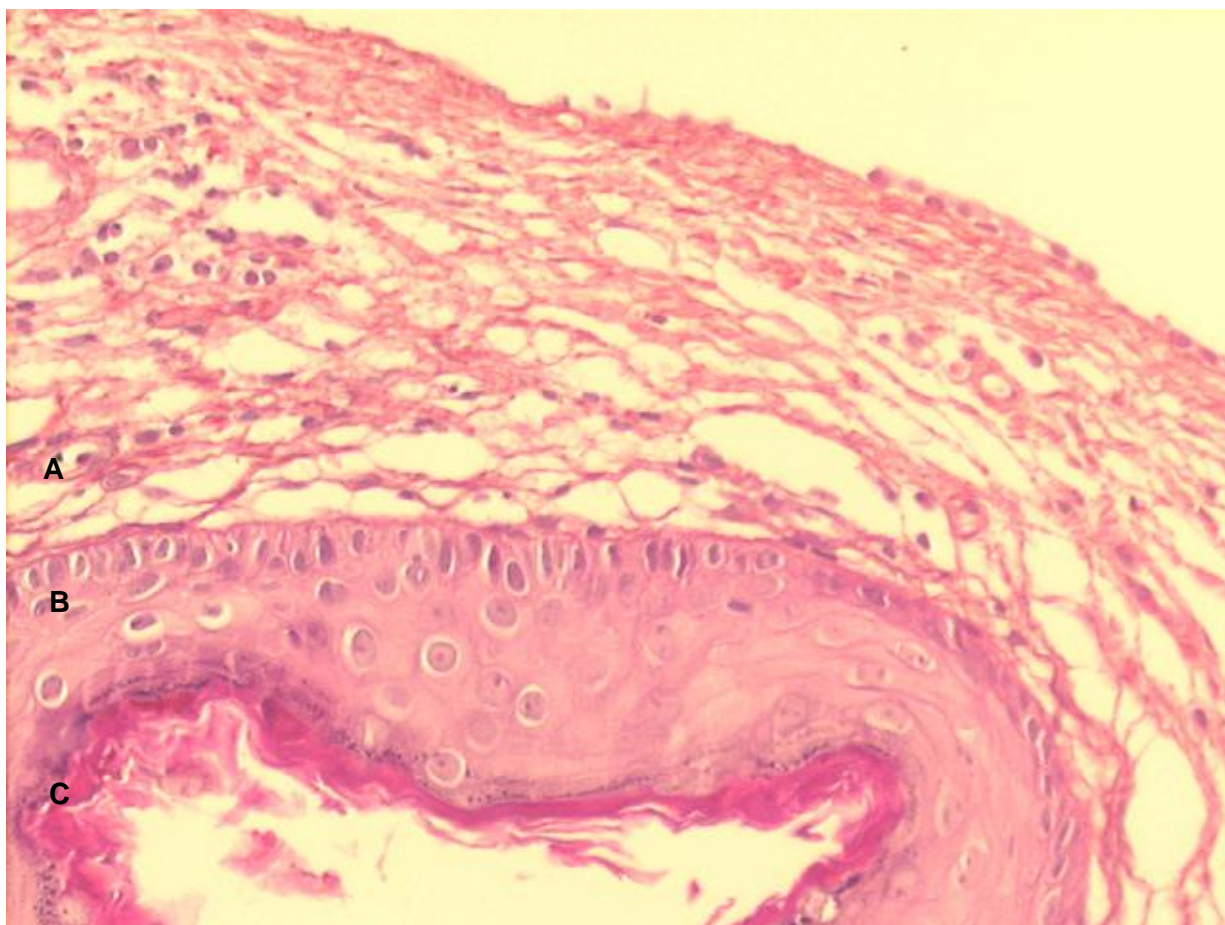


específico, além de realizar otoscopia das duas orelhas, sendo este exame captado em imagens digitais, através do *Vídeo Digital Recorder*.

A inclusão dos pacientes neste estudo obedeceu dois critérios:

1. Diagnóstico de Otite Média Crônica Colesteatomatosa;
2. Presença histológica de matriz e perimatriz no material obtido do colesteatoma coletado (Figura 1).

Caso clássico de representação histológica da presença de matriz e perimatriz no material processado pode ser vista na Figura 1. Em A, vê-se a perimatriz constituída por tecido conjuntivo subepitelial, contendo fibras colágenas, elásticas, fibroblastos e células inflamatórias. A matriz está identificada pela letra B, sendo um epitélio semelhante ao da epiderme da pele normal. O conteúdo cístico, formado por queratina, é visualizado na região identificada com C.



**Figura 1:** Imagem digitalizada de lâmina, com corte transversal de colesteatoma, corada em Hematoxilina-Eosina. Podemos ver suas três partes constituintes: **A** – A perimatriz - tecido conjuntivo subepitelial, contendo fibras colágenas, elásticas, fibroblastos e células inflamatórias. **B** – A matriz – epitélio semelhante ao da epiderme da pele normal. **C** – Conteúdo cístico – formado por queratina. Aumento: 100x

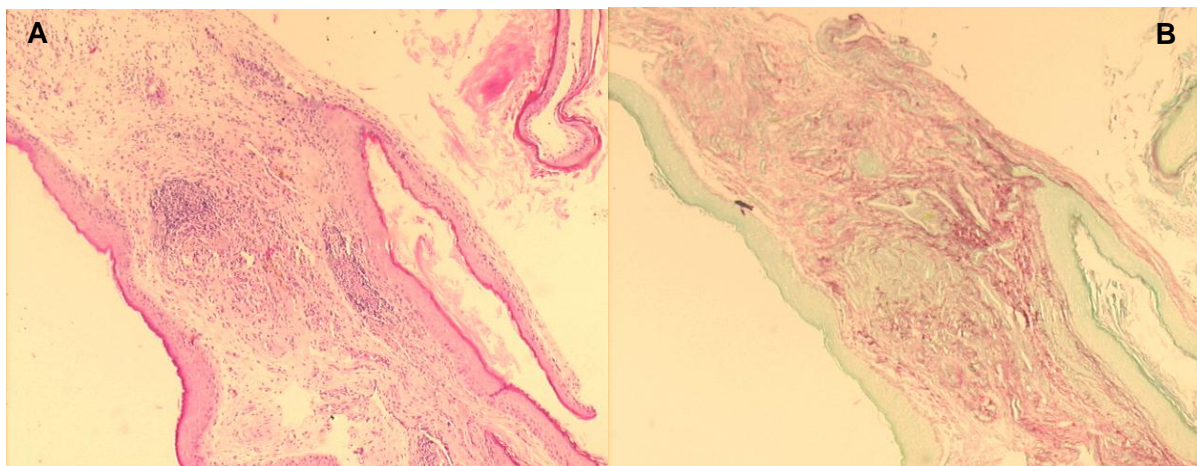
E a exclusão dos pacientes ocorreu nos casos de colesteatoma congênito.

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 dessa pesquisa assinaram *Termo de Consentimento Livre Informado*, para a utilização anônima dos dados em publicações científicas e para a documentação e o arquivamento das filmagens realizadas. A obtenção ou não do consentimento informado não influenciou o tratamento dos pacientes.

Foram estudados 74 colesteatomas, coletados em cirurgias otológicas, entre maio de 2003 e julho de 2004, sendo 35 de pacientes pediátricos (0 a 18 anos) e 39 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.

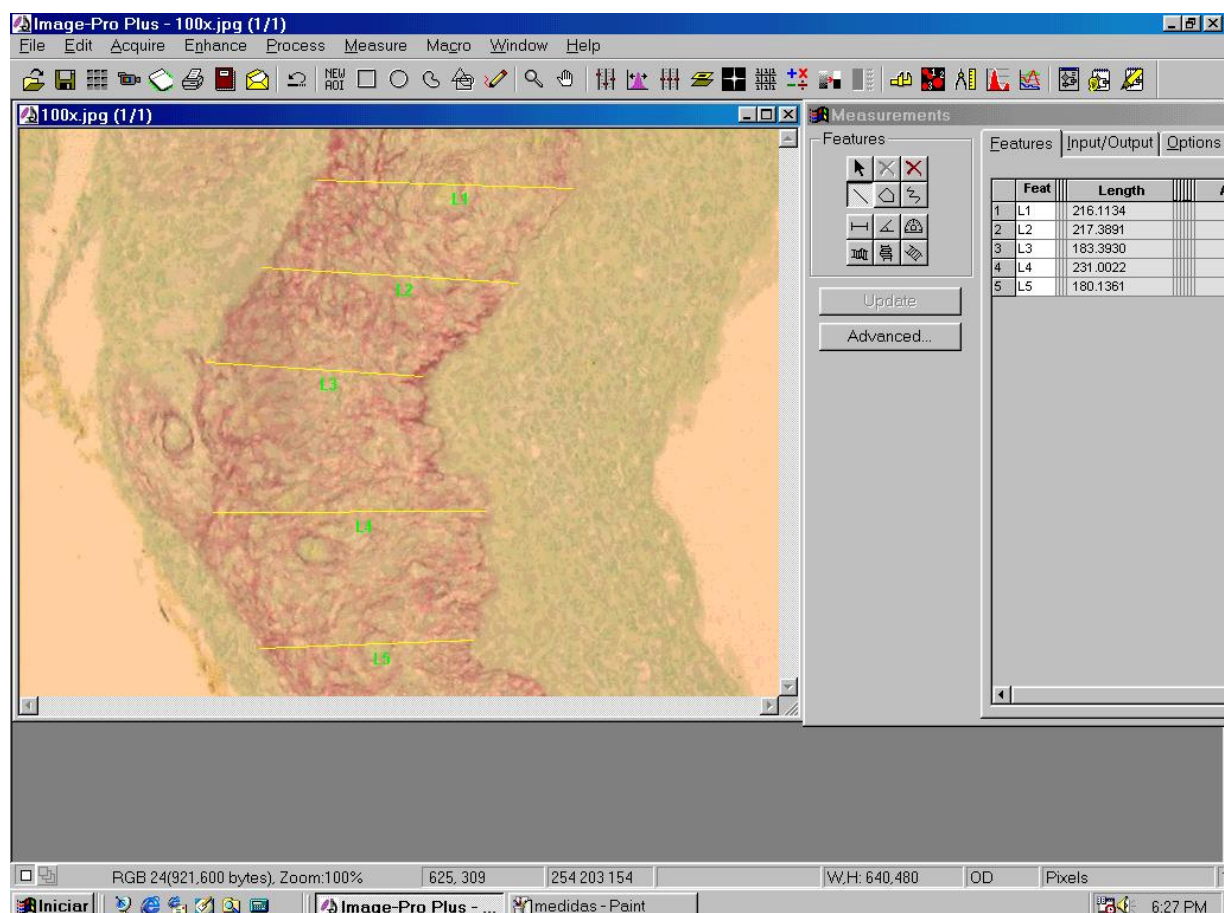
Foram preparadas duas lâminas para análises morfológicas de cada amostra, as quais foram coradas em Hematoxilina-Eosina (HE) e Picrossírius (Sirius Red), e analisadas em microscópio óptico (Figura 2).



**Figura 2:** Nessa imagem, podemos ver uma mesma amostra corada em HE (A) e Picrossírius (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. De cada amostra foram realizadas 20 medidas da espessura da perimatriz, das quais foi obtida a média, mediana, tamanho mínimo, tamanho máximo, soma e delta (máximo menos mínimo), estes foram os parâmetros utilizados para comparação entre os dois grupos. Aumento: 40x

A leitura do material foi “cega” e controlada pela pesquisadora.

A espessura da perimatriz foi obtida através de análise de imagens computadorizadas, utilizando o *software ImagePro Plus Media Cybernetics* (Figura 3). Nele são obtidos os resultados em pixel, os quais passam por uma correção, conforme o aumento utilizado na leitura das lâminas, ao microscópio, para obter-se a medida em micrômetros.



**Figura 3:** Imagem da tela do software *ImagePro Plus Media Cybernetics*. Aumento 100x

O coeficiente de Spearman foi utilizado para verificar a correlação entre as variáveis sumarizadoras da espessura da perimatriz e a idade do paciente à data da cirurgia, no software SPSS 10.0 for Windows. Foram considerados como estatisticamente significativos os valores de P menores que 0,05.

## **Resultados**

### **1 - Dados Epidemiológicos**

A amostra contou com 74 colesteatomas, coletados de 69 pacientes, porém 17 foram excluídos da análise dos colesteatomas.

No grupo de pacientes excluídos tivemos sete com idade até 18 anos, com média  $\pm$  desvio-padrão igual a  $12,92 \pm 3,77$  anos. Com mais de 18 anos, havia dez pacientes, com idade média  $\pm$  desvio-padrão igual a  $34,41 \pm 13,37$  anos. Quanto ao gênero, havia 63% do sexo masculino, sendo 60% no grupo pediátrico e 67% nos adultos.

Dos 52 pacientes incluídos, a média  $\pm$  desvio-padrão da idade foi de  $24,08 \pm 14,68$ . Neste grupo, tivemos 25 com idade até 18 anos, com média  $\pm$  desvio-padrão igual a  $12,85 \pm 3,63$  anos. Com mais de 18 anos havia 27 pacientes, com idade média  $\pm$  desvio-padrão igual a  $33,69 \pm 13,10$  anos. Quanto ao gênero, a amostra apresenta 51% do sexo masculino. No grupo de crianças, este percentual vai para 59%; já no grupo adulto é de 42%.

## 2 - Espessura da Perimatriz

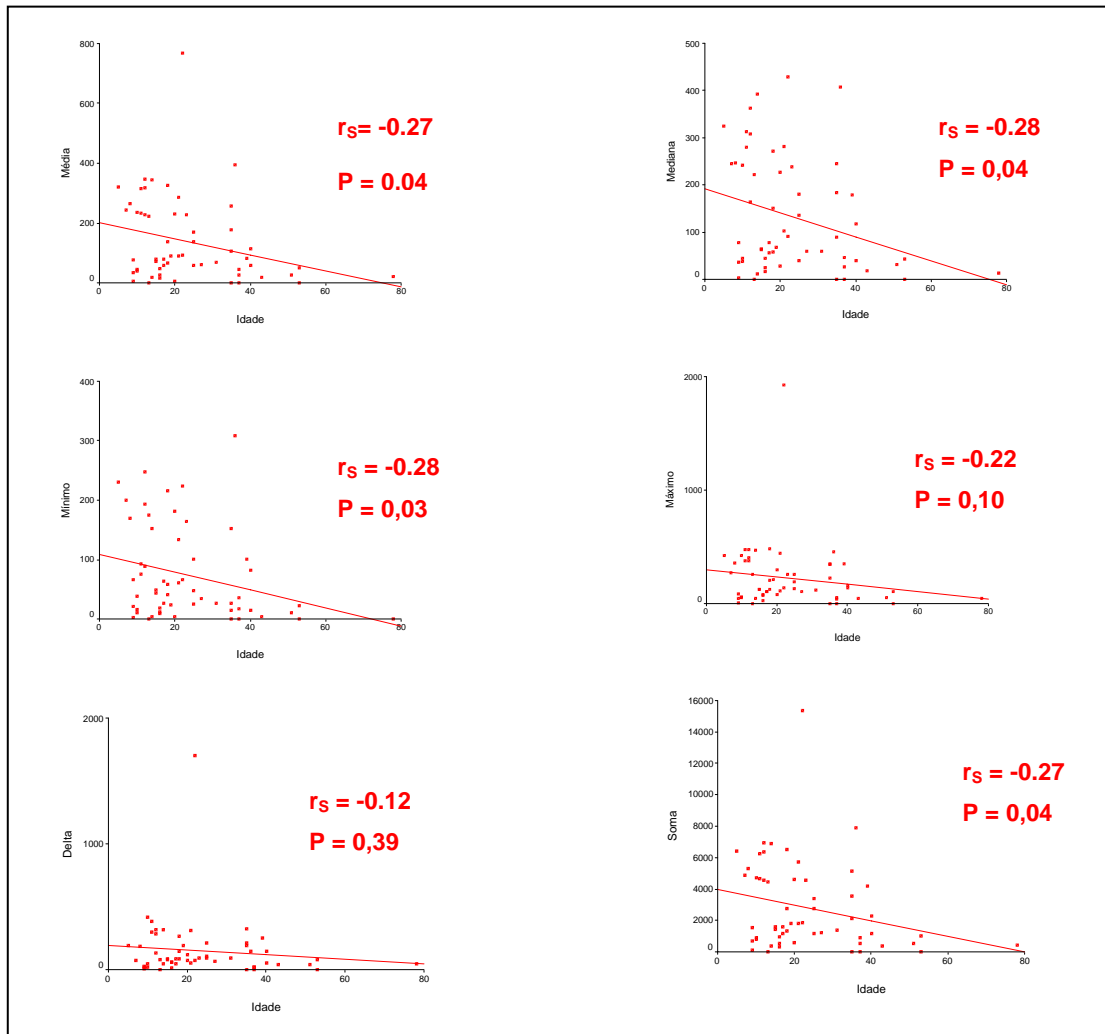
Os valores médios encontrados, expressos em micrômetros, são apresentados na Tabela 1. Todas as medianas estão acompanhadas pelo intervalo interquartil (percentil 25 a percentil 75).

**Tabela 1:** Variáveis sumarizadoras da espessura da perimatriz estratificadas por grupo etário

<b>Parâmetro</b>	<b>Grupo Pediátrico</b> med (IQ) n=28	<b>Grupo Adulto</b> med (IQ) n=29
Média	79 (41 a 259)	83 (26 a 174)
Mediana	77 (40 a 265)	68 (30 a 181)
Mínimo	53 (16 a 165)	27 (12 a 100)
Máximo	127 (64 a 398)	136 (53 a 280)
Delta	82 (44 a 248)	92 (45 a 190)
Soma	1.588 (831 a 5.185)	1.801 (558 a 3.867)

med (IQ) = Mediana e Intervalo interquartil (percentil25 a percentil75), medidos em micrômetros

Ao utilizarmos o coeficiente de Spearman, com a idade e as variáveis média da espessura, mediana, valor mínimo, valor máximo, delta e soma, foram encontradas correlações, de fracas a moderadas (Figura 4).



**Figura 4:** Gráficos de correlação entre a idade e as variáveis média, mediana, valor mínimo, valor máximo, delta e soma

## **Discussão**

Lim e Saunders<sup>(11)</sup> foram os primeiros a apresentar uma descrição histológica detalhada dos colesteatomas. Em seu trabalho constataram que o colesteatoma possui um epitélio escamoso estratificado queratinizado, com as quatro camadas idênticas às da epiderme – basal, espinhosa, granulosa e córnea –, além de células de Langerhans, em maior quantidade do que no tecido epidérmico normal, e grânulos querato-hialinos. Chamaram esse epitélio de matriz do colesteatoma. Observaram, ainda, a presença de um tecido conjuntivo frouxo, contendo fibras colágenas, fibrócitos e células inflamatórias, o qual foi denominado de perimatriz; essa encontrava-se 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 de a perimatriz estar ausente à microscopia óptica (M.O.), estava sempre presente quando estudada com o microscópio eletrônico de transmissão (M.E.), mostrando-se extremamente fina, com as fibras colágenas praticamente ausentes e contendo cristais de carbonato de cálcio.

Em nosso estudo, pudemos confirmar esses achados: encontramos uma grande variabilidade na espessura da perimatriz dos colesteatomas, tanto intra quanto interpacientes, em ambos os grupos. Também foram encontrados cinco casos, quatro de pacientes adultos e um de pediátrico, em que a perimatriz, à M.O., era extremamente fina, por isto não foi possível medi-la. Nessas amostras, a espessura foi considerada igual a zero.

Pereira e colaboradores<sup>(18)</sup> compararam colesteatomas de pacientes pertencentes a dois grupos etários (20 de adultos e 11 de crianças) com o objetivo de quantificar a expressão da citoqueratina 16, que é um filamento protéico característico de epitélios hiperproliferativos, porém não detectaram diferenças entre as faixas etárias. Observaram, como um achado casual, que um número significativamente maior de colesteatomas provenientes de adultos apresentavam perimatriz visível à microscopia óptica, quando comparados às crianças. Na tentativa de explicar este achado, foram formuladas as seguintes hipóteses: ou o conteúdo de queratina existente nos colesteatomas pediátricos,

por exercer uma maior pressão sobre o arcabouço ósseo, levaria a uma diminuição da perimatriz, ou esta redução na perimatriz seria consequência de uma quantidade maior da enzima colagenase, nos colesteatomas pediátricos.

Levando em consideração que a ação das colagenases pode ser um dos fatores envolvidos na erosão óssea, freqüentemente encontrada nas otites médias colesteatomatosas, e que há algumas evidências clínicas a indicar essa doença mais agressiva em crianças do que em adultos, buscamos determinar, através de medidas objetivas, a espessura da perimatriz nesses dois grupos etários, já que uma diminuição desta, em crianças, poderia ser explicada por uma menor quantidade das fibras de colágeno e, essa diminuição, por sua vez, seria decorrente da ação de colagenases. Entretanto, ao contrário de Pereira e col. <sup>(18)</sup>, encontramos correlações inversas entre as medidas sumarizadoras da espessura da perimatriz e a idade.

A correlação inversa entre a espessura da perimatriz e a idade redireciona nossa discussão para outras evidências. Não podemos esquecer de que a perimatriz é constituída por vários outros elementos, além das fibras de colágeno, e de que é nesta região do colesteatoma que encontramos os elementos inflamatórios.

Quaranta e colaboradores<sup>(15)</sup> acreditam, baseados em evidências clínicas, que o colesteatoma pediátrico seria mais agressivo e teria um prognóstico menos favorável. Após seu estudo, sugeriram que essas diferenças, apresentadas pelas faixas etárias, poderiam estar relacionados com as características histomorfológicas da perimatriz e que esta exerceria um importante papel na patogênese do colesteatoma. Corroborando tal hipótese, Jacob e colaboradores<sup>(19)</sup> sugerem que o crescimento do colesteatoma não é estimulado pela matriz, mas sim resultado do processo inflamatório, e que a perimatriz é o principal fator patogênico dos colesteatomas.

Milewski<sup>(20)</sup> afirma que a persistência da inflamação causa uma contínua cicatrização na perimatriz, bem como a proliferação de fibroblastos e da matriz, sugerindo que as citocinas (moléculas de inflamação e da resposta imune) liberadas pelas células



inflamatórias, dentre outros fatores, poderiam ser responsáveis pelo crescimento do colesteatoma e pela destruição óssea por este causada. Marenda e Aufdermorte<sup>(21)</sup> relatam a imunolocalização de cinco citocinas diferentes na perimatriz.

Em nossa análise, encontramos, através de coeficientes de correlação de Spearman estatisticamente significativos, indícios de que a espessura da perimatriz diminui com o aumento da idade do paciente. Como já mencionado anteriormente, é na perimatriz que se localiza o processo inflamatório que pode provocar a formação de tecido de granulação, o qual, por sua vez, ativa a reabsorção óssea através do aumento da atividade de osteoclastos. A erosão ossicular está freqüentemente associada com a presença de colesteatoma na otite média crônica<sup>(14, 22, 23)</sup>. Baseados nos achados de Lazarus e colaboradores<sup>(24)</sup> que afirmavam ter a atividade química da perimatriz um papel na absorção óssea, Gantz e colaboradores<sup>(25)</sup> demonstraram que as células mononucleares inflamatórias produzem enzimas colagenolíticas. A importância da perimatriz na reabsorção óssea também foi destacada por Abramson e col.<sup>(26)</sup> sendo estes os primeiros a sugerir que o potencial de infiltração dos colesteatomas estaria correlacionado com atividades quimioenzimáticas da perimatriz.

Podemos fazer uma analogia da perimatriz com um “campo de batalha”, onde ocorreria uma 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. Conforme vai ocorrendo a expansão do colesteatoma, a reação inflamatória aumenta, conseqüentemente produzindo mais elementos da cascata inflamatória. Acreditamos que é na perimatriz, e nos processos que nela acontecem, que reside a agressividade dos colesteatomas; sendo assim, as características clínicas diferenciadas dos colesteatomas pediátricos estariam relacionadas à exuberância da sua inflamação.

Apesar ser precisa para a medição da espessura da perimatriz, a técnica utilizada, no presente estudo não é específica para detectar qual elemento está diminuído na sua estrutura. Nesse sentido, os autores pretendem dar seguimento a essa linha de estudo,

avançando para a quantificação de elementos constituintes da perimatriz de colesteatomas adquiridos.

### **Conclusões**

Há evidências, nessa amostra, de que haja uma correlação inversa, de fraca a moderada, entre a espessura da perimatriz de colesteatomas adquiridos e a idade do paciente na data da cirurgia.

### **Agradecimentos**

Agradecemos aos serviços de Otorrinolaringologia e de 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; e ao Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE), pelo financiamento.

### **Referências Bibliográficas**

1. SCHUKNECHT, H.F. The pathology of the ear. Cambridge: Harvard University, 1974.
2. SHEEHY, J.L. Management of cholesteatoma in children. *Adv. Oto-Rinolaryng*, 1978, 23: 58-64.
3. TOS, M. Treatment of cholesteatoma in children: a long-term study of results. *J. Otol.*, 1983, 4: 189-197.
4. EDELSTEIN, D.R. Acquired cholesteatoma in pediatric age group. *The Otolaryngol. Clin. North Am.*, 1989, 22(5): 955-964.
5. GLASSCOCK, M.E.; DICKINS, J.F.E.; WIET, R. Cholesteatoma in children. *Laryngoscope*, 1981, 91: 1743-1753.
6. RUAH, C.B.; SCHACHEM, P.A.; PAPARELLA, M.M.; ZELTERMAN, D. Mechanisms of retraction pocket formation in the pediatric tympanic membrane. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 1992, 118(12): 1298-1305.

7. 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.
8. PALVA, A.; KARMA, P.; KÄRJÄ, J. Cholesteatoma in children. *Arch. Otolaryngol.*, 1997, 103(2): 74-77.
9. SUDHOFF, H.; DAZERT, S.; GONZALES, A.M.; BORKOWSKI, G.; PARK, S.Y.; BAIRD, A.; HILDMANN, H.; RYAN, A.F. Angiogenesis and angiogenic growth factors in middle ear cholesteatoma. *The Am. J. Otol.*, 2000, 21: 793-798.
10. SMYTHE, J. L.; BRACHMAN, D.; GRAHM, M. Complications of cholesteatoma: A report on 1.024 cases. In: Swartz, J. D. *Colesteatomas of the middle ear. Diagnosis, etiology and complications. Radiol. Clin. North Am.*, 1984, 22: 15-34.
11. LIM D.J. e SAUNDERS W.E. Acquired cholesteatoma: light and electron microscopic observations. *Ann. Otol.*, 1972, 81: 2-12.
12. ABRAMSON, M. Collagenolytic activity in middle ear cholesteatoma. *Ann. Otol.*, 1969, 78: 112-125.
13. THOMPSEN, J. Bone resorption in chronic otitis media. In: McCabe, B.F.; Sade, J.; Abramson, M. eds. *Cholesteatoma: first international conference. Aescupulus Publishing Co.: Birmingham Ala p. 136, 1977.*
14. FERLITO, O.; DEVANEY, K.O.; RINALDO, A.; MILROY, C.; WENIG, B.; IURATO, S.; McCABE, B.F. Clinicopathological consultation ear cholesteatoma versus cholesterol granuloma. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 1997, 106:79-85.
15. QUARANTA, A.; RESSA, L.; SANTANGELO, A. Otomastoid cholesteatoma in children: histopathological findings. *Int J. Pediatric. Otorhinolaryngol.*, 1986, 12(2): 121-126.
16. JANSEN, C: Cholesteatoma in children. *Clin. Otolaryngol.*, 1978, 3: 249-352.
17. JAHNKE, V. and FALK, W. Clinical, pathological and therapeutic aspects of cholesteatoma in children. *Laryngol. Rhinol. Otol. , 1976, 55(7): 556-60.*
18. PEREIRA, C.S.B.; ALMEIDA, C.I.R. VIANNA, M.R. Imunoexpressão da citoqueratina 16 e do antígeno nuclear Ki-67 no colesteatoma adquirido da orelha média. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, 2002, 68(4): 453-460.
19. JACOB, R.; WELKOBORSKY, H.J.; MANN, W. Epithelium-stroma interaction in cholesteatoma of the middle ear. *Laryngorhinootologie*, 2001, 80(1): 11-17.
20. MILEWSKI, C. Role of perimatrix fibroblast in development of acquired middle ear cholesteatoma. A hypothesis. *HNO*, 1998, 46(5): 494-501.
21. MARENDA, B.A. e AUDFEMORTE, T.B. Localization of cytokines in cholesteatoma tissue. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 1995, 112 (3): 359-368.

22. MICHAELS, L. Biology of cholesteatoma. *The Otolaryngol. Clin. North Am.*, 1989, 22 (5): 869-881.
23. BRET LAU, P.; JORGENSENS, M.B.; SORENSES, C.H.; DABELSTEEN, E. Bone resorption in human cholesteatomas. *Ann. Otol.*, 1982, 91: 131-135.
24. LAZARUS, G.S.; BROWN, R.S.; DANIELS, J.R.; FULMER, H.M. Human granulocyte collagenase. *Science* 1968, 159: 1483-1485.
25. GANTZ, B.F.; MAYNARD, J.; BUMSTEAD, R.M.; HUANG, C.C.; ABRAMSON, M. Bone resorption in chronic otitis media. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 1979, 88: 639-700.
26. ABRAMSON, M.; ASARCH, R.G.; LITTON, W.B. Experimental aural cholesteatoma causing bone resorption. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 1975, 84: 425-432.

**Descrição Histológica de Colesteatomas Adquiridos:  
Comparação entre Amostras de Crianças e de Adultos**

*\*Cristina Dornelles, \*\*Sady S. da Costa e \*\*\*Luíse Meurer*

\*Bióloga no Centro de Otite Média do Brasil, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia da UFRGS, Mestranda do curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

\*\*Médico Otolologista, Doutor em Cirurgia, Professor Adjunto no Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia e dos Programas de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria e Pós-Graduação em Ciências Médicas: Cirurgia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

\*\*\* Médica Patologista, Doutora em Ciências em Gastroenterologia; Médica Contratada do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre; Professora Orientadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Gastroenterológicas

Centro de Otite Média do Brasil – ComBr  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria  
Serviço de Otorrinolaringologia - Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA  
Serviço de Patologia - Hospital de Clínicas de Porto Alegre – HCPA

Autora para Correspondência: Cristina Dornelles

Rua Cangussu, 1343 - Porto Alegre - RS – 90830-010 - (51) 32492275  
e-mail: cristinadornelles@yahoo.com.br

## RESUMO

**Introdução:** 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 ( $\leq 18$  anos) e 39 de adultos ( $> 18$  anos). Foram avaliados o número médio 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 a 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 a espessura da perimatriz, e entre esta e a média de camadas celulares da matriz, o que pode prever sua agressividade. Mais estudos são necessários para definir o papel deste achado na patogênese do colesteatoma.

### PALAVRAS-CHAVE:

Perimatriz, Inflamação, Colesteatoma

## SUMMARY

Introduction: 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. Objectives: Histologic compared cholesteatomas of children and adults. Methodology: 74 cholesteatomas been analyzed, being 35 of pediatrics patients ( $\leq 18$  years) and 39 of adults ( $> 18$  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.

## KEY-WORDS:

Cholesteatoma, Perimatrix, Inflammation

## ***Introdução***

Na otite média crônica colesteatomatosa, o descontrole da proliferação celular leva ao crescimento de um cisto de epidermóide, o colesteatoma<sup>(1)</sup>, sendo caracterizado pela presença de epitélio escamoso estratificado queratinizado no interior de qualquer área pneumatizada do osso temporal<sup>(2)</sup>. Histologicamente, o colesteatoma é constituído por matriz (epitélio), perimatriz (tecido conjuntivo subepitelial) e conteúdo cístico (lamelas de queratina)<sup>(3)</sup>. 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 crescimento<sup>(4)</sup>. 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 desconhecidos<sup>(5)</sup>. Sendo assim, determinar a existência de defeitos na biologia, bioquímica e genética dos colesteatomas é crítico para o conhecimento da sua patogênese.

Os colesteatomas apresentam grande poder de erosão, podendo 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 na otite média crônica não-colesteatomatosa há erosão da cadeia ossicular em aproximadamente 20% dos casos<sup>(6)</sup>. Os mecanismos que levam a esse aumento na degradação óssea e invasão ainda estão em investigação<sup>(5)</sup>.

A otite média crônica colesteatomatosa pode ocorrer tanto em crianças como em adultos, porém existem controvérsias na literatura quanto às manifestações clínicas nas diferentes faixas etárias. Sheehy<sup>(7)</sup>, Tos<sup>(8)</sup> e Edelstein<sup>(9)</sup> acreditam que o colesteatoma infantil poderia ser menos expansivo, o que levaria a uma incidência menor de complicações. Por



outro lado, Galsscock<sup>(10)</sup>, Ruah<sup>(11)</sup>, Bujia<sup>(12)</sup>, Palva<sup>(13)</sup> e Sudhoff<sup>(14)</sup> consideram que o colesteatoma adquirido, na criança, apresentar-se-ia de maneira mais agressiva e com crescimento mais extenso. No ponto extremo dessa discordância, encontram-se Smythe e col.<sup>(15)</sup>, 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 e col.<sup>(16)</sup> 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 epitélio<sup>(6)</sup>. Com base nesse comportamento, os autores concluíram que as características da perimatriz poderiam exercer um importante papel na patogênese do colesteatoma, e sugeriram que essa explicaria as diferenças clínicas entre colesteatomas em crianças e em adultos<sup>(16)</sup>.

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, o presente 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 dessa pesquisa assinaram *Termo de Consentimento Livre Informado*, para a utilização anônima dos dados em publicações científicas e para documentação e arquivamento 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:

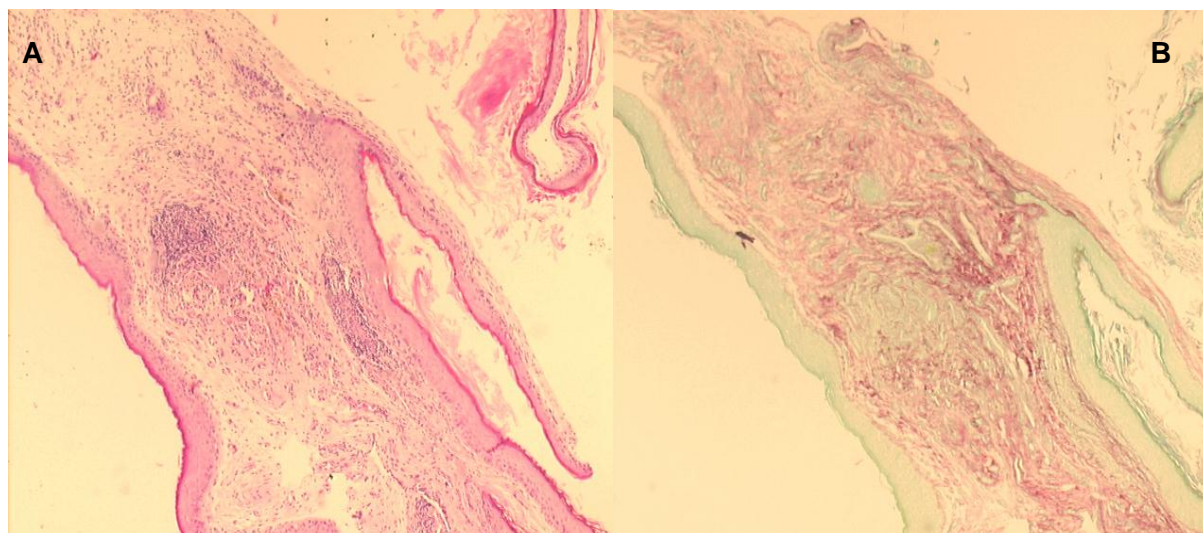
1. Diagnóstico de Otite Média Crônica Colesteatomatosa;
2. Presença de matriz e perimatriz no colesteatoma coletado.

A exclusão foi definida pela presença de colesteatoma congênito.

Foram estudados 74 colesteatomas, coletados em cirurgias otológicas, entre maio de 2003 e julho de 2004, sendo 35 de pacientes pediátricos (0 a 18 anos) e 39 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).

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.

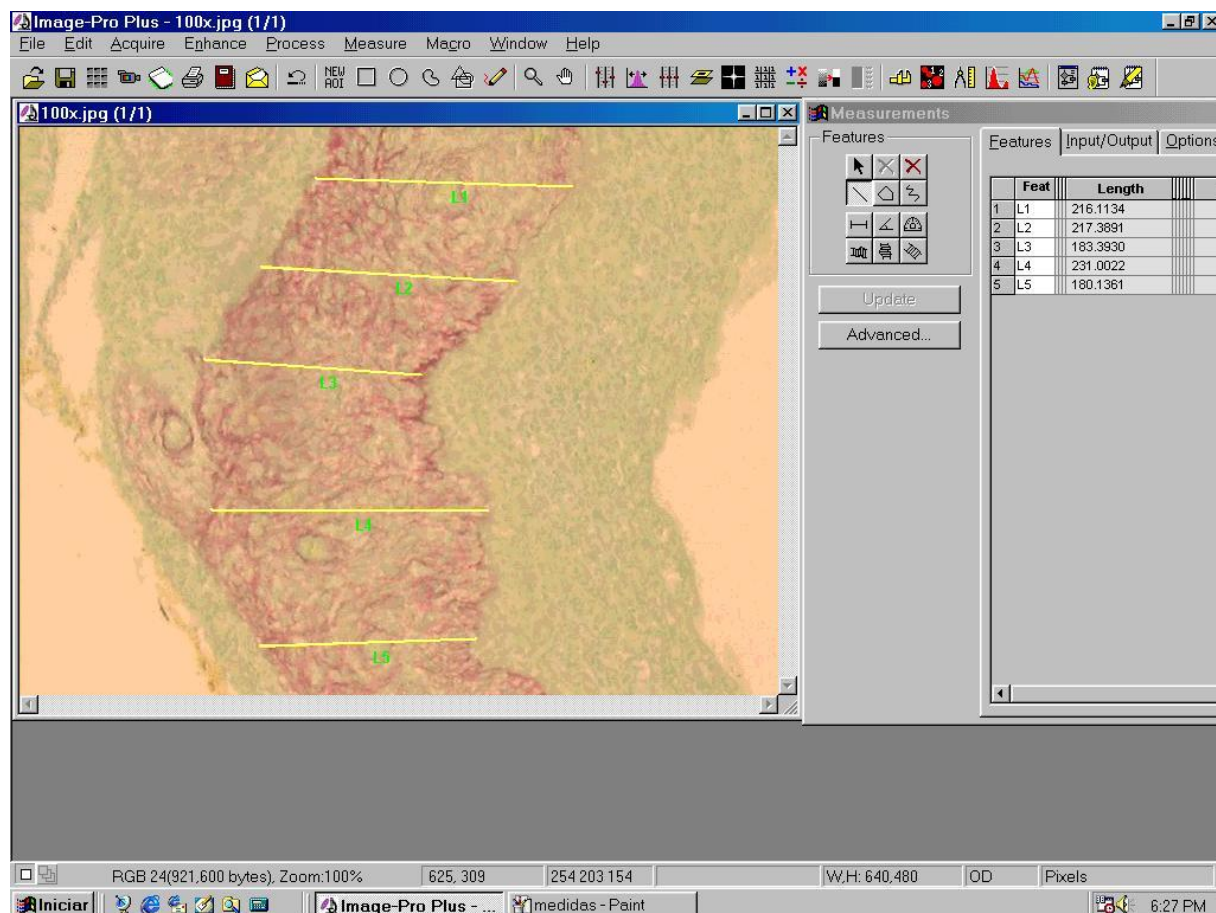


**Figura 1:** Imagem da mesma amostra corada em HE (A) e Picrosírios (B). Aumento 40x

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 dessas, 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 (0 = ausente, 1 = discreto, 2 = moderado e 3 = acentuado), sendo caracterizado pela intensidade da permeação da perimatriz por linfócitos, neutrófilos, plasmócitos e macrófagos<sup>(17)</sup>. 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 esses os parâmetros utilizados para testar a correlação da espessura da perimatriz com a idade do paciente à data da cirurgia.



**Figura 2:** Imagem da tela do *software ImagePro Plus Media Cybernetics*. Aumento 100x

Para a análise estatística, foram utilizados os coeficientes 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  $\chi^2$  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.

## **Resultados**

### *1 - Dados Epidemiológicos*

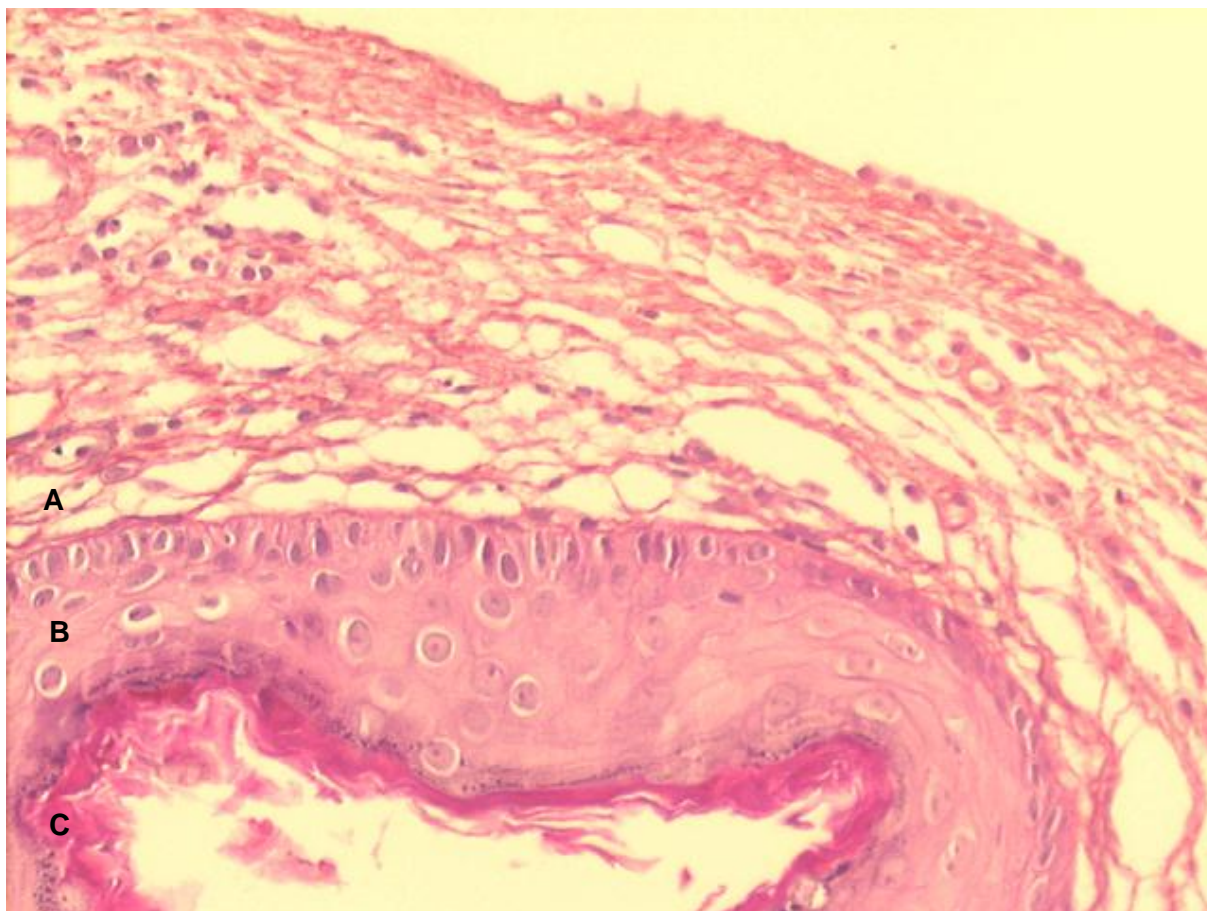
A amostra contou com 69 pacientes, sendo cinco com doença bilateral (três pediátricos e dois adultos), porém 17 foram excluídos da análise dos colesteatomas, pois suas lâminas apresentavam somente lamelas córneas.

No grupo de pacientes excluídos, tivemos sete com idade até 18 anos, com média  $\pm$  desvio-padrão igual a  $12,92 \pm 3,77$  anos. Com mais de 18 anos, havia dez pacientes, com idade média  $\pm$  desvio-padrão igual a  $34,41 \pm 13,37$  anos. Quanto ao gênero, havia 63% do sexo masculino, sendo 60% no grupo pediátrico e 67% no grupo adulto.

Dos 52 pacientes incluídos, a média  $\pm$  desvio-padrão da idade foi de  $24,08 \pm 14,68$ . Neste grupo tivemos 25 com idade até 18 anos, com média  $\pm$  desvio-padrão igual a  $12,85 \pm 3,63$  anos. Com mais de 18 anos, havia 27 pacientes, com idade média  $\pm$  desvio-padrão igual a  $33,69 \pm 13,10$  anos. Quanto ao gênero, a amostra apresentou 64% do sexo masculino. No grupo de crianças, este percentual foi de 60%; já no grupo adulto, foi de 67%.

### *2 – Achados histológicos*

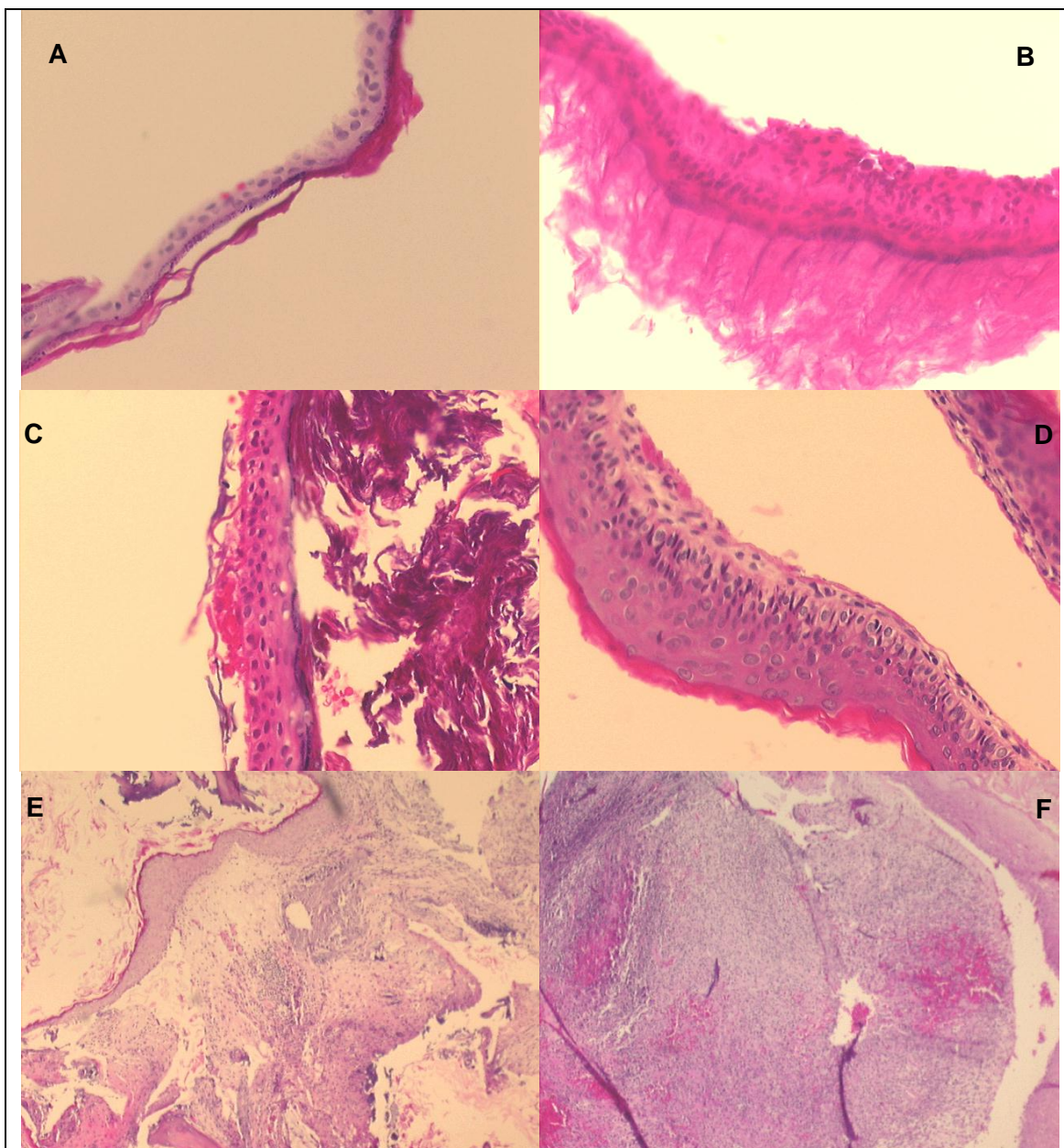
Os colesteatomas apresentaram-se, ao microscópio óptico, como uma formação cística, revestida por epitélio escamoso estratificado e queratinizado, a chamada matriz, assentada sobre tecido conjuntivo denso de espessura variável, tanto intra como interpacientes, designado de perimatriz. Essa, por vezes, 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 histológica dos colesteatomas adquiridos.



**Figura 3:** Imagem digitalizada de lâmina, com corte transversal de colesteatoma, corada em Hematoxilina-Eosina. Podemos ver suas três partes constituintes: **A** – A perimatriz – tecido conjuntivo subepitelial, contendo fibras colágenas, elásticas, fibroblastos e células inflamatórias. **B** – A matriz –epitélio semelhante ao da epiderme da pele normal. **C** – Conteúdo cístico - formado por queratina. Aumento: 100x

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 de esta 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.



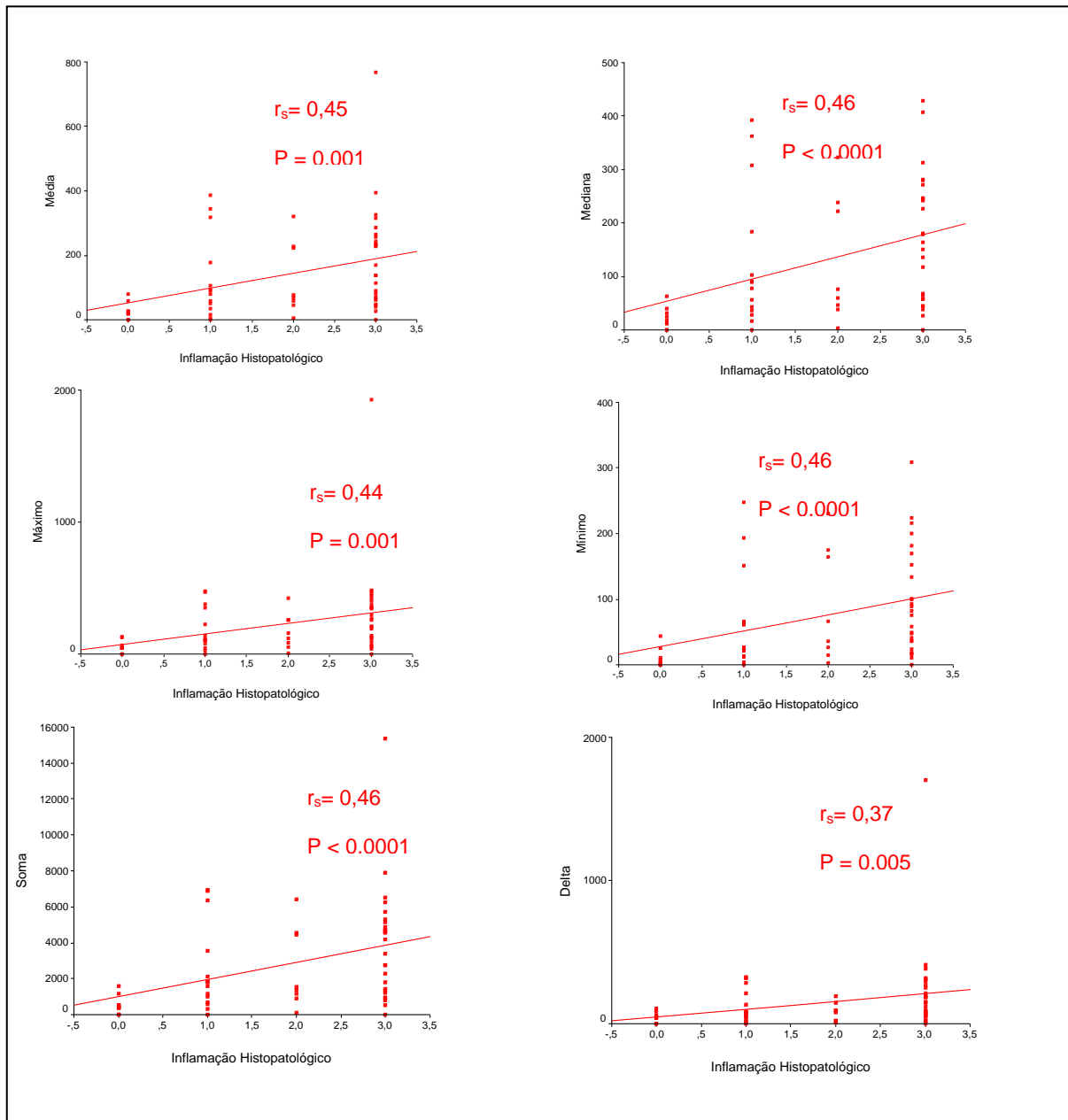
**Figura 4:** **A (200x)** - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de três camadas de células. Perimatrix ausente. **B (200x)** - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de seis camadas de células. Perimatrix estreita, fibrótica, com raros linfócitos. Ausência de granulomas. **C (200x)** - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de quatro camadas de células. Perimatrix muito estreita, sem fibrose e sem infiltrado inflamatório. **D (200x)** - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de seis camadas de células. Perimatrix estreita e delicada, sem fibrose e com infiltrado inflamatório muito discreto. **E (50x)** - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de doze camadas de células epiteliais. A perimatrix exhibe fibrose densa, infiltrado inflamatório crônico acentuado e está delimitada em seu plano profundo por epitélio cubóide simples. **F (50x)** - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de treze camadas de células epiteliais apresentando hiperplasia epitelial. Perimatrix mostra fibrose discreta com infiltrado inflamatório acentuado e exsudação neutrocitária, estando delimitada em seu plano profundo por epitélio cubóide simples. Ausência de granulomas.

O número de camadas celulares do epitélio escamoso estratificado variou de 3 a 23 ( $8,2 \pm 4,2$ ). Quando estratificado por grupo etário, não apresenta modificação expressiva, sendo  $8,1 \pm 4,2$  (mínimo=3 e máximo=22), no grupo pediátrico, e  $8,2 \pm 4,2$  (mínimo=4 e máximo=23), no grupo adulto.

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

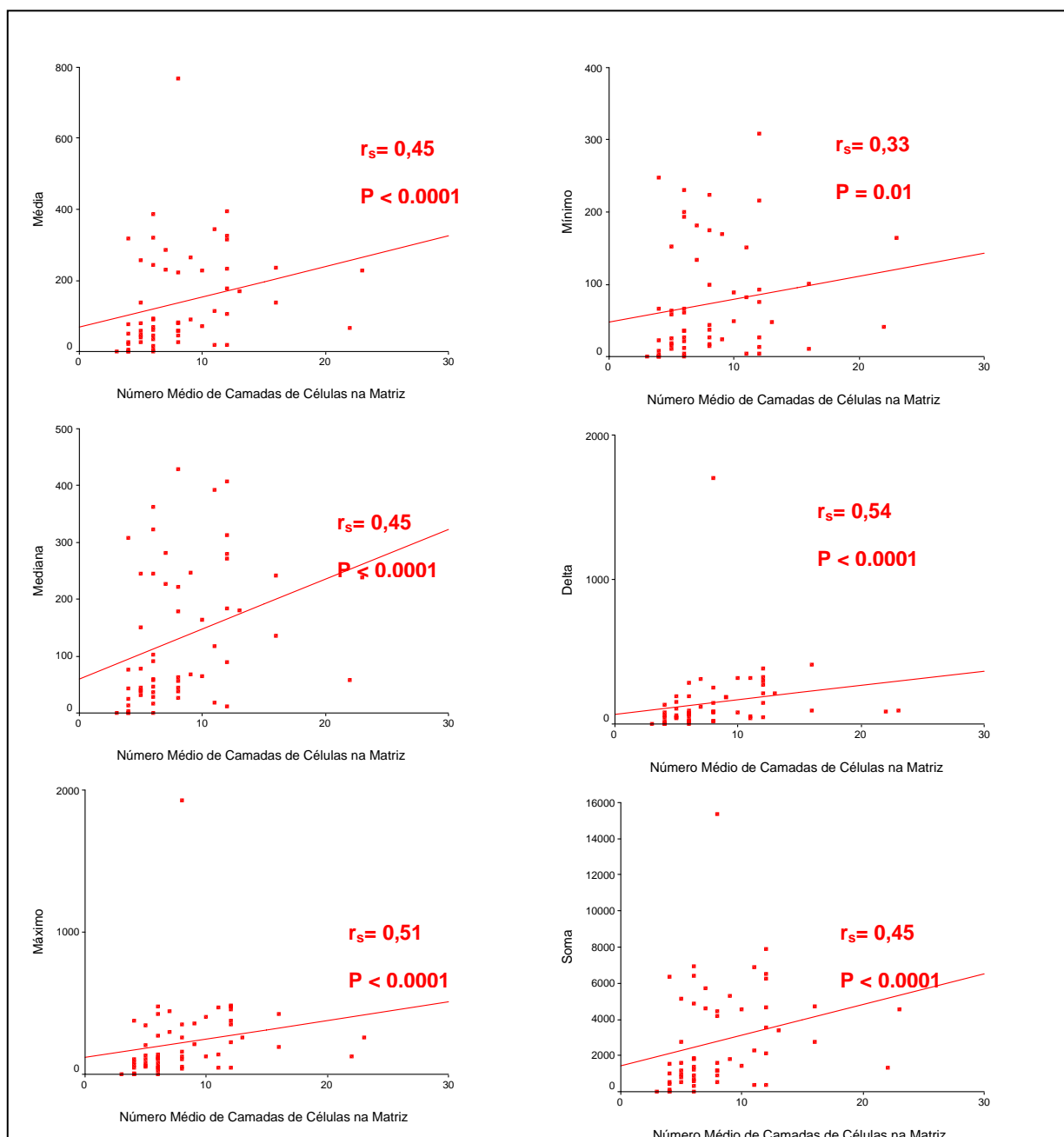
Pela análise do grau de inflamação na perimatriz, vista ao microscópio ótico, 60% das amostras foram classificadas como moderada a acentuada. Ao aplicarmos o coeficiente de correlação de Spearman entre o grau de inflamação e as variáveis sumarizadoras da medida de espessura da perimatriz (média, mediana,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





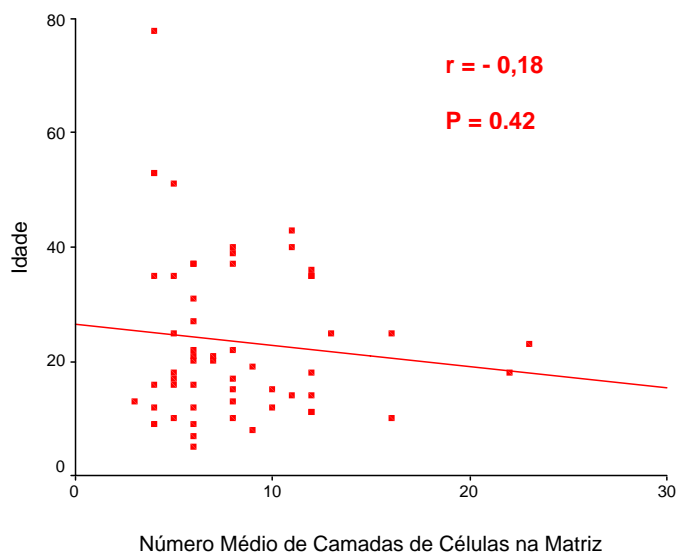
**Figura 5:** Gráficos de correlação entre o grau histológico de inflamação e as variáveis média, mediana, valor mínimo, valor máximo, delta e soma

Ao correlacionarmos o número médio de camadas de células epiteliais com a espessura da perimatriz, encontramos correlações, de moderadas a fortes, com todas as variáveis testadas (Figuras 6).

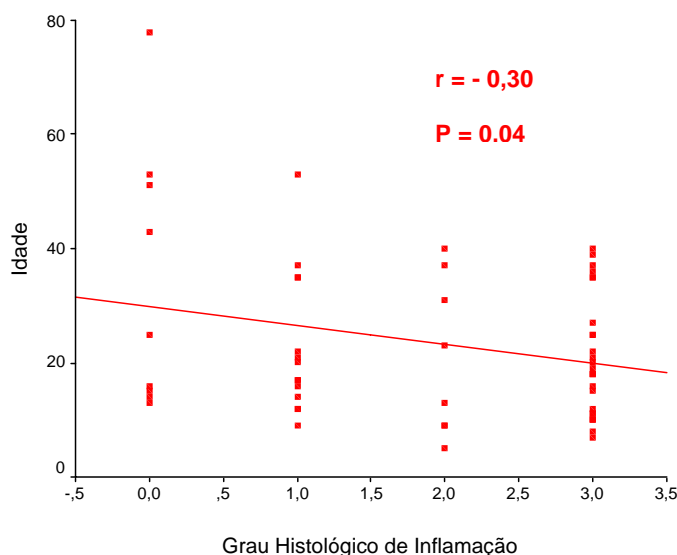


**Figura 6:** Gráficos de correlação entre o número médio de camadas celulares na matriz e as variáveis média, mediana, valor mínimo, valor máximo, delta e soma

Ao aplicarmos o coeficiente de Pearson ao 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).



**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

Quando estratificado por grupo etário, o número médio de camadas celulares da matriz não se modificou, sendo  $8,1 \pm 4,2$  (mínimo=3 e máximo=22), no grupo pediátrico, e  $8,2 \pm 4,2$  (mínimo=4 e máximo=23), no grupo adulto. Os demais componentes histológicos analisados – hiperplasia na matriz, epitélio delimitante, fibrose e granuloma – também apresentaram distribuição semelhante nos dois grupos (Tabela 1).

**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	$8,2 \pm 4,2$	$8,2 \pm 4,2$	0,93*
Hiperplasia na Matriz	14,3%	20,7%	0,53**
Epitélio Delimitante	28,6%	13,8%	0,17**
Fibrose	71,4%	62,1%	0,45**
Granuloma	10,7%	13,8%	0,72**

\* Teste t , \*\*Teste de  $\chi^2$

### **Discussão**

Lim e Saunders<sup>(3)</sup> pioneiros na apresentação de 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, denominando 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. Essa encontrava-se 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 de a perimatriz estar ausente à microscopia óptica, encontrava-se sempre presente quando estudada com microscópio eletrônico de transmissão, mostrando-se extremamente fina, com as fibras colágenas praticamente ausentes, e contendo cristais de carbonato de cálcio. Em nosso estudo, pudemos confirmar os achados de Lim e Saunders<sup>(3)</sup>.

Encontramos uma grande variabilidade na espessura da perimatriz dos colesteatomas, tanto intra quanto interpacientes, em ambos os grupos.

Porém, ao realizamos a comparação histológica dos colesteatomas entre as faixas etárias, não encontramos diferenças estatisticamente significativas no número médio de camadas celulares da matriz, na presença de hiperplasia na matriz, no epitélio delimitante da perimatriz, na fibrose, na inflamação e no 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 de moderada a forte, e neste caso direta, entre o número médio de camadas de células epiteliais na matriz e as medidas de espessura da perimatriz. Esse fato poderia indicar que não só a perimatriz se encontra 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 e col.<sup>(12)</sup>, 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 essas questões, devendo ser o

próximo passo nessa linha de pesquisa. Apesar de ser precisa para a medição da espessura da perimatriz, a técnica utilizada no presente estudo não é específica para detectar qual elemento está diminuído na sua estrutura. Para tanto, pretendemos dar seguimento a esta linha de estudo, avançando para a quantificação de elementos constituintes da perimatriz de colesteatomas adquiridos.

### ***Conclusões***

Não há evidências, nessa amostra, de que haja diferenças entre crianças e adultos quanto aos componentes histológicos de colesteatomas adquiridos.

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

O grau de inflamação da perimatriz apresentou correlação, de moderada a 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 de 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, K.O.; RINALDO, A.; MILROY, C.; WENIG, B.; IURATO, S.; McCABE, B.F. Clinicopathological consultation ear

- cholesteatoma versus cholesterol granuloma. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 1997, 106:79-85.
2. SCHUKNECHT, H.F. *The pathology of the ear*. Cambridge: Harvard University, 1974.
  3. LIM D.J. e SAUNDERS W.E. Acquired cholesteatoma: light and electron microscopic observations. *Ann. Otol.*, 1972, 81: 2-12.
  4. MILEWSKI, C. Role of perimatrix fibroblast in development of acquired middle ear cholesteatoma. A hypothesis. *HNO*, 1998, 46(5): 494-501.
  5. CRUZ, O. e COSTA, S.S. *Otologia Clínica e Cirúrgica*. Ed. Revinter, 1999.
  6. DORNELLES, C.; WEBER, R.; SCHIMDT, V.B.; SCHIMDT, L.; DALL'IGNA, D.; CARVALHAL, L.H.S.K.; KRUSE, L.; COSTA, S.S. Descrição da cadeia ossicular no trans-operatório de pacientes com otite média crônica. Pesquisa: Logos e Práxis. Unidade de Pesquisa do Instituto de Cardiologia, 2002, p. 221.
  7. SHEEHY, J.L. Management of cholesteatoma in children. *Adv. Oto-Rinolaryng.*, 1978, 23: 58-64.
  8. TOS, M: Treatment of cholesteatoma in children: a long-term study of results. *J. Otol.*, 1983, 4: 189-197.
  9. EDELSTEIN, D.R., Acquired cholesteatoma in pediatric age group. *The Otolaryngol. Clin. North Am.*, 1989, 22(5), 955-964.
  10. GLASSCOCK, M.E.; DICKINS, J.F.E.; WIET, R. Cholesteatoma in children. *Laryngoscope*, 1981, 91: 1743-1753.
  11. RUAH, C.B.; SCHACHEM, P.A.; PAPARELLA, M.M.; ZELTERMAN, D. Mechanisms of retraction pocket formation in the pediatric tympanic membrane. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 1992, 118(12): 1298-1305.
  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): 74-77.
  14. SUDHOFF, H.; DAZERT, S.; GONZALES, A.M.; BORKOWSKI, G.; PARK, S.Y.; BAIRD, A.; HILDMANN, H.; RYAN, A.F. Angiogenesis and angiogenic growth factors in middle ear cholesteatoma. *The Am. J. Otol.*, 2000, 21: 793-798.
  15. SMYTHE, J. L.; BRACHMAN, D.; GRAHM, M. Complications of cholesteatoma: A report on 1.024 cases. In: Swartz, J. D. *Colesteatomas of the middle ear. Diagnosis, etiology and complications*. *Radiol. Clin. North Am.*, 1984, 22: 15-34.

16. QUARANTA, A.; RESSA, L.; SANTANGELO, A. Otomastoid cholesteatoma in children: histopathological findings. *Int. J. Pediatric. Otorhinolaryngol.*, 1986, 12(2): 121-126.
17. BAAK, J.P.A. *Manual of quantitative pathology in cancer diagnosis and prognosis*. Springer-Verlag, 1991.



**HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE  
SERVIÇO DE OTORRINOLARINGOLOGIA**

**Anexo 3**

**Protocolo de Primeira Consulta**

**IDENTIFICAÇÃO**

Nº Seleção: \_\_\_\_\_ Nº da Fita: \_\_\_\_\_ Nº do CD: \_\_\_\_\_  
 Nome: \_\_\_\_\_  
 Telefone para contato: \_\_\_\_\_ Prontoário: \_\_\_\_\_  
 Data da Consulta: \_\_\_\_\_ Data de Nascimento: \_\_\_\_\_  
 1. Idade: \_\_\_\_\_ 2. Sexo: 1. F 2. M 3. Etnia: 1. branca 2. negra 3. mulata  
 4. Início dos sintomas: \_\_\_\_\_ meses Idade: \_\_\_\_\_ anos

**QUEIXA PRINCIPAL**

5. Hipoacusia OD 1. SIM 2. NÃO 6. Hipoacusia OE 1. SIM 2. NÃO  
 7. Otorrêia OD 1. SIM 2. NÃO 8. Otorrêia OE 1. SIM 2. NÃO  
 9. Otalgia OD 1. SIM 2. NÃO 10. Otalgia OE 1. SIM 2. NÃO  
 11. Outros: \_\_\_\_\_

**ANAMNESE DIRIGIDA**

	Ouvido direito	Ouvido esquerdo
Otorrêia	12. 1. sim 2. não	13. 1. sim 2. não
Otalgia	14. 1. sim 2. não	15. 1. sim 2. não
Intensidade	16. 1. leve 2. moder 3. intens	17. 1. leve 2. moder 3. intens
Perda Auditiva	18. 1. sim 2. não	19. 1. sim 2. não
% subjetiva	20. 1) 0-25 2) 25-40 3) 40-60 4) 60-80 5) 80-100	21. 1) 0-25 2) 25-40 3) 40-60 4) 60-80 5) 80-100
Acúfenos	22. 1. sim 2. não	23. 1. sim 2. não
Intensidade	24. 1. leve 2. moder 3. intens	25. 1. leve 2. moder 3. intens
Sangramento	26. 1. sim 2. não	27. 1. sim 2. não

28. Cefaléia 1. sim 2. não  
 29. Vertigem 1. sim 2. não

**REVISÃO DE SISTEMAS**

30. HAS 1. sim 2. não 31. DM 1. sim 2. não  
 32. CARDIOPATIA 1. sim 2. não 33. PNEUMOPATIA 1. sim 2. não  
 34. FUMO 1. sim 2. não 35. Se sim: 1. ativo 2. passivo  
 36. ALCOOL 1. sim 2. não

**HMP**

37. Alergias. 1. sim 2. não 38. Cirurgia otológica: 1. sim 2. não  
 39. Outras cirurgias por complicação de otite: 1. sim 2. não

**HISTÓRIA FAMILIAR**

40. Surdez 1. sim 2. não 41. Infecção otológica: 1. sim 2. não

**EXAME FÍSICO**

**CAVIDADE ORAL E NASO FARINGE**

42. Amígdalas hipertróficas 1. sim 2. não  
 43. MFC pálate 1. sim 2. não  
 44. Pálato Ogival 1. sim 2. não

**RINOSCOPIA ANTERIOR**

45. Cornetos Hipertróficos 1. sim 2. não  
 46. Desvio do Septo 1. sim 2. não

**ACUMETRIA**

47. VIA AÉREA  
 1. VAD =VAE 2. VAD> VAE 3. VAE>VAD  
 48. Weber  
 1. Indiferente 2. lateraliza D 3. Lateraliza E  
 49. Rinne OD 51.. Rinne OE  
 1. + 2. - 3. nada 1. + 2. - 3. nada

**DIAGNÓSTICO/ PATOGÊNESE ORELHA DIREITA**

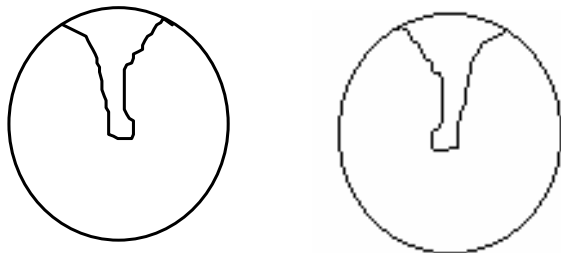
52. Colesteatoma via epitimpânica anterior 1. sim 2. não  
 53. Colesteatoma via epitimpânica posterior 1. sim 2. não  
 54. Colesteatoma mesotimpânica posterior 1. sim 2. não  
 55. Perfuração Timpânica central INSIDE OUT 1. sim 2. não  
 56. Perfuração Timpânica central OUTSIDE IN 1. sim 2. não  
 57. Perfuração timpânica marginal INSIDE OUT 1. sim 2. não  
 58. Perfuração Timpânica marginal OUTSIDE IN 1. sim 2. não

**DIAGNÓSTICO/ PATOGÊNESE ORELHA ESQUERDA**

- 59. Colesteatoma via epitimpânica anterior 1. sim 2. não
- 60. Colesteatoma via epitimpânica posterior 1. sim 2. não
- 61. Colesteatoma mesotimpânica posterior 1. sim 2. não
- 62. Perfuração Timpânica central INSIDE OUT 1. sim 2. não
- 63. Perfuração Timpânica central OUTSIDE IN 1. sim 2. não
- 64. Perfuração timpânica marginal INSIDE OUT 1. sim 2. não
- 65. Perfuração Timpânica central OUTSIDE IN 1. sim 2. não

**CONDUTA**

- 66. Cirúrgica – timpanoplastia 1. OD 2. OE 3. BILATERAL
- 67. Cirúrgica – timpanomastoidectomia 1. OD 2. OE 3. BILATERAL
- 68. Cirúrgica - timpanotomia exploradora 1. OD 2. OE 3. BILATERAL
- 69. Tubo de ventilação 1. OD 2. OE 3. BILATERAL
- 70. Expectante 1. OD 2. OE 3. BILATERAL



LIMIARES	250 HZ	500 HZ	1 KHZ	2 KHZ	3 KHZ	4 KHZ	6 KHZ	8 KHZ
VA OD	71	72	73	74	75	76	77	78
VO OD	79	80	81	82	83	84	85	86
VA OE	87	88	89	90	91	92	93	94
VO OE	95	96	97	98	99	100	101	102

- 103 Imitância: 1 ( ) sim 2 ( ) não
- 104 Curvas: OD 1. Curva: A 2. Curva B 3. Curva C 4. Curva As 5. Curva Ad  
OE 1. Curva: A 2. Curva B 3. Curva C 4. Curva As 5. Curva Ad
- 105. Reflexos: 1. ( ) presentes 2. ( ) ausentes

**OTOSCOPIA DIRETA**

	DIREITO	ESQUERDO
Orelha Externa PIN	106. 1. normal 2. MFC leve 3. MFC grave 4. ausência	107. 1. normal 2. MFC leve 3. MFC grave 4. ausência
Implantação CAE	108. 1. normal 2. baixa 110. 1. normal 2. filiforme 3. fundo de saco 4. ausente	109. 1. normal 2. baixa 111. 1. normal 2. filiforme 3. fundo de saco 4. ausente
Integridade MT	112. 1. sim 2. não	113. 1. sim 2. não
Transparência	114. 1. sim 2. não	115. 1. sim 2. não
Mobilidade	116. 1. sim 2. não	117. 1. sim 2. não
Líquido	118. 1. sim 2. não	119. 1. sim 2. não
Posição	120. Abaulada 1. sim 2. não 122. 1. difusa 2. localizada 124 1. AS 2. AI 3. PS 4. PI 126. Retraída 1. sim 2. não 128. 1. leve 2. moder 3. import. 130. 1. difusa 2 localizada 132. 1. AS 2. AI 3. PS 4. PI 5. atical	121. Abaulada 1. sim 2. não 123. 1. difusa 2. localizada 125. 1. AS 2. AI 3. PS 4. PI 127. Retraída 1. sim 2. não 129. 1. leve 2. moder 3. import. 131 1. difusa 2 Localizada 133. 1. AS 2. AI 3. PS 4. PI 5. atical
Perfuração	134. 1. sim 2. não 136. 1. central 2. marginal 138. 1. AS 2. AI 3. PS 4. PI 5. total 6. atical	135. 1. sim 2. não 137. 1. central 2. marginal 139. 1. AS 2. AI 3. PS 4. PI 5. total 6. atical
Colesteatoma	140. 1. primário 2. secundário 3. congênito	141. 1. primário 2. secundário 3. congênito
Provável via de formação	142. 1. epitimpânica anterior 2. epitimpânica posterior 3. mesotimpânica posterior	143. 1. epitimpânica anterior 2. epitimpânica posterior 3. mesotimpânica posterior
Complicações	144. 1. paresia 2. paralisia 3. abscesso 4. outras	145. 1. paresia 2. paralisia 3. abscesso 4. outras
Timpanoesclerose	146. 1. sim 2. não 148. Membrana Timpânica 1. S 2.N 150. Orelha Média 1. S 2.N 152. Ossículos 1. S 2.N	147. 1. sim 2. não 149. . Membrana Timpânica 1. S 2.N 151. Orelha Média 1. S 2.N 153. Ossículos 1. S 2.N
Granuloma de Colesterol	154. 1. sim 2. não	155. 1. sim 2. não
Estado da Mucosa	156. 1. normal 2. epitelizada 3. hiperplásica 4. infectada	157. 1. normal 2. epitelizada 3. hiperplásica 4. infectada

## Termo de Consentimento Informado

### TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

Prezado Paciente:

O Ambulatório de Otite Média Crônica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (AOMC-HCPA) destina-se ao estudo da Otite Média Crônica. Na rotina deste ambulatório são realizados um questionário padrão, exame otorrinolaringológico, filmagem das orelhas e exames de avaliação da audição. Todas estas avaliações seguem a normalidade de atendimento do Serviço de Otorrinolaringologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

No caso da Otite Média Colesteatomatosa (OMCC) existem diferenças na evolução e agressividade desta doença, quando comparadas em adultos e crianças. Com o intuito de estudar esta diferença, estamos testando, comparativamente, colesteatomas coletados de 20 crianças e 20 adultos.

Convidamos o senhor(a) para participar do estudo da Otite Média Crônica Colesteatomatosa. A participação deste estudo não interfere na rotina de avaliação e acompanhamento.

Durante o procedimento cirúrgico, único tratamento conhecido para esta patologia, será coletada uma amostra da pele da orelha operada, evento que não faz parte da rotina assistencial, mas que não acarretará nenhum desconforto ou risco adicional e, também, não interferirá em seu tratamento.

Os dados coletados nas avaliações podem ser usados de forma anônima em trabalhos científicos.

O paciente, ou responsável, tem a liberdade de retirar seu consentimento em participar da pesquisa a qualquer momento, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência recebida.

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, concordo, voluntariamente, em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

Assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

Assinatura do pesquisador  
Carimbo ou nome Legível

Pesquisadores responsáveis: Sady Selaimen da Costa e Cristina Dornelles

Endereço: Av. Ramiro Barcelos, 2350, Serviço de Otorrinolaringologia – HCPA – Zona 19

Telefone para contato (em horário comercial): 051 – 3316-8249 ou 33168164

**HCPA / GPPG**  
**VERSÃO APROVADA**  
23/10/02

**Carta de Aprovação do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação**



**HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE**  
**Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação**

COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE

**RESOLUÇÃO**

A Comissão Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB0000921) analisaram o projeto:

**Projeto:** 02-371

**Versão do Projeto:** 22/10/2002

**Versão do TCLE:** 23/10/2002

**Pesquisadores:**

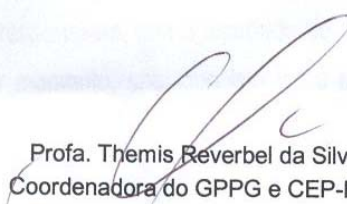
SADY S. DA COSTA

CRISTINA DORNELES

**Título:** QUANTIFICAÇÃO DE COLÁGENO EM COLESTEATOMAS ADQUIRIDOS  
PEDIÁTRICOS E ADULTOS

Este projeto foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, inclusive quanto ao seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Os membros do CEP/HCPA não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente ao CEP/HCPA. Somente poderão ser utilizados os Termos de Consentimento onde conste a aprovação do GPPG/HCPA.

Porto Alegre, 23 de outubro de 2002.

  
Profa. Themis Reverbel da Silveira  
Coordenadora do GPPG e CEP-HCPA

Quadro 4: Descrição demográfica da amostra

Nº	Iniciais	Idade	Gênero	Situação
01	F.P.R.S.	15	F	
02	C.L.	14	M	
03	G.R.	38	M	Excluído
04	M.R.C.	5	F	
05	O.B.F.	53	M	
06	L.V.	16	F	
07	N.L.R.	36	M	
08	R.A.R.	31	M	
09*	S.W.	20	F	
10*	J.C.S.D.	38	M	
11	J.F.	12	F	
12	C.M.V.	9	F	Excluído
13	D.S.	28	M	
14	G.C.D.	17	F	Excluído
15	A.B.T.	20	M	
16	F.T.T.	20	M	Excluído
17	L.M.M.	29	F	Excluído
18	C.O.G.	21	M	
19	B.L.S.	12	M	
20	G.B.	11	M	
21	P.R.S.	40	M	
22*	A.K.O.	10	F	
23	T.F.	14	M	Excluído
24	E.M.S.	25	F	
25	F.H.P.	37	M	
26*	V.S.M.	9	M	
27	C.S.	40	F	
28	C.R.	38	M	
29	D.K.	18	M	
30*	J.C.S.	12	F	Excluído
31	E.K.	53	F	
32*	A.K.O.	10	F	

Nº	Iniciais	Idade	Gênero	Situação
33	T.R.X.	23	F	
34	J.L.F.M.	17	M	Excluído
35	A.J.O.	66	M	Excluído
36	V.M.M.	37	M	
37	E.A.N.	10	F	
38	D.L.R.	9	M	
39	R.M.	13	M	
40	F.S.L.	9	M	Excluído
41	A.M.G.	26	F	Excluído
42	A.C.	22	M	
43	L.M.S.S.	22	F	
44	M.R.O.	19	M	
45	M.B.	39	M	
46	J.B.	8	F	Excluído
47	F.M.A.P.	20	F	
48	A.R.L.	12	M	
49	M.E.B.	34	F	Excluído
50*	S.W.	21	F	
51	V.R.R.	58	F	Excluído
52	B.M.D.	8	F	
53*	J.C.S.	12	F	
54	S.S.	7	M	
55	E.Z.S.	17	M	
56	M.W.	25	M	
57	R.S.A.	25	F	
58	J.P.W.	35	M	
59	M.X.F.	43	F	
60	D.S.S.	11	M	
61	G.V.I.	17	F	
62	M.M.S.	51	F	
63	J.L.	78	M	
64	D.R.S.	14	M	

Nº	Iniciais	Idade	Gênero	Situação
65	E.S.M.	40	M	Excluído
66	F.J.R.	13	M	
67	J.N.F.	44	M	Excluído
68	C.C.O.	20	M	

Nº	Iniciais	Idade	Gênero	Situação
69	J.V.	35	M	Excluído
70	P.J.S.M.	16	M	
71	J.C.R.	35	M	
72	M.D.A.	18	F	

\*Pacientes com colesteatoma bilateral

Os pacientes J.C.S.D. e V.S.M., apesar terem colesteatoma bilateral, só aparecem uma vez no quadro de pacientes por que as duas amostras foram coletadas no mesmo ato cirúrgico.

## Espessura da Perimatriz

Quadro 5: Resumo das variáveis e dos parâmetros utilizados para comparação entre os grupos pediátrico e adulto

N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	Média	Med	Min	Max	Delta	Soma
1	15	M	121	121	120	128	118	102	127	47	59	62	65	58	54	44	61	52	48	65	65	61	79	63	44	128	84	1576
2	14	F	191	195	268	318	355	397	395	437	456	463	469	189	189	152	264	389	415	447	459	455	345	392	152	469	318	6901
3	38	M	Excluído																									
4	5	M	339	327	326	311	332	332	345	375	400	421	231	266	300	314	310	320	324	252	279	324	321	324	231	421	190	6426
5	53	F	23	22	22	25	28	26	39	59	59	68	56	104	93	85	75	66	45	39	40	41	51	43	22	104	82	1014
6	16	M	14	10	13	15	21	11	9	9	12	10	44	45	33	30	30	30	40	70	50	30	26	25	9	70	61	524
7	36	F	309	344	355	390	416	452	445	453	455	411	321	333	340	357	404	427	451	429	343	448	394	407	309	455	146	7881
8	31	F	26	32	33	42	54	33	67	87	65	84	100	114	121	121	121	54	62	58	38	49	68	60	26	121	95	1357
9	18	M	125	115	93	79	69	63	66	57	45	48	41	48	56	57	64	60	57	50	48	78	66	58	41	125	85	1315
10e	35	F	319	303	287	276	293	295	314	352	300	81	91	77	49	50	36	27	37	38	38	290	178	183	27	352	325	3554
10d	35	F	158	149	176	201	225	210	211	194	215	218	28	17	14	18	21	20	19	20	16	14	107	89	14	225	211	2143
11	11	M	290	238	148	97	75	83	87	98	108	131	320	376	366	301	284	341	361	343	274	359	234	279	75	376	301	4681
12	9	F	Excluído																									
13	27	F	55	55	59	65	70	78	84	71	63	58	67	39	36	35	41	45	44	43	105	103	61	59	35	105	69	1212
14	17	F	Excluído																									
15	18	F	241	225	236	257	270	272	223	236	264	240	216	466	453	448	410	299	455	479	484	360	327	271	216	484	268	6532
16	20	M	Excluído																									
17	29	F	Excluído																									
18	21	F	61	61	64	66	73	74	84	90	95	101	114	106	104	105	104	104	104	107	104	105	91	102	61	114	54	1823

N=número de inclusão do paciente no estudo, números acompanhados da letra "e" referem-se a colesteatoma da orelha esquerda de paciente com doença bilateral, números acompanhados da letra "d" referem-se a colesteatoma da orelha direita de paciente com doença bilateral; I=idade do paciente na data da cirurgia; G= gênero (F= Feminino, M= Masculino); P1 a P20= medidas da espessura da perimatriz, em micrômetros; Média= média das 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Med= mediana das 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Min= valor mínimo da série de 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Max= valor máximo da série de 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Delta= diferença entre o valor máximo e o valor mínimo da série de 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Soma= somatório das 20 medidas da perimatriz para cada paciente

**Quadro 5: Resumo das variáveis e dos parâmetros utilizados para comparação entre os grupos pediátrico e adulto (continuação)**

N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	Média	Med	Min	Max	Delta	Soma	
19	12	F	166	132	297	365	392	383	405	248	151	401	89	99	106	132	161	155	135	134	279	302	227	164	89	405	316	4533	
20	12	F	290	293	300	311	299	308	348	376	379	374	340	319	306	299	293	335	308	289	248	358	318	308	248	379	131	6369	
21	40	F	15	18	22	21	23	28	31	59	107	161	35	45	48	41	33	37	113	78	162	95	59	39	15	162	147	1170	
22	10	M	79	94	11	125	119	243	254	241	275	200	241	229	240	264	298	383	425	419	339	226	235	241	11	425	414	4703	
23	14	M	Excluído																										
24	25	M	143	156	135	139	138	136	129	121	107	101	165	157	131	119	102	110	178	193	189	107	138	135	101	193	92	2753	
25	37	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26e	9	F	79	81	77	69	70	78	73	83	82	80	77	77	68	66	72	73	71	84	77	84	76	77	66	84	18	1517	
26d	9	F	4	4	4	4	4	4	4	3	3	4	6	4	4	6	8	8	6	6	6	5	5	4	3	8	6	97	
27	40	F	117	115	116	119	124	136	135	136	135	130	124	120	114	106	97	94	90	82	83	121	115	118	82	136	54	2293	
28	37	F	54	54	55	49	50	47	47	45	43	44	43	42	40	36	37	36	46	47	47	48	46	47	36	55	19	911	
29	18	F	69	71	77	97	117	139	161	180	194	208	204	197	186	181	172	162	126	99	69	58	138	150	58	208	149	2766	
30	12	F	Excluído																										
31	53	F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
32	10	F	48	52	54	49	42	40	38	38	42	52	55	55	54	55	49	42	40	38	38	42	46	45	38	55	18	919	
33	23	F	196	256	243	241	236	220	239	232	187	164	240	245	248	260	239	243	235	224	208	179	227	238	164	260	96	4536	
34	17	M	Excluído																										
35	66	M	Excluído																										
36	37	M	37	36	27	25	32	24	28	21	28	29	29	30	20	17	18	18	20	28	24	29	26	27	17	37	19	520	
37	10	F	16	19	21	37	38	42	61	53	58	54	16	21	37	38	35	62	54	59	47	34	40	38	16	62	47	802	
38	9	M	37	38	37	39	37	33	29	23	24	21	35	35	36	44	44	46	41	40	37	35	35	37	21	46	25	709	
39	13	M	257	233	213	213	224	240	223	243	231	235	219	216	208	193	215	181	175	252	222	243	222	222	175	257	82	4437	

N=número de inclusão do paciente no estudo, números acompanhados da letra "e" referem-se a colesteatoma da orelha esquerda de paciente com doença bilateral, números acompanhados da letra "d" referem-se a colesteatoma da orelha direita de paciente com doença bilateral; I=idade do paciente na data da cirurgia; G= gênero (F= Feminino, M= Masculino); P1 a P20= medidas da espessura da perimatriz, em micrômetros; Média= média das 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Med= mediana das 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Min= valor mínimo da série de 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Max= valor máximo da série de 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Delta= diferença entre o valor máximo e o valor mínimo da série de 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Soma= somatório das 20 medidas da perimatriz para cada paciente



**Quadro 5: Resumo das variáveis e dos parâmetros utilizados para comparação entre os grupos pediátrico e adulto (continuação)**

N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	Média	Med	Min	Max	Delta	Soma
40	9	M	Excluído																									
41	26	F	Excluído																									
42	22	M	331	337	321	311	247	224	333	384	473	525	607	666	722	338	1926	1895	1913	1716	1731	350	767	428	224	1926	1702	15348
43	22	F	67	73	83	95	90	91	96	94	87	88	68	66	75	79	95	105	107	118	126	138	92	91	66	138	72	1842
44	19	M	52	85	213	189	177	59	137	167	156	109	76	60	43	44	34	31	26	33	24	86	90	68	24	213	189	1801
45	39	M	179	177	170	145	131	123	123	100	139	167	204	210	301	313	292	295	353	305	304	150	83	178	100	353	253	4181
46	8	F																										
47	20	F	37	42	34	31	21	21	32	78	48	15	14	44	44	17	12	31	24	10	4	16	6	28	4	78	74	575
48	12	M	226	279	319	390	375	377	194	434	424	291	303	299	310	353	376	477	425	387	371	355	386	363	194	477	283	6965
49	34	F	Excluído																									
50	21	F	427	437	443	424	406	395	401	404	430	415	166	159	155	150	144	136	134	154	165	168	286	282	134	443	309	5713
51	58	F	Excluído																									
52	8	F	199	218	237	239	266	285	313	329	241	232	170	253	215	206	233	311	356	344	334	314	265	247	170	356	186	5294
53	15	F	94	97	91	126	73	72	64	57	50	54	50	49	54	66	62	64	64	69	79	85	71	65	49	126	77	1420
54	7	M	212	242	259	260	262	225	244	241	205	200	233	229	230	246	264	262	270	253	261	259	243	245	200	270	70	4858
55	17	M	26	40	49	36	40	65	63	77	94	109	71	66	62	55	49	48	48	55	59	60	59	57	26	109	83	1172
56	25	M	150	169	196	210	188	158	164	157	178	192	53	48	67	82	182	231	247	261	223	250	170	180	48	261	213	3407
57	25	F	25	39	42	35	30	30	26	28	31	41	82	82	63	55	38	30	100	131	129	122	58	40	25	131	106	1160
58	35	M	211	246	197	210	207	236	246	309	334	344	343	332	265	216	243	259	202	152	321	244	256	245	152	344	192	5119
59	43	F	26	20	21	19	15	4	6	12	10	21	9	16	13	10	18	30	47	38	26	19	19	18	4	47	43	379
60	11	M	236	271	284	336	388	425	445	454	466	454	475	426	379	198	290	195	223	129	93	109	314	313	93	475	383	6274
61	17	F	78	71	75	91	87	81	98	95	81	63	106	89	71	77	67	71	76	78	86	65	80	78	63	106	44	1600
62	51	F	39	38	37	36	34	50	52	43	34	32	32	16	15	15	11	12	11	12	12	10	27	32	10	52	42	541

N=número de inclusão do paciente no estudo, números acompanhados da letra “e” referem-se a colesteatoma da orelha esquerda de paciente com doença bilateral, números acompanhados da letra “d” referem-se a colesteatoma da orelha direita de paciente com doença bilateral; I=idade do paciente na data da cirurgia; G= gênero (F= Feminino, M= Masculino); P1 a P20= medidas da espessura da perimatriz, em micrômetros; Média= média das 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Med= mediana das 20 medidas da perimatriz para cada

paciente; Min= valor mínimo da série de 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Max= valor máximo da série de 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Delta= diferença entre o valor máximo e o valor mínimo da série de 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Soma= somatório das 20 medidas da perimatriz para cada paciente

**Quadro 5: Resumo das variáveis e dos parâmetros utilizados para comparação entre os grupos pediátrico e adulto (continuação)**

N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	Média	Med	Min	Max	Delta	Soma	
63	78	M	0	14	7	14	8	6	6	8	4	2	6	29	37	43	41	47	45	46	45	35	20	14	0	47	47	443	
64	14	M	48	43	41	38	35	26	26	14	9	5	7	4	12	4	4	12	13	8	5	5	18	12	4	48	44	359	
65	40	M	Excluído																										
66	13	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
67	44	M	Excluído																										
68	20	M	298	274	265	253	231	218	225	248	299	227	181	209	244	229	198	184	202	197	211	218	231	226	181	299	118	4611	
69	35	M	Excluído																										
70	16	M	16	17	17	19	23	24	12	15	17	12	14	15	13	12	16	18	17	17	19	16	16	17	12	24	12	313	
71	35	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
72	18	F	45	44	76	80	77	57	73	57	38	79	51	38	20	25	49	43	18	28	23	25	47	45	18	80	62	945	

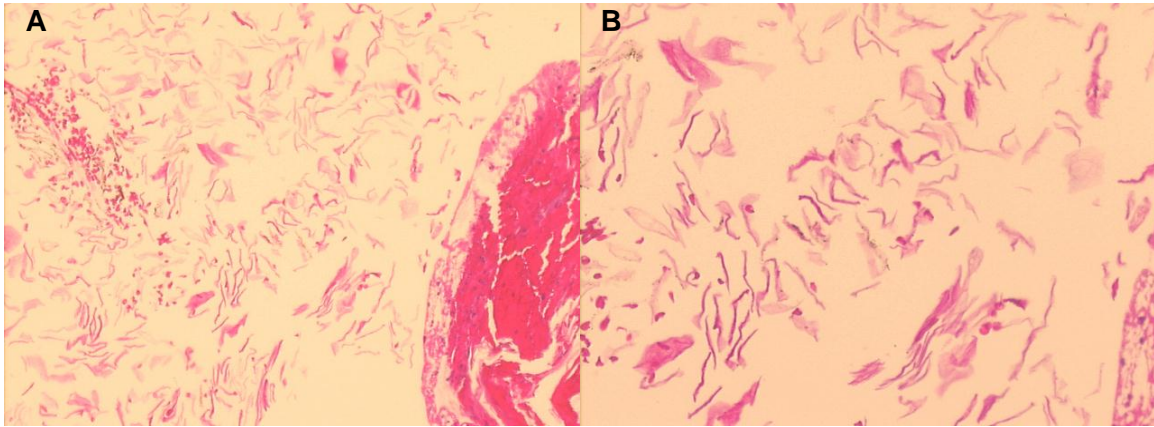
N=número de inclusão do paciente no estudo, números acompanhados da letra “e” referem-se a colesteatoma da orelha esquerda de paciente com doença bilateral, números acompanhados da letra “d” referem-se a colesteatoma da orelha direita de paciente com doença bilateral; I=idade do paciente na data da cirurgia; G= gênero (F= Feminino, M= Masculino); P1 a P20= medidas da espessura da perimatriz, em micrômetros; Média= média das 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Med= mediana das 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Min= valor mínimo da série de 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Max= valor máximo da série de 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Delta= diferença entre o valor máximo e o valor mínimo da série de 20 medidas da perimatriz para cada paciente; Soma= somatório das 20 medidas da perimatriz para cada paciente.

**CD com a coleção histológica completa**

## **Dados Clínicos e Histológicos**

Este arquivo contém os dados obtidos dos protocolos de 1ª consulta do AOMC-HCPA dos pacientes e as descrições histopatológicas das lâminas referentes aos casos estudados, bem como as imagens digitais dos colesteatomas (Figuras 1 a 58).

Como a maioria dos pacientes excluídos apresentava somente lamelas córneas, será apresentada apenas uma imagem representativa destes pacientes (Figura 1). Alguns colesteatomas também foram excluídos, apesar de apresentarem material biológico além da queratina, porém não possuíam integridade tecidual. As lâminas dos colesteatomas do paciente 30 (Figura 25) tinham toda a estrutura histológica, porém a perimatriz não apresentava continuidade tecidual, o que impossibilitou sua medida; e o material do paciente 67 constituía-se de perimatriz com inflamação e fibrose densa, mas não exibia matriz; já na lâmina do caso 69 só havia exsudato e material córneo (Figura 55).



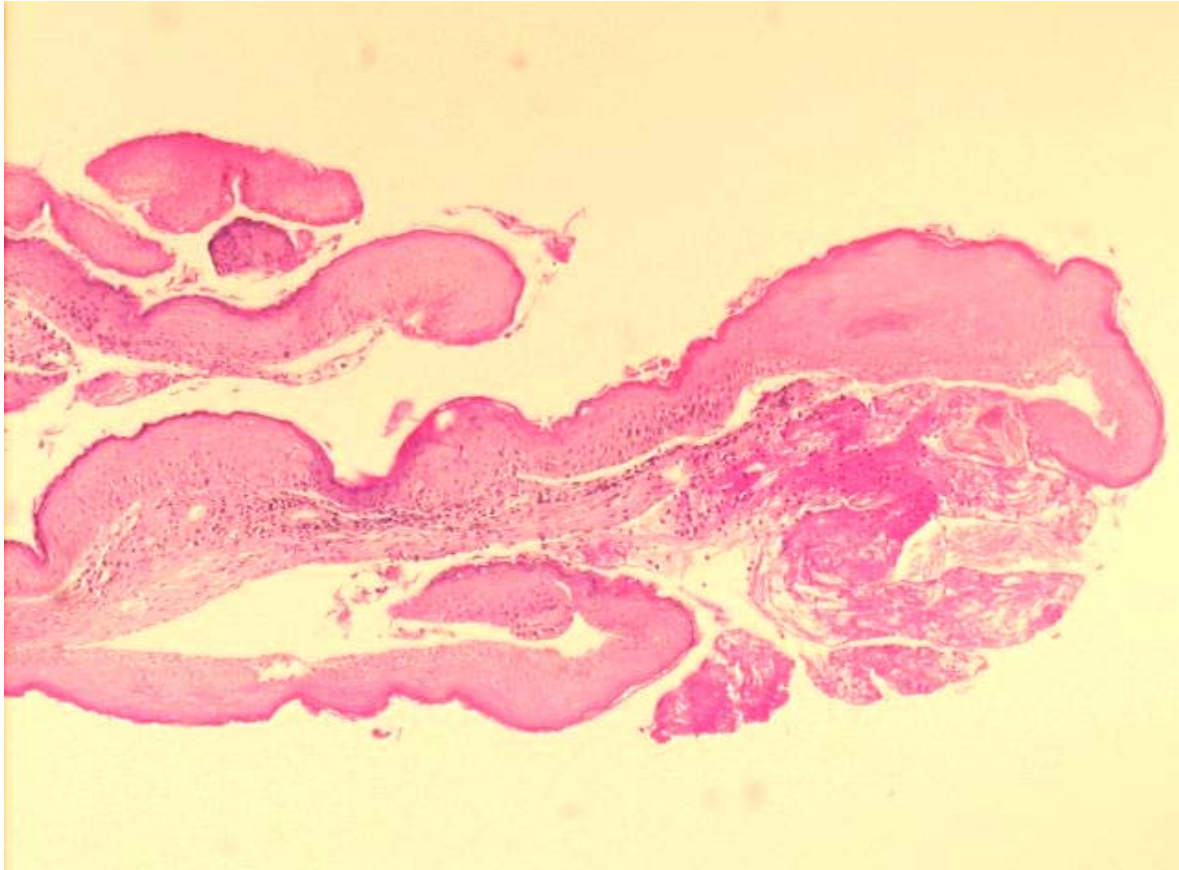
**Figura 1:** Imagens digitalizadas da lâmina do colesteatoma do paciente 12.

C.M.V., 9 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: A – 100x e B – 200x

Anatomopatológico: Material constituído exclusivamente por lamelas córneas.

Imagem representativa das amostras dos pacientes números 3, 12, 14, 16, 17, 23, 34, 35, 40, 41, 46, 49, 51 e 66.

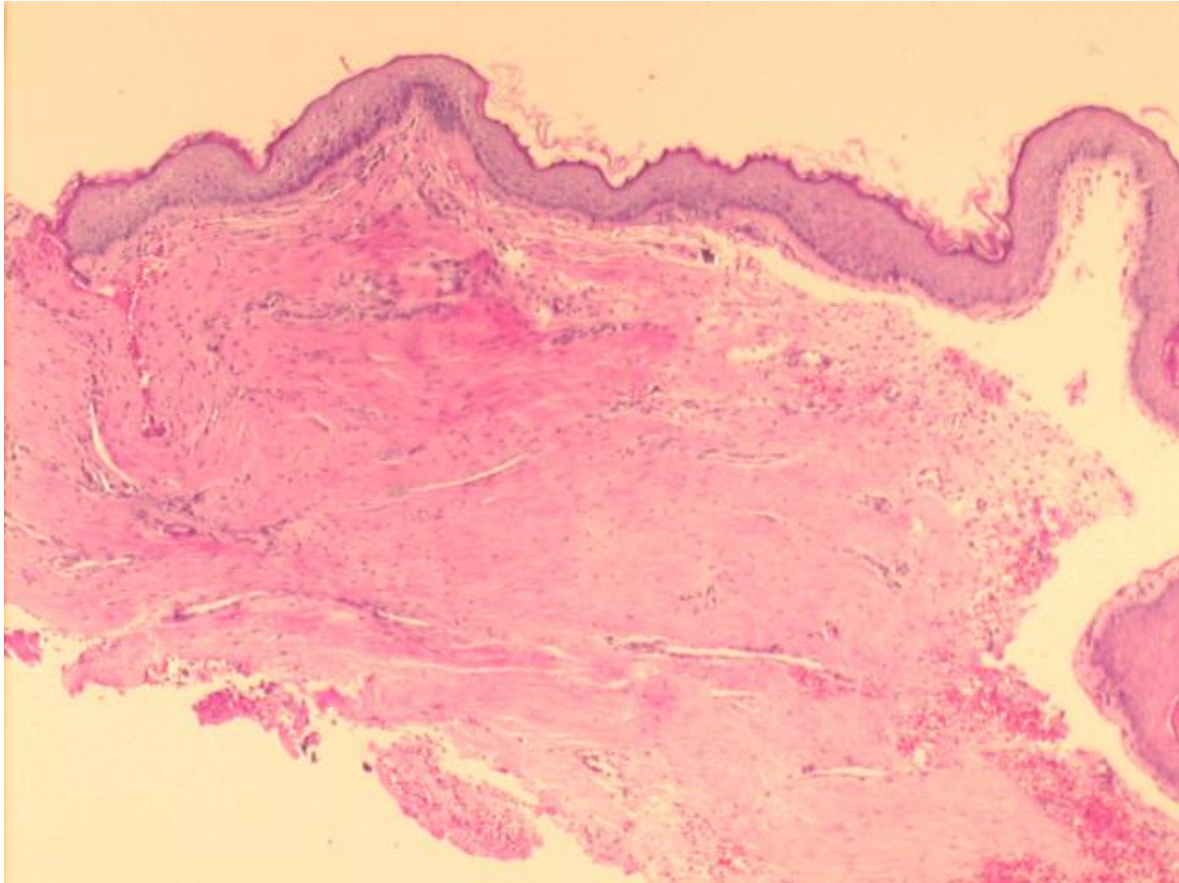


**Figura 2:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 1.

F.P.R.S., 15 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: A – 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, exibindo uma média de oito camadas de células em sua matriz, com áreas de hiperplasia. A perimatriz, delicada, mostra discreto infiltrado inflamatório linfocitário, e é delimitada, em seu plano profundo, por camada única de epitélio cúbico-achatado. Ausência de granulomas.

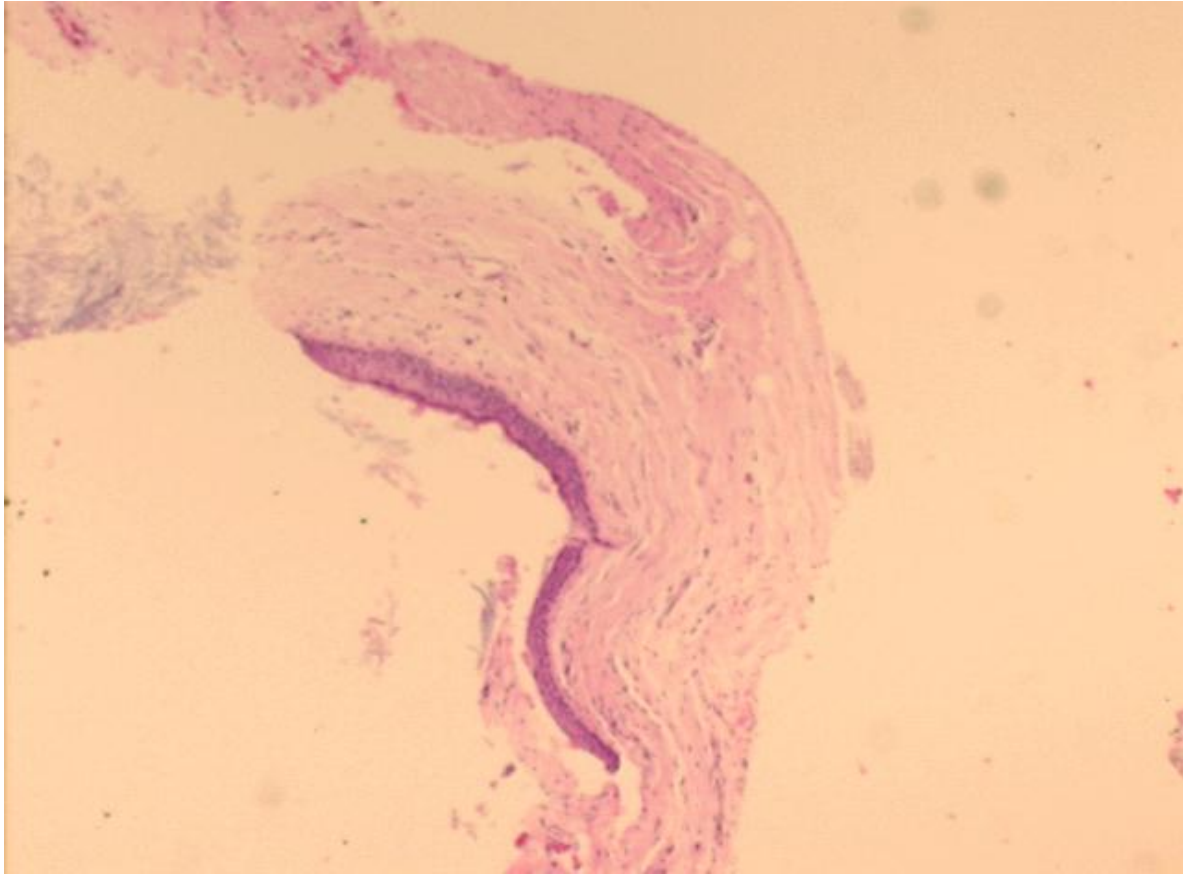


**Figura 3:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 2.

C.L., 14 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com áreas de hiperplasia, com uma média de 11 camadas de células em sua matriz. A perimatriz é espessa, com fibrose densa, mostrando mínimo infiltrado inflamatório linfocitário. Ausência de granulomas.



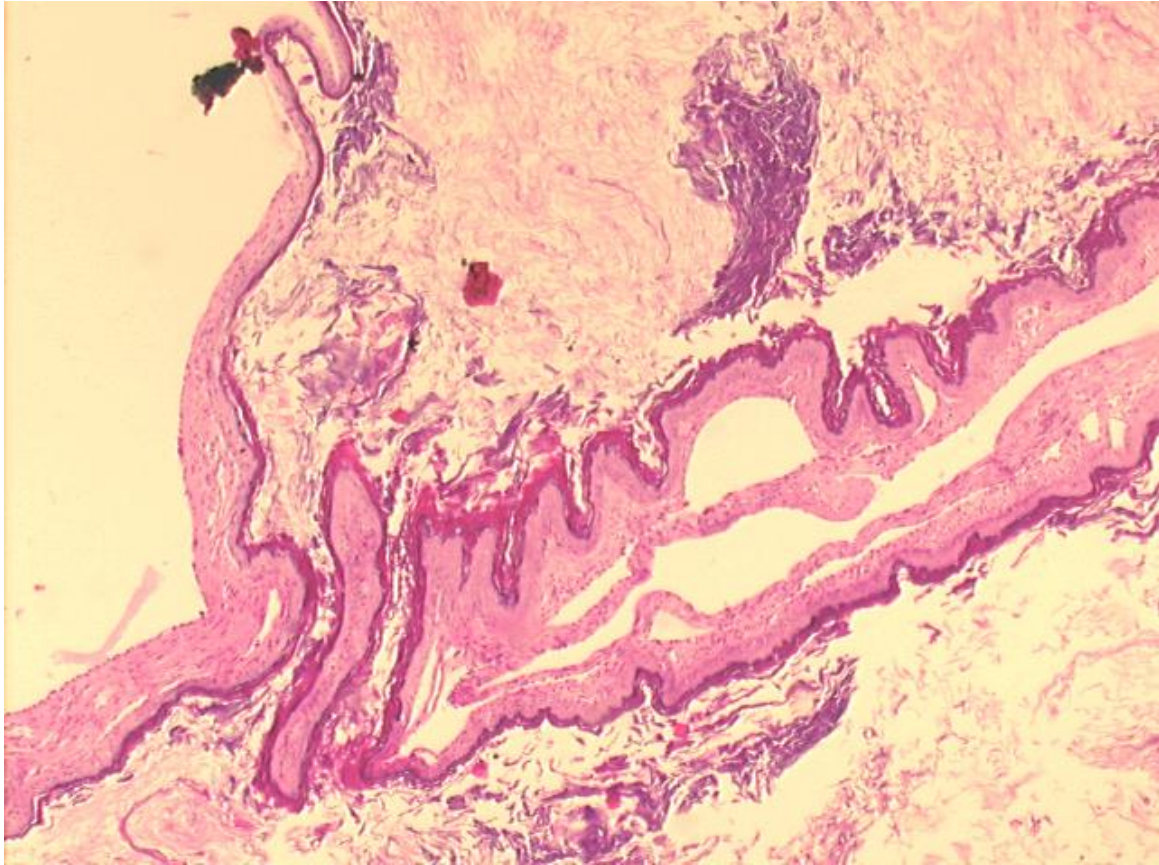
**Figura 4:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 4.

M.R.C., 5 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de seis camadas de células. Perimatriz alternando fibrose jovem e fibrose madura, com discreto infiltrado inflamatório linfocitário. Ausência de granulomas.



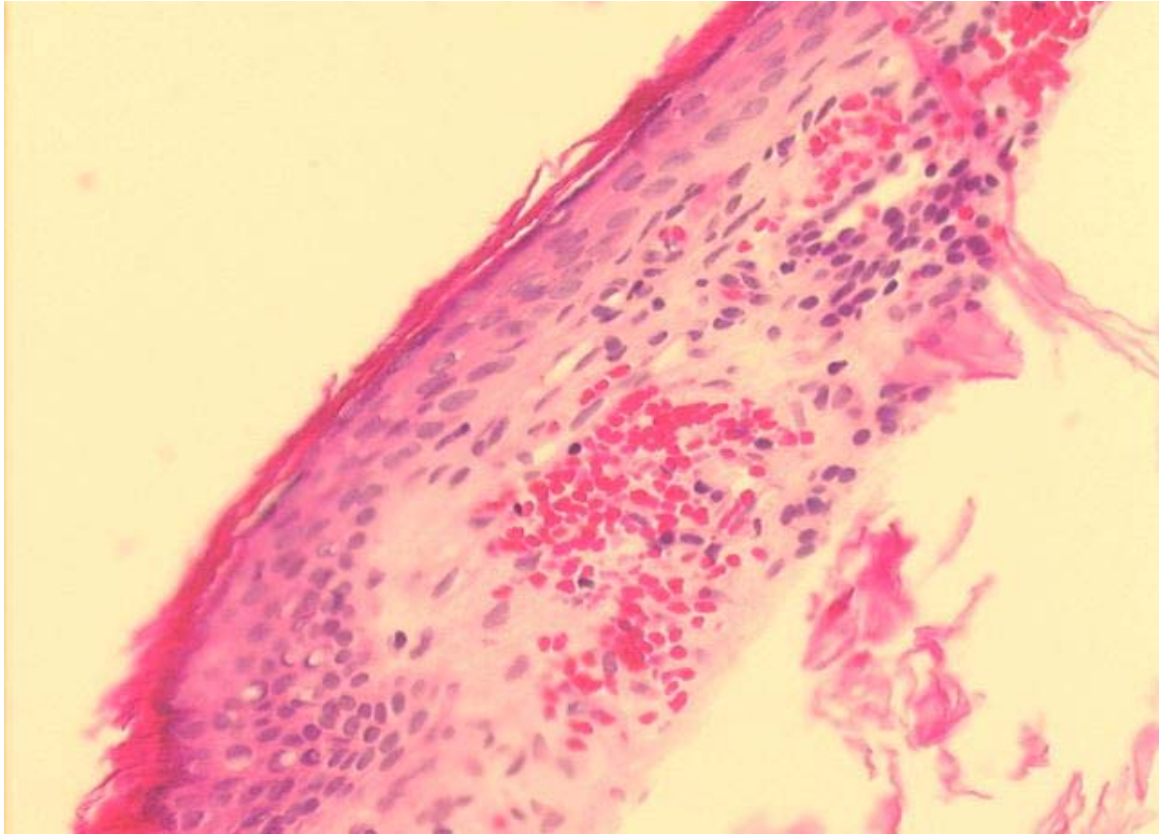


**Figura 5:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 5.

O.B.F., 53 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de quatro camadas de células. Mínimo infiltrado inflamatório linfocitário em perimatriz delicada, delimitada em seu plano profundo por epitélio cúbico simples. Ausência de granulomas.

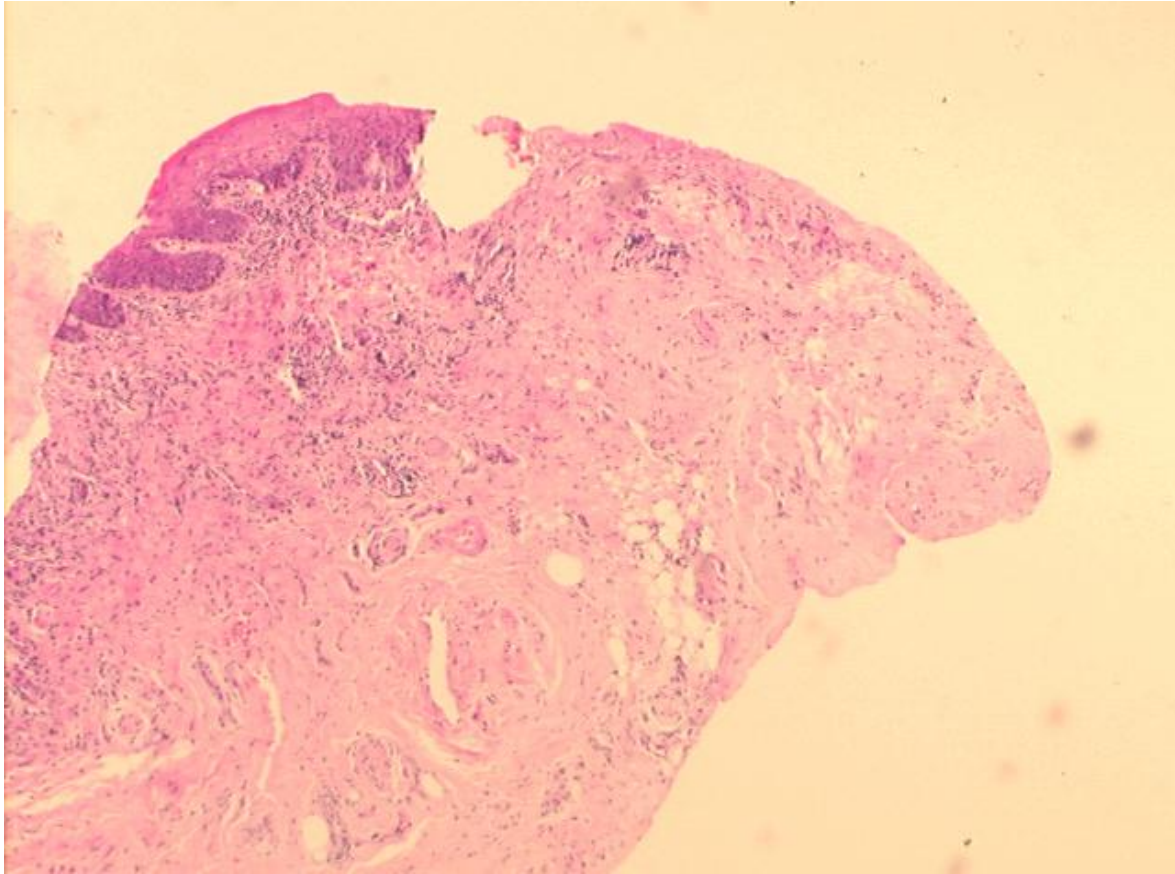


**Figura 6:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 6.

L.V., 16 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 200x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com quatro camadas de células. Perimatriz muito delicada, sem infiltrado inflamatório ou granulomas.

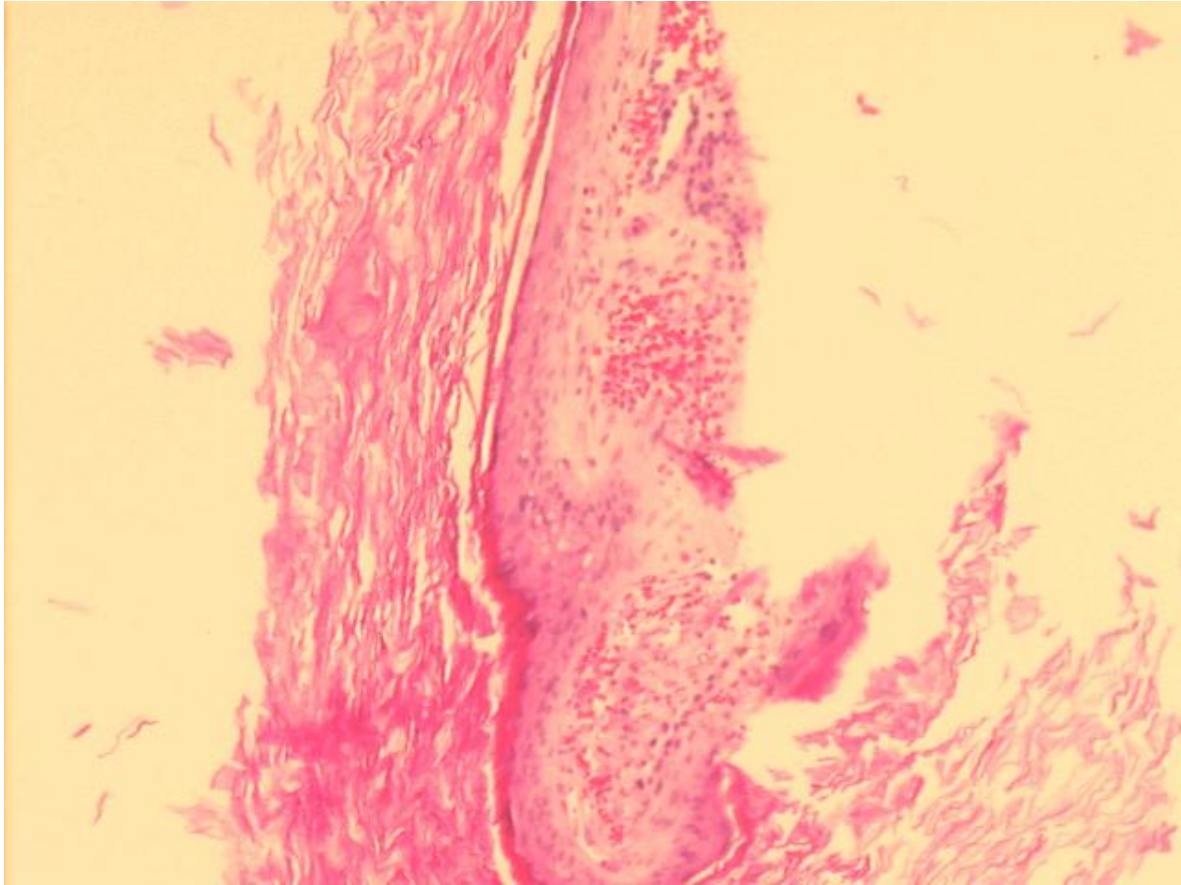


**Figura 7:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 7.

N.L.R., 36 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, exibindo média de 12 camadas de células. A perimatriz mostra fibrose densa e infiltrado inflamatório linfoplasmocitário moderado. Ausência de granulomas.

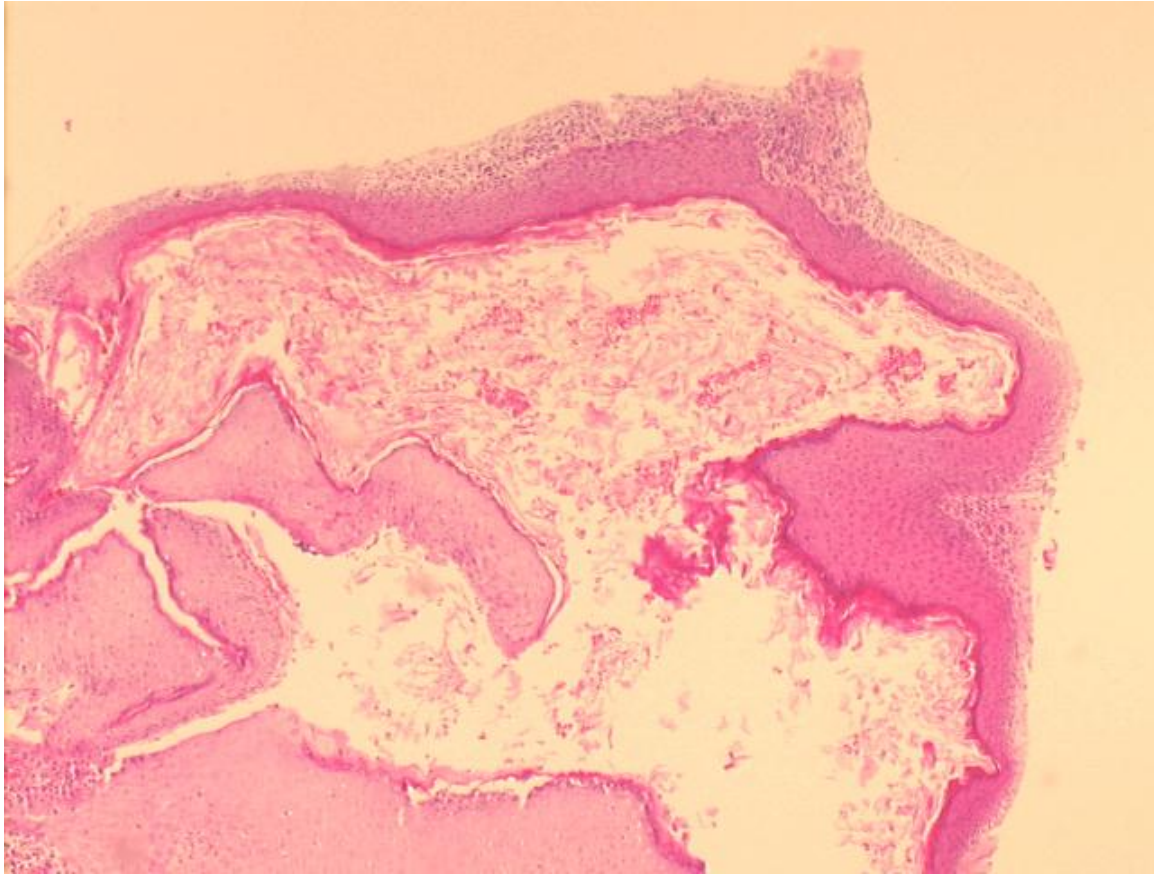


**Figura 8:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 8.

R.A.R., 31 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de seis camadas de células. Perimatriz delicada, com discreto infiltrado inflamatório linfocitário e pouca fibrose. Ausência de granulomas.

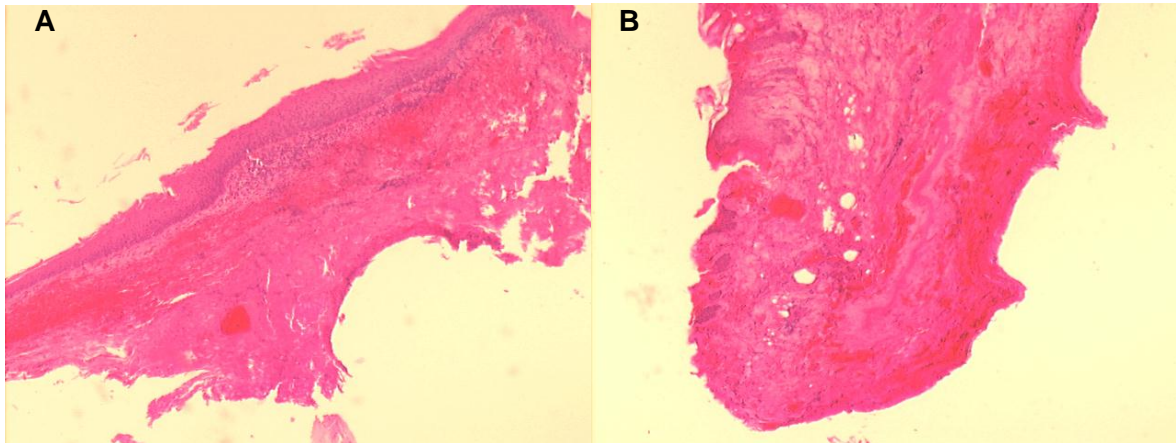


**Figura 9:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 9.

S.W., 20 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com hiperplasia epitelial, exibindo média de 22 camadas de células. Perimatriz fibrótica, com infiltrado inflamatório moderado a acentuado. Ausência de granulomas.



**Figura 10:** Imagens digitalizadas das lâminas dos colesteatomas do paciente 10, patologia bilateral.

J.C.S.D., 38 anos, Masculino

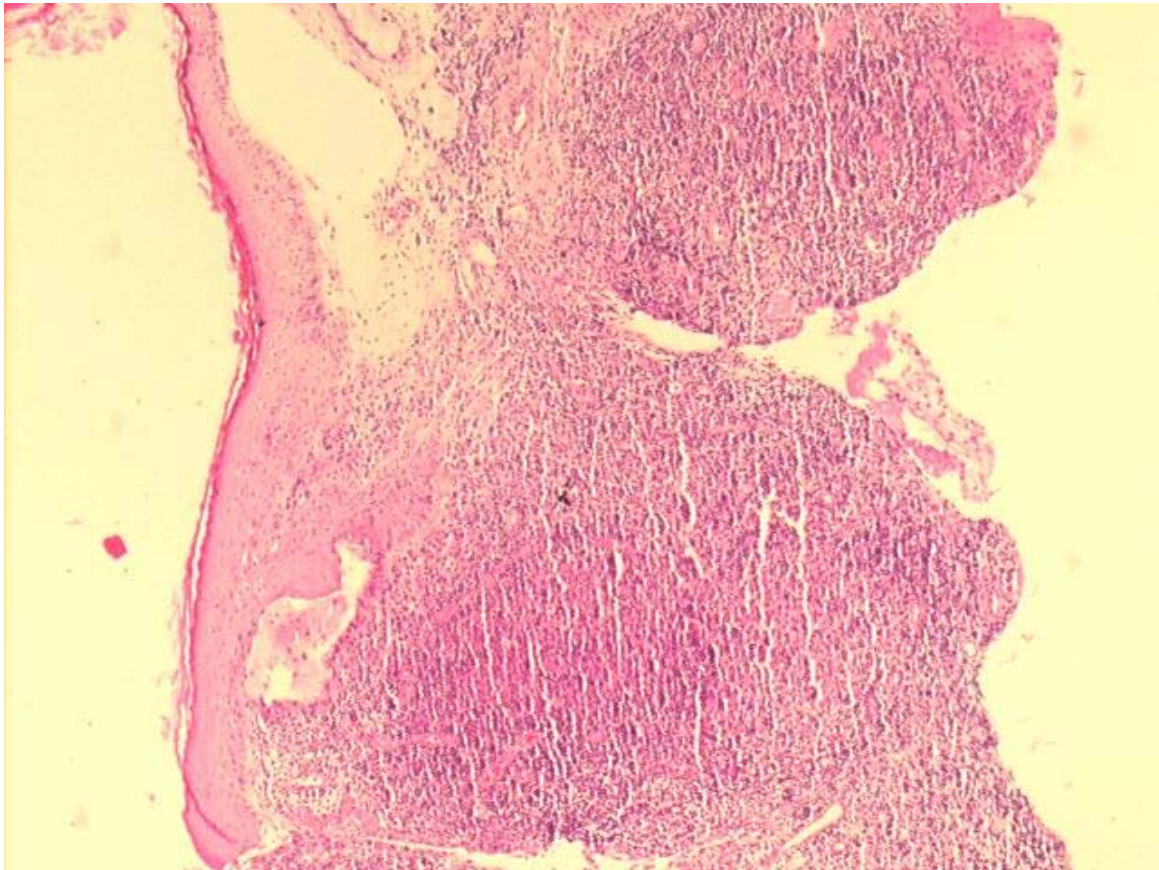
Coloração: HE      Aumento: A – colesteatoma à esquerda – 50x

B – colesteatoma à direita – 50x

Anatomopatológico:

A - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com áreas de hiperplasia epitelial, exibindo média de 12 camadas de células. Perimatriz com fibrose densa, área de inflamação crônica com linfócitos, plasmócitos e tecido de granulação. Ausência de granulomas.

B - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com áreas de hiperplasia epitelial, exibindo média de 12 camadas de células. Perimatriz com fibrose densa, área de inflamação crônica com linfócitos, plasmócitos. Ausência de granulomas.

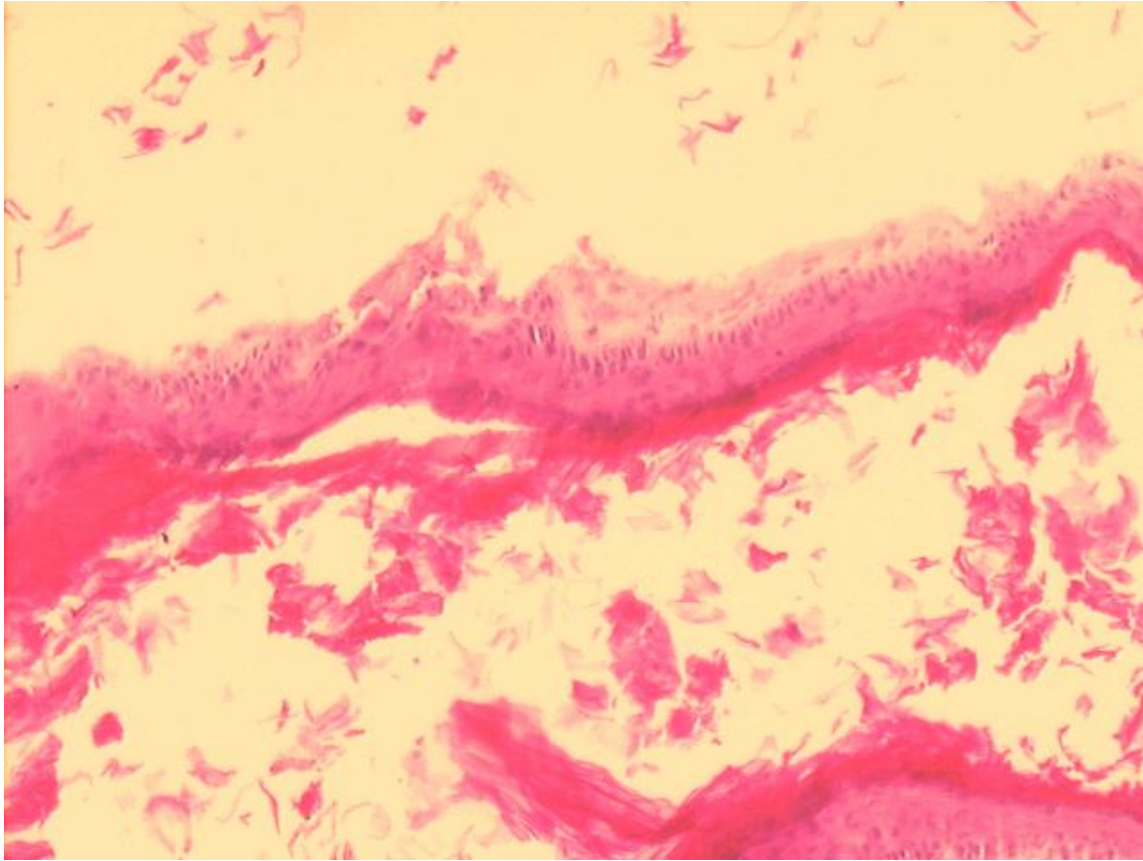


**Figura 11:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 11.

J.F., 12 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de 12 camadas de células. Perimatriz com infiltrado inflamatório linfoplasmocitário moderado e fibrose densa. Ausência de granulomas.



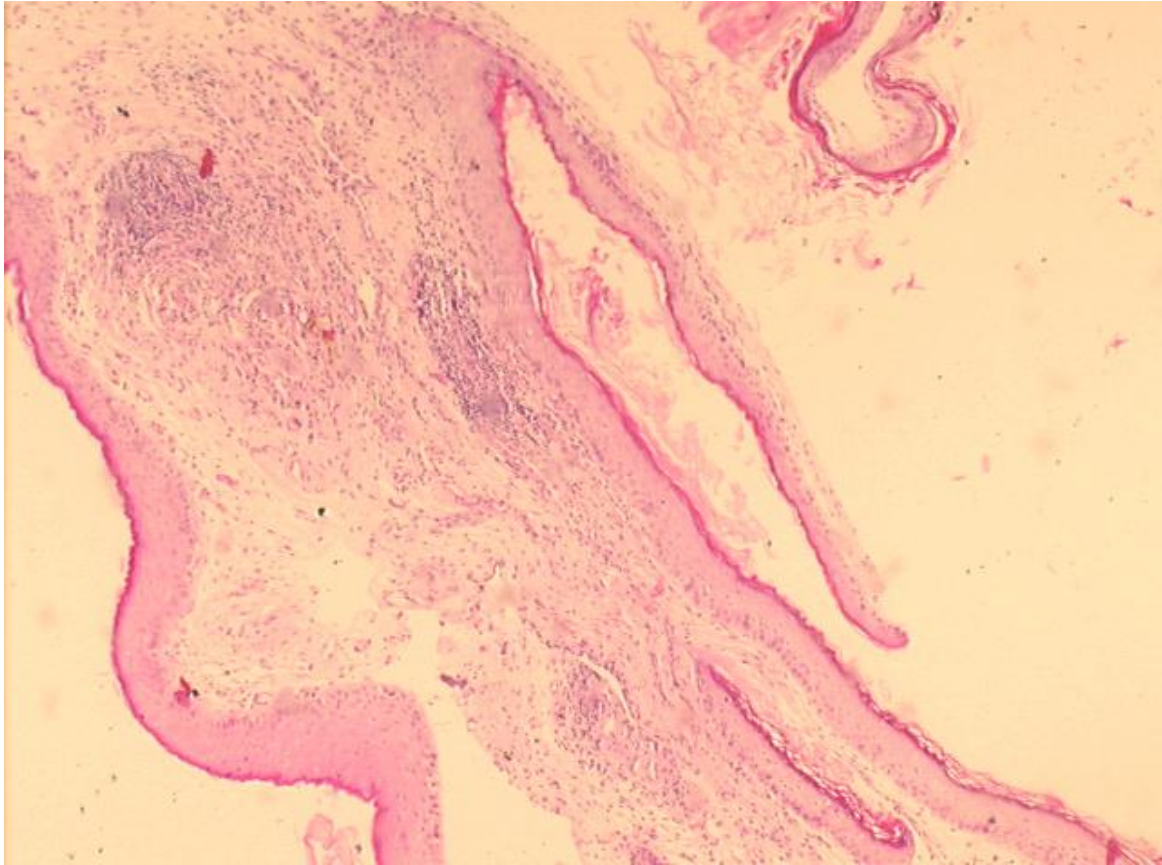
**Figura 12:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 13.

D.S., 28 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de seis camadas de células. Perimatriz exibindo infiltrado linfoplasmocitário moderado a acentuado, e pouca fibrose. Ausência de granulomas.



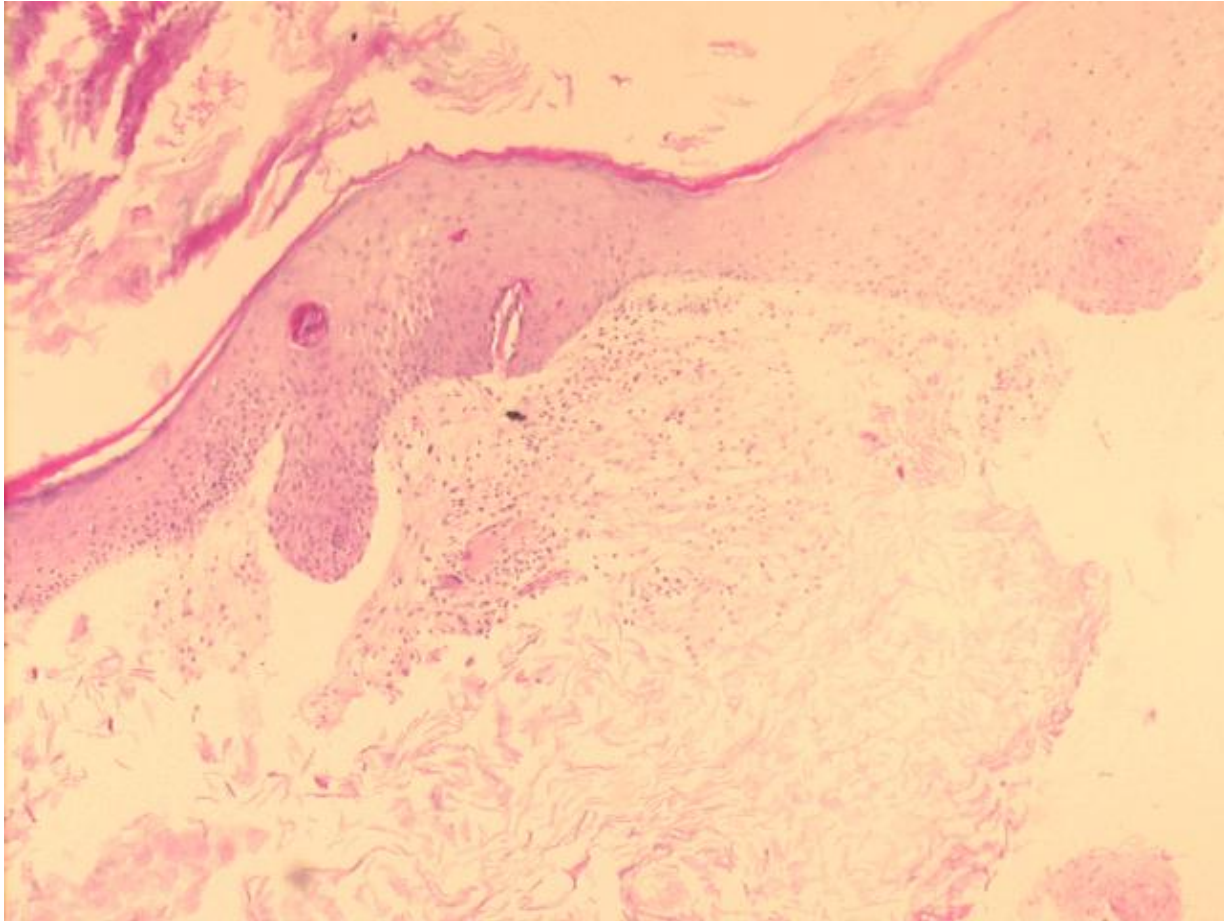


**Figura 13:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 15.

A.B.T., 20 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de 12 camadas de células. Perimatriz exibindo infiltrado inflamatório moderado, com folículos linfóides e acúmulos de hemossiderida (sinal de hemorragia antiga). Fibrose moderada. Ausência de granulomas.

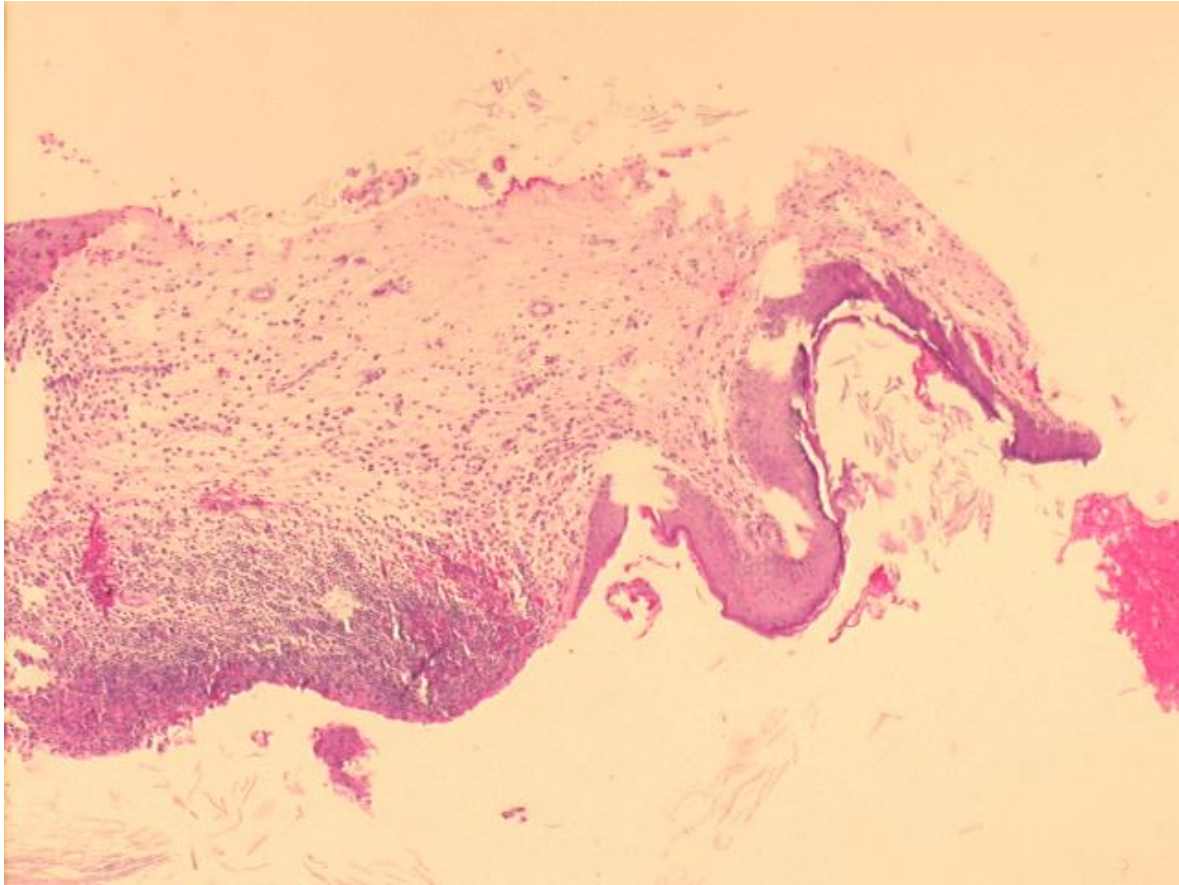


**Figura 14:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 18.

C.O.G., 21 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de seis camadas de células, exibindo áreas de hiperplasia epitelial. A perimatriz mostra espessura e graus de fibrose muito variáveis, observando-se área de inflamação crônica com granuloma por corpo estranho (lamelas córneas) e acúmulos de hemossiderina.

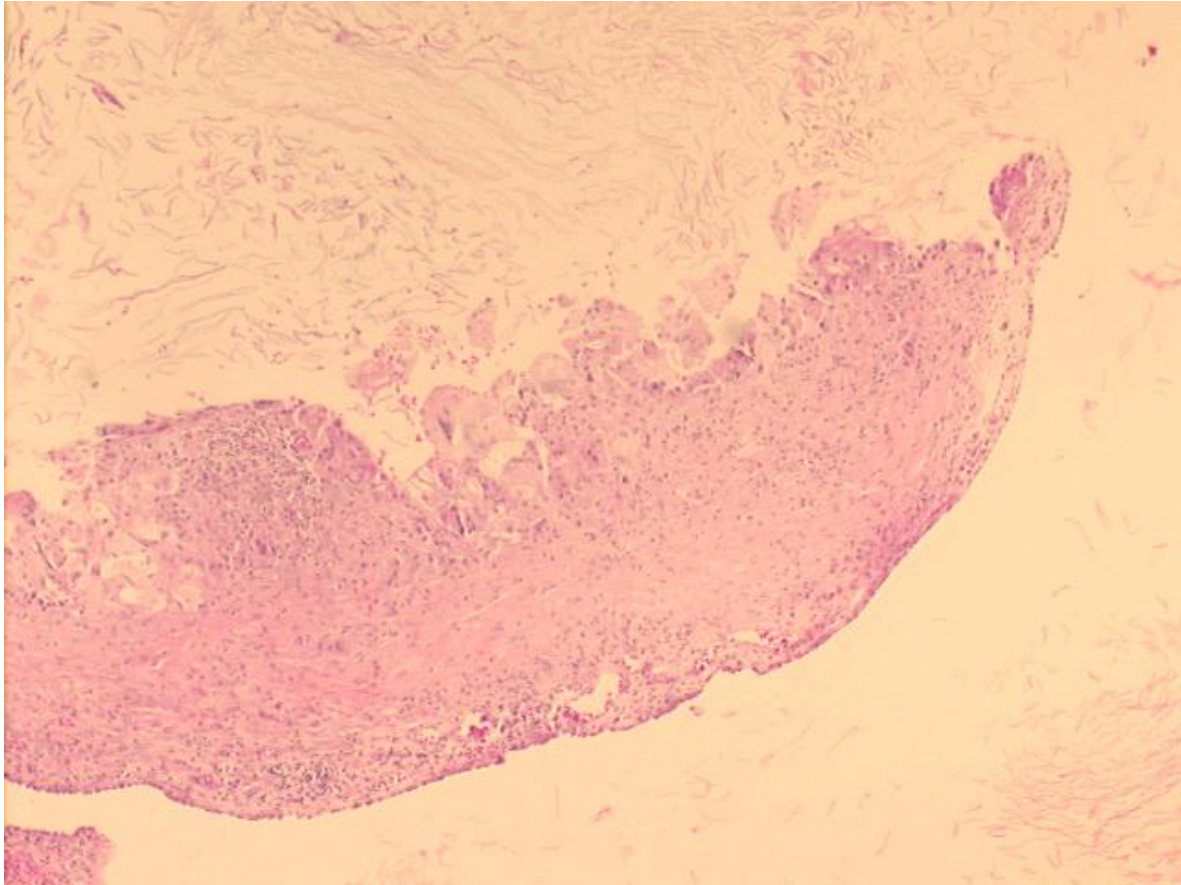


**Figura 15:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 19.

B.L.S., 12 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de 10 camadas de células. Perimatriz frouxa, infiltrado inflamatório moderado, linfoplasmocitário, com áreas de formação de agregados linfóides.

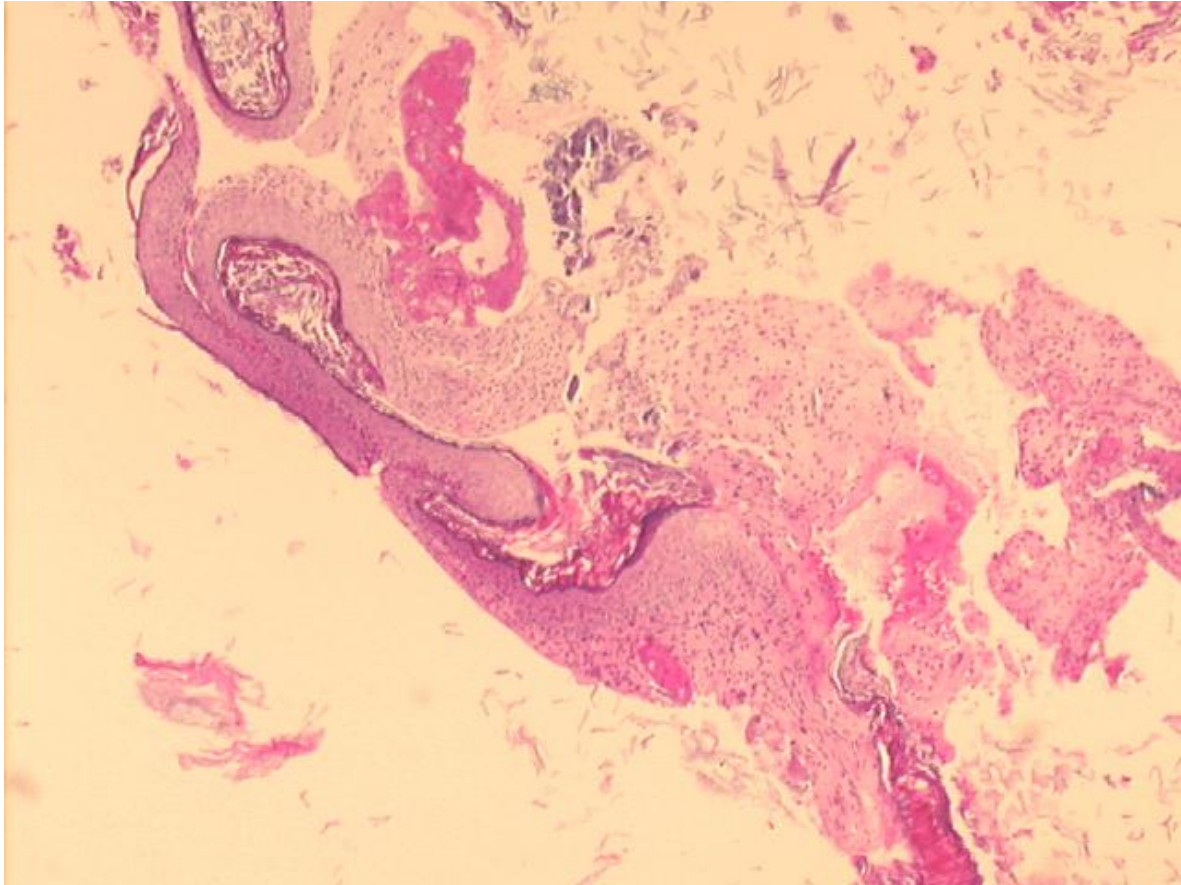


**Figura 16:** Imagem digitalizada das lâminas dos colesteatomas do paciente 20.

G.B., 11 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de quatro camadas de células. Perimatriz com espessura variável, e ampla área de inflamação crônica com granuloma por corpo estranho (lamelas córneas), e fibrose densa. A base da perimatriz exhibe epitélio cúbico simples.

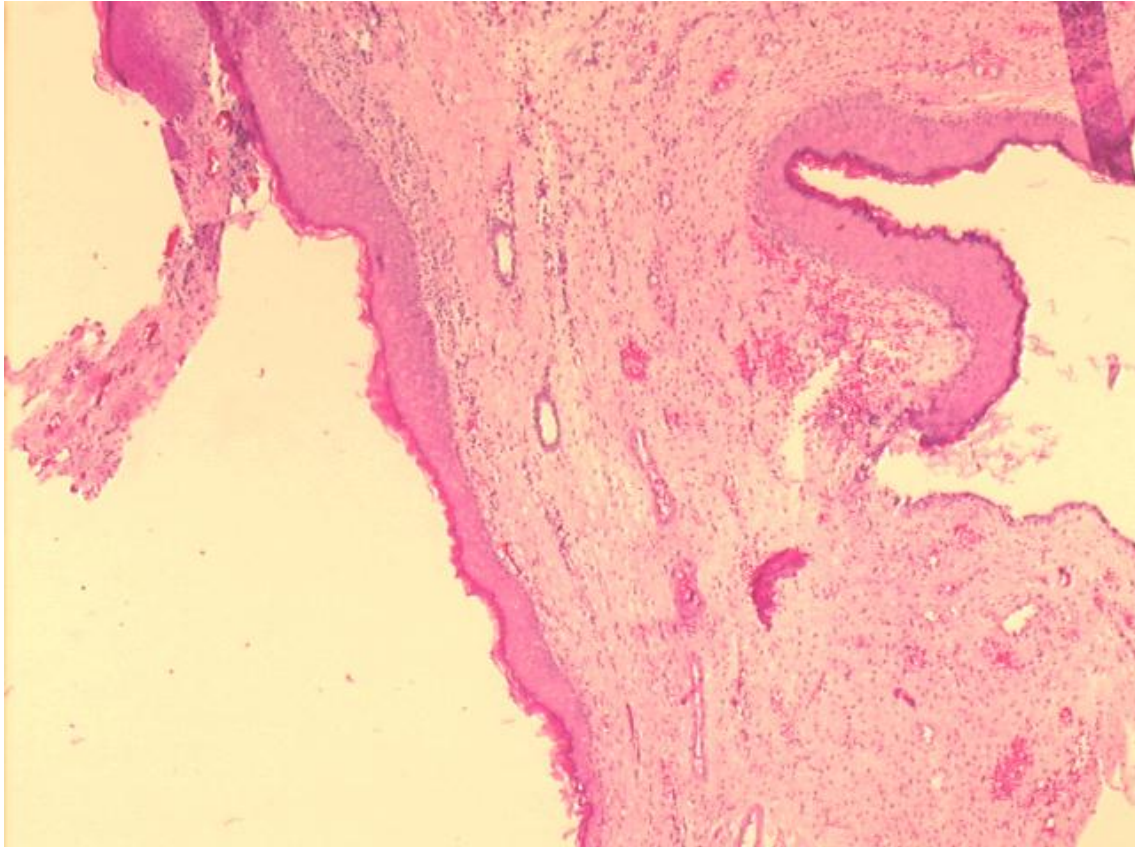


**Figura 17:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 21.

P.R.S., 40 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de oito camadas de células. A perimatriz mostra fibrose densa, discreto infiltrado inflamatório linfocitário. Ausência de granulomas.

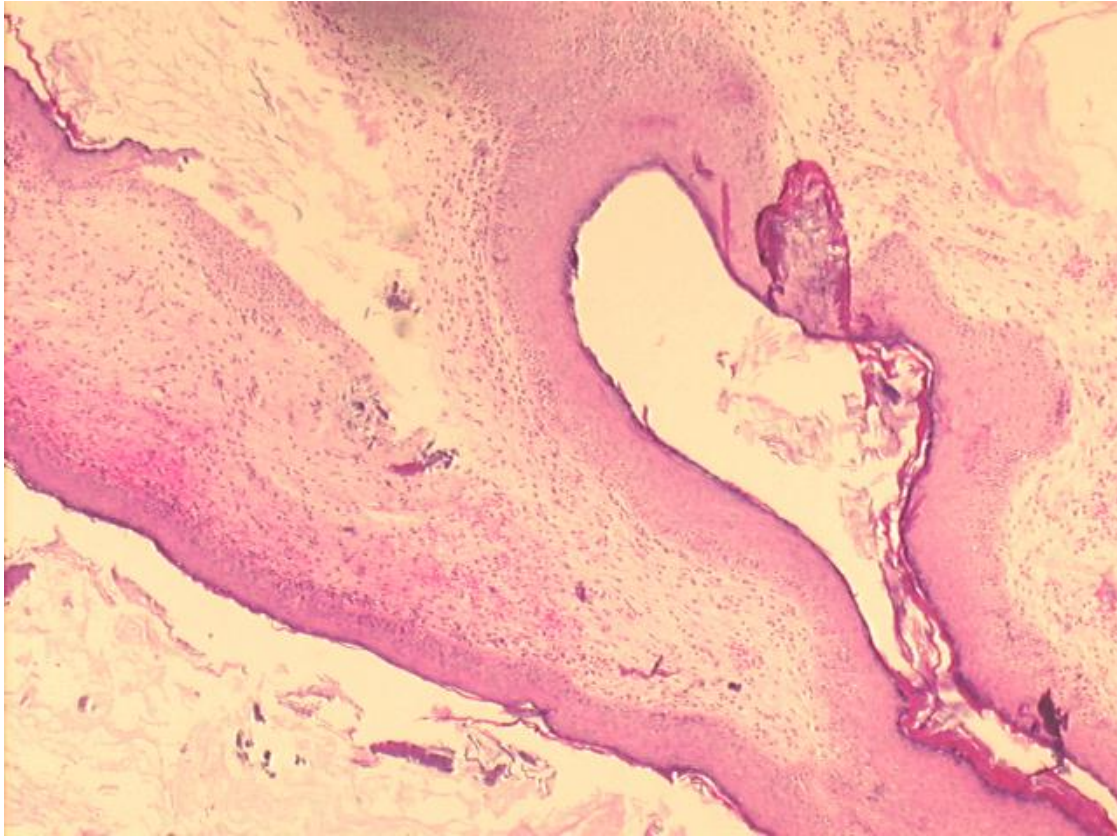


**Figura 18:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 22.

A.K.O., 10 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de 16 camadas de células. Perimatriz com fibrose densa e tecido de granulação em reabsorção; infiltrado inflamatório linfocitário discreto a moderado. Ausência de granulomas. A base da perimatriz exhibe epitélio cúbico simples.



**Figura 19:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 24.

E.M.S., 25 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de 16 camadas de células e áreas de hiperplasia epitelial. Perimatriz colagênica, com denso infiltrado inflamatório linfoplasmocitário. Ausência de granulomas.



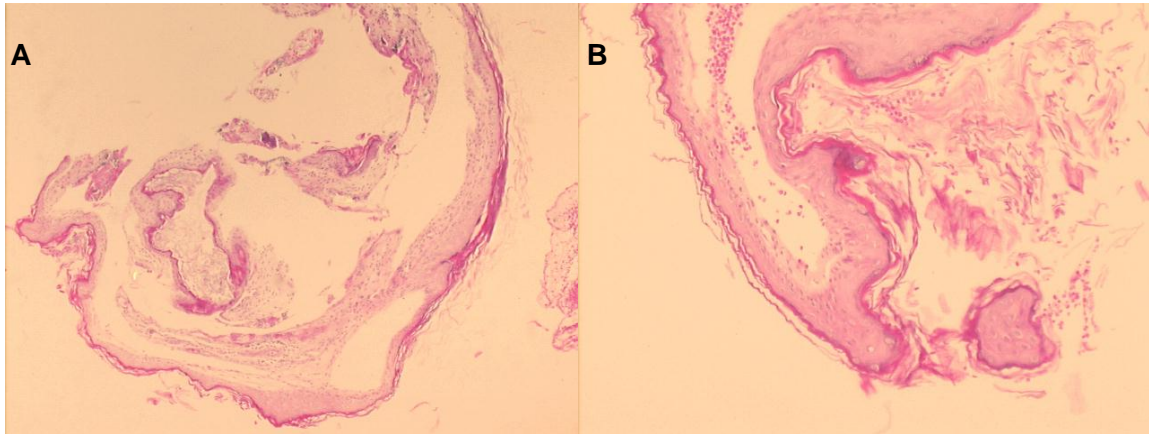
**Figura 20:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 25.

F.M.P., 37 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 200x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de seis camadas de células. Perimatriz estreita, fibrótica, com raros linfócitos. Ausência de granulomas.





**Figura 21:** Imagens digitalizadas das lâminas dos colesteatoma do paciente 26, patologia bilateral.

V.S.M., 9 anos, Masculino

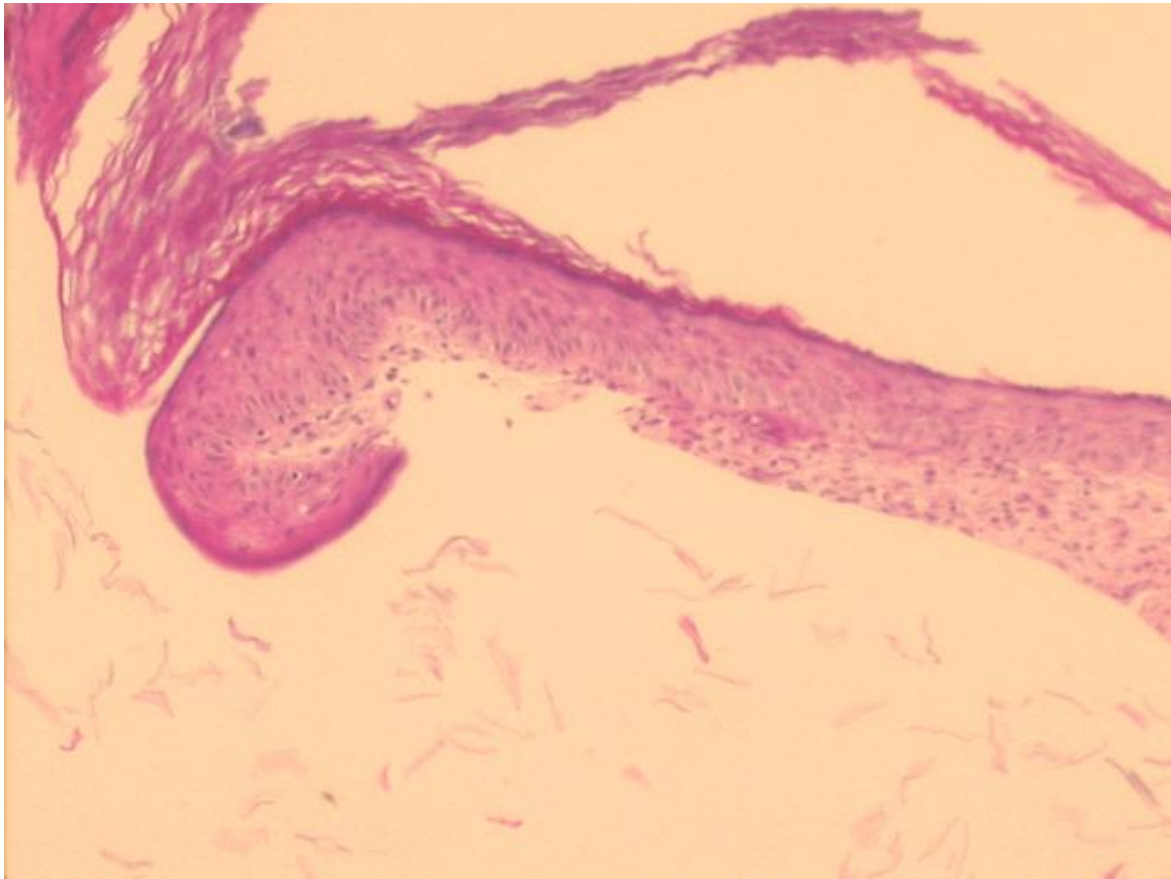
Coloração: HE      Aumento: A – colesteatoma à esquerda – 40x

B – colesteatoma à direita – 40x

Anatomopatológico:

A - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de quatro camadas de células. Perimatriz exibindo fibrose e discreto infiltrado inflamatório linfocitário. Ausência de granulomas.

B - epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de quatro camadas de células. Perimatriz exibindo fibrose e discreto infiltrado inflamatório linfocitário. Ausência de granulomas.

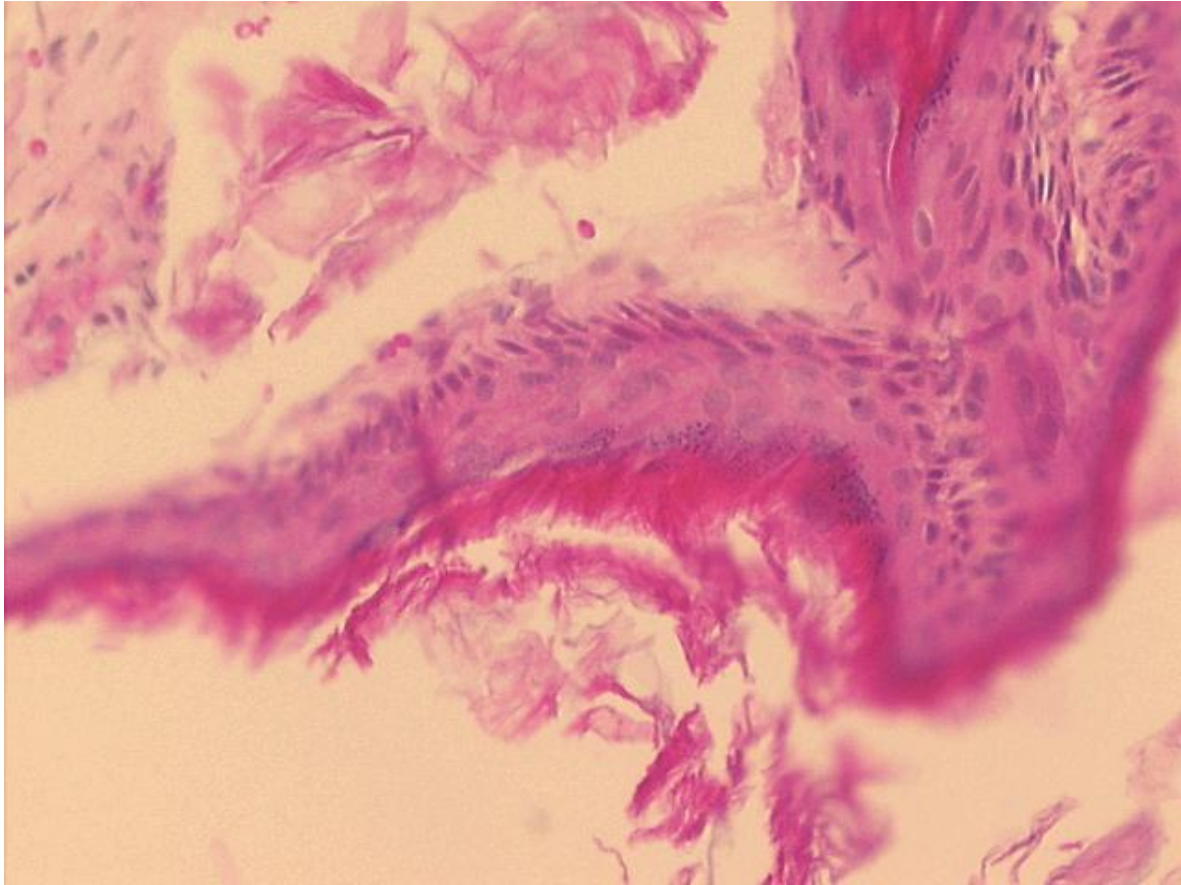


**Figura 22:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 27.

C.S., 40 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de 11 camadas de células. Perimatriz com infiltrado linfoplasmocitário discreto a moderado e fibrose frouxa. Ausência de granulomas.

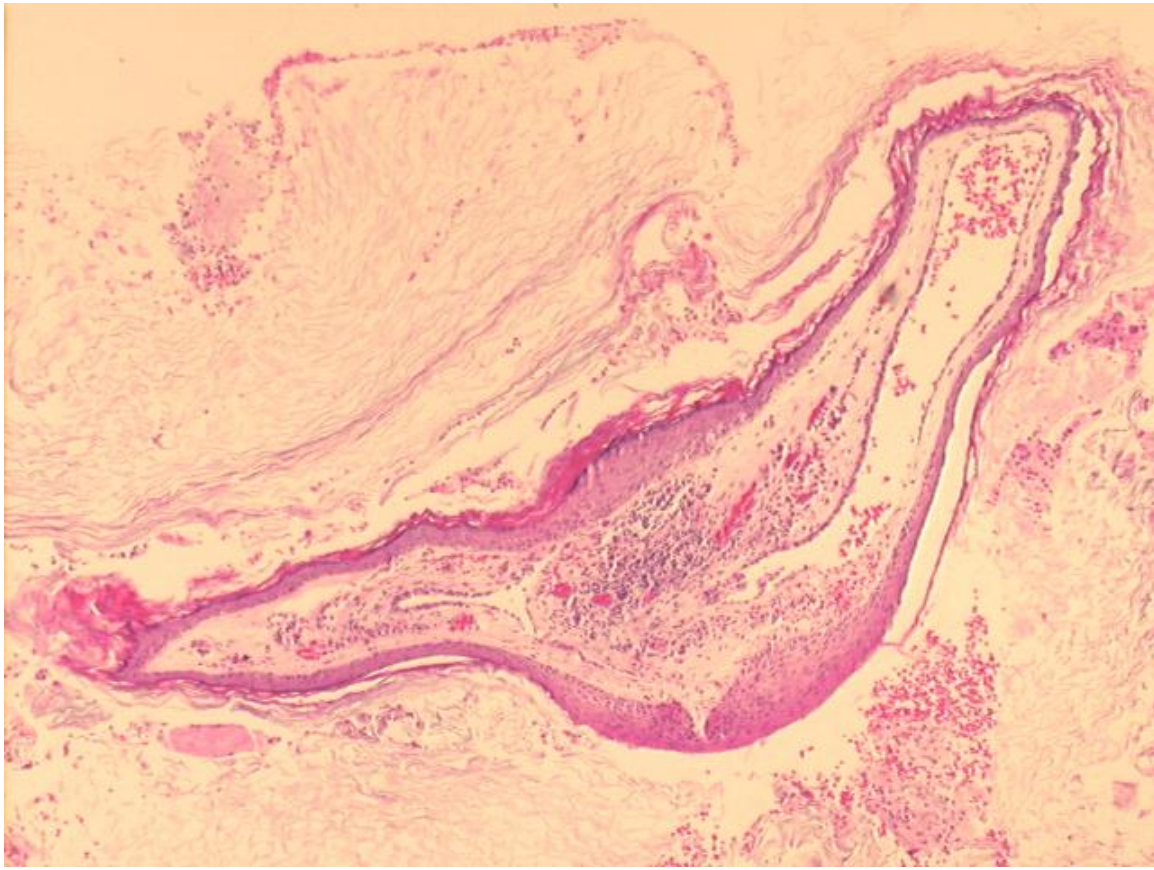


**Figura 23:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 28.

C.R., 38 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de seis camadas de células. Perimatriz com fibrose e infiltrado inflamatório discretos. Ausência de granulomas.

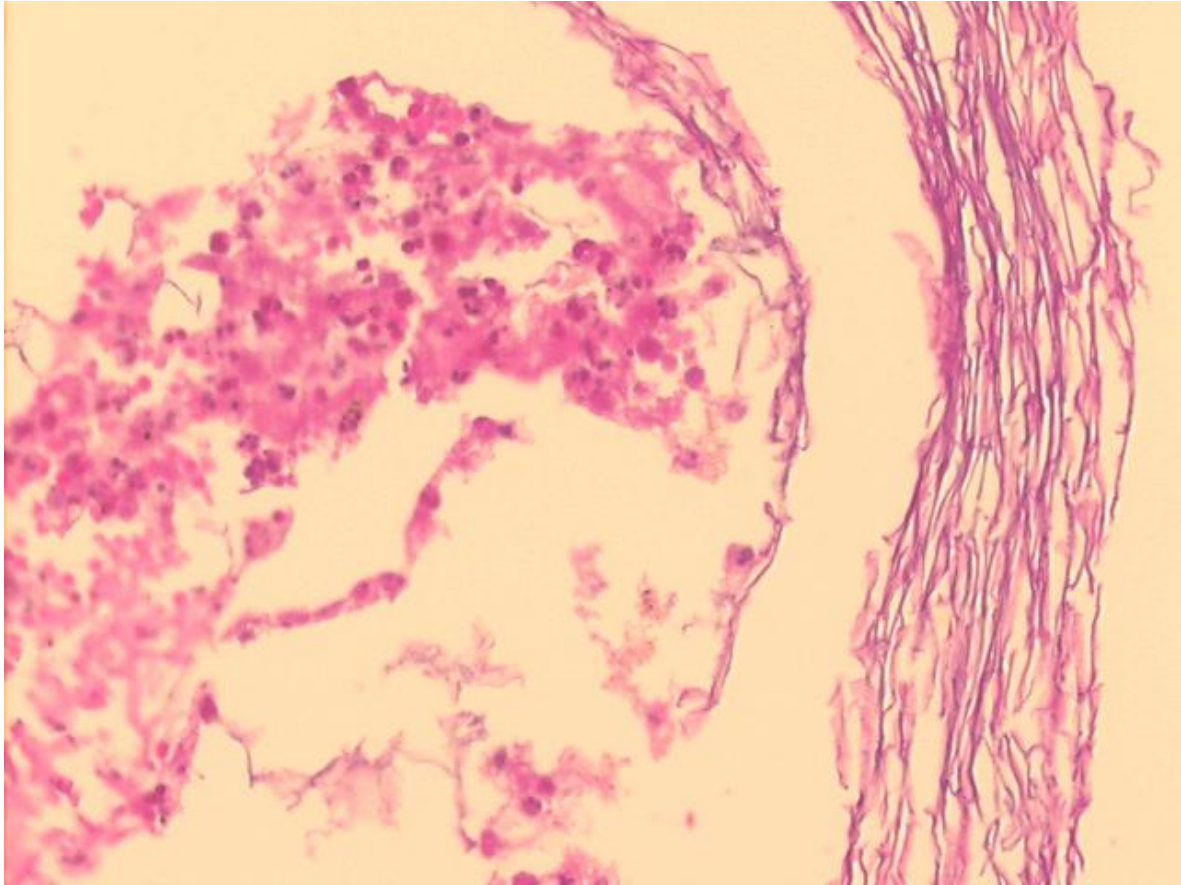


**Figura 24:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 29.

D.K., 18 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de cinco camadas de células. Perimatriz com discreta fibrose, infiltrado linfoplasmocitário moderado, limitada em sua porção inferior por epitélio cúbico simples. Ausência de granulomas.



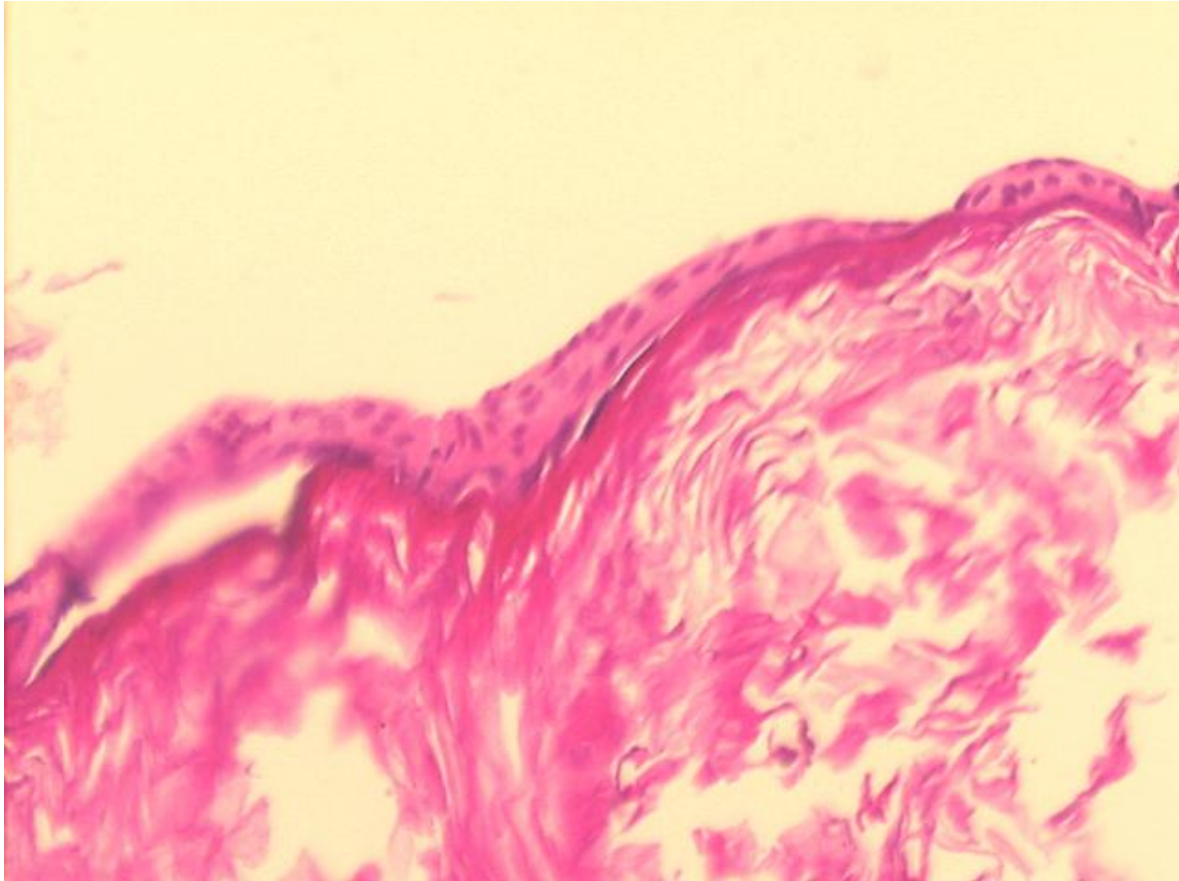
**Figura 25:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 30.

G.B., 11 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: A - 40x

Anatomopatológico: Material excessivamente fragmentado, não possibilitando a identificação de área representativa da totalidade da espessura da perimatriz.

O mesmo aconteceu com o material coletado do paciente número 67, por este motivo ambos foram excluídos.

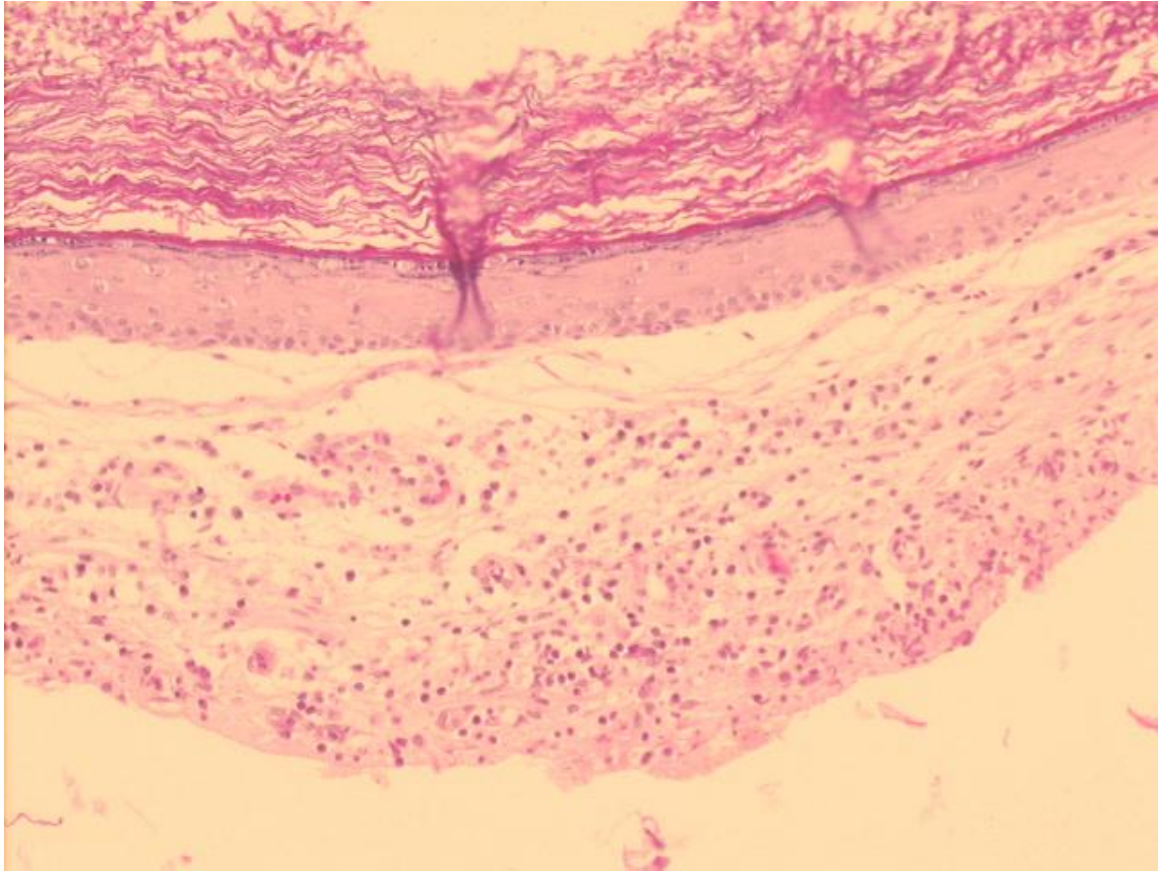


**Figura 26:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 31.

E.K., 53 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 200x

Anatomopatológico: diminuto fragmento de epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de quatro camadas de células. Perimatriz muito delicada e estreita, sem fibrose ou infiltrado inflamatório.

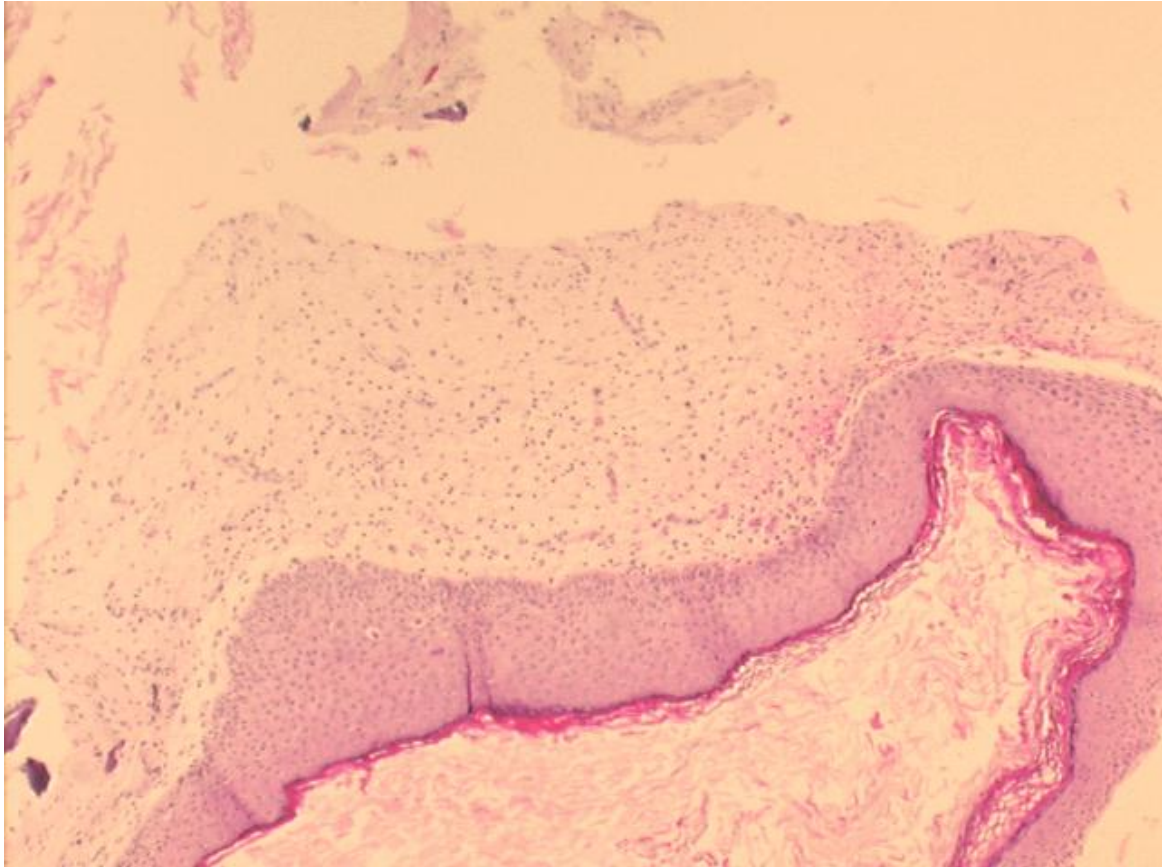


**Figura 27:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 32.

A.K.O., 10 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de oito camadas de células. Perimatriz com áreas de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário moderado. Fibrose discreta. Ausência de granulomas.



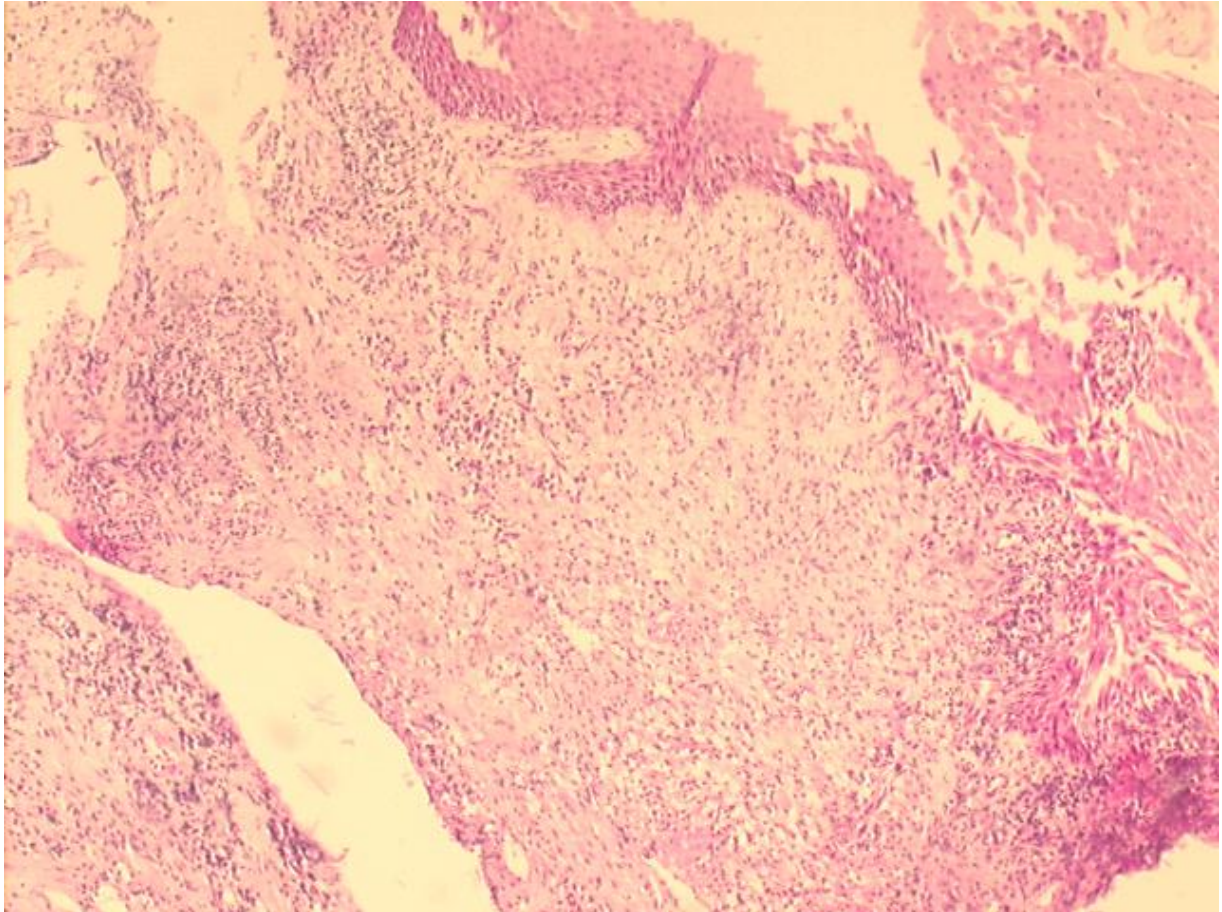
**Figura 28:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 33.

T.R.X., 23 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com áreas de hiperplasia epitelial e média de 23 camadas de células. Perimatriz com fibrose e infiltrado inflamatório discreto. Ausência de granulomas.



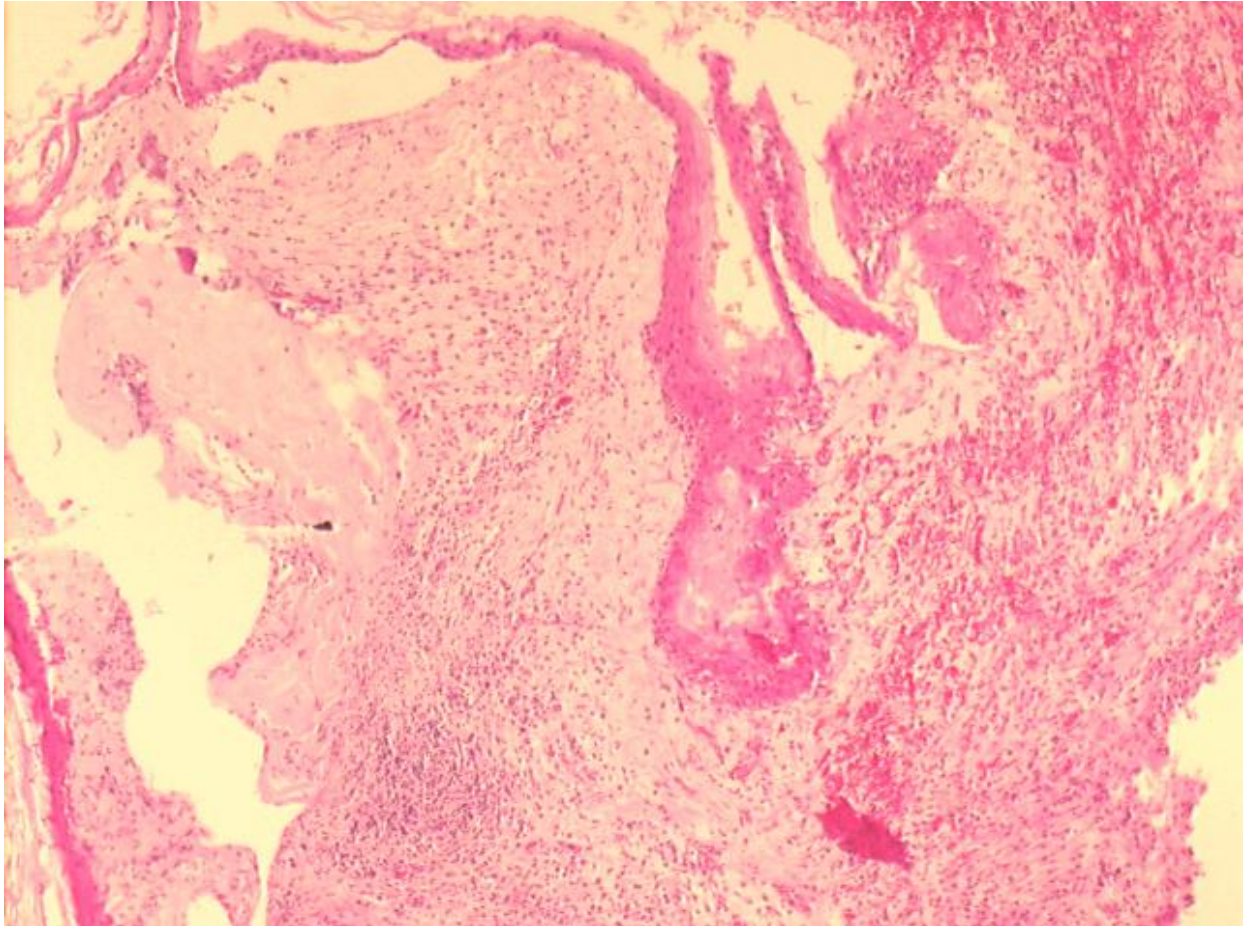


**Figura 29:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 36.

V.M.M., 37 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de oito camadas de células. Perimatriz com área de inflamação crônica com granuloma por corpo estranho (lamelas córneas), e sinais de hemorragia antiga. Infiltrado inflamatório moderado e fibrose densa.

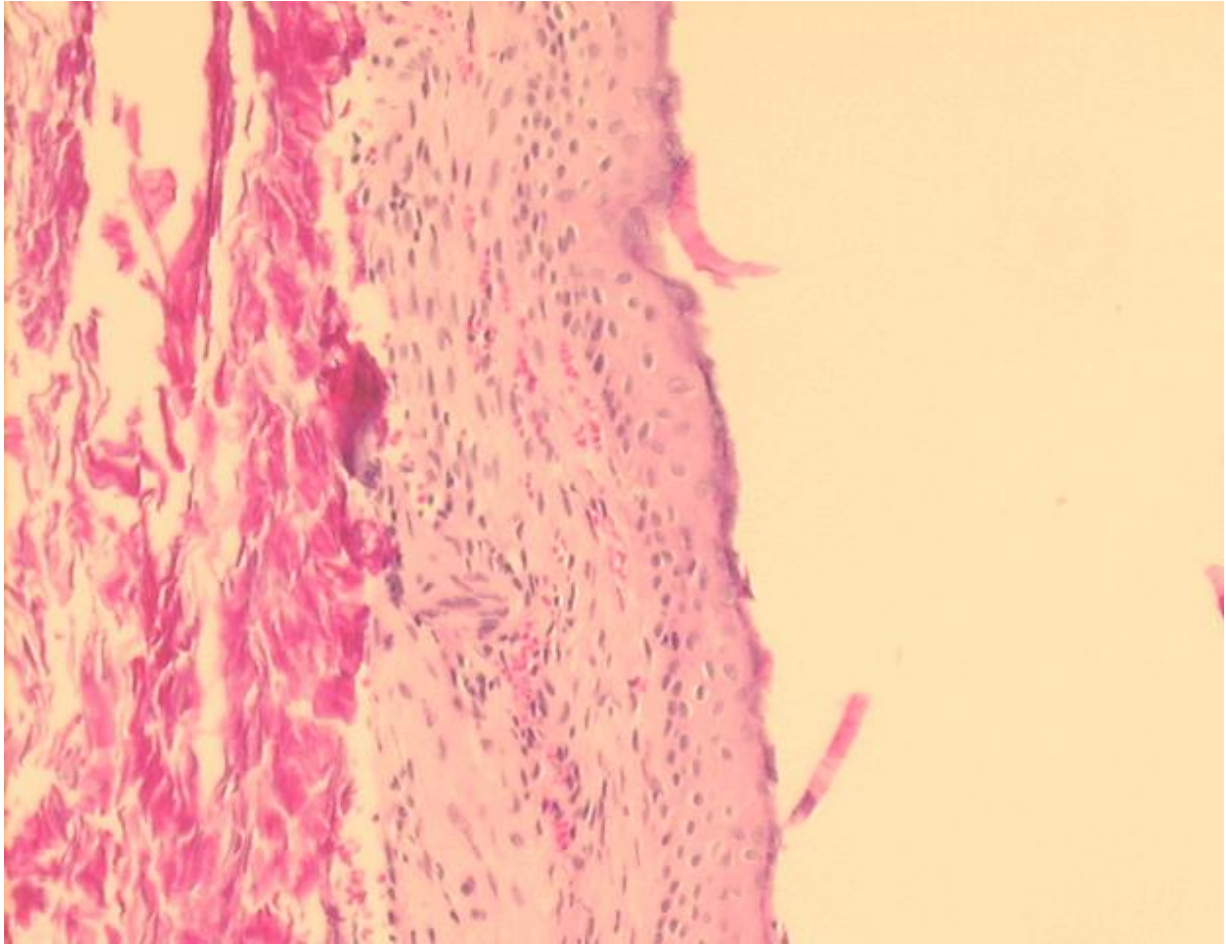


**Figura 30:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 37.

E.A.N., 10 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de cinco camadas de células. Perimatriz com área de inflamação crônica com granuloma por corpo estranho (lamelas córneas), e sinais de hemorragia antiga. Infiltrado inflamatório moderado e fibrose densa.

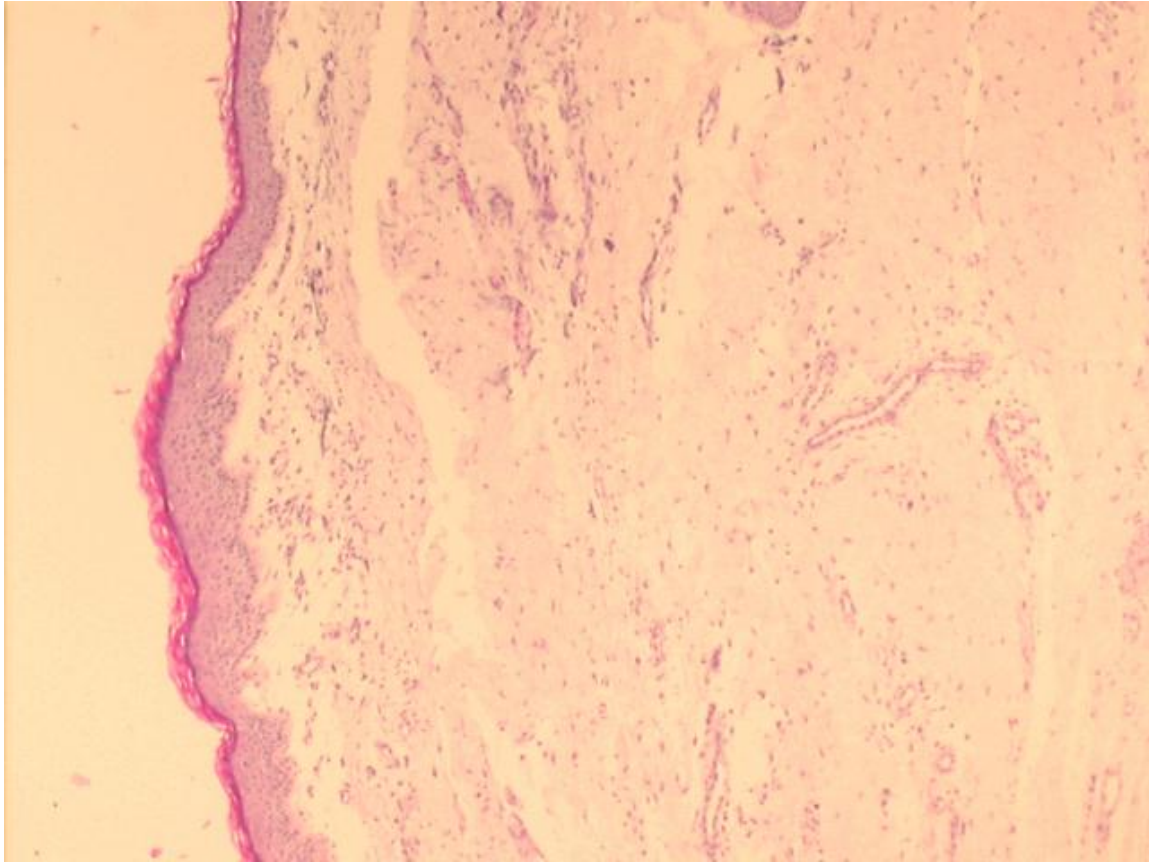


**Figura 31:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 38.

D.L.R., 12 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de seis camadas de células. A perimatriz exhibe fibrose densa com escasso infiltrado inflamatório linfoplasmocitário. Ausência de granulomas.

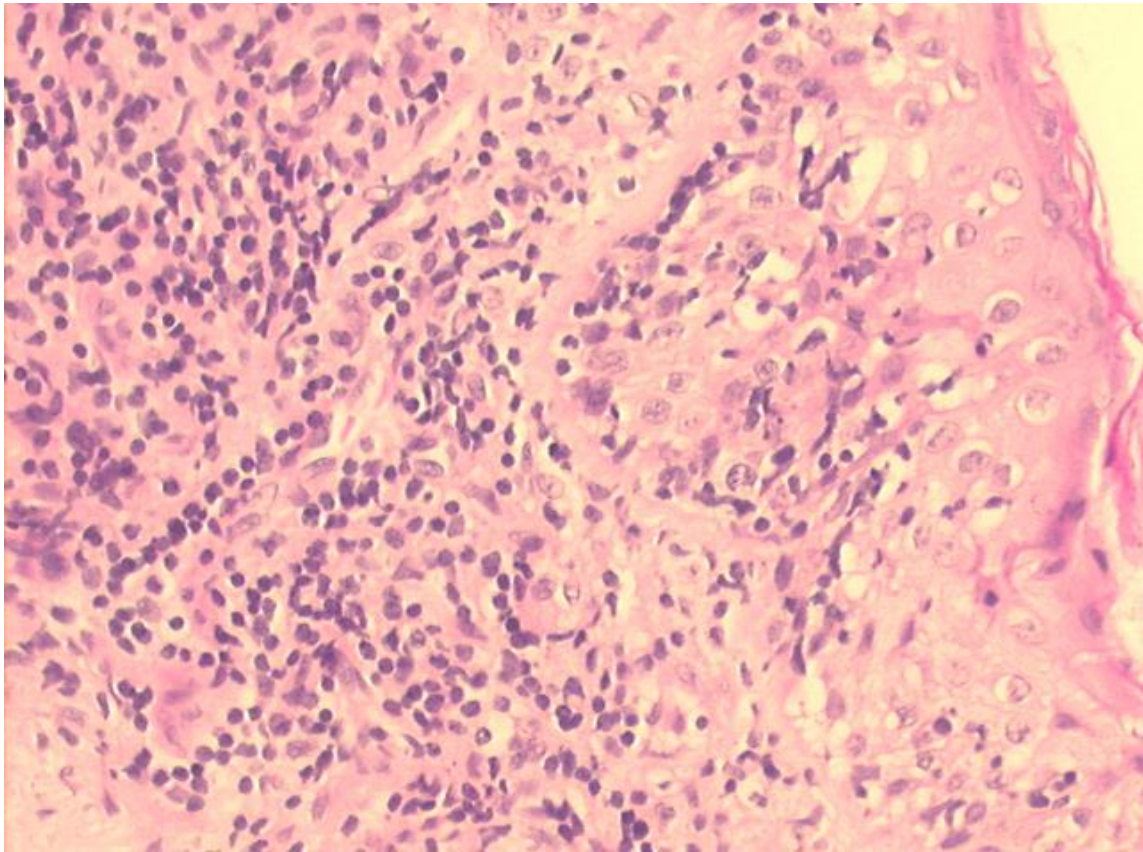


**Figura 32:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 39.

R.M., 13 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de oito camadas de células e algum grau de papilomatose. A perimatriz exibe fibrose densa e tecido de granulação em reabsorção. Infiltrado inflamatório discreto. Ausência de granulomas.

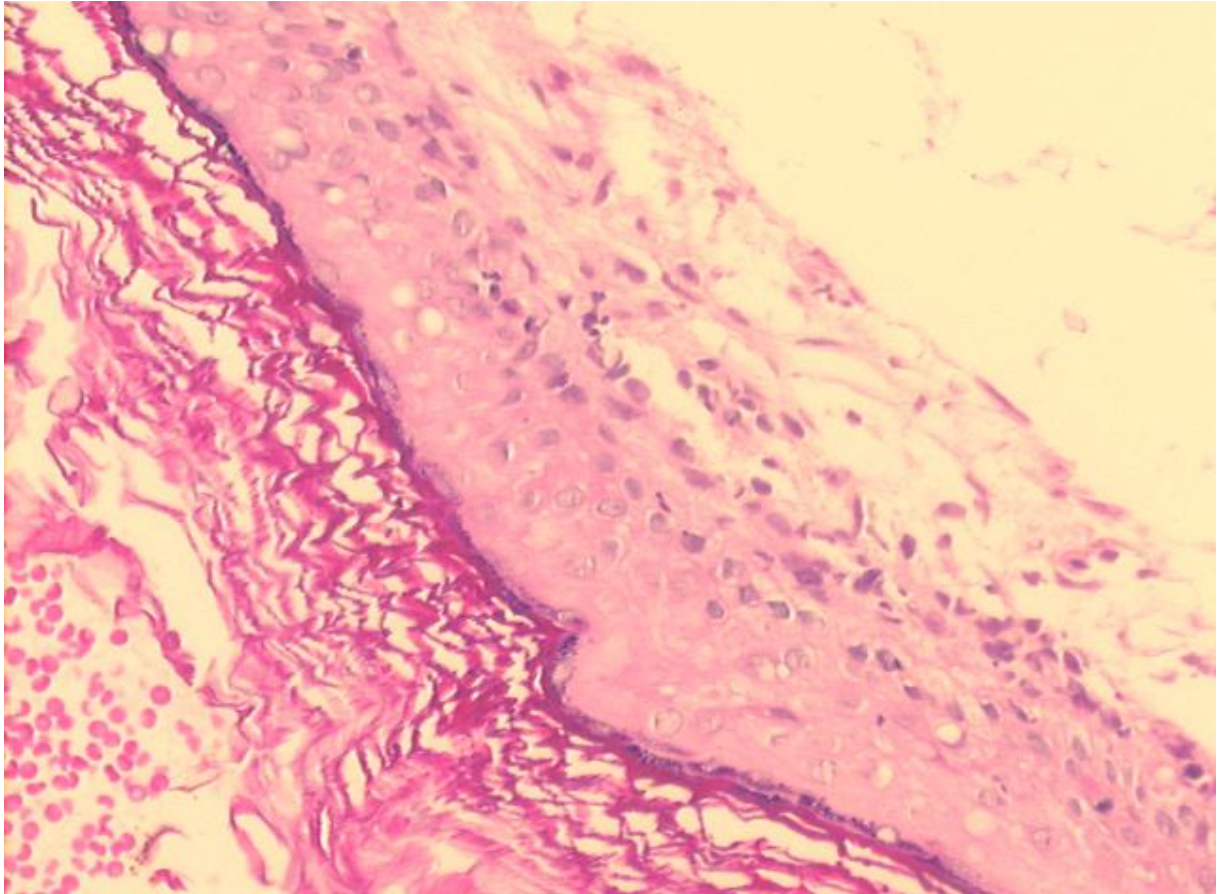


**Figura 33:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 42.

A.C., 22 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 200x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de oito camadas de células. Perimatriz com infiltrado inflamatório linfocitário denso, com proliferação vascular. Ausência de granulomas.



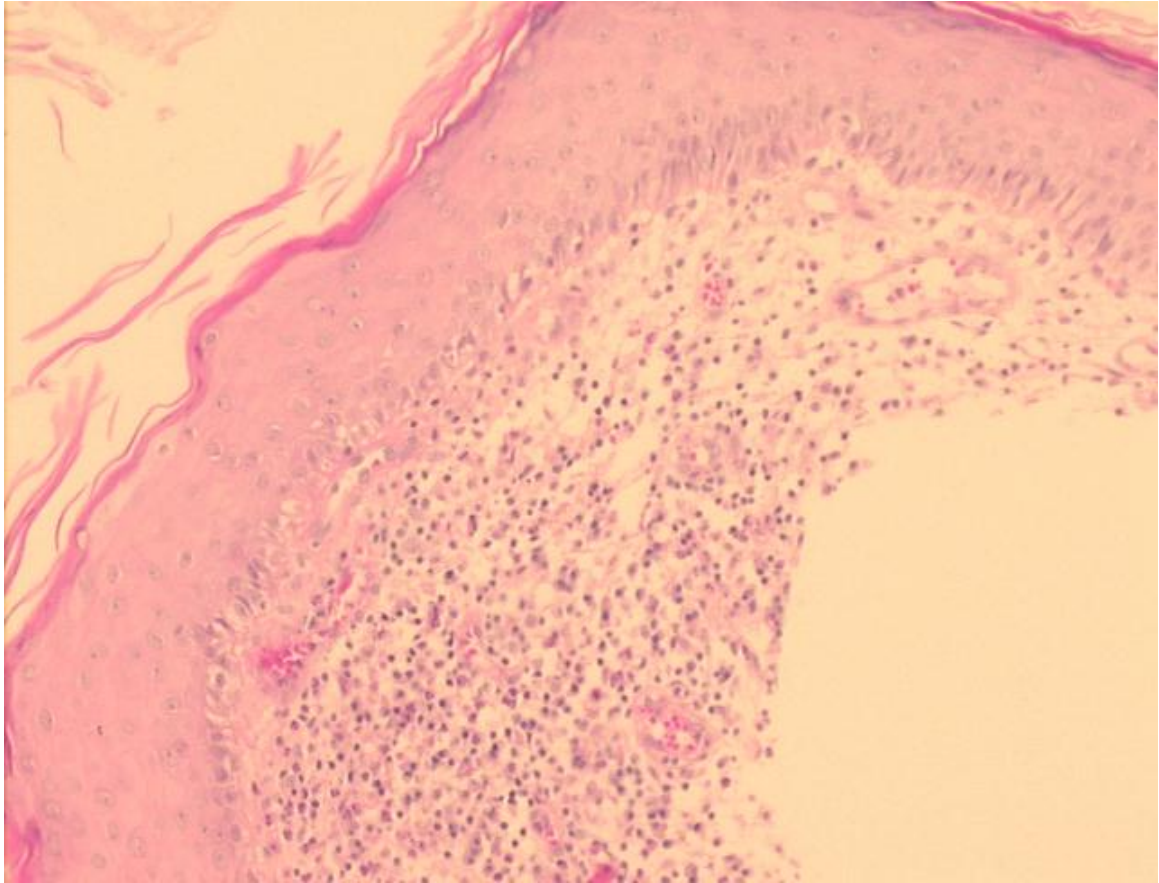
**Figura 34:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 43.

L.M.S.S., 22 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 200x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de seis camadas de células. Delicada perimatriz com escasso infiltrado inflamatório linfocitário.

Ausência de granulomas.

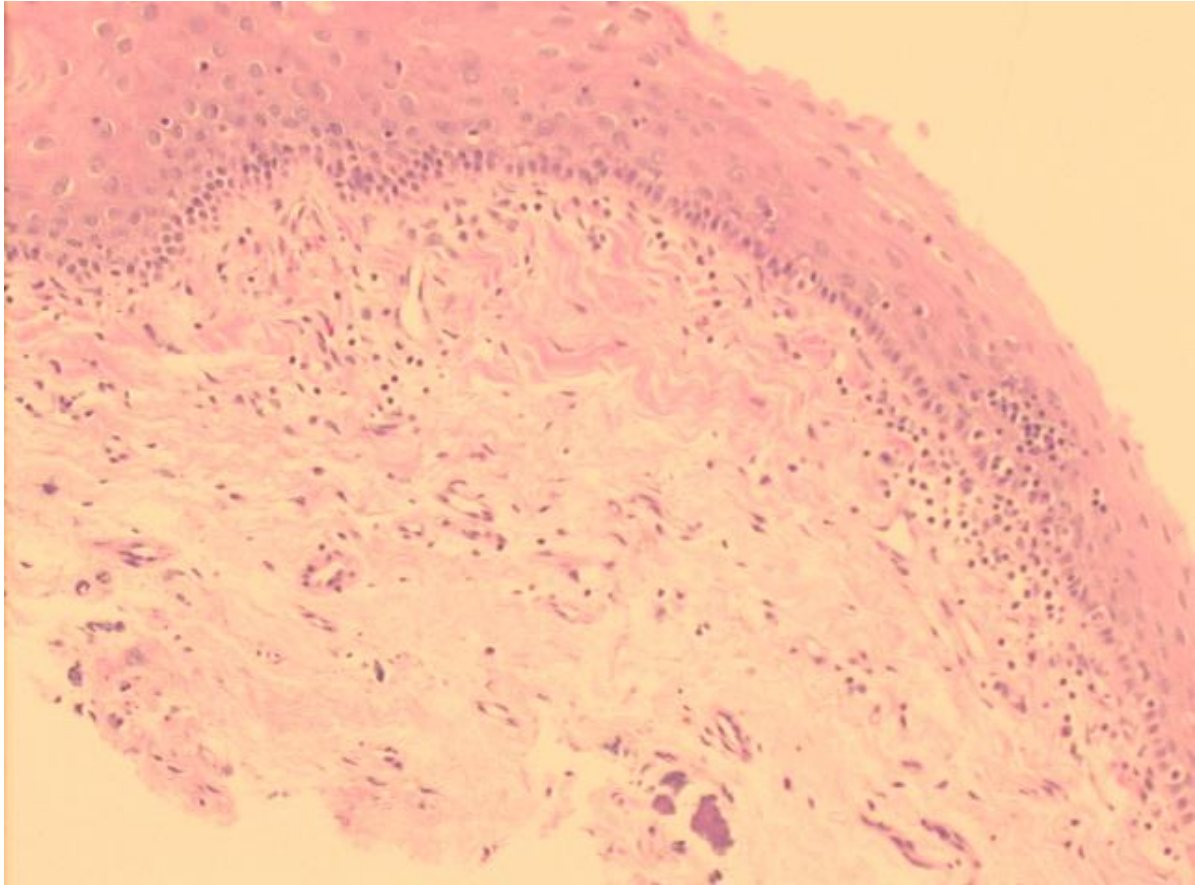


**Figura 35:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 44.

M.R.O., 19 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de nove camadas de células. Perimatriz com denso infiltrado inflamatório de linfócitos, plasmócitos e neutrófilos, observando-se proliferação vascular. Ausência de granulomas.



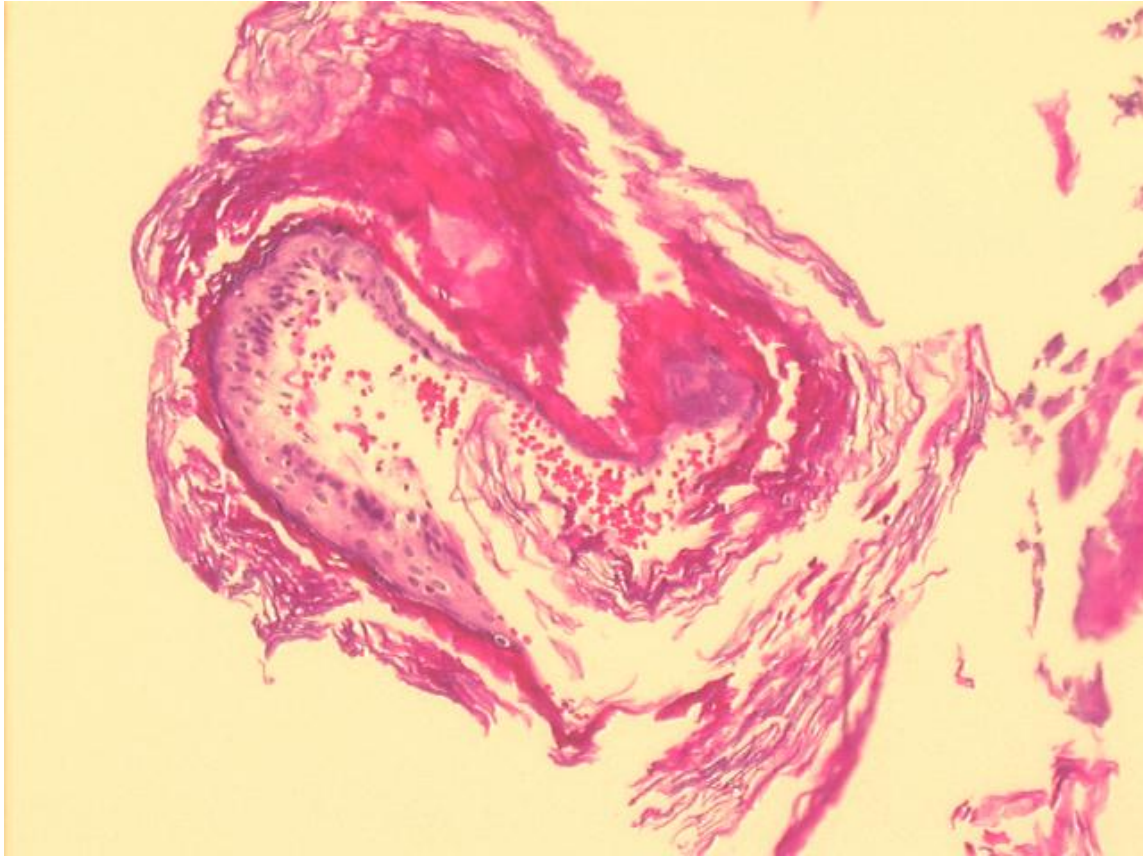
**Figura 36:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 45.

M.B., 39 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de oito camadas de células. Infiltrado inflamatório moderado, com sinais de hemorragia antiga, presença de granuloma por corpo estranho. Apresentando fibrose densa.



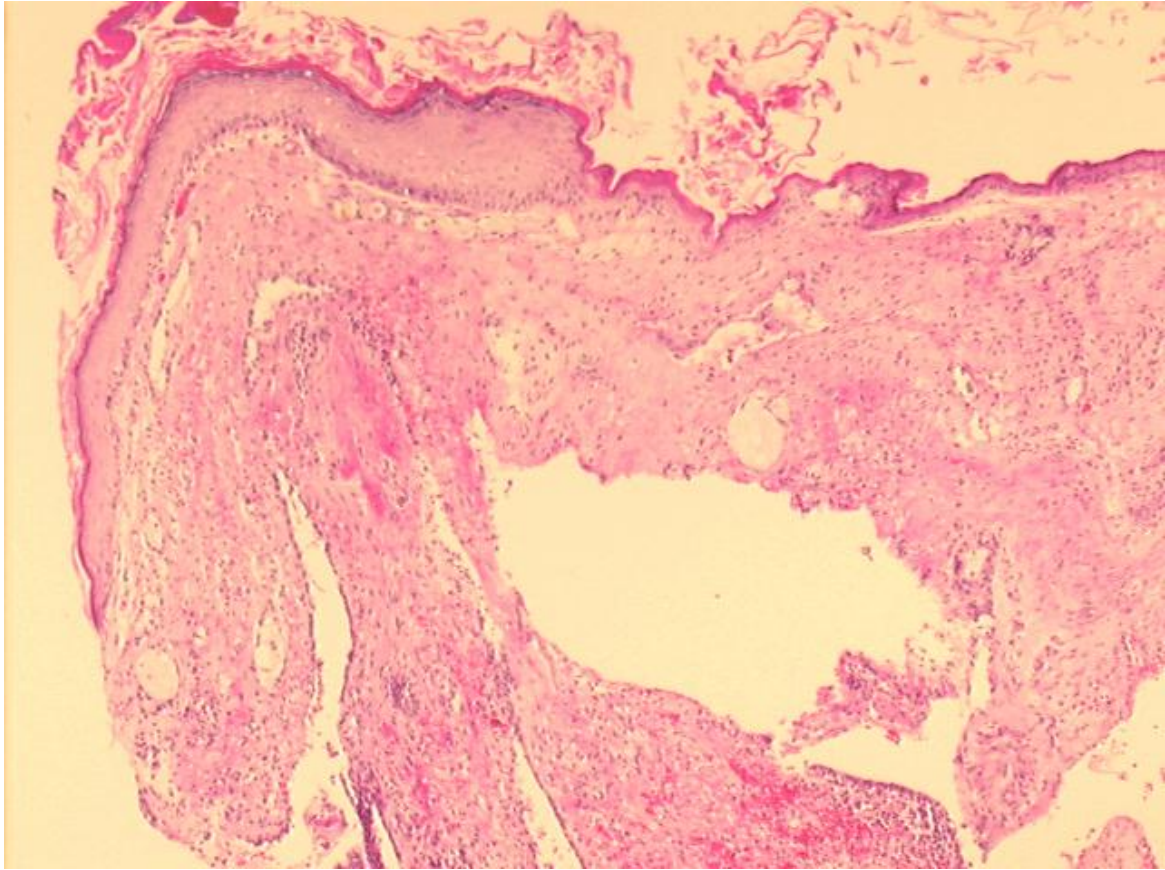


**Figura 37:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 47.

F.M.A.P., 20 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de cinco camadas de células epiteliais. Infiltrado linfoplasmocitário moderado, com presença de alguns eusínófilos, áreas de fibrose densa alternadas com fibrose mais frouxa. A perimatriz é delimitada em seu plano profundo por epitélio cubóide simples.

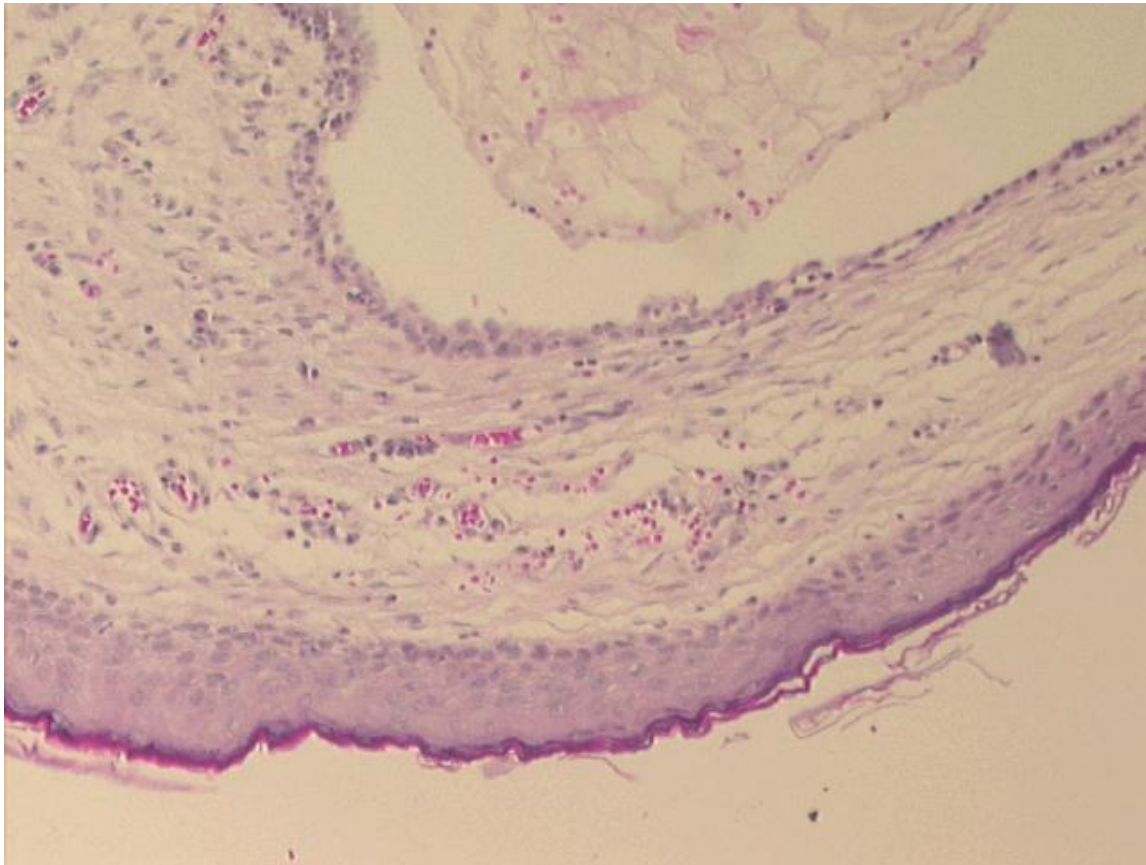


**Figura 38:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 48.

A.R.L., 12 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 200x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de seis camadas de células epiteliais. Perimatriz com fibrose densa e áreas de infiltrado crônico discreto e outras densas, sendo delimitada em seu plano profundo por epitélio cubóide simples.

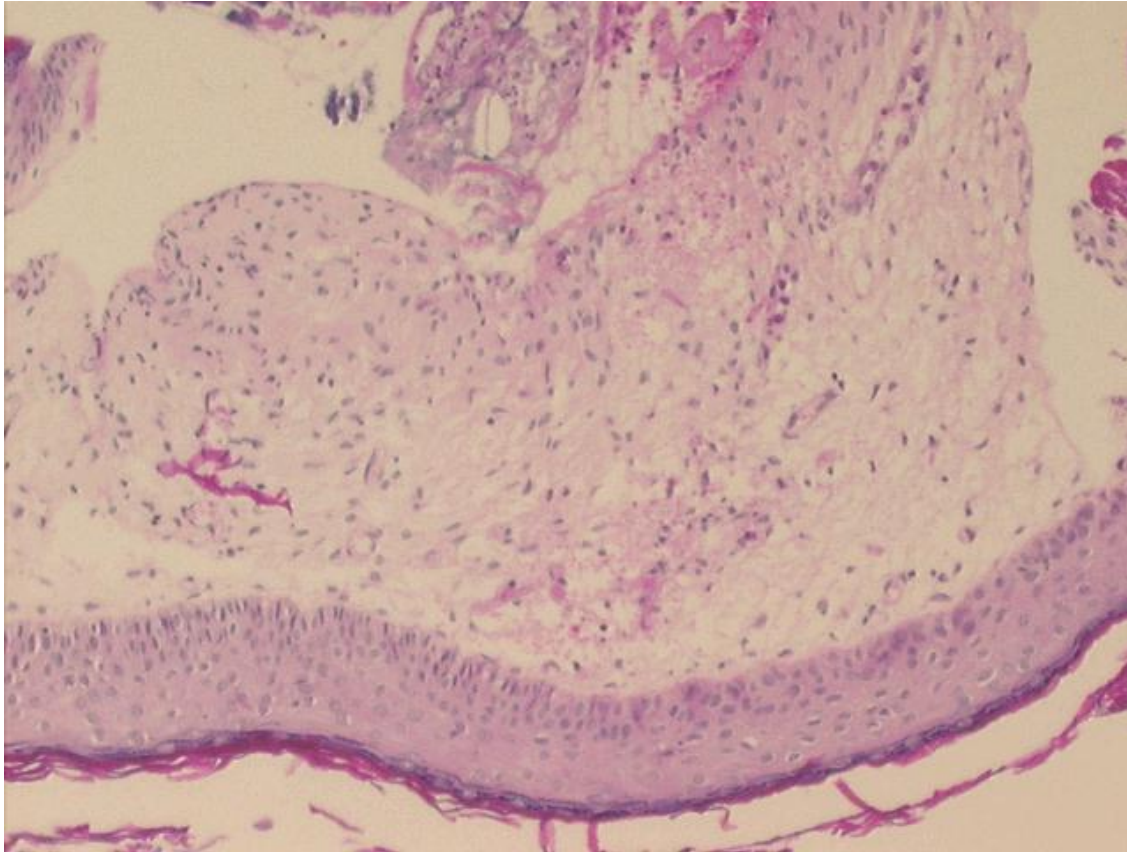


**Figura 39:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 50.

S.W., 21 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de sete camadas de células epiteliais. Perimatriz mostra fibrose frouxa com infiltrado inflamatório moderado, sendo delimitada em seu plano profundo por epitélio cubóide simples. Ausência de granulomas.

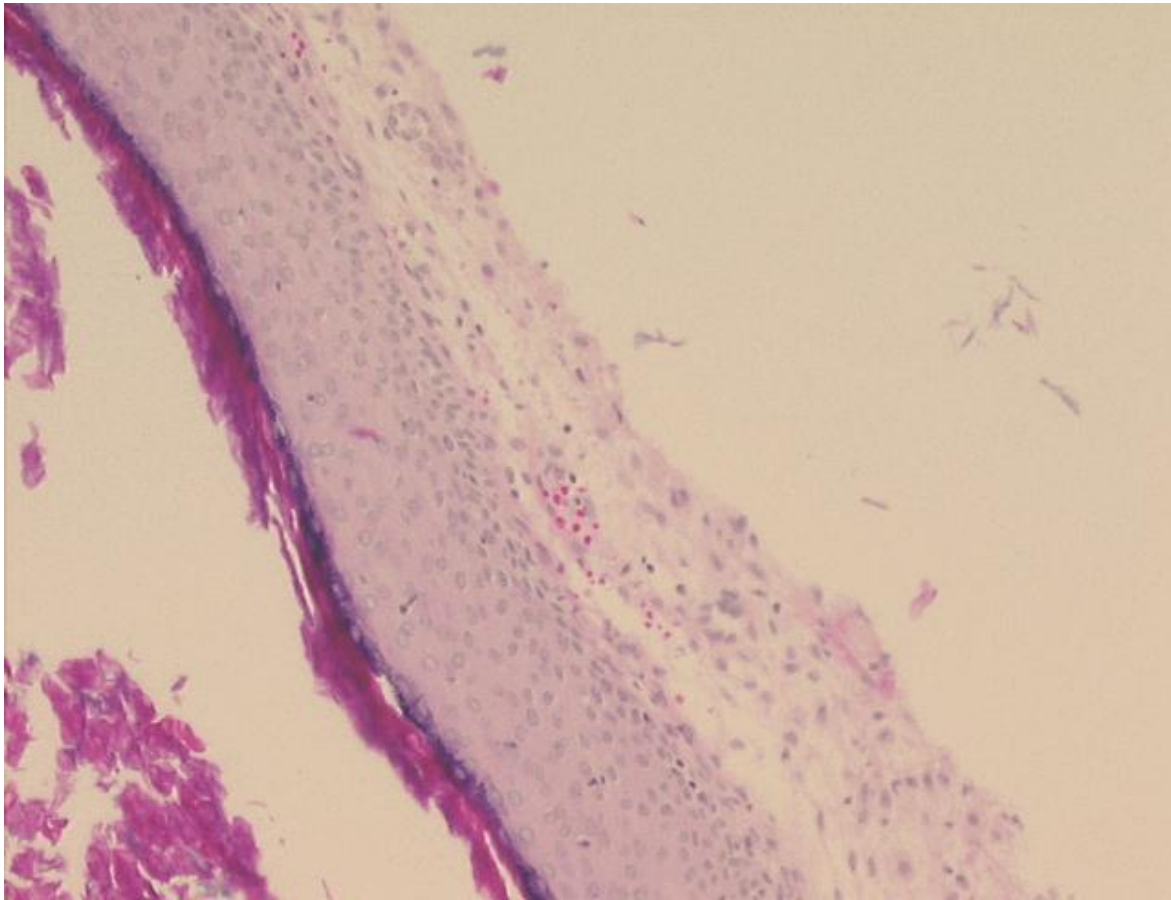


**Figura 40:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 52.

B.M.D., 8 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de nove camadas de células, apresentando áreas de hiperplasia epitelial. Perimatriz mostra fibrose densa com infiltrado inflamatório acentuado. Ausência de granulomas.

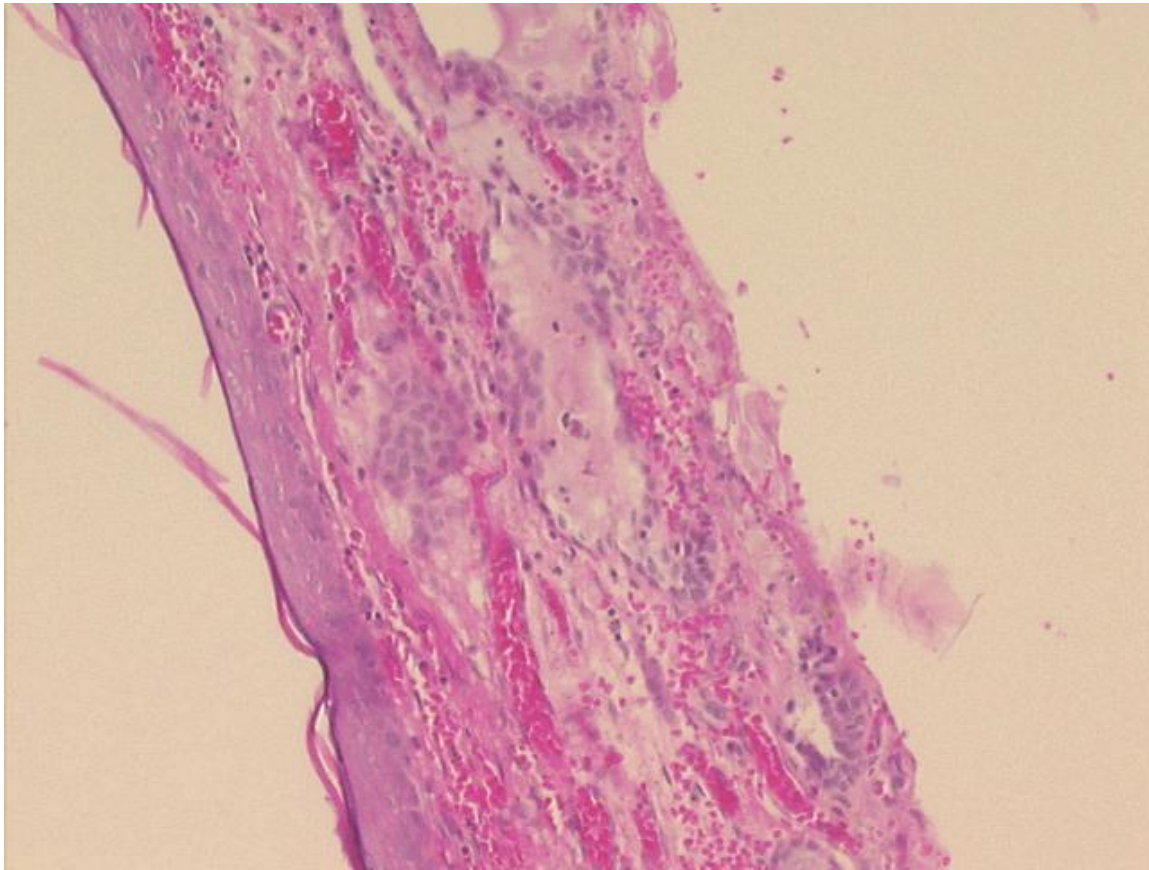


**Figura 41:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 53.

J.C.S., 15 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de dez camadas de células epiteliais apresentando áreas de hiperplasia epitelial. Perimatriz mostra fibrose densa com infiltrado inflamatório moderado. Ausência de granulomas.

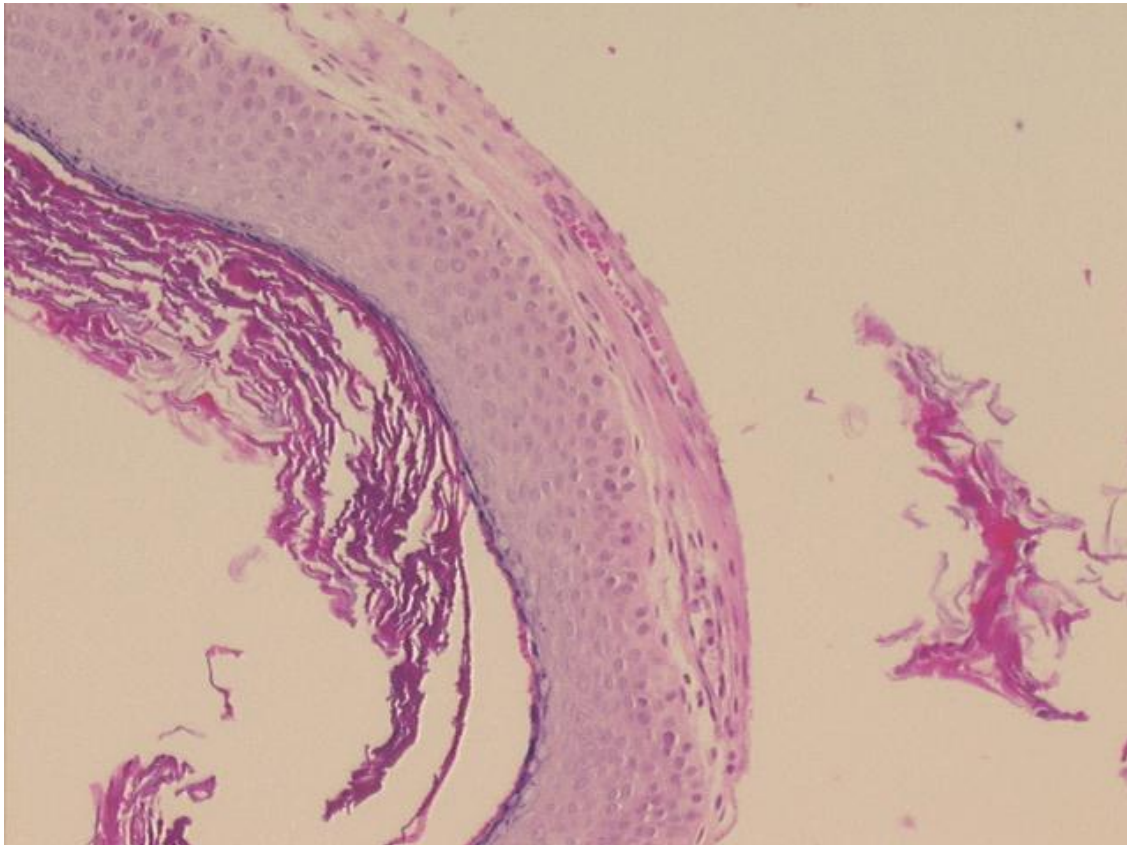


**Figura 42:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 54.

S.S., 7 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de seis camadas de células epiteliais. Perimatriz mostra fibrose densa, congestão vascular importante, apresentando infiltrado inflamatório moderado. Presença de granuloma por corpo estranho.

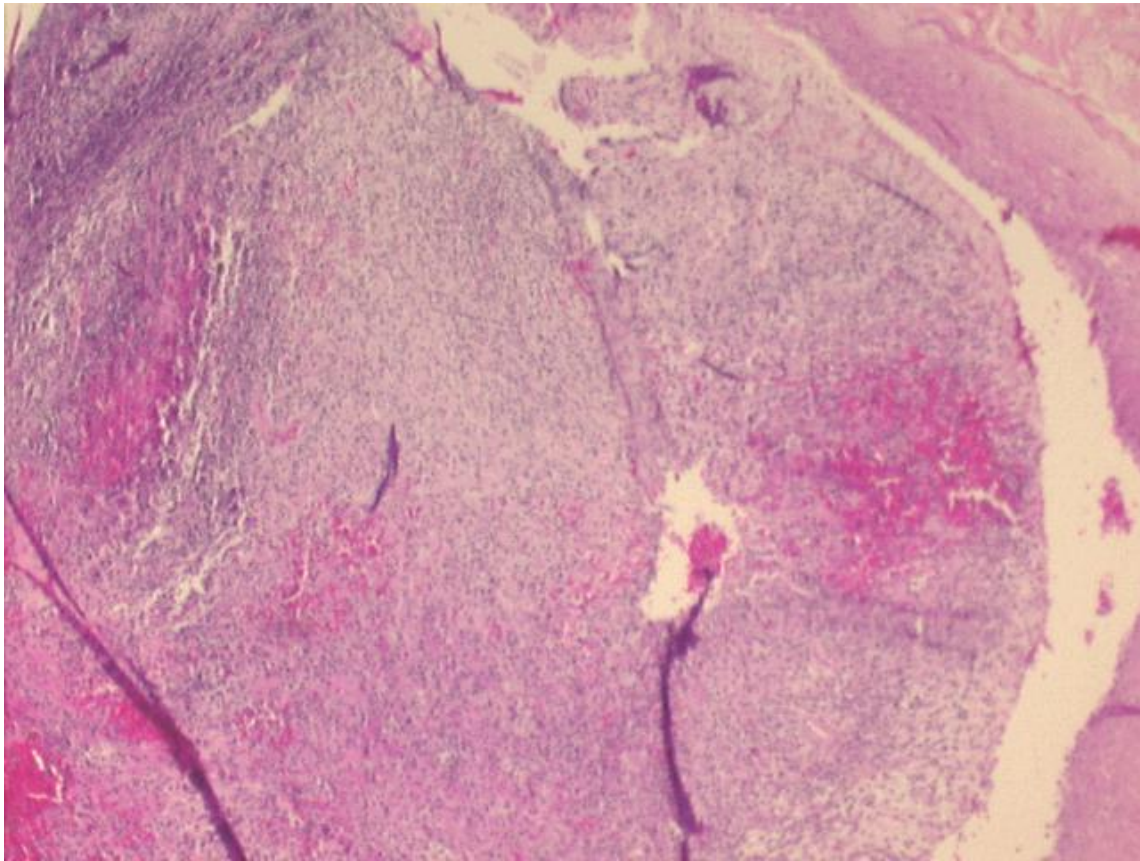


**Figura 43:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 55.

E.Z.S., 17 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de oito camadas de células epiteliais. A perimatriz é delicada, com pouca fibrose e com infiltrado inflamatório muito discreto. Ausência de granuloma.



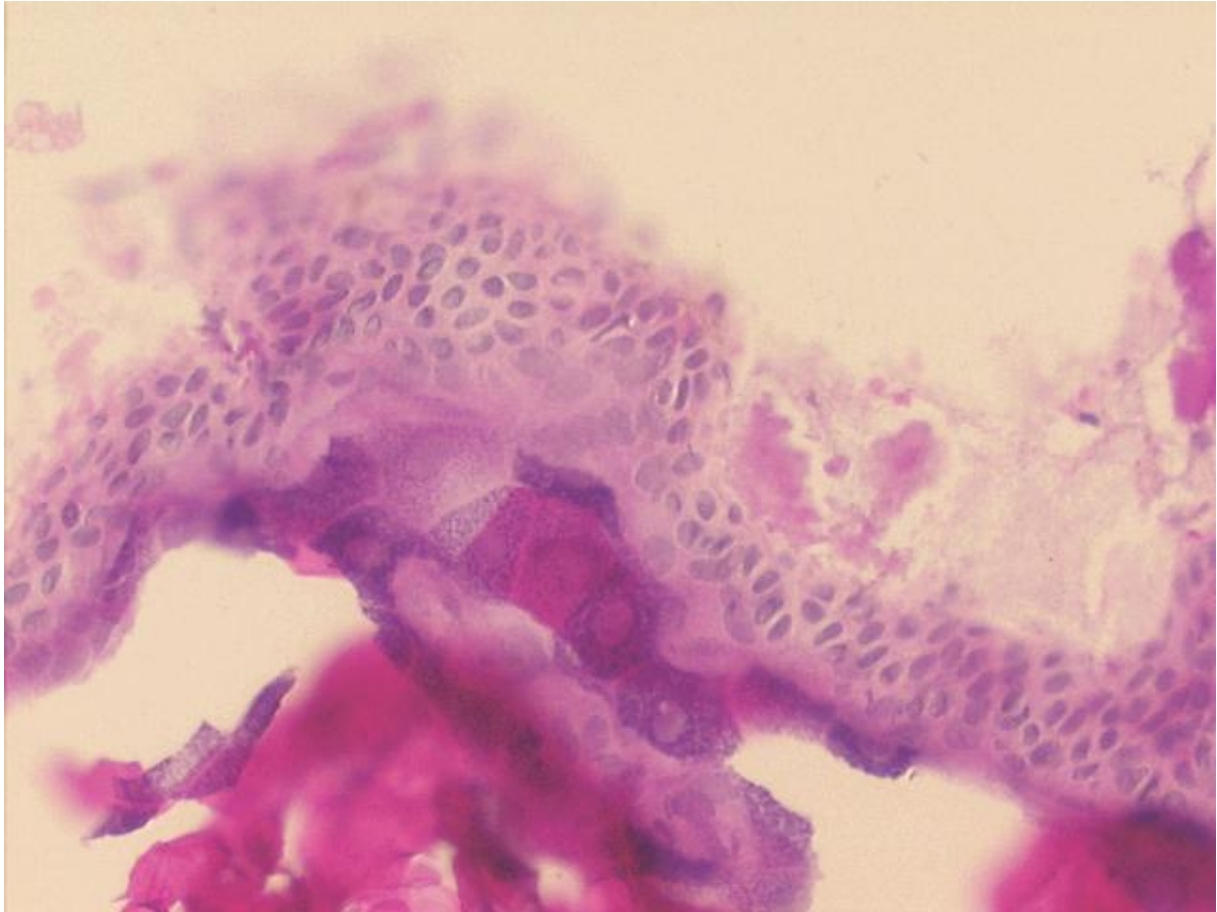
**Figura 44:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 56.

M.W., 25 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento:

Anatomopatológico: 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 profundo por epitélio cubóide simples. Ausência de granulomas.



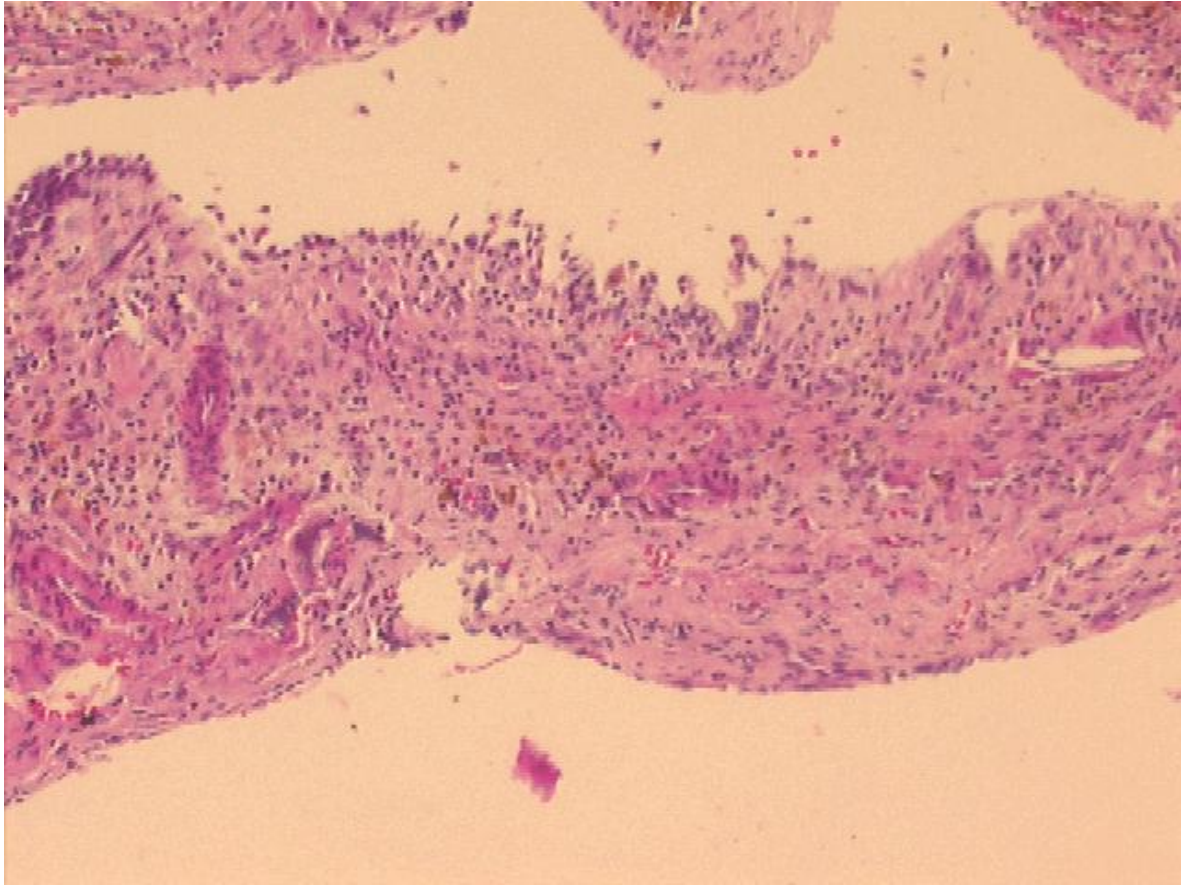


**Figura 45:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 57.

R.S.A., 25 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 200x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de cinco camadas de células epiteliais. A perimatriz é delicada, sem apresentar fibrose nem infiltrado inflamatório. Ausência de granulomas.

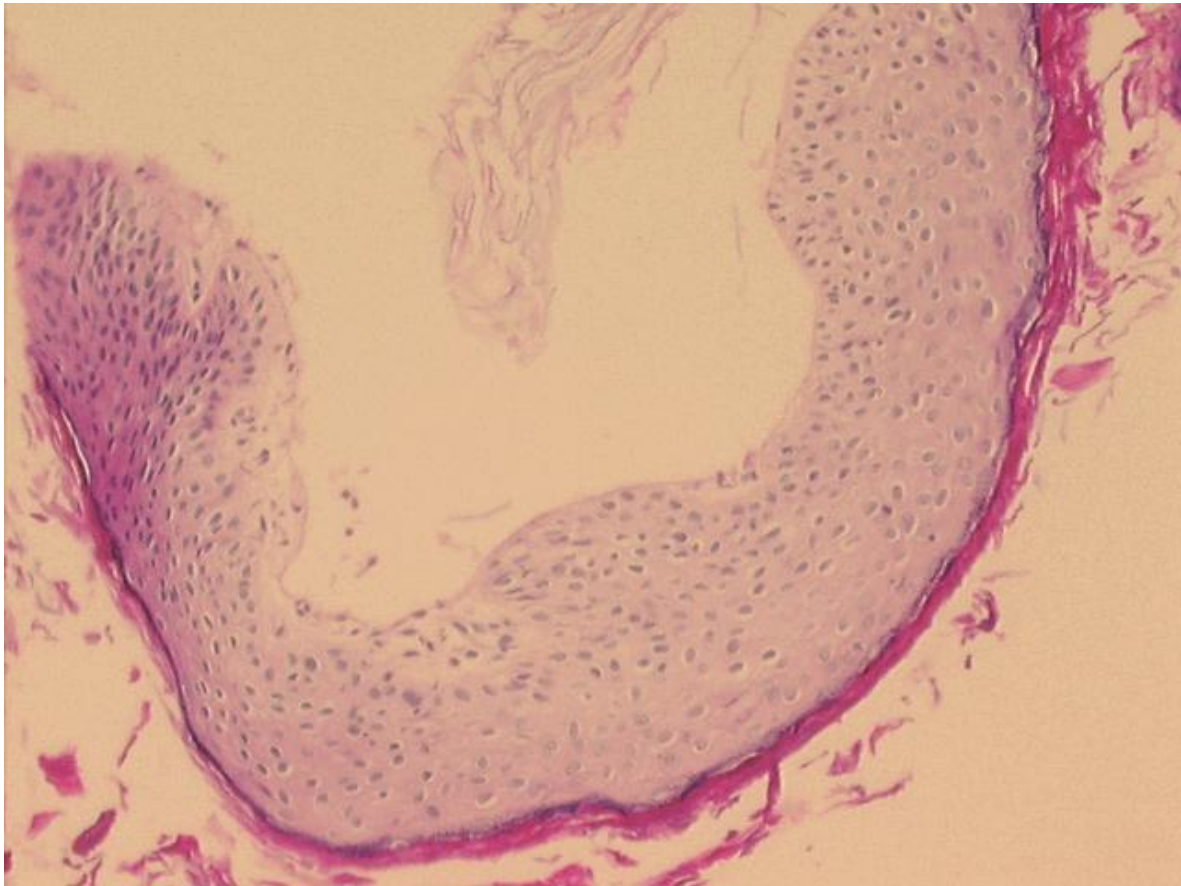


**Figura 46:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 58.

J.P.W., 35 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de cinco camadas de células epiteliais. A perimatriz mostra fibrose densa, infiltrado inflamatório moderado, sinais de hemorragia antiga e granuloma por corpo estranho. Está delimitada em seu plano profundo por epitélio cubóide simples.

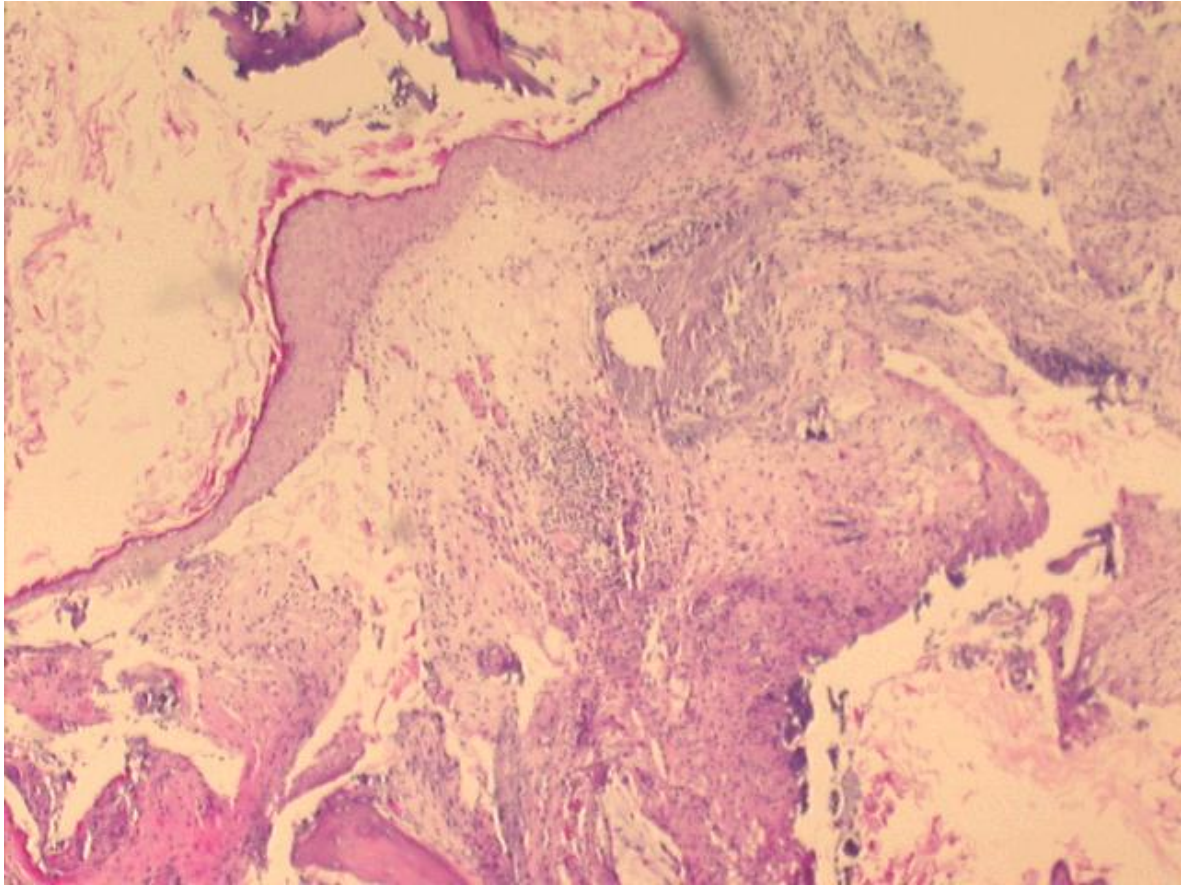


**Figura 47:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 59.

M.X.F., 43 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de onze camadas de células epiteliais. A perimatriz é estreita, delicada e desprovida de infiltrado inflamatório.

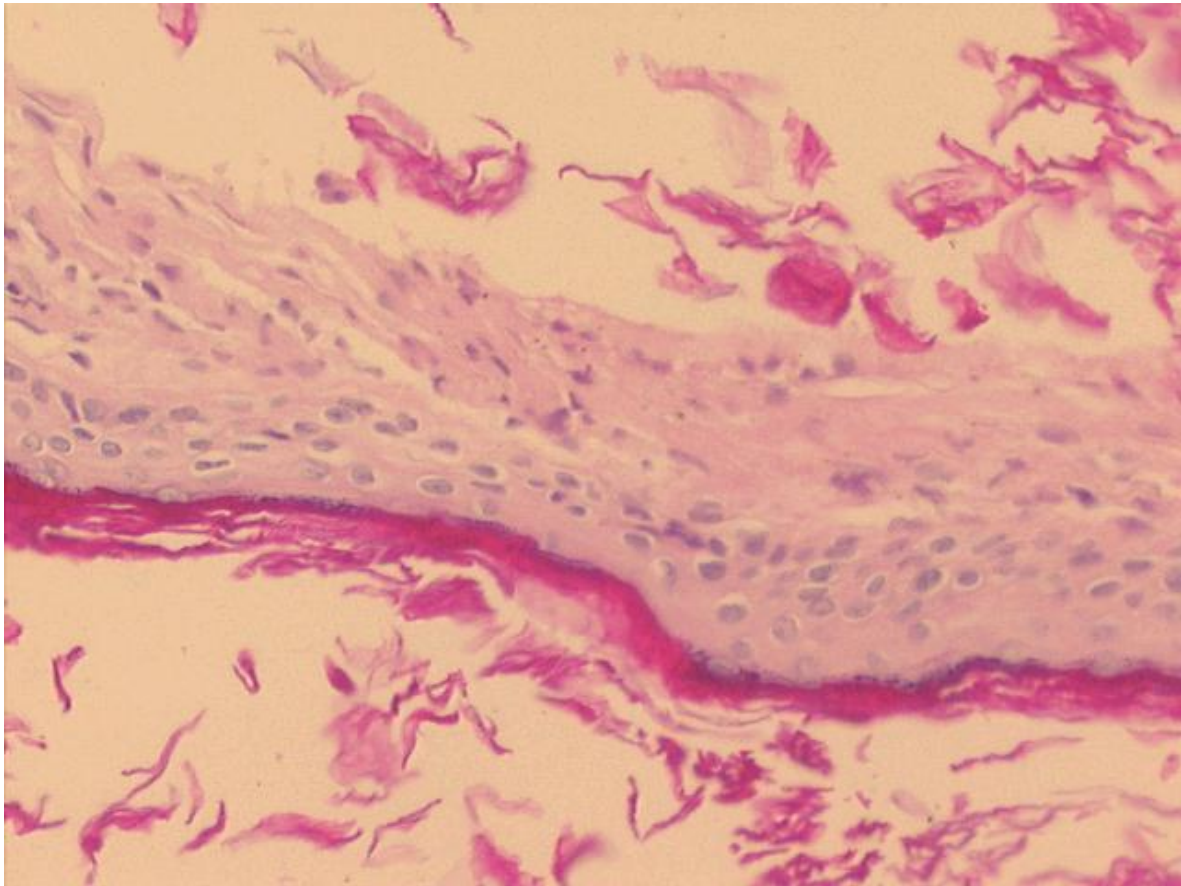


**Figura 48:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 60.

D.S.S., 11 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 50x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de doze camadas de células epiteliais. A perimatriz exhibe fibrose densa, infiltrado inflamatório crônico acentuado e está delimitada em seu plano profundo por epitélio cubóide simples.

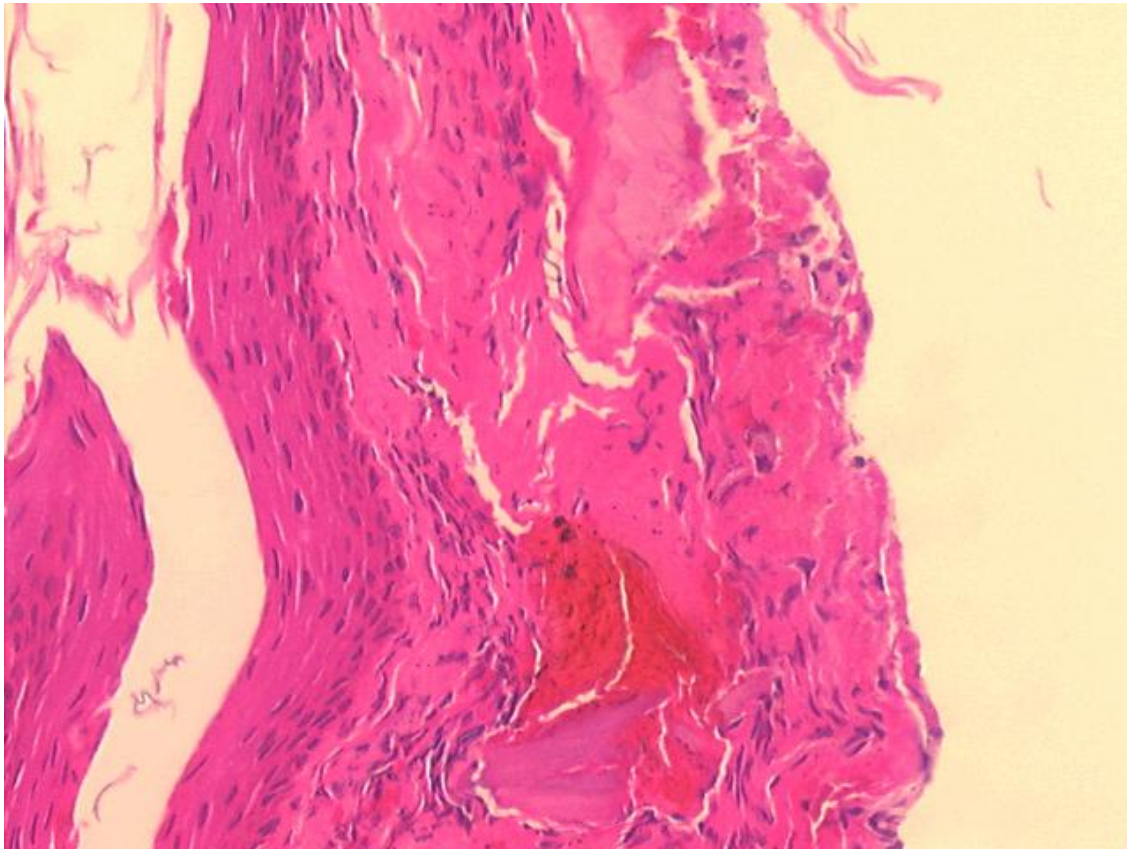


**Figura 49:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 61.

G.V.I., 17 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 200x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de cinco camadas de células epiteliais. A perimatriz é delicada, com fibrose ora densa ora frouxa, infiltrado inflamatório crônico muito discreto e está delimitada em seu plano profundo por epitélio cubóide simples.

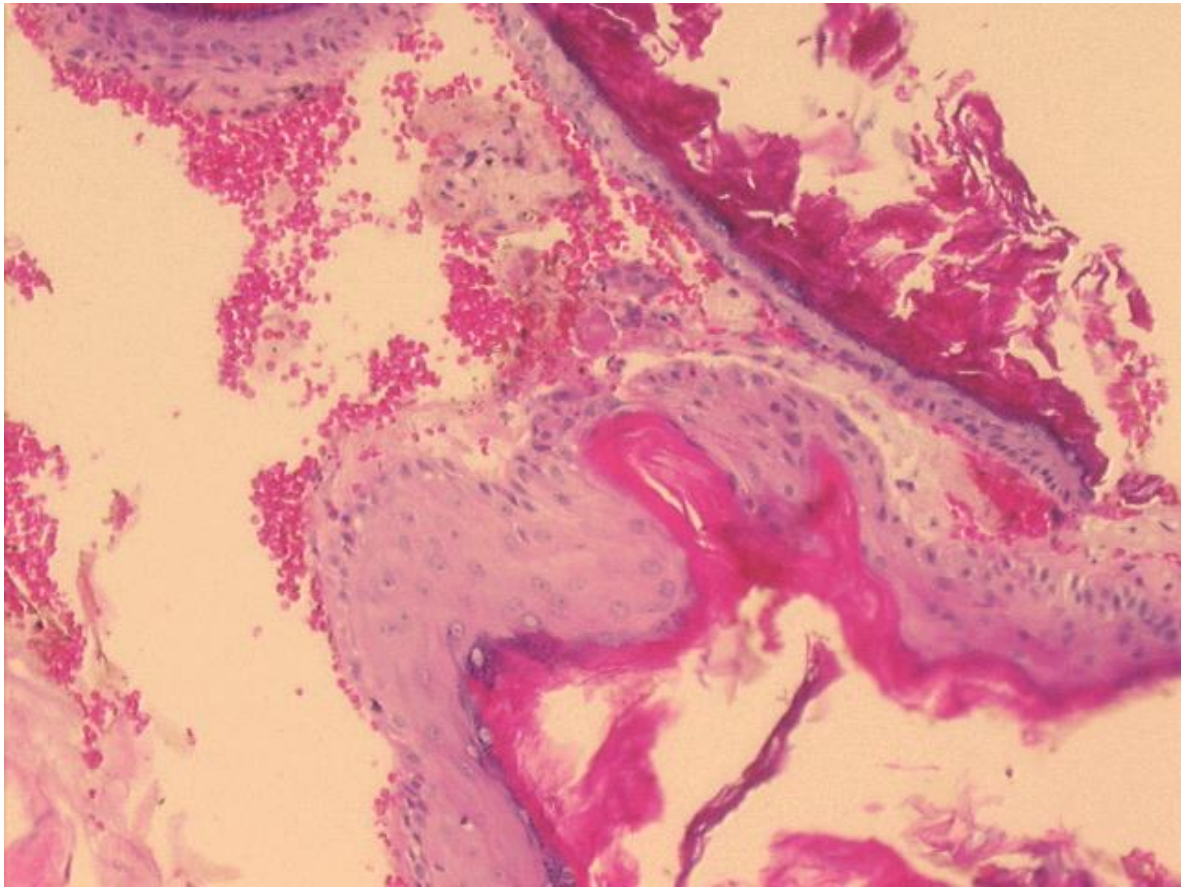


**Figura 50:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 62.

M.M.S., 51 anos, Feminino

Coloração: HE      Aumento: 200x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de cinco camadas de células. Fibrose discreta, porém densa. Infiltrado inflamatório ausente, ausência de granuloma.



**Figura 51:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 63.

J.L., 78 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de quatro camadas de células. Perimatriz muito delicada, estreita, sem infiltrado inflamatório.



**Figura 52:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 64.

D.R.S., 14 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de 12 camadas de células. Perimatriz muito delicada, estreita, sem infiltrado inflamatório.



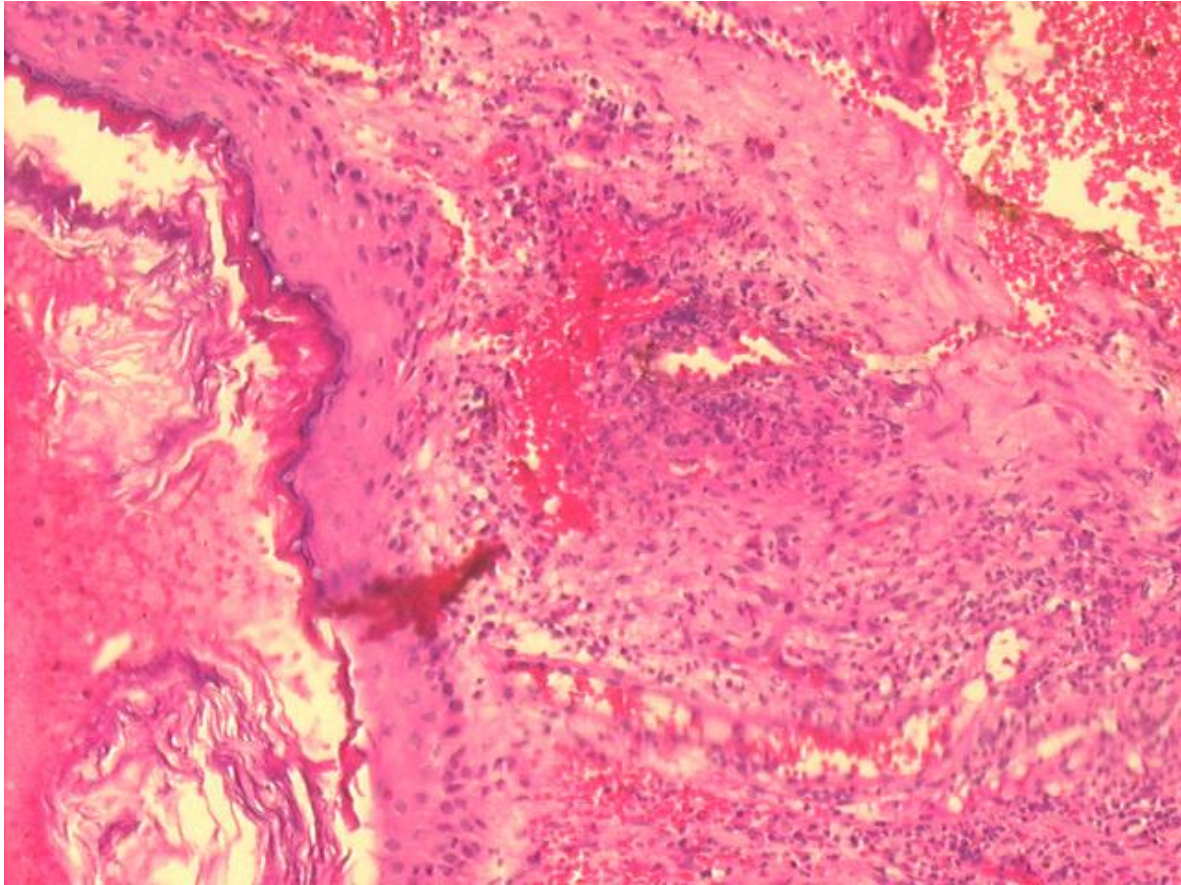


**Figura 53:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 66.

F.J.R., 13 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 200x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de três camadas de células. Perimatriz ausente.

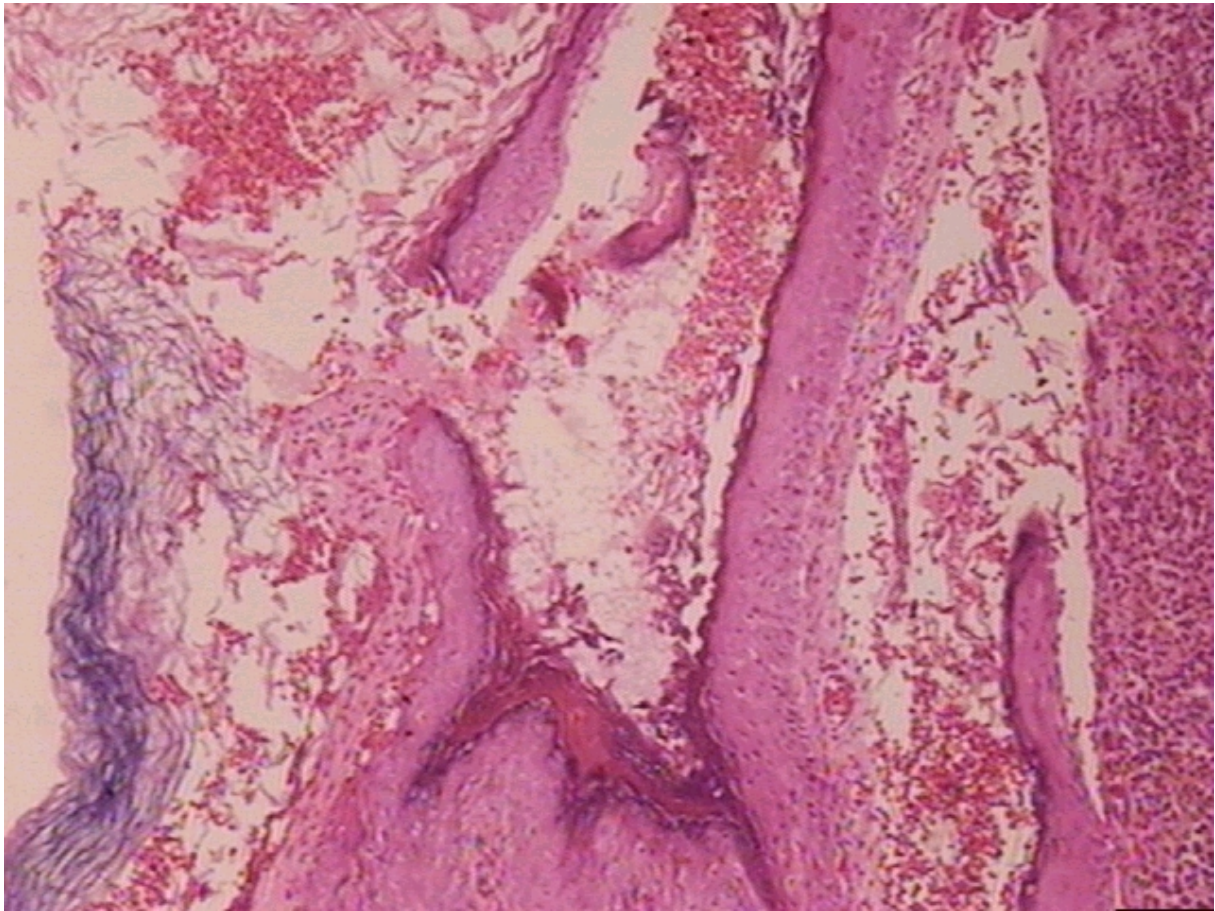


**Figura 54:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 68.

C.C.O., 20 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 100x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de sete camadas de células. Perimatriz com áreas de fibrose densa alternada com áreas mais frouxas, infiltrado inflamatório acentuado, sem granuloma.

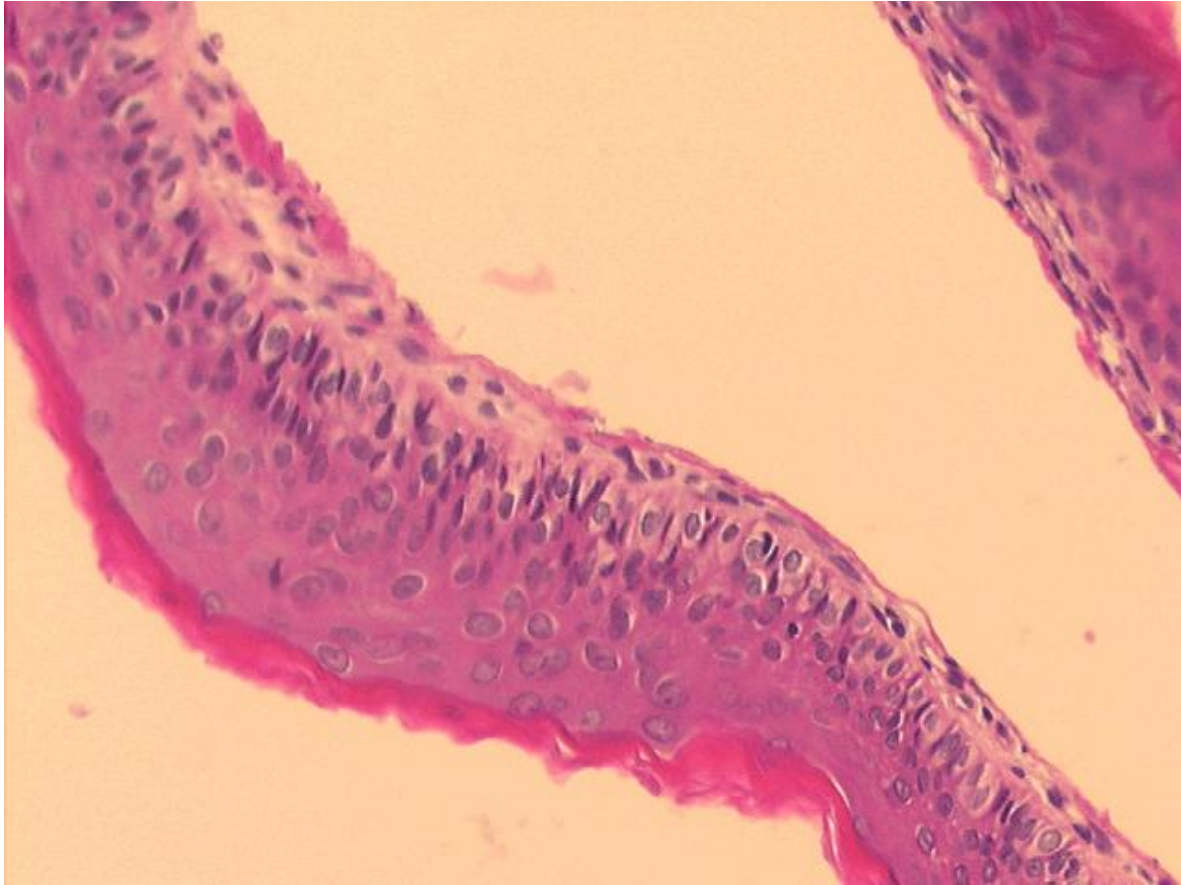


**Figura 55:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 69.

J.V., 35 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 200x

Anatomopatológico: Este material foi excluído por não apresentar todos os componentes histológicos do colesteatoma. Os cortes exibiam apenas material córneo e exudato fibrinoneutrocitário (somente fibrina e neutrócitos).

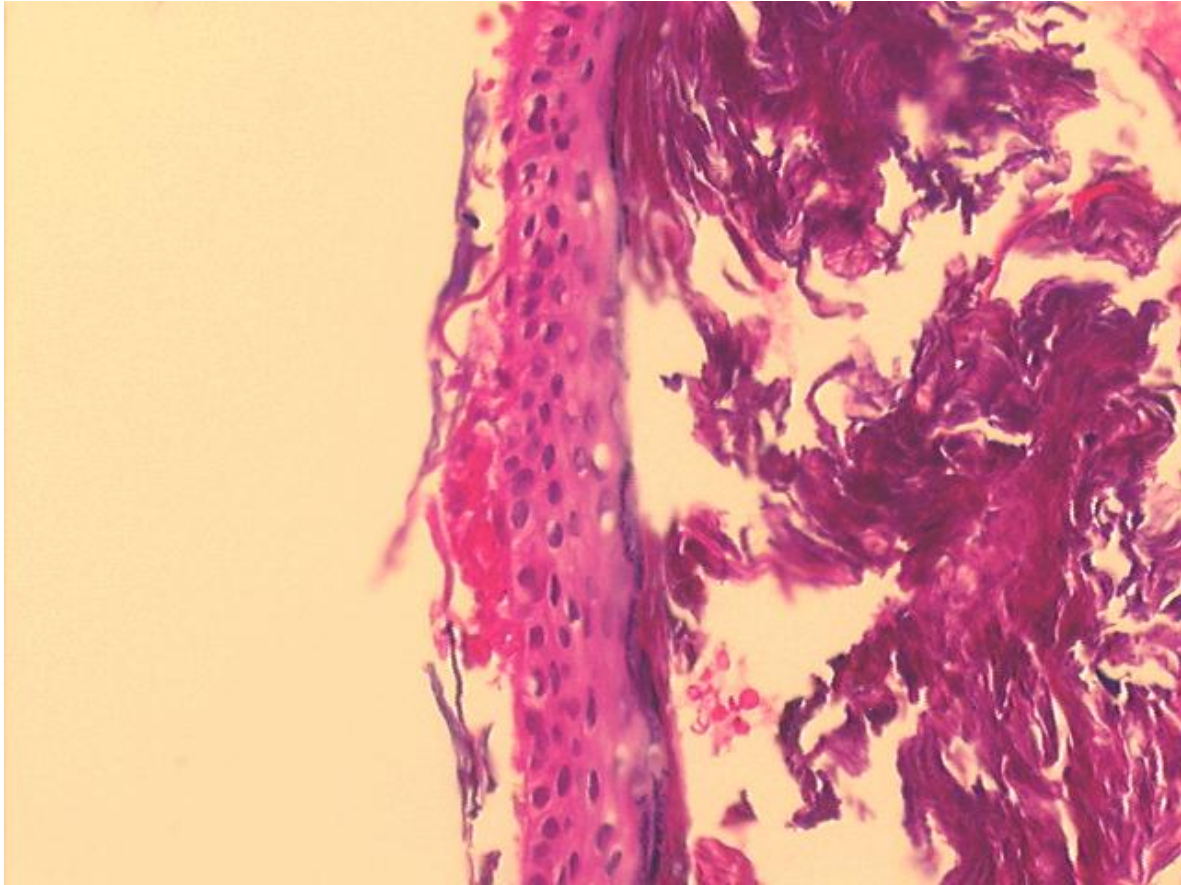


**Figura 56:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 70.

P.J.S.M., 16 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 200x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de seis camadas de células. Perimatriz estreita e delicada, sem fibrose e com infiltrado inflamatório muito discreto.

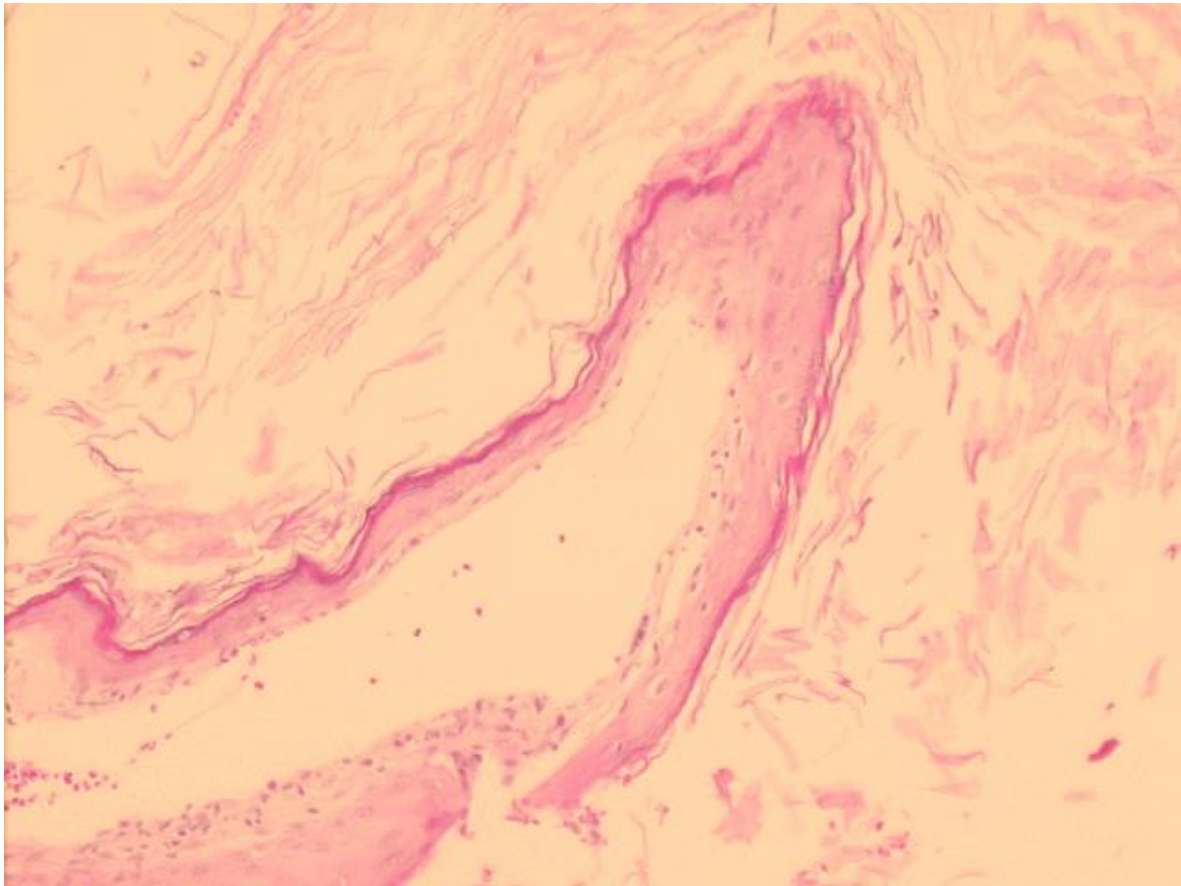


**Figura 57:** Imagem digitalizada da lâmina do colesteatoma do paciente 71.

J.C.R., 35 anos, Masculino

Coloração: HE      Aumento: 200x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de quatro camadas de células. Perimatriz muito estreita, sem fibrose e sem infiltrado inflamatório.



**Figura 58:** Imagem digitalizada das lâminas dos colesteatomas do paciente 72.

M.D.A., 18 anos, Feminino

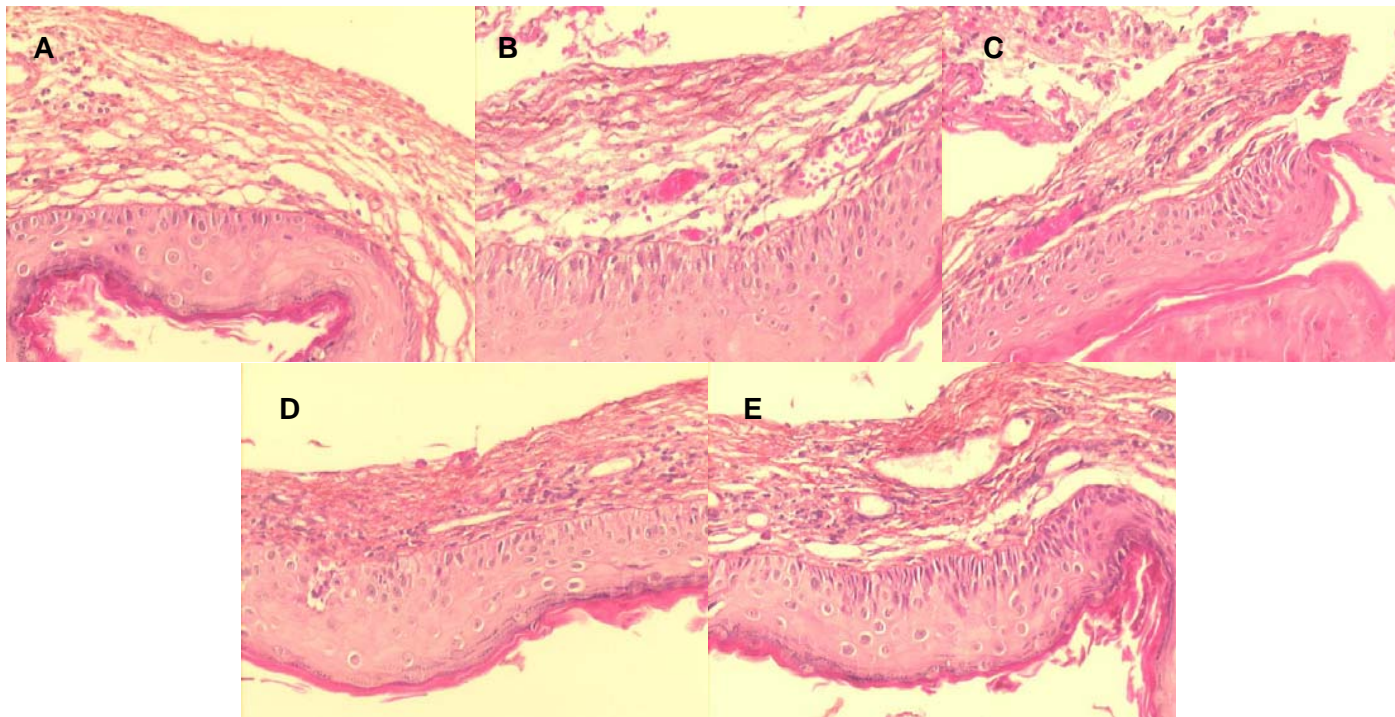
Coloração: HE      Aumento: 40x

Anatomopatológico: epitélio escamoso estratificado, queratinizado, com média de quatro camadas de células. Perimatriz com discreta fibrose, infiltrado linfoplasmocitário discreto, sem presença de granulomas.

**Neste arquivo são apresentados os dados de medição da perimatriz com suas respectivas imagens:** N=número de inclusão do paciente no estudo, números acompanhados da letra “e” referem-se a colesteatoma da orelha esquerda de paciente com patologia bilateral, números acompanhados da letra “d” referem-se a colesteatoma da orelha direita de paciente com patologia bilateral; I=idade do paciente na data da cirurgia; G= gênero (F= Feminino, M= Masculino); P1 a P20= medidas da espessura da perimatriz, em micrômetros;

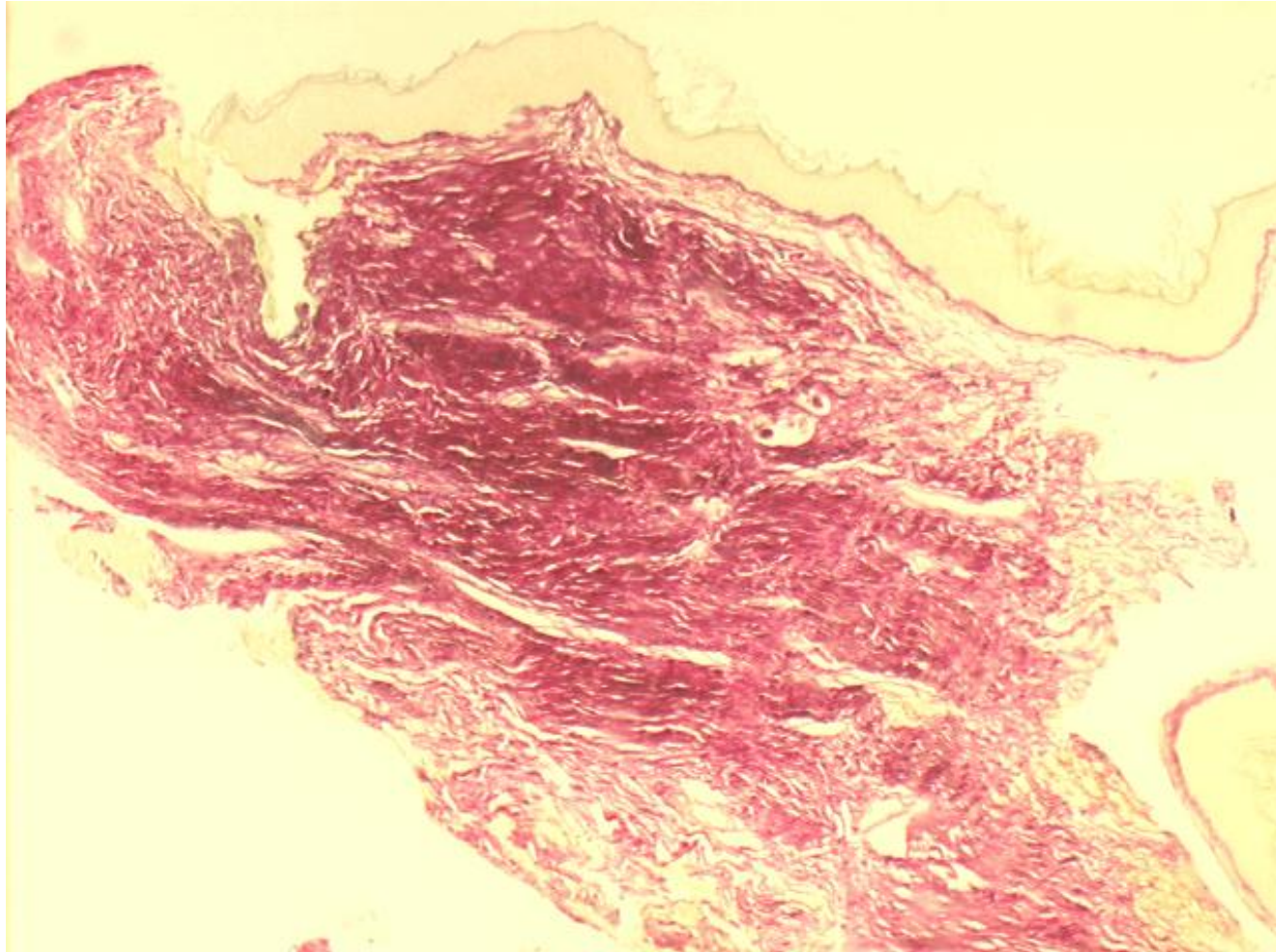
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
1	15	M	121	121	120	128	118	102	127	47	59	62	65	58	54	44	61	52	48	65	65	61

Aumento: A – 100x; B, C, D, E – 200x



N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
2	14	F	191	195	268	318	355	397	395	437	456	463	469	189	189	152	264	389	415	447	459	455

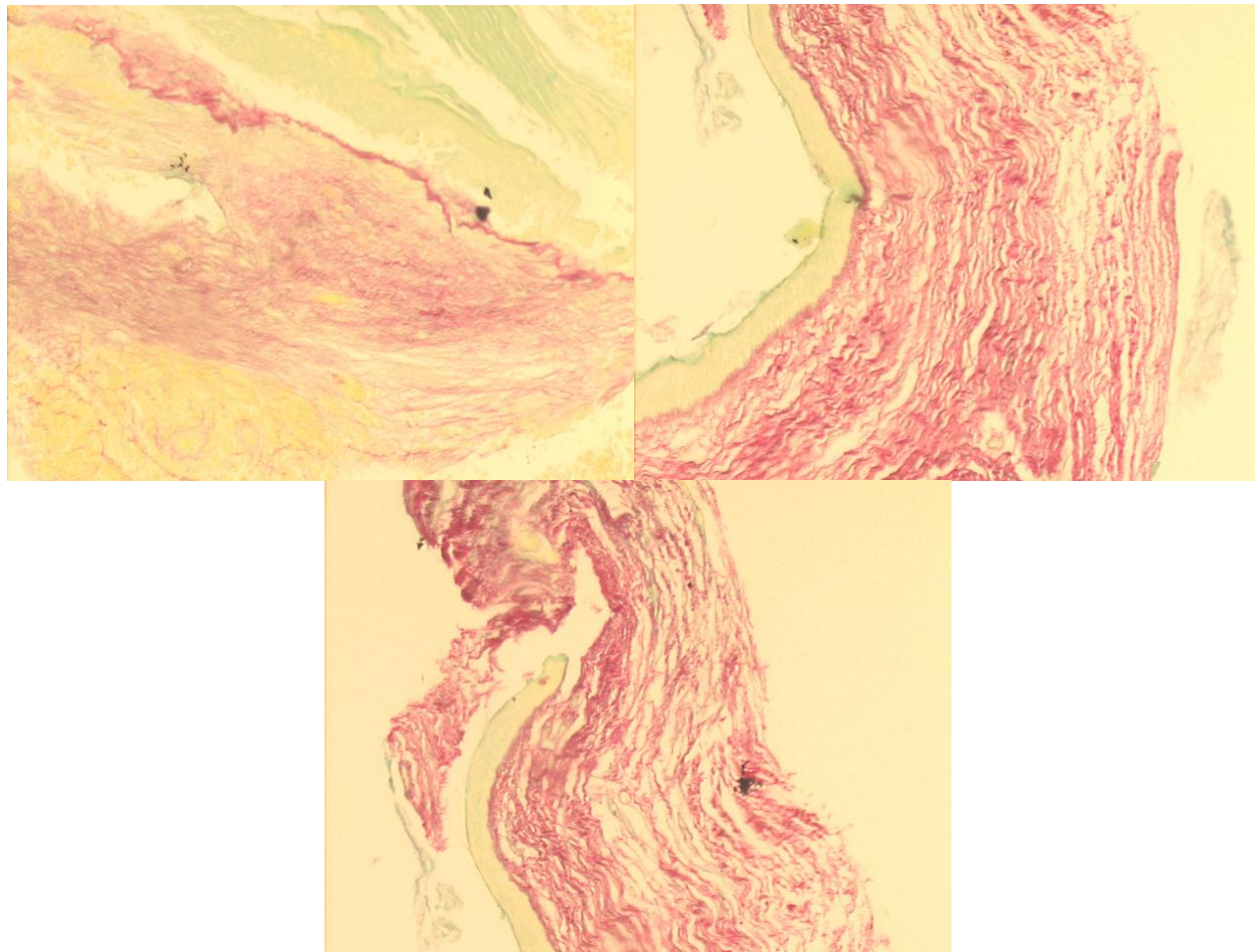
Aumento 40x





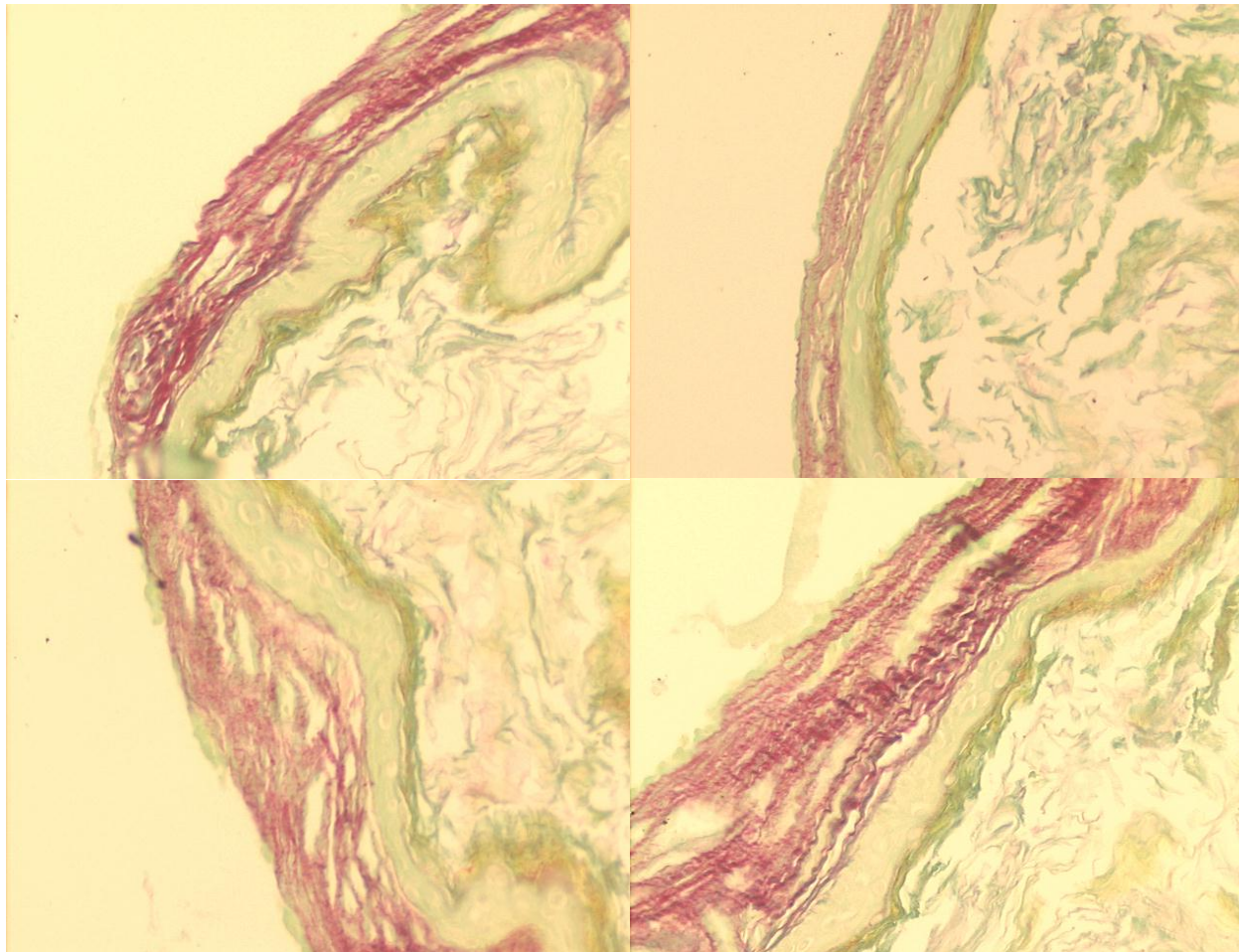
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
4	5	M	339	327	326	311	332	332	345	375	400	421	231	266	300	314	310	320	324	252	279	324

Aumento 100x



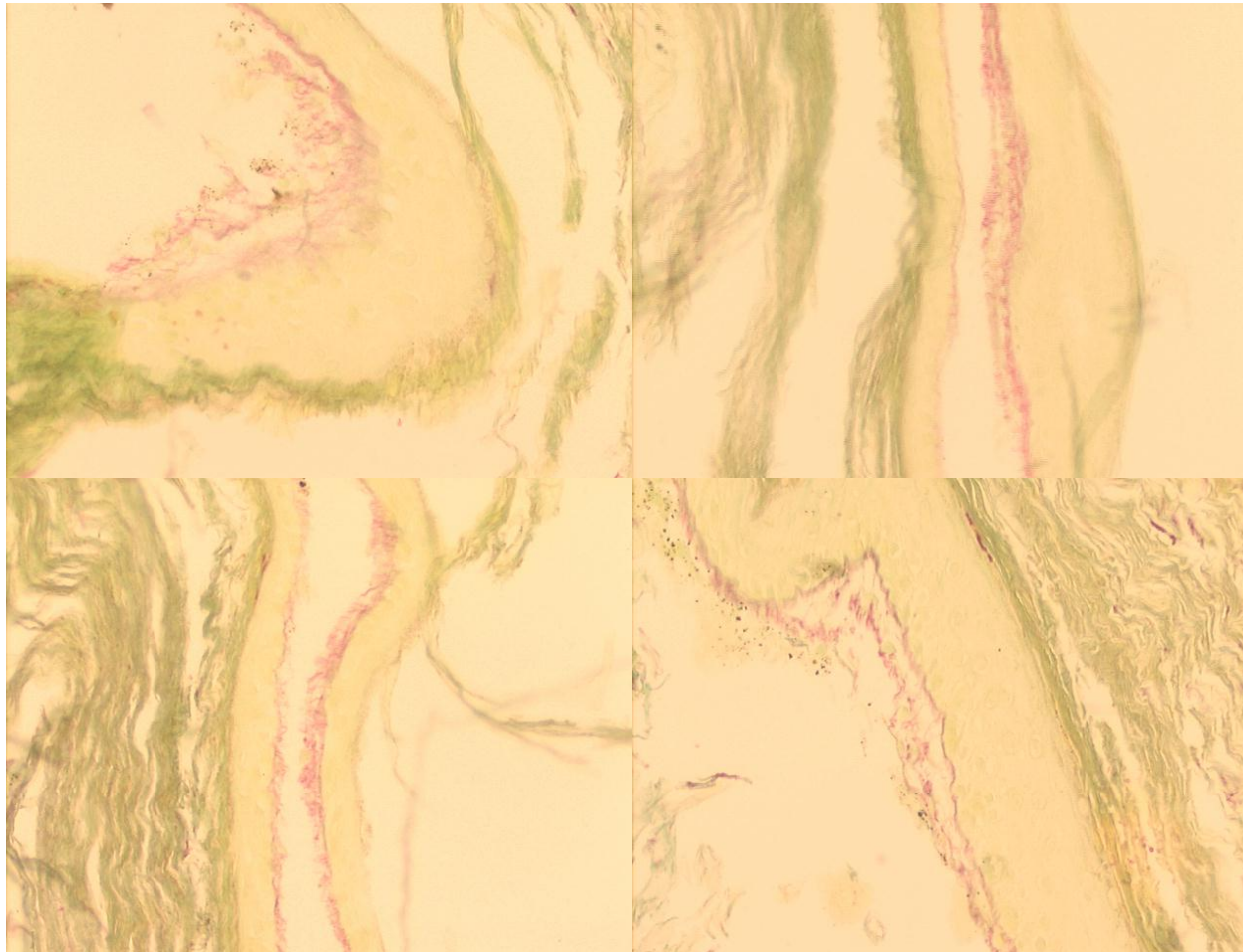
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
5	53	F	23	22	22	25	28	26	39	59	59	68	56	104	93	85	75	66	45	39	40	41

Aumento 400x



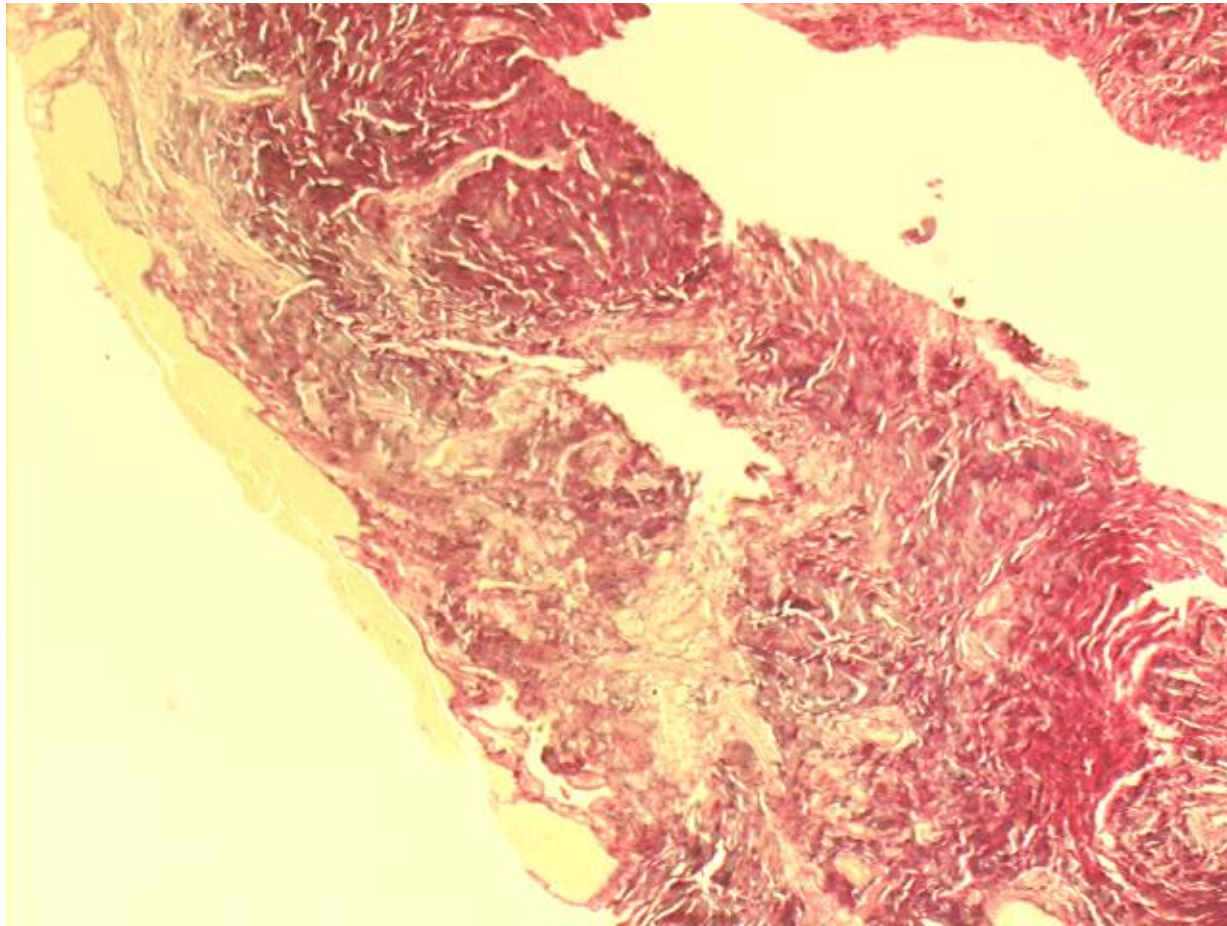
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
6	16	M	14	10	13	15	21	11	9	9	12	10	44	45	33	30	30	30	40	70	50	30

Aumento 400x



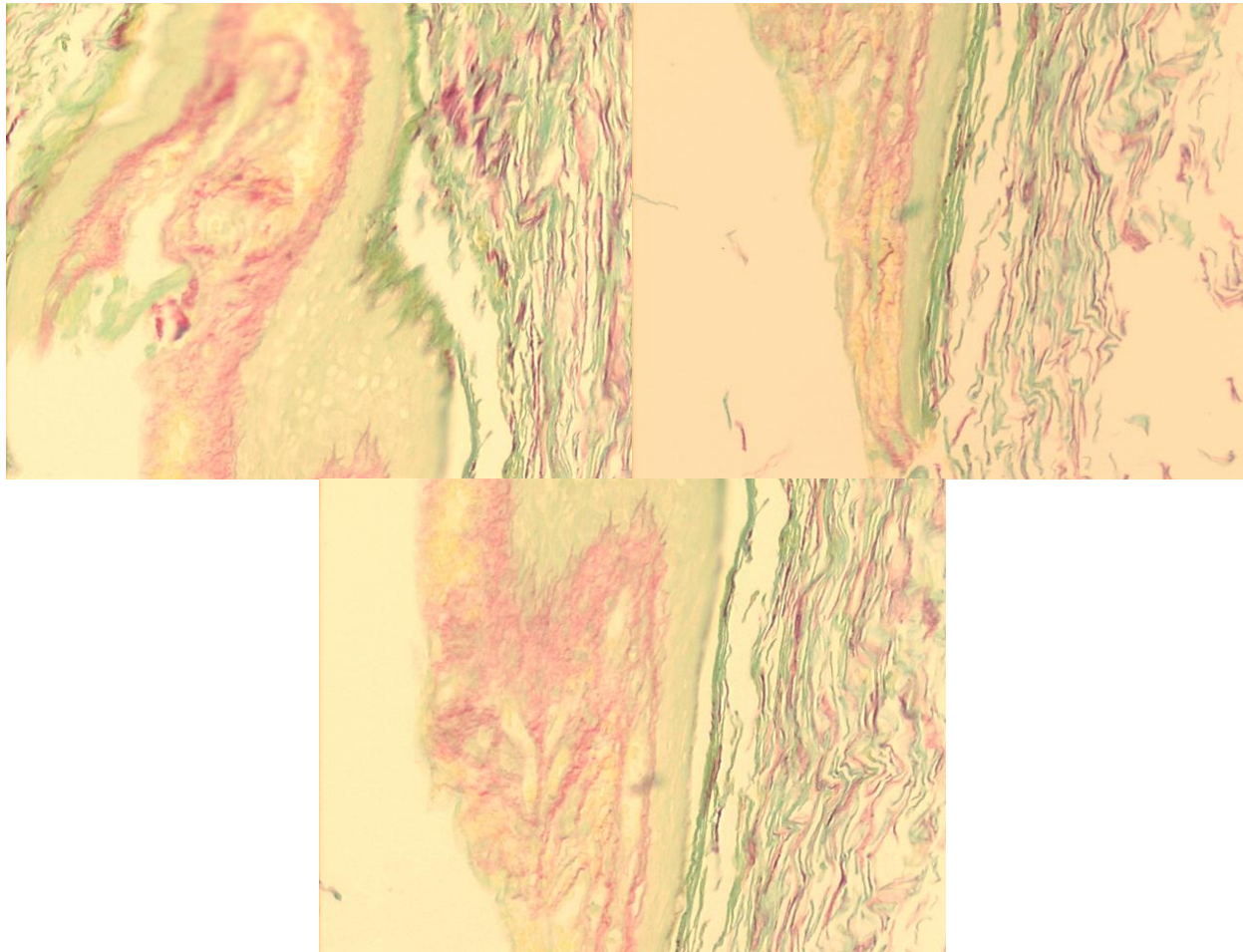
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
7	36	F	309	344	355	390	416	452	445	453	455	411	321	333	340	357	404	427	451	429	343	448

Aumento 40x



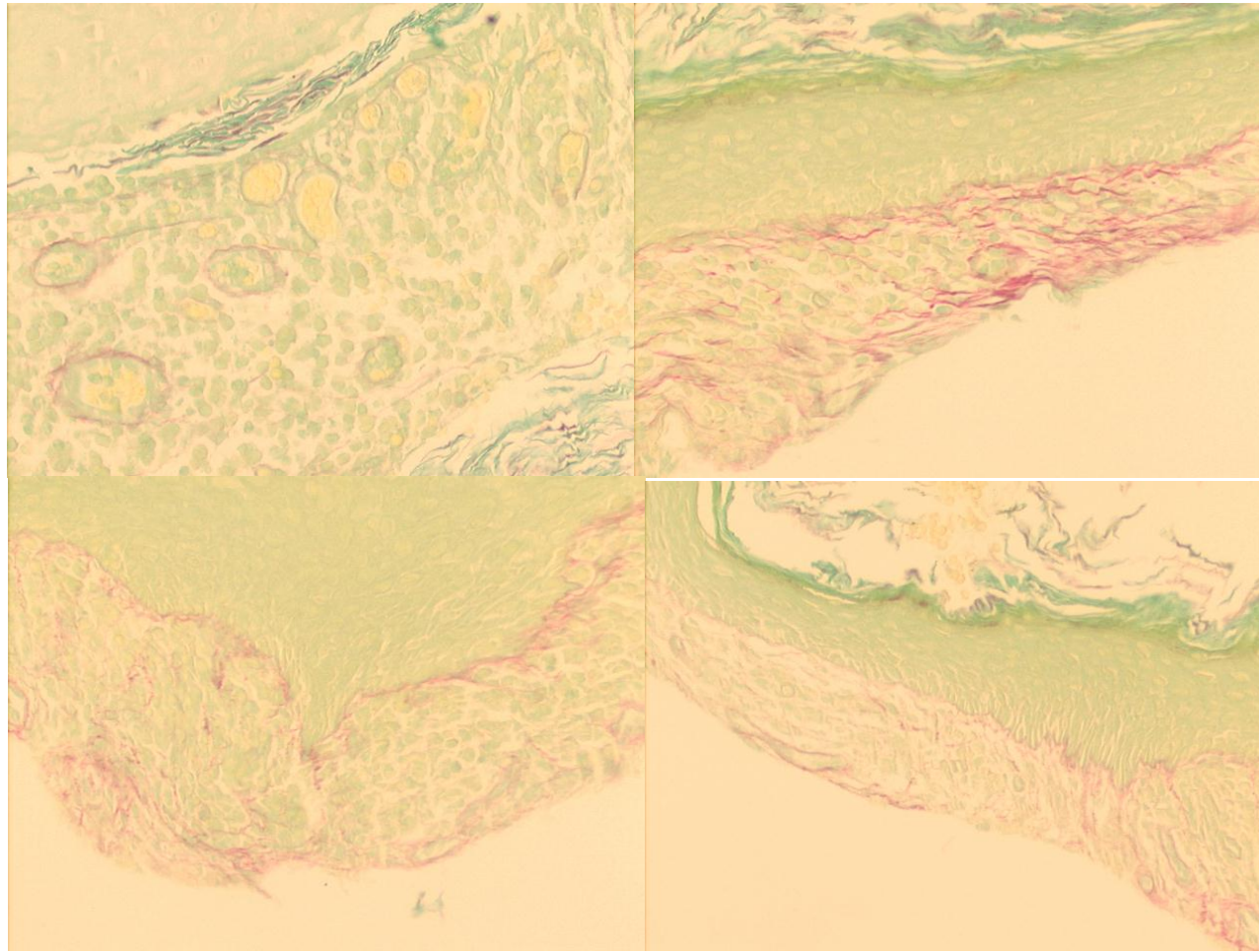
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
8	31	F	26	32	33	42	54	33	67	87	65	84	100	114	121	121	121	54	62	58	38	49

Aumento 400x



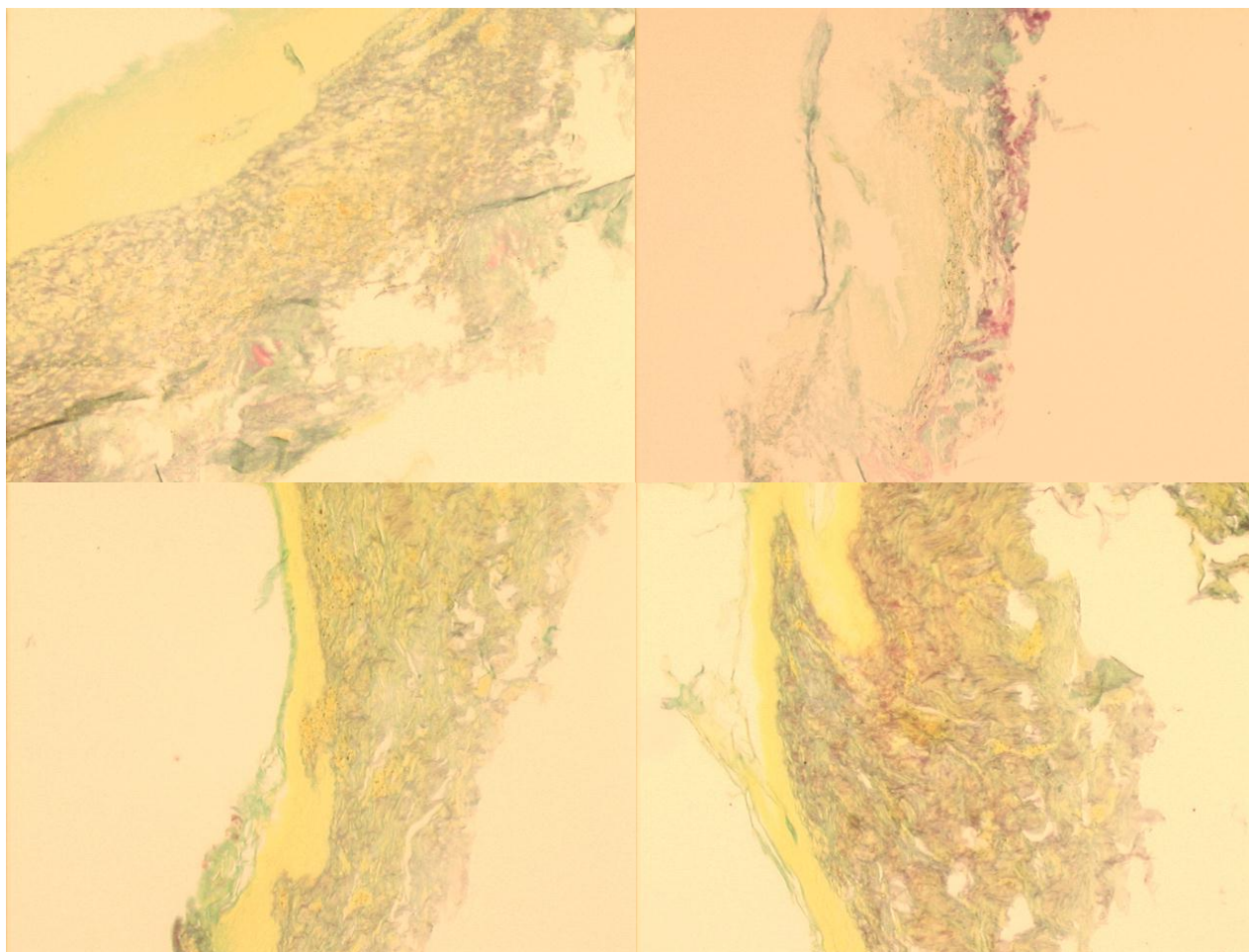
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
9	18	M	125	115	93	79	69	63	66	57	45	48	41	48	56	57	64	60	57	50	48	78

Aumento 400x



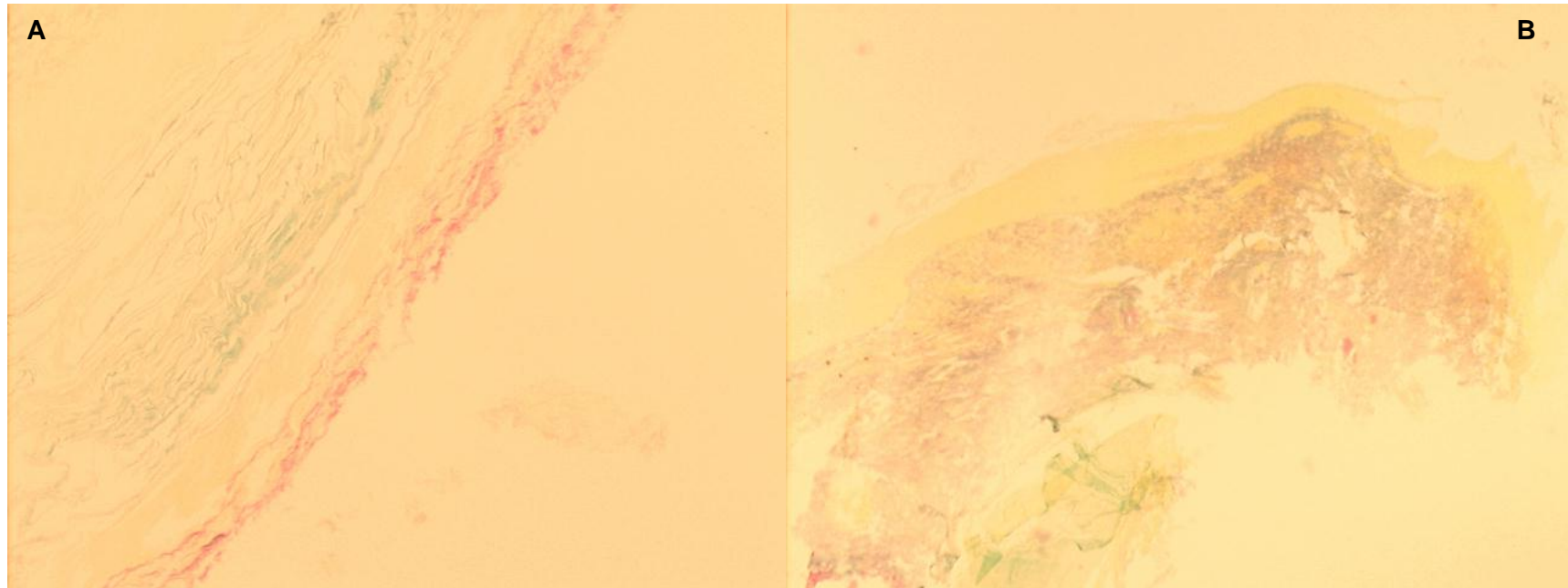
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
10e	35	F	319	303	287	276	293	295	314	352	300	81	91	77	49	50	36	27	37	38	38	290

Aumento 100x



N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
10d	35	F	158	149	176	201	225	210	211	194	215	218	28	17	14	18	21	20	19	20	16	14

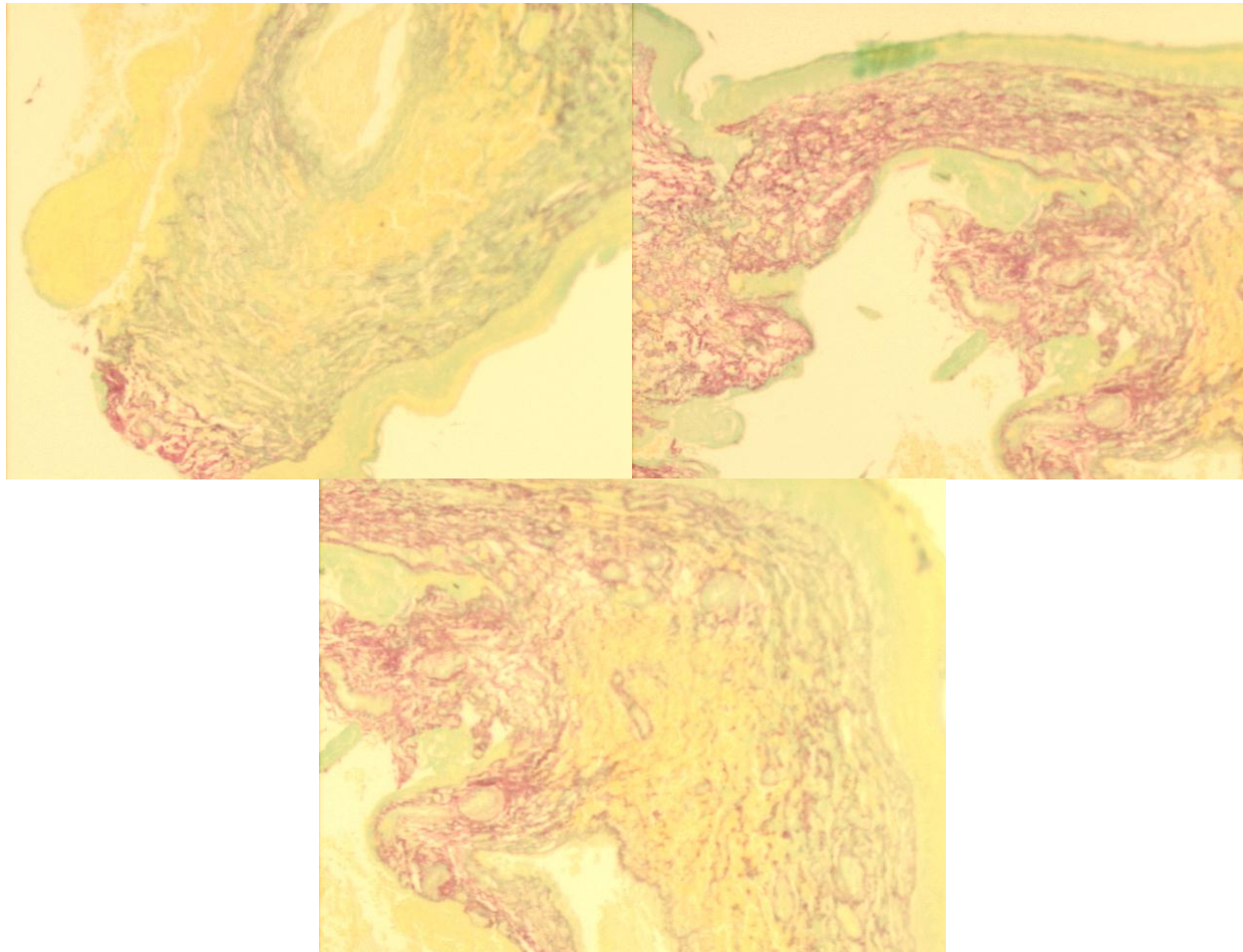
Aumento: A - 200x; B - 40X





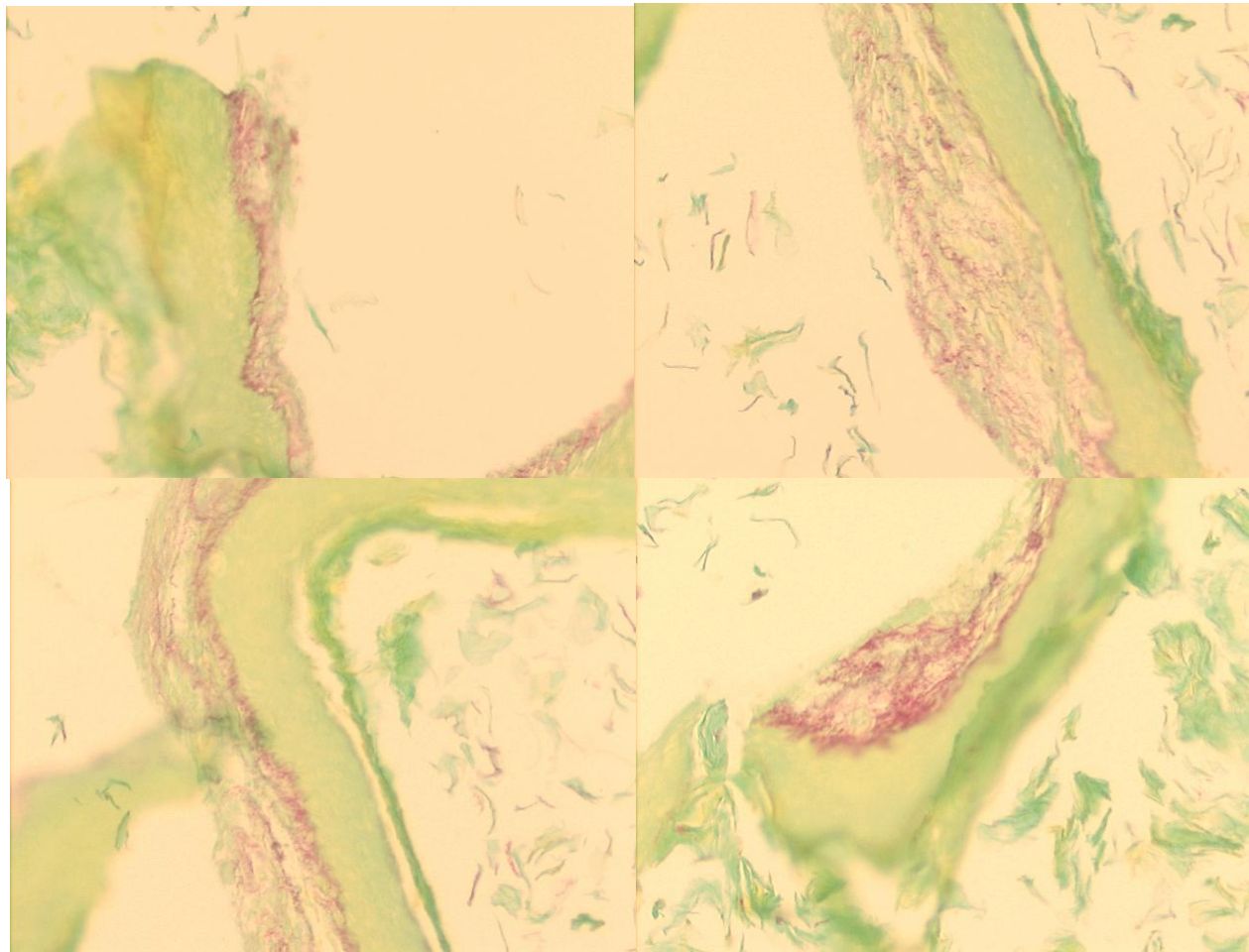
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
11	11	M	290	238	148	97	75	83	87	98	108	131	320	376	366	301	284	341	361	343	274	359

Aumento 100x



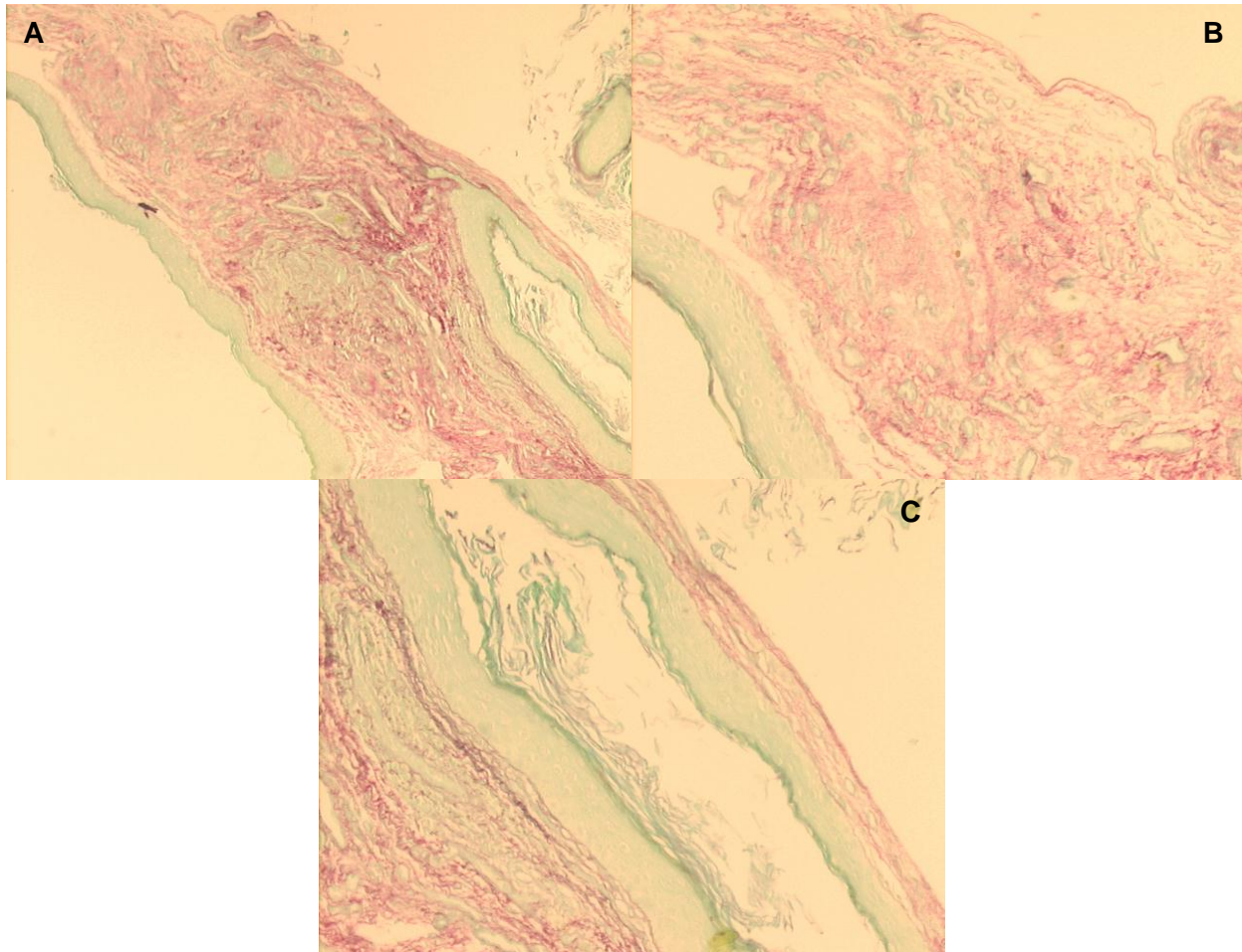
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
13	27	F	55	55	59	65	70	78	84	71	63	58	67	39	36	35	41	45	44	43	105	103

Aumento 200x



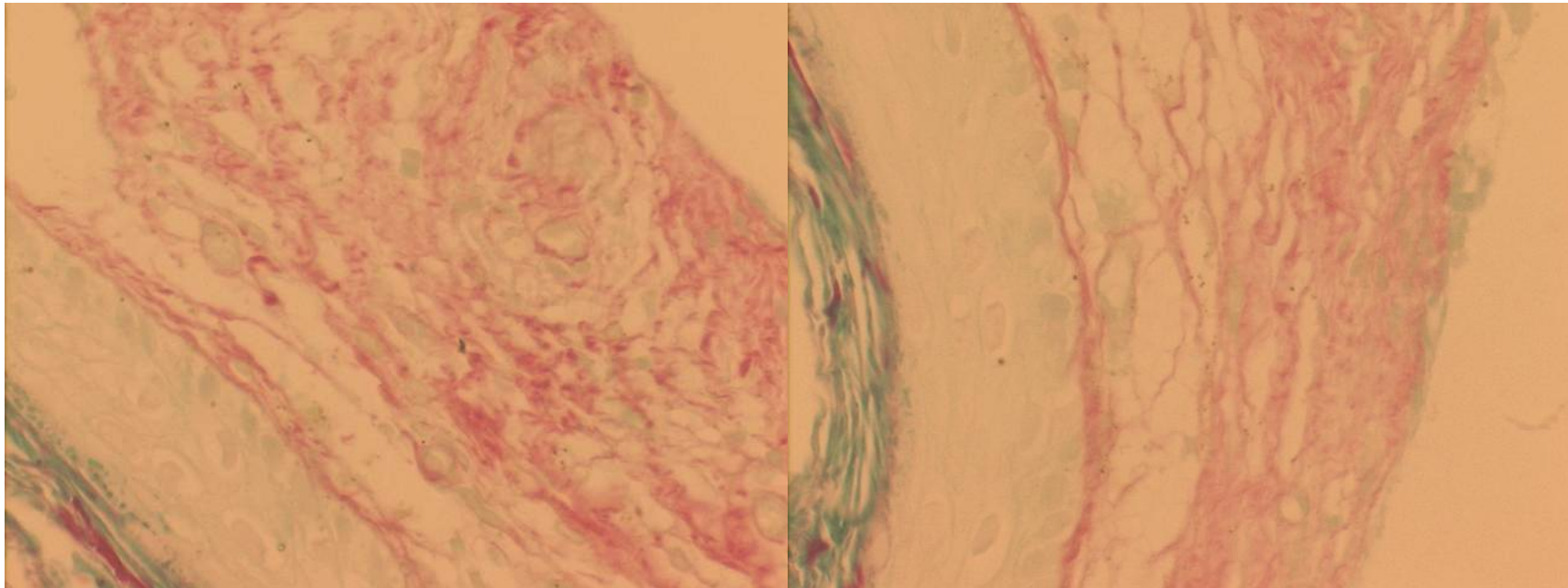
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
15	18	F	241	225	236	257	270	272	223	236	264	240	216	466	453	448	410	299	455	479	484	360

Aumento: A – 40X; B e C - 100x



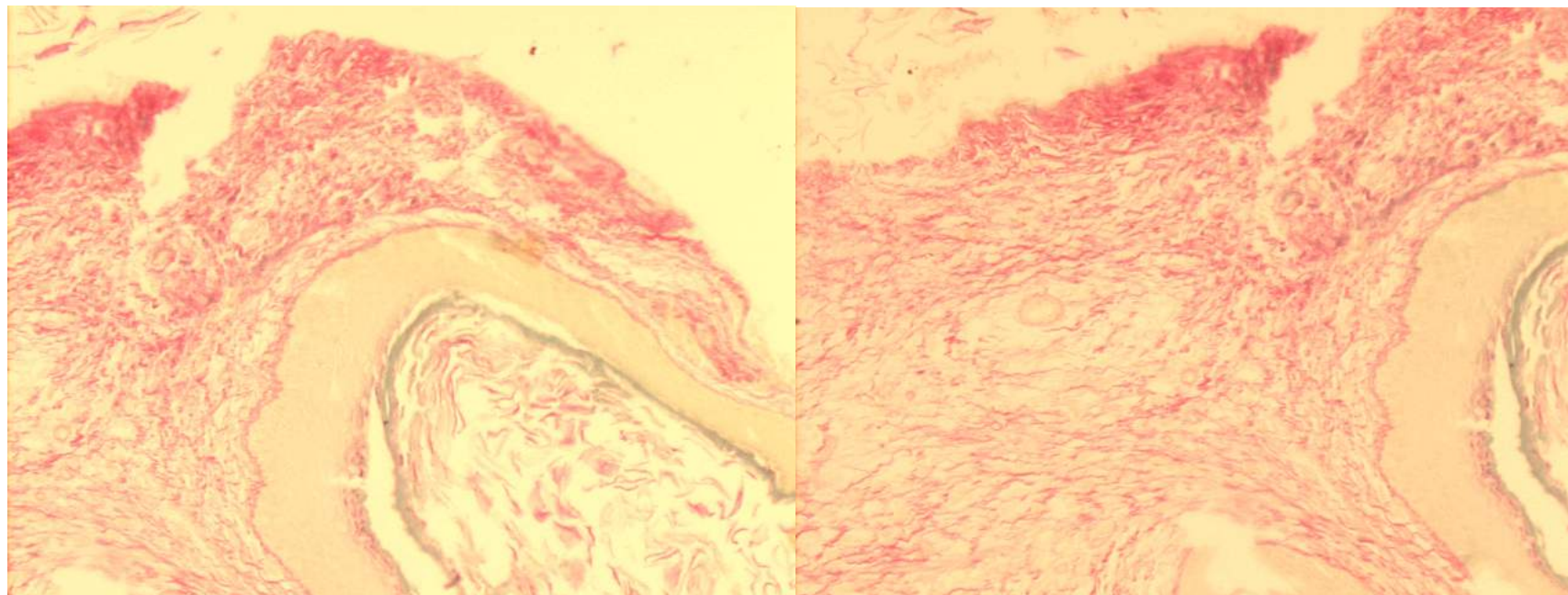
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
18	21	F	61	61	64	66	73	74	84	90	95	101	114	106	104	105	104	104	104	107	104	105

Aumento 400x



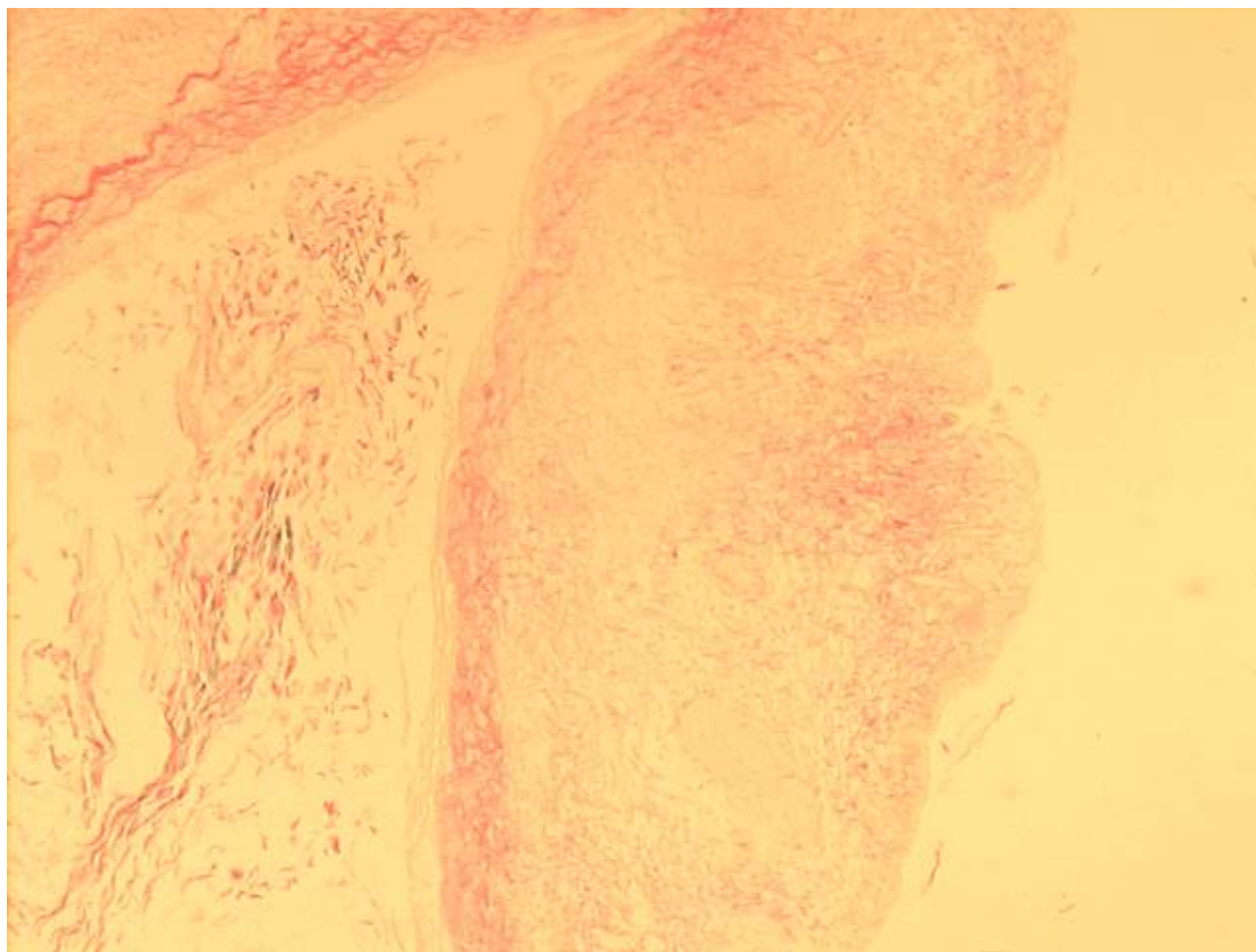
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
19	12	F	166	132	297	365	392	383	405	248	151	401	89	99	106	132	161	155	135	134	279	302

Aumento 100x



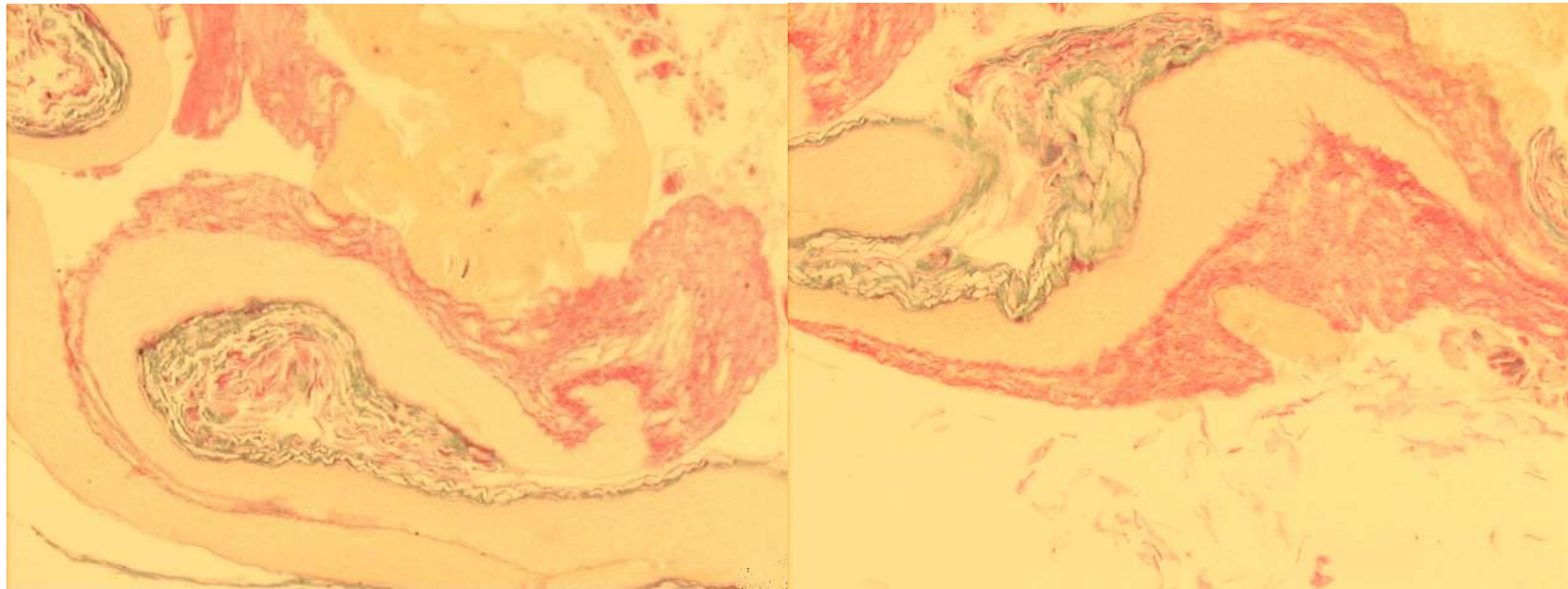
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
20	12	F	290	293	300	311	299	308	348	376	379	374	340	319	306	299	293	335	308	289	248	358

Aumento 40x



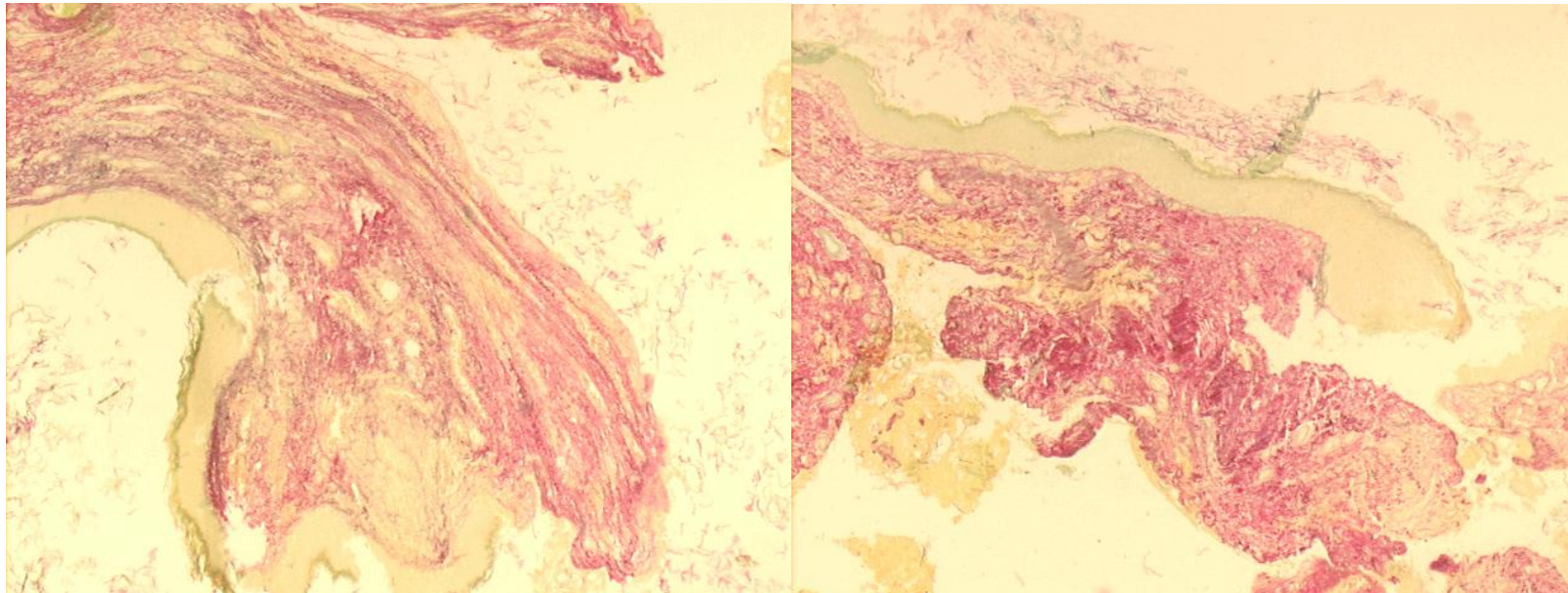
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
21	40	F	15	18	22	21	23	28	31	59	107	161	35	45	48	41	33	37	113	78	162	95

Aumento 100x



N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
22	10	M	79	94	11	125	119	243	254	241	275	200	241	229	240	264	298	383	425	419	339	226

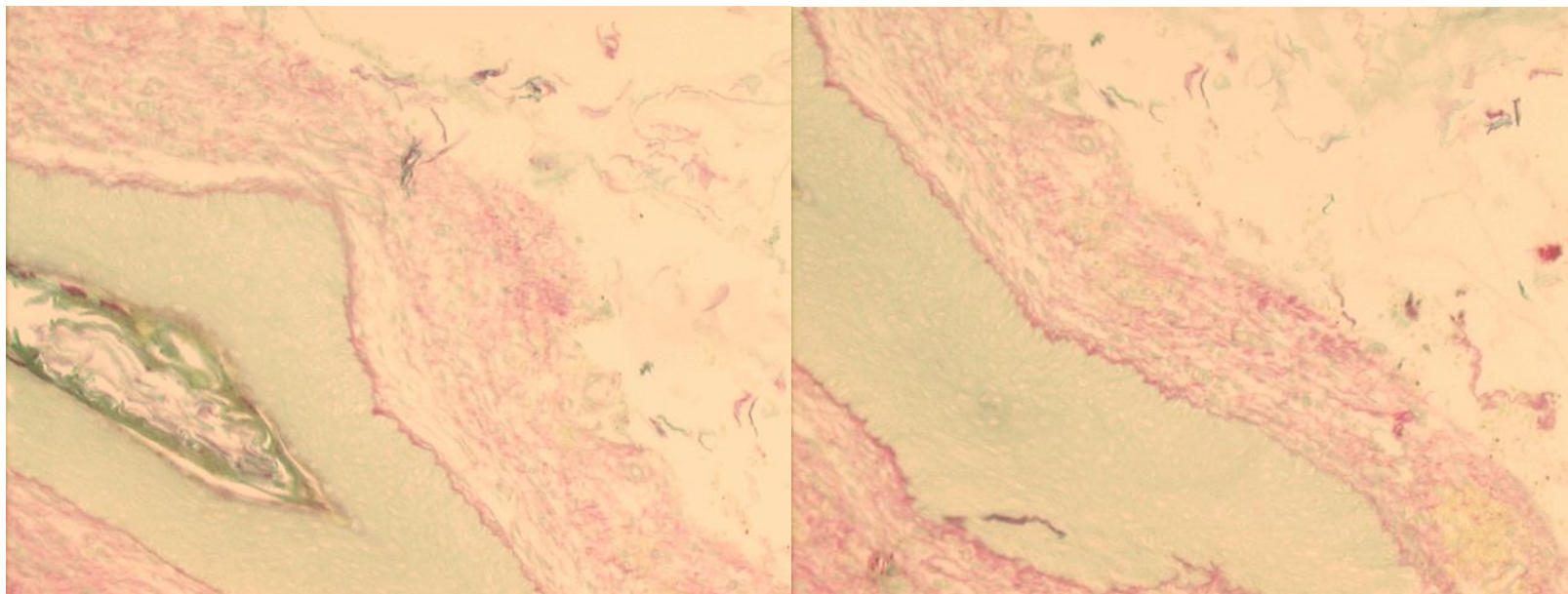
Aumento 40x





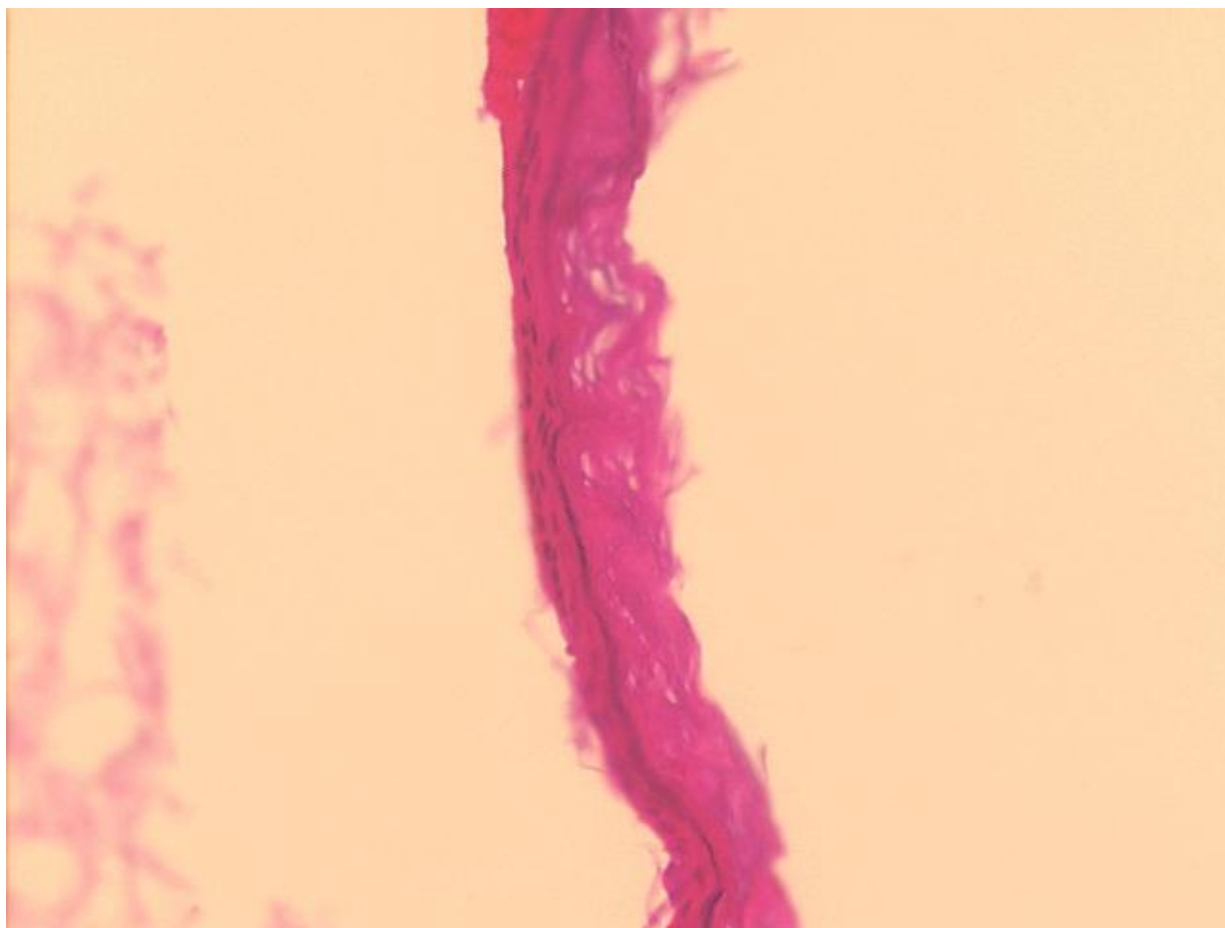
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
24	25	M	143	156	135	139	138	136	129	121	107	101	165	157	131	119	102	110	178	193	189	107

Aumento 100x



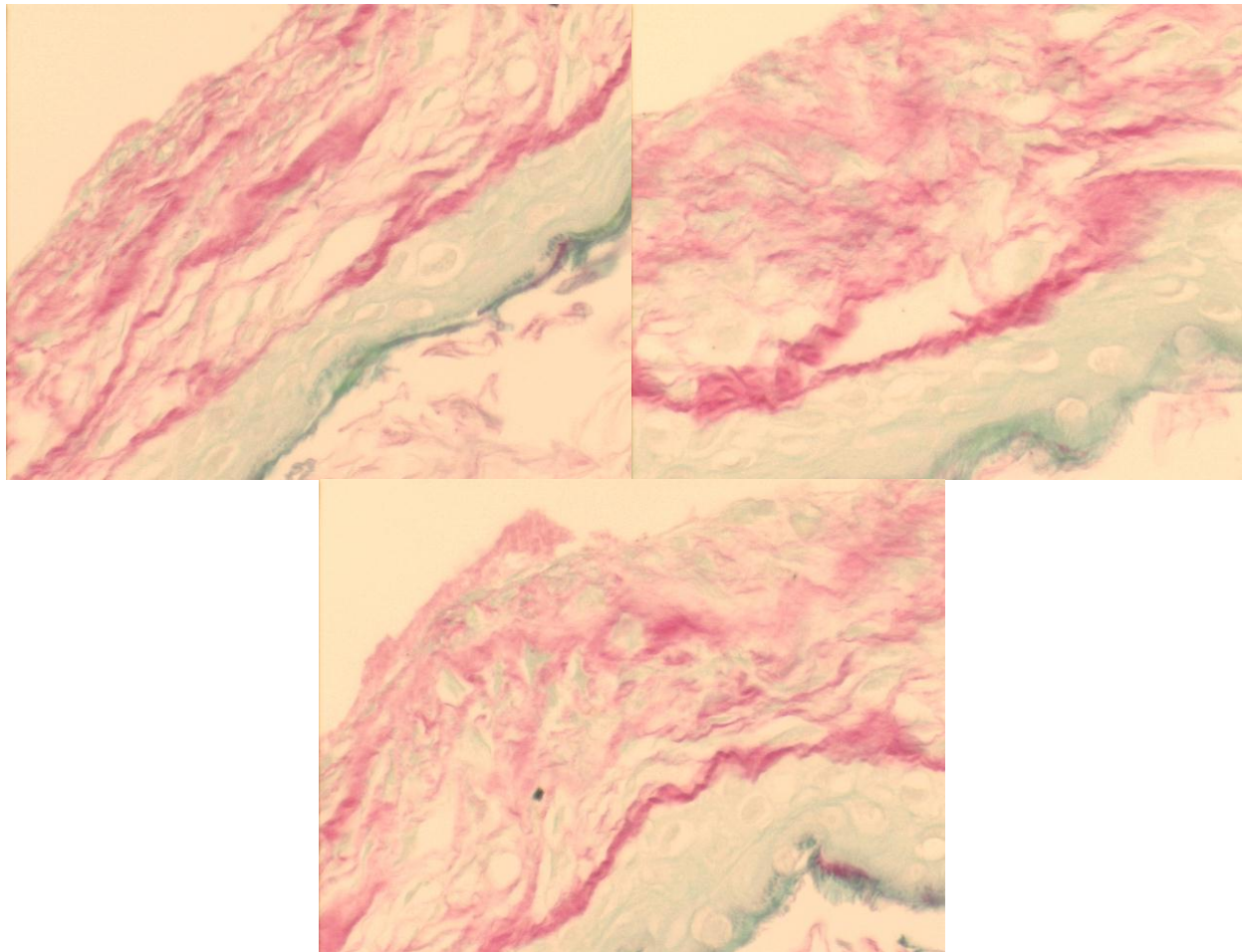
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
25	37	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Aumento 40x



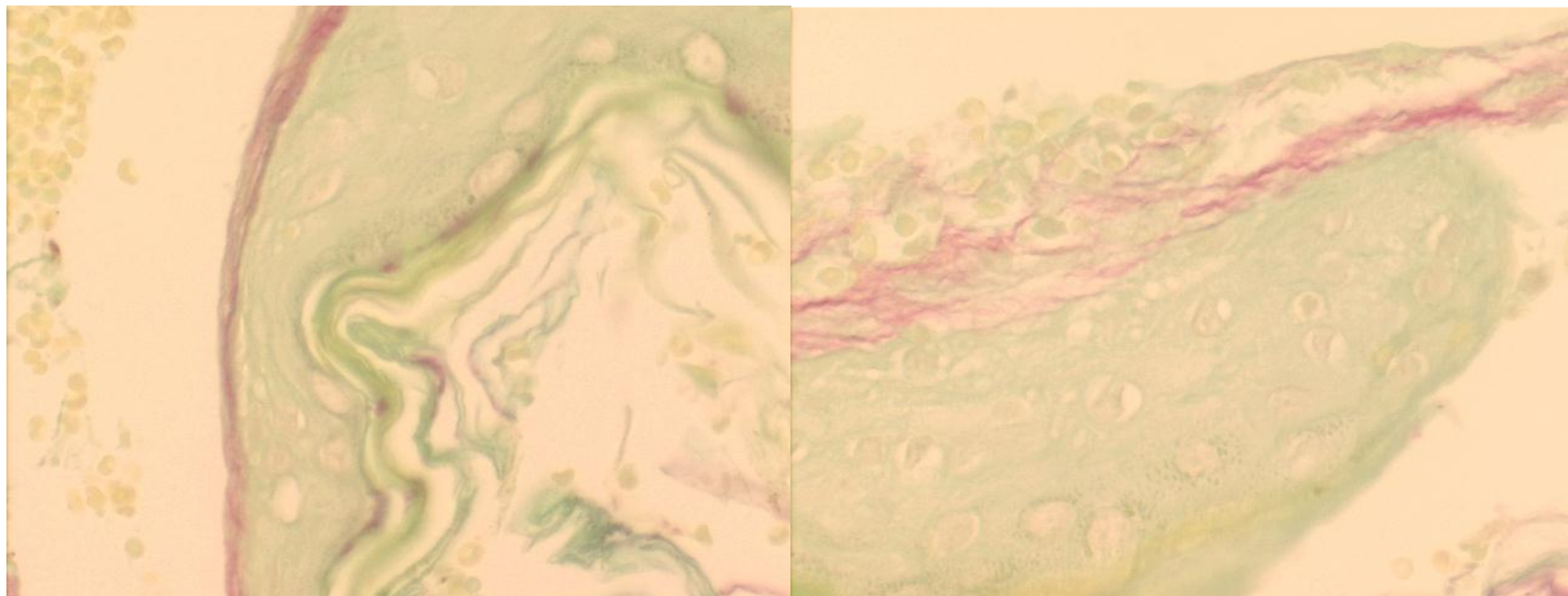
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
26e	9	F	79	81	77	69	70	78	73	83	82	80	77	77	68	66	72	73	71	84	77	84

Aumento 400x



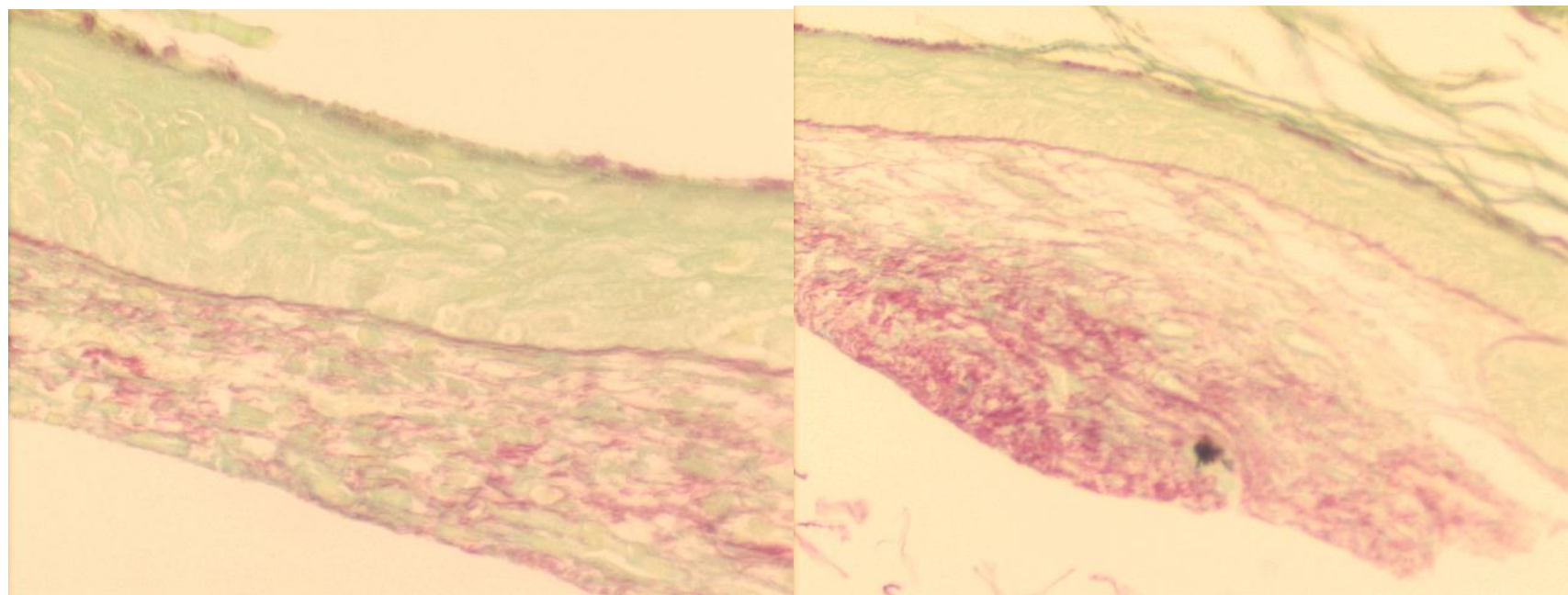
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
26d	9	F	4	4	4	4	4	4	4	3	3	4	6	4	4	6	8	8	6	6	6	5

Aumento 400x



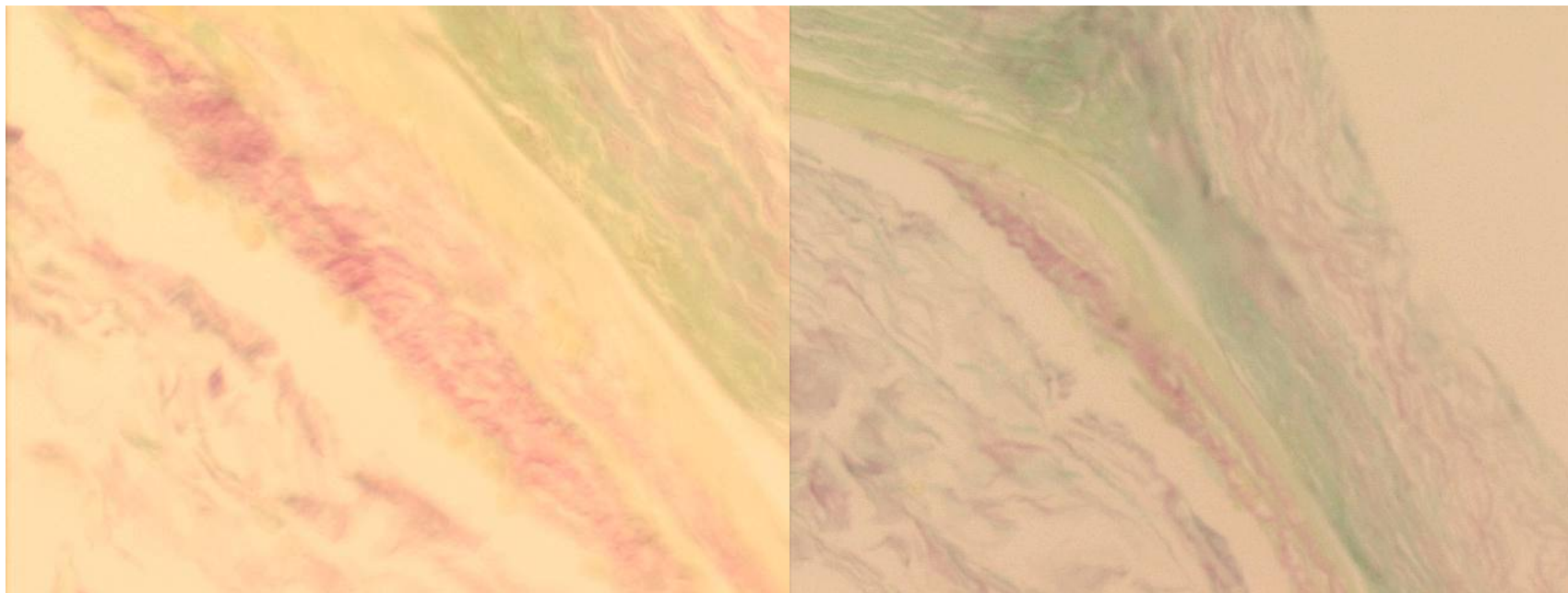
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
27	40	F	117	115	116	119	124	136	135	136	135	130	124	120	114	106	97	94	90	82	83	121

Aumento 200x



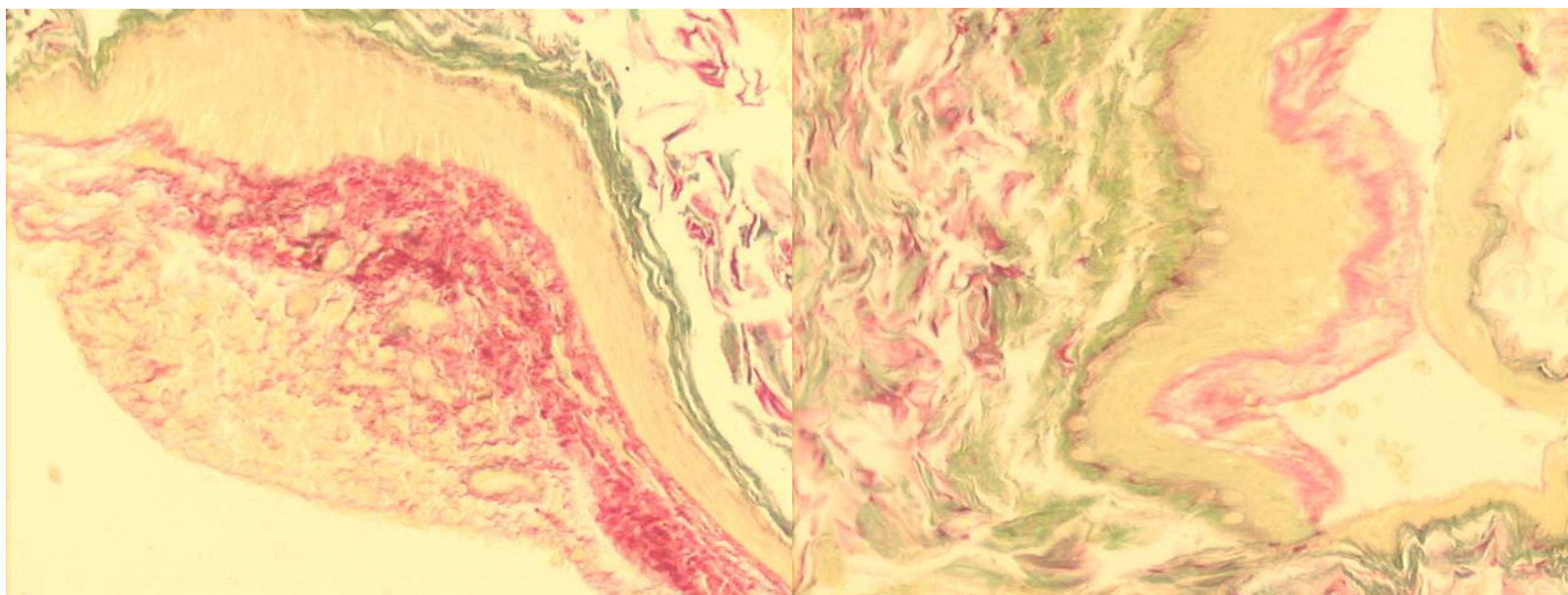
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
28	37	F	54	54	55	49	50	47	47	45	43	44	43	42	40	36	37	36	46	47	47	48

Aumento 400x



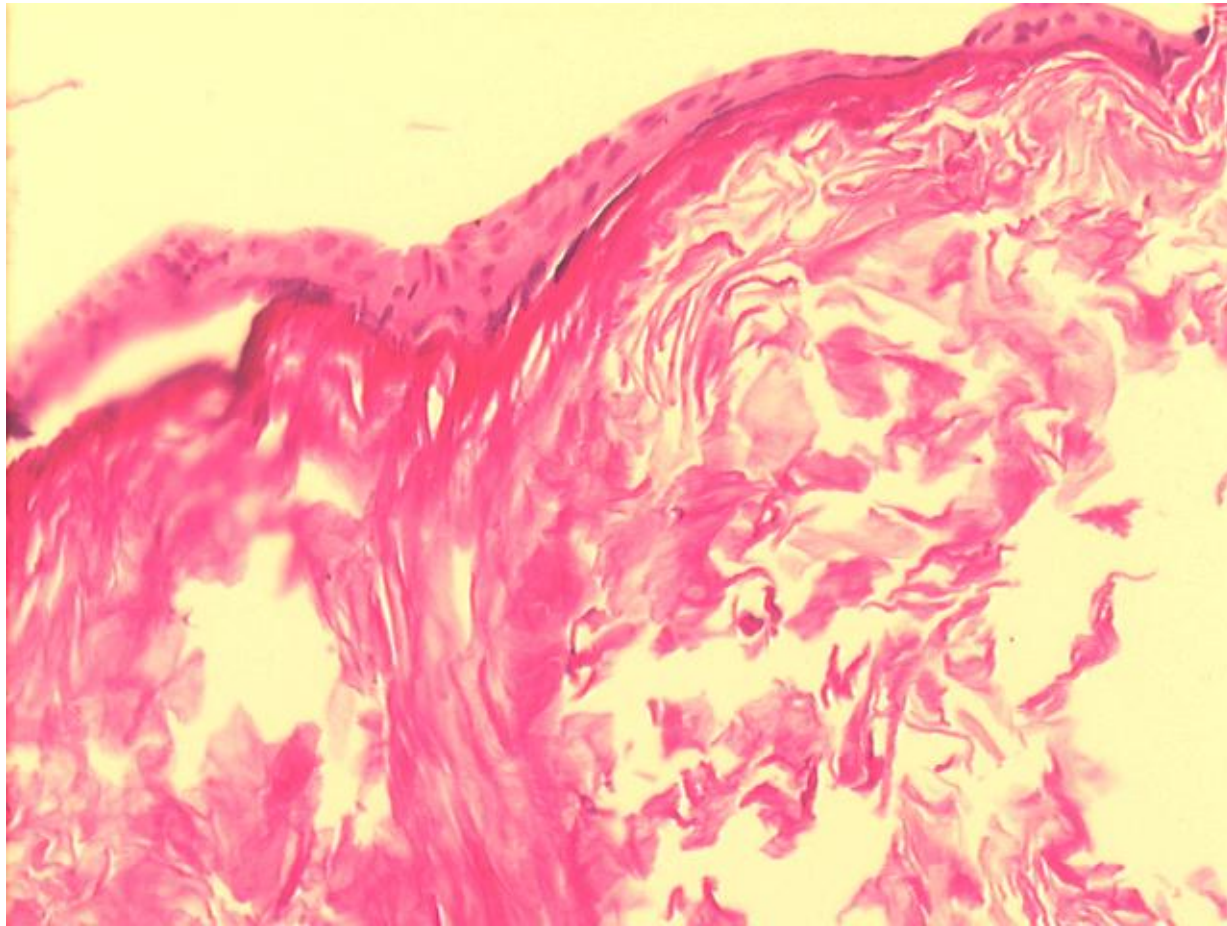
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
29	18	F	69	71	77	97	117	139	161	180	194	208	204	197	186	181	172	162	126	99	69	58

Aumento 200x



N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
31	53	F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

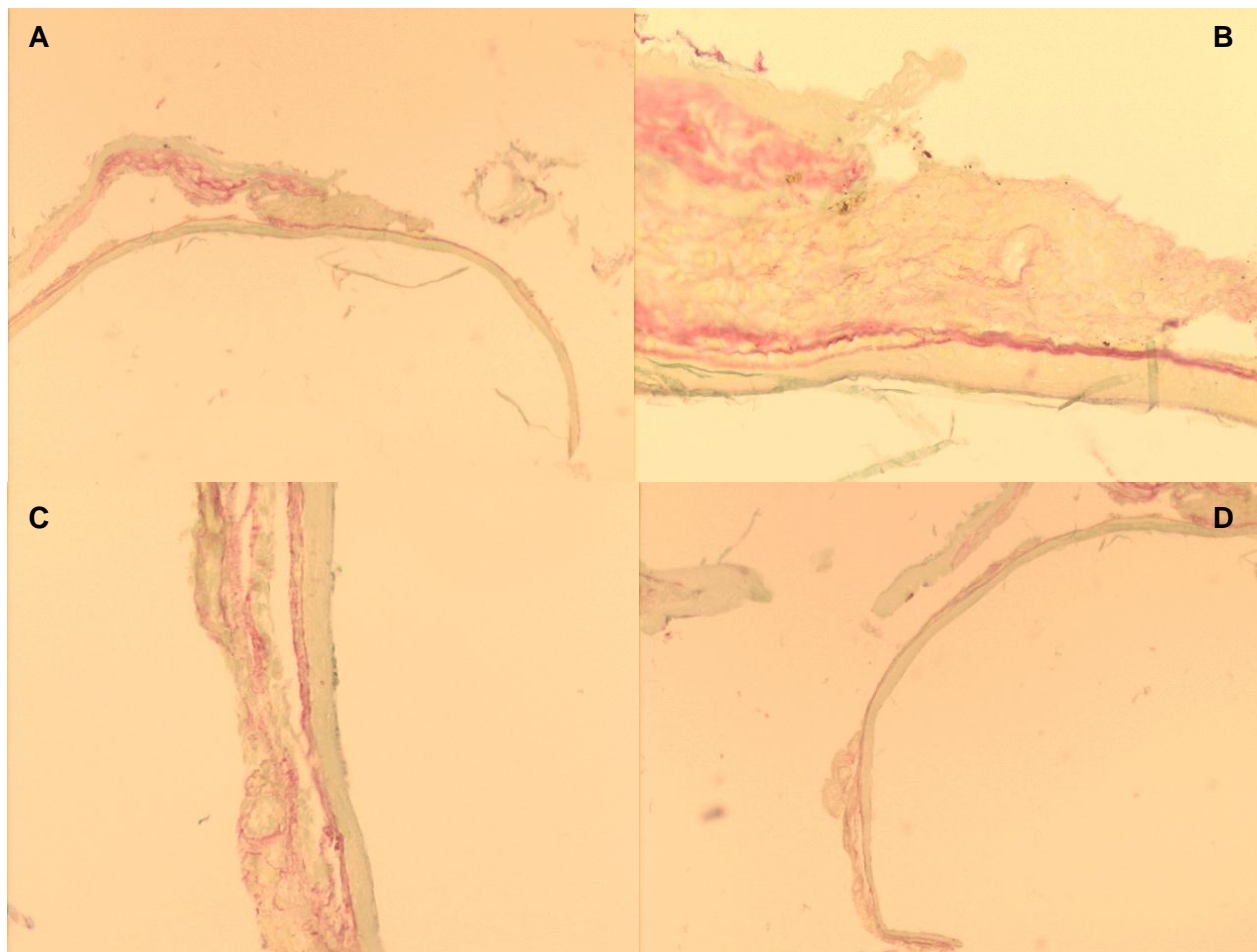
Aumento 200x





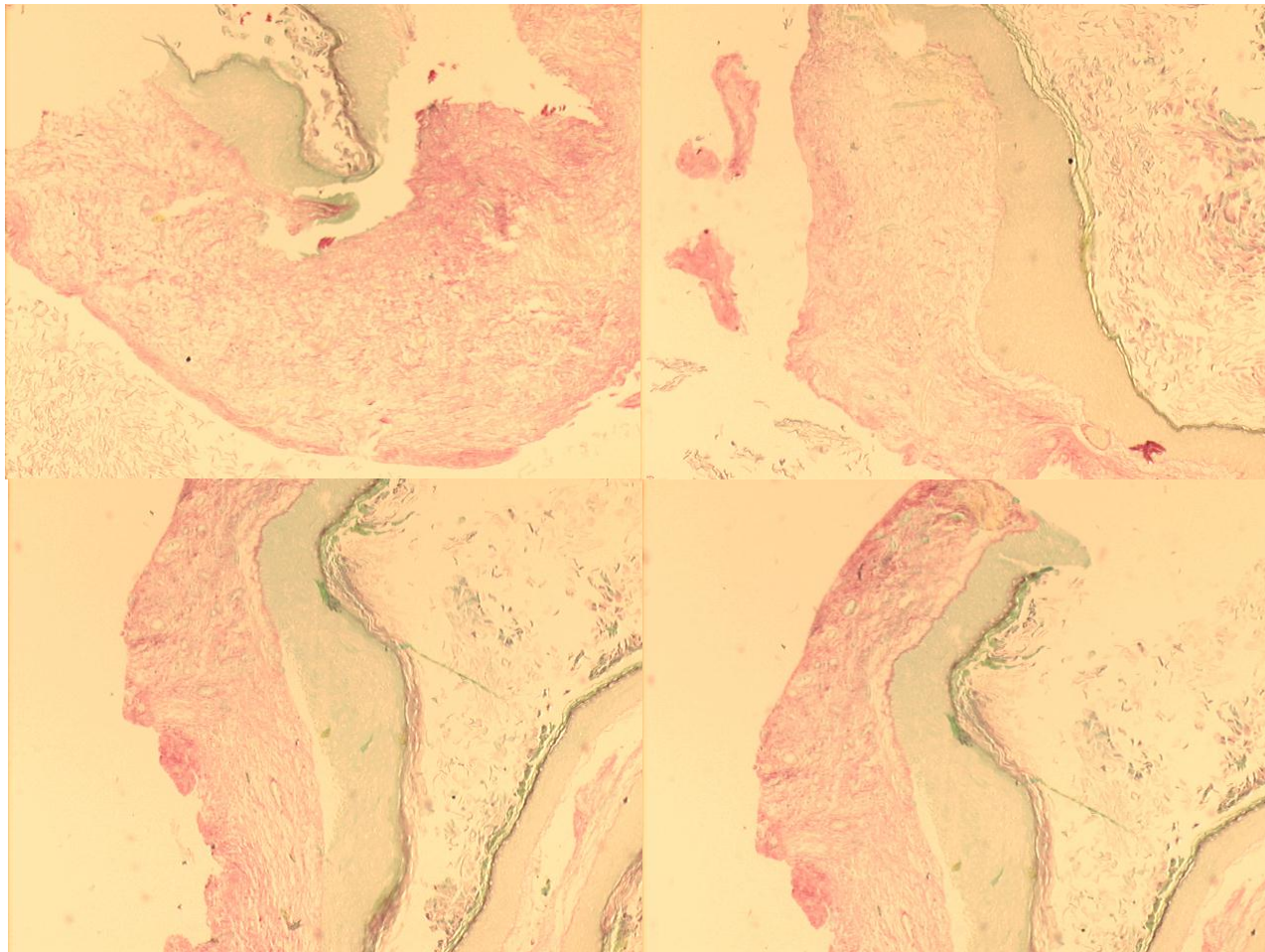
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
32	10	F	48	52	54	49	42	40	38	38	42	52	55	55	54	55	49	42	40	38	38	42

Aumento: A e D - 40x; B e C - 200x



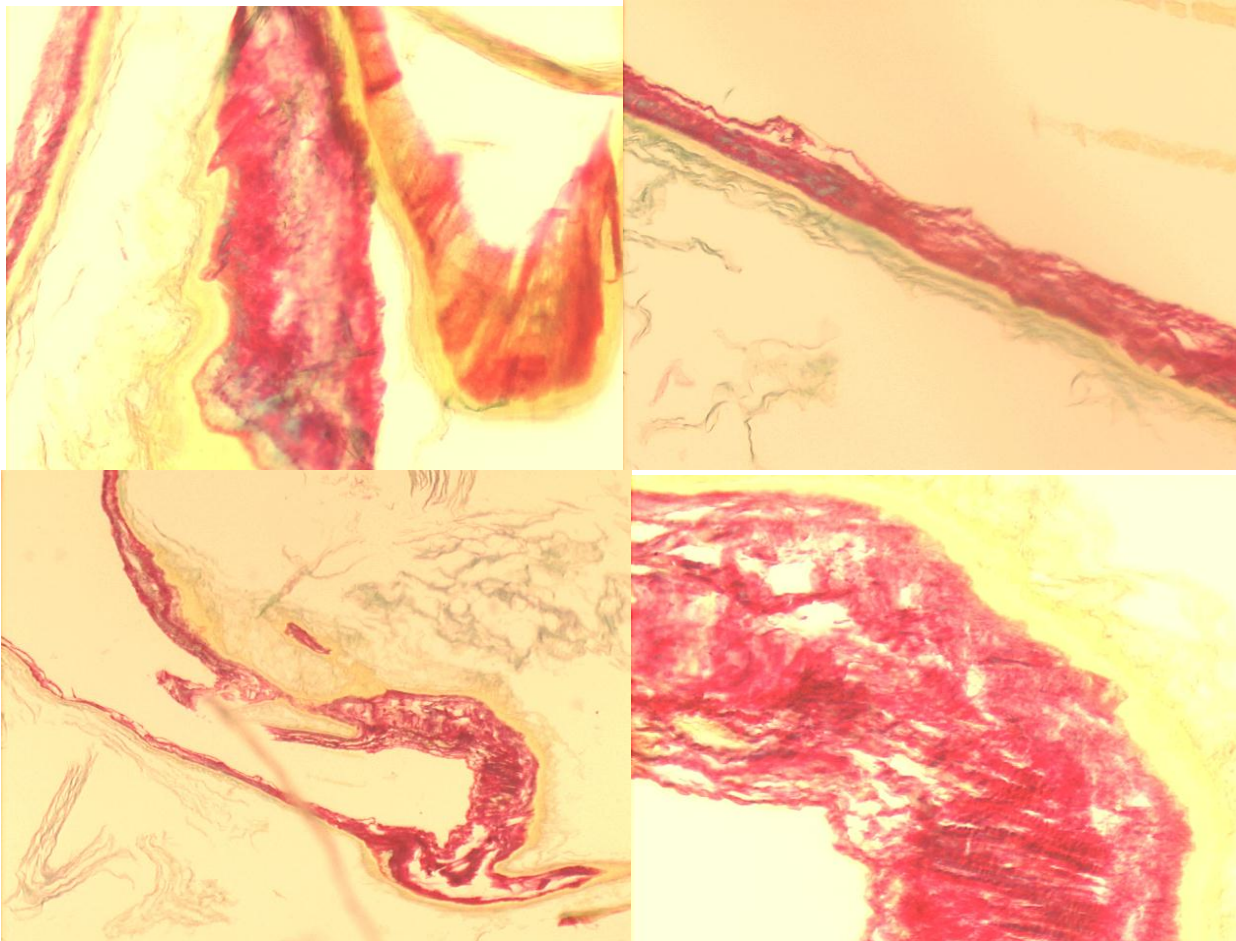
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
33	23	F	196	256	243	241	236	220	239	232	187	164	240	245	248	260	239	243	235	224	208	179

Aumento 40x



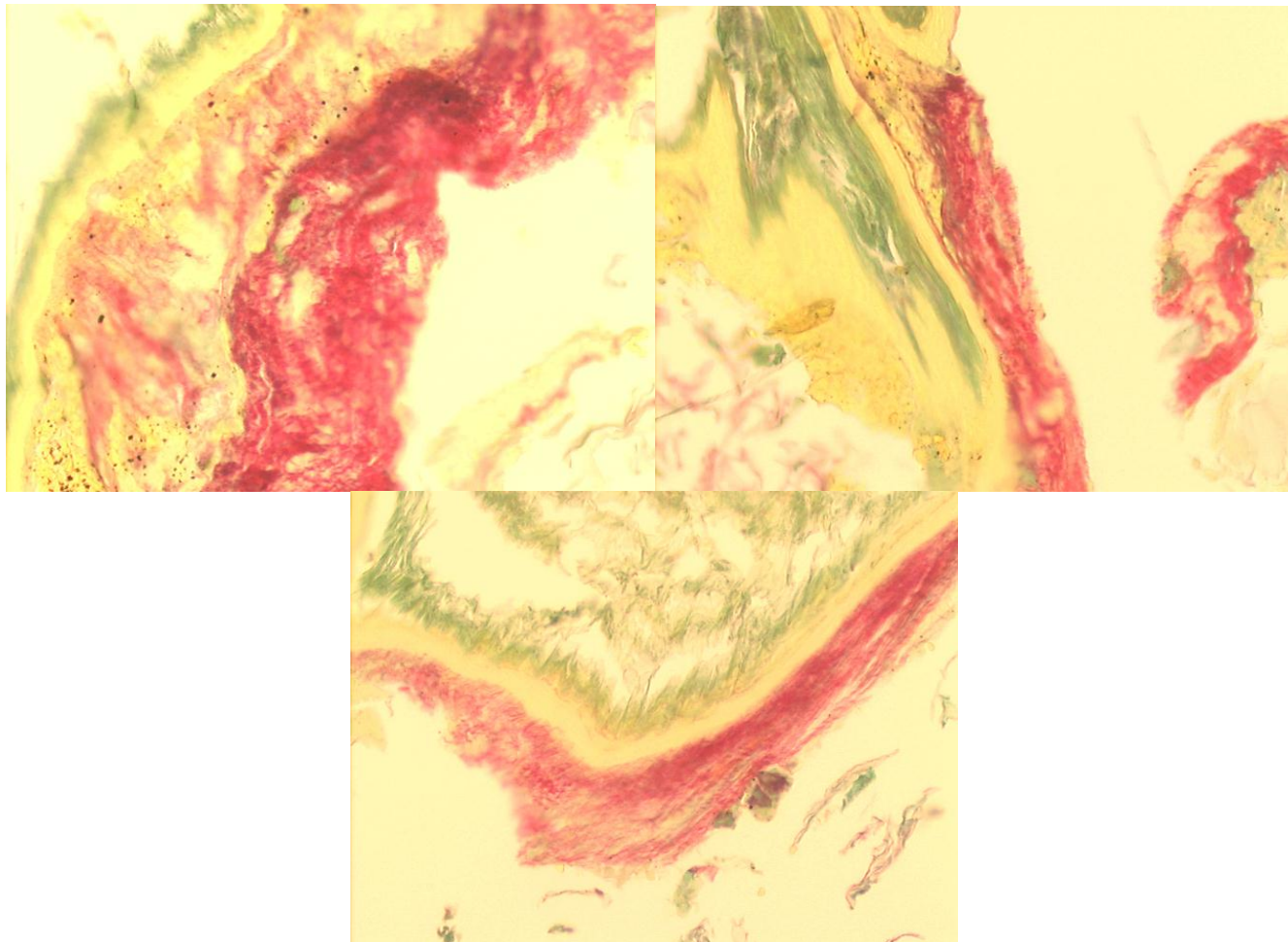
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
36	37	M	37	36	27	25	32	24	28	21	28	29	29	30	20	17	18	18	20	28	24	29

Aumento 200x



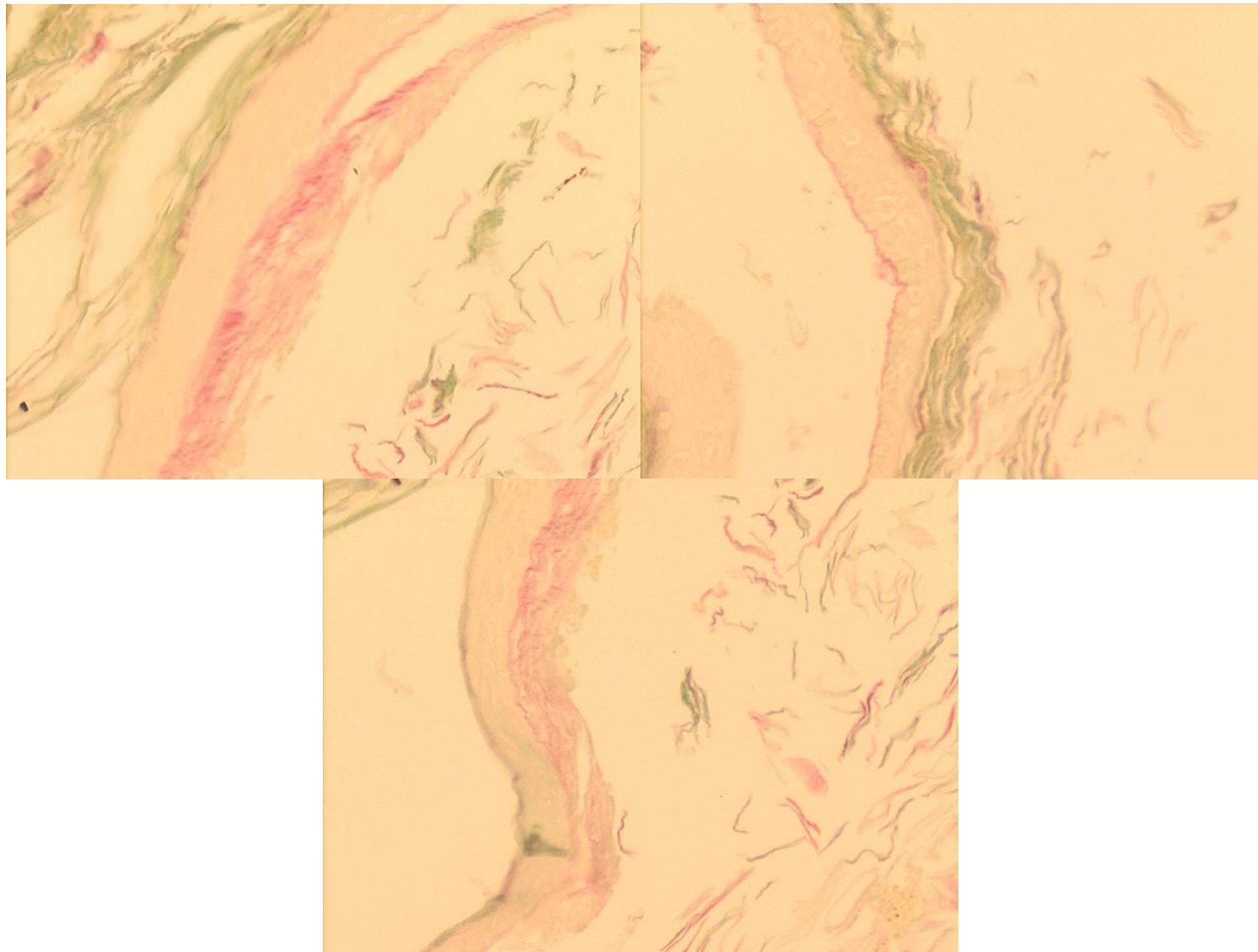
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
37	10	F	16	19	21	37	38	42	61	53	58	54	16	21	37	38	35	62	54	59	47	34

Aumento 200x



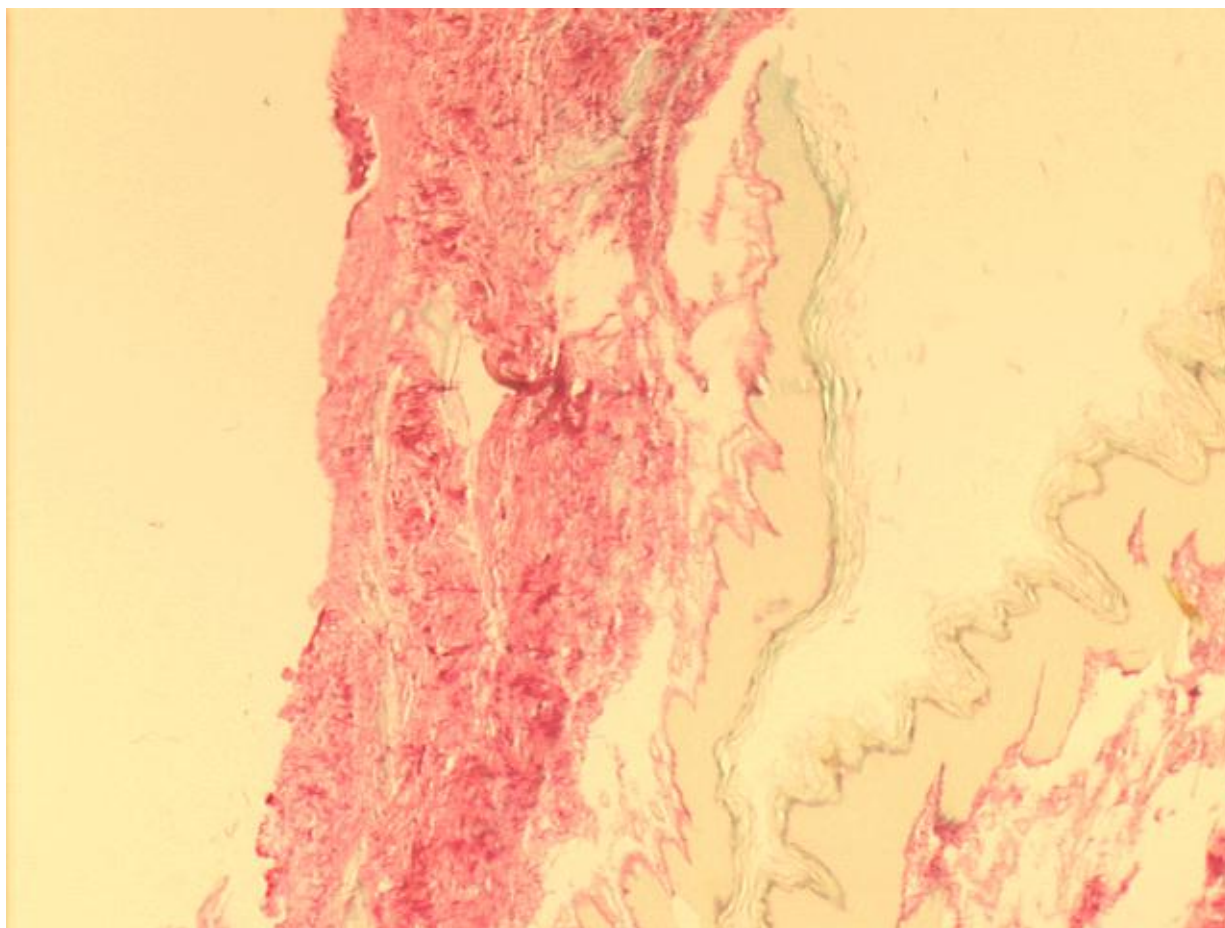
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
38	9	M	37	38	37	39	37	33	29	23	24	21	35	35	36	44	44	46	41	40	37	35

Aumento 200x



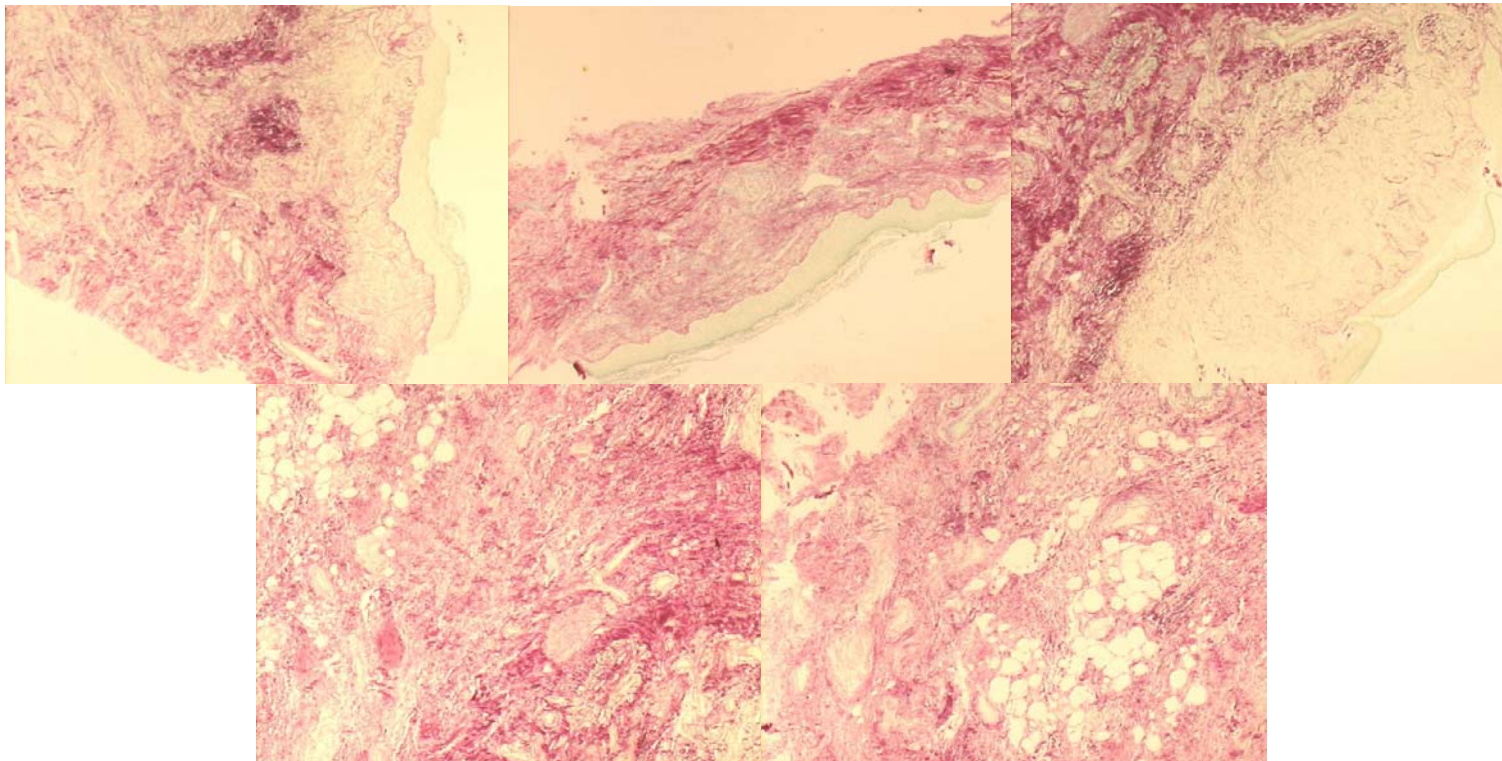
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
39	13	M	257	233	213	213	224	240	223	243	231	235	219	216	208	193	215	181	175	252	222	243

Aumento 40x



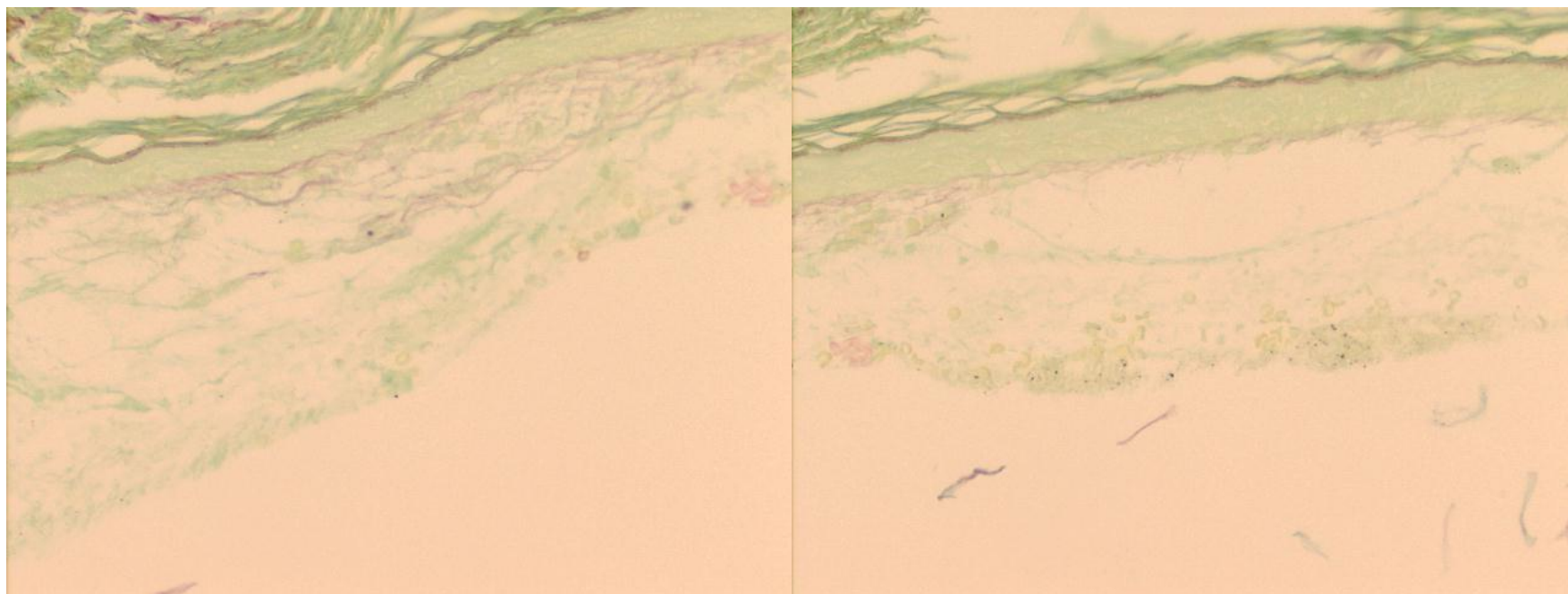
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
42	22	M	331	337	321	311	247	224	333	384	473	525	607	666	722	338	1926	1895	1913	1716	1731	350

Aumento 40x



N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
43	22	F	67	73	83	95	90	91	96	94	87	88	68	66	75	79	95	105	107	118	126	138

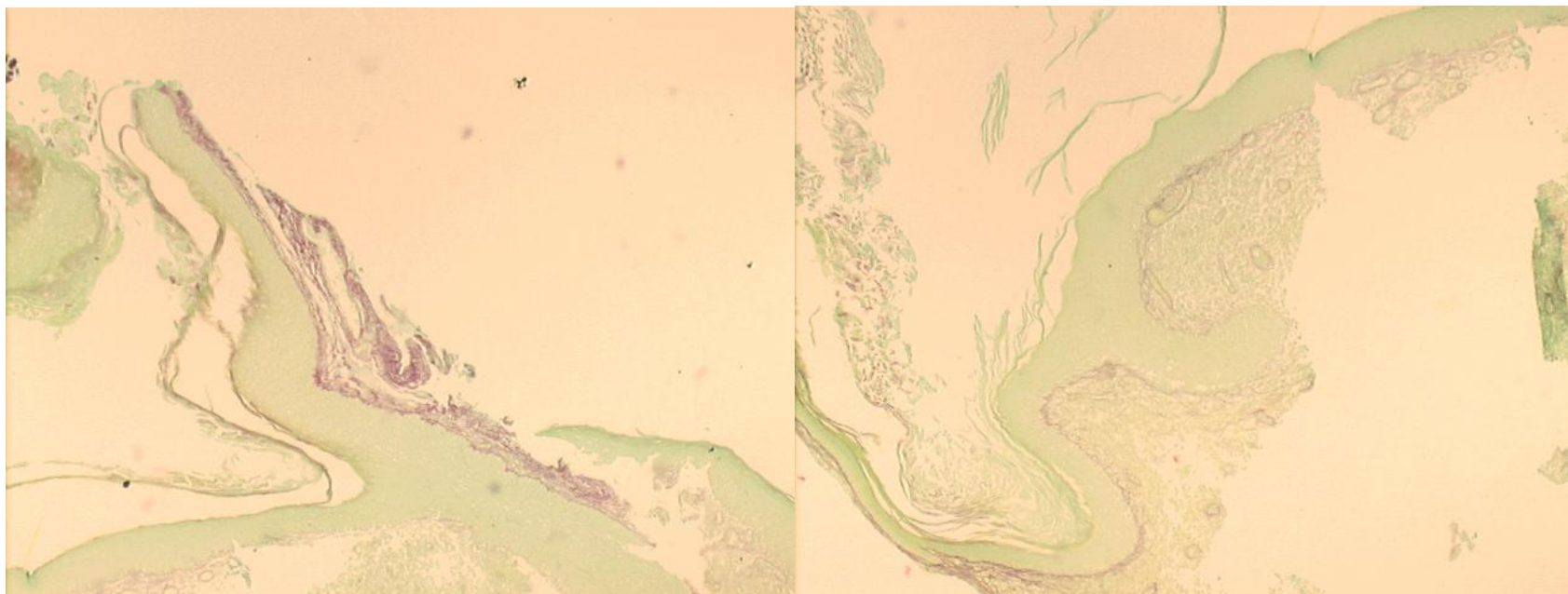
Aumento 200x





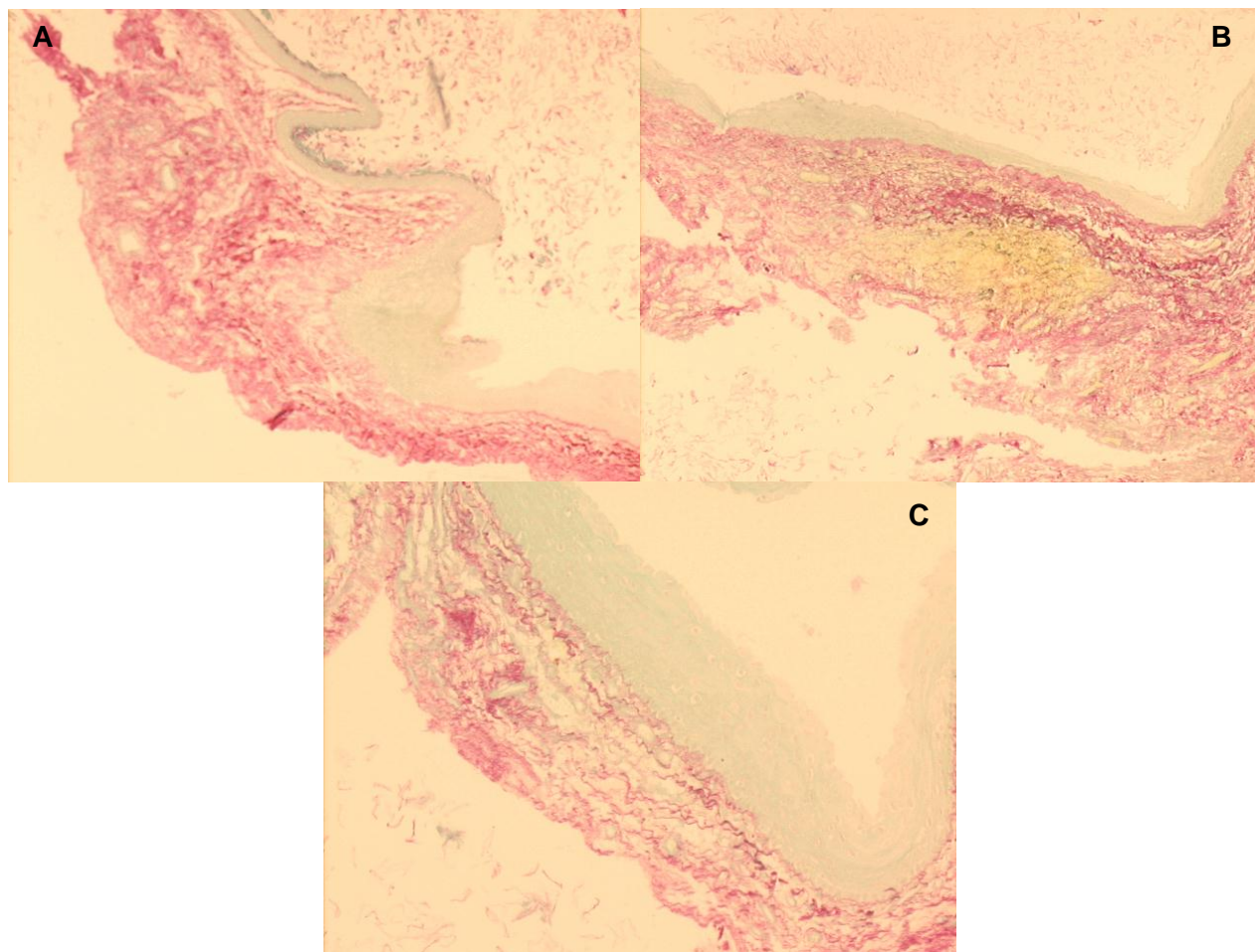
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
44	19	M	52	85	213	189	177	59	137	167	156	109	76	60	43	44	34	31	26	33	24	86

Aumento 40x



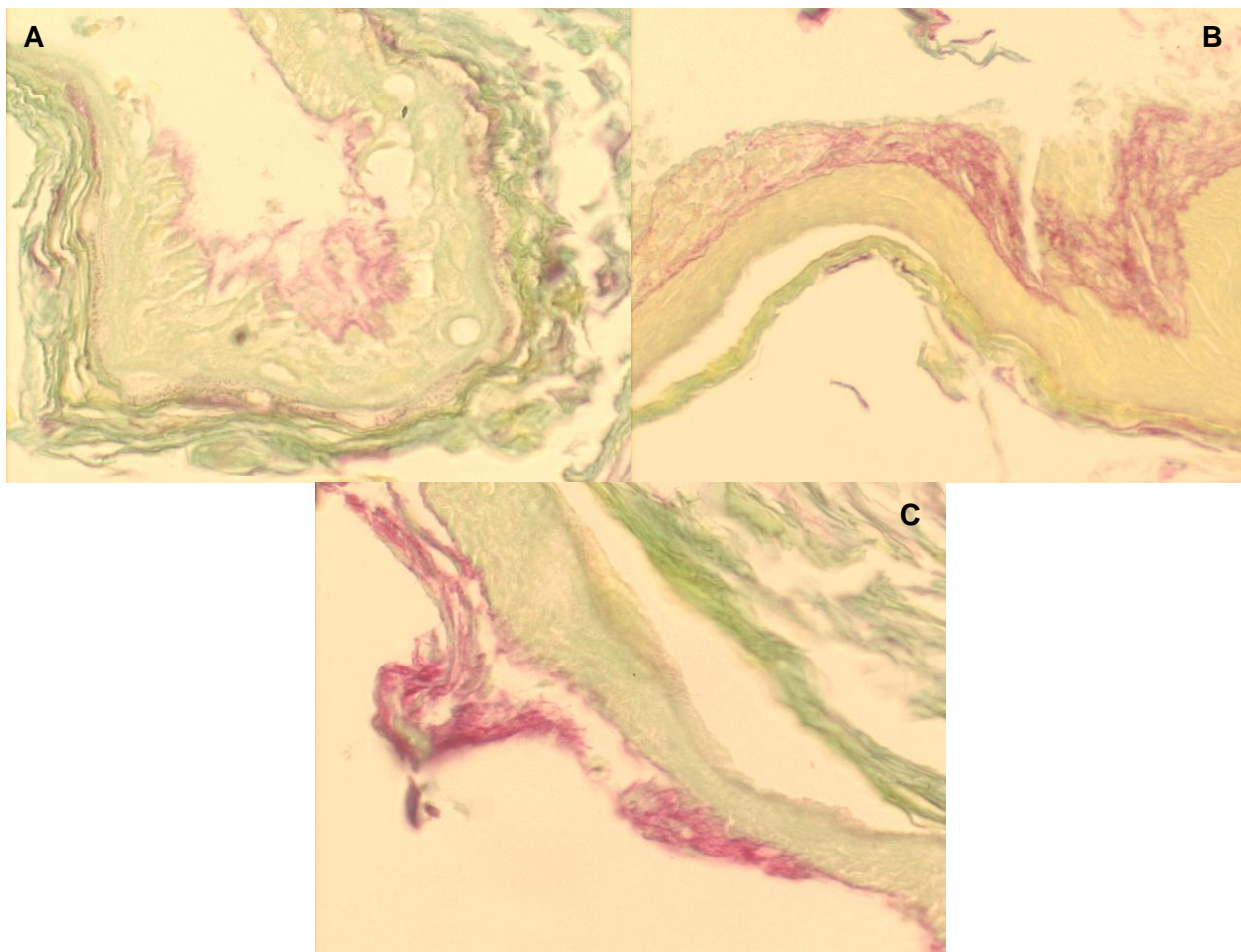
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
45	39	M	179	177	170	145	131	123	123	100	139	167	204	210	301	313	292	295	353	305	304	150

Aumento: A e C: 50x; B - 100x



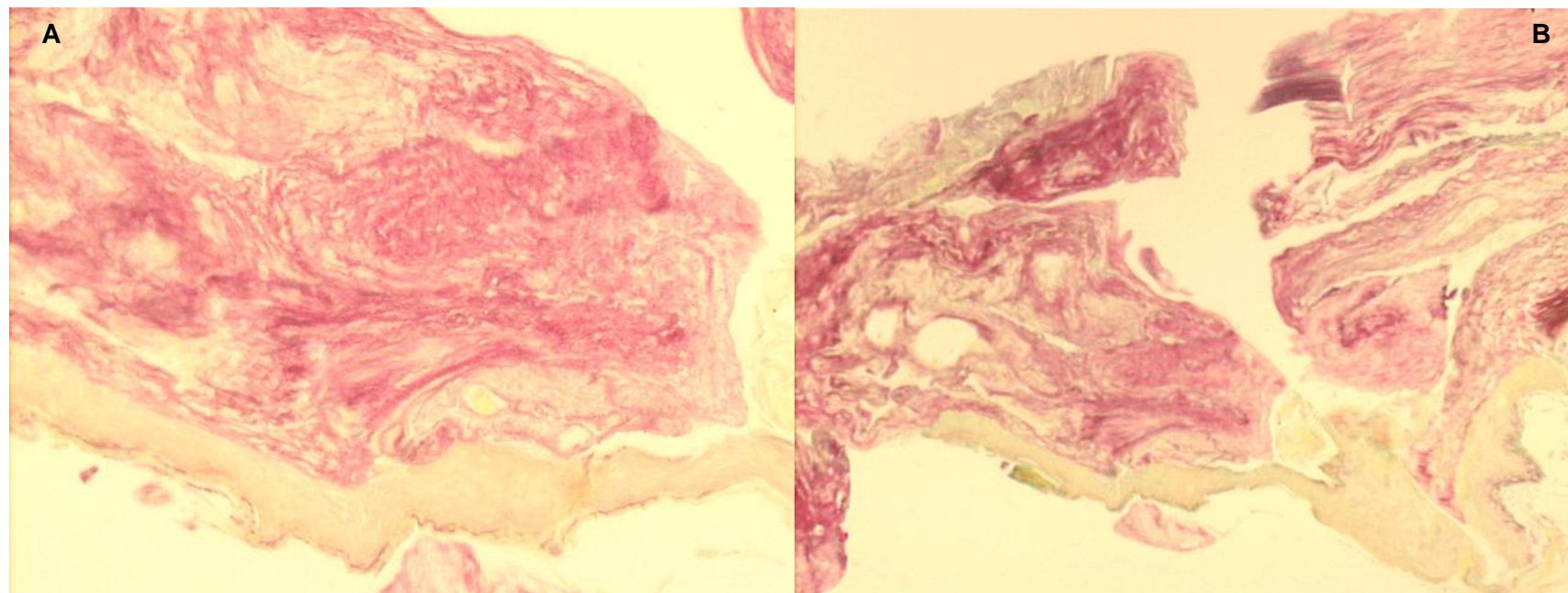
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
47	20	F	37	42	34	31	21	21	32	78	48	15	14	44	44	17	12	31	24	10	4	16

Aumento: A e B: 400x; C - 200x



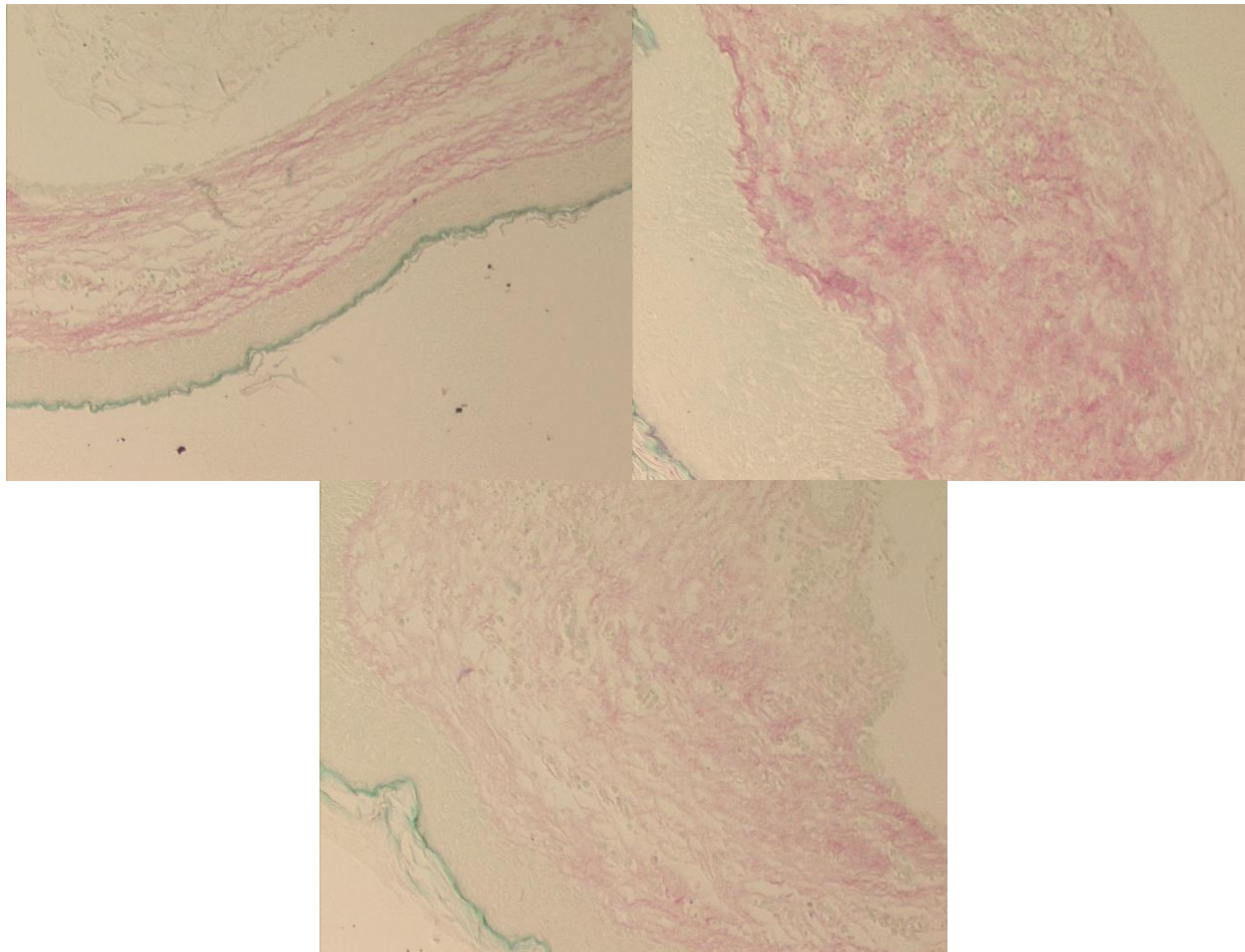
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
48	12	M	226	279	319	390	375	377	194	434	424	291	303	299	310	353	376	477	425	387	371	355

Aumento: A: 100x; B - 50x



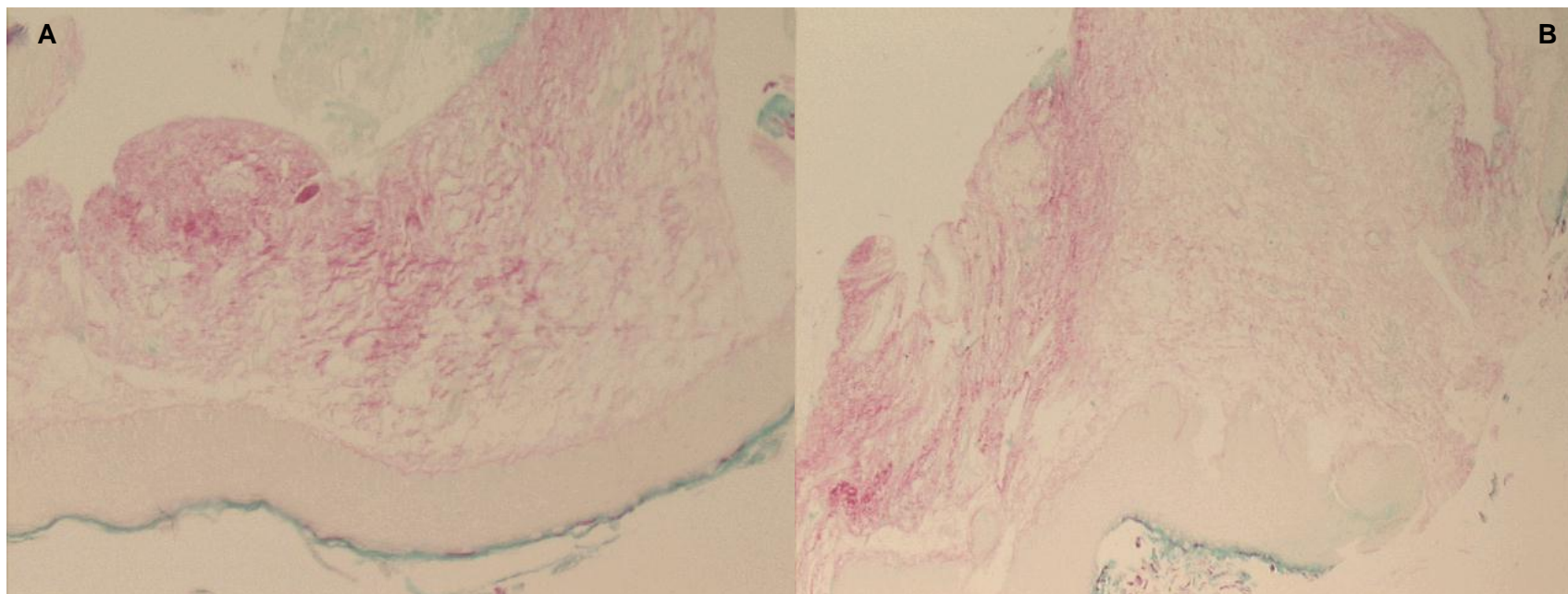
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
50	21	F	427	437	443	424	406	395	401	404	430	415	166	159	155	150	144	136	134	154	165	168

Aumento 50x



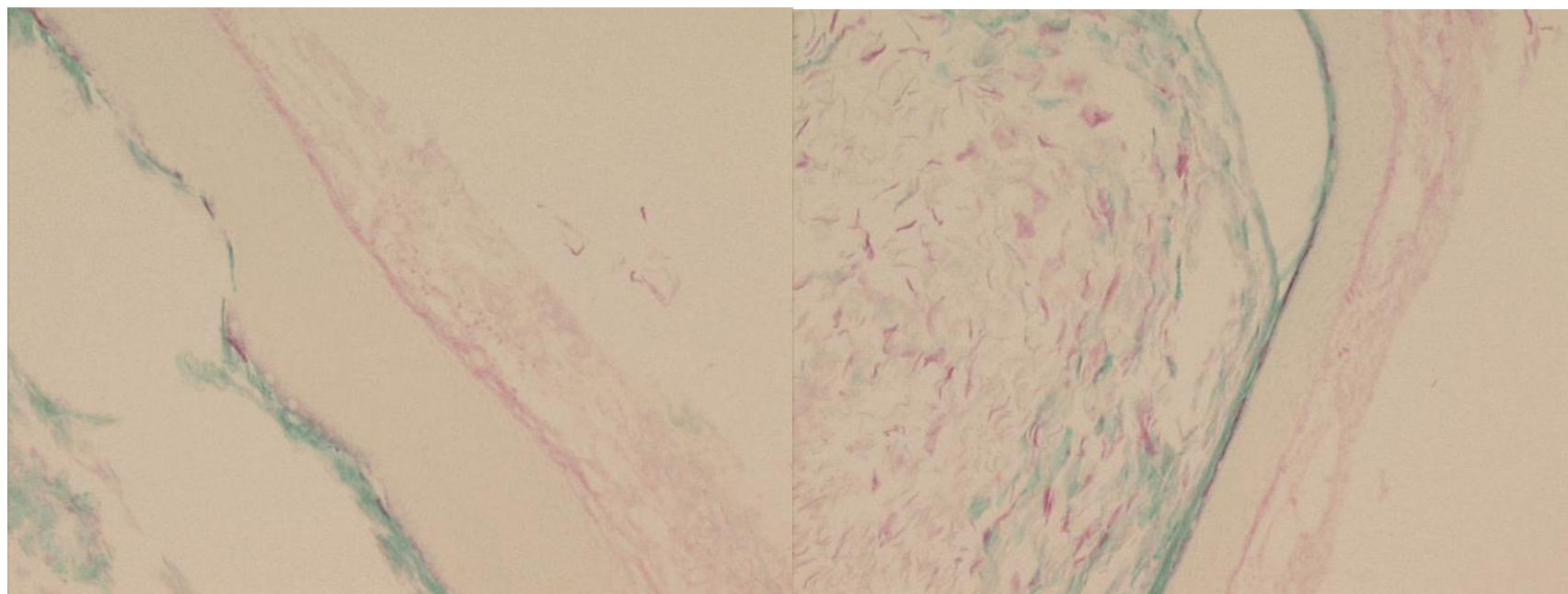
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
52	8	F	199	218	237	239	266	285	313	329	241	232	170	253	215	206	233	311	356	344	334	314

Aumento: A – 100x; B: 50x



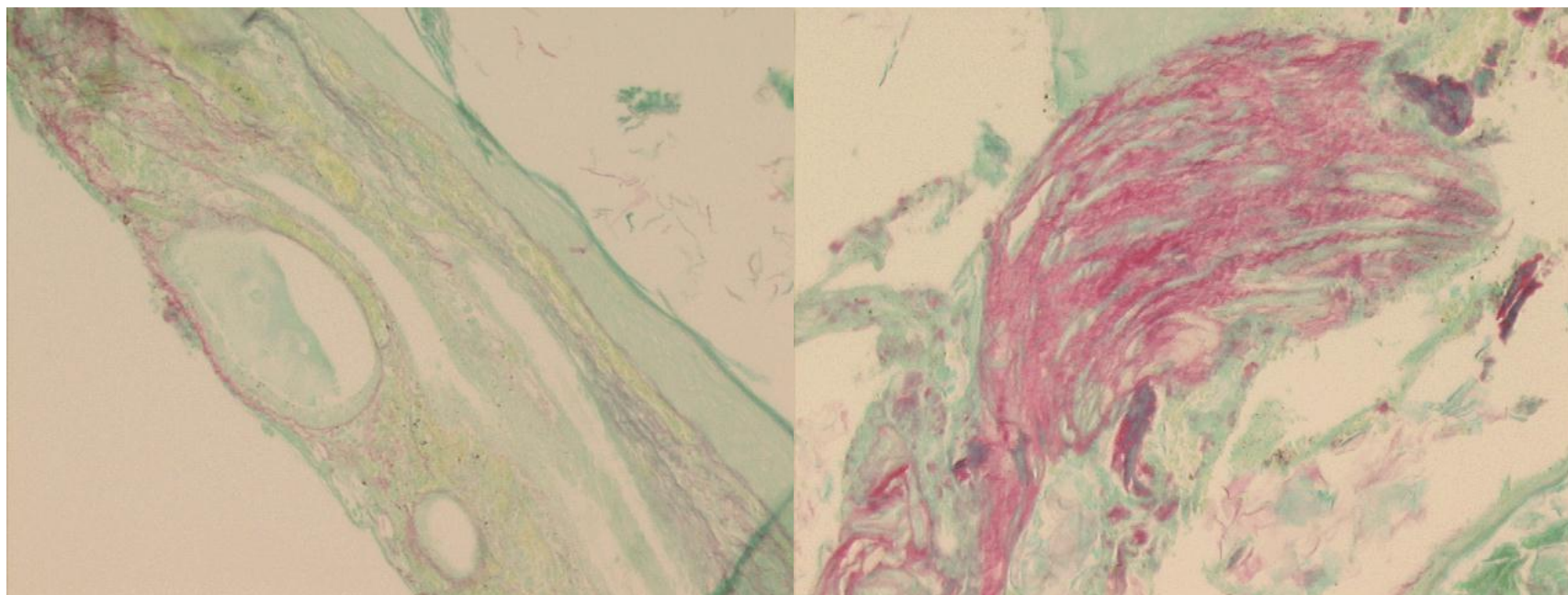
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
53	15	F	94	97	91	126	73	72	64	57	50	54	50	49	54	66	62	64	64	69	79	85

Aumento 100x



N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
54	7	M	212	242	259	260	262	225	244	241	205	200	233	229	230	246	264	262	270	253	261	259

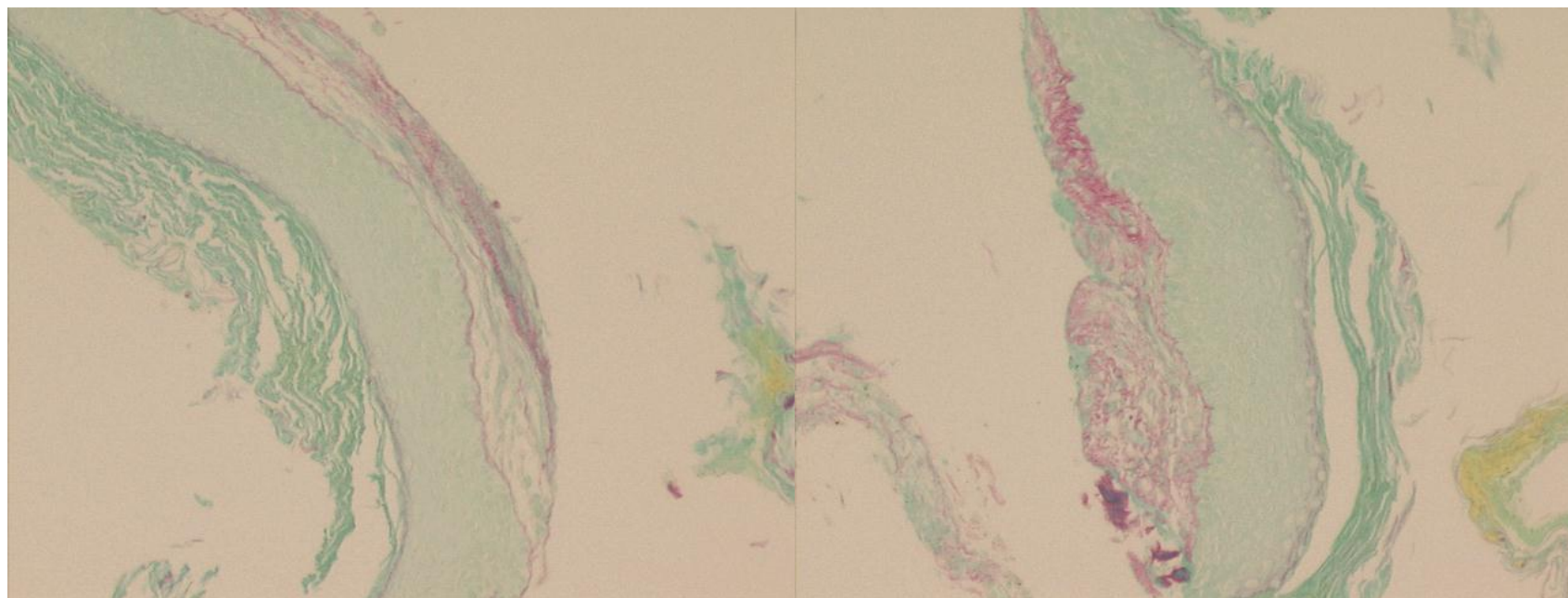
Aumento 100x





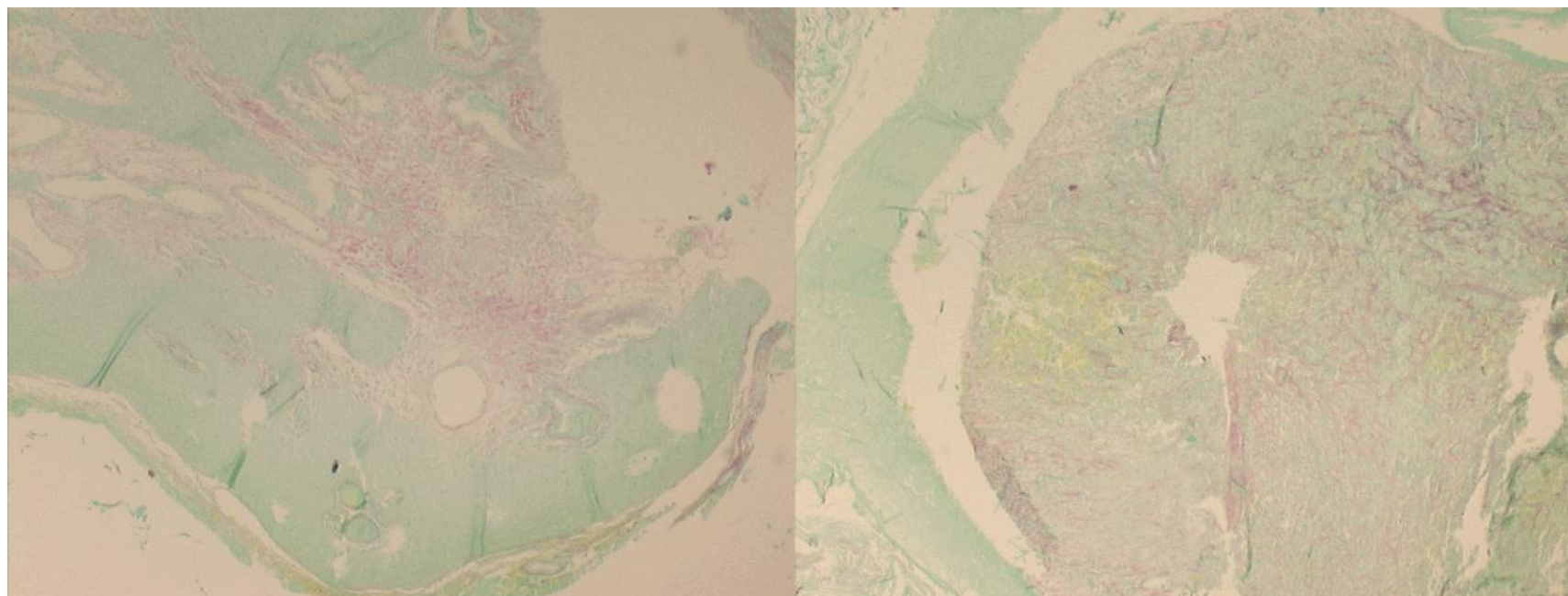
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
55	17	M	26	40	49	36	40	65	63	77	94	109	71	66	62	55	49	48	48	55	59	60

Aumento 100x



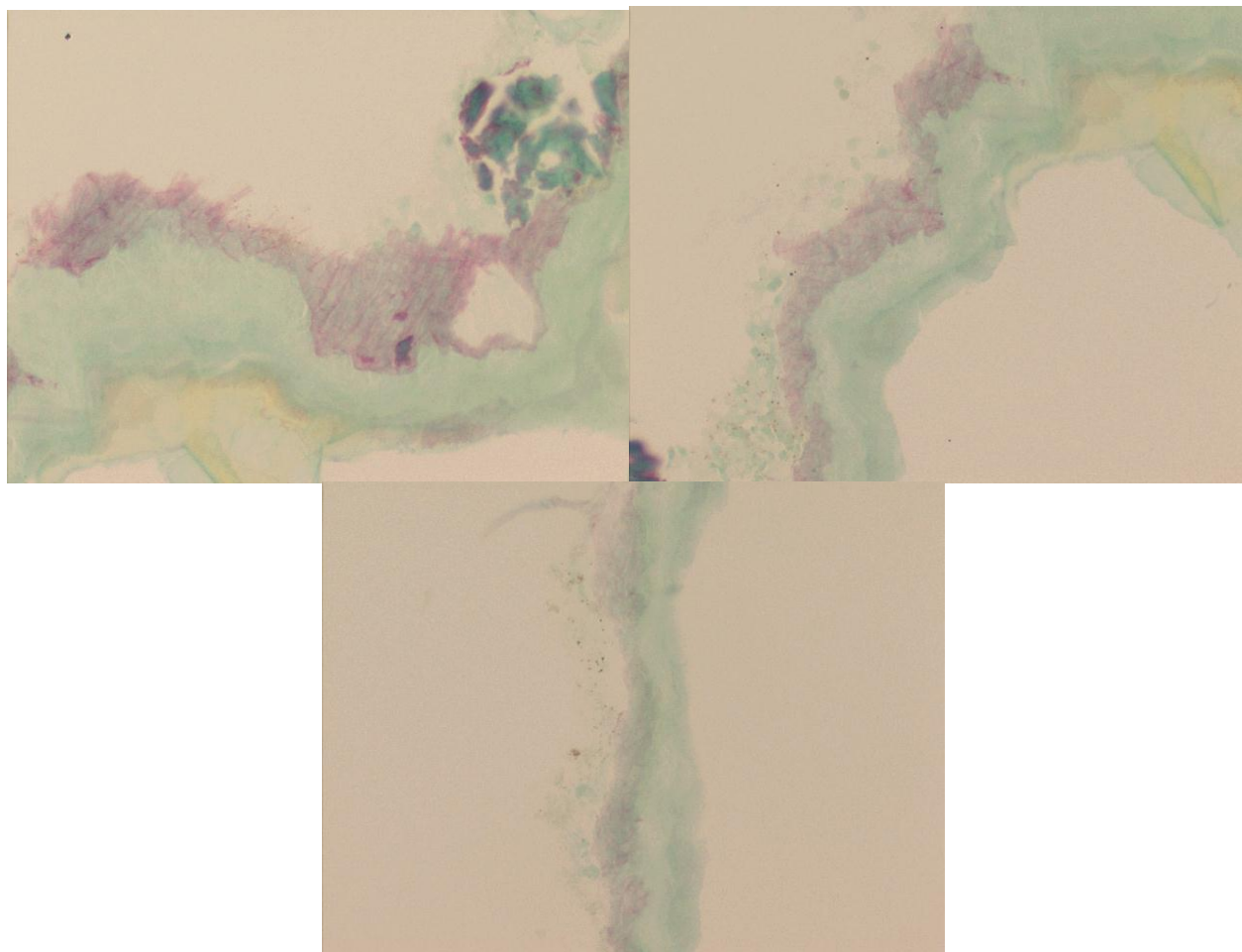
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
56	25	M	150	169	196	210	188	158	164	157	178	192	53	48	67	82	182	231	247	261	223	250

Aumento 50x



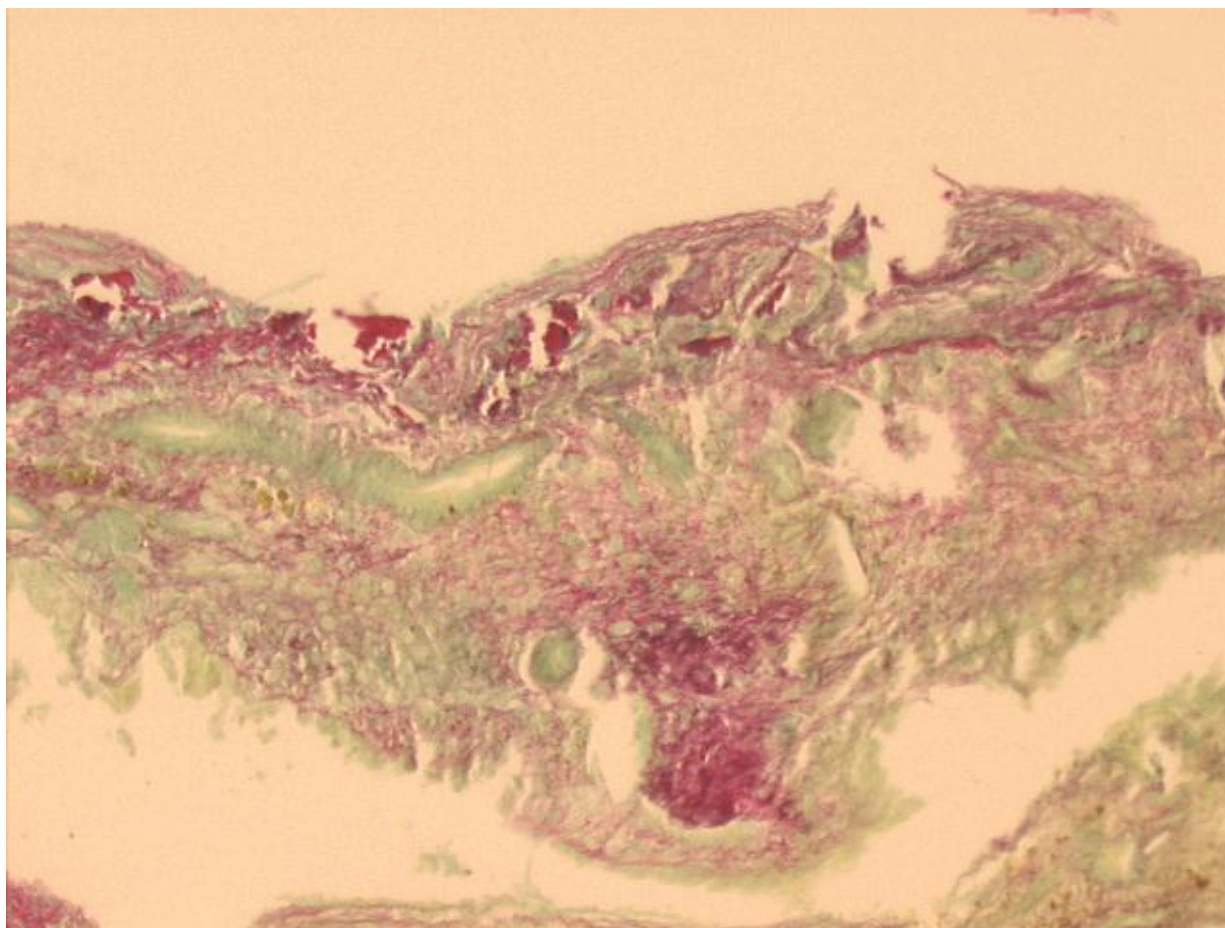
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
57	25	F	25	39	42	35	30	30	26	28	31	41	82	82	63	55	38	30	100	131	129	122

Aumento 200x



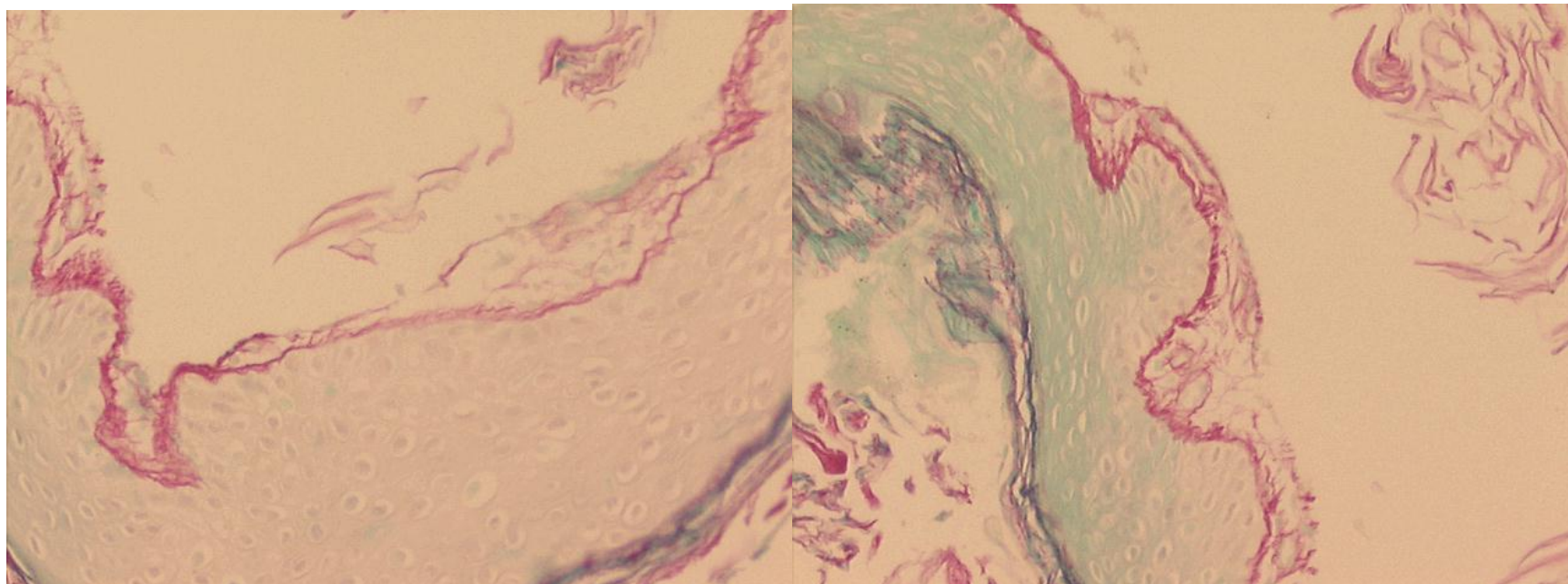
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
58	35	M	211	246	197	210	207	236	246	309	334	344	343	332	265	216	243	259	202	152	321	244

Aumento 100x



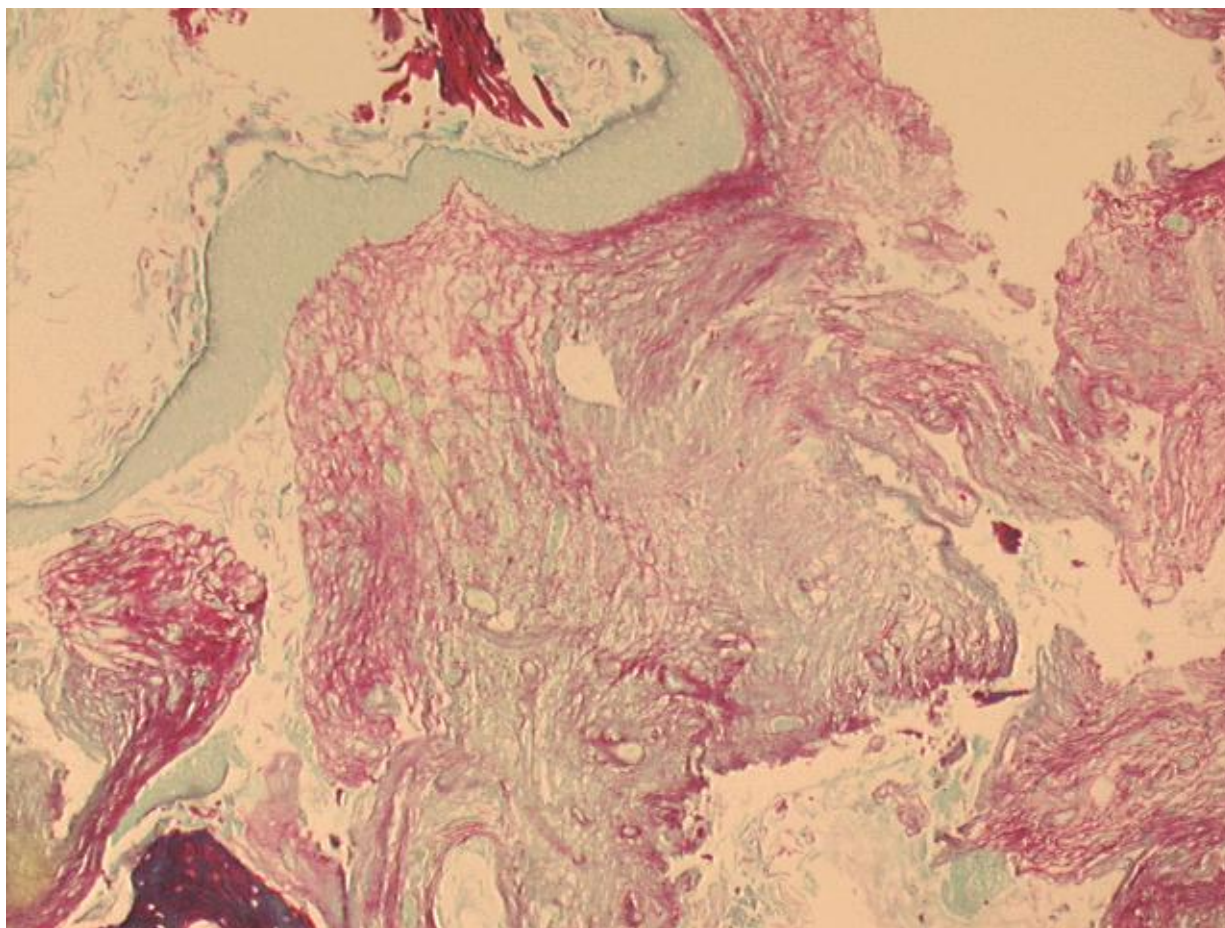
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
59	43	F	26	20	21	19	15	4	6	12	10	21	9	16	13	10	18	30	47	38	26	19

Aumento 200x



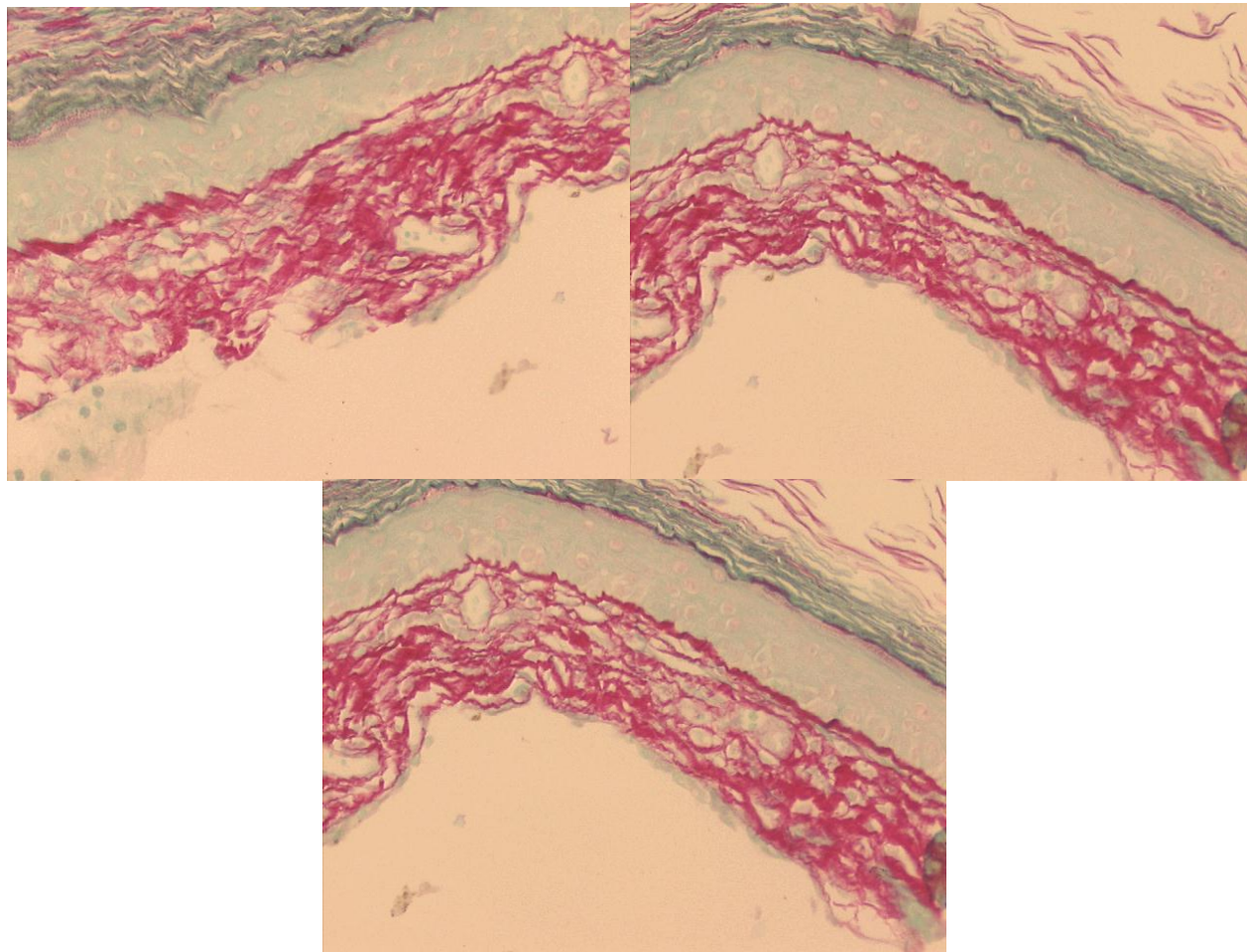
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
60	11	M	236	271	284	336	388	425	445	454	466	454	475	426	379	198	290	195	223	129	93	109

Aumento 50x



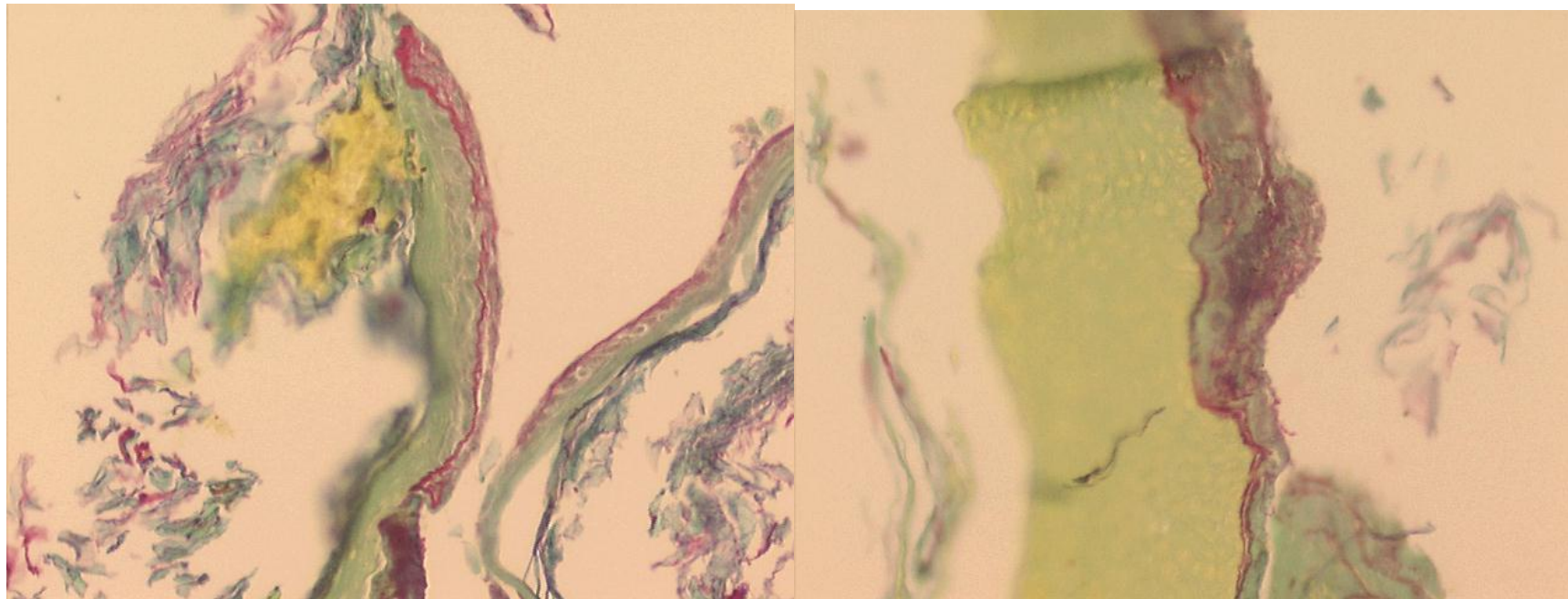
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
61	17	F	78	71	75	91	87	81	98	95	81	63	106	89	71	77	67	71	76	78	86	65

Aumento 200x



N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
62	51	F	39	38	37	36	34	50	52	43	34	32	32	16	15	15	11	12	11	12	12	10

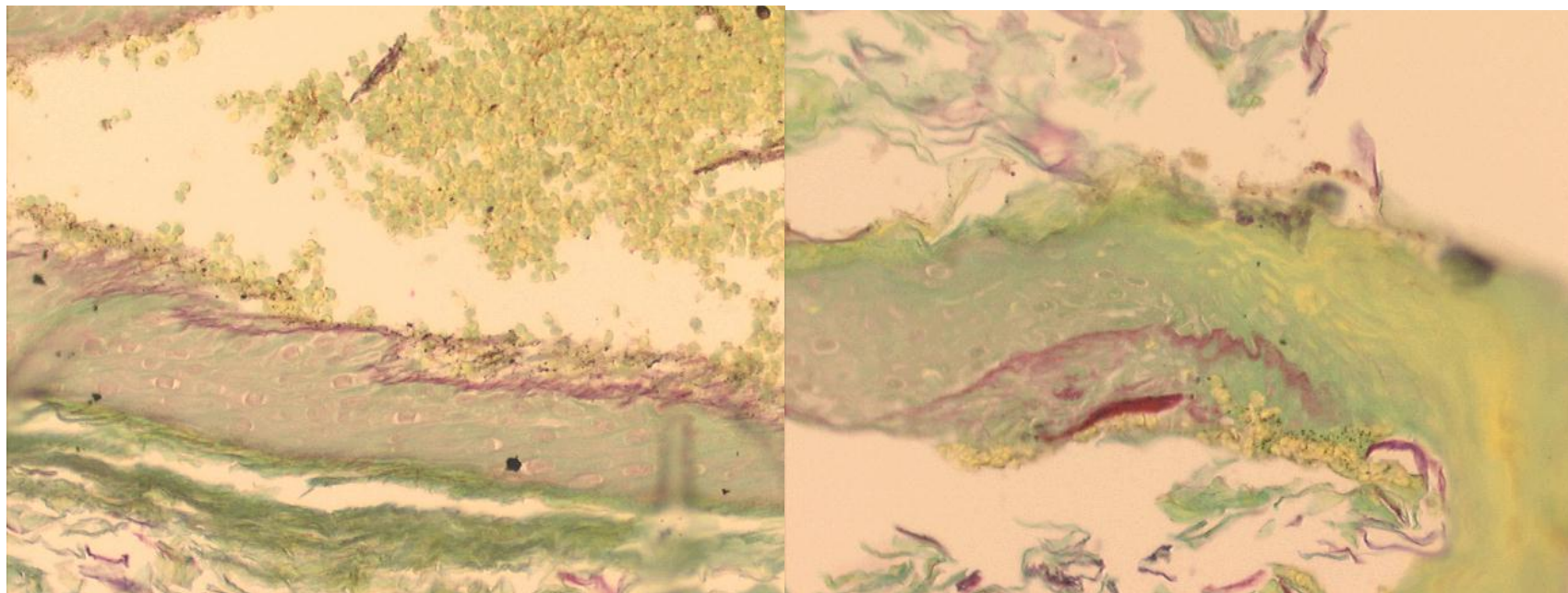
Aumento 200x





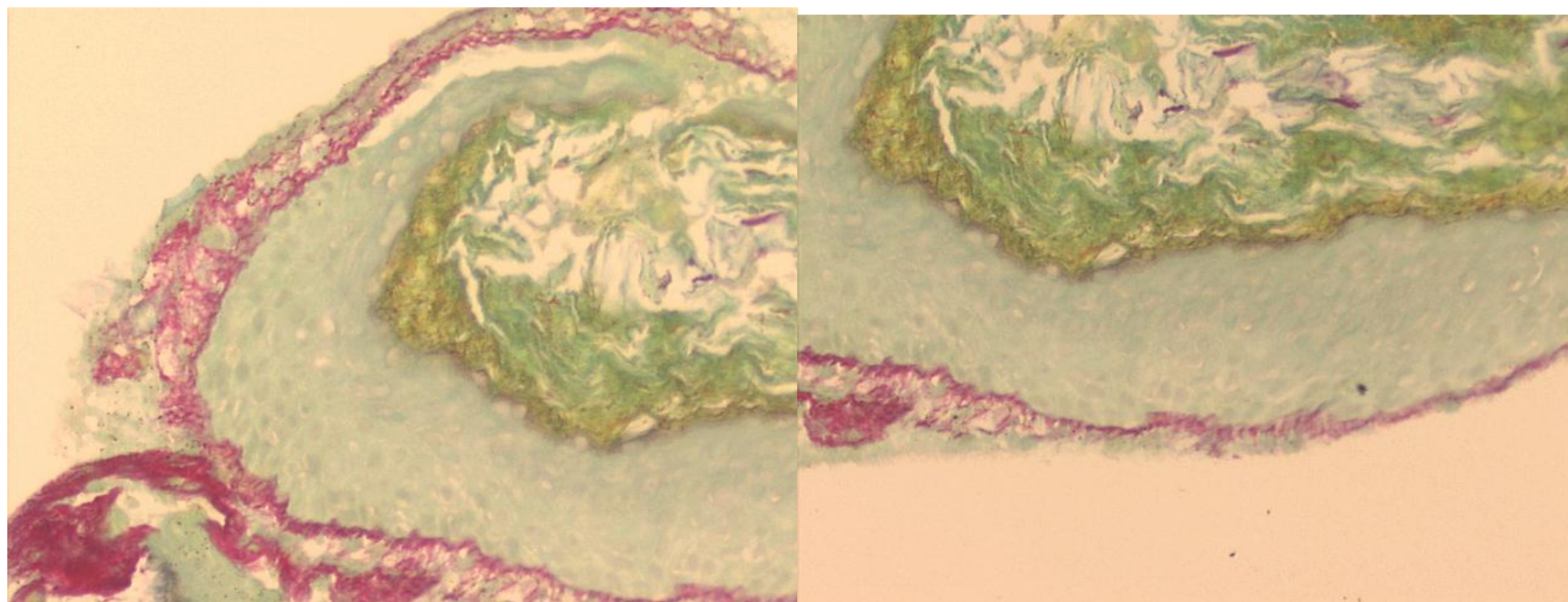
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
63	78	M	0	14	7	14	8	6	6	8	4	2	6	29	37	43	41	47	45	46	45	35

Aumento 200x



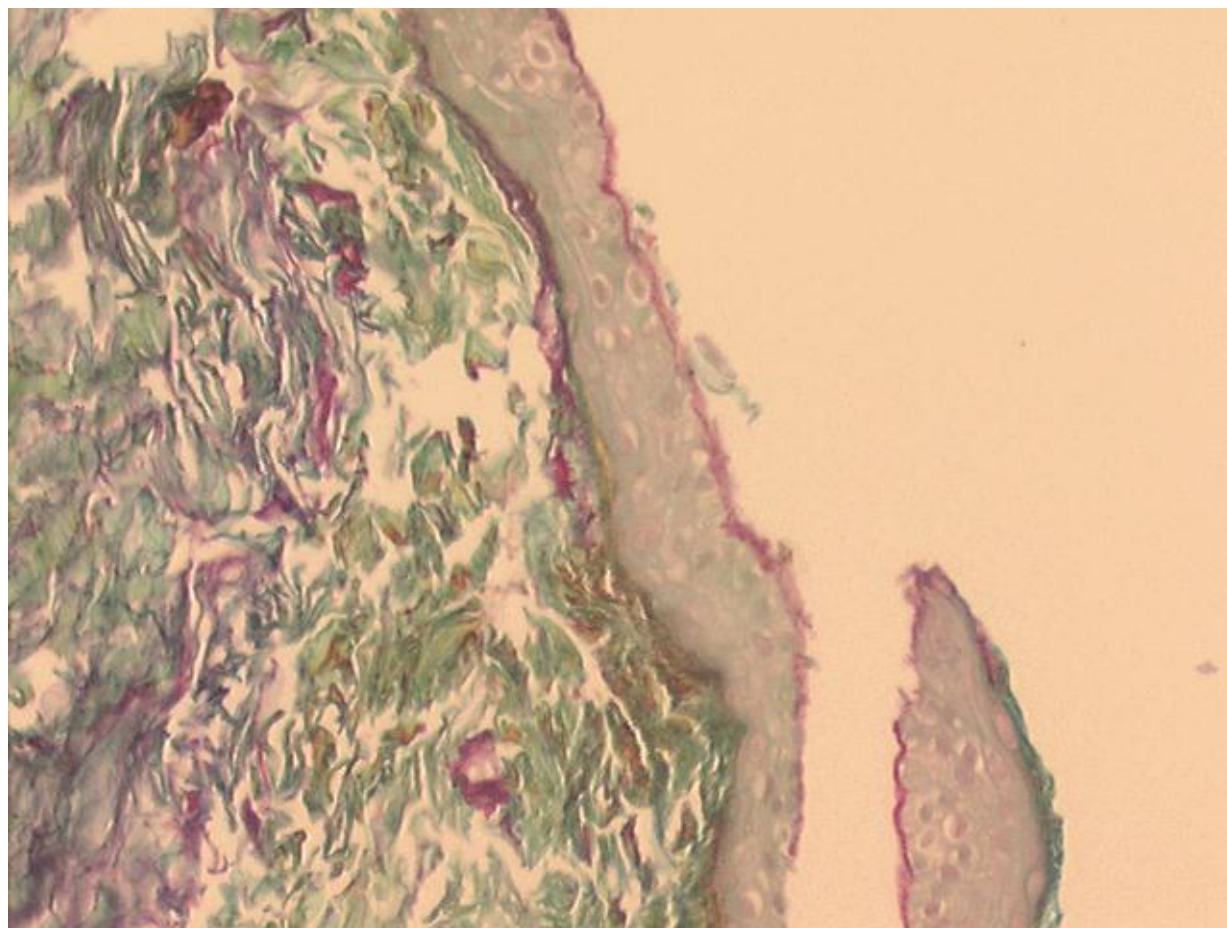
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
64	14	M	48	43	41	38	35	26	26	14	9	5	7	4	12	4	4	12	13	8	5	5

Aumento 200x



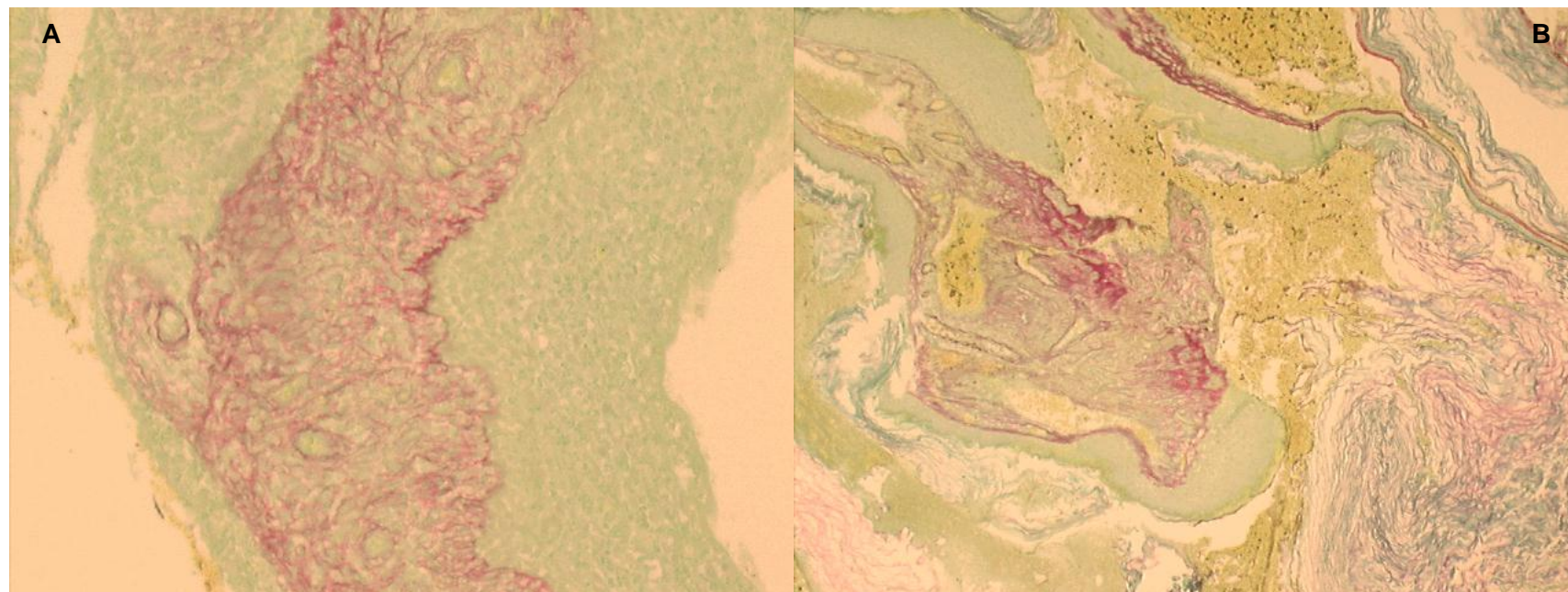
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
66	13	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Aumento 200x



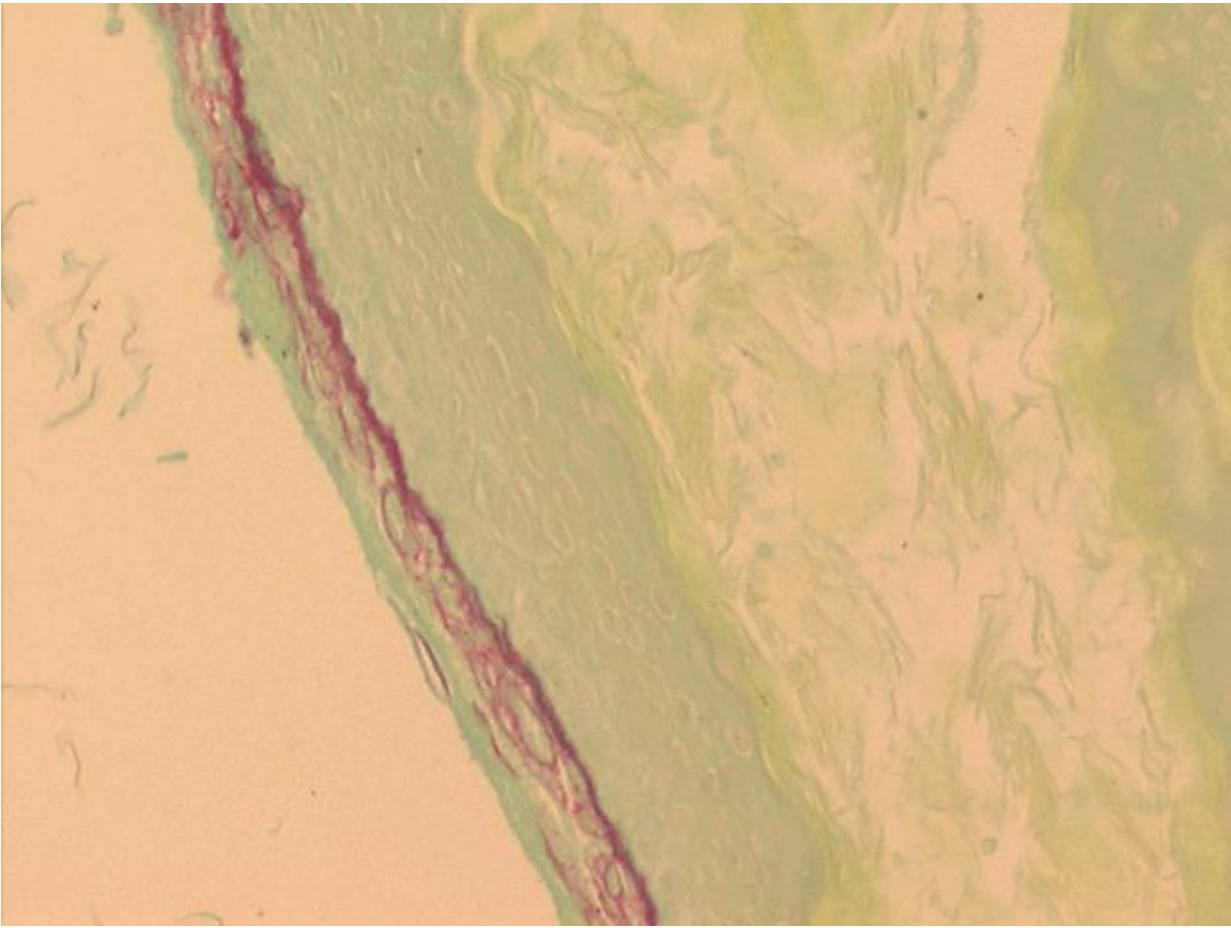
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
68	20	M	298	274	265	253	231	218	225	248	299	227	181	209	244	229	198	184	202	197	211	218

Aumento: A - 100x; B - 50x



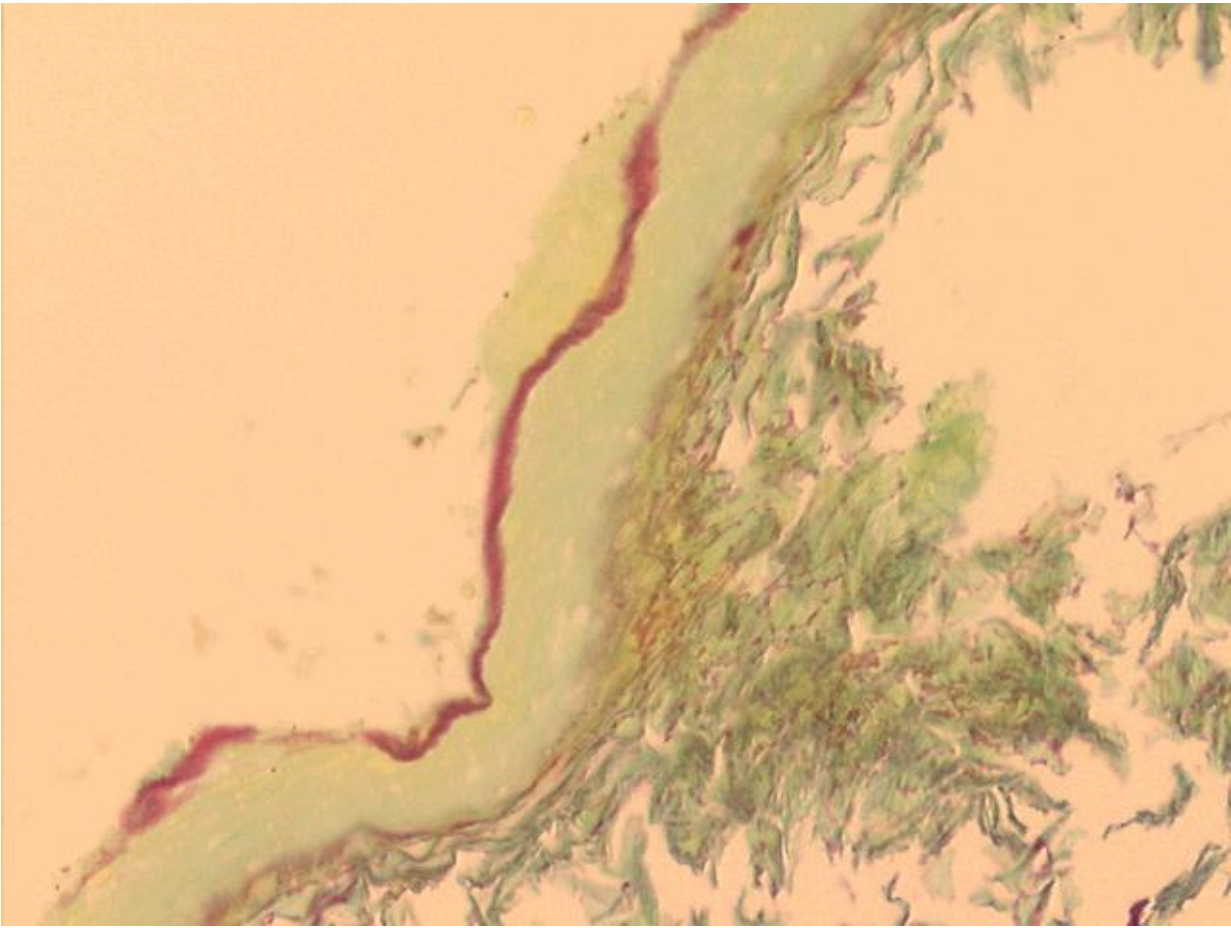
N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
70	16	M	16	17	17	19	23	24	12	15	17	12	14	15	13	12	16	18	17	17	19	16

Aumento 200x



N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
71	35	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Aumento 200x



N	I	G	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
72	18	F	45	44	76	80	77	57	73	57	38	79	51	38	20	25	49	43	18	28	23	25

Aumento 400x

