

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ROGÉRIO HAMERSCHMIDT

**UTILIZAÇÃO DE HIDROXIAPATITA DE CÁLCIO NO PREENCHIMENTO DE
DEFEITOS ÓSSEOS CRIADOS EM MASTÓIDES DE RATOS.**

CURITIBA

2010

ROGÉRIO HAMERSCHMIDT

UTILIZAÇÃO DE HIDROXIAPATITA DE CÁLCIO NO PREENCHIMENTO DE DEFEITOS ÓSSEOS CRIADOS EM MASTÓIDES DE RATOS.

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Clínica Cirúrgica, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Clínica Cirúrgica

Orientadora: Prof. Dra. Ana Tereza Ramos Moreira

CURITIBA

2010

Hamerschmidt, Rogério

Utilização de hidroxiapatita de cálcio no preenchimento de defeitos ósseos criados em mastóides de ratos / Rogério Hamerschmidt- Curitiba-2010

Orientadora: Prof. Ana Tereza Ramos Moreira

Tese (mestrado) – Setor de Ciências da Saúde – Clínica Cirúrgica,
Universidade Federal do Paraná

Descritores: regeneração óssea, hidroxiapatita de cálcio sintética.

À Paula, minha esposa, e às minhas crianças,
Rogério, Rafael e Ricardo,
alegrias da minha vida.
Aos meus pais e avós,
Por todo o amor dedicado em tantos anos,
por quem sou e
por tudo o que alcancei

AGRADECIMENTOS

Esta tese é um grande sonho de minha vida e quero agradecer à todas as pessoas que compartilharam os momentos da minha vida.

À minha esposa Paula que soube estar ao meu lado tanto nos momentos felizes quanto nos momentos difíceis, e principalmente me incentivou a todo momento a alcançar meu sonho profissional, sem nunca exigir nada em troca.

Aos meus filhos Rogério, Rafael e Ricardo, que mesmo tão pequenos sempre compartilharam comigo seu sorriso e seu abraço mesmo que eu tenha estado muitas vezes ausente.

Aos meus pais, Inês e Iniberto, pela formação que me deram, tanto moral quanto educacional, por nunca terem medido esforços físicos e financeiros para tentar me tornar um homem cada vez melhor.

Aos meus avós Joana e Otávio, que participaram concretamente da minha criação quando criança, pois muito do que sou aprendi com eles, principalmente em questões morais e éticas.

Ao meu eterno mestre , professor Marcos Mocellin, grande incentivador da minha carreira, por sempre ter apostado em mim como promessa profissional e sempre ter me guiado pelo caminho correto.

À professora Ana Tereza Ramos Moreira, que prontamente aceitou ser minha orientadora na tese.

À professora Vanete Thomaz Soccol, por ter aberto as portas do seu Departamento no Centro Politécnico da UFPR para a realização das dissecções nos ratos.

Aos funcionários do Departamento de Parasitologia da UFPR e do Departamento de Oftalmo-Otorrinolaringologia, pelo apoio incondicional aos meus pedidos.

Ao professor Carlos Eduardo Barrionuevo, pela inúmeras orientações dadas nestes anos todos de trabalho conjunto.

Aos meus colegas e amigos do Instituto Paranaense de Otorrinolaringologia, que compartilham comigo o trabalho do dia a dia.

À Deus acima de tudo por me dar saúde e força de vontade para vencer.

Sem saber que era impossível, ele foi lá e fez.

Jean Cocteau

RESUMO

O tratamento mais eficiente da otite média colesteatomatosa (OMCC) é cirúrgico, através da timpanomastoidectomia. Ocorre que em muitos casos a erradicação do colesteatoma deve ser feita através de uma timpanomastoidectomia de cavidade aberta, ou seja, sem a preservação da parede posterior do conduto auditivo externo, o que cria uma cavidade em contato com o exterior através do meato auditivo externo, que deve ser ampliado para que a ventilação no interior desta cavidade seja maior, proporcionalmente ao tamanho da mesma. Porém, quanto menor ficar esta cavidade, maior a chance de sua epitelização e conseqüentemente diminuição da ocorrência de otorrêia e infecção. Por isso, tem-se tentado a diminuição desta cavidade, tanto através de retalhos musculares, que possuem um índice muito grande de necrose, ou através de materiais biocompatíveis, como a hidroxiapatita.

Objetivo: O objetivo do presente estudo é avaliar regeneração óssea em defeitos criados em mastóides de ratos, utilizando o aloenxerto hidroxiapatita cáustica, avaliando quanto a cavidade mastóidea criada pode ser diminuída, através de microscopia óptica.

Material e Método: Foram utilizados 12 ratos da linhagem Wistar-Furth. Um defeito ósseo de 0,5 cm x 0,5 cm no osso temporal de todos os animais bilateralmente com broca esférica de baixa rotação.

Padronizou-se à direita o preenchimento do defeito ósseo, com 15 microgramas de hidroxiapatita cáustica, e à esquerda o não preenchimento serviu como controle. A eutanásia foi realizada no 40º dia de pós-operatório e após procedeu-se à análise histológica das peças.

Resultados: No grupo hidroxiapatita, a neoformação óssea perfez uma área correspondente à 68,53% do total, e no grupo controle 15,97% de neo osso formado apenas ($p=0,0022$).

Discussão e Conclusão: Observou-se a integração satisfatória da hidroxiapatita porosa ao osso temporal nesse modelo experimental. Os resultados microscópicos foram superiores com a utilização do enxerto de hidroxiapatita quando comparado ao grupo controle. Pode ser um método seguro, prático e de fácil aplicação para resolver o problema das cavidades abertas, com otorrêia crônica e de difícil manutenção, principalmente em casos de cavidades muito grandes.

Palavras-chave: Regeneração óssea; hidroxiapatita de cálcio sintética.

ABSTRACT

The treatment to cholesteatomatous chronic otitis is surgical, being the tympanomastoidectomy the main surgery for that. In many cases the eradication of the disease is done with a large mastoidectomy making the mastoid a common cavity with the external auditory canal, creating an open cavity, thus being mandatory to open the entrance of the meatus to ventilate this new cavity.

The smaller the cavity, greater the chance of its epithelization, with fewer problems such as infection and otorrhea. For that, muscular flaps have been tried, with a great incidence of reabsorption and necrosis, or the use of biocompatible materials, such as the hydroxiapatite.

The aim of this study is to evaluate the bone regeneration in defects created in mastoid of rats, using the hydroxiapatite, to see how much the cavity can be diminished.

Material and methods: 12 rats Wistar-Furth were used. A bony defect was created size 0,5 x 0,5 cm in both temporal bones of the rats, and filled with 15 microgrames of hydroxiapatite, and left side was used as control. The death of the animals was done in 40th day, to histological analysis of the bones.

Results: In hydroxiapatite group, the new bone growth performed an area of 68,53% of the total, and in control group only 15,97%.

Discussion and Conclusion: It was observed a very good integration of the hydroxiapatite in the temporal bone in this experimental model. The microscopic results were superior with the use of hydroxiapatite comparing with the control group. It is a safe method and easy to apply to solve the problems of open cavities, with chronic discharging and difficult cleansing, mainly in big cavities.

Key words: Bony regeneration, hydroxiapatite.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – ESPÉCIE DE RATO UTILIZADO (WISTAR FURTH) COM A INCISÃO RETROAURICULAR APÓS ANESTESIA.....	18
FIGURA 2 – CRIAÇÃO DO DEFEITO ÓSSEO EM REGIÃO DE MASTÓIDE.....	18
FIGURA 3 – PREENCHIMENTO DO DEFEITO ÓSSEO COM HIDROXIAPATITA..	19
FIGURA 4 – HIDROXIAPATITA SINTÉTICA.....	19
FIGURA 5 – MORFOMETRIA DE ÁREA.....	20
FIGURA 6 – ANÁLISE MICROSCÓPICA DA MASTÓIDE PREENCHIDA COM HIDROXIAPATITA.....	20

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ANÁLISE DA NEOFORMAÇÃO ÓSSEA NA MORFOMETRIA DE ÁREA NOS GRUPOS CONTROLE E HIDROXIAPATITA.....	22
---	----

LISTA DE SIGLAS

OMCC – Otite Média Crônica Colesteatomatosa

FDA – Food and Drug Administration

COBEA – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

HE – Hematoxilina-eosina

CFMV – Conselho Federal de Medicina Veterinária

HCS – Hidroxiapatita de Cálcio Sintética

LISTA DE SÍMBOLOS

® - Marca Registrada

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	13
1.1. OBJETIVOS DO ESTUDO.....	15
2.MATERIAL E MÉTODO.....	16
2.1. ANIMAIS UTILIZADOS.....	16
2.2. ANESTESIA DOS ANIMAIS.....	16
2.3. CRIAÇÃO DO DEFEITO ÓSSEO.....	16
2.4. EUTANÁSIA DOS ANIMAIS.....	16
2.5. ANÁLISE HISTOLÓGICA E MORFOMETRIA DE ÁREA.....	17
2.6. TESTE ESTATÍSTICO UTILIZADO.....	17
3.RESULTADOS.....	21
4.DISSCUSSÃO E REVISÃO DA LITERATURA.....	23
5.CONCLUSÕES.....	29
6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
7.ANEXO.....	33

INTRODUÇÃO

Diversos biomateriais estão sendo testados por apresentar habilidade de regeneração óssea tais como a hidroxiapatita de cálcio e o fosfato tricálcico¹. Todos esses substituintes porosos sintéticos compartilham vantagens em relação aos auto e aloenxertos, incluindo sua fácil esterilização e armazenamento além de sua ilimitada disponibilidade. Já as suas desvantagens incluem delicado manuseio, graus variáveis de reabsorção, pobre performance em defeitos diafisários, além de potenciais efeitos adversos no remodelamento ósseo². Em relação aos enxertos ósseos autólogos, as desvantagens incluem quantidade limitada, reabsorção indevida e alta morbidade no sítio doado, por isso há evidências de um constante implemento à pesquisa de enxertos ósseos³.

Hidroxiapatita de cálcio sintética, $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})]$, (HCS), consiste em um material inorgânico comumente usado em falhas ósseas e constituinte da fase mineral dos tecidos calcificados. O seu equivalente sintético possui propriedades de biocompatibilidade e de osteocondução que o coloca entre os mais importantes substitutos ósseos da atualidade. Pode ser utilizada em defeitos ósseos sem carga ou em falhas nas quais cargas, estresses torcionais ou cisalhamentos são neutralizados por implantes rígidos, como placas e parafusos.

A regeneração óssea promovida pela HCS tem sido estudada em diversos modelos animais e humanos. Sua primeira implantação em modelos animais foi em defeitos de tíbia proximal canina. Observou-se rápida incorporação do enxerto após seu implante, ausência de efeitos adversos, promovendo uma alta regeneração óssea⁴.

A osteocondução é o processo observado quando uma estrutura porosa é implantada no osso ou em suas proximidades. Tecidos fibrovasculares, capilares e células osteoprogenitoras migram para a estrutura porosa e iniciam a nova formação óssea. O sucesso de tais enxertos minerais fundamenta-se em sua reabsorção por osteoclastos que contribui para uma neoformação óssea. O enxerto ósseo não descalcificado é gradativamente e lentamente absorvido por osteoclastos, que abrem lacunas no osso calcificado, propiciando crescimento vascular e influxo de células inflamatórias, o que explica a manutenção da força mecânica desse tecido⁵.

Além disso, o colágeno presente nesses substitutos ósseos forma o substrato para mineralização e promove a osteoindução. As propriedades de adsorver moléculas também são evidenciadas, promovendo um excelente suporte para ação prolongada de drogas anti-cancerígenas em processos tumorais, como os osteosarcomas⁶.

Há contra-indicação para esse tipo de material em fraturas intra-articulares, em que se utilizam enxertos autólogos pela sua capacidade de maior adesividade. Porém já foi utilizado com sucesso em defeito osteocondral em cêndilos femorais de coelhos¹⁰.

Partindo de todos esses princípios, foi iniciada a tentativa de uso no osso temporal, que por ter áreas com mucosa respiratória, apresenta um comportamento distinto de outros ossos. A principal atenção foi voltada para a porção mastóidea do osso temporal, por ser ela a grande envolvida em otites crônicas, principalmente o colesteatoma.

O colesteatoma pode ser definido como presença de pele na cavidade da orelha média e mastóide, locais onde comumente só há mucosa respiratória, portanto não preparados do ponto de vista de ventilação para conter epitélio queratinizado.

Tem a característica de apresentar uma matriz externa formada por epitélio escamoso estratificado queratinizado sobre uma matriz de tecido fibronectivo, essa descama em lamelas de dentro do espaço por ela delimitado, preenchendo e promovendo distensão local e erosão óssea.

O colesteatoma é tradicionalmente classificado em congênito e adquirido, que pode ser primário ou secundário.

Clinicamente o colesteatoma congênito cresce insidiosamente manifestando-se como perda auditiva condutiva progressiva. Já os adquiridos apresentam-se com otorréia crônica fétida ao exame físico observa-se migração epitelial para orelha média retração atical no primário ou perfuração timpânica no secundário, sendo que a patogênese do colesteatoma adquirido está diretamente relacionado à afecções de orelha média. O tratamento dessa afecção é eminentemente cirúrgico sendo que os objetivos básicos são: erradicação da doença, restabelecimento de orelha média seca e segura e preservação de audição. A cirurgia é a timpanomastoidectomia, a qual cria uma cavidade muitas vezes de grandes proporções que não tem ventilação adequada pelo meato auditivo externo, o que causa alguns problemas como perda de audição,

otorréia e impossibilidade de molhar a orelha. Essa cavidade sofre um processo de epitelização nos meses subseqüentes à cirurgia, ocorrendo a formação de pele por cima do osso de toda a cavidade, sendo que quanto maior o tamanho da cavidade, maior deve ser a meatoplastia, pois se a superfície de pele está aumentada, também deve estar aumentada a ventilação dessa pele, para que não haja formação de tecido de granulação, secreção e conseqüente otorréia. Por isso tem-se tentado duas soluções, uma que seria o aumento da ventilação, com meatos cada vez maiores, inestéticos, ou a diminuição da superfície, ou seja, do tamanho da cavidade, para que haja menos tecido epitelial formado forrando a cavidade.

1.1. Objetivos do estudo

Os objetivos do presente estudo consistem em:

1. avaliar o grau de regeneração óssea em defeito criado na mastóide de ratos utilizando hidroxiapatita de cálcio sintética, determinando qual porcentagem da cavidade mastóidea pode ser diminuída, através de análise histológica com microscopia óptica;
2. analisar se ocorre indução de neoformação óssea pela hidroxiapatita de cálcio sintética.

MATERIAL E MÉTODO

Na realização deste estudo foram respeitadas as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal do Setor de Ciências da Saúde no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná sob o registro AN.016.007.08.11, em 10 de dezembro de 2008 (anexo 1).

2.1. Animais utilizados

Foram utilizados 12 ratos da linhagem Wistar-Furth, adultos, pesando entre 180-220 gramas.(figura 1) Estes foram mantidos em ambiente adequado, com temperatura e luminosidade naturais e alimentados com ração e água *ad libitum*.

2.2. Anestesia dos animais.

Os animais foram anestesiados por via intramuscular sendo utilizado Ketamina 40 mg/kg, Diazepam 2 mg/kg e Butorfanol 2 mg/kg, sendo repetidas as doses durante o procedimento conforme a necessidade.

2.3. Criação do defeito ósseo.

Um defeito ósseo de 0,5 cm x 0,5 cm na mastóide foi realizado em todos os animais com broca esférica de baixa rotação nº 7,5 Sorensen®.(figura 2) Padronizou-se à direita o preenchimento do defeito ósseo com 15 microgramas de HCS, e à esquerda o não preenchimento serviu como controle. (figura 3 e 4).

Realizou-se a antibioticoprofilaxia no ato operatório com uma dose de cefazolina 0,01 ml/kg. Tais animais permaneceram em gaiolas unitárias, com luminosidade controlada e dieta *ad libitum*. Foi feita analgesia pós operatória com ketoprofeno 2mg/kg subcutâneo de 12/12 horas por 7 dias.

2.4. Eutanásia.

A eutanásia foi realizada no 40° dia de pós-operatório, por administração de barbitúricos em dose letal, conforme previsto pela resolução 876 de 15 de fevereiro de 2008 pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), pois no momento da eutanásia os animais apresentavam peso maior, em torno de 500g, e portanto o deslocamento cervical já não é mais o método de escolha para eutanásia em animais com esse peso.

2.5. Análise histológica e morfometria de área.

Foi feita então a análise microscópica, sendo que as lâminas fixadas foram coradas com hematoxilina-eosina (HE) e avaliadas por uma análise objetiva através da morfometria de área (figura 5) sendo levados em consideração a neoformação óssea e a porosidade da área total, ou seja, a área que permaneceu sem obliteração pela HCS e pela neoformação óssea (figura 6). A morfometria de área é feita através de um *software* pro-Image Plus v. 4,5 para Windows®, acoplado a uma câmera de vídeo de marca Sony e microscópio Olympus BX 50, calibrado em aumento para uma objetiva de 10 vezes, utilizando o aplicativo de morfometria de área através da diferença de coloração entre o tecido ósseo e o tecido conjuntivo. Através dessa diferença de coloração, o programa denominado morfometria de área calcula o quanto da área total foi preenchida pela hidroxiapatita, e os valores são tratados estatisticamente em comparação com o grupo controle.

2.6. Teste estatístico utilizado.

Na análise histológica (percentual de porosidade e percentual de neo osso formado) aplicou-se o teste binomial, com os valores dados pelo *software*. Fixou-se em 5% ($p < 0,05$) o nível de rejeição da hipótese de nulidade (nível de significância), ou seja, a chance do resultado encontrado ser ao acaso.

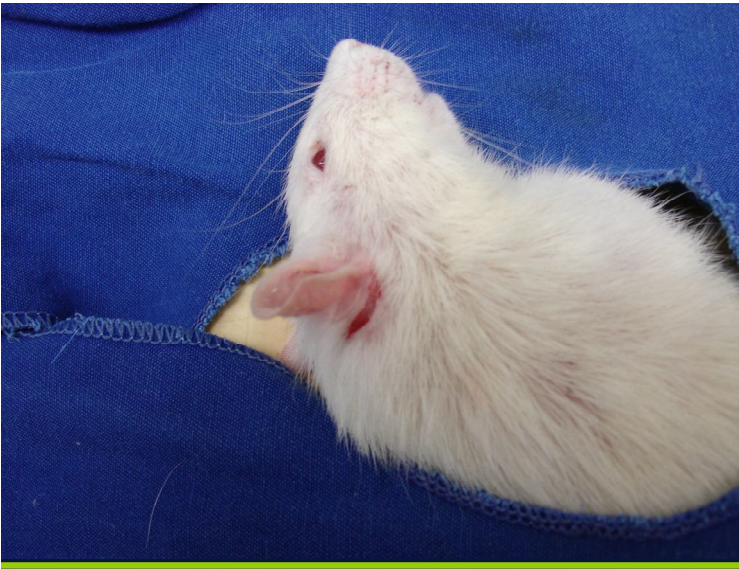


FIGURA 1 – Espécie de rato utilizada com a incisão retroauricular
FONTE: O Autor (2010)



FIGURA 2 – Criação de defeito ósseo em região de mastóide
FONTE: O Autor (2010)



FIGURA 3 – Preenchimento com hidroxiapatita

FONTE: O Autor (2010)

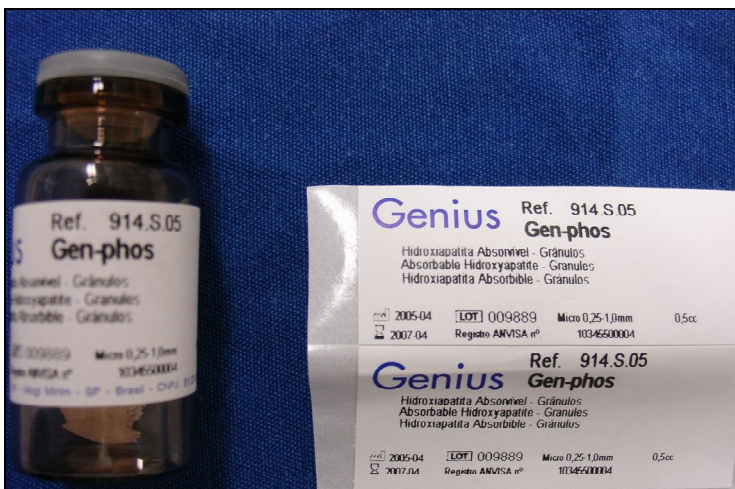


FIGURA 4 – Hidroxiapatita de cálcio sintética

FONTE: O Autor (2010)



FIGURA 5 –Morfometria de área

FONTE: O Autor (2010)

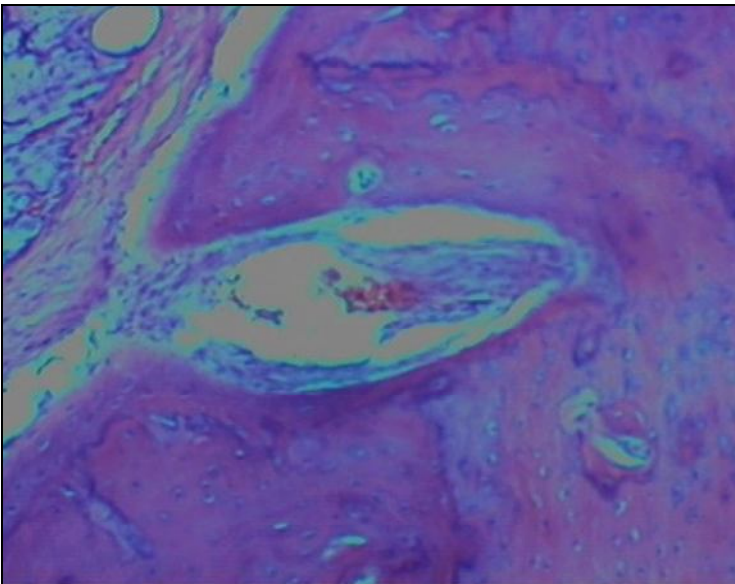


FIGURA 6 – Análise histológica do grupo hidroxiapatita

FONTE: O Autor (2010)

RESULTADOS

Em relação à análise clínica todos os animais permaneceram hígidos e não apresentaram intercorrências em sua evolução em seu pós-operatório. Nenhum animal apresentou infecção nem foi à óbito durante o período de acompanhamento até a eutanásia no 40º. dia. Também não houve nenhum caso de perfuração da dura-máter durante o procedimento cirúrgico, o que eliminaria aquele animal do estudo, visto que a cavidade ficaria com seus limites anatômicos alterados, e possivelmente ocorreria óbito do animal.

Em relação à análise microscópica avaliou-se a presença de processo inflamatório local, observando-se a presença de infiltrado monocítico em 31,44% dos ossos temporais enxertados com hidroxiapatita e 35,31% do grupo controle. A infiltração neutrofílica estava presente em ambos os grupos em proporções menores, o que caracteriza um processo inflamatório crônico local. Esse processo inflamatório ocorreu nos dois grupos, portanto ressalta-se o fato de não ter sido maior no grupo hidroxiapatita, mostrando que o enxerto não aumenta o infiltrado neutrofílico que já ocorre simplesmente pelo processo normal de cicatrização.

Não houve formação de granuloma de corpo estranho, devido à biocompatibilidade já comprovada da hidroxiapatita de cálcio.

Observou-se a presença de esquímulas ósseas em 5,26% dos ossos temporais enxertados com hidroxiapatita, e em 1,13% do grupo controle, correspondendo aos focos de neoformação óssea induzidos pela hidroxiapatita. Esses focos de neoformação óssea ainda podem com o tempo causar diminuição ainda maior do tamanho da cavidade, pois a atividade osteoblástica permanece por tempo indeterminado.

Quanto à morfometria de área, encontrou-se no grupo controle (sem enxertia) uma neoformação óssea em 15,97 % e persistia a porosidade, ou seja, a área não ocluída pelo enxerto, em 84,02 % de média, correspondendo portanto à maior parte da área do defeito ósseo criado.

Já no grupo hidroxiapatita a neoformação óssea fez uma área correspondente à 68,53% do total ($p: 0,0022$), com persistência da porosidade em

torno de 31,47% (tabela 1), fazendo com que a redução do tamanho da cavidade mastoídea com o uso da hidroxiapatita seja estatisticamente significativa em comparação com o grupo controle, em que somente foi feita a abertura da mastóide.

TABELA 1 – ANÁLISE DA NEOFORMAÇÃO ÓSSEA NA MORFOMETRIA DE ÁREA NOS GRUPOS CONTROLE E HIDROXIAPATITA

GRUPO	NEOFORMAÇÃO ÓSSEA	POROSIDADE
CONTROLE (N=12)	15,97%	84,02%
HIDROXIAPATITA (N=12)	68,53%	31,47%
SIGNIFICÂNCIA	P=0,0022	

FONTE: O Autor (2010)

DISCUSSÃO

A hidroxiapatita de cálcio sintética é liberada para uso em humanos pela *Food and Drug Administration* (FDA). Entretanto, já têm sido utilizada na prática médica diária em diversas situações¹⁰. Esta vêm demonstrando extrema biocompatibilidade, produz neossificação, pouca fibrose com reação inflamatória moderada e não forma reação de corpo estranho.

Em 1991, TAKAHASHI descreveu o uso de HCS na obliteração de mastóides¹². Os resultados descritos da utilização de hidroxiapatita associado a um retalho muscular em cavidades abertas são excelentes¹¹⁻¹⁷. Tal autor relata que o uso da hidroxiapatita é seguro e útil para evitar os problemas das cavidades mastoídeas e igualmente para prevenir a recorrência de colesteatoma. As cavidades abertas muito grandes necessitam de uma meatoplastia extensa muitas vezes inestética e freqüentemente formam tecido de granulação e descamação que deve ser limpo com muita freqüência, para que não voltem a infectar e também para diminuir a chance de recidiva do colesteatoma. Os retalhos musculares isolados tem um índice de necrose e reabsorção muscular muito grande, o que faz com que a diminuição da cavidade não seja tão eficaz. O uso da hidroxiapatita isolada ou em associação com os retalhos pode minimizar este problema, já que a incorporação óssea da hidroxiapatita é muito boa. Outro detalhe importante diz respeito a porosidade da hidroxiapatita, item primordial já que a mastóide e um osso poroso e que necessita de ventilação. Portanto, a área óssea coberta pela hidroxiapatita não fica totalmente sem ventilação, o que diminui o risco de formação de colesteatoma por baixo do material usado para oclusão, seja músculo ou material sintético, no caso, a hidroxiapatita.

PORTMANN et PORTMANN já descreveram a relação V/S, ou seja, relação volume/superfície, que mostra que quanto maior a superfície epitelizada da cavidade mastoídea, maior deve ser o volume de ar que entra na cavidade, por isso a necessidade da meatoplastia que permite uma ventilação da cavidade. Por outro lado, há possibilidade de se manter essa relação não só aumentando a quantidade de ar que

entra, mas também diminuindo a área da superfície epitelizada, razão pela qual foi iniciada a tentativa do uso da hidroxiapatita.²¹

A incorporação de enxertos ósseos apresenta 5 estágios: 1) inflamatório, promovendo uma resposta celular do hospedeiro; 2) revascularização do tecido; 3) osteocondução na qual o enxerto tem a função de arcabouço para o crescimento de vasos e formação de osso; 4) osteoindução, as células mesenquimais do hospedeiro são induzidas por proteínas encontradas no enxerto a se transformarem em osteoblastos e 5) remodelação óssea com características de formação e reabsorção contínua de osso⁸.

A recorrência do colesteatoma em cavidades fechadas pode ocorrer em cinco situações:

- 1- através do defeito atical,
- 2- via erosão da parede óssea,
- 3- por invaginação da pars tensa,
- 4- por invaginação entre um defeito atical e uma pars tensa normal,

5- por lamelas de colesteatoma deixadas na cavidade mastoídea, especialmente nos recessos do nervo facial e no seio timpânico. Por este motivo é que pacientes submetidos a timpanomastoidectomia cavidade fechada, ou seja, com preservação da parede posterior do conduto auditivo externo, devem ser controlados por tomografia computadorizada geralmente feita após um ano da cirurgia.

BLACK et al. relatam o uso de um bloco semi-circular de hidroxiapatita em região atical para diminuir a recorrência¹¹. Portanto, o uso pode ser feito também em cavidades fechadas, para diminuir a recorrência ou recidiva do colesteatoma, criando um reforço na pars flácida da membrana timpânica o que diminuiria a possibilidade de retração e conseqüente nova formação do colesteatoma. Este passo cirúrgico já é feito de rotina com o uso de cartilagem da concha ou do tragus, porém ocorre reabsorção desta cartilagem com o passar do tempo, o que permite a recidiva da bolsa de retração.

KVETON et al. relatou o uso da hidroxiapatita em reconstruções de base de crânio incluindo acessos cirúrgicos por via translabirintica, via fossa média e via suboccipital. Quinze de seus pacientes foram acompanhados por um período de dois anos sem complicações¹⁶. O objetivo nestes casos é justamente ocluir a cavidade criada pelo acesso cirúrgico, o que comumente é feito com gordura abdominal, que também tem um índice de reabsorção acentuado.

MATIC et al. relataram haver algumas contraindicações para o uso da hidroxiapatita.¹⁹ A principal delas seria a dúvida se houve ou não a erradicação completa do colesteatoma, pois a oclusão da cavidade por qualquer enxerto autólogo ou não poderia criar uma barreira à ventilação e favorecer a recidiva do colesteatoma, principalmente se ficasse alguma matriz colesteatomatosa microscópica durante a cirurgia. Neste caso, como a hidroxiapatita é porosa, o risco é bem menor do que com um retalho muscular, que bloqueia completamente a ventilação da mucosa desta cavidade, e portanto aumenta a possibilidade de recidiva da doença.

Outros autores como HUSSAIN et al. confirmam essa hipótese e já consideram que como a hidroxiapatita é porosa e permite a ventilação da mucosa que fica abaixo do enxerto, mesmo que haja permanência de lamelas epidérmicas, não ocorreria a recidiva do colesteatoma, ressaltando as propriedades de trocas gasosas desse enxerto, sendo portanto favorável ao seu uso.²⁰

Nos colesteatomas que se estendem para além dos limites do ático, atingindo o antro ou a região do ático anterior, ou quando associados a alterações importantes da mucosa residual, como tecido de granulação, granulomas de colesterol e hiperplasia, é preferível, segundo Cruz *et al* a realização da mastoidectomia aberta com reconstrução do sistema condutor sonoro e redução da cavidade cirúrgica, quando necessário⁴. A diminuição da cavidade, com a oclusão da ponta da mastóide e ângulo sinodural com hidroxiapatita, reduz a necessidade de manutenção pós-operatória, com melhor resultado estético e técnico na meatoplastia. A remoção ou não da ponta da mastóide depende do tamanho final dessa cavidade, mas possivelmente só com o uso da hidroxiapatita, já ocorreria uma diminuição suficiente tornando desnecessária a ablação cirúrgica da ponta da mastóide.

Entretanto o preenchimento deve ser feito com grânulos de hidroxiapatita e não essa em forma de cimento, segundo KVERTON, pois quando utilizada a última favorece a formação de infecção pós-operatória¹⁶. O cimento de hidroxiapatita não possui a mesma característica técnica de permitir as trocas gasosas que a forma granulada permite.

No presente estudo podemos verificar que a hidroxiapatita cáustica é um aloenxerto biocompatível, que promove uma adaptação adequada no osso temporal. Nós não observamos formação de granuloma de corpo estranho, congestão ou infiltração neutrofílica abundante. Observamos apenas uma infiltração monocítica moderada que caracteriza-se por ser uma reação inflamatória crônica moderada local, que também ocorre no grupo controle, sendo uma reação normal relacionada à cicatrização e fibrose locais, e não devido ao uso de um aloenxerto, no caso a hidroxiapatita.

A análise microscópica procurou avaliar a morfometria de área da região onde criou-se o defeito ósseo observando-se uma neoformação óssea abundante em 68,53% dos defeitos criados em osso, demonstrando portanto que a diminuição do tamanho da cavidade mastóidea pode ser alcançada, conforme dados da literatura, com o enxerto de hidroxiapatita, estatisticamente significante quando comparado com o grupo controle, abrindo um grande campo para a cirurgia otológica especialmente a cirurgia da otite crônica. Desta forma ocorreria uma diminuição da superfície epitelizada da cavidade, o que faz com que a formação de tecido de granulação e otorréia decorrentes da insuficiente ventilação sejam menores, portanto havendo um resultado cirúrgico mais adequado e uma satisfação maior dos pacientes. Além disso, ocorre menor dissipação do som, portanto maior estímulo vibrátil no neotímpano, havendo menor possibilidade de seqüelas auditivas pela cirurgia. Obviamente existem muitos fatores associados com o grau de perda de audição após a cirurgia, principalmente a lesão da cadeia ossicular causada pela erosão óssea induzida pelo colesteatoma, devido à liberação de substâncias osteolíticas na secreção formada quando da infecção das lamelas epidérmicas. Portanto, o preenchimento da cavidade mastóidea com sua conseqüente redução volumétrica não pode por si só garantir uma melhora auditiva, deve haver concomitantemente uma reconstrução da cadeia ossicular, com os próprios ossículos,

como geralmente é feito, ou através de próteses de titânio disponíveis no mercado, para os vários graus de erosão desta cadeia ossicular. Associando-se a reconstrução dos ossículos com a redução volumétrica da cavidade, o resultado auditivo tende a ser satisfatório, podendo inclusive ser restaurada uma audição normal em alguns casos.

Com o teste estatístico aplicado, o teste binomial, que é um teste não paramétrico, utilizado quando há somente uma variável, comparando duas amostras, e com o nível de significância fixado em 0,05, o resultado encontrado foi um valor de p de 0,0022, portanto a probabilidade de que o fato observado ocorra quando a hipótese nula é verdadeira é muito menor do que o nível de significância estabelecido, fazendo com que os resultados apresentados em termos de diminuição do tamanho da cavidade mastóidea com a hidroxiapatita sejam confiáveis e possam ser confirmados. O teste estatístico, através da lógica indutiva, confirmou a hipótese da pesquisa.

Estudos futuros estão sendo encaminhados para maior avaliação dessas possibilidades em seres humanos, já que na literatura o número de artigos científicos sobre o tema ainda é pequeno, e resultados estatisticamente significantes em seres humanos servirão para comprovar o sucesso do uso da hidroxiapatita com essa finalidade, já que isoladamente os retalhos musculares não se mostraram eficazes para resolver esse tipo de intercorrência pós operatória, e até o momento não há nenhum outro material sintético com as mesmas propriedades que a hidroxiapatita que possa realizar tal função em cirurgia da otite crônica.

Além disto, o fato da atividade osteoblástica ocorrer por período indeterminado, pode ocorrer além da indução de neoformação óssea, também neoangiogênese, o que manteria possível o aumento da atividade osteoblástica com o passar do tempo, fazendo com que a cavidade se torne funcionante, com trocas gasosas e sem nenhuma seqüela anatômica devido à cirurgia. Isto poderá ser confirmado com estudos prospectivos mais longos, com o objetivo de analisar se a redução volumétrica da cavidade continua aumentando com o tempo, e também através de análise microscópica, se ocorre formação de neovasos.

Independentemente de todos esses fatores a longo prazo, como a neoformação óssea e principalmente a neoangiogênese, somente o fato de que em um pequeno período de tempo neste estudo, 40 dias, já houve uma importante redução volumétrica

da cavidade mastoídea com uma excelente incorporação do aloenxerto, nos abre uma grande possibilidade de evolução neste tipo de cirurgia no que diz respeito à morbidade no pós operatório tanto imediato quanto tardio e também uma redução significativa das seqüelas provocadas pela cirurgia, a saber otorrêia crônica e hipoacusia, aumentando muito a satisfação dos pacientes não só pela cura da doença mas também pelos resultados funcionais.

CONCLUSÕES

1. Observou-se a integração satisfatória da hidroxiapatita porosa ao osso temporal nesse modelo experimental, ocorrendo importante diminuição do tamanho da cavidade mastoídea criada.
2. Ocorre indução de neoformação óssea com conseqüente redução percentual dessa cavidade. Portanto, pode ser um método seguro, prático e de fácil aplicação para resolver o problema das cavidades abertas, com otorreia crônica e de difícil manutenção, principalmente para pacientes que não podem ou não tem acesso fácil ao profissional de saúde para que seja feita a limpeza constante de uma cavidade muito grande.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SCHUKNECHT, H. F. - **The pathology of ear**. Cambridge: Harvard University, 1974.
2. DERLACKI, E. L.; CLEMIS, J. D. - Congenital cholesteatoma of the middle ear and mastoid. **Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.**, 74: 706-727, 1965.
3. LEVENSON, M. J.; MICHAELS, L.; PARISIER, S. C. - Congenital cholesteatomas in children and embryologic correlations. **Laryngoscope**, 98: 949-955, 1988.
4. CRUZ, O. L. M., C.; COSTA, S. S. - Mastoidectomy. In **Otologia Clínica e Cirúrgica** (Cruz e Costa editores). Revinter - Rio de Janeiro, pp. 271-287, 2000.
5. RODEN, D.; HONRUBIA, V. F.; WIET, R. - Outcome of residual cholesteatoma and hearing in mastoid surgery. **J. Otolaryngol.**, 25(3): 178-81, 1996 Jun.
6. STACKE, L. - Stacke's Operationsmethode **Arch. Ohrenheilkd.**, 35: 145, 1893.
7. BONDY, G. - Totalaufmeisselung mit Erkrankungen von Trommelfell und Gehörknöchelchen. **Monatsschr. Phrenheilk**, 44: 15, 1910.
8. HARKNESS, P. et al. - Mastoidectomy audit: results of the Royal College of Surgeons of England comparative audit of ENT surgery. **Clin. Otolaryngol.**, 20: 89-94, 1995.
9. BRIGGS, R. J.; LUXFORD, W. M. - Chronic ear surgery: a historical review. **Am. J. Otol.**, 15: 558-567, 1994
10. CHIROFF RT, WHITE EW, WEBER JN, ROY DM.: Tissue ingrowth of replamineform implants. **J Biomed Mater Res Symp**, 1975, 6:29-45

11. BLACK B. Mastoidectomy elimination. **Laryngoscope** 1995; 105(12 Pt 2 Suppl 76):1–12. Instructions for use: Leibinger BoneSource Hydroxyapatite cement. Distributed in Europe by Howmedica Leibinger GmbH & Co, KG. Botzinger StraBe 41, D-79111 Freiburg, Germany.
12. TAKAHASHI S. Tympanoplasty with mastoid obliteration using hydroxyapatite granules for aural cholesteatoma: a clinical and experimental study. **Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho** 1991; 94:833–42.
13. GROTE JJ, VAN BLITTERSWIKJK CA. Reconstruction of the posterior auditory canal with hydroxyapatite prosthesis. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 1986; 123:6.
14. GOLDENBERG RA. Hydroxyapatite ossicular replacement prosthesis: preliminary results. **Laryngoscope** 1990; 100:693–700.
15. KVETON JF, FRIEDMAN CD, COSTANTINO PD. Indications for hydroxyapatite cement reconstruction in lateral skull base surgery. **Am J Otol** 1995; 16: 465–469
16. ROTH H, MULLER W, SPIESSL B. Treatment of extensive bone defects in jaws with hydroxyapatite granules. **Schweiz Monatsschr Zahnmed** 1984; 94:222–7.
17. TAKAHASHI S, NAKANO Y. A morphologic study on obliteration of the temporal dorsal bullae using hydroxyapatite granules. **Am J Otol** 1996; 17:197–9
18. MANIKER A, CANTRELL S, VAICYS C. Failure of hydroxyapatite cement to set in repair of cranial defect: case report. **Neurosurgery** 1998; 43:953–4
19. MATIC D, PHILLIPS JH. A contraindication for the use of hydroxyapatite cement in the pediatric population. **Plast Reconstr Surg** 2002; 110:1–5

20. HUSSAIN A, RAM B, HILMI OJ. Reconstruction of mastoid cavity with hydroxyapatite cement and postauricular flap. **Laryngoscope** 2002; 112:583–5.
21. PORTMANN M, PORTMANN, D. Chirurgie exclusivement anti-infectieuse et anti-cholestéatomateuse. In: Manuel Pratique de Chirurgie Otologique, 1997. Masson, 3:93-120.

