



Brazilian Journal of Otorhinolaryngology

ISSN: 1808-8694

revista@aborlccf.org.br

Associação Brasileira de  
Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-  
Facial  
Brasil

Dornelles, Cristina; Selaimen da Costa, Sady; Meurer, Luíse; Schweiger, Cláudia  
Comparação da espessura da perimatriz, de colesteatomas adquiridos, entre pacientes pediátricos e  
adultos

Brazilian Journal of Otorhinolaryngology, vol. 71, núm. 6, noviembre-diciembre, 2005, pp. 792-797  
Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial  
São Paulo, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=392437754017>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica  
Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal  
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

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

## Correlation of cholesteatomas perimatrix thickness with patient's age

Cristina Dornelles<sup>1</sup>, Sady Selaimen da Costa<sup>2</sup>,  
Luíse Meurer<sup>3</sup>, Cláudia Schweiger<sup>4</sup>

Palavras-chave: colesteatoma, colágeno, perimatriz.  
Key words: cholesteatoma, collagen, perimatrix.

### Resumo / Summary

**O**s 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 com o de adultos. **Forma de estudo:** coorte transversal. **Material e Método:** 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 ImageProPlus. A análise estatística foi realizada através do coeficiente de Spearman, sendo considerados como estatisticamente significativos os valores de P.

**C**holesteatoma 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. **Study design:** transversal cohort. **Material and Method:** 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.

<sup>1</sup>Mestre em Ciências Médicas - Pediatria Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Pediatria - UFRGS (Bióloga no Centro de Oti Média do Brasil).

<sup>2</sup>Doutor em Cirurgia (Professor Adjunto).

<sup>3</sup>Doutora em Gastroenterologia (Professora Substituta).

<sup>4</sup>Médica (Residente do 1º ano de Otorrinolaringologia).

Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.  
Endereço para correspondência: Cristina Dornelles - Rua Cangussu 1343 Porto Alegre RS 90830-010  
Tel (0xx51) 3249-2275

FIPE - Fundo de Investimentos em Pesquisa e Evento do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.  
Artigo recebido em 18 de março de 2005. Artigo aceito em 29 de março de 2004.

## 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 de maneira mais agressiva e com crescimento mais extenso. No ponto extremo desta discordância encontra-se Smythe et al.<sup>10</sup> que consideram as diferenças clínicas entre as crianças e adultos tão grandes que deveriam ser consideradas doenças distintas.

Histologicamente o colesteatoma é constituído por perimatriz, matriz e conteúdo cístico<sup>11</sup>. Segundo estes autores, a perimatriz do colesteatoma é um tecido conjuntivo subepitelial, contendo fibras colágenas, fibras elásticas, fibroblastos e células inflamatórias. Afirmam que todos os colesteatomas apresentam perimatriz, porém, algumas são extremamente finas, só podendo ser visualizada à microscopia eletrônica de transmissão e constataram que a diminuição da sua espessura era decorrente da diminuição das fibras de colágeno e afirmam que este achado poderia indicar uma maior ação das collagenases, enzimas que atuam na lise destas fibras.

Abramson<sup>12</sup> demonstrou a presença de collagenase nos colesteatomas. Posteriormente, Thompsen<sup>13</sup> demonstrou que esta enzima era produzida pelos queratinócitos. Desta forma, a atividade das collagenases poderia explicar o poder de erosão óssea que os colesteatomas geralmente apresentam. Em 1997, Ferlito et al.<sup>14</sup> sugeriram que a erosão óssea é causada pela produção desta enzima nos tecidos epitelial escamoso e fibroso dos colesteatomas.

Quaranta et al.<sup>15</sup> compararam as características histomorfológicas da perimatriz, em amostras cirúrgicas 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 com evidente atividade da enzima collagenase, porém, em adultos, estes eram menos abundantes. Com base nestes dados, os autores propuseram que as características da perimatriz podem exercer um importante papel na patogênese do colesteatoma, sugerindo que estas 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, e as complicações associadas. A determinação da maior agressividade ou não dos colesteatomas pediátricos poderá acrescentar subsídios para a escolha da abordagem cirúrgica, para esta faixa etária.

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

## MATERIAL E MÉTODO

Este é 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).

No AOMC-HCPA, na primeira consulta, o paciente passa por 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 aos seguintes 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.

E a exclusão:

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

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 Picrossírios (Sirius Red) e analisadas em microscópio óptico (Figura 2). 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.

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.

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.

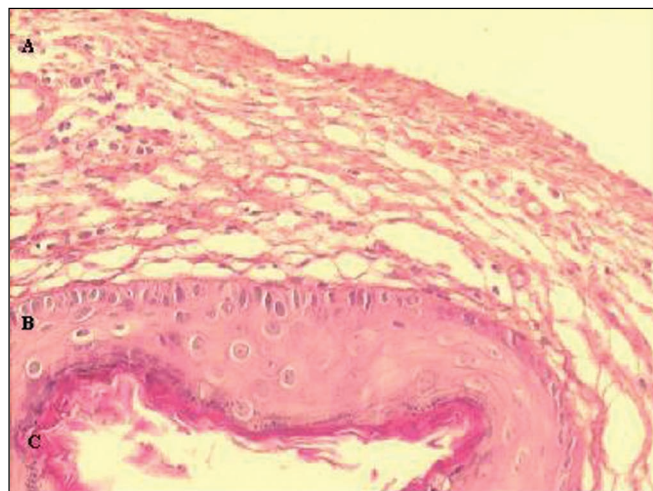
## RESULTADOS

### Dados Epidemiológicos

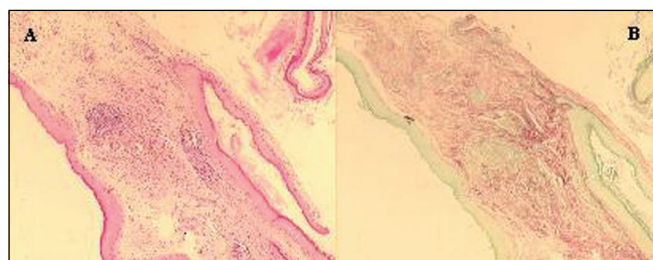
A amostra contou com 74 colesteatomas, coletados de 69 pacientes, porém 17 foram excluídos da análise dos colesteatomas.

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.

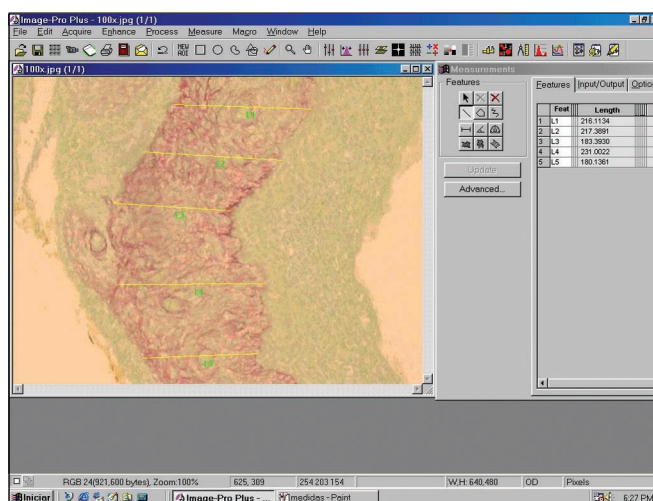
Dos 52 pacientes incluídos, a média  $\pm$  desvio padrão da idade foi de  $24,08 \pm 14,68$ . Neste grupo tivemos 25 com idade até 18 anos, com média  $\pm$  desvio padrão igual a  $12,85 \pm 3,63$  anos. Com mais de 18 anos havia 27 pacientes, com idade média  $\pm$  desvio padrão igual a  $33,69 \pm 13,10$  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%.



**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.



**Figura 2.** Nesta imagem podemos ver a mesma amostra corada em HE (A) e Picrossírios (B).



**Figura 3.** Imagem da tela do software ImagePro Plus Media Cybernetics, mostrando uma secção transversal de colesteatoma com as respectivas medidas da perimatriz.

## Espessura da Perimatriz

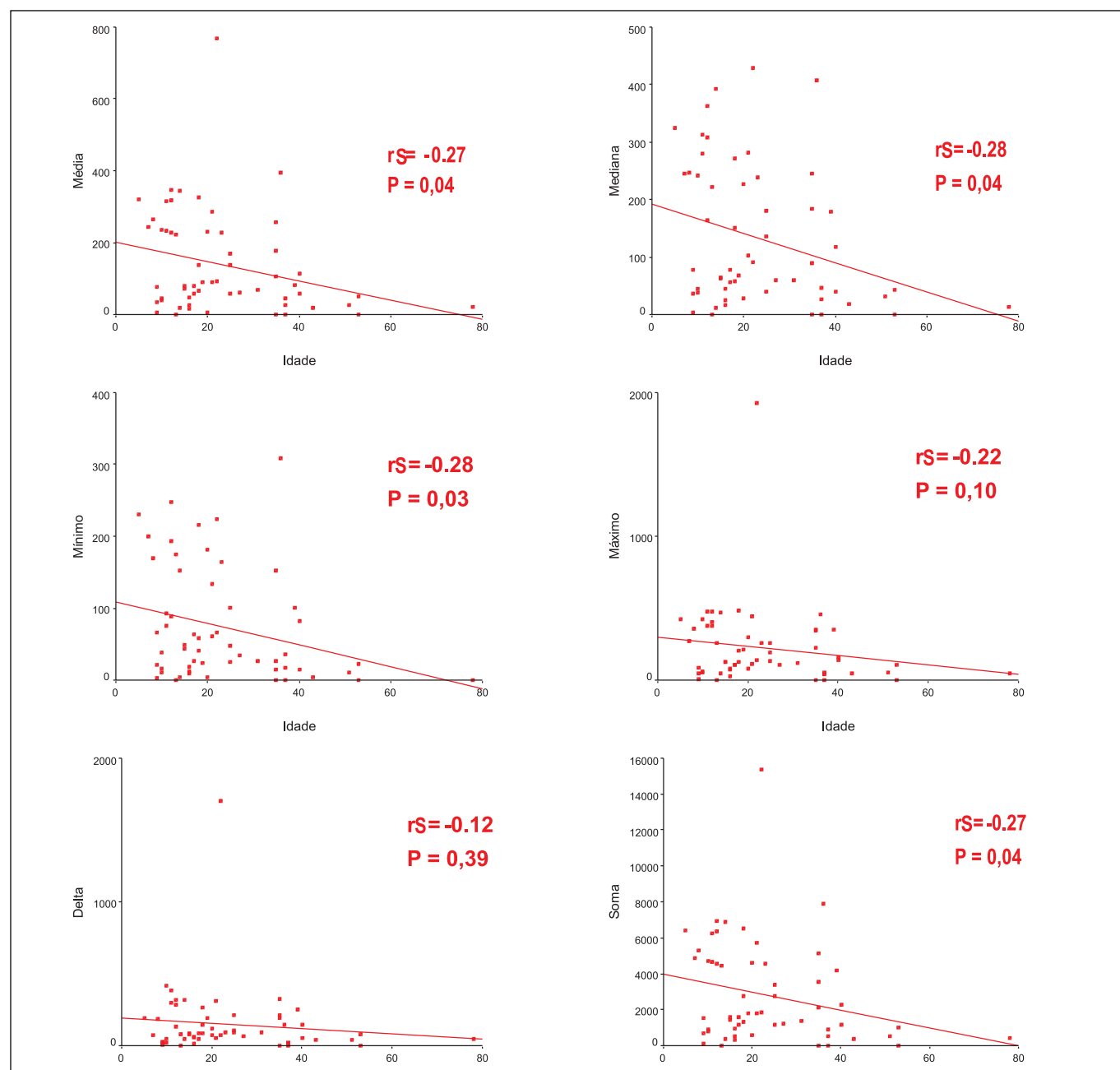
Os valores médios encontrados são apresentados na Tabela 1, todos foram expressos em micrômetros. Todas as medianas estão acompanhadas pelo intervalo interquartil (percentil 25 a percentil 75).

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)

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

Parâmetro	Grupo Pediátrico med (IQ)n=28	Grupo Adultomed (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	1277 (64 a 398)	136 (53 a 280)
Delta	82 (44 a 248)	92 (45 - 190)
Soma	1.588 (831 a 5.185)	1.801 (558 a 3.867)

med (IQ) = Mediana e intervalo interquartil (percentil 25 a percentil 75), medidos em micrômetros (mm)



**Figura 4.** Gráficos de Regressão Linear 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. Neste 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 queratohialinos. Chamaram este 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; esta se encontrava em contato, na maioria dos casos, com uma camada de células escamosas ou cilíndricas ciliadas, remanescentes da mucosa da orelha média. Em alguns casos, apesar de a perimatriz estar ausente à microscopia óptica (M.O.), era 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.

No presente estudo pudemos confirmar estes 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-las. Nestas amostras, a espessura foi considerada igual a zero.

Pereira et al.<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. Encontraram, 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: 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 poderia ser conseqüente de uma quantidade maior da enzima collagenase, nos colesteatomas pediátricos.

Levando em consideração que a ação das collagenases pode ser um dos fatores envolvidos na erosão óssea frequentemente encontrada nas otites médias colesteatomatosas e que há algumas evidências clínicas para considerar esta patologia mais agressiva em crianças do que em adultos, buscamos determinar, através de medidas objetivas, a espessura da perimatriz neste dois grupos etários, uma diminuição desta, em crianças, poderia ser explicada por uma menor quantidade das fibras de colágeno e, esta diminui-

ção, por sua vez, seria decorrente da ação de collagenases. Entretanto, ao contrário de Pereira et al.<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, é nesta região do colesteatoma onde encontramos os elementos inflamatórios.

Quaranta et al.<sup>15</sup> acreditam, baseados em evidências clínicas, que o colesteatoma pediátrico seria mais agressivo e que teria um prognóstico menos favorável. Após este estudo, sugeriram que estas 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 esta hipótese, Jacob et al.<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 perpétua cicatrização na perimatriz, bem como a proliferação de fibroblastos e da matriz, sugere 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 indícios, através de coeficientes de correlação de Spearman, estatisticamente significativos, 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 o qual pode provocar a formação de tecido de granulação que, por sua vez, ativa a reabsorção óssea através do aumento da atividade de osteoclastos. A erosão ossicular está frequentemente associada com a presença de colesteatoma na otite média crônica<sup>14,22,23</sup>. Baseados nos achados de Lazarus et al.<sup>24</sup> que afirmavam que a atividade química da perimatriz tinha um papel na absorção óssea, Gantz et al.<sup>25</sup>, demonstraram que as células mononucleares inflamatórias produzem enzimas collagenolíticas. A importância da perimatriz na reabsorção óssea também foi destacada por Abramson et al.<sup>26</sup> sendo 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 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. Conforme vai ocorrendo a expansão do colesteatoma, a reação inflamatória aumenta, conseqüente-

mente 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 da técnica utilizada, no presente estudo, ser precisa para a medição da espessura da perimatriz, esta não é específica para detectar qual elemento está diminuído na sua estrutura. Para tanto, os autores pretendem dar seguimento a esta linha, avançando para a quantificação de elementos constituintes da perimatriz de colesteatomas adquiridos.

### CONCLUSÕES

Há evidências, nesta 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 cessão 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. Schuknecht HF. The pathology of the ear. Cambridge: Harvard University, 1974.
2. Sheehy JL. Management of cholesteatoma in children. *Adv Otorhinolaryngol* 1978; 23: 58-64.
3. Tos M. Treatment of cholesteatoma in children: A long-term study of results. *J Otol* 1983; 4: 189-97.
4. Edelstein DR. Acquired Cholesteatoma in Pediatric Age Group. *The Otolaryngol Clin North Am* 1989; 22(5): 955-64.
5. Glasscock ME, Dickins JFE, Wiet R. Cholesteatoma in children. *Laryngoscope* 1984; 91: 1743-53.
6. Ruah CB, Schachem PA, Paparella MM, Zelterman D. Mechanisms of retraction pocket formation in the pediatric tympanic membrane. *Arch Otolaryngol Head Neck Surgery* 1992; 118(12): 1298-305.
7. Bujia J, Holly A, Antoli-Candela F, Tapia MG. 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): 74-7.
9. Sudhoff H, Dazert S, Gonzales AM, Borkowski G, Park SY, Baird A et al. Angiogenesis and angiogenic growth factors in middle ear cholesteatoma. *The Am J Otol* 2000; 21: 793-8.
10. Smythe JL, Brachman D, Graham M. Complications of cholesteatoma: A report on 1.024 cases. In: Swartz JD. *Colesteatomas of the middle ear. Diagnosis, Etiology and Complications*. *Radiol Clin North Am* 1984; 22: 15-34.
11. Lim DJ, Saunders WE. 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: 112-25.
13. Thompson J. Bone resorption in chronic otitis media. In: McCabe BF, Sade J e Abramson M. eds. *Cholesteatoma: first international conference*. Aescupulus Publishing Co.: Birmingham, Ala; 1977.
14. Ferlito O, Devaney KO, Rinaldo A, Milroy C, Wenig B, Iurato S et al. Clinicopathological consultation ear cholesteatoma versus cholesterol granuloma. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1997; 106: 79-85.
15. Quaranta A, Resta L, Santangelo A. Otomastoid cholesteatoma in children: histopathological findings. *Int J. Pediatric Otorhinolaryngol* 1986; 12(2): 121-6.
16. Jansen C. Cholesteatoma in children. *Clin Otolaryngol* 1978; 3: 249-352.
17. Jahnke V, Falk W. Clinical, pathological and therapeutic aspects of cholesteatoma in children. *Laryngol Rhinol Otol* 1976; 55(7): 556-60.
18. Pereira CSB, Almeida CIR, Vianna MR. Imunoexpressão da citoqueratina 16 e do antígeno nuclear Ki-67 no colesteatoma adquirido da orelha média. *Rev Bras de Otorrinolaringologia* 2002; 68(4): 453-60.
19. Jacob R, Welkoborsky HJ, Mann W. Epithelium-stroma interaction in cholesteatoma of the middle ear. *Laryngorhinootologie* 2001; 80(1): 11-7.
20. Milewski C. Role of perimatrix fibroblast in development of acquired middle ear cholesteatoma. A hypothesis. *HNO* 1998; 46(5): 494-501.
21. Marenda BA, Audfemorte TB. Localization of cytokines in cholesteatoma tissue. *Otolaryngol. Head Neck. Surg.* 1995; 112 (3): 359-68.
22. Michaels L. Biology of cholesteatoma. *The Otolaryngol Clin North Am* 1989; 22 (5): 869-81.
23. Bretlau P, Jorgensen MB, Sorensen CH, Dabelsteen E. Bone resorption in human cholesteatomas. *Ann Otol* 1982; 91: 131-5.
24. Lazarus GS, Brown RS, Daniels JR, Fulmer HM. Human granulocyte collagenase. *Science* 1968; 159: 1483-5.
25. Gantz BF, Maynard J, Bumstead RM, Huang CC, Abramson M. Bone resorption in chronic otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1979; 88: 639-700.
26. Abramson M, Asarch RG, Litton WB. Experimental aural cholesteatoma causing bone resorption. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1975; 84: 425-32.