Brazilian Journal of
OTORHINOLARYNGOLOGY
www.bjorl.org.br

ARTIGO ORIGINAL

Spontaneous healing of the tympanic membrane after traumatic perforation in rats☆,☆☆

Marcos Miranda de Araújo[a,]*, Adriana Andrade Batista Murashima[a], Vani Maria Alves[b], Maria Celia Jamur[b], Miguel Angelo Hyppolito[a]

[a] *Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil*
[b] *Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil*

Recebido em 9 de agosto de 2013; aceito em 22 de março de 2014

KEYWORDS
Tympanic membrane perforation;
Wound healing;
Histology

Abstract The most common etiologies of tympanic membrane perforation are infections and trauma.
Objective: The objective of the present study was to assess the healing of traumatic tympanic membrane perforation in rats.
Methods: The tympanic membrane from male Wistar rats was perforated in the anterior and posterior portions to the handle of the malleus. Five tympanic membranes were evaluated 3 days after tympanic perforation; 5 after 5 days; 5 after 7 days; 3 after 10 days; and 4 after 14 days. The tympanic membranes were submitted to histopathological evaluation after hematoxylin-eosin staining.
Results: Tympanic membrane closure occurred at about 7 to 10 days after injury and the healing process was complete by day 14. The proliferative activity of the outer epithelial layer was present close to the handle of the malleus and to the tympanic annulus.
Conclusion: The spontaneous healing process of the tympanic membrane starts from the outer epithelial layer, with later healing of the lamina propria and the mucosal layer.
© 2014 Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

DOI se refere ao artigo: http://dx.doi.org/10.1016/j.bjorl.2014.05.014
☆Como citar este artigo: Araújo MM, Murashima AA, Alves VM, Jamur MC, Hyppolito MA. Spontaneous healing of the tympanic membrane after traumatic perforation in rats. Braz J Otorhinolaryngol. 2014;80:330-8.
☆☆Instituição: Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil
*Autor para correspondência.
E-mail: drmarcosorl@usp.br, drmarcosorl@hotmail.com (M.M. Araújo).

© 2014 Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

PALAVRAS-CHAVE
Perfuração da membrana timpânica;
Cicatrização;
Histologia

Cicatrização espontânea da membrana timpânica após sua perfuração traumática: estudo experimental em ratos

Resumo As causas mais comuns de perfurações de membrana timpânica são infecções e trauma.
Objetivos: Avaliar o reparo cicatricial de perfurações traumáticas da membrana timpânica em ratos.
Método: A membrana timpânica de ratos Wistar machos foram perfuradas nas porções anterior e posterior ao cabo do martelo. Cinco membranas timpânicas foram avaliadas 3 dias após perfuração timpânica; 5 após 5 dias; 5 após 7 dias; 3 após 10 dias; e 4 após 14 dias. As membranas timpânicas foram submetidas à avaliação histopatológica após coloração com hematoxilina-eosina.
Resultados: O fechamento da membrana timpânica ocorreu em torno de 7 a 10 dias após perfuração traumática, e o processo de cicatrização estava completo no 14º dia. A atividade proliferativa da camada epitelial externa foi identificada próxima ao cabo do martelo e ao ânulus timpânico.
Conclusão: O processo de cicatrização espontânea da membrana timpânica se inicia com a camada epitelial externa, com posterior cicatrização da lâmina própria e da camada mucosa.
© 2014 Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

Introdução

A membrana timpânica (MT) é uma estrutura anatômica que separa a orelha externa da orelha média. A MT atua na transmissão e amplificação sonora através da cadeia ossicular até a janela oval e rampa vestibular, além da proteção da janela redonda e da rampa timpânica.[1]

A anatomia ultraestrutural da MT é composta por três camadas: a externa, de origem ectodérmica epitelial; a camada média ou lâmina própria, de origem mesodérmica; e a interna, de origem endodérmica, formada pela mucosa da orelha média.[2]

A camada externa é formada por tecido epitelial estratificado pavimentoso queratinizado.[3-5]

A camada média ou lâmina própria é formada por tecido conjuntivo frouxo subepitelial, tecido conjuntivo denso organizado e tecido conjuntivo frouxo submucoso. O tecido conjuntivo frouxo subepidérmico e submucoso é composto de fibras colágenas frouxamente organizadas, fibroblastos e fibras nervosas e capilares. O tecido conjuntivo denso é formado por fibras colágenas organizadas em arranjo radial mais externamente e fibras colágenas em arranjo circular mais internamente.[2-5]

A camada interna é formada por tecido epitelial colunar simples, que continua com a mucosa da orelha média.[2-6]

Perfurações de MT apresentam como etiologias mais frequentes otites médias e trauma.[7] Perfurações traumáticas de MT apresentam uma taxa de 78,7% de cicatrização.[8] Os fatores que previnem reparo adequado de MT, na ausência de infecção, ainda não estão definidos.[7,8]

O objetivo deste trabalho foi aprofundar o estudo bidimensional do reparo cicatricial de perfurações traumáticas de MT em ratos.

Método

O estudo experimental foi realizado com 19 ratos albinos (*Rattus norvegicus*), machos, da linhagem *Wistar*, pesando em média 280 g (variação 270 g a 290 g). O estudo seguiu os Princípios Éticos da Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética de Experimentação Animal (CETEA) em 27/08/2007 – protocolo para uso de animais em experimentação nº 082/2007.

Antes do procedimento, todos os animais foram anestesiados com cloridrato de ketamina intramuscular (40 mg/kg) (Ketamnin 50 mg/mL, Laboratório Cristália, São Paulo, Brasil) e hidrocloreto de xylazina intramuscular (5 mg/kg) (Dopaser 20 mg/mL, Hertape Calier, Minas Gerais, Brasil). As orelhas de todos os animais foram examinadas usando otomicroscópio DFV MU-M19 (DFV, Rio de Janeiro, Brasil) para descartar infecção prévia ao procedimento. Foram incluídos no estudo 19 animais – equivalendo a 23 bulas com MTs normais. Foram excluídas as bulas que apresentavam infecção prévia ao procedimento.

Foi realizada a perfuração traumática da membrana timpânica com agulha BD (Becton Dickinson, Nova Jersey, EUA) 30×0,8 mm anterior e posteriormente ao cabo do martelo na região da *pars tensa* da MT (fig. 1). Para a avaliação histológica, foram sacrificados 3 animais após 3 dias da perfuração timpânica (cinco bulas), 4 animais após 5 dias (5 bulas), 5 animais após 7 dias (5 bulas), 3 animais após 10 dias (3 bulas) e 3 animais após 14 dias (4 bulas). Um animal (1 bula) de MT intacta foi avaliado como controle. Os animais foram sacrificados com injeção intraperitoneal de dose excessiva de Tiopental (Thionembutal, Abbot, São Paulo, Brasil).

As bulas foram removidas dos animais e fixadas por 24 horas em formalina 10% (Merck) diluída em tampão fosfato, e depois descalcificadas em solução aquosa de 4,13 g de EDTA (Merck) e 0,55 g de NaOH (Merck) por aproximadamente 50 dias. Após descalcificação, as amostras foram desidratadas em etanol e xileno, e então incluídas em parafina.

Cortes histológicos de 6 µm foram realizados com micrótomo Leica Jung RM2065 (*Leica Microsystems GmbH*, Wetzlar, Alemanha). Os cortes foram orientados usando o cabo

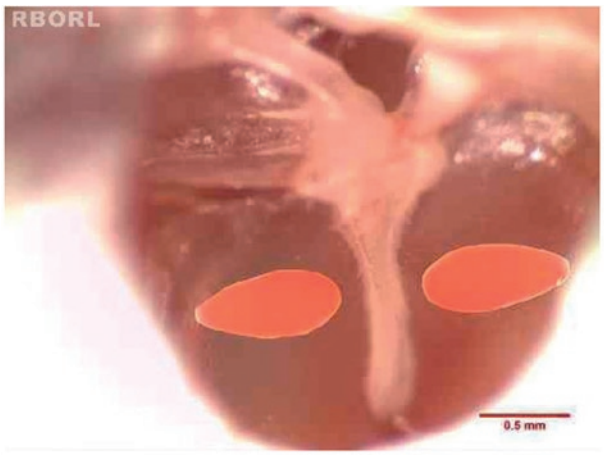

Figura 1 Representação esquemática de perfurações timpânicas na região da pars tensa da MT de rato, anteriormente e posteriormente ao cabo do martelo.

do martelo como referência. Para permitir a avaliação histológica, os blocos foram desgastados até atingir aproximadamente o mesmo nível perpendicular em relação ao cabo do martelo. As amostras foram coradas com hematoxilina e eosina.

A avaliação histológica foi realizada por microscópio Olympus BX50 (*Olympus America, Inc.*, Pensilvânia, EUA), e as imagens digitais de alta resolução foram adquiridas com câmera Spot RT3 (*Diagnostic Instruments, Inc*, Michigan, EUA). As espessuras das camadas epiteliais externas, a lâmina própria e a mucosa foram aferidas usando o programa Image Pro-Plus® v. 7.0 (*Media Cybernetics, Inc.*, Maryland, EUA). Nas perfurações de MTs, as medidas das espessuras foram realizadas à distância entre 50 a 100 µm da borda da perfuração, permitindo avaliar a atividade cicatricial próxima à lesão.[9] Nas MTs íntegras, essa avaliação foi padronizada à distância de 450 a 550 µm do cabo do martelo, ou região que correspondesse ao local da perfuração timpânica previamente realizada.

Resultados

Membrana timpânica intacta – Controle

A espessura da MT foi de cerca de 9,6 µm, tendo como referência a distância de 500 µm do cabo do martelo. A uma distância de 250 µm do cabo do martelo a espessura da MT foi de 15,8 µm, e a 250 µm do ânulus timpânico sua espessura foi de 26,6 µm (tabela 1).

O tecido epitelial estratificado pavimentoso apresentou de uma até duas fileiras de células epiteliais achatadas e em toda a extensão da MT (fig. 2). A espessura da camada epitelial foi de 1,8 µm a uma distância de 500 µm do cabo do martelo (tabela 1).

O tecido conjuntivo presente em sua camada média apresentou-se organizado, com células ocasionais de núcleo achatado, provavelmente fibroblastos; e fibras colágenas organizadas, com pouca ou nenhuma reação de células inflamatórias (fig. 2).

As fibras colágenas se ligavam ao cabo do martelo e, na região do ânulus timpânico, tais fibras formavam o anel fibrocartilaginoso do ânulus timpânico. Poucos vasos capilares, sem turgescência ou pletora vascular, estiveram localizados próximo ao cabo do martelo e não foram encontrados nas porções intermediárias entre o ânulus e o cabo do martelo. A espessura da lâmina própria foi de 6,3 µm (tabela 1).

A camada mucosa apresentou uma fileira de células achatadas disposta em tecido colunar simples, que mostrou continuidade com a mucosa da orelha média. A espessura da camada mucosa foi de 1,5 µm (fig. 2) (tabela 1).

Membrana timpânica três dias após perfuração traumática

A espessura média da MT foi cerca de 39 µm (tabela 1).

Após três dias de perfuração timpânica traumática, observou-se uma camada epitelial mais proliferativa e hiperplásica, com cerca de três a quatro fileiras de células epiteliais, próximas tanto ao cabo do martelo quanto ao ânulus timpânico (fig. 3). A espessura média da camada epitelial foi de 18,9 µm (tabela 1).

Tabela 1 Espessuras médias das camadas epitelial, lâmina própria e mucosa, e espessura total da membrana timpânica durante o estudo nos dias 0 (MT intacta); 3; 5; 7; 10 e 14

Tempo de sacrifício (dias)	Camada epitelial	Camada lâmina própria	Camada mucosa	Total
	µm (%)	µm (%)	µm (%)	µm (100%)
MT intacta[a]	1,8 (18,7%)	6,3 (65,6%)	1,5 (15,6%)	9,6
MT intacta[b]	2,6 (16,4%)	11,9 (75,3%)	1,3 (8,2%)	15,8
MT intacta[c]	2,3 (8,6%)	22,3 (83,8%)	2 (7,5%)	26,6
3 dias[a]	18,9 (48,4%)	14,3 (36,7%)	5,8 (14,9%)	39,0
5 dias[a]	27,1 (37,9%)	36,2 (50,7%)	8,1 (11,3%)	71,4
7 dias[a]	37,5 (42,1%)	46,1 (51,7%)	5,5 (6,1%)	89,1
10 dias[a]	11,2 (29,9%)	23,3 (62,1%)	3 (8,0%)	37,5
14 dias[a]	5,7 (27,9%)	12,5 (61,3%)	2,2 (10,8%)	20,4

[a] Nas MTs íntegras, as espessuras foram aferidas à distância de 450 a 550 µm do cabo do martelo. Nas perfurações de MT, as medidas de espessura foram realizadas à distância entre 50 a 100 µm da borda da perfuração.
[b] As medidas de espessura foram aferidas à distância de 250 µm do cabo do martelo no animal com MT intacta.
[c] As medidas de espessura foram aferidas à distância de 250 µm do ânulus timpânico no animal com MT intacta.

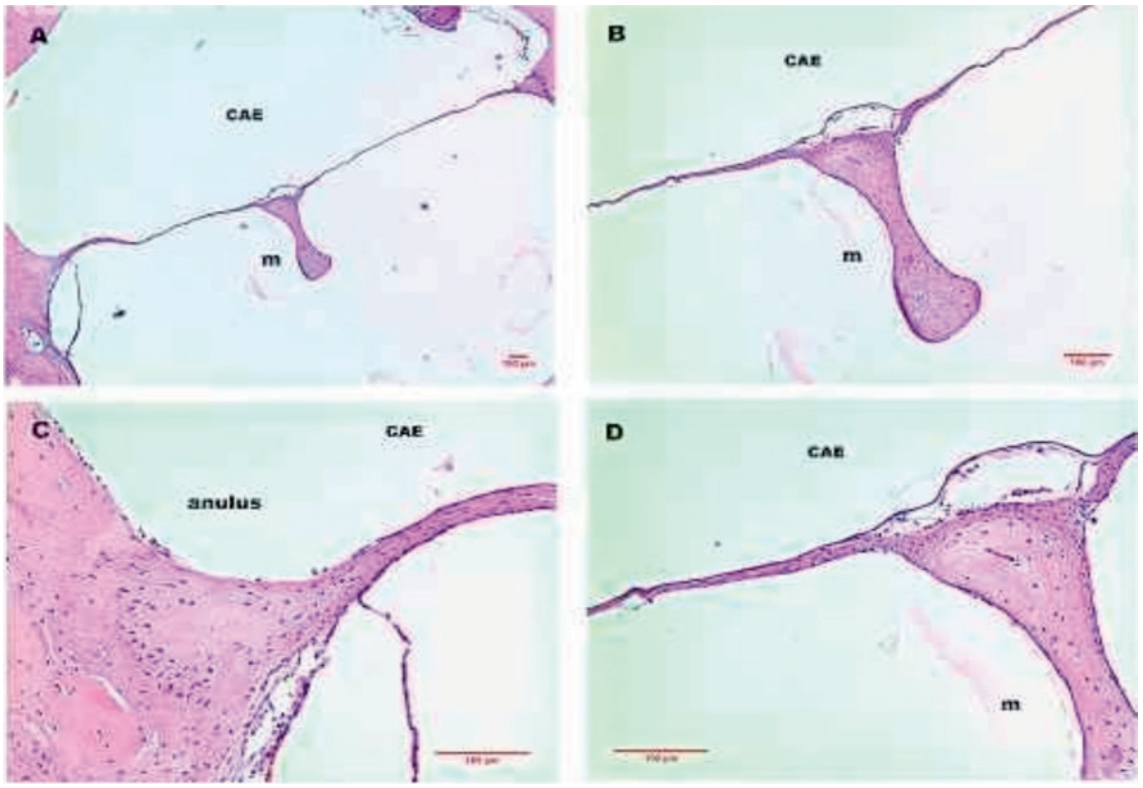

Figura 2 Imagens de corte histológico de MT de rato em hematoxilina-eosina (HE) mostrando MT intacta. CAE, conduto auditivo externo; m, cabo do martelo; ânulus, ânulus timpânico. Imagem (A) com magnificação de 40×; (B) de 100×; (C e D) de 200×.

Na camada média da MT, foram visualizadas células de núcleo basofílico compatíveis com fibroblastos. Esses fibroblastos ocasionais desorganizados não transpuseram o limite das fibras colágenas rompidas na perfuração timpânica. Observou-se edema no tecido conjuntivo subepitelial frouxo e submucoso próximo ao cabo do martelo e no ânulus timpânico.

Houve predomínio de processo inflamatório com recrutamento de células polimorfonucleares localizadas na porção perivascular e no tecido conjuntivo frouxo subepitelial e submucoso. Vasos sanguíneos com pletora ou turgescência estiveram presentes próximos ao cabo do martelo e na região do ânulus timpânico (fig. 3). A espessura média da lâmina própria foi de 14,3 μm (tabela 1).

Observou-se hiperplasia de tecido mucoso nas regiões próximas das bordas da perfuração. Encontrou-se uma fileira de tecido mucoso com células hiperplásicas e com espessura média de 5,8 μm (tabela 1).

Membrana timpânica cinco dias após perfuração traumática

Após cinco dias de perfuração, a espessura média da MT foi de cerca de 71,4 μm (tabela 1).

A camada epitelial apresentou hiperplasia em região próxima ao cabo do martelo e ao ânulus. A MT apresentou áreas com três a cinco fileiras de tecido epitelial (fig. 4). Houve formação de ponte epitelial que avançou na direção do fechamento da perfuração timpânica em alguns casos (fig. 4). O fechamento da perfuração iniciou pela camada epitelial. A espessura média dessa camada foi de 27,1 μm (tabela 1).

Na camada média, observou-se aumento de espessura da MT na região adjacente da perfuração devido a células de núcleo basofílico, provavelmente fibroblastos. Aglomerados de hemácias, indicando capilares sanguíneos, estavam presentes no tecido conjuntivo da MT (fig. 4). A espessura da camada média foi de 36,2 μm (tabela 1).

Observou-se hiperplasia de tecido mucoso com cerca de duas a três fileiras de células mucosas (fig. 4). A espessura da camada mucosa foi de 8,1 μm (tabela 1).

Membrana timpânica sete dias após perfuração traumática

Após sete dias de perfuração, a MT reconstituída apresentou espessura média de 89,1 μm (tabela 1).

A camada epitelial da MT apresentou-se hiperplasiada, com 3 a 5 fileiras em toda a extensão de MT. Houve reação epitelial mais acentuada na porção da MT à meia distância entre o ânulus e o cabo do martelo, local em que a perfuração timpânica foi realizada (fig. 5). A espessura média da camada epitelial foi de 37,5 μm (tabela 1).

Na camada média, houve uma grande predominância de células de núcleo basofílico, provavelmente fibroblastos. A lâmina própria preencheu a perfuração em alguns dos animais. Aglomerados de hemácias estavam presentes, provavelmente indicando capilares sanguíneos. A maior reação proliferativa, bem como a região mais espessa da MT, ocorreu à meia distância entre o ânulus e o cabo do martelo (fig.

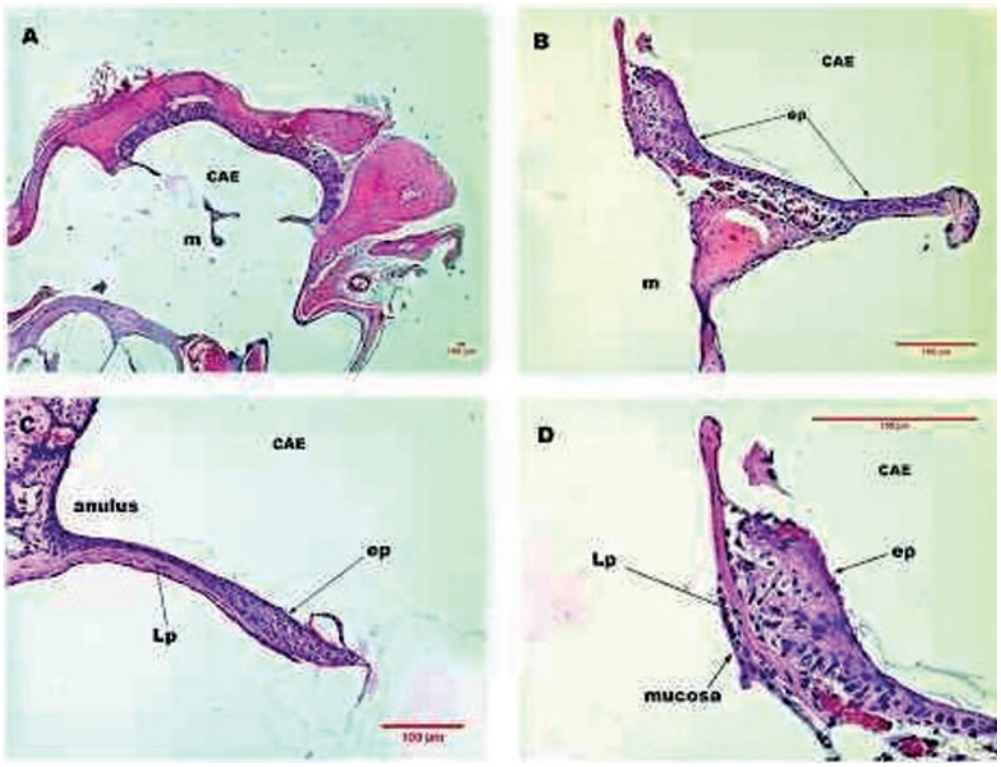

Figura 3 Imagens de corte histológico de MT de rato após três dias de perfuração traumática corado em HE. CAE, conduto auditivo externo; m, cabo do martelo, ep, camada epitelial; Lp, lâmina própria; ânulus, ânulus timpânico; mucosa, camada mucosa. Imagem (A) com magnificação de 20×; (B e C) de 200× e (D) de 400×.

5). A espessura média da lâmina própria foi de 46,1 µm (tabela 1).

A camada mucosa apresentou-se com uma fileira de células colunares simples hiperplásicas na maior parte da membrana timpânica (fig. 5). A espessura média da camada mucosa foi de 5,5 µm (tabela 1).

Membrana timpânica dez dias após perfuração traumática

Após dez dias de perfuração, a membrana timpânica reconstituída apresentou espessura de 37,5 µm (tabela 1).

O tecido epitelial foi evidenciado com até duas fileiras de células na maior parte da MT (fig. 6). A espessura da camada epitelial foi de 11,2 µm (tabela 1).

Na lâmina própria ocorreu redução aparente da quantidade de fibroblastos em todas as regiões da MT. Tais fibroblastos ocasionais se dispuseram de maneira mais organizada e agregada. Observou-se uma tendência de diminuição de vasos capilares sanguíneos (fig. 6). A espessura média da lâmina própria foi de 23,3 µm (tabela 1).

A camada mucosa apresentou uma fileira de células mucosas achatadas na maior porção da MT (fig. 6). A espessura da camada mucosa foi de 3 µm (tabela 1).

Membrana timpânica 14 dias após perfuração traumática

Após 14 dias de perfuração, a membrana timpânica reconstituída apresentou espessura de 20,4 µm (tabela 1).

No tecido epitelial, foram observadas até duas fileiras de células epiteliais achatadas em toda a extensão da MT (fig. 7). A espessura média da camada epitelial foi de 5,7 µm (tabela 1).

Na camada média, as células de núcleos basofílicos, provavelmente fibroblastos, estavam presentes em quantidade possivelmente menor do que o comparado com os períodos anteriores (fig. 7). A espessura média da lâmina própria foi de 12,5 µm (tabela 1)

A camada mucosa apresentou uma fileira de células achatadas em toda a extensão da MT (fig. 7). A espessura média da camada mucosa foi de 2,2 µm (tabela 1).

Fechamento da perfuração timpânica

O fechamento da membrana timpânica ocorreu em torno de 7 a 10 dias após a perfuração traumática, e o processo de cicatrização estava completo no 14º dia.

Discussão

Após a perfuração, o processo de cicatrização da MT se encontrou tipicamente descrito em três fases distintas, mas temporalmente superpostas: inflamatória, proliferativa e remodelação.[3-7]

Em estudos experimentais de pele, a fase inflamatória se inicia imediatamente após a injúria tecidual e dura de 4 a 6 dias.[10,11] Essa fase é composta por desarranjo dos vasos sanguíneos, com aumento da permeabilidade vascular,

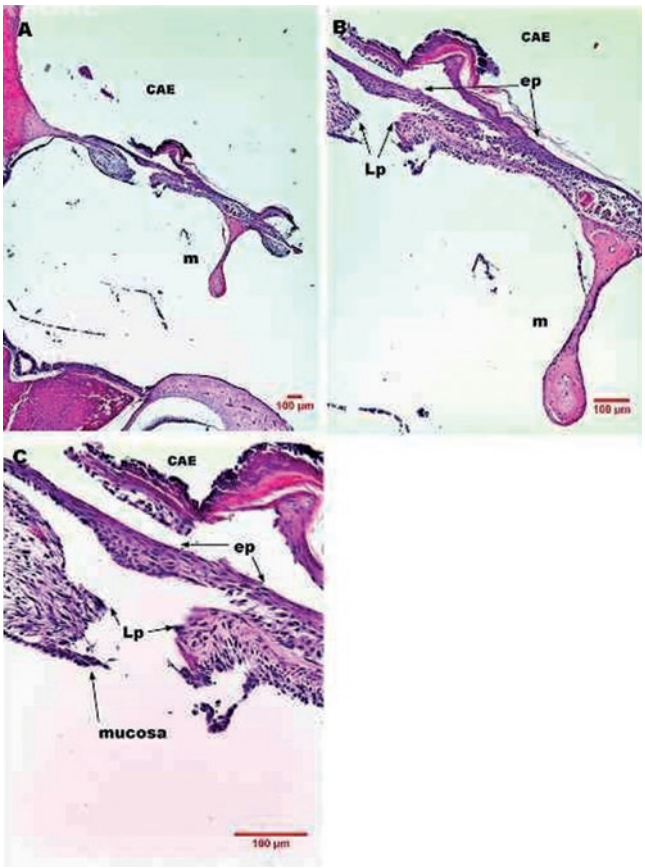

Figura 4 Imagens de corte histológico de MT de rato após cinco dias de perfuração traumática corado em HE. CAE, conduto auditivo externo; m, cabo do martelo; ep, camada epitelial; Lp, lâmina própria; mucosa, camada mucosa. Imagem (A) com magnificação de 40×; (B) de 100× e (C) de 400×.

extravasamento de proteínas séricas, plaquetas e fatores de coagulação. Após 5 ou 6 horas da injúria tecidual, os neutrófilos polimorfonucleares são recrutados até a ferida, enquanto os monócitos passam a ser recrutados com 48 a 96 horas.[11]

A fase proliferativa é classicamente caracterizada por proliferação epitelial, proliferação de fibroblastos, com deposição de colágeno, e por angiogênese, com formação do tecido de granulação.[11] A fase proliferativa está habitualmente presente do 4º ao 14º dia em estudo experimental de pele.[11]

No 3º dia após perfuração traumática, uma camada epitelial mais proliferativa e com hiperplasia, com cerca de 3 a 4 fileiras de células epiteliais, foi observada na MT, tanto próxima ao cabo do martelo quanto ao ânulus timpânico (fig. 3). Com 5 e 7 dias, a atividade mitótica epitelial se intensificou com porções de cinco fileiras de células epiteliais (figs. 4 e 5). Houve uma tendência de formação de ponte epitelial, que avançou na direção de fechamento da perfuração timpânica. Essa atividade proliferativa da camada epitelial externa da MT foi descrita como ocorrendo já desde as primeiras horas após a injúria tecidual.[3,12,13] Na literatura, há descrições de existência de centros proliferativos epiteliais próximos ao cabo do martelo e na região do ânulus timpânico.[9,14,15] Contudo, foi identificado estudo que descreveu apenas um centro de proliferação epitelial próximo ao cabo do martelo.[3]

Em modelos experimentais de cicatrização em pele, a fase de remodelação foi descrita como se iniciando após oito dias da lesão tecidual, persistindo por alguns meses. Os eventos moleculares principais ocorrem na matriz extracelular da lâmina própria.[11]

Na MT, observou-se remodelação epitelial a partir do 10º dia, e que permaneceu até o 14º dia. A camada epitelial externa tornou-se menos espessa e com cerca de duas fileiras de células epiteliais. Na camada média, os fibroblastos se apresentaram em quantidades cada vez menores, assumindo formato achatado. A tendência foi de redução do número de vasos capilares ao longo da membrana timpânica. A camada mucosa também se tornou menos espessa e com uma fileira de células achatadas em toda a extensão da MT.

Devido às características morfológicas da MT, o tecido epitelial escamoso da camada externa da MT seria, inicialmente, o responsável pelo fechamento da perfuração, com a formação de uma ponte epitelial sobre a perfuração e, somente após, haveria o restabelecimento do tecido fibroso da camada média e do tecido da camada mucosa (fig. 4).[7]

A camada epitelial foi a primeira a fechar a membrana timpânica, o que não torna os eventos das demais camadas menos importantes. No momento em que ocorreram maior proliferação e migração celular, a camada epitelial apresentou maior atividade metabólica, necessitando de suprimento de oxigênio e nutrientes em quantidade maior.[16] Dessa forma, o suprimento vascular aumentado e a angiogênese, ambos ocorrendo na lâmina própria, tiveram papel importante no fornecimento do suprimento molecular necessário para que os eventos cicatriciais se desenvolvessem de forma satisfatória na MT.[17-19]

A lâmina própria é responsável pelas características fibroelásticas da MT, como capacidade de vibração para transmissão sonora e proteção da orelha média. Em alguns casos, a MT neoformada pode cicatrizar com apenas duas camadas, uma epitelial externa e uma mucosa interna, conforme já foi descrito em estudos experimentais.[7] Contudo, é possível que tais neomembranas não apresentem as características ideais de transmissão sonora,[20] e nem as características estruturais fibroelásticas que permitam suportar variações de pressões aéreas, como barotraumas ou disfunção tubária, devido à sua estrutura mais frágil que a habitual, por formação deficiente da camada fibrosa. Kristensen[8] apontou para a possibilidade de ocorrência de atelectasia ou bolsas de retração em neomembranas atróficas por deficiência de camada fibrosa.

Para prevenir membranas atróficas por deficiência da lâmina própria, tratamentos que aumentem a atividade fibroblástica e a produção do colágeno podem ser interessantes para permitir uma melhor organização da lâmina própria. Na cirurgia de timpanoplastia, seja com uso de enxerto autólogo, como fáscia de músculo temporal ou pericôndrio de tragus, ou mesmo com uso de aloenxertos, como Alloderm,[21] o intuito desses procedimentos é restaurar a MT, e os enxertos são empregados para o reparo da camada fibrosa, participando da formação da nova matriz extracelular.

Em estudo prévio, foi relatado que a camada mucosa interna contribuiu pouco para o processo cicatricial da MT.[17]

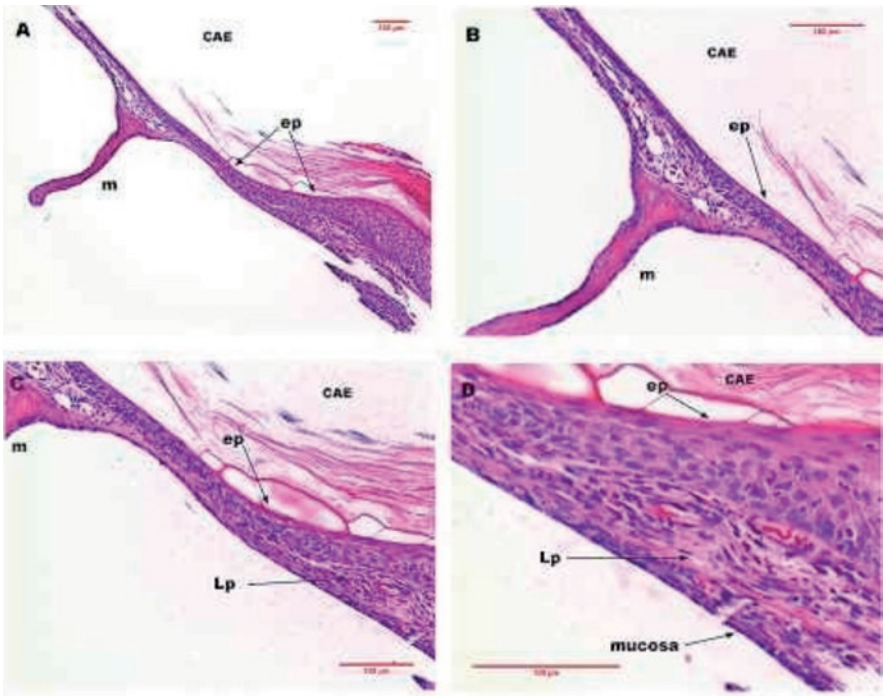

Figura 5 Imagens de corte histológico de MT de rato após sete dias de perfuração traumática corado em HE. CAE, conduto auditivo externo; m, cabo do martelo; ep, camada epitelial; Lp, lâmina própria; mucosa, camada mucosa. Imagem (A) com magnificação de 100×; (B e C) de 200× e (D) de 400×.

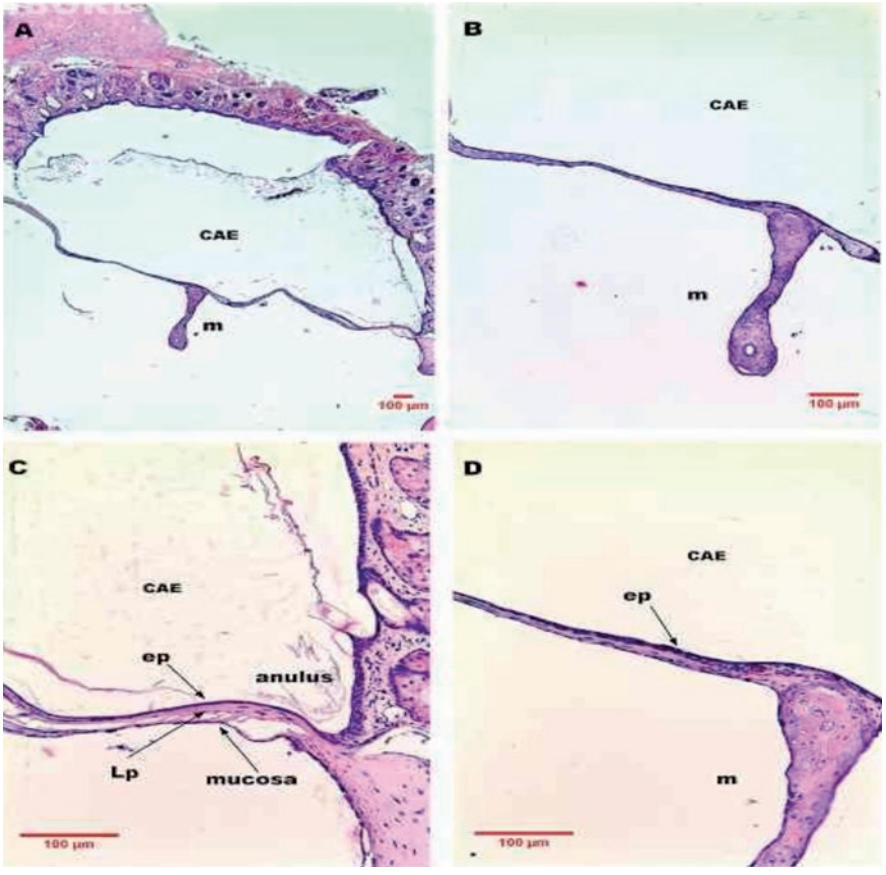

Figura 6 Imagens de corte histológico de MT de rato após dez dias de perfuração traumática corado em HE. CAE, conduto auditivo externo; m, cabo do martelo; ep, camada epitelial; Lp, lâmina própria; ânulus, ânulus timpânico; mucosa, camada mucosa. Imagem (A) com magnificação de 40×; (B) de 100×; (C e D) de 200×.

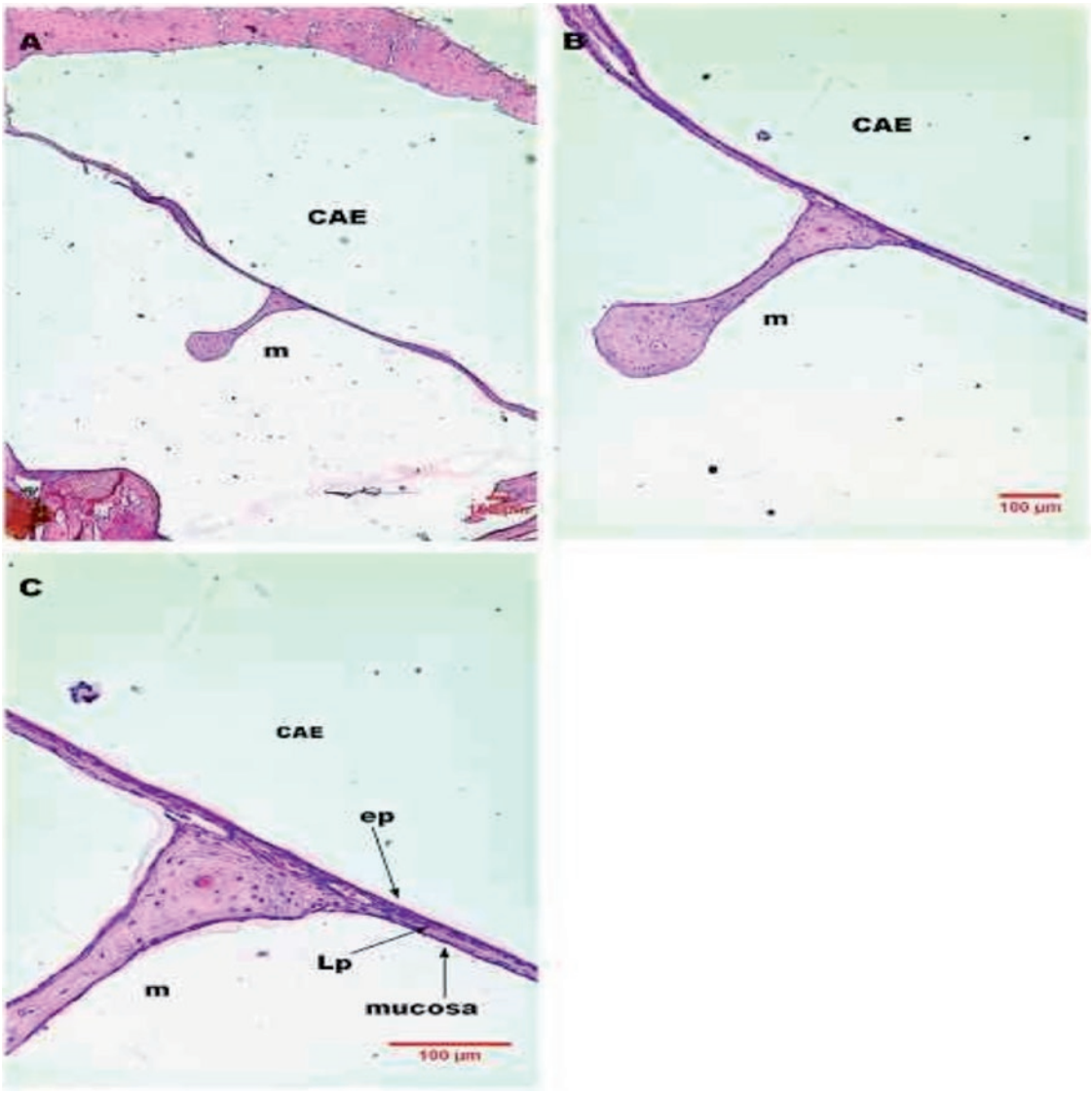

Figura 7 Imagens de corte histológico de MT de rato após 14 dias de perfuração traumática corado em HE. CAE, conduto auditivo externo; m, cabo do martelo; ep, camada epitelial; Lp, lâmina própria; mucosa, camada mucosa. Imagem (A) com magnificação de 40×; (B) de 100× e (C) de 200×.

Por outro lado, para Weinberger, Hawke e Gotlieb,[22] a camada medial mucosa da MT seria das primeiras estruturas a encerrar a perfuração. Não foi possível, por meio da metodologia empregada neste estudo, definir o papel da camada mucosa no processo de cicatrização de MT. Por outro lado, mesmo sendo uma camada com arquitetura histológica menos complexa que as demais, é importante lembrar que os eventos cicatriciais das três camadas da MT precisam estar harmonicamente ordenados para que a adequada integridade da MT seja restabelecida.

Conclusão

Avaliando o processo de cicatrização habitual do tímpano em ratos, concluímos que o processo de cicatrização espontânea da MT se inicia pela camada epitelial externa, com posterior fechamento da lâmina própria e da camada mucosa.

Financiamento

Este estudo foi apoiado por: FAPESP.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

1. Wullstein H. Theory and practice of tympanoplasty. Laryngoscope. 1956;66:1076-95.
2. Lim DJ. Tympanic membrane. Electron microscopic observation. I:pars tensa. Acta Otolaryngol Stock. 1968;66:181-98.
3. Santa Maria PL, Redmond SL, Atlas MD, Ghassemifar R. Histology of the healing tympanic membrane following perforation in rats. Laryngoscope. 2010;120:2061-70.

4. Stenfeldt K, Johansson C, Hellstrom S. The collagen structure of the tympanic membrane. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2006;132:293-8.
5. Wenig BM, Michaels L. The ear and temporal bone. Em: Mills SE. Histology for Pathologists. 3ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 372-400.
6. Lim DJ. Structure and function of the tympanic membrane:a review. Acta Othorhinolaryngol Belg. 1995;49:101-15.
7. Gladstone HB, Jackler RK, Varav K. Tympanic membrane wound healing – an Overview. Otolaryngol Clin North Am. 1995;28: 913-32.
8. Kristensen S. Spontaneous healing of traumatic tympanic membrane perforations. J Laryngol Otol. 1992;106:1037-50.
9. Güneri EA, Tekin S, Yilmaz O, Özkara E, Erdag TK, Ikiz AO, et al. The effects of hyaluronic acid, epidermal growth factor, and mitomycin in an experimental model of acute traumatic tympanic membrane perforation. Otol Neurotol. 2003;24:371-6.
10. Koopmann CF. Cutaneous wound healing. Otolaryngol Clin North Am. 1995;28:835-45.
11. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. Surg Clinics North Am. 1997;77:509-28.
12. Koba R. Epidermal cell migration and healing of the tympanic membrane: an immunohistochemical study of cell proliferation using bromodeoxyuridine labelling. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1995;104:218-25.
13. Spratley J, Hellstrom S, Eriksson PO, Pais-Clemente M. Early structural tympanic membrane reactions to myringotomy: a study in an acute otitis media model. Acta Otolaryngol Stock. 2002;122:479-87.
14. Koba R, Yagi M, Tabe H, Kawabata I. Kinetic analysis of cell proliferation using bromodeoxyuridine labeling in situ detection of dying cells in the tympanic membrane and middle ear cholesteatoma. Arch Histol Cytol. 1996;59:339-46.
15. Somers TH, Houben V, Goovaerts G, Govaerts PJ, Offeciers EE. Histology of the perforated tympanic membrane and its mucoepithelial junction. Clin Otolaryngol Allied Sci. 1997;22:162-6.
16. Giles B. Wound healing in spontaneous perforation or myringotomy and middle ear reconstruction. Ear Nose Throat J. 2007;86 Suppl 1:30-2.
17. Johnson AP, Smallman LA, Kent SE. The mechanism of healing of tympanic membrane perforations:a two-dimensional histological study in Guinea Pigs. Acta Otolaryngol Stockh. 1990;109:406-15.
18. Makino K, Amatsu M. Epithelial migration on the tympanic membrane and external canal. Arch Otorhinolatyngol. 1986;243: 39-42.
19. Masutani H, Nakai Y, Sugita M, Ohashi K, Moriguchi M, Matsunaga K. Microvasculature of the tympanic membrane. Acta Otolaryngol Suppl Stockh. 1991;486:99-104.
20. O'Connor KN, Tam M, Blevins NH, Puria S. Tympanic membrane collagen fibers: a key to high frequency sound conduction. Laryngoscope. 2008;118:483-90.
21. Lai P, Propst EJ, Papsin BC. Lateral graft type 1 tympanoplasty using Alloderm for tympanic membrane reconstruction in children. Int J Ped Otorhinolaryngol. 2006;70:1423-9.
22. Weinberger JM, Hawke M, Gotlieb AI. Repair of the wounded guinea pig tympanic membrane: organization of filamentous actin and spatial cellular reorganization. J Otolaryngol. 1988; 17:352- 8.