

Fator de Crescimento Epitelial e Pentoxifilina nas Perfurações Subagudas de Membrana Timpânica

Epidermal Growth Factor and Pentoxifylline in Subacute Tympanic Membrane Perforations

*Jeanne da Rosa Oiticica Ramalho**.

* Doutorado (Doutora em Ciências pelo Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia da Universidade de São Paulo).

Endereço para correspondência: Jeanne Oiticica Ramalho – Avenida Damasceno Vieira, 1202 - Apto 41 – São Paulo / SP – Brasil – CEP 04363-040 – Telefax: +55 11 5671-6810 – E-mail: jeanneramalho@uol.com.br

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp).

Este artigo foi submetido no SGP (Sistema de Gestão de Publicações) da R@IO em 10/9/2006 e aprovado em 26/1/2007 20:30:48

RESUMO

- Introdução:** O fator de crescimento epitelial é uma citocina capaz de modular a proliferação de células epiteliais e endoteliais in vitro e in vivo. A pentoxifilina é uma metilxantina que tem sido usada para tratar enxertos de pele e úlceras venosas cutâneas. A literatura sobre o tema é controversa e carece de quantificação objetiva das ações dos dois fármacos.
- Objetivos:** Os objetivos deste estudo foram determinar o efeito do fator de crescimento epitelial e da pentoxifilina e quantificar o percentual de cicatrização de perfurações subagudas de membrana timpânica tratadas com estes fármacos isolados ou associados, comparando os resultados obtidos com o observado em um grupo controle.
- Material e Método:** Quarenta e duas chinchilas foram submetidas a procedimento para criar perfuração de membrana timpânica. Aquelas com cicatrização inferior a 10% foram distribuídas em quatro grupos: controle, fator de crescimento epitelial, pentoxifilina ou fator de crescimento epitelial com pentoxifilina.
- Resultados:** O percentual de cicatrização de perfurações subagudas de membrana timpânica no período de 30 dias mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos (ANOVA; $p < 0,001$) e foi de 30,3% no grupo fator de crescimento epitelial, de 3,6% no grupo pentoxifilina, de 16,5% no grupo fator de crescimento epitelial com pentoxifilina e de 8,7% na ausência de tratamento.
- Conclusões:** O fator de crescimento epitelial auxiliou o processo de cicatrização de perfurações subagudas de membranas timpânicas de chinchilas, o que não se observou com a pentoxifilina. A associação da pentoxifilina com o fator de crescimento epitelial não potencializou seu efeito.
- Palavras-chave:** chinchila, fator de crescimento epitelial, orelha média, pentoxifilina, timpanoplastia, cicatrização.

SUMMARY

- Introduction:** Epidermal growth factor is a cytokine able to modulate the proliferation of epithelial and endothelial cells in vitro and in vivo. Pentoxifylline is a methylxanthine that has been used to treat skin flaps and venous leg ulcers. Studies on this subject are controversial and objective quantitative data regarding the action of epidermal growth factor and pentoxifylline on the tympanic membrane healing are lacking.
- Objectives:** The aims of the present study were to determine the effect of epidermal growth factor and pentoxifylline and to quantify the healing rate of subacute tympanic membrane perforations treated with these drugs in combination or alone, and to compare the results with a control group.
- Methods:** We studied 42 chinchillas submitted to tympanic membrane perforation; those shown little or no healing were distributed into four groups: control, epidermal growth factor, pentoxifylline or epidermal growth factor with pentoxifylline.
- Results:** The healing rate of subacute tympanic membrane perforations over a 30-day period showed significant difference between the groups (ANOVA; $p < 0.001$) and was 30.3% for the epidermal growth factor group, 3.6% for the pentoxifylline group, 16.5% for ears treated with epidermal growth factor and pentoxifylline and 8.7% for untreated controls.
- Conclusions:** Epidermal growth factor helps in the healing of subacute tympanic membrane perforations in chinchillas but the same was not observed for pentoxifylline. The combination of both drugs had no synergistic effect on the healing of these perforations.
- Key words:** chinchilla, epidermal growth factor, middle ear, pentoxifylline, tympanoplasty, wound healing.

INTRODUÇÃO

As perfurações de membrana timpânica (MT) são orifícios decorrentes de alterações estruturais do tecido timpânico, caracterizando-se histologicamente por epitelização dos seus bordos (1).

O tratamento das perfurações de MT tem focado duas principais linhas de pesquisa científica. A primeira inclui a cicatrização das perfurações por meio de novas matrizes protéicas que promovam suporte e sirvam de guia para o tecido em regeneração (miringoplastia) (2, 3). A segunda visa induzir a proliferação e migração celular por meio de mitógenos (fatores moduladores de crescimento) ou indutores do fluxo sanguíneo (agentes hemorreológicos).

O fator de crescimento epitelial (FCE) é uma citocina capaz de modular a proliferação e quimiotaxia de células epiteliais, endoteliais, fibroblastos e queratinócitos (4-6). Receptores específicos para o FCE foram detectados na MT de animais e de humanos (7-9). Estudos experimentais e ensaios clínicos investigaram a eficácia do FCE em promover a cicatrização de perfurações de MT. Alguns observaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e de estudo (7, 10, 11), enquanto outros não (12, 13).

A pentoxifilina (PX) é uma metilxantina capaz de promover o aumento do fluxo sanguíneo e da tensão de oxigênio em tecidos com microcirculação periférica deficitária (14). Tem sido usada no tratamento de retalhos cutâneos e de úlceras venosas de perna (15-17). Contudo, o único estudo experimental em perfurações agudas de MT não conseguiu mostrar benefícios com o uso da PX (18). A literatura sobre o tema é controversa e carece de quantificação objetiva das ações do FCE e da PX na cicatrização de perfurações de MT.

O tratamento inicial das perfurações traumáticas de MT é a observação clínica, a correção cirúrgica está indicada apenas nos casos em que não se observar cicatrização espontânea após período mínimo de três meses (19, 20). A idéia central foi testar experimentalmente um método simples e não invasivo que possa servir como opção de tratamento em perfurações traumáticas de MT não cicatrizadas em sua fase aguda. Deste modo, optamos por estudar o efeito de substâncias indutoras de cicatrização numa fase subaguda da perfuração, aproveitando uma possível atividade mitótica residual antes que a perfuração venha a ter indicação cirúrgica.

Delineamos este estudo experimental para testar as seguintes hipóteses: o FCE e a PX aumentam o percentual de cicatrização (PC) de perfurações de MT e a associação

dos dois fármacos tem efeito sinérgico sobre o PC. Para testar estas hipóteses o objetivo deste estudo foi determinar e quantificar o efeito do FCE e da PX, isolados ou associados, na cicatrização de perfurações subagudas de MT de chinchilas.

MATERIAL E MÉTODO

O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), sob protocolo de pesquisa nº 853/04. O experimento foi realizado no Laboratório de Investigação Médica (LIM - 32) do Departamento de Otorrinolaringologia, em concordância com o manual sobre cuidados e usos de animais de laboratório (21). A pesquisa foi financiada por verba de auxílio à pesquisa, aprovada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 02/08285-0.

Foram inicialmente selecionadas 42 chinchilas (*Chinchilla lanígera*) de ambos os sexos, com idade entre sete e vinte meses, peso entre 400 g e 800 g, obtidas a partir de criadores especializados (CHILLÁN - Criação de Chinchilas, Reprodutores e Matrizes / ACHILA - Associação Brasileira de Criadores de Chinchilas). Os animais foram mantidos pelo próprio criador em gaiolas individuais, com água e ração à vontade. Excluímos animais com infecção da orelha externa ou média, fêmeas gestantes e portadores de malformações congênitas.

Todos os animais foram submetidos a procedimento para criar perfurações de MT em ambas as orelhas. A indução anestésica foi feita via subcutânea, utilizando-se agulha e seringa de insulina para injeção de cloridrato de xilazina a 2% (3 mg/kg) seguida de cloridrato de quetamina (17 mg/kg). O procedimento foi realizado do início ao término sob visão endoscópica, utilizando-se endoscópio rígido com ângulo de visão de 30° e 2,7 mm de diâmetro.

A área total da MT foi calculada usando um molde de silicone de 0,5 mm de espessura (Xomed Surgical Products, Jacksonville, FL, USA), confeccionado no formato da membrana de forma a recobrir toda sua superfície. A perfuração foi padronizada para todos os animais em formato e em tamanho, a partir da confecção de um segundo molde, correspondendo à metade da área total do primeiro molde de silicone e aos quadrantes inferiores da MT (Figura 1).

O molde de perfuração foi posicionado sobre os quadrantes inferiores da MT. A miringotomia foi realizada

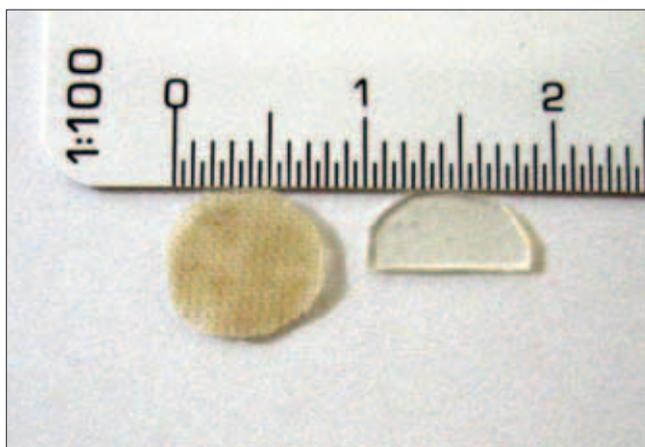


Figura 1. Molde de silicone equivalente à área total da membrana timpânica (à esquerda) e molde de perfuração (à direita).

nos limites do molde utilizando-se a energia térmica do eletrodo ponta agulhada, angulação de 90° na extremidade distal e 0,3 mm de diâmetro, acoplado ao bisturi eletrônico (BP-100, EMAI, São Paulo, Brazil) ajustado em 15 W de potência (Figura 2A). A MT remanescente foi submetida a cinco incisões perpendiculares ao ânulus. As ilhas de tecido tiveram seus bordos medializados e cauterizados de encontro à camada interna (Figura 2B).

As imagens foram obtidas usando micro-câmera (Sony DXC-LS1) e endocoupler (22 mm) acoplado ao endoscópio, importadas do sistema de vídeo para o computador. Um programa gráfico (AutoCAD R14) permitiu o cálculo da área total da MT e da área de perfuração (Figura 3).

A profilaxia contra infecções foi feita com enrofloxacina na dose de 5 mg/kg/d, via oral, nos primeiros cinco dias após perfuração da MT e nos 10 dias do protocolo de tratamento das perfurações.

Decorridos 30 dias, os animais dos quais pelo menos uma orelha apresentou cicatrização inferior a 10% do percentual de área perfurada (PAP) inicial foram incluídos no protocolo de tratamento (Figura 4). Foram excluídas as orelhas com infecção. As orelhas selecionadas constituíram quatro grupos de estudo: grupo controle (recebeu água destilada tópica), grupo FCE (tratado com FCE tópico), grupo PX (recebeu PX por via oral e água destilada tópica), grupo FCE + PX (tratado com FCE tópico e PX por via oral).

Um fragmento de esponja estéril de gelatina absorvível (Gelfoam, Pharmacia Brasil Ltda, São Paulo, Brasil), confeccionado de acordo com o molde da MT, foi posicionado de forma a ocupar toda superfície remanescente da MT. Soluções tópicas contendo 25µl de água destilada ou 0,25 mg/ml de FCE (Biogen, Cambridge, MA, USA)

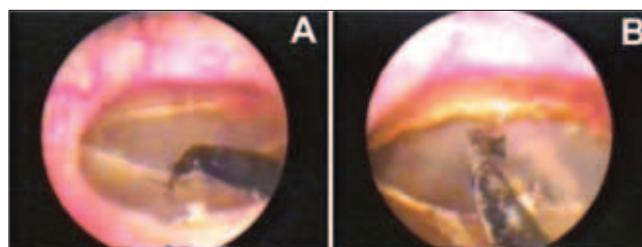


Figura 2. Miringotomia realizada nos limites do molde usando eletrodo (A) e bordos da perfuração invertidos e cauterizados de encontro à camada interna (B).

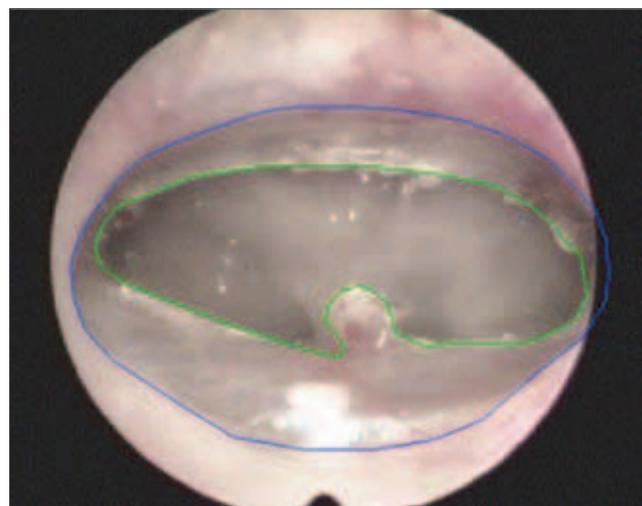


Figura 3. Cálculo das áreas da membrana timpânica (azul) e da perfuração (verde).

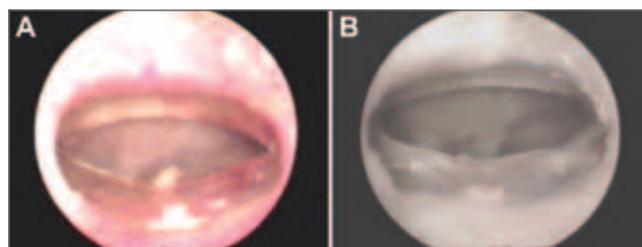


Figura 4. Perfuração de membrana timpânica no dia (A) e 30 dias após o procedimento de perfuração com cicatrização inferior a 10% (B).

foram aplicadas sobre a esponja, usando micropipeta de volume fixo de 25µl (Socorex - Acura, Cral, Cotia, Brasil), a cada 72 horas, por dez dias (total de três aplicações), após os quais a esponja foi removida (Figura 5). A PX foi administrada na dose de 20 mg/kg/d, por via oral, a cada 12 horas, por dez dias, coincidindo com o período de uso das soluções tópicas.

O sacrifício foi feito com os animais alojados em uma câmara de CO₂, por período não inferior a dez minutos

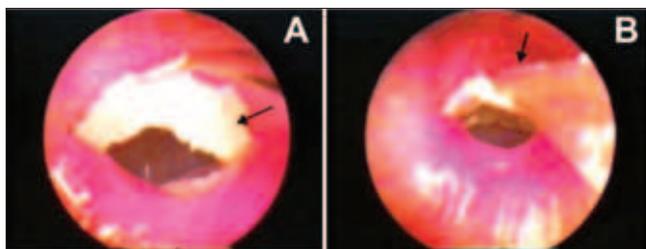


Figura 5. Esponja de gelatina (seta) sendo colocada sobre a membrana timpânica remanescente (A) e ponteira da micropipeta (seta) usada na aplicação das soluções tópicas (B).

(22). Após o sacrifício, os animais foram devidamente acondicionados em lixo hospitalar.

O PAP foi calculado dividindo-se a área perfurada pela área total da MT e multiplicando-se por 100. O PC da perfuração de MT em um mês foi definido como a diferença entre o PAP no início do protocolo de tratamento e o observado 30 dias após.

O efeito final do tratamento sobre as perfurações de MT foi classificado em: cicatrização ausente quando o PC foi inferior a 10%, cicatrização parcial quando o PC foi igual ou superior a 10% e cicatrização total quando não se observou perfuração 30 dias após o início do tratamento.

Os dados obtidos foram submetidos à análise descritiva. O PAP e o PC das perfurações de MT foram calculados em cada grupo. As variáveis categóricas (efeito final do tratamento nas perfurações de MT) foram descritas por meio de sua frequência e comparadas entre grupos usando o teste exato de Fisher. As variáveis contínuas (PAP e PC) foram descritas por meio de suas médias e desvios-padrão e submetidas à análise de variância com um fator (“one-way” ANOVA). A comparação dos grupos dois a dois foi feita pelo teste “post-hoc” de Bonferroni. Admitiu-se nível de significância estatística de $p \leq 0,05$. A análise estatística foi realizada com uso de programa estatístico (STATA 8.0 TM).

RESULTADOS

A amostra inicial foi constituída por 42 animais (84 orelhas) submetidos a procedimento padronizado para criação de perfuração bilateral de MT. Decorridos 30 dias do procedimento, 38 orelhas (45,2%) foram excluídas por cicatrização parcial ou total da perfuração, por retração cicatricial excessiva com MT residual escassa e infecção, ou por óbito dos animais durante a indução anestésica (Figura 6). A amostra final foi constituída por 46 orelhas (54,8%) cuja perfuração cicatrizou menos que 10% após 30 dias e foram incluídas no protocolo de tratamento. Durante esta

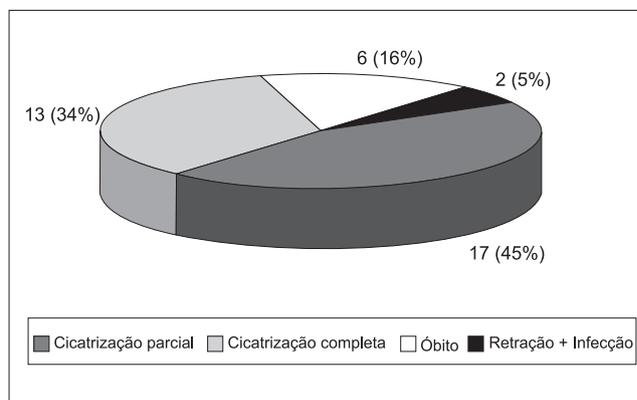


Figura 6. Causas de exclusão decorridos 30 dias do procedimento.

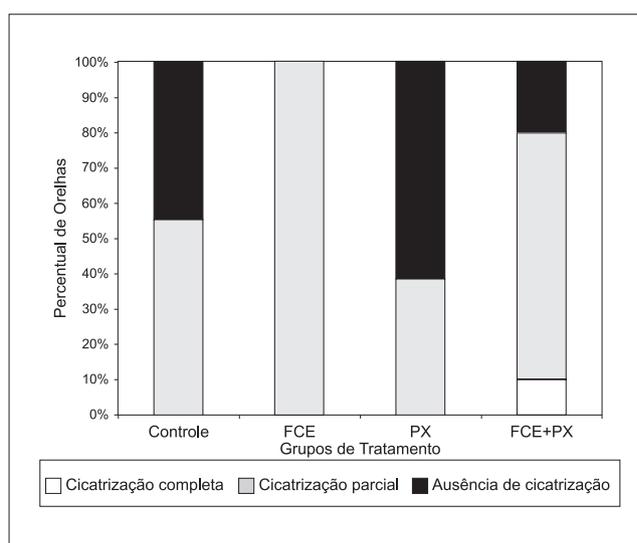


Figura 7. Percentual de cicatrização entre os grupos de tratamento.

etapa, três animais foram perdidos por óbito na indução anestésica e, portanto, seis orelhas foram excluídas da análise dos dados. As 40 orelhas (47,6%) restantes foram distribuídas entre os grupos de tratamento da seguinte maneira: 9 no grupo controle, 8 no grupo FCE, 13 no grupo PX e 10 no grupo FCE + PX.

Como podemos observar na Figura 7, houve cicatrização total da perfuração em apenas uma (10%) orelha do grupo FCE + PX. Neste mesmo grupo a cicatrização parcial ocorreu em sete (70%) orelhas e a ausência de cicatrização em duas (20%) orelhas. As oito (100%) orelhas do grupo FCE apresentaram cicatrização parcial, o que também ocorreu em cinco (55%) orelhas do grupo-controle e em cinco (38,5%) orelhas do grupo PX. A diferença observada na distribuição dos resultados mostrou-se estatisticamente significativa pelo teste exato de Fisher ($p = 0,007$).

Antes do início do tratamento, os grupos não apresentaram diferença entre as médias do PAP (ANOVA; $p = 0,572$; Tabela 1). O PAP médio neste momento era cerca de 50%. Trinta dias após o tratamento, os grupos apresentaram diferença estatisticamente significativa entre as médias do PAP (ANOVA; $p < 0,001$). O PAP médio nos grupos controle e PX mantiveram-se acima de 44%, enquanto os demais grupos apresentaram médias bem inferiores (Tabela 2). A Figura 8 mostra o PAP antes e 30 dias após o tratamento. As comparações entre os grupos, dois a dois, mostraram que a média do PAP após o tratamento foi significativamente menor no grupo FCE do que nos grupos controle ($p = 0,003$) ou PX ($p < 0,001$). Não houve diferença entre as médias do PAP quando comparados os grupos controle e PX ($p = 1,00$); controle e FCE + PX ($p = 0,964$); FCE e FCE + PX ($p = 0,097$); e PX e FCE + PX ($p = 0,142$).

Quanto às médias do PC das perfurações de MT, observamos diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tratamento (ANOVA; $p < 0,001$; Tabela 3). O PC médio manteve-se abaixo de 9% nos grupos controle e PX e acima de 16% nos demais. As comparações dos grupos de estudo, dois a dois, mostraram que a média do PC no grupo FCE foi significativamente maior do que nos grupos controle e PX ($p = 0,003$ e $< 0,001$ respectivamente). O PC médio no grupo FCE + PX apresentou tendência à diferença, porém não estatisticamente significativa, quando comparado aos grupos FCE ($p = 0,101$) e PX ($p = 0,069$). Não houve diferença estatisticamente significativa no PC médio quando comparados os grupos controle e PX ($p = 1,00$) e FCE + PX e controle ($p = 0,874$), Figura 9.

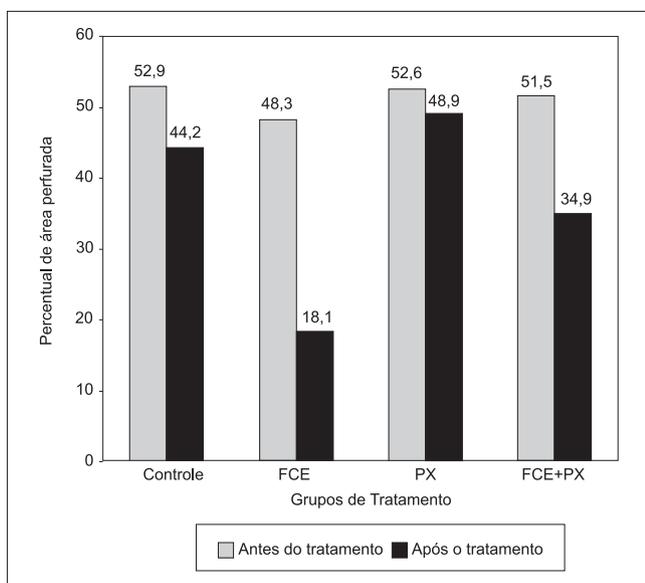


Figura 8. Percentual de área perfurada entre os grupos antes e após o tratamento.

Tabela 1. Médias do Percentual de Área Perfurada entre os grupos antes do início do tratamento.

PAP	Controle	FCE	PX	FCE+PX	p
Média	52,9	48,3	52,6	51,5	0,572
Desvio padrão	7,7	6,2	8,1	7,1	
Mínimo	41,1	40,1	39,1	38,6	
Máximo	65,1	59,2	68,2	62,7	

Legenda. PAP: percentual de área perfurada; FCE: fator de crescimento epitelial; PX: pentoxifilina; p: nível de significância (ANOVA).

Tabela 2. Médias do Percentual de Área Perfurada entre os grupos trinta dias após o tratamento.

PAP	Controle	FCE	PX	FCE+PX	p
Média	44,2	18,1	48,9	34,9	<0,001
Desvio padrão	12,6	9,1	15,1	16,8	
Mínimo	16,6	8,4	16,4	0,05	
Máximo	61,6	30,4	69,1	55,9	

Legenda. PAP: percentual de área perfurada; FCE: fator de crescimento epitelial; PX: pentoxifilina; p: nível de significância (ANOVA).

Tabela 3. Médias do Percentual de Cicatrização entre os grupos de tratamento.

PC	Controle	FCE	PX	FCE+PX	p
Média	8,7	30,3	3,6	16,5	<0,001
Mínimo	-0,9	15,1	-13,9	0,09	
Máximo	27,8	40,4	27,1	49,7	

Legenda. PC: percentual de cicatrização; FCE: fator de crescimento epitelial; PX: pentoxifilina; p: nível de significância (ANOVA).

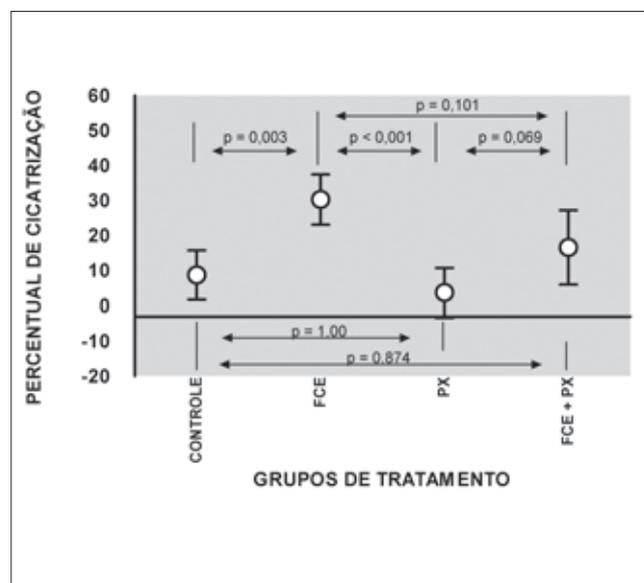


Figura 9. Percentual de cicatrização médio das perfurações de membrana timpânica (média = erro-padrão).

DISCUSSÃO

Pouco mais da metade de nossa amostra inicial apresentou perfurações de MT com cicatrização inferior a 10%, quatro semanas após o procedimento de perfuração. AMOILS et al. (23) usando modelo animal similar tiveram maior proporção de perfurações de MT não cicatrizadas (84%), porém com critérios de inclusão diferentes. Em nossa amostra as orelhas foram rigorosamente selecionadas para tratamento e em nenhum caso foi repetido o procedimento de perfuração nas MT com cicatrização espontânea, técnica adotada por aqueles autores. Por outro lado DVORAK et al. (12), usando modelo animal idêntico ao descrito por AMOILS et al. (23) obtiveram 31% de perfurações de MT não cicatrizadas.

Em estudo retrospectivo, GRIFFIN (19) observa que 70% das perfurações traumáticas de MT cicatrizam espontaneamente em 30 dias e que esta taxa de cicatrização cai para 18% nos meses subsequentes. As perfurações realizadas em MT de chinchilas neste estudo podem ser consideradas subagudas já que após 30 dias de observação tomamos o cuidado de excluir as orelhas com PC igual ou maior que 10%. Este critério foi adotado para cobrir qualquer margem de erro da medição e garantir que os eventos observados após este período pudessem ser atribuídos apenas à intervenção em questão. Além disto, em estudo anteriormente publicado realizamos análise histológica e imunohistoquímica de 16 MT, 30 dias após o procedimento de perfuração (24). Os resultados observados mostraram ausência de miofibroblastos que expressassem α -actina de músculo liso, célula esta indispensável na contração de todo e qualquer tecido em cicatrização, sugerindo cronificação do processo com surtos de reagudização, o que reforça a natureza subaguda das perfurações induzidas pelo modelo animal por nós utilizado (24).

O efeito final do tratamento sobre as perfurações de MT foi diferente entre os grupos. A cicatrização parcial e/ou total foi duas vezes mais freqüente nos grupos FCE e FCE + PX do que nos demais, enquanto a ausência de cicatrização foi mais freqüente nos grupos controle e PX. Nossos achados não podem ser diretamente comparados aos de outros autores (10-12), pois os mesmos trataram perfurações consideradas crônicas, usaram dois grupos de estudo (com ou sem FCE) e consideraram como desfecho apenas a cicatrização total das MT. Contudo, concordamos com AMOILS et al. (10) e LEE et al. (11) que a probabilidade de cicatrização é maior quando se utiliza o FCE.

O PAP médio e seu desvio-padrão antes do tratamento foram semelhantes entre os grupos, assegurando que as perfurações de MT possuíam aproximadamente o

mesmo tamanho inicial. A diferença estatisticamente significativa na média do PAP, 30 dias após o tratamento, entre os grupos, mostra que as drogas utilizadas influenciaram de modo diverso a cicatrização das perfurações de MT.

O FCE, no esquema posológico usado, promoveu um PC das perfurações de MT 1,8 vezes maior do que no grupo FCE + PX, 3,5 vezes maior que no grupo controle e 8,4 vezes maior que no grupo PX. O PC em cada grupo representa um período de tempo de 30 dias, considerando que o PAP inicial da MT era de aproximadamente 50% e supondo que este PC se mantenha contínuo, a cicatrização estaria completa em 1,5 mês após o início do tratamento no grupo FCE, em três meses no grupo FCE + PX, em 5,5 meses sem qualquer tratamento e em 12,5 meses no grupo PX.

Os estudos experimentais que testaram o FCE em perfurações crônicas de MT mostram resultados conflitantes. AMOILS et al. (10) e LEE et al. (11) observaram que o percentual de perfurações de MT com cicatrização completa foi três a quatro vezes maior no grupo FCE do que no grupo controle, enquanto DVORAK et al. (12) não conseguem reproduzir estes resultados. Parte desta discrepância pode ser decorrente do trauma mecânico e do sangramento induzidos na MT durante as trocas repetidas da esponja de gelatina (mais de seis vezes por orelha), o que deve ter favorecido a cicatrização espontânea no grupo controle.

Apesar do FCE não ser liberado para uso em humanos, RAMSAY et al. (13) realizaram um ensaio clínico aberto em que pacientes com otite média crônica foram tratados com FCE, porém observaram cicatrização média das perfurações de MT similar entre os grupos de estudo e placebo. É possível que parte deste resultado se deva às pequenas doses empregadas e ao curto tempo de exposição à droga.

A idéia de associar o FCE com a PX foi baseada no fato de que todo tecido necessita de oxigenação e vascularização suficientes para que ocorram mitose e replicação celular, e que a anóxia e as endoxinas inibem estes eventos (25). Nossa hipótese era que o uso de um indutor de fluxo sanguíneo, como a PX, poderia potencializar a ação mitogênica do FCE na cicatrização da MT. Contudo, não observamos benefício com o uso da PX em perfurações de MT em chinchilas. Pelo contrário, observamos menores PC da MT nos grupos que receberam PX. Este PC foi cerca de duas vezes menor no grupo FCE + PX quando comparado ao grupo FCE e 4,5 vezes menor no grupo PX quando comparado ao grupo FCE + PX, com tendência a uma diferença estatisticamente significativa pelo teste "post-hoc". Isto sugere que a PX provavelmente interfere negativamente na ação do FCE. Publicações demonstram que os efeitos celulares da PX, em especial a inibição da

fosfodiesterase, não são restritos aos eritrócitos (26, 27). O aumento nas concentrações intra-celulares do adenosina monofosfato cíclico ocorre em outros tipos celulares como fibroblastos e queratinócitos tratados com PX, o que resulta na inibição da proliferação celular, provavelmente por modulação para menos da ação de citocinas e de fatores de transcrição nuclear (26, 27).

JULL et al. (17) em revisão sistemática sobre os efeitos da PX em úlceras cutâneas crônicas concluem que o fármaco é 41% mais efetivo que o placebo na cicatrização destas lesões. Apesar de nossos resultados não poderem ser comparados com o destes autores, nossa expectativa inicial com o benefício da PX era bem maior. É possível que os bons resultados observados por eles (17) possam ser atribuídos em parte aos efeitos anti-inflamatório e anti-fibrogênico do fármaco, fato este até pouco tempo desconhecido (28, 29). De acordo com estes autores a PX é capaz de reduzir a produção de citocinas pró-inflamatórias e de fatores indutores da fibrinogênese, limitando a proliferação celular (28, 29).

Nossos resultados não são comparáveis aos de LIM et al. (18), pois estes usaram a PX em um modelo experimental de perfurações agudas de MT em cobaias, com grande potencial de cicatrização espontânea, o que em parte compromete a avaliação da ação isolada do fármaco. Contudo, assim como esses autores, não observamos benefício com o uso da PX sobre o PC de perfurações de MT.

CONCLUSÃO

O FCE auxiliou o processo de cicatrização de perfurações subagudas de MT de chinchilas, o que não se observou com a PX. A associação da PX com o FCE não potencializou seu efeito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bento RF, Miniti A, Marone SAM. Tratado de otologia. 1a ed. São Paulo: EDUSP; 1998.
2. Laidlaw DW, Costantino PD, Govindaraj S, Hiltzik DH, Catalano PJ. Tympanic membrane repair with a dermal allograft. *Laryngoscope* 2001;111(4 Pt 1):702-7.
3. Oliveira JAA, Hyppolito MA, Netto JC, Mrué F. Myringoplasty using a new biomaterial allograft. *Rev Bras Otorinolaringol.* 2003;69(5):649-655.
4. Carpenter G, Cohen S. Human epidermal growth factor and the proliferation of human fibroblasts. *J Cell Physiol* 1976;88(2):227-37.

5. Aharonov A, Pruss RM, Herschman HR. Epidermal growth factor. Relationship between receptor regulation and mitogenesis in 3T3 cells. *J Biol Chem* 1978;253(11):3970-7.
6. Bennett NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing: Part II. Role in normal and chronic wound healing. *Am J Surg* 1993;166(1):74-81.
7. ODaniel TG, Petitjean M, Jones SC, Zogg J, Martinez SA, Nolph MB, et al. Epidermal growth factor binding and action on tympanic membranes. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1990;99(1):80-4.
8. Mondain M, Ryan A. Epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor are induced in guinea-pig tympanic membrane following traumatic perforation. *Acta Otolaryngol* 1995;115(1):50-4.
9. Somers T, Goovaerts G, Schelfhout L, Peeters S, Govaerts PJ, Offeciers E. Growth factors in tympanic membrane perforations. *Am J Otol* 1998;19(4):428-34.
10. Amoils CP, Jackler RK, Lustig LR. Repair of chronic tympanic membrane perforations using epidermal growth factor. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1992;107(5):669-83.
11. Lee AJ, Jackler RK, Kato BM, Scott NM. Repair of chronic tympanic membrane perforations using epidermal growth factor: progress toward clinical application. *Am J Otol* 1994;15(1):10-8.
12. Dvorak DW, Abbas G, Ali T, Stevenson S, Welling DB. Repair of chronic tympanic membrane perforations with long-term epidermal growth factor. *Laryngoscope* 1995;105(12 Pt 1):1300-4.
13. Ramsay HA, Heikkinen EJ, Laurila PK. Effect of epidermal growth factor on tympanic membranes with chronic perforations: a clinical trial. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;113(4):375-9.
14. Ward A, Clissold SP. Pentoxifylline. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic efficacy. *Drugs* 1987;34(1):50-97.
15. Nemiroff PM. Synergistic effects of pentoxifylline and hyperbaric oxygen on skin flaps. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1988;114(9):977-81.
16. Armstrong M, Jr., Kunar DR, Cummings CW. Effect of pentoxifylline [corrected] on myocutaneous flap viability in pigs. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1993;109(4):668-75.
17. Jull AB, Waters J, Arroll B. Pentoxifylline for treating

venous leg ulcers. *Cochrane Database Syst Rev* 2002(1):CD001733.

18. Lim AA, Washington AP, Greinwald JH, Lassen LF, Holtel MR. Effect of pentoxifylline on the healing of guinea pig tympanic membrane. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2000;109(3):262-6.

19. Griffin WL, Jr. A retrospective study of traumatic tympanic membrane perforations in a clinical practice. *Laryngoscope* 1979;89(2 Pt 1):261-82.

20. Bento RF, Lessa MM, Chung D, Wiikmann C, Miniti A. *Conduas práticas em otologia*. 1a ed. São Paulo: Fundação Otorrinolaringologia; 2002.

21. NationalResearchCouncil. *Manual sobre cuidados e usos de animais de laboratório*. 1a ed. Goiânia: National Academy Press; 2003.

22. Souza NL. Eutanásia. In: Luca RR, Alexandre SR, Marques T, Souza NL, Merusse JLB, Neves SP, editors. *Manual para técnicos em bioterismo*. 2a ed. São Paulo: FINEP-COBEA; 1996. p. 157-177.

23. Amoils CP, Jackler RK, Milczuk H, Kelly KE, Cao K. An animal model of chronic tympanic membrane perforation. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1992;106(1):47-55.

24. Ramalho JR, Bento RF. Healing of subacute tympanic

membrane perforations in chinchillas treated with epidermal growth factor and pentoxifylline. *Otol Neurotol* 2006;27(5):720-7.

25. Bankey P, Fiegel V, Singh R, Knighton D, Cerra F. Hypoxia and endotoxin induce macrophage-mediated suppression of fibroblast proliferation. *J Trauma* 1989;29(7):972-9; discussion 979-80.

26. Berman B, Duncan MR. Pentoxifylline inhibits normal human dermal fibroblast in vitro proliferation, collagen, glycosaminoglycan, and fibronectin production, and increases collagenase activity. *J Invest Dermatol* 1989;92(4):605-10.

27. Gilhar A, Grossman N, Kahanovicz S, Reuveni H, Cohen S, Eitan A. Antiproliferative effect of pentoxifylline on psoriatic and normal epidermis. In vitro and in vivo studies. *Acta Derm Venereol* 1996;76(6):437-41.

28. Stosic-Grujicic S, Maksimovic D, Badovinac V, Samardzic T, Trajkovic V, Lukic M, et al. Antidiabetogenic effect of pentoxifylline is associated with systemic and target tissue modulation of cytokines and nitric oxide production. *J Autoimmun* 2001;16(1):47-58.

29. Raetsch C, Jia JD, Boigk G, Bauer M, Hahn EG, Riecken EO, et al. Pentoxifylline downregulates profibrogenic cytokines and procollagen I expression in rat secondary biliary fibrosis. *Gut* 2002;50(2):241-7.