

Cicatrização da membrana tímpanica na timpanocentese com laser de argônio comparado à técnica com microlanceta: estudo experimental em ratos

Tympanic membrane healing in myringotomies performed with argon laser or microknife: an experimental study in rats

Lucio Almeida Castagno¹, Luiz Lavinsky²

Palavras-chave: laser de argônio, otite média aguda recorrente, otite média secretora, ratos wistar, timpanocentese.
Keywords: argon laser, recurrent acute otitis media, secretory otitis media, wistar rats, myringotomy.

Resumo / Summary

O tite média secretora (OMS) e otite média aguda recorrente (OMAR) podem necessitar tratamento cirúrgico para adequada ventilação da orelha média. A abertura clássica do tímpano (timpanocentese) requer incisão por microlanceta sob controle de microscópio cirúrgico e mantém-se patente por alguns dias. Estudos recentes sugerem que a timpanocentese feita por diferentes lasers pode permanecer permeável por maior tempo, o que possibilitaria a normalização da otite média. **Material e Métodos:** Neste estudo experimental 34 ratos linhagem Wistar, albinos, machos adultos pesando cerca de 300g, foram anestesiados com cetamina 27 mg/kg e xilazina 2,7 mg/kg. A seguir, foram submetidos à timpanocentese incisional com microlanceta no ouvido direito (ML-OD), e à timpanocentese mediada por laser de argônio no ouvido esquerdo (LA-OE). **Resultados:** Não houve diferença significativa no tempo de cicatrização das timpanocenteses feitas com laser de argônio ou microlanceta. Todas as timpanocenteses cicatrizaram em 10 dias. **Conclusão:** A timpanocentese com laser de argônio apresentou patência e cicatrização semelhantes à técnica clássica com microlanceta realizada em ratos Wistar sem enfermidades de orelha média.

Secretory otitis media (SOM) and recurrent acute otitis media (RAOM) may require surgical treatment to properly ventilate the middle ear. Incisional myringotomy is usually done under microscopy with a micro-knife, but it remains patent for just a few days. Recent research indicates that laser assisted myringotomies remain open much longer, allowing middle ear ventilation and healing. **Material and methods:** In this experimental study 34 white, male, adult, Wistar rats, without middle ear disease were submitted to anesthesia with ketamine 27 mg/kg and xylazine 2,7 mg/kg. Incisional myringotomy was done on the right ear, while laser myringotomy was done on the left. Myringotomies were evaluated periodically until healing. **Results:** The healing times were equivalent. All myringotomies healed within 10 days. **Conclusion:** Argon laser assisted myringotomy healed just as early on as incisional myringotomy on Wistar rats without middle ear diseases.

¹ Doutor em Cirurgia, Otorrinolaringologista - Clínica Dr. Castagno.

² Pós-Doutorado em Otorrinolaringologia, Chefe do Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Endereço para correspondência: Clínica Dr. Castagno - Rua General Osório 1585 Pelotas RS 96020-000.

Este artigo foi submetido no SGP (Sistema de Gestão de Publicações) da RBORL em 1 de maio de 2006. cod. 1880.

Artigo aceito em 5 de junho de 2006.

INTRODUÇÃO

O impacto sócio-econômico da otite média é muito significativo, sendo responsável por 1/3 das consultas pediátricas por enfermidades, e por 25% de todas as prescrições de antibióticos orais nos EUA. Timpanocentese com inserção de tubo de ventilação é um dos procedimentos cirúrgicos mais freqüentes em crianças a requerer anestesia geral. Embora seja um procedimento simples, tem custos hospitalares e complicações podem ocorrer. Por outro lado, a otite média não tratada, ou inadequadamente tratada, leva a seqüelas e possíveis limitações funcionais importantes¹.

Timpanocentese simples com incisão da membrana timpânica por microlanceta sob controle de microscópio cirúrgico é a técnica padrão clássica, apresentando permeabilidade muito transitória, pois a perfuração cicatriza em alguns dias, em geral antes da orelha média estar normalizada². Armstrong³ reintroduziu o uso do tubo de ventilação, um método descrito por Politzer no fim do século XIX, com o objetivo de ventilar de forma prolongada a orelha média. Acredita-se que em cerca de 4 semanas, com ventilação apropriada, ocorra a normalização da mucosa da orelha média. Entretanto, o uso de material sintético não-biológico do tubo de ventilação na membrana do tímpano pode levar a seqüelas como otorrêia (12-40% dos casos), timpanosclerose progressiva (48%), atrofia timpânica com bolsa de retração (28%), e perfuração timpânica persistente⁴.

Timpanocentese por microeletrocautério foi inicialmente descrita por Saito et al.⁵. O tempo necessário para cicatrização dessa perfuração timpânica é maior (15-18 dias)⁶, o que favorece a normalização da orelha média. Uma vez que o tempo de cicatrização de queimaduras por laser na pele é muito similar às causadas por eletrocautério, o uso de laser em timpanocenteses foi introduzido nos últimos 20 anos.

Técnicas de timpanocenteses mediadas por laser de CO₂⁷⁻¹² e Neodímio-YAG laser¹³ foram descritas, e são realizadas com sistemas acoplados ao microscópio cirúrgico, ou por oto-probe associado ao otoscópio clínico. São procedimentos ambulatoriais, rápidos, com anestesia local e mínima dor, popularizados nos Estados Unidos a partir de 1998 com a introdução de um sistema de CO₂-laser acoplado à vídeo-otoscopia (OtoLAM, ESC Medical Systems, Needham, MA), originalmente desenvolvido na Universidade de Tel-Aviv¹⁴. Tem a vantagem adicional de poder prescindir a inserção do tubo de ventilação e suas possíveis seqüelas pelo menos em parte dos pacientes.

Soderberg et al.¹⁵, estudando timpanocenteses em ratos Sprague-Dawley, concluíram que a cicatrização na incisão por microlanceta ocorre em 9-11 dias por hiperplasia do epitélio escamoso queratinizado suportado por tecido conjuntivo hiperplasiado e ricamente vascularizado. Após

o fechamento da perfuração, o epitélio retorna ao normal em 1-2 dias, enquanto o tecido conjuntivo permanece espesso. Na timpanocentese térmica, o suprimento vascular do tímpano parece alterado, pois não há vasos visíveis ao longo do cabo do martelo até tarde na cicatrização; histologicamente, a camada epitelial externa está destruída muito além da borda da perfuração, e apenas após 6-9 dias o epitélio cicatricial hiperplasiado atinge o colágeno na borda da perfuração; em outros 6-9 dias, cicatriza-se como na incisão com microlanceta. A timpanocentese por laser de CO₂ tem cicatrização semelhante à do processo com cautério, porém com menos reação inflamatória e ainda mais lenta (18-21 dias).

Há muitos anos são utilizados, em oftalmologia, aparelhos de laser de argônio. Contudo, a julgar pela literatura médica, é muito limitada sua aplicação em timpanocenteses¹⁶⁻¹⁹. O laser de argônio compartilha de características similares - em geral intermediárias - ao laser de CO₂ e Neodímio-YAG laser.

As características ultra-estruturais da membrana timpânica humana são essencialmente as mesmas dos animais de laboratório^{20,21}. A estrutura da orelha média tem sido extensamente estudada ao longo das últimas três décadas na chinchila, particularmente por apresentar dimensões, formas e volumes muito semelhantes às humanas²². O diâmetro médio da membrana timpânica na chinchila situa-se entre 8.32 a 8.53mm, correspondendo a cerca de 90% do tímpano humano. Por outro lado, o volume da orelha média no chinchila é de 1.53ml, enquanto que no homem situa-se entre 2-3ml. Mamíferos maiores também podem ser utilizados na experimentação otológica. Ovelhas apresentam diâmetro timpânico médio de 5.3 e 8.2mm, e cerca de 81% da superfície equivalente ao tímpano humano²³⁻²⁵.

Estudos sobre a orelha média do rato são ainda limitados, particularmente em relação à linhagem Wistar. O diâmetro timpânico (ântero-posterior) encontrado varia de 2,2 a 2,4mm. Há uma grande área de pars flaccida, correspondendo a quase 1/3 da pars tensa. A pars flaccida no rato vivo distende-se significativamente com a respiração, formando uma grande bolha, que chega a ocupar quase toda a extensão da pars tensa na expiração mais intensa ou quando guincha. A estrutura do martelo, bigorna e estribo no rato é muito semelhante à humana. Contudo, a forma e orientação do martelo e, principalmente, a extensão da pars flaccida são bem distintas (Figura 1). Os ossículos são pequenos (cerca de 1/4 das dimensões) e quase totalmente escondidos no epitímpano; a mastóide é substituída por uma célula aérea única. Ossículos, nervo facial, e músculos estapédio e tensor do tímpano são muito semelhantes aos humanos^{26,27}. Por outro lado, o uso de ratos como animais de laboratório tem baixo custo e maior disponibilidade em relação às chinchilas.

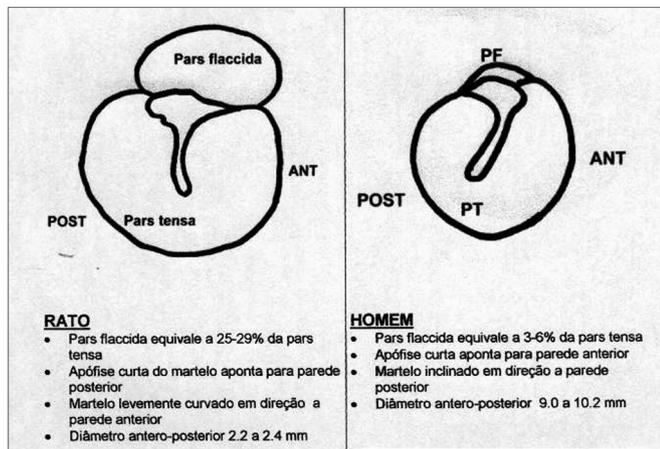


Figura 1. Anatomia do tímpano no rato Wistar comparado ao humano.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho realizado na Clínica Dr.Castagno em ratos Wistar em 2002-2003 foi devidamente aprovado pelo comitê de ética em pesquisa, protocolo nº 01/2002.

Trinta e quatro ratos albinos da linhagem Wistar, machos, pesando 250-300g, foram anestesiados com a associação cetamina 27mg/kg e xilazina 2,7mg/kg, aplicada por via intramuscular. Timpanocentese incisional foi realizada com microlanceta no ouvido direito (ML-OD), e à timpanocentese mediada por laser de argônio no ouvido esquerdo (LA-OE). As timpanocenteses foram documentadas com gravação por meio de câmara de vídeo acoplada a endoscópio rígido Storz (Hopkins) com diâmetro de 2.7mm. As imagens representativas são impressas com videoprinter. Os exames de acompanhamento feitos sem anestesia, no dia do procedimento e a cada 10 dias. São comparados a forma da perfuração e tempo de cicatrização para cada grupo. Não é feita assepsia do conduto auditivo externo, nem utilizado antibiótico no pós-operatório.

A timpanocentese incisional (ML-OD) nos ratos não permite o uso das microlancetas de cirurgia otológica humana, pois o diâmetro da membrana timpânica é de 2,2 a 2,4mm. Assim sendo, optou-se por usar um microestilete otológico, com ponta muito fina e cortante, para fazer a timpanocentese incisional. Após anestesiado, o rato é colocado na posição cirúrgica. O auxiliar traciona levemente o pavilhão da orelha com uma pinça mosquito, permitindo que o conduto auditivo externo seja retificado, o que facilita a introdução do telendoscópio rígido de Hopkins (Storz) de 30° com diâmetro de 2,7mm até o porus acústico. O rato com anestesia demasiado superficial contrai a musculatura adjacente ao conduto auditivo e impede a progressão do endoscópio. Ao mesmo tempo em que o endoscópio progride em direção ao tímpano,

introduz-se o micro-estilete um pouco à frente, sob controle de vídeo, de maneira similar à utilizada em cirurgia endoscópica naso-sinusal.

A timpanocentese mediada por laser (LA-OE), neste estudo, é feita com aparelho de laser de argônio PC-EDO (HGM Inc, Salt Lake City, EUA) que permite aplicar potência máxima de 2.2W, contínuo ou pulsado, através de pequena microfibras de 300 micra. Essa microfibras, quando colocada a menos de 1mm do alvo, produz pontos de 0,55-0,30mm, sendo que, com impactos de 1.7W, obtém-se intensidade de 2.405 W/cm² (ponta da microfibras) a 726 W/cm² (a 1mm da microfibras). Um estudo piloto foi realizado na membrana timpânica de seis ratos e os parâmetros escolhidos para fazer uma timpanocentese, preferencialmente circular no quadrante ântero-inferior, foram definidos como: potência 1.9W - duração 0,2 segundo - distância da microfibras 1mm - 1 a 2 impactos. A densidade de energia (DE= potência x tempo /superfície) nesse protocolo é de 7,6 J/cm², sendo que, com densidade superior a 5J/cm², é possível obter vaporização sem carbonização.

RESULTADOS

Os 34 ratos Wistar foram submetidos à timpanocentese incisional com microestilete na orelha direita (ML-OD) e mediadas por laser de argônio na orelha esquerda (LA-OE) que pode ser visto na Figura 2 (a-b-c). As timpanocenteses incisionais foram distribuídas em três grupos de acordo com o formato. A timpanocentese radial, em que a incisão estende-se de forma linear entre o cabo do martelo e o ânulo timpânico (posição 4 a 5 horas, considerando-se a base do martelo 12 horas), era o pretendido no estudo e ocorreu em 64.7%. Contudo, pela própria dificuldade da técnica em que o microestilete deve fazer uma abertura com menos de 1mm no hemitímpano anterior do rato, também ocorreram timpanocenteses de formato triangular (20.6%) e timpanocenteses amplas irregulares (14.7%). Essas, amplas e irregulares, que tomam todo o quadrante ântero-superior do tímpano, tendem a ocorrer quando o microestilete perfura a membrana timpânica em contato com o cabo do martelo e é tracionado em direção ao quadrante superior (posição de 1 hora), causando um descolamento do segmento de tímpano ligado anteriormente ao martelo. A cicatrização de todas essas timpanocenteses, no entanto, ocorreu ao longo dos primeiros 10 dias.

As timpanocenteses mediadas por laser de argônio, de 0,4 a 0,8mm, apresentaram três aspectos principais. Timpanocentese circular (47.1%) ocorre quando o microprobe não sofre deslocamento significativo e os impactos do laser são feitos no mesmo local. A timpanocentese oval (47.1%) decorre de impactos adjacentes. Timpanocentese irregular ocorre quando os impactos são múltiplos e adjacentes

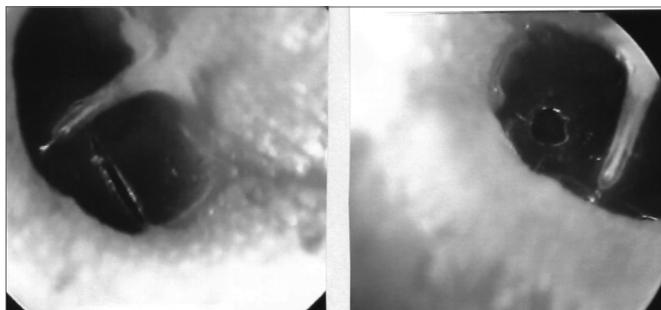


Figura 2a. Timpanocentese radial por microlanceta (esquerda), e circular por laser de argônio (direita).

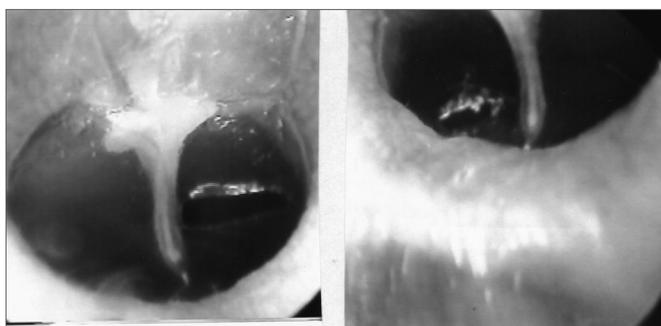


Figura 2b. Timpanocentese triangular por microlanceta (esquerda), e oval por laser de argônio (direita).

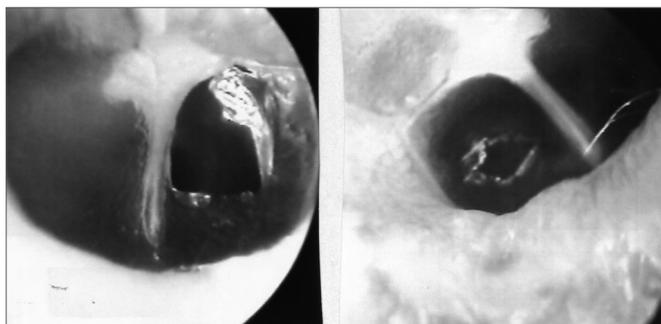


Figura 2c. Timpanocentese ampla por microlanceta (esquerda), e irregular por laser de argônio (direita).

(5.9%). Todas as timpanocenteses também cicatrizaram dentro de 10 dias.

DISCUSSÃO

O rato albino Wistar apresenta orelha média muito semelhante à humana. O conduto auditivo é estreito, mas permite o manuseio com videoendoscópio em uma das mãos e microinstrumento na outra. A ampla disponibilidade desses ratos, baixo custo, e fácil manuseio em laboratório os tornam uma boa alternativa em microcirurgia otológica experimental. Ainda assim, estudos sobre a anatomia da orelha média dos ratos são muito limitados^{28,29}.

A técnica aqui desenvolvida de timpanocentese controlada por videoendoscopia em ratos é exequível após

alguma prática. O manuseio do endoscópio é semelhante ao utilizado na cirurgia endoscópica naso-sinusal e, mais recentemente, em miringoplastias³⁰.

O tratamento da otite média secretora tem variado ao longo dos anos. Armstrong³, em 1954, popularizou o uso dos tubos de ventilação inseridos na membrana timpânica após timpanocentese incisiva com microlanceta. Timpanocentese e inserção de tubos de ventilação tornaram-se o procedimento cirúrgico com anestesia geral mais comum em crianças nos Estados Unidos, totalizando mais de um milhão por ano³¹. A despeito do sucesso desse procedimento, há certa relutância de pais e médicos em submeter crianças à anestesia geral, com complicações menores (obstrução ventilatória, recuperação prolongada, vômitos e agitação) ocorrendo em 9% dos casos, e complicações maiores em 1.9% (laringospasmo e estridor)³². A possibilidade de realizar timpanocentese com laser, sob anestesia tópica, em nível ambulatorial, com segurança, em poucos minutos, e eventualmente prescindindo tubo de ventilação certamente motiva diversos pesquisadores.

A cicatrização de timpanocenteses por microlanceta, entretanto, tende a ocorrer muito rapidamente (menos de duas semanas), o que não é suficiente para recuperar a maior parte das otites médias secretoras. Prolonga-se a patência da timpanocentese com a inserção de um tubo de ventilação, o qual permanece usualmente por 6-14 meses. Esse tempo pode ser excessivamente longo e levar a complicações³³⁻³⁵. Experiências anteriores indicam que a cicatrização dá-se mais lentamente com microeletrocautério e principalmente com laser.

Nos animais de laboratório, a timpanocentese térmica com microeletrocautério foi estudada por Kent e Rhys-Evans³⁶ em 50 guinea pigs: 76% cicatrizaram em 3 semanas, e todos estavam cicatrizados após 6 semanas. Não há referência ao tamanho da perfuração.

Em humanos, Goode e Schulz³⁷ fizeram timpanocenteses térmicas de 2mm em 10 pacientes com otite média secretora: todas estavam permeáveis em 3-4 semanas e cicatrizadas em 6 semanas. Saito et al.⁵ tentaram criar timpanocenteses permanentes com cautério: em oito pacientes, mais de 25% do tímpano foi perfurado, e permaneceu patente durante 6 meses. Perfurações menores de 25% cicatrizavam em 3 meses, e o tempo de fechamento está diretamente ligado ao tamanho da timpanocentese. Ruckley e Blair³⁸ estudaram 36 crianças com OMS e compararam os resultados da timpanocentese térmica (3 x 1.5mm) em um ouvido com a inserção de tubos de ventilação no outro: todas as timpanocenteses com cautério cicatrizaram dentro de 42 dias, com uma permeabilidade média de 26 dias. Potocki e Hoffmann³⁹ realizaram timpanocenteses térmicas (2 a 3mm) em 13 pacientes em tratamento com oxigênio hiperbárico: 96% das perfurações estavam permeáveis na quinta semana e 15% continuavam patentes após 6 meses. Deve-se considerar que pacientes em tratamento com

oxigênio hiperbárico apresentam importantes problemas de cicatrização (diabete, enfermidade periférica vascular, amputações). Entre nós, Wenzel⁴⁰ realizou timpanocenteses com microeletrocautério modelo Lavinsky-HCPA em 83 crianças: 70,5% estavam permeáveis após 30 dias, e 5,2% das timpanocenteses ainda estavam patentes após 90 dias.

Timpanocentese por laser de CO₂ foi inicialmente realizada por Wilpizeski et al.⁴¹ em 1977, em 40 macacos squirrel, removendo todo o quadrante timpânico pósterosuperior. Goode⁴², em 1982, apresentou timpanocenteses por laser de CO₂ em dez gatos e, possivelmente, o primeiro relato em onze pacientes. As perfurações de 1.5 a 2.5mm nos gatos fecharam em 3-6 semanas; e 90% das timpanocenteses (1.5 a 2.5mm de diâmetro) nos pacientes cicatrizaram dentro de 6 semanas. De Rowe et al.¹⁴ desenvolveram um sistema com laser de CO₂ aplicado por fibra óptica ao otoscópio e realizaram 30 timpanocenteses de 1.5 a 2mm em guinea pigs. Essas permaneceram patentes por tempo variável, na dependência da quantidade de energia e tempo de duração do laser: 9.2 dias (0.8 Joules/ 0.05s), 15 dias (1.2 Joules/ 0.2s) e por 27.4 dias (1.6 Joules/ 0.2s). Concluíram que quanto maior a energia e maior o tempo de exposição, tanto mais permanecerá patente a timpanocentese. Enfatizaram ainda, que, ao usar um microprobe de fibra óptica ocorre dispersão do laser a partir da ponta, de forma que estruturas mais distantes, como promontório ou ouvido interno, não sofrem qualquer dano. De fato, enquanto sistemas com micromanipuladores em microscópio cirúrgico apresentam um ângulo de divergência do laser de apenas 3° (e em consequência não perdem potência no percurso), as microfibras ópticas apresentam divergência de 13°, causando aumento do ponto de impacto de acordo com a distância, com perda significativa de foco e potência. Assim, não há lesão em estruturas adjacentes à membrana timpânica nas timpanocenteses por laser transmitido com microfibras ópticas. Valtonen et al.⁴³ estudaram a influência da forma da timpanocentese (de 1.2 a 2.2mm, circulares ou riniformes) por laser de CO₂ realizada em 18 chinchilas, constatando que perfurações circulares tendem a cicatrizar mais rapidamente.

Neste estudo, ratos Wistar foram submetidos a timpanocenteses com laser de argônio com 7,6J e tempo de duração de 0,2s. O diâmetro maior dessas timpanocenteses oscilou entre 0,4 a 0,8mm, sendo que o tímpano no rato Wistar de 250-300g tem diâmetro entre 2,2 e 2,4mm. Não encontramos qualquer diferença entre as diversas formas de timpanocenteses, e todas estavam cicatrizadas no décimo dia. Realmente essas timpanocenteses são menores que o preconizado em estudos com chinchilas, guinea pigs, macacos e pacientes. Mas, ao considerar a proporção da timpanocentese em relação ao diâmetro do tímpano, encontra-se nos ratos Wistar (0.26), na chinchila (0.25), e no homem (0.21). Ou seja, não há diferença proporcional

significativa na timpanocentese feita nos ratos. Por outro lado, não houve qualquer diferença em relação às timpanocenteses incisionais por microestilete feitas nos mesmos ratos aqui avaliados. Ainda são desconhecidos os motivos pelos quais o laser de argônio não apresentou resultados comparáveis ao laser de CO₂ em timpanocenteses feitas em animais de laboratório.

Nos humanos, a timpanocentese por laser de CO₂ parece estabelecer-se como uma nova e eficiente modalidade de ventilação ou drenagem da orelha média, podendo reduzir a necessidade de antibióticos ou inserção de tubos de ventilação em pacientes com otite média secretora ou mesmo otite média aguda. É rápida e menos dolorosa que a timpanocentese incisional, realizável sob anestesia tópica⁴⁴, e permanece permeável por mais tempo. Recentemente, foi descrita também em casos atípicos, como disfunção da tuba auditiva em indivíduos prestes a fazer viagem aérea, oxigenioterapia hiperbárica, e mastoidite⁴⁵. Contudo, Szeremeta et al.⁷ criticam a ênfase excessiva que timpanocentese por laser de CO₂ vem ganhando, no meio otológico e mesmo leigo, especialmente quando inexistem estudos clínicos controlados a respeito. Em sua série de 48 timpanocenteses incisionais comparadas a 39 mediadas por laser de CO₂, concluíram não haver redução significativa da efusão na orelha média: 100% das incisionais e 79% das timpanocenteses por laser estavam cicatrizadas dentro de 16 dias. Mais recentemente, entretanto, outros autores⁴⁶⁻⁴⁹ têm feito relatos entusiasmados quanto à versatilidade e eficácia do laser de CO₂ em manter timpanocenteses (cerca de 2mm de diâmetro) patentes por mais de duas semanas em adultos e crianças, embora os resultados sejam mais limitados em pacientes alérgicos⁵⁰.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Stool SE, Bluestone CD. Introduction in studies in otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1988;97(supl 133):6-8.
2. Soderberg O, Hellstrom, Stenfors LE. Myringotomy made by CO₂ laser - An alternative to the ventilation tube? *Acta Otolaryngol (Stockh)*1984;97:335-41.
3. Armstrong B. A new treatment for chronic secretory otitis media. *Arch Otolaryngol* 1954;59:653.
4. Sederberg-Olsen J, Sederberg-Olsen A, Jensen A. Late results of treatment with ventilation tubes for secretory otitis media in ENT practice. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1989;108:448-55.
5. Saito H, Miyamoto D, Kishimoto S. Burn perforation as a method of middle ear ventilation. *Arch Otolaryngol* 1978;104:79-81.
6. Soderberg O, Hellstrom, Stenfors LE. The healing pattern of experimental heat myringotomy. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord)* 1985;106:81-5.
7. Szeremeta W, Parameswaran M, Isaacson G. Adenoidectomy with laser incisional myringotomy for otitis media with effusion. *Laryngoscope* 2000;110(3 Pt 1):342-5.
8. Brodsky L et al. Office-based insertion of pressure equalization tubes: the role of laser-assisted tympanic membrane fenestration. *Laryngoscope* 1999;109:2009-14.
9. Garin P, Remacle M. Laser assisted myringotomy combined with adenoidectomy in children: preliminary results. *Acta Otorhinolaryngol Belg* 1999;53:105-8.
10. Cohen D et al. Middle ear laser office ventilation with CO₂ laser

- flashscanner. *J Clin Laser Med Surg* 1998;16:107-9.
11. Marchant H, Bisschop P. Intere de la myringotomie au laser CO₂ dans le traitement de l'otite seromucqueuse. *Ann Otolaryngol Chir Cervicofac* 1998;115:347-51.
 12. Silverstein H et al. Laser-assisted tympanostomy. *Laryngoscope* 1996;106(9 Pt 1):1067-74.
 13. Sedlmaier B et al. Experimental and clinical experiences with Er: YAG laser otoscope. *HNO* 2000;48:816-21.
 14. DeRowe A, Ophir D, Katzir A. Experimental study of CO₂ laser myringotomy with a hand-held otoscope and fiberoptic delivery system. *Laser Surg Med* 1994;15:249-53.
 15. Soderberg S, Hellstrom S, Stenfors LE. Tympanic membrane changes resulting from different methods of transmyringal middle ear ventilation. *Am J Otolaryngol* 1985;6:237-40.
 16. DiBartolomeo J, Ellis M. The argon laser in otology. *Laryngoscope* 1980;90:786-1786. 96.
 17. DiBartolomeo J. The argon laser and CO₂ lasers in otolaryngology. Which one and why? *Laryngoscope* 1981;91(9):supl 26:1-16.
 18. Gillis T et al. Argon laser and soft tissue interaction. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1984;92:7-12.
 19. Vincent R et al. Argon laser and Gherini-Causse Endo-Otoprobe in otologic surgery. *Ear Nose Thorat J* 1996;75:770-80.
 20. Johnson F, McMinn R, Atfield G. Ultrastructural and biochemical observations on the tympanic membrane. *J Anat* 1968;103:297.
 21. Lim D. Human tympanic membrane: An ultrastructural observation. *Acta Otolaryngol* 1970;70:176-86.
 22. Browning G, Granich M. Surgical anatomy of the temporal bone in the chichilla. *Ann Otol* 1978;87:875-82.
 23. Lavinsky L, Goycoolea M, Ganança M, Zwetsch Y. Surgical treatment of vertigo by utriculostomy: an experimental study in sheep. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1999;119:522-7.
 24. Lavinsky L, Seibel V. Detailed histologic, anatomic, and morphometric study of the middle ear in sheep to establish a new experimental model. *Annals of the 4th Extraordinary International Symposium on Recent Advances in Otitis Media*. Sendai, Japão; 2001. p. 231-5.
 25. Lavinsky L, Goycoolea M. In search of a teaching, training and experimental model for otological surgery. In: Tos M, Thompson J (ed.) *Otitis Media Today*. Copenhagen; 1997. p.1-8.
 26. Hellstrom S, Salen B, Stenfors L. Anatomy of the rat middle ear. *Acta Anat (Basel)* 1982;112:346-52.
 27. Judkins R, Li H. Surgical anatomy of the rat middle ear. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1977;117:438-47.
 28. Hellstrom S, Salen B, Stenfors L. Anatomy of the rat middle ear. A study under the dissection microscope. *Acta Anat (Basel)* 1982;112:346-52.
 29. Hellstrom S. Anatomy of the rat middle ear. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998;119:556-7.
 30. Karhuketo T, Puhakka H. Technique of endoscope-aided myringoplasty. *Otol Neurotol* 2002;23:129-31.
 31. Derkay C. Pediatric otolaryngology procedures in the US: 1977-1987. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1993;12:1-12.
 32. Hoffmann K, Thompson G, Burke B, Derkay C. Anesthetic complications of tympanostomy tube placement in children. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;128:1040-3.
 33. Lacosta J, Zabaleta M, Erdozain I. Evolucion de la otitis media secretora tratada con drenajes transtimpánicos. *Acta Otorrinolaringol Esp* 1996;47:346-53.
 34. Jimenez Antolin J et al. Miringotomia y tubos de ventilación transtimpánicos en otitis media secretora. *Acta Otorrinolaringol Esp* 1994;45:415-9.
 35. Moller P et al. Transtympanic ventilator tubes in the treatment of seromucous otitis. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord)* 1992;113:389-95.
 36. Kent S, Rhys-Evans P. Thermal myringotomy in guinea pigs. *J Laryngol Otol* 1987;101:103-15.
 37. Goode R, Schulz W. Heat myringotomy for the treatment of serous otitis media. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1982;90:764-6.
 38. Ruckley R, Blair R. Thermal myringotomy (an alternative to grommet insertion in childhood secretory otitis media?). *J Laryngol Otol* 1988;102:125-8.
 39. Potocki S, Hoffmann D. Thermal myringotomy for eustachian tube dysfunction in hypervaric oxygen therapy. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;121:185-9.
 40. Wenzel T. Avaliação do emprego de microeletrocautério na cirurgia da otite média secretora. *Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul*, 2000.
 41. Wilpizeski C et al. Otolological applications of lasers. *Trans Pa Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1977;30:185-92.
 42. Goode R. CO₂ Laser Myringotomy. *Laryngoscope* 1982;92:420-3.
 43. Valtonen H, Poe D, Shapshay S. Experimental CO₂ laser myringotomy. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;125:161-5.
 44. Hoffman R, Li C. Tetracaine topical anesthesia for myringotomy. *Laryngoscope* 2001;111:1636-8.
 45. Bent J, April M, Ward R. Atypical indications for OtoScan laser-assisted myringotomy. *Laryngoscope* 2001;111:87-9.
 46. Sedlmaier B et al. Ventilation time of the middle ear in otitis media with effusion after CO₂ laser myringotomy. *Laryngoscope* 2002;112:661-8.
 47. Cohen D et al. Laser myringotomy in different age groups. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;127:260-4.
 48. Reilly J, Deutsch E, Cook S. Laser-assisted myringotomy for otitis media: A feasibility study with short-term follow-up. *Ear Nose Throat J* 2000;79:650-7.
 49. Siegel G, Chandra R. Laser office ventilation of ears with insertion tubes. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;127:60-6.
 50. Prokopakis E et al. The role of laser assisted tympanostomy (LAT) in treating allergic children with chronic serous otitis media. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2002;62:207-14.