

Universitat de Lleida

Estudio del colesteatoma provocado en el conducto auditivo externo del Mongolian Gerbil "meriones unguiculatus"

Joan Carles Fortuny Llanses

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

UNIVERSITAT DE LLEIDA
FACULTAT DE MEDICINA

DEPARTAMENT DE MEDICINA

I CIRURGIA

Lleida 1993

TESIS DOCTORAL

Dirigida por el Profesor

Victor Palomar García

**ESTUDIO DEL COLESTEATOMA
PROVOCADO EN EL CONDUCTO
AUDITIVO EXTERNO DEL
MONGOLIAN GERBIL "MERIONES
UNGUICULATUS"**

Joan Carles Fortuny Llanses

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

Al Profesor Dr. Victor Palomar, Jefe del Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Arnau de Vilanova de Lleida, Profesor de ORL del Departament de Medicina i Cirurgia de la Facultat de Medicina de Lleida, que ha impulsado desde el principio como compañero y como Director, esta Tesis para acceder al grado de Doctor.

Al Profesor Dr. Josep Esquerda, Catedràtic de Histologia de la Facultat de Medicina de Lleida, por sus inestimables consejos.

A Antonio Nogués, Profesor de Microbiología de la Facultat de Medicina de Lleida, y al Servicio de Microbiología del Hospital Arnau de Vilanova de Lleida por su colaboración en la obtención de los datos microbiológicos

A todos mis amigos del Departament de Ciències Bàsiques de la Facultat de Medicina de Lleida, por su predisposición a colaborar en todo momento.

A mis compañeros del Servicio de Otorrinolaringología del Hospital Arnau de Vilanova de Lleida, por hacerse cargo de mi trabajo en el Hospital en los momentos finales de la realización del presente trabajo y por su colaboración en todo momento.

A Xavier Calomarde especialmente, por su incondicional apoyo, colaboración y dedicación plena en la realización de todos los procedimientos técnicos de laboratorio.

A la secció de Ultramicrotomia del Centre Científic i Tècnic de la Universitat Central de Barcelona, por la realizació de los cortes para microscopía electrónica.

A los responsables del animalario de la Facultat de Medicina de Lleida, por el esmero y dedicación que han demostrado desde el principio, lo cual ha facilitado enormemente mi labor.

A Ester

INDICE

INDICE

1.- INTRODUCCION.....	4
HISTORIA.....	5
ETIOPATOGENIA Y CLASIFICACION.....	9
FIGURAS: 1 a 6.....	21
HISTOPATOLOGIA DEL COLESTEATOMA OTICO.....	27
Membrana Timpánica.....	27
Oído Medio.....	32
Histología del Colesteatoma.....	39
FIGURAS: 7 a 11.....	47
OSTEOLISIS EN EL COLESTEATOMA.....	52
MICROBIOLOGIA DEL COLESTEATOMA.....	58
DESCRIPCION DE LA PIEL.....	63
Epidermis.....	63
Dermis.....	69
Grasa Subcutánea.....	70
TEJIDO OSEO.....	71
Descripción de las células óseas.....	71
MONGOLIAN GERBIL "MERIONES UNGUICULATUS"....	89
Descripción.....	89
Fisiología.....	91
Trastornos Patológicos.....	93
Anatomía y Fisiología del Oído.....	94
Ultraestructura mucosa del Oído Medio.....	104
FIGURAS: 12 a 18.....	106
2.- JUSTIFICACION Y OBJETIVOS.....	110
3.- MATERIAL Y METODOS.....	115

METODO ANESTESICO.....	116
PROVOCACION DEL COLESTEATOMA.....	117
ESTUDIO MICROBIOLOGICO.....	119
REVISION DE LOS OIDOS INTERVENIDOS.....	121
PROCESADO MUESTRAS ESTUDIO HISTOLOGICO.....	123
Microscopía Optica.....	124
Microscopía Electrónica de Transmisión....	127
FIGURAS 19 a 25.....	130
4.- RESULTADOS.....	135
MANIPULACION Y PESO.....	136
ANESTESIA.....	138
HALLAZGOS MACROSCOPICOS.....	143
Descripción hallazgos macroscópicos.....	144
Colesteatoma Espontáneo.....	195
FIGURAS: 26 a 33.....	196
RESULTADOS DE LA MICROBIOLOGIA.....	203
Microbiología del Oído no manipulado.....	204
Microbiología contenido del Colesteatoma..	205
DESCRIPCION HALLAZGOS HISTOLOGICOS.....	207
FIGURAS 34 a 70.....	217
5.- DISCUSION.....	246
GENERALIDADES.....	247
ANESTESIA.....	250
HALLAZGOS MICROBIOLOGIA.....	251
RESULTADOS MACROSCOPICOS.....	254
HALLAZGOS HISTOLOGICOS.....	259
6.- CONCLUSIONES.....	280
7.- BIBLIOGRAFIA.....	284

INTRODUCCION

INTRODUCCION

HISTORIA

En la historia de este proceso patológico, la denominación más frecuentemente empleada es la de "Colesteatoma Otico", frente a otras que pretenden ser más adecuadas, como referiremos más adelante.

Las primeras referencias se remontan al siglo XVII, concretamente a Du Verney en el año 1683 (Peron y Schuknecht 1975).

Pero no fue hasta mucho más tarde, en 1829, cuando vuelve a ser citado este proceso como tumor perlado (*tumeur perlée*) por Cruveilhier, un patólogo francés. Este autor es el primero en describir las características patológicas de esta enfermedad, refiriéndose al aspecto nacarado del mismo (Jahn 1989).

Cruveilhier aporta tres casos, uno de los cuales era propio y otros dos más que eran recopilaciones previas de los autores Le Preste y Dupuytren en 1807 (Derlacki y Clemis 1965).

La primera cita como "*Colesteatoma*" (cholesteatoma) aparece en 1838 y la debemos a Mueller (Derlacki 1965), fisiólogo alemán, que identifica la existencia de cristales de colesterol en el interior de un tumor

laminar perlado de grasa, que se distingue de otros tumores grasos por estar los cristales de colesterol entre las láminas de células poliédricas.

Esta denominación no se corresponde a la realidad, si estudiamos la palabra desde su etimología griega: CHOLE- (colesterol) , -STEA- (grasa) , -OMA (tumor) (Jahn 1989), dado que el Colesteatoma ótico no posee estas características citadas.

A pesar de ello ha sido y sigue siendo la denominación más utilizada por los otólogos, incluso en la actualidad.

Posteriormente Virchow en 1855 (Derlacki 1965) describe cuatro casos más de "tumor perlado" (*pearly tumor*) que afectan al sistema nervioso central, de posible origen ótico (citado en Chole 1984), aunque la afectación de la pirámide petrosa induce a pensar que se trataba de tumores del Peñasco del Temporal (Jahn 1989).

Este autor alemán, Rudolf Virchow, denomina a estos "tumores perlados" como "*Perlgeschwulst*" y para fundamentar este vocablo en una dudosa etimología griega, Craigie (citado en Jahn 1989) lo transforma en "*Margaritoma*" que significaría "perlas" en griego.

A los avances en el estudio y conocimiento del "tumor perlado" o "Colesteatoma", que va ganando fuerza en el vocabulario médico, le siguen importantes discusiones sobre su posible origen, sea epitelial o bien endotelial.

Así Remak, en 1854 (citado en Derlacki 1965), atribuye este proceso patológico al crecimiento de restos epiteliales congénitos.

Previamente Körner en 1830 (Derlacki 1965) había observado la existencia de tumoraciones intracraneales, semejantes a los Colesteatomas óticos, que atribuía a la existencia de quistes congénitos intracraneales. Así se estableció la "teoría tumoral" del Colesteatoma.

Tras la orientación tan distinta que ofrece este cuadro patológico, en función de la época en que se realizaron los estudios, podemos entrar en una especie de espiral de distintas teorías, distintos autores e incluso de separación de los procesos patológicos según el tipo de Colesteatoma citado.

Así citando a Sanna & Zini (1982), en una revisión del Colesteatoma congénito, podemos ver que se pueden agrupar las distintas tendencias históricas de esta forma en cuatro periodos en el tiempo:

1/.- Periodo de descubrimiento y descripción de tumores endocraneales, semejantes a "tumores perlados", ricos en colesterol. Este periodo viene representado por Pinson en 1807, Mueller en 1838 y Virchow en 1855.

2/ Periodo caracterizado por los neurocirujanos, que hallan Colesteatomas entre los tumores intracraneales, formulando la posibilidad de la existencia de remanentes epidérmicos ("quistes epidérmicos"). A este segundo periodo pertenecen Cushing en 1922, Mckenzie en 1931 y Diamant en 1937.

3/ Al tercer periodo cabe atribuir la descripción clara de los Colesteatomas de la pirámide petrosa, no relacionados con supuración ótica ni con perforación timpánica. En este grupo hay que incluir fundamentalmente a Jefferson & Smalley en 1938, Tamari & Fogo en 1951, Sheehy en 1959, Cawthorne & Griffith en 1961 y House & Doyle en 1962.

4/ Para finalizar, el cuarto periodo se inicia en 1953, gracias al hallazgo de un Colesteatoma del mesotímpano posterior, sin relación con la membrana timpánica y sin proceso inflamatorio en caja timpánica. A partir de la comunicación de House se añadieron a este grupo de opinión Day en 1955, Cawthorne & Griffith en 1961, Derlacki & Clemis en 1965, Sanna en 1976, Paparella & Ribak en 1978 y House & Sheehy en 1980 entre muchos autores más.

ETIOPATOGENIA y CLASIFICACION

El Colesteatoma ótico se caracteriza, como ya hemos citado anteriormente, por la presencia de epitelio queratinizante y descamativo en las cavidades del oído medio y en las porciones neumatizadas del hueso temporal (Sculerati & Bluestone 1989).

El acúmulo de queratina de este proceso conduce a Schuknecht a denominar al Colesteatoma como "keratoma" (1974).

Puede clasificarse, según su etiología (Sculerati 1989), en dos formas:

-Congénito.

-Adquirido.

Estas dos formas pueden tener características clínico- patológicas similares, si bien los datos etiopatogénicos no son generalmente confluentes en estas dos entidades.

También han sido realizadas clasificaciones del Colesteatoma en relación a la modalidad terapéutica aplicada, como es la debida a Wullstein en 1956 y a Meyerhoff en 1986, remitiendo al lector a los citados trabajos para ampliar su descripción.

--Colesteatoma congénito:

Sanna y Zini en 1982 citan que hasta entonces, el número de casos en la literatura de Colesteatoma congénito, no sobrepasan la cifra de 100.

Derlacki & Clemis publicaron en 1965 un interesante trabajo en el Annals of Otology, Rhinology & Laryngology de St Louis en que se sentaban las bases para la definición del "Colesteatoma congénito".

Estos autores se refirieron a este tipo de patología del oído medio únicamente con este nombre. Con ello intentaron evitar la confusión terminológica existente hasta entonces, en que los diferentes autores lo referían como *Colesteatoma verdadero* o *verum*, *primario*, *silente*, *latente* e incluso *genuino*.

La clasificación propuesta entonces por Derlacki (1965) fue :

- 1.-Colesteatoma primario adquirido
- 2.-Colesteatoma secundario adquirido
- 3.-Colesteatoma congénito:
 - a/- Pirámide petrosa
 - b/- Mastoideo
 - c/- Timpánico

Esta clasificación se mantiene con puntualizaciones hasta la actualidad, si bien otras clasificaciones según distintos criterios también han sido efectuadas a lo

largo del tiempo, como la clasificación clínica propuesta por Buckingham en 1982:

1- Colesteatoma sin perforación timpánica o a tímpano intacto.

2- Colesteatoma con perforación en la Pars Tensa.

3- Colesteatoma con perforación en la Pars Flácida.

4- Colesteatoma con perforación en ambas partes.

Valvassori en 1974 (citado en Sanna 1986), divide al Colesteatoma Congénito, según su localización en:

1- Angulo Pontocerebeloso.

2- Foramen Yugular.

3- Pirámide Petrosa.

4- Oído Medio y Mastoides.

Como ya ha sido citado en la revisión histórica del Colesteatoma, los casos iniciales fueron descritos en localizaciones fundamentalmente neurológicas, como es el caso de Cruveilhier en 1829, Müller en 1838 y Virchow en 1855.

Remak en 1854 postuló (citado en Derlacki 1965) que el crecimiento de estos tumores partía del desarrollo de restos de células epiteliales congénitas. Así se establece una de las características del Colesteatoma congénito.

Derlacki (1965) revisando los casos descritos hasta entonces, movido por las observaciones de Cawthorne y Griffith, y su experiencia personal, determinó la necesidad de que la membrana timpánica estuviese intacta y sin signos de infección previa. Así atribuyó su existencia a la inclusión de epitelio embrionario dentro del oído medio, como cita también posteriormente Sobol en 1980.

Teed en 1936 describe una estructura de tipo epidermoide, en la caja timpánica de un feto de cinco meses y medio. Esta característica lo considera un hallazgo normal. Con la maduración, este epitelio epidermoide se transformaría en columnar, persistiendo sin embargo en algunas situaciones, en las cuales originaría un Colesteatoma.

Michaels en 1986 y 1988, cita la existencia de una formación epidermoide en la región ánterosuperior de la caja timpánica, procedente de la primera Bolsa Faríngea. Esta formación epidermoide correspondería, (en los fetos estudiados de 10 a 33 semanas), al borde de progresión de esta bolsa branquial, debiendo desaparecer a partir de las 33 semanas de gestación. Su persistencia explicaría la formación de Colesteatoma.

Estos datos parecen explicar la localización habitual de los Colesteatomas congénitos, en el cuadrante ánterosuperior, según cita Palva en 1990.

Aimi en 1983 cita que el Colesteatoma Congénito, podría deberse a la migración del Ectodermo del canal auditivo externo hacia la caja timpánica, debido a un

fallo en la inhibición del anillo timpánico. Según Aimi, su localización habitual es a nivel del istmo timpánico, donde se da la confluencia del primer y segundo arco branquial.

Otra posibilidad que debe tenerse en cuenta en el Colesteatoma con membrana timpánica íntegra, es la de que hubiese existido previamente una perforación timpánica que se cerrase espontáneamente (Sculerati 1989). Por tanto, es preciso recordar que la existencia de Colesteatoma en la caja timpánica, con tímpano íntegro, no significa necesariamente que se trate de un Colesteatoma Congénito (Broekaert 1991).

La inexistencia de antecedentes de procesos inflamatorios óticos es difícil asegurarla, dada la frecuencia con que se dan en la infancia. Así lo refiere Daly en 1991, en que cita su alta incidencia fundamentalmente en niños menores de 2 años, refiriendo que a la edad de 7 años al menos han tenido un episodio de Otitis Media, el 93 % de los niños. McDonald en 1984 publica una revisión de casos de Colesteatoma Congénito, que se dan en la *Mayo Clinic* entre los períodos de 1963 a 1969, observando una incidencia del 2% respecto a los Colesteatomas adquiridos.

Según Schwartz (1984), la existencia de Colesteatomas con tímpano íntegro no es rara y en su experiencia personal es curiosamente tan frecuente como lo es el del diagnóstico de Meningitis Aguda Bacteriana.

La asociación de Colesteatoma Congénito con otras anomalías otológicas y componente hereditario ha sido

citada por Lipkin en 1986. Refiere como posibles causas en sus dos casos clínicos, el atrapamiento de epitelio escamoso en el interior de la caja timpánica, procedente de una fístula o sinus preauricular rudimentarios.

Por tanto en el colesteatoma congénito, se deben tener en cuenta estos criterios básicos, para evitar el error diagnóstico ante un Colesteatoma con membrana timpánica íntegra y poder diferenciarlo del colesteatoma adquirido.

Respecto al resto de los Colesteatomas Congénitos que afectan al hueso temporal, su base embrionaria específica no ha sido identificada en la actualidad (Sculerati 1989).

--Colesteatoma Adquirido:

El Colesteatoma Adquirido puede ser: *Primario* o *Secundario*. Según Cody (1977), el primario se origina a partir de defectos aticales, mientras que el secundario se origina a partir de perforaciones centrales o marginales de la Membrana Timpánica.

La patogénesis del Colesteatoma Adquirido es atribuida a diversos mecanismos, no estando aceptado en la actualidad ninguno de ellos de forma única y exclusiva.

La forma Adquirida puede ser secundaria a la implantación de epitelio en la caja timpánica tras traumatismo (penetrante o *blast*) o bien a yatrogenia por cirugía previa sobre el oído (Sculerati 1989).

Durante la cirugía sobre la Membrana Timpánica (miringoplastia por ejemplo), pueden quedar remanentes de epitelio de la piel del Conducto Auditivo Externo o bien del Tímpano, y ser introducidos por manipulación en el Oído Medio.

Según Sculerati (1989), el Colesteatoma es una complicación rara de la inserción de tubos de ventilación.

En estos casos, como vemos, la patogenia del Colesteatoma es clara, siendo debida a la introducción de epitelio en la caja timpánica.

Ello refuerza la definición del Colesteatoma de Gray en 1964, refiriéndose al mismo como: "*skin in a wrong place*".

Teoría Migratoria (Palva 1990):

Esta teoría se remonta a las observaciones de Habermann en 1889 (citado en Wolfman 1986).

Según O'Donoghue (1986), el cual cita a Tomasetti (1965), la teoría migratoria del Colesteatoma precisa de argumentos más sólidos para su confirmación, que los que este autor objetiva.

La existencia de una perforación timpánica permanente, permitiría la *migración* de epitelio desde el exterior hacia la caja timpánica, a través del borde de la perforación de la *Pars Tensa*.

Existiría contacto entre el epitelio de la caja y el epitelio externo, que podría originar una reacción inflamatoria en la zona de contacto de ambos.

El epitelio escamoso puede, en determinadas circunstancias, superar la barrera que forma la mucosa del oído medio y crecer.

Este crecimiento daría lugar a la aparición de queratina, que incluso puede llegar a ser expulsada hacia el exterior, lo cual debe alertar al Otólogo.

El epitelio pierde el contacto con la membrana basal y puede migrar libremente hacia otras zonas del oído medio, gracias a la capacidad contráctil de los microfilamentos intracelulares (Krawczyk 1972).

El epitelio en su progresión puede destruir la mucosa de la caja, e incluso situarse por debajo de ella o bien llegar a introducirse dentro del tejido de granulación.

La migración del epitelio suele producirse en las perforaciones timpánicas posteriores o inferiores, raramente en las anteriores.

Habermann en 1889 y Friedmann en 1957 observan que en el curso de una otitis media necrosante, existe una invasión del oído medio por epitelio, a partir de la piel del Conducto Auditivo Externo (CAE).

Tal como cita Rüedi en 1959, la explicación podría ser que la epidermis del CAE o del Tímpano, migraría por estímulos inflamatorios.

Teoría del Crecimiento Papilar (Palva 1990):

Esta teoría fue propuesta por Manasse en 1917 (citado en Wolfman 1986), Lange en 1925 (citado en Sanna 1982) y corroborada posteriormente por los experimentos de Rüedi en 1958.

Se relaciona fundamentalmente con el crecimiento papilar de Colesteatoma hacia la caja timpánica, a nivel de la membrana de Schrapnell, por hiperplasia del estrato basal.

En este caso no existiría perforación previa, sino la invasión de las capas profundas de la membrana de Schrapnell, con cornificación central (Sculerati 1989).

Rüedi en 1959 publica un estudio en el cual provoca Colesteatoma ótico típico, a Tímpano íntegro, en animal de laboratorio (*guinea pig*). Introduce a diferentes niveles de la cara interna de la membrana timpánica, una mezcla de talco y fibrina. De este modo el Colesteatoma aparece por proliferación de las células basales de la Membrana Timpánica, junto con la formación de tejido de granulación. Así, ante determinados estímulos inflamatorios (de acuerdo con la teoría de Lange en 1932), la capa basal de la PF (Pars Flácida o membrana de Schrapnell) o bien de la piel vecina, crecería hacia el ático a través de la Membrana Timpánica.

Teoría de la Bolsa de Retracción (Palva 1990):

Descrita por primera vez por Bezold en 1890.

Buckingham en 1968 muestra el estudio fotográfico del Colesteatoma a partir de una bolsa de retracción, ya que según su opinión se trata del verdadero origen del Colesteatoma ótico.

La escasa aireación del espacio epitimánico (Atico), puede causar una retracción de la membrana de Schrapnell, sin alteraciones en la Pars Tensa del Tímpano y dar lugar a la formación de una Bolsa.

En este caso la membrana basal está intacta, al contrario de lo que ocurre en la teoría del Crecimiento Papilar.

El crecimiento progresivo de esta bolsa de retracción conllevaría el acúmulo de queratina en su interior. Si no existe la intervención médica, la bolsa iría rodeando la cadena de huesecillos y progresivamente los destruiría.

Teoría Metaplásica (Palva 1990):

Wendt en 1873 sugiere que la metaplasia de la mucosa del oído medio hacia epitelio escamoso queratinizante, puede provocar la aparición de Colesteatoma.

Ulrich en 1917 también se reafirma en esta posibilidad (citado en Sanna 1982).

Se ha postulado que el origen del Colesteatoma podría ser debido a la aparición de metaplasia. El epitelio columnar de la caja timpánica cambiaría a epitelio escamoso por metaplasia, sin estar en contacto con la membrana timpánica.

Según Sadé (1982), la alteración de la presión parcial de dióxido de carbono y oxígeno en la Otitis Media Secretoria y en la Otitis Media Crónica infecciosa, puede ocasionar la metaplasia de la mucosa del Oído Medio.

Esta teoría tiene uno de sus pilares fundamentales, en la demostración de que el epitelio respiratorio (nasal, senos paranasales y bronquios) puede mostrar cambios metaplásicos hacia epitelio escamoso, por irritación o bien por infección crónica (Sculerati 1989).

Sin embargo, según cita Palva (1990), no ha sido demostrada en el oído humano de forma clara, la transformación de epitelio columnar en epitelio escamoso queratinizante.

Se ha observado que las células de la mucosa poseen citoqueratinas diferentes a las del epitelio de la piel del CAE y del Tímpano. Estas diferencias se mantienen en el Colesteatoma.

Vennix y cols. en 1990 estudian la citoqueratina de la piel del Conducto Auditivo Externo, del Colesteatoma y del epitelio del Oído Medio en la zona de avance del Colesteatoma. Sus conclusiones muestran que la expresión, puesta de manifiesto mediante estudios inmunohistoquímicos, de la citoqueratina del Colesteatoma es similar a la de la epidermis; mientras que la del epitelio del Oído Medio es diferente. Estos resultados muestran que la citoqueratina no epidérmica procede de la mucosa y no es debida a fenómenos de metaplasia de la mucosa del oído medio.

Finalmente existe otra forma denominada *Colesteatoma Intramembranoso* (Schwartz y cols. 1984), que se caracteriza por la existencia de un Colesteatoma entre las distintas capas de la membrana timpánica. Su origen puede ser adquirido o congénito, según refieren Chole y Tinling en 1985. Estos últimos autores demuestran la posibilidad de aparición de Colesteatomas intramembranosos en el gerbil, por rotura de la membrana basal del epitelio timpánico , sin la existencia previa de perforación, y posterior invasión de la capa subepitelial por las células basales.

Otra de las formas adquiridas, aunque poco frecuente, puede ser por yatrogenia tras la instalación de tubos de ventilación en la Membrana Timpánica (Schwartz y cols. 1984).

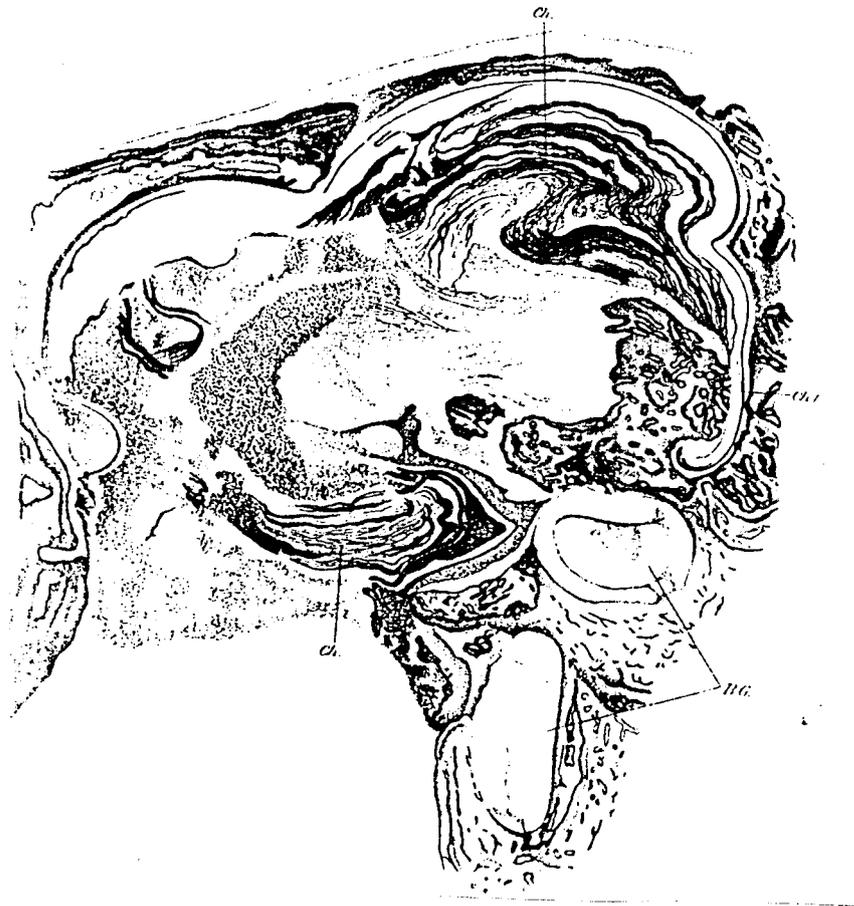


Figura 1: Gran Colesteatoma de la mastoides y laberintitis reactiva (Manasse 1917, tomado de Jahn 1989)

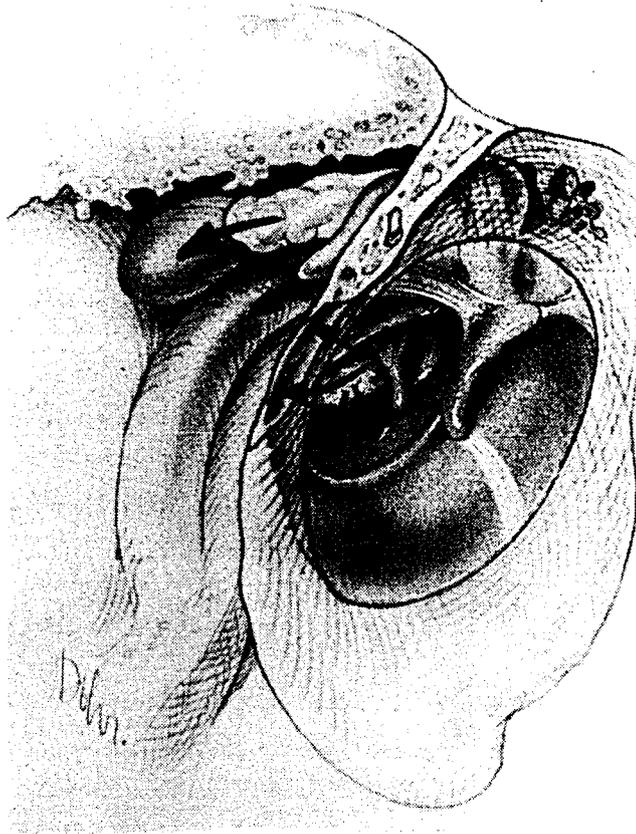


Figura 2: Colesteatoma a partir de una invaginación mesotimpánica posterior, con las líneas de progresión habituales (flechas) (Jackler 1989).

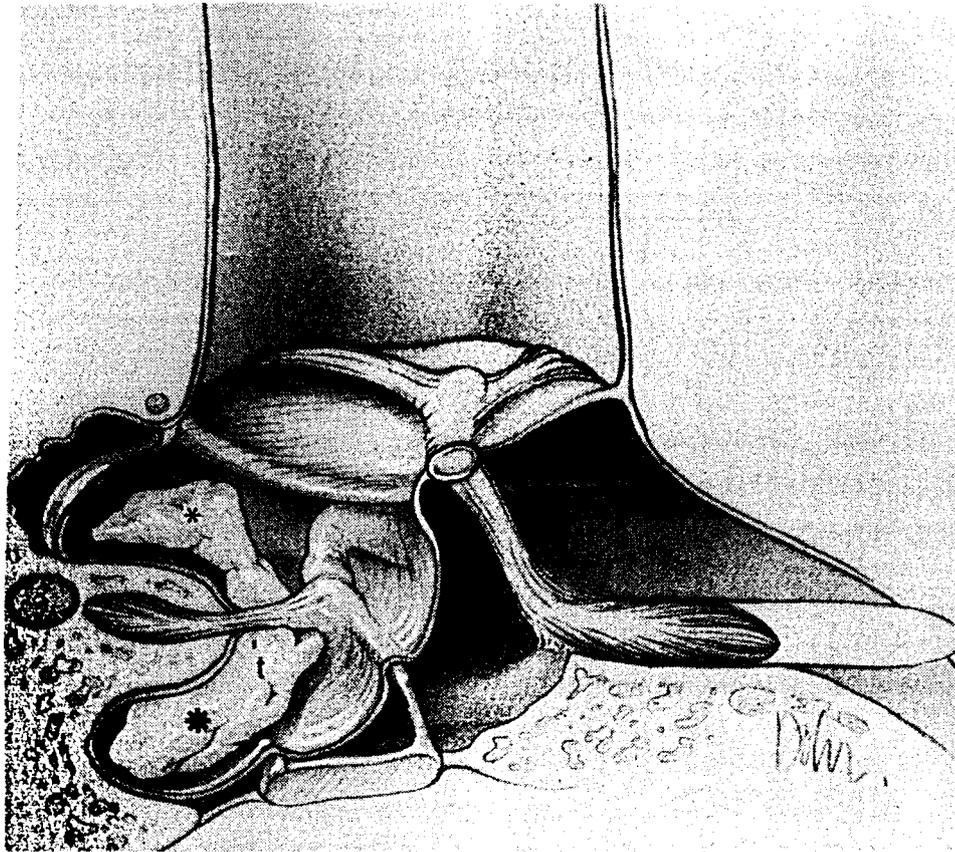


Figura 3: Corte sagital de Colesteatoma mesotimpánico posterior, que ocupa receso facial (*) y sinus timpánico (*) (Jackler 1989).

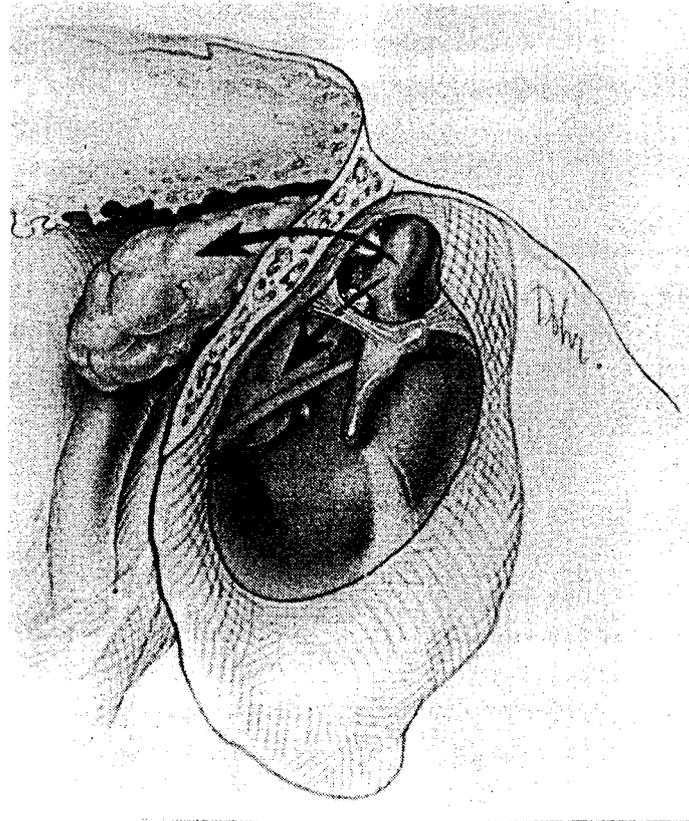


Figura 4: Colesteatoma a partir de perforación atical, las flechas indican su progresión (Jackler 1989).

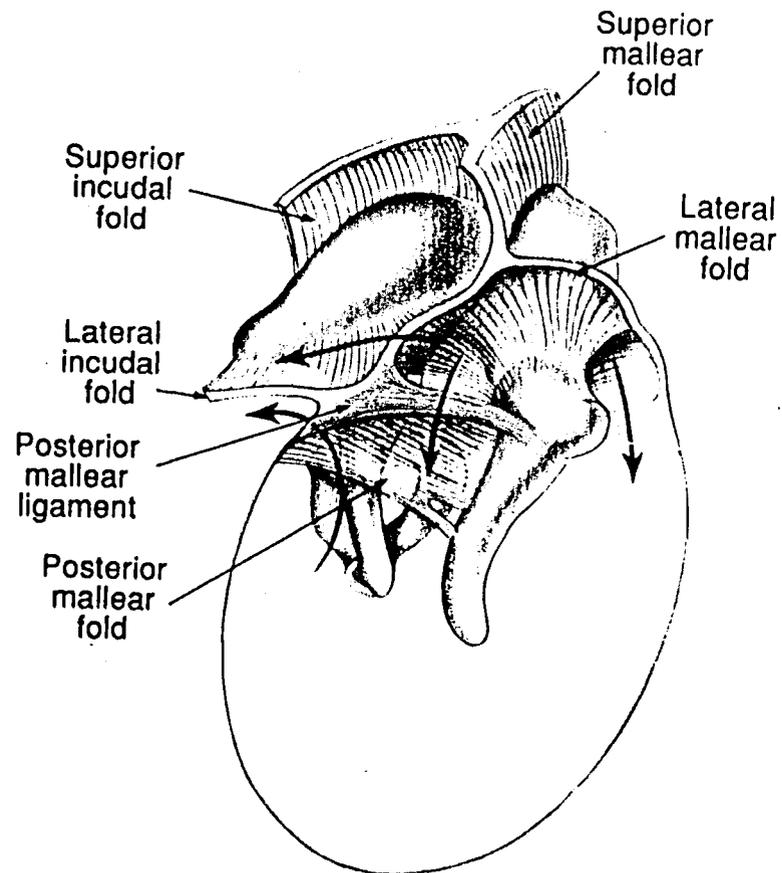


Figura 5: Ligamentos y pliegues del meso y epitímpano. Las flechas muestran las vías de migración más habituales del Colesteatoma (Jackler 1989).

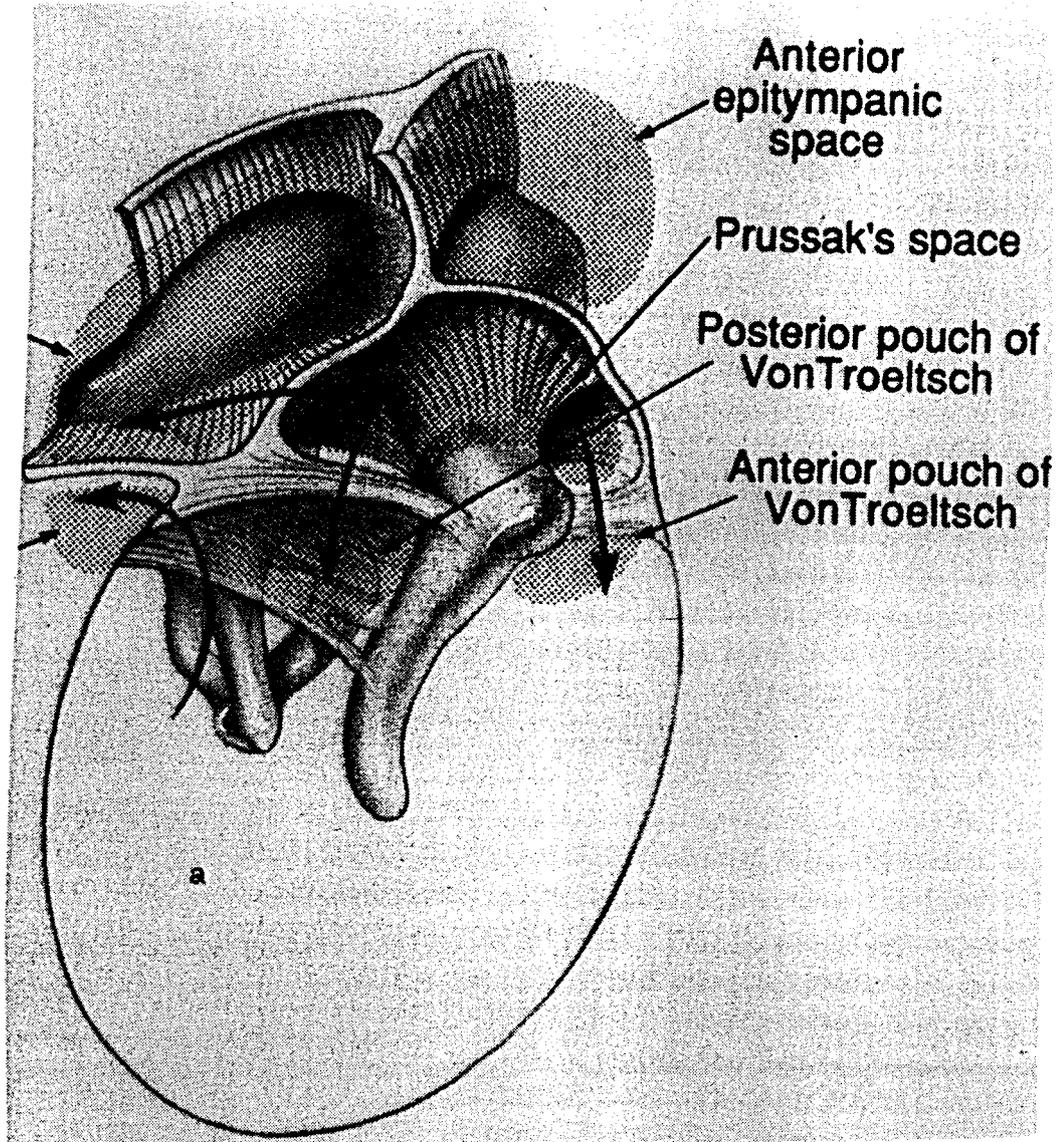


Figura 6: Compartimentos del epitímpano delimitados por los ligamentos. Las flechas muestran las vías de migración del Colesteatoma (Jackler 1989).

HISTOPATOTOLOGIA DEL COLESTEATOMA OTICO:

El Colesteatoma Otico se presenta como una estructura quística, consistente en láminas de queratina producidas por epitelio escamoso queratinizante. Las láminas de queratina se acumulan en el interior de esta formación quística, en la que además pueden encontrarse una mezcla de material necrótico y purulento (Friedmann 1977).

Previamente a la descripción de las características histopatológicas del Colesteatoma es preciso conocer las de la mucosa del Oído Medio y de la Membrana Timpánica.

Membrana Timpánica:

Hentzer en 1969 publica el primer trabajo sobre la ultraestructura de la Membrana Timpánica (MT) en el humano.

Considera que el estudio a microscopia óptica y electrónica, puede favorecer el conocimiento de los procesos patológicos del oído (otitis media serosa, otitis media crónica y colesteatosis).

Lim en 1970, también publica su estudio ultraestructural de la membrana timpánica humana.

La MT está compuesta histológicamente por tres capas (Hentzer 1969):

1/.- Epidermis.

2/.- Lamina Propia.

3/.- Mucosa.

Anatómicamente la MT se divide en dos zonas distintas: *Pars Flácida* o Membrana de Schrapnell y *Pars Tensa*.

Pars Flácida (PF):

Según Hentzer (1969) la epidermis de la MT está compuesta por cuatro capas: *Estrato Córneo*, *Estrato Granuloso*, *Estrato Espinoso* y *Estrato Basal* (figura 7).

Lim (1970) cita que la PF es, contrariamente a la concepción popular, de mayor grosor que la *Pars Tensa*.

La epidermis de la PF (Lim 1970), está formada por cinco a diez capas de epitelio descamativo.

La capa basal posee unas células cuboidales, distribuidas a semejanza de una empalizada (Lim 1970). Se sitúan por encima de una Membrana Basal bien definida. Las células contienen abundantes fibrillas de queratina (Lim 1970), citoplasma (Hentzer 1969) con proyecciones en la dermis y ribosomas, retículo endoplásmico y mitocondrias bien desarrolladas. Se observa la existencia de hemidesmosomas.

El estrato espinoso (malpighiano según Lim 1970) está caracterizado por la existencia de numerosos tonofilamentos, agrupados en tonofibrillas que se sitúan entre las numerosas mitocondrias. El citoplasma contiene abundantes ribosomas. En esta zona, según Lim (1970),

empieza a observarse la presencia de algunas pequeñas estructuras redondeadas u ovales que son características del estrato granuloso. Se les denomina *cuerpos de Odland*. En algunas ocasiones, la capa espinosa solo contiene dos o tres capas. Existen numerosas interdigitaciones entre las células.

El estrato granuloso está compuesto por una a tres capas de células. Contienen en su interior gránulos de queratohialina de tamaño y formas irregulares (Hentzer 1969). La superficie de estas células es bastante lisa, con numerosos desmosomas. Escasas interdigitaciones entre las células, a diferencia del estrato espinoso.

En el estrato granuloso los *cuerpos de Odland*, van a ser extruidos de la célula (Lim 1970), para formar el estrato córneo, que no posee células sino que solamente existen unas láminas finas de queratina. Por tanto, el estrato córneo es el final del proceso de diferenciación celular de la epidermis de la MT (Hentzer 1969).

La Lámina Propia es la capa intermedia de la MT. En la PF está compuesta por fibras de colágeno y fibras elásticas, distribuidas de forma irregular (Lim 1970), con numerosas fibras nerviosas mielinizadas y no mielinizadas. También posee vasos capilares, fibroblastos y unas células semejantes a los fibroblastos, ricas en tonofilamentos adyacentes a las fibras elásticas, denominadas *elastoblastos*.

Los resultados obtenidos por Lim (1970), explican que la PF posea una mayor elasticidad.

La mucosa de la PF (Hentzer 1969) está formada por epitelio escamoso plano o bien cuboidal, con importante interdigitación entre las células. Algunas de las células poseen tonofilamentos (Lim 1970).

Pars Tensa:

La epidermis de la Pars Tensa (PT) está compuesta por tres a cinco capas de epitelio descamativo, más delgado que el de la PF (Lim 1970), con las capas descritas anteriormente.

La Lámina Propia de la PT está compuesta por una capa de tejido conectivo subepidérmico y fibras radiales externas, ambas muy bien desarrolladas. Luego existe una capa interna de fibras circulares y un tejido conectivo submucoso, menos desarrollados. Objetiva la existencia de fibras de colágeno y escasas fibras elásticas, citando también la existencia de unas "finas fibrillas" de naturaleza desconocida.

En el tejido conectivo submucoso, en continuación con la Lámina Propia de la PF, existen fibroblastos, capilares y fibras nerviosas (mielinizadas y fundamentalmente no mielinizadas) según cita Lim (1970).

La capa mucosa de la PT está formada por células planas o cuboidales e incluso pseudoestratificadas, con numerosas interdigitaciones intercelulares. También se observa la existencia de microvilli típicos, de distribución parcheada y la existencia de desmosomas (Hentzer 1969). La membrana basal está bien definida.

Para finalizar, es preciso citar el trabajo de Michaels y Soucek (1989) en que estudian el patrón de migración epitelial de la Membrana Timpánica y del Conducto Auditivo Externo, a partir del desarrollo embrionario del Conducto Auditivo Externo. Distinguen cuatro zonas de desarrollo del epitelio escamoso estratificado, que posteriormente migrará y se diferenciarán hacia epitelio cornificado en la semana 18 de gestación (ver figura 8).

Oído Medio:

El Oído Medio es una cavidad de forma irregular, separada del Conducto Auditivo Externo por la Membrana Timpánica y del Oído Interno por la membrana que cierra la Ventana Redonda y por la Platina del Estribo en la Ventana Oval (Kawabata y cols. 1969), comunicándose con la Nasofaringe a través de la Trompa de Eustaquio.

Debemos por tanto tener en cuenta que el Oído Medio es una cámara prácticamente rígida, de contenido gaseoso, cuya única comunicación con el exterior en condiciones normales, es la Trompa de Eustaquio.

Según cita Elner (1976), solo se encuentran tres tipos de *bolsas de gas biológicas* en el organismo humano:

- Pulmón normal.
- Cavidades ventiladas intermitentemente.
- Cavidades cerradas.

En las cavidades cerradas se incluyen la cavidad peritoneal, el lóbulo pulmonar cuando hay una obstrucción bronquial y el oído medio cuando hay una obstrucción de la Trompa de Eustaquio.

En las cavidades ventiladas intermitentemente se incluyen los senos paranasales y el oído medio. La Trompa de Eustaquio se abre de forma intermitente a lo largo del día. Las presiones parciales de los gases en los tejidos suma 700 mm. de Hg, mientras que en el oído medio suma

760 mm. de Hg, con lo cual hay un gradiente de difusión de 60 mm. de Hg.

Según Elner (1976), el Oxígeno y el Nitrógeno pueden atravesar la Membrana Timpánica íntegra, mientras que el Dióxido de Carbono solo lo consigue en cantidades mínimas. Sin embargo sus conclusiones afirman que la función de la Trompa de Eustaquio sería la de equilibrar la presión y no se encargaría de una función de ventilación del oído medio.

El rol de la Trompa de Eustaquio ha sido tenido en cuenta prácticamente en todos los procesos patológicos del oído medio. Así lo muestran Tos en 1980 y Palva en 1984.

Por todo ello debemos considerar la correcta función de la Trompa de Eustaquio en la descripción del oído medio.

Kawabata en 1969 describe la ultraestructura normal de la mucosa del Oído Medio, refiriéndose a ella como una extensión modificada de la mucosa del tracto respiratorio superior. Describe a microscopía electrónica, que la mucosa del Oído Medio consiste en un epitelio con tres tipos celulares: *células ciliadas*, *células no ciliadas* y *células basales*, situadas por encima de la membrana basal. La capa subepitelial muestra la existencia de fibroblastos, fibras de colágeno, pequeños capilares y fibras nerviosas.

Las células ciliadas tienen una forma cuboidal o columnar, con su base apoyada sobre la membrana basal y

los cilios y microvilli dirigidos hacia la cavidad aérea del Oído Medio. Característicamente poseen un citoplasma grande, con un núcleo centrado de forma redonda u oval y sobre todo la presencia de cilios. El citoplasma es más oscuro que en las células no ciliadas, con numerosas mitocondrias, que suelen agruparse en la porción supranuclear. También se encuentran numerosas partículas densas que se acumulan en la porción supranuclear y gránulos de glicógeno. Se describe también un aparato de Golgi perinuclear y Ribosomas.

Cada cilio posee en su interior nueve filamentos periféricos y dos centrales, anclados a un Cuerpo Basal.

Las células no ciliadas de forma cuboidal o cilíndrica, son más numerosas y se sitúan entre las células ciliadas y sobre la membrana basal. Como su denominación describe, no poseen cilios, pero en cambio tienen microvillis en su superficie apical, que protruyen en el interior de la caja timpánica. El núcleo celular posee unas características similares al de las células ciliadas, pero su citoplasma es más claro, por su menor contenido en organelas celulares. Algunas de estas células también poseen en su vertiente apical, gránulos densos.

La unión entre las células de la mucosa es por medio de *desmosomas*.

Las células basales tienen una forma poligonal, se sitúan por debajo de las células descritas anteriormente y apoyadas directamente sobre la membrana basal. Su citoplasma es escaso y oscuro, por la presencia de

numerosos filamentos. Su núcleo es irregular, contiene escasas mitocondrias y pocas organelas citoplasmáticas.

Kawabata (1969) no encuentra células caliciformes ni glándulas en la mucosa del oído medio, en sus muestras de mucosa "normal" de la caja timpánica.

Hentzer y cols. (1970 y 1970 bis) describen cinco tipos celulares en la mucosa del Oído Medio: *células no ciliadas sin gránulos secretorios, células no ciliadas con gránulos secretorios, células ciliadas, células intermedias y células basales.*

En la región mastoidea describe un epitelio cuboidal o escamoso, con dos tipos celulares, células no ciliadas sin gránulos secretorios y células ciliadas. Las células no ciliadas en este caso son planas, con microvilli en su superficie y en su porción basal muestran numerosas vesículas pinocíticas. Las células ciliadas tienen forma cuboidal (nunca plana), están rodeadas por células no ciliadas y en su superficie apical poseen cilios y microvilli.

En la región posterior de la caja timpánica (prominencia del canal del Facial), el epitelio muestra en algunas zonas la existencia de varias capas de células cuboidales (una a tres capas). No cita la existencia de células ciliadas, pero sí encuentra células no ciliadas con gránulos secretorios y células basales.

En el receso epitimánico (atical), el epitelio puede mostrar de una a tres capas de células cuboidales y células ciliadas, siendo en el resto de características,

similares a las de la región posterior de la caja timpánica.

En la zona del Promontorio, la mucosa muestra un epitelio pseudoestratificado columnar en la mitad de los especímenes. En esta zona Hentzer (1969) describe la observación de dos nuevos elementos celulares, las *células intermedias* y las *células caliciformes*, no descritas anteriormente por Kawabata (1969). La célula intermedia se localiza entre la capa de células basales y las células apicales. Las células caliciformes muestran el típico aspecto de célula no ciliada, repleta de gránulos de secreción.

En la región del orificio tubárico, describe células cuboidales dispuestas en dos o tres capas, células caliciformes y células no ciliadas con gránulos de secreción. En una sola muestra se objetiva la existencia de glándulas.

La capa submucosa es descrita solo parcialmente por Hentzer (1969), ya que la técnica para obtener la biopsia de la mucosa no permite observarla en su totalidad.

Tadao Shimada y Lim en 1972 estudian 66 muestras de hueso temporal humano sin antecedentes de patología ótica, usando microscopio óptico, scanning y electrónico de transmisión. El objetivo fundamental es mostrar la distribución de las células ciliadas en el Oído Medio, para determinar el sistema de *clearance* mucociliar. Sus resultados se muestran en la figura 9, llegando a la

conclusión importante de que el número de células ciliadas y su distribución no es estática.

Lim y Shimada en 1971, ante la importancia que adquiere la capacidad de secreción del Oído Medio, estudian las células secretoras del mismo (figura 10). Describen varios tipos de células con esta capacidad:

1/.- Células caliciformes o secretorias con gránulos mucígenos, muy características y fáciles de identificar por su forma caliciforme o cuboidal, con gránulos claros de contenido mucígeno. Son las más frecuentes.

2/.- Células granulares oscuras se sitúan fundamentalmente en las glándulas de la Trompa de Eustaquio, de secreción supuestamente serosa.

3/.- Células granulares mixtas que contienen gránulos claros (mucígenos) y oscuros.

4/.- Células granulares- laminares que contienen gránulos de disposición laminar y ocasionalmente otros tipos de gránulos como los claros mucígenos. Son las células menos frecuentes.

Estas células se distribuyen fundamentalmente en la zona de la Trompa de Eustaquio, aunque también pueden ser halladas en el hipotímpano, en la región facial, en la zona de las ventanas, en el *aditus* y en el antro mastoideo. La región con menor cantidad de estas células es la mastoides.

Según Tos y Bak-Pedersen (1976), las células caliciformes estudiadas en prematuros, niños y adultos, muestran una distribución decreciente en el siguiente orden: hipotímpano anterior (región tubárica), posterior, promontorio anterior, epitímpano, nicho de la ventana oval, antro mastoideo, nicho de la ventana redonda, proceso mastoideo, yunque y región posterior del promontorio.

Shoichi Maeda y cols. en 1976 estudian la morfología de la mucosa del Oído Medio de la rata (*Sprague Dawley*), para obtener mayor información sobre la función de esta mucosa, abierta la discusión planteada por Kawabata en 1969, Hentzer en 1970, Lim en 1970 y Tos en 1973 y 1974. Las conclusiones de Shoichi Maeda (1976) muestran que las células secretorias y las células ciliadas son componentes normales de la mucosa del Oído Medio, restringiéndose en la rata a la región tubárica y zona transicional, originándose ya su desarrollo durante la vida fetal.

El tejido Subepitelial de la mucosa del Oído Medio (Albiin y cols 1986), que se sitúa por encima del periostio, varía de grosor a lo largo de la misma. Contiene fibroblastos, fibras nerviosas (mielinizadas y no mielinizadas), vasos de pared muy fina, mastocitos y macrófagos. No se objetiva la existencia de glándulas.

Según Albiin (1986) la estructura de la mucosa del Oído Medio de la rata y la del humano muestran grandes similitudes, permitiendo que la rata sea un buen modelo para estudios experimentales sobre oído medio. Sin embargo hay que recordar que la Trompa de Eustaquio del

ratón difiere de la humana por carecer de *Istmo* (Mitsuaki Takahashi y cols 1989).

La mucosa del Oído Medio contiene escasos linfocitos y no se ha encontrado la existencia de tejido linfoide, según M. Takahashi refiere en 1989 (citado en Ryan y cols. 1990).

Histología del Colesteatoma ótico:

La destrucción ósea es una característica de la Otitis Media Crónica (Gantz 1979), que ocasiona hipoacusia con frecuencia, por lesión de la cadena de huesecillos y de otras estructuras del hueso Temporal y regiones vecinas (Abramson 1984).

En la Otitis Media Crónica con Colesteatoma, esta característica bien conocida por los Otólogos, adquiere mayor relevancia.

Lemaitre y Lavrand en 1923 (citado en Magnan y cols. 1991), muestran la estructuración del Colesteatoma Otico en: *Centro Amorfo*, formado por acúmulo de escamas epidérmicas; *Matriz*, formada por epitelio pavimentoso queratinizante, apoyada sobre tejido conectivo o *Perimatriz* de Schwartz, en que se encuentra una mayor o menor reacción inflamatoria.

Lim y Saunders en 1972 publican el primer estudio ultraestructural sobre el Colesteatoma Humano. En la matriz observan que su cara externa está invariablemente recubierta por mucosa idéntica a la de la caja timpánica.

La matriz muestra la ordenación típica, en capas de epitelio escamoso estratificado queratinizante, idéntica a la referida previamente en la epidermis de la Membrana Timpánica por Hentzer (1969) y Lim (1970). En ocasiones se encuentran células caliciformes y ciliadas (cara externa de la matriz). En la matriz también se objetiva la existencia de un número alto de células de Langerhans (Veldman y cols. 1985), con sus formaciones intracelulares típicas (*gránulos de Birbeck*) y sus prolongaciones intercelulares. La capa basal suele mostrar células cuboidales, firmemente adheridas a la membrana basal por hemidesmosomas.

En la zona de avance del Colesteatoma, que se indentifica por una confrontación entre la epidermis y la mucosa, suele observarse la existencia de tejido conjuntivo inflamado por debajo de la mucosa de contacto. En esta zona, en ocasiones parece que las células basales se colocan por debajo de este tejido de granulación, con un desplazamiento de la membrana basal.

En la capa basal de la zona de avance del Colesteatoma, suele destacar la formación de papilas, considerándolo expresión de la capacidad invasiva del Colesteatoma. Esta agresividad ha conducido a que algunos autores le confieran un comportamiento *tumoral*, del cual está demostrado que carece.

El grosor de la matriz es variable, estando engrosado por edema e infiltración de células redondas y fibrosis en los casos de inflamación. La perimatriz está formada por escaso tejido conectivo, con fibras de colágeno y fibroblastos, existiendo en ocasiones

infiltrados por células redondas. Cuando la perimatriz está presionada contra el hueso, su grosor es mínimo y existen escasas fibras de colágeno.

En las publicaciones de hace más de una década, se daba importancia a la inflamación crónica y a una serie de mediadores bioquímicos, como afirma Gantz (1979).

Sadé y Halevy en 1974 en su estudio sobre la destrucción ósea en la Otitis Media Crónica, refieren que la presencia de Colesteatoma no está necesariamente ligada a la existencia de erosión ósea, ya que ésta también se da en la Otitis Crónica sin Colesteatoma y está ligada a la presencia de tejido de granulación.

Thomsen y cols. en 1975 publican sus resultados sobre estudios histoquímicos en el Colesteatoma humano (36 biopsias que incluyen Colesteatoma y hueso), con especial atención a la Fosfatasa Acida. Sus conclusiones afirman que este marcador de la actividad de los lisosomas, aparece en cantidades importantes en las células mononucleares de alrededor del hueso erosionado. Esto parece confirmar que la resorción ósea en el Colesteatoma ótico, es dependiente de la actividad enzimática que se da alrededor del tejido óseo. No consigue, sin embargo, demostrar la presencia de osteoclastos, al igual que los autores Chevance (1970) y Bretlau (1971), citados por él mismo. Thomsen (1975) también cita que en la región marginal del Colesteatoma, existe una proliferación marcada de los capilares, lo cual descarta la anoxia como participante en la destrucción ósea del mismo.

Jackson y Lim en 1978 estudian la morfología del Colesteatoma humano y experimental (gato). Según estos autores, la morfología del Colesteatoma humano es similar a la del experimental. Destacan que en el humano, el frente de avance del Colesteatoma muestra un engrosamiento de la capa espinosa (malpighiana), que dobla su número de capas celulares. Existe también evidencia de mayor actividad en las células de la capa espinosa, como lo demuestra el hecho de que es posible observar células en división. Sigue observándose la existencia de desmosomas. La capa basal también está más engrosada. La unión mucocutánea está intensamente infiltrada por células inflamatorias redondas y por polinucleares. Esta perimatriz, con signos claros inflamatorios, sería la que determinaría la capacidad invasiva de la matriz del Colesteatoma.

Yutaka Kaneko y cols. en 1980 estudian el material histológico, procedente de cien casos de Colesteatoma ótico humano. La pared de la matriz del Colesteatoma se muestra delgada y contiene productos de descamación del epitelio queratinizante. Ocasionalmente observan la existencia de cristales de colesterol en el interior de la masa amorfa del saco del Colesteatoma. No objetivan la existencia de papilas epidérmicas, pero en la capa subepitelial existen unas granulaciones fibrosas, infiltradas por histiocitos, células plasmáticas y ocasionalmente proliferación de capilares. En algunos espécimenes existe rotura de la capa epitelial del saco del Colesteatoma, hallando tejido queratínico en el tejido subepitelial, con destrucción ósea en estas zonas. Por ello concluyen que la existencia de una ruptura del

saco del Colesteatoma, permite la entrada de tejido córneo en la capa subepitelial, actuando como un factor importante en el mecanismo de resorción ósea.

Mann y cols. en 1981 publican un estudio sobre histología del colesteatoma y observan que en todos los especímenes, el epitelio está separado del hueso por una pequeña capa de tejido mesenquimal subepitelial, compuesta fundamentalmente por colágeno. La hiperemia es un hallazgo prominente. Existe además un acúmulo de granulocitos, linfocitos, leucocitos y mastocitos. La destrucción ósea se da sin aparente actividad osteoclástica.

Bretlau y cols. en 1981 y 1982, trasplantan Colesteatoma ótico humano a diferentes zonas de ratón inmunodeficiente (ausencia de Timo). A los que les trasplantan en el oído medio, observan que existe aparición de Colesteatoma en 8 de 13 casos. Existe evidencia de resorción ósea en 7 de ellos. No objetivan la existencia de osteoclastos en ninguno de ellos, pero sí se observa la existencia de células mononucleares no inflamatorias a lo largo del hueso erosionado.

Bretlau y cols. en 1984, en la continuación del estudio anterior, hipotetizan que las linfocinas producidas por los Linfocitos T, pueden tener un papel en la resorción ósea, pero en su estudio utilizan ratones que no poseen Timo, observando que la resorción ósea puede en este caso estar influida por otros mecanismos, probablemente las células mononucleares.

Anniko y Mendel en 1981 realizan un análisis clínico y morfológico de 33 casos de Colesteatoma humano. La capa epitelial muestra un grosor variable, incluso en el mismo espécimen. La membrana basal está preservada en la mayoría de los casos. La capa espinosa suele formar crestas a nivel de la zona de avance del Colesteatoma. En el estrato granuloso las células están íntimamente unidas por desmosomas. En el estroma del Colesteatoma, la sustancia extracelular está compuesta fundamentalmente por fibras de colágeno paralelas a la membrana basal. En algunas ocasiones se objetiva la existencia de un infiltrado por células redondas en el estroma, fundamentalmente en el frente de avance del mismo. La vascularización varía ampliamente, sin relación con el comportamiento clínico del Colesteatoma. En los Colesteatomas en que clínicamente existe un crecimiento rápido, se observa la existencia de núcleos en el estrato córneo, en algunos de ellos.

A Abramson y cols. (1971, 1977, 1984) se debe la determinación de la Colagenasa en la lisis ósea del Colesteatoma, publicada por primera vez en 1969, en cultivos celulares de epitelio escamoso del Colesteatoma. Según Abramson (1969), la posibilidad de la existencia de un factor soluble que destruyera el hueso fue citada ya en 1927 por Lautenschlager. La matriz ósea posee aproximadamente un 90% de colágeno de su contenido proteico y las células del Colesteatoma muestran claramente una actividad colagenolítica, del mismo modo que la piel que recubre la porción ósea del Conducto Auditivo Externo.

Abramson (1977) muestra experimentos que localizan, mediante inmunofluorescencia indirecta, la colagenasa en el Colesteatoma, piel del Conducto Auditivo Externo y tejido de granulación subepitelial. La colagenasa parece originarse a partir de los macrófagos, fibroblastos y células endoteliales.

Abramson y cols. en 1975 observan que la interposición, en el conejillo de indias, de piel del Conducto Auditivo Externo en la mucosa del Oído Medio, provoca la aparición de quistes epiteliales que reabsorben hueso.

Michitaka Iwanaga y cols. en 1985 centran su estudio en la lisis enzimática del Colesteatoma sobre el tejido óseo subyacente. Sus resultados muestran que la actividad de Cathepsin-B está muy aumentada en el tejido de granulación subepitelial del Colesteatoma. La Fosfatasa Acida (marcador de actividad enzimática lisosomal) también está presente en grandes cantidades en este tejido de granulación. El tejido de granulación subepitelial, parece poseer actividad sobre la lisis del colágeno.

Kähönen y cols. en 1984 identifican las células inmunocompetentes del Colesteatoma usando anticuerpos monoclonales. Observan que en la reacción inflamatoria del Colesteatoma, existen fundamentalmente linfocitos T4 y T8, así como una actividad marcada frente a uno de los anticuerpos monoclonales (OKT6), debida a la presencia de células de Langerhans, con un patrón similar al de la piel.

Berger y cols. en 1985 estudian los huesecillos extraídos durante la intervención quirúrgica a 15 pacientes con Colesteatoma. Observan que en las zonas con resorción ósea existe un elevado número de mastocitos situados en el tejido subepitelial. Según estos autores, ello refuerza la hipótesis de que los mastocitos contribuyen a la resorción ósea del Colesteatoma. Muestran una hipótesis según la cual los mastocitos participan en la lisis ósea (ver figura).

Los cambios que provoca el Colesteatoma en la cadena de huesecillos, fundamentalmente el yunque, fueron también descritos por Subotic en 1991. Sobre un total de 160 yunques extraídos durante la cirugía del Colesteatoma, observa que en el 10'7% no hay cambios histológicos respecto a la normalidad. En el 13'8% hay signos de engrosamiento del periostio por fibrosis. En el 8% hay infiltración por células inflamatorias agudas por debajo del periostio engrosado. En el 67% restante existe osteítis local o bien osteomielitis con destrucción ósea, con relativamente escasas células inflamatorias.

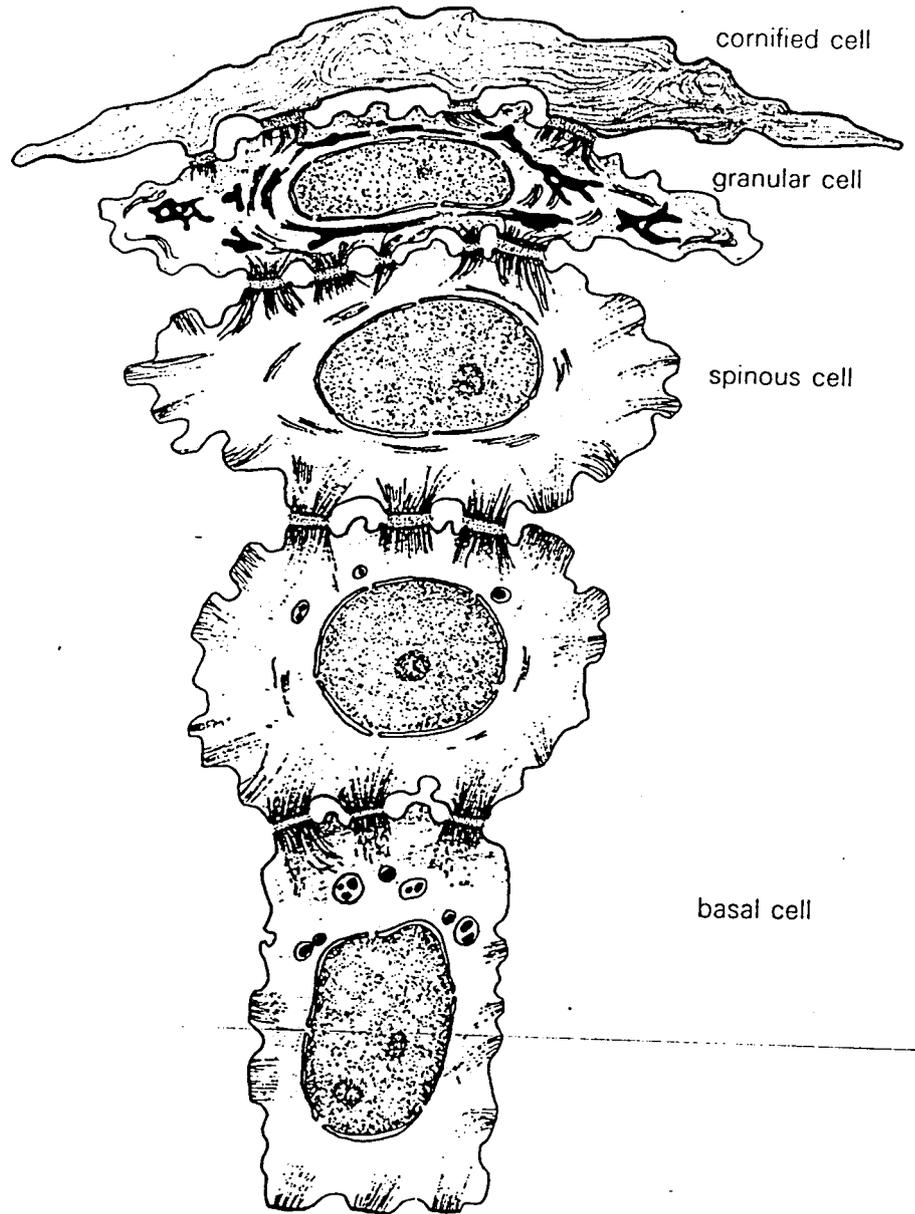


Figura 7: Esquema que muestra las diferentes capas de la piel, idénticas a la estructura del epitelio de la Membrana Timpánica (Ackerman 1978).

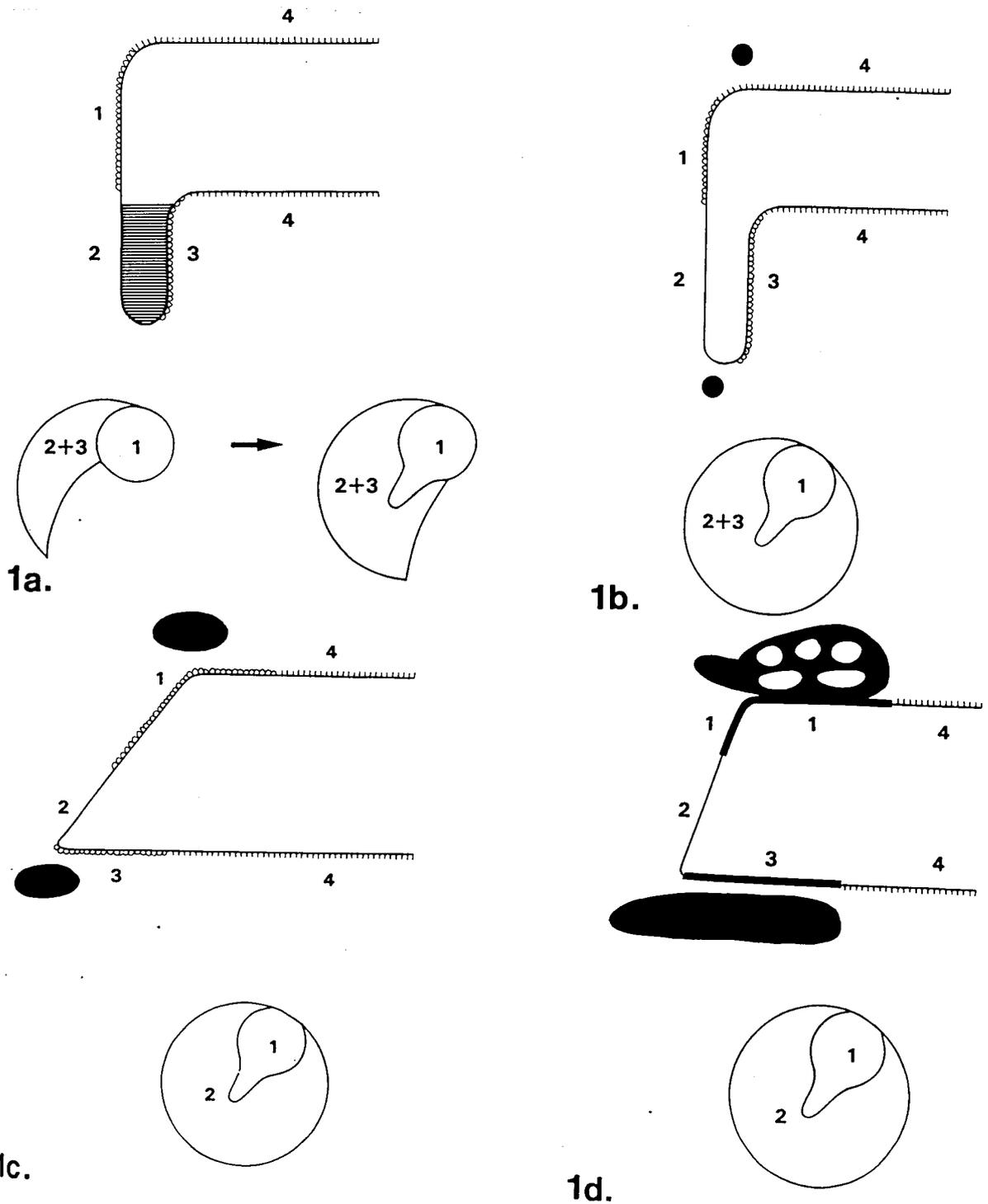


Figura 8: Origen del epitelio de la cara externa de la Membrana Timpánica y del Conducto Auditivo Externo, con sus respectivas zonas marcadas en números. Para extenderse en la descripción se recomienda consultar Michaels y Soucek 1989.

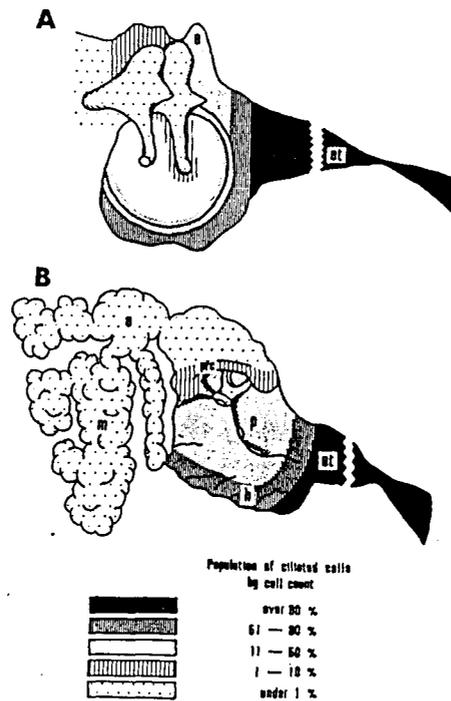


Fig. 5. The distribution of ciliated cells in the normal human ear is graphically shown. et: Eustachian tube; h: hypotympanum; p: promontory; e: epi-tympanic recess; pfc: prominence of facial canal; a: antrum; m: mastoid air cells.

Figura 9: Distribución y concentración de la células ciliadas del oído medio. Mastoides (m), Trompa de Eustaquio (et), hipotímpano (h) y Promontorio (p) (T.Shimada y Lim 1972).

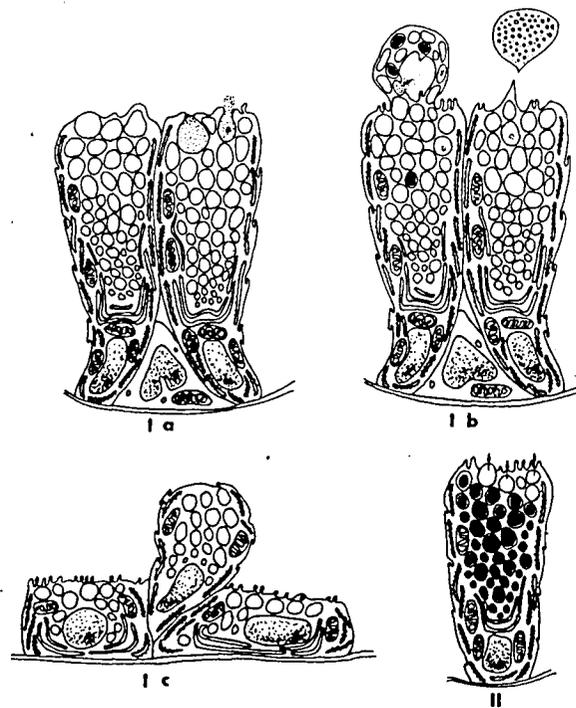


Fig. 7. Artist's concept of the modes of secretion in the human middle ear epithelium illustrates: 1a. *Mucigen secreting cell* showing local opening of the cell membrane allowing the escape of secretory granules without disturbing the integrity of the secretory cell. 1b. *Mixed granulated cell* showing sac formation and pinching off of the upper portion of the secretory cells. This type could be a variation of 1a. 1c. Final degenerative stage of 1a. II. *Dark granulated cell* showing molecular diffusion without interrupting the cell membrane.

Figura 10: Modos de secreción del epitelio del oído medio, según Lim y Shimada (Lim-Shimada 1971).

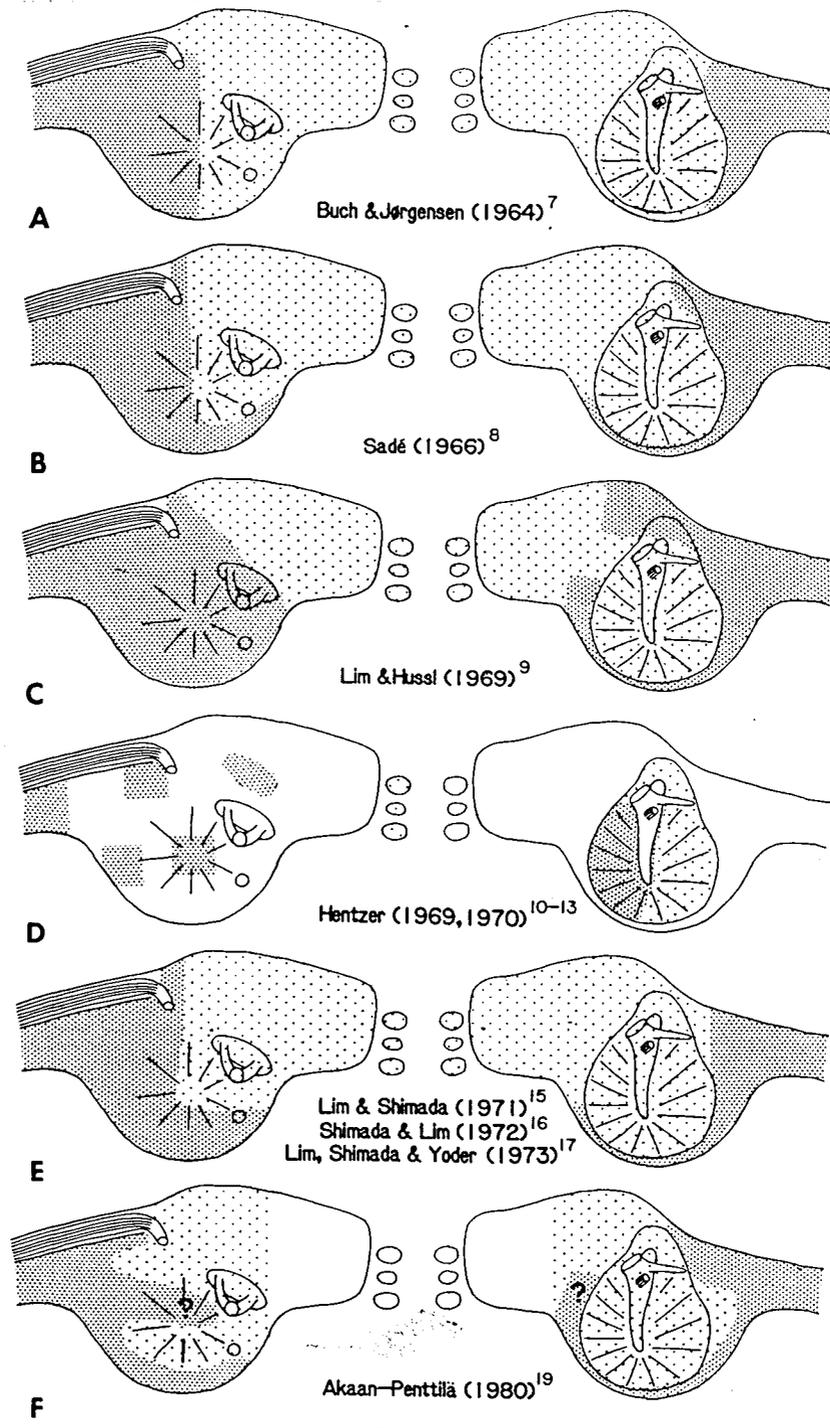


Figura 11: Distribución de las células secretoras y ciliadas en el oído medio, según diferentes autores (Albiin y cols. 1986)

OSTEOLISIS en el COLESTEATOMA:

Según Binderman (1982), el hueso es removido por los Osteoclastos, aunque se ha demostrado la existencia de otras posibilidades como son la acción de los Osteocitos, Monocitos, Macrófagos, Histiocitos, células del carcinoma mamario e incluso por el Actinomyces Viscosus.

La destrucción ósea en el colesteatoma es su característica clínica más importante (Ahn y cols 1990).

Debido a la importante capacidad para destruir hueso del colesteatoma y al insuficientemente conocimiento de su mecanismo, las complicaciones de esta entidad clínica como la parálisis facial, hipoacusia, fístula laberíntica, absceso cerebral y meningitis, junto a otras menos frecuentes, obliga al otólogo a practicar un tratamiento quirúrgico para extirpar el colesteatoma por completo.

Para explicar esta destrucción ósea se han propuesto diversas hipótesis y se han demostrado algunos hechos:

- . Existencia de tejido de granulación con lisis ósea (Mann y cols. 1981).
- . Osteolisis por osteoclastos (Chole y cols 1984).
- . Necrosis por presión mecánica (Chole y cols 1985).

- . Degradación ósea por medio de enzimas, como la colagenasa (Abramson 1971), lisozimas (Thomsen y cols 1977), cathepsin-colagenolisis (Iwanaga y cols 1985).

- . Participación de factores activos en la osteolisis, como el TNF, Prostaglandina E1 y E2 (Abramson y cols 1984) y la Interleucina 1 (Iino y cols 1990, Ahn y cols 1990), Interleucina 2 (Yellon y cols. 1991).

- . Participación de mastocitos en la reabsorción ósea (Berger y cols 1985).

- . Osteolisis osteocítica (Mann y cols. 1981).

- . Otros mecanismos, que se irán desarrollando a lo largo de todo el trabajo, para no extendernos demasiado ahora.

Con toda probabilidad, los eventos que se dan en la reabsorción ósea del colesteatoma, están todos ellos interrelacionados entre sí, con lo que los trabajos de los distintos autores mostrarían solo una faceta de la fisiopatología de la osteolisis.

En la reabsorción ósea (Ahn y cols. 1990) son necesarios dos pasos fundamentales: desmineralización y degradación de la matriz.

La desmineralización sería llevada a cabo por ácidos metabólicos como el ácido cítrico, ácido láctico, ácido hialurónico y enzimas productores de protones (Nisbet y cols 1970 y Vaes y cols. 1968 , citados en Ahn 1990).

El reborde en cepillo de los osteoclastos (ruffled border) tendría un papel predominante en la desmineralización de la matriz ósea (Baron y cols 1985 y Anderson y cols. 1982, citado en Ahn 1990).

El hueso además es el reservorio principal de Plomo del organismo y se ha incriminado a los osteoclastos en el recambio de Plomo a partir del hueso (Pounds y Rosen 1986), observándose la existencia de un balance dinámico del Calcio y del Plomo, entre la formación ósea (Osteoblastos) y la reabsorción ósea (Osteoclastos).

La función de homeostasis entre la formación ósea y la reabsorción, está regulada (Pounds & Rosen 1986) mediante la interacción de hormonas calciotropas, Calcio, Fosfatos, Magnesio, agentes quelantes terapéuticos y otros factores.

Pounds y Rosen (1986) afirman que los datos de sus experimentos (cultivos celulares) son un buen modelo para definir la interacción entre el Calcio, Plomo y las hormonas calciotropas.

Estos datos sobre el metabolismo del Plomo no parecen estar relacionados con la osteolisis en el Colesteatoma Otico, aunque demuestran que los Osteoclastos intervienen en otras funciones, como es la homeostasis del Plomo y su competencia en el metabolismo celular con el Calcio.

La interleucina 1 (ILE 1), una linfoquina equivalente al "osteoclastic activating factor" (OAF),

es un polipéptido producido por linfocitos activados, que participan en varias respuestas celulares.

En un principio se creía que las linfocinas eran productos exclusivos de los linfocitos, pero Dinarello & Mier (1987) afirman que no son las únicas células capaces de producirlas, por lo cual una denominación más correcta sería la de "cytokina".

Las linfocinas que llegan al torrente sanguíneo actúan como hormonas, con efectos sistémicos. Dado que las linfocinas poseen más de un efecto biológico, se las ha denominado como Interleucina seguidas de un número, desechando la nomenclatura descriptiva (como ocurre con el hasta entonces B-cell differentiating factor, T-cell growth factor,...), como se acordó en el "Sexto Congreso Internacional de Inmunología en 1986" (Dinarello & Mier 1987), aunque algunas linfocinas han retenido su denominación descriptiva inicial (Interferón, ...).

Dinarello y Mier en 1987 citan ,en su revisión temática del New England Journal of Medicine, que la ILE 1 puede ser producida por numerosos tipos celulares, entre ellos los Keratinocitos, células mesangiales y células epiteliales, en respuesta a: antígenos, toxinas, agresiones y procesos inflamatorios; poseyendo muchas actividades biológicas y participando como mediador primario en la respuesta de fase aguda.

Así se ha demostrado por ejemplo, que existe un déficit de producción de ILE 1 en los leucocitos de pacientes con tumores grandes.

La familia de la ILE 1 está formada por tres polipéptidos (Dinarello & Wolff 1993): Interleucina 1 alfa, Interleucina 1 beta y la Interleucina 1-receptor antagonista. La ILE 1 (alfa y beta) poseen muchas actividades biológicas como la producción de fiebre, sueño, anorexia, hipotensión, aumenta la producción de colagenasas, estimula la producción de prostaglandinas, de hormonas hipofisarias, destrucción de la células beta de los islotes de Langerhans, aparición de inflamación asociada a artritis y colitis, desarrollo de placas de aterosclerosis y crecimiento de células de la leucemia mieloide (Dinarello & Wolff 1993).

Se ha demostrado (Ishikawa y cols. 1990) que los Glucocorticoides (Dexametasona), inhiben la resorción ósea por bloqueo, entre otros factores, la producción de ILE- 1 beta con posterior bloqueo de la actividad de los Osteoclastos, lo cual podría sugerir el posible empleo de algunos determinados tratamientos, en el futuro, de determinados casos de Colesteatoma.

Las células mononucleares, fagocitos monocíticos estimulados por productos microbianos o inflamación, sintetizan rápidamente ILE 1 alfa y beta, en forma de precursor. La mayoría del precursor permanece en el citosol de las células, pudiendo actuar como mensajero autocrino. Pero también se ha objetivado que la ILE 1 participa en la reabsorción ósea (Ahn y cols 1990) y ha sido hallada su presencia en el colesteatoma humano.

Según Ahn y cols. (1990) la ILE 1 se concentra en las áreas de destrucción ósea activa, fundamentalmente en las células mononucleares y en las células óseas

adyacentes al colesteatoma; demuestran que la ILE 1 estimula la multinucleación de monocitos y las células resultantes poseen los marcadores específicos de los Osteoclastos.

Asimismo se ha identificado al "human osteoclast-activating factor" con la ILE 1 beta (Dewhirst y cols 1985) y que las Prostaglandinas E1 y E2 estimulan la reabsorción ósea (Klein y Raisz 1970).

Citando Chambers & Ali en 1983 que la Prostaglandina E2 inhibe la motilidad de los Osteoclastos in vitro temporalmente.

MICROBIOLOGIA del COLESTEATOMA

La Otitis Media Crónica Colesteatomatosa se comporta de forma insidiosa y durante su curso, asistimos generalmente a múltiples episodios de infección y ocasionalmente de complicaciones infecciosas del mismo.

Los detritus de queratina del Colesteatoma se comportan como un excelente caldo de cultivo para las bacterias tal como recuerda Parisier en 1989, predisponiendo al paciente a la aparición de sobreinfecciones que se caracterizan por la presencia de tejido de granulación, otorrea fétida y ocasionalmente otalgia, con el hallazgo frecuente de Pseudomonas y hongos.

Estas exacerbaciones son controladas con facilidad gracias al conocimiento de la flora bacteriana más habitual y a la aparición constante de antibióticos más activos frente a gérmenes Gram negativos como las Pseudomonas. La limpieza practicada sobre el oído es fundamental en su manejo (Yukiko Iino y cols 1983).

En la Otitis Crónica, Karma y cols. en 1978, estudian un total de 114 oídos, practicando cultivo en medios aerobios y anaerobios. Obtienen un total de 225 cultivos, con un ratio de 160 aerobios y 65 anaerobios (29%). Los anaerobios crecieron en 38 oídos, siempre asociados a gérmenes aerobios, con una proporción de 3'4 especies en cada oído (1'7 aerobios y 1'7 anaerobios). Esto contrasta con los datos de Palva en 1971, en que

sólo se encuentran anaerobios en el 1'1%. Siguiendo con los resultados de Karma, refiere que la especie *Bacteroides* se encuentra en el 66% de los aislados anaerobios, siendo el segundo en frecuencia el *Peptococcus* (20% de los anaerobios). Entre los aerobios, el predominante es el *Staphylococcus* (59 aislados), bacilos Gram negativos (36 aislados), bacilos difteroides (34 aislados) y *Pseudomonas* (16 aislados).

En el estudio de la bacteriología del Colesteatoma de Harker y Koontz 1977(Primera Conferencia Internacional sobre Colesteatoma) sobre 30 muestras de colesteatoma, para cultivo en medio aerobio y anaerobio, se pone especial atención a la técnica de cultivo al igual que Karma. Los resultados obtenidos muestran crecimiento de más de un germen en 17 casos (57%). En dos tercios de las muestras crecen anaerobios, siendo el aislado más frecuente los *Bacteroides*, seguidos de los *Peptococcus*. En los cultivos aerobios, la bacteria más frecuentemente aislada es la *Pseudomona*, siendo escasos los *Staphylococcus*. En los aislados aerobios, generalmente sólo crece una bacteria, fundamentalmente *Pseudomona*. Cuando solamente crecen anaerobios, el germen más frecuente es el *Propionobacterium Acnes*.

Brook en 1981, ante la importancia que concede a las bacterias anaerobias, publica un trabajo sobre la flora aerobia y anaerobia de 28 pacientes intervenidos de Colesteatoma ótico. Obtiene un total de 74 aislados, con una proporción de 40 aerobios y 34 anaerobios, sobre un total de 24 espécimenes en que ha existido crecimiento bacteriano. En el 50% de los casos los cultivos eran

mixtos para aerobios y anaerobios, creciendo únicamente aerobios en 8 pacientes y anaerobios en 4 pacientes. La mayoría de los anaerobios pertenecían a la especie Bacteroides (B. Fragilis en 5, B Melaninogenicus en 3 y B. Corrodens, B. Oralis y Bacteroides sp en 1 caso cada uno). Los Peptococcus son los que se aíslan con más frecuencia después del Bacteroides. Entre los aerobios, la Pseudomona es la más frecuente (9), seguida de Proteus en 7 casos y Klebsiella Pneumoniae en 5. La asociación entre aerobios y anaerobios que se da en 12 pacientes, muestra crecimiento de 2 a 6 gérmenes por espécimen.

Y. Iino y cols en 1983 plantean la determinación del contenido en ácidos orgánicos del colesteatoma y para ello además obtienen cultivos de 12 casos. Los resultados demuestran el crecimiento de bacterias anaerobias obligadas en 11 pacientes (92%) y facultativas también en 11 pacientes (92%). No existe ningún cultivo estéril y en 10 pacientes (83%) crecen anaerobios estrictos y facultativos. En cada muestra crecen de una a cinco especies, siendo el más frecuente los Peptococcus, seguido de Bacteroides sp. Iino y cols. concluyen en este estudio que probablemente las bacterias anaerobias juegan un papel importante en la resorción ósea del colesteatoma.

En cambio en la Otitis Crónica sin colesteatoma en 40 niños, estudiada por Kenna en 1988, obtiene como germen más frecuente la Pseudomona Aeruginosa (37 oídos, 65%) y en 18 oídos (30%) sería el único aislado. Se aisló un solo microorganismo en 19 oídos, dos en 24 oídos

y tres o más en 14 oídos. Los gérmenes aislados asociados con más frecuencia fueron la *Pseudomona Aeruginosa* y el *Staphylococcus Aureus*. Kenna compara los resultados con los obtenidos por Brook en el Colesteatoma y por Harker y Koontz.

Fulghum y Chole en 1985 examinan la bacteriología de los Colesteatomas óticos espontáneos en el Mongolian Gerbil "*Meriones Ungiculatus*". Realiza cultivo en medios aerobio y anaerobio del contenido del colesteatoma y de la cara medial del colesteatoma, que se halla en el interior de la Bulla Timpánica. Sus resultados muestran que los aislados más frecuentes pertenecen a los géneros *Staphylococcus*, *Pseudomonas* y *Corynebacterium* entre los aerobios.

En el grupo de bacterias anaerobias, los géneros aislados con más frecuencia fueron *Bacteroides* y *Peptococcus*. No observaron la existencia de asociaciones características entre los diferentes géneros, sea en el contenido del Colesteatoma o en la cara interna del mismo. El número de géneros aislados a partir del contenido del saco del Colesteatoma era de 3'6 y a partir del frotis de la cara interna, a nivel de la Bulla Timpánica, era de 2'9. No se obtuvo crecimiento, solamente en dos muestras (7%) del contenido del Colesteatoma. Sin embargo fueron estériles 10 (42%) de las muestras de la superficie del mismo.

Sus conclusiones muestran que la flora bacteriana del Colesteatoma ótico en el Gerbil, es similar a la descrita en el Colesteatoma ótico humano. Hay que destacar que de las bacterias aisladas, las más

frecuentes pertenecen al género *Staphylococcus*, con diferencia sobre las demás. El número de aislados anaerobios es significativamente bajo. El número de gérmenes aerobios Gram negativos, es muy elevado si lo consideramos en su conjunto, superando a los Gram positivos en frecuencia.

DESCRIPCION de la PIEL (Ackerman 1978):

Previamente a la descripción de este tema, recordaremos que el Colesteatoma es una enfermedad relacionada con la piel que afecta al hueso Temporal y que es temido por su capacidad de agresión y sus propiedades destructivas. Como se cita en los objetivos del presente trabajo, vamos a describir los cambios que aparecen en la piel del CAE en el cual se ha provocado la aparición de Colesteatoma, siguiendo los hallazgos de McGinn y cols (1984).

Histológicamente el Colesteatoma consiste en una capa de epitelio escamoso estratificado queratinizante (matriz), con un tejido fibroso de granulación que infiltra el oído medio y las cavidades mastoideas (Van Dijk y cols. 1986).

Todos los constituyentes de la piel humana derivan del Ectodermo y Mesodermo.

La piel está formada por tres capas:

- Epidermis.
- Dermis.
- Grasa Subcutánea.

EPIDERMIS:

La epidermis humana varía en grosor, desde 0'04mm. hasta 1'6 mm..Está formada por cuatro tipos de células:

Keratinocitos, Melanocitos, Células de Langerhans y Células de Merkel.

1.- Queratinocitos (K):

Es el componente principal de la epidermis y se suelen encontrar de 15 a 40 capas celulares. Estas células poseen un ciclo de diferenciación desde la profundidad hacia la superficie, hasta la cornificación. Todo el proceso dura aproximadamente 31 días, debiendo añadir 14 días más en el proceso de cornificación (seguido de la descamación de las células muertas).

La replicación (mitosis) de los K se inicia en la capa basal, en la que entre un 3 y un 5% de las células están sintetizando DNA, de las cuales sólo 1/1000 entrará en mitosis.

De las nuevas células hijas, un 50% permanecen en la capa basal y un 50% migran hacia capas superiores.

Durante su migración hacia las capas más externas, los K van a madurar y sufrir cambios característicos.

Ello permite diferenciar las siguientes capas o estratos (ver figura 7):

- Capa Basal.
- Capa Espinosa.
- Capa Granulosa.
- Capa Córnea.

Estas cuatro capas definen diferentes estados de maduración del queratinocito, estando todas ellas interrelacionadas entre sí.

En la piel existen tres tipos de queratinocitos: Queratinocitos Epidérmicos (son los predominantes); Queratinocitos Acrotriciales y queratinocitos Acrosiringiales.

Los queratinocitos basales, de forma cuboidal o columnar, forman una sola columna y contienen un núcleo oval grande, con cromatina y uno o más nucléolos. El citoplasma más basófilo que los K de las capas superiores, contiene abundantes ribosomas (que le otorgan la basofilia) y tonofibrillas.

La capa espinosa muestra los K de forma poligonal, que va aplanándose a medida que se acerca a las capas más superficiales. Su denominación es debida al aspecto "espinoso" con que son observadas a microscopia óptica, debido a la existencia de espacios intercelulares.

Las tonofibrillas celulares aumentan a medida que asciende el queratinocito, que van a otorgar a la capa córnea su aspecto eosinofílico.

En dirección a la superficie de la epidermis, observamos la existencia en el citoplasma de gránulos basofílicos oscuros, denominados gránulos de queratohialina, sin estructura interna, de contenido osmofílico a microscopia electrónica.

A medida que aumenta el número de tonofibrillas y gránulos osmofílicos, en dirección hacia la superficie, el núcleo celular y la mayoría de las organelas intracelulares, van desapareciendo.

En la capa córnea encontramos la existencia de células cornificadas, planas, eosinofílicas y anucleadas.

Las células del epitelio epidérmico están unidas entre sí por desmosomas típicos, característicos de todos los epitelios, que confieren estabilidad mecánica. Estos se rompen y vuelven a formar a medida que los queratinocitos ascienden.

Inmediatamente por debajo de la capa basal encontramos una formación muy delgada, que contiene mucopolisacáridos neutros, denominada Membrana Basal. Normalmente no es visible en las tinciones de Hematoxilina- Eosina y sí lo es en la tinción con PAS (Periodic- Acid- Schiff). A microscopia electrónica de transmisión, se objetiva con facilidad la membrana basal, que se halla separada de las células de la capa basal por

una capa transparente a los electrones, denominada Lámina Lúcida.

En la epidermis no existen vasos sanguíneos.

2.- Melanocitos:

Son células dendríticas que sintetizan y secretan pigmento de melanina.

Derivan de la cresta neural, desde donde migran a la epidermis, membranas mucosas, epitelios, dermis, folículos pilosos, leptomeninges, tracto uveal, retina y a otros tejidos de forma irregular.

En la piel se sitúan en la unión dermo- epidérmica, excepto en aquellos casos en que se localizan en la dermis.

La proporción entre queratinocitos y melanocitos varía entre $1/4$ y $1/10$, según las regiones. Esta proporción aumenta en la piel anciana, a favor de los queratinocitos. La intensidad de la pigmentación de la piel varía, más que en la cantidad de melanocitos, en la distribución de los mismos entre los queratinocitos y la cantidad, tamaño y distribución intracelular de la melanina.

Los melanocitos se localizan por debajo de la capa basal de la epidermis, de color claro por artefacto de la preparación histológica, que provoca un colapso del citoplasma del melanocito alrededor del núcleo del mismo.

La capa basal es la más pigmentada, aunque también es posible observar pigmento en la capa córnea.

Las dendritas de los melanocitos se extienden en todas las direcciones.

En el interior de los melanocitos se encuentra un retículo endoplásmico rugoso bien desarrollado, aparato de Golgi y ausencia de tonofibrillas y desmosomas. También se encuentran los Melanosomas, formaciones redondeadas donde se forma la melanina.

Posteriormente la melanina es transferida a los queratinocitos por "apocodación", con lo cual los melanocitos y los queratinocitos forman una unidad biológica.

3.- Células de Langerhans:

También son células dendríticas como los melanocitos y suelen situarse en las porciones más externas de la epidermis.

Poseen un núcleo de forma irregular y contienen característicamente en su citoplasma unos gránulos en forma de "raqueta de tenis" y en "bastones", denominados "gránulos de Birbeck".

Estas células son la únicas del epitelio que contienen receptores para Fc- IgG y C3, a la vez que poseen antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad. Se les atribuye una función de regulación inmunológica (Gantz 1984) (células centinela).

4.- Células de Merckel:

Se localizan en la capa basal de la epidermis y en el disco piloso de la piel.

DERMIS:

En la dermis de la piel humana, podemos distinguir dos capas. Una de ellas es delgada y se localiza inmediatamente por debajo de la epidermis (dermis papilar). La segunda capa más gruesa es la dermis reticular.

La epidermis y la dermis papilar forman una unidad funcional, como lo demuestra su alteración conjunta en determinados padecimientos inflamatorios.

La dermis reticular se extiende hasta la grasa subcutánea.

Los fibroblastos son los productores de las fibras de colágeno y de la sustancia fundamental de la misma.

El fibroblasto posee en su citoplasma un retículo endoplásmico rugoso bien desarrollado, mitocondrias y aparato de Golgi. Ello indica que se trata de células muy activas. Su núcleo tiene forma de huso.

Las fibras de colágeno y elásticas son el producto de la polimerización en el exterior de la célula, de unidades monoméricas secretadas por el fibroblasto.

La matriz extracelular de la dermis también es formada por el fibroblasto. En su composición predominan los mucopolisacáridos ácidos, aunque también se dan los mucopolisacáridos neutros, proteínas y electrólitos.

Otras células pueden asimismo hallarse en la dermis, como los histiocitos y monocitos.

En esta capa se observa la existencia de vasos sanguíneos, linfáticos, nervios, músculos y glándulas.

GRASA SUBCUTANEA:

No la vamos a describir, ya que su interés en el presente estudio es relativamente escaso.

TEJIDO OSEO (Ham 1985):

Como definición, el tejido óseo está formado por células y por substancia intercelular orgánica, denominada *matriz*.

La matriz está calcificada y en su interior obserbamos la existencia de una serie de lagunas, en las cuales se alojan unas células denominadas Osteocitos.

Descripción de las células óseas:

El hueso del Conducto Auditivo Externo del Mongolian Gerbil "Meriones Unguiculatus" está formado por hueso compacto, maduro o laminado. Este hueso se tiñe, a diferencia del inmaduro, de forma uniforme y con escasa celularidad en lagunas aplanadas.

Las células osteógenas se disponen en las superficies óseas como componentes de dos membranas, el periostio y el endostio.

El periostio recubre la superficie externa del hueso y en él podemos diferenciar dos zonas, una capa externa fibrosa y una capa interna denominada osteógena. La capa osteógena del periostio en reposo (cuando no hay aposición, ni reabsorción ósea), es poco notable pero pueden ser observadas unas células delgadas, aplanadas y pálidas de aspecto fusiforme, que las denominamos células osteógenas en reposo. La capa externa del periostio o capa fibrosa en reposo, contiene fibroblastos, fibras de

colágeno y algunas fibras elásticas, junto con vasos sanguíneos.

Las células de la capa osteógena del periostio, son la base de casi toda la formación del hueso en el desarrollo y en el crecimiento de los huesos.

El endostio es una membrana que se encarga de revestir los espacios de hueso esponjoso, la cavidad medular y los conductos de Havers (también denominados *osteones*) del hueso compacto. Consiste en una capa continua de células osteógenas inactivas (en reposo), aplanadas, sin características especiales pero que actúan de fuente de células para formar nuevos sistemas de Havers.

Estas células osteógenas del periostio y del endostio, como ya se ha citado, no poseen características celulares típicas por lo cual las identificamos solamente por su ubicación.

Estas células osteógenas sometidas a un estímulo que las haga diferenciarse, se convertirán en Osteoblastos. Las células osteógenas entonces proliferan y aumentan de tamaño, con un núcleo y citoplasma más basófilos (por aumento de concentración de RNA). La composición de su citoplasma variará, según su grado de diferenciación en Osteoblastos.

En el periostio diríamos *activado*, las células osteógenas van a diferenciarse en Osteoblastos y a medida que éstos son rodeados por nuevo hueso formado, pasan a ser Osteocitos. Entre el hueso antiguo y el neoformado

hay una línea más densa, denominada "línea de cementación"

La demostración de la proliferación de las células osteógenas de la capa profunda del periostio, hasta su transformación en Osteoblastos y posteriormente en Osteocitos ha sido demostrada por medio de la radioautografía.

En general es aceptado que los Osteoclastos se originan a partir de precursores mononucleares de la serie monocito / macrófago, según se cita en Nicholson y cols en 1986, sin descartarse su posible origen a partir de una Stem Cell diferente de la médula ósea. Estas células no tienen claramente el mismo origen que el de la línea de los Osteoblastos.

Los Osteoclastos poseen gran cantidad de receptores para la Calcitonina (en las células de rata), que se cifran en millones por célula, mucho mayor con diferencia, respecto a las otras células estudiadas (riñón, cerebro, testes, algunas células linfoides y células cancerosas del pulmón y de la mama). La Calcitonina como sabemos, inhibe la reabsorción ósea, actuando directamente sobre los osteoclastos, reduciendo su número y actividad (Friedman y cols. 1967, y Singer y cols. 1976, citados en Nicholson 1986).

No se ha demostrado, según se cita en Nicholson y cols. en 1986, la acción de la Calcitonina sobre los Osteoblastos ni Osteocitos. En este mismo trabajo se cita la existencia de receptores para la Calcitonina en células mononucleares, que estructuralmente no son

Osteoblastos, que podrían corresponder a precursores mononucleares de los Osteoclastos en proceso de expresión de los receptores citados, según se ha demostrado usando técnicas de autoradiografía con Calcitonina de Salmón, marcada con Iodo 125.

En el tejido óseo, aparte de las células descritas, se observa la existencia de una línea densa. Esta línea fue descrita inicialmente, por Robinson y Cameron en 1956 (citados en Scherft 1972) en la osificación endocondral entre el cartílago calcificado y la matriz ósea ha recibido diferentes denominaciones.

Inicialmente las referencias eran como *borde* y posteriormente *línea de demarcación*, *línea densa*, *lámina osmiofílica*, *borde denso*, *zona periférica* y *lámina limitante* (LL) (Scherft 1972). Ham (1985) se refiere a ella como *línea de cementación*.

Scherft (1972) cita que la LL es la primera estructura orgánica en desaparecer en la resorción osteoclástica, aunque también se da la reabsorción de matriz ósea en ausencia de desaparición de la LL.

OSTEOBLASTOS

Los Osteoblastos son células que se encargan de sintetizar y secretar la matriz orgánica del hueso, alrededor de sus prolongaciones celulares que se dirigen hacia los *conductillos*. Tal vez una función secundaria sería la calcificación de la matriz.

Tienen una forma más o menos poligonal, con el núcleo excéntrico, alejado de la zona en contacto con la

superficie ósea. Se parece a una célula plasmática, con un citoplasma basófilo, con un aparato de Golgi bien desarrollado y abundante Retículo Endoplásmico rugoso, propio de las células secretorias.

Se encarga de sintetizar procolágena, constituyentes amorfos de la matriz ósea y algunos enzimas.

La excreción de estos productos se efectúa por exocitosis a nivel del polo cercano al hueso, de forma similar a las células de una glándula epitelial que secreta por el vértice.

Sin embargo, los Osteoblastos tienen la capacidad de secretar por cualquier parte de la superficie, como se demuestra en la osificación intramembranosa en que no hay superficie ósea inicial sobre la que secretar, rodeándose por completo por la matriz ósea y convertirse así en Osteocitos, lo cual sugiere que secretan por toda la circunferencia.

Poseen unas prolongaciones citoplasmáticas que no son observadas a microscopia óptica, pero sí a microscopia electrónica.

Los Osteoblastos parecen participar en la regulación del desarrollo de Osteoclastos en cultivos celulares (Burger y cols 1986).

Los Osteoblastos no se dividen y como ya se ha citado, se originan a partir de las células osteógenas.

Shigemasa Hanazawa y cols. en 1986 observan que la Interleucina 1 humana, secretada por Macrófagos activados, actúa como agente de diferenciación de los Osteoblastos in vitro.

OSTEOCITOS

Los osteocitos se encuentran alojados en unas lagunas en el interior del hueso, con escaso citoplasma en los cortes decalcificados y con unas prolongaciones celulares que se introducen en los *conductillos* hasta llegar a contactar con las prolongaciones de otros Osteocitos. Estas prolongaciones se pueden ver en cortes de microscopia electrónica, aunque difícilmente en toda su longitud.

La estructura y contenido celular varía según su edad. Así los más jóvenes se parecen a los Osteoblastos y los más antiguos poseen menos Retículo Endoplásmico rugoso y menos Aparato de Golgi. En los Osteocitos antiguos se describe la existencia de unos cuerpos densos que tienen características de lisosomas.

Los Osteocitos se nutren por los *conductillos* y no están más lejos de 0'1 a 0'2 mm. de un vaso capilar.

No tienen capacidad para proliferar y su función en las lagunas parece corresponder a la de conservar la matriz ósea y la liberación de Calcio cuando aumenta la demanda del mismo.

La liberación de Calcio por parte de los Osteocitos se conoce como Osteolisis Osteocítica, habiéndose

estudiado histológicamente esta posibilidad, aunque existen datos de duda al respecto.

Los Osteocitos no poseen un reborde rugoso que permita la acidificación del medio para iniciar la resorción. Tienen un linaje celular distinto a los Osteoclastos, aunque podrían actuar sobre el hueso por el contenido de los lisosomas antes citados.

La muerte del Osteocito podría favorecer la acidificación del medio, para disolver el mineral óseo y de esta forma aumentar el tamaño de las lagunas (se observa que las lagunas vacías son de mayor tamaño).

Está aceptado que los Osteoclastos son los responsables de la reabsorción de la matriz ósea y de sus constituyentes, pero existen escasos conocimientos acerca de lo que ocurre con los Osteocitos durante la resorción ósea osteoclástica. Elmardi y cols. en 1990 estudian la resorción ósea por Osteoclastos a microscopía electrónica de transmisión, y observan que éstos rodean y destruyen los Osteocitos en el momento en que entran en contacto.

OSTEOCLASTOS

Deben su nombre a Kolliker hace aproximadamente cien años y desde entonces ha sido muy discutido su origen, función y tiempo de vida.

Según Jotereau (1985), la mayoría de los conceptos sobre el origen de las células óseas, podría agruparse en dos teorías: la primera teoría monofilética atribuye al osteocito y al osteoclasto una sola línea filogenética a partir de un mismo precursor denominado

Preosteoblasto u Osteoblasto y una segunda teoría o bifilética, según la cual el Osteoclasto procedería de una línea diferente, por la fusión de células sanguíneas mononucleares.

La teoría monofilética, actualmente abandonada, procedía de los resultados obtenidos con el marcaje del hueso, en desarrollo o regeneración, con Timidina tritiada. Se observaba que la Timidina se incorporaba a los Osteoblastos y posteriormente a los núcleos de los Osteoclastos (Jotereau 1985).

Los argumentos a favor de la segunda teoría, según cita Jotereau, también proceden de estudios con Timidina tritiada, con la diferencia de que la Timidina era administrada estando el hueso de *Tritón* en reposo (Fischman y Hay en 1962, citado en Jotereau 1985) comprobando que, sin lugar a duda, el marcador de los núcleos de los Osteoclastos provenía de leucocitos, muy probablemente de los monocitos (citado en Ham 1985).

Diversos investigadores siguieron la línea del origen diferente de los Osteoclastos ante la duda que habían planteado Fischman y Hay (1962), aunque con resultados diversos.

La confirmación de que los Osteoclastos procedían de células circulantes en la sangre, proviene de los estudios de parabiosis de Walker en 1973 (citado en Ham 1985 y en Jotereau 1985). En su experimento conecta una rata afecta de osteopetrosis a otra normal, de la misma camada, en parabiosis vascular. Observó que las ratas enfermas de osteopetrosis conectadas en parabiosis,

sanaban. La explicación que se dió, era que algún tipo de célula circulante en la sangre del animal normal se había establecido en el enfermo y daba lugar a la aparición de Osteoclastos normales.

Posteriormente, otros trabajos de Kahn y Simmons en 1975, Jotereau y Le Duarin en 1978 (citados en Ham 1985 y en Jotereau 1985), refieren el origen de los Osteoclastos a partir de células hemáticas.

Nijweide y cols. en 1985 estudian los antígenos de superficie celular de los Osteoclastos y de otras células macrofágicas, intentando establecer una similitud de los mismos, utilizando Anticuerpos Monoclonales. Observan que los Osteoclastos, células de Kupffer y Macrófagos intestinales de la Lámina Propia, captan los Ac Monoclonales del tipo OC 6.1 y OC 6.3 , no captados por los Osteoblastos. Según estos autores, ello sugiere un posible origen común de los Osteoclastos y de algunos Macrófagos.

También se ha observado que los Osteoclastos in vitro, captan por medio de endocitosis la lectina Concanavalina A (proteína tetravalente que se une específicamente a los glicoconjugados de la superficie celular que contienen residuos alfa de D-glucosa y D-manosa), de forma similar a las células mononucleares en cultivo y a los Linfocitos (Popoff y cols. 1986).

Otro de los objetivos de Popoff (1986), es establecer una línea de estudio que permita esclarecer el mecanismo por el cual actúan las sustancias reguladoras sobre los Osteoclastos.

Baron y cols. en 1986 crean un modelo experimental para determinar los precursores de los Osteoclastos. Su conclusión es, que las células de la línea de los fagocitos mononucleares se fusionan al contactar con la superficie ósea de resorción, dando lugar a la aparición de Osteoclastos.

La hipótesis de que los Osteoclastos derivan de células pluripotenciales del sistema Stem Cell de la línea hematopoyética, es refrendada también por Scheven y cols. en 1986 en estudios sobre la generación de Osteoclastos a partir de fracciones de médula ósea. Otro de los datos que aporta este estudio, es la necesidad de la Interleucina- 3 para iniciar la proliferación y diferenciación de las células pluripotenciales Stem Cell.

Thesingh en 1986 investiga la distribución y lugar de formación de los precursores de los Osteoclastos, durante el período fetal de ratón (Swiss Albino). Objetiva una extensa distribución de precursores de los Osteoclastos, localizándolos en todos los órganos estudiados del ratón (in vitro) e incluso en la capa decídua del útero pregnante de la rata.

Kurihara N. y cols. publican en 1990 un estudio sobre el origen celular de los Osteoclastos. Observan que en los cultivos de células mononucleares de médula ósea, tras añadirles 1,25- Dihidroxivitamina D, aparecen células poligonales que reaccionan en el 1%, frente al Anticuerpo 23c6, que reconoce de forma preferencial a los Osteoclastos. Posteriormente estas células poligonales forman células multinucleadas que reaccionan en el 100%, frente al Anticuerpo 23c6 y el 90% responden a la

Calcitonina. El 20% de estas células multinucleadas reabsorbe matriz calcificada. Estos resultados sugieren que las células de la línea granulocito- macrófago de la médula ósea dan lugar a precursores osteoclasticos, que van a formar células multinucleadas que cumplen los criterios establecidos para los Osteoclastos.

Las evidencias muestran que los Osteoclastos participan activamente en la reabsorción ósea (Blair y cols. 1986 y Elmardi y cols. 1990), a pesar de que su mecanismo no es del todo conocido.

La acción de la Calcitonina inhibe la reabsorción ósea disminuyendo la actividad y número de Osteoclastos, según citan Singer y cols. en 1976.

Estructura de los osteoclastos:

Son células voluminosas, multinucleadas, que aparecen en áreas de resorción ósea, alojados en unas depresiones denominadas *lagunas de Howship*.

Suelen contener habitualmente de 5 a 10 núcleos, aunque es posible encontrar de 2 a 100 núcleos. Algunos de los núcleos tienen forma irregular, indicativo de que se trata de formas viejas.

El citoplasma, según su estado funcional, puede ser basófilo o acidófilo. La porción cercana al hueso contiene menos núcleos.

Los Osteoclastos muestran un intenso marcaje frente a la tinción para marcar la actividad de Fosfatasa Acida (Glowacki y Cox 1986).

Borde plegado:

En la región celular cercana al hueso poseen una estructura característica, el "reborde en cepillo" o "ruffled border", por asemejar las cerdas de un cepillo, que no se observa siempre, ni en todos los cortes. Fue descubierto con el advenimiento de la microscopía electrónica, a mediados de los 50 (Scott y Pease 1956, citado en Ham 1985).

La primera descripción del "borde vellosos" se remonta a Kolliker en 1873. Posteriormente Pommer en 1883, atribuye el hallazgo del "borde vellosos" a las fibrillas que sobresalen del hueso desmineralizado.

Este reborde en cepillo, también denominado borde plegado, alojado en la región de reabsorción activa de hueso, consiste en unas prolongaciones y pliegues del plasmalema, semejante a vellosidades. Tienen un diámetro variable y a menudo se ramifican y anastomosan entre sí.

Si se separa al Osteoclasto del hueso, este borde plegado no se observa y desaparece.

Puede existir más de un borde plegado, si hay varias zonas de contacto con el hueso.

En este borde plegado existiría una secreción de ácido, que haría solubles a las sales de Calcio.

Zona Clara:

Rodea a modo de cinturón al borde plegado y en esta zona el plasmalema sigue el contorno del hueso. Contiene

escasos órganos celulares. En esta zona se observa la existencia de microfilamentos con actina, con lo cual podrían sujetar a la célula contra la superficie ósea, o bien causar la agitación de los bordes de los Osteoclastos.

La zona clara desaparece cuando se separa al Osteoclasto de la superficie ósea.

Región Vesiculosa:

Debajo del borde plegado hay una región vesiculosa, con citoplasma claro. Estas vesículas corresponderían a vellosidades del borde plegado cortadas en un eje transversal u oblicuo, aunque no puede descartarse que se trate de vesículas que se desprendan por gemación en el borde de las hendiduras o bien que fuesen fagosomas derivados del plasmalema que recubre las hendiduras del borde plegado.

Porción Basal:

Contiene los núcleos de la célula y un citoplasma con abundantes mitocondrias, que se encarga de producir la energía necesaria. El Retículo Endoplásmico Rugoso es escaso, existen abundantes pilas de Golgi y Ribosomas y Poliribosomas.

La existencia de abundantes pilas de Golgi le confieren al Osteoclasto un papel eminente como célula secretora. Las vesículas se desplazarían hacia la región vesiculosa, en donde algunas vesículas se fusionarían con el plasmalema y vaciarían su contenido al líquido

tisular. Otras vesículas permanecerían en la célula a modo de lisosomas.

Los enzimas liberados participarían en la digestión de los componentes orgánicos no colágenos de la matriz ósea.

Funciones:

La reabsorción ósea es un proceso continuo, regulado con precisión, fundamental para el crecimiento y remodelación del esqueleto y vital para el mantenimiento de los niveles de Calcio circulantes (Raisz 1970).

Para que el proceso de resorción ósea tenga lugar, deberá existir una solubilización del hueso mineral e hidrólisis del colágeno óseo (Blair 1986).

Como ya se ha citado anteriormente, los Osteoclastos participan en esta función de resorción, aunque con un mecanismo poco conocido.

Chambers y cols. en 1985 citan que los Osteoclastos no son capaces de reabsorber hueso, si la superficie del mismo está cubierta por una capa de osteoide no mineralizada. Sugieren la posibilidad de que previamente a la acción del Osteoclasto, las células de recubrimiento óseo serían las encargadas de remover el material orgánico no mineralizado, para exponer adecuadamente las capas de hueso subyacente mineralizado.

Es preciso citar que el tejido osteoide no mineralizado está presente en todas las superficies

óseas, a excepción de las zonas de reabsorción osteoclástica.

Los Osteoblastos, que producen colagenasa y activador del plasminógeno, pueden influir sobre la acción de los Osteoclastos frente a influencias locales o sistémicas por digestión proteolítica sobre la superficie osteoide (Chambers 1985).

Los Osteoclastos, pieza central como vemos en la resorción ósea, poseen una pieza clave denominada borde plegado (ruffled border), alojado en las lagunas de Howship, rodeado por la zona clara. Esta se encargaría de sellar y delimitar la zona de acción del borde plegado (Baron y cols. 1985). En esta zona sellada existiría una descomposición del componente mineral por acidificación, proporcionada por hidrolasas ácidas (Baron 1985) y tendría lugar la secreción del contenido de los lisosomas y otros órganos celulares del Osteoclasto.

Con estas afirmaciones, Baron (1985) sugiere que los Osteoclastos se comportarían como células activas para secreción ácida de manera similar a las células parietales gástricas y del tracto urinario. Su borde plegado proporcionaría una superficie extensa como soporte de numerosas unidades de *bomba de protones*.

Otro dato que las asemeja a las células gástricas, es la existencia de un número elevado de mitocondrias y una gran actividad de anhidrasa carbónica en el citosol. Se demuestra (Baron 1985) que la inhibición de la actividad de anhidrasa carbónica previene la resorción

ósea en cultivo celular y en el animal altera el equilibrio del metabolismo del Calcio.

La deficiencia genética de actividad de anhidrasa carbónica, se asocia a una forma particular de Osteopetrosis, en que hay una alteración de la resorción osteoclástica y acidosis tubular renal (Sly y cols. 1983).

Sundquist y cols. en 1990 refieren que el Osteoclasto regula su secreción ácida a través de una bomba H (+)- ATPasa, localizada en las vacuolas. Estos autores demuestran que la administración de "Bafilomicina A1", inhibidor de la H (+)- ATPasa, al cultivo celular de Osteoclastos inhibe la reabsorción ósea.

Por tanto todos los datos hasta aquí citados muestran la importancia del borde plegado en la resorción y la importancia que tiene la acidificación en la desmineralización ósea.

Tras la desmineralización, debe producirse la degradación del componente orgánico del hueso.

A pesar de que se asume la capacidad de los Osteoclastos para degradar el colágeno óseo, Heersche (1978) cita que sólo producirían la movilización de la fase inorgánica, mientras que la matriz orgánica sería degradada por los Fibroblastos. Sin embargo se ha demostrado que los Fibroblastos (Stricklin y cols 1977) secretan una colagenasa neutra.

Blair y cols. en 1986 demuestran, en cultivos celulares de Osteoclastos, que éstos son capaces de

degradar ambos componentes del hueso, el mineral y el orgánico. Estos autores no atribuyen a la secreción de colagenasa, por parte del Osteoclasto, la degradación del colágeno óseo ya que los fragmentos resultantes son menores que los productos de la lisis por colagenasa, sino que hacen responsable de este efecto a la acción de hidrolasas ácidas.

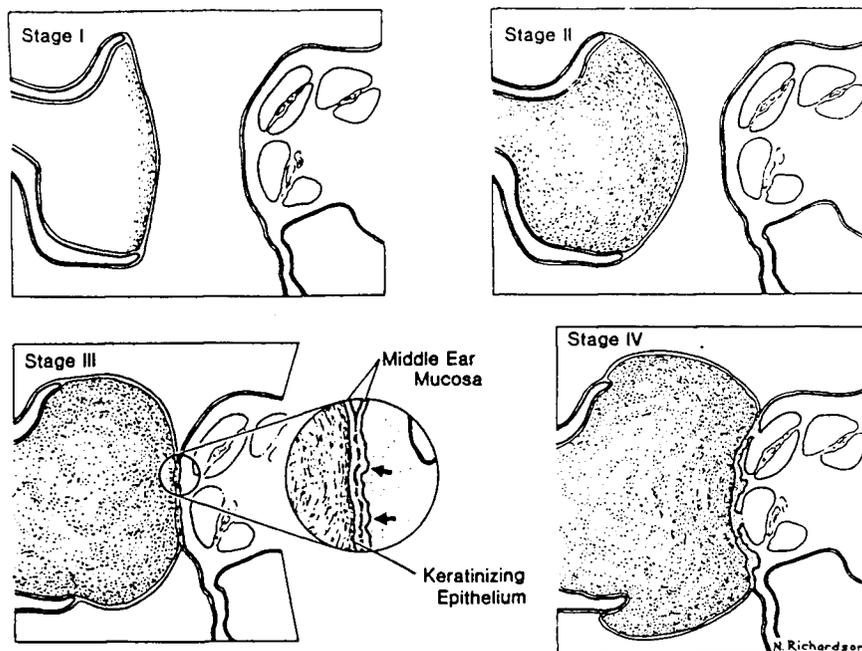
Elementos reguladores de los Osteoclastos:

Solamente vamos a enumerar los factores que influyen de forma comprobada e importante en la diferenciación y actividad de los Osteoclastos.

Fundamentalmente son la Hormona Paratiroidea (PTH), la Calcitonina (CT) (Popoff 1986), las Prostaglandinas PG E2 (Robinson y cols 1975), PG E1 in vitro (Klein y Raisz 1970), *Osteoclastic Activating Factor* (OAF) (Mundy y cols en 1974), Interleucina-1 (Ishikawa y cols 1990), 1,25 hidroxí-vitamina D (Grise y cols. 1990), Protein-C kinasa (Colucci y cols. 1990), Osteoblastos (Grano y cols. 1990), *transforming growth factor beta 1* (TGF) (Hattersley y col. 1991), Prostaglandina E2 y F2 alfa (Collins y col. 1991), Interferón alfa y gamma (Kurihara y col. 1990), *macrophage colony- stimulating factor* (MC- SF) (Kodama y cols. 1991), *efecto presión intermitente* (Klein- Nulend 1990), Interleucín- 3 (Hattersley y col. 1990) y *tumor necrosis factor* (TNF) (Iino y cols. 1990).

Finalmente haremos referencia a los datos sobre la longevidad in vivo de los Osteoclastos. Jones (1986) en

una revisión, citan que pueden persistir in vivo desde 11'5 días hasta 7 semanas en el perro.



Estadios del Colesteatoma según McGinn y Chole (1984):
I/ Acúmulo de queratina en el CAE. II/ Desplazamiento medial del Tímpano, sin contactar con el Promontorio.
III/ Contacto del Colesteatoma con el Promontorio. IV/ El Colesteatoma rellena toda la Bulla, con erosión ósea. V/ Extensión intracraneal del Colesteatoma.

MONGOLIAN GERBIL "Meriones Unguiculatus"

Descripción:

- Características Generales:

El Mongolian Gerbil "Meriones Unguiculatus" (MU), pertenece al orden RODENTIA, suborden MYOMORPHA, superfamilia MUROIDEA y familia CRICETIDAE.

Dentro de la familia CRICETIDAE, encontramos cinco subfamilias, con diferentes especies. El MU se sitúa taxonómicamente en la subfamilia GERBILLINAE, junto con otras cuatro especies:

Gerbillus Pyramidum / Pachyuromys Duprasi / Tatera Indica / Meriones Libycus (Bugge 1970 y 1974).

Los ratones de la subfamilia GERBILLINAE son los que habitan en mayor número de especies en el "Great Palaeartic Desert" según cita Lay en 1972.

Sin embargo, la mayor diversidad de la subfamilia GERBILLINAE aparece en el Norte de Africa, mientras que la subfamilia DIPODIDAE aparece fundamentalmente en el Asia Central, a pesar de tener una línea evolutiva divergente desde el Oligoceno según refiere Wood en 1965.

El hábitat natural del MU lo comprenden las regiones desérticas del Noreste de China, Mongolia y alrededor del Lago Baikal (Lay 1972 y Loew 1984).

El peso del ratón adulto suele oscilar entre 70 y 100 grs.

En su hábitat natural excava galerías en el suelo y su actividad es fundamentalmente nocturna. Las galerías le permiten mantener una temperatura y humedad estables. Se adapta con facilidad a temperaturas extremas, que van desde los 0°C hasta los 32°C, pudiendo sobrevivir a temperaturas inferiores o superiores siempre que se mantenga una adecuada alimentación y ventilación. La temperatura satisfactoria se sitúa entre 20 y 22°C, con una humedad relativa baja, en torno al 30% . Se recomienda asimismo una exposición lumínica diaria de 12 a 14 horas (Lay 1972 y Loew 1984).

En el exterior suele adoptar una postura en bipedestación, que le permite vigilar y observar su entorno (Lay 1972).

Posee una capacidad única, entre los animales de laboratorio, para conservar agua. Necesita un promedio de 4 ml. de agua al día, pudiendo incluso obtenerla a partir de verduras frescas. Con un consumo de 2 ml. de agua al día, puede mantener su peso. Sin agua puede sobrevivir hasta 45 días.

Su alimentación en el laboratorio responde a los estándares en alimentos para rata/ ratón, comercializados a tal fin. Sin embargo prefiere las semillas de girasol, frente a cualquier otro. Pero las semillas de girasol contienen excesiva grasa e insuficiente Calcio, por lo cual no se recomienda como alimento exclusivo.

Dado que el alimento administrado en laboratorio contiene escasa cantidad de agua, ésta debe ser administrada independientemente, en botellas a tal fin.

Sus necesidades alimentarias diarias son de unos 8 grs. en el adulto.

Es un animal monógamo y suele aparearse a partir de las 10 ó 12 semanas, manteniéndose fiel a su pareja desde entonces.

No presenta predisposición a la lucha (Loew 1984).

FISIOLOGIA :

El MU no es un animal hibernante. En el laboratorio construye nidos (hay que aportarle el lecho necesario) y se esconde en ellos la mayor parte del día, de forma instintiva (Lay 1972 y Loew 1984).

Características Biológicas principales:

(apéndices II, III, IV, V y VI del CCAC 1980)

- * Temperatura rectal-- 39^o C.
- * Frecuencia respiratoria-- 70 a 120 por minuto.
- * Frecuencia cardíaca-- 269 a 600 p. por minuto.
- * Diuresis diaria-- escasas gotas.
- * Hematíes-- 7 a 10.000.000 /ml.
- * Hemoglobina-- 10 a 17 gr./ 100 ml.
- * Plaquetas-- 400 a 600.000 /ml.
- * Leucocitos-- 7 a 22.000 /ml.
 - Neutrófilos: 27-73 %.
 - Linfocitos: 27-57 %.
- * Volumen sanguíneo total-- 60 a 85 ml / Kg.
- * Glucemia-- 40 a 140 mg /dl.
- * B.U.N.-- 17 a 31 mg /dl.

- * Natrema-- sin datos.
- * Kaliemia-- 3'3 a 6'3 mEq /l.
- * Calcemia-- 3'7 a 6'2 mg /dl.
- * Fósforo inorgánico-- 3'7 a 8'2 mg /dl.
- * Proteínas totales en plasma-- 5 a 17 grs./dl.
- * Albuminemia-- 2'5 a 4'5 grs./dl.
- * Colesterolemia-- 90 a 130 mg /dl.

Reproducción:

La madurez sexual la adquiere alrededor de las 12 semanas. El ciclo de estro dura unos 4 días (poliestro). El periodo de receptividad sexual dura de 12 a 14 horas.

El periodo de gestación es de 25 días y en el postparto puede darse la ovulación al cabo de 18 horas, siendo la hembra nuevamente receptiva para el macho, si no se ha separado la pareja previamente.

De cada hembra pueden nacer un promedio de seis ratones, con un rango de uno a diez. La hembra suele eliminar a los recién nacidos más débiles, aunque no exista en esta especie una conducta de canibalismo. La separación de las crías puede retrasarse hasta 6 semanas.

Los ratones pueden separarse según el sexo ya desde el momento de su nacimiento, atendiendo a la distancia entre la papila anogenital, que es del doble en el macho.

El MU es monógamo y ello debe tenerse en cuenta, ya que si por cualquier razón uno de los integrantes de la pareja fallece, el otro integrante no aceptará una nueva pareja, hasta el punto de luchar hasta eliminarlo. Además tras el parto, no debería mantenerse la pareja separada

más allá de las dos semanas, para evitar luchas entre ellos.

TRASTORNOS PATOLOGICOS (Loew 1984):

El Mongolian Gerbil "Meriones Unguiculatus" padece pocas enfermedades a lo largo de su existencia, teniendo siempre en cuenta las características básicas para su mantenimiento en laboratorio (ya citadas previamente).

Suelen vivir 3 ó 4 años y a lo largo de los mismos aumenta la incidencia de neoplasias espontáneas, como refieren Marston, Harkness y cols., Ringler y cols. y Benitz y cols (citados en Loew 1984).

Se afectan fundamentalmente los ovarios, glándulas sebáceas ventrales, riñón, glándulas suprarrenales y piel. La frecuencia con que aparecen tumores a partir de los dos años, según Vincent y cols., hace que este ratón no sea adecuado para estudios de toxicidad a largo plazo (citado en Loew 1984).

Las parasitosis intestinales son poco frecuentes. Son susceptibles a las infecciones por Salmonella. Pueden padecer trastornos diarreicos por la Enfermedad de Tyzzer, causada por el Bacillus Piliformis.

Pueden presentar crisis convulsivas, si se manipulan, en el laboratorio, de forma brusca o inadecuada. No afectan a su salud.

La manipulación inadecuada puede también conducir a la pérdida de la piel de la cola o bien a su rotura, así como a fracturas, con el consiguiente riesgo de infección

y fundamentalmente de hemorragia. Por ello se aconseja sujetarlo con firmeza por la piel del dorso, cabeza y base de la cola, nunca por la extremidad distal de la misma porque aparte de las lesiones que le podemos provocar, es un animal muy ágil y puede mordernos o bien caer al suelo.

Tal vez el indicador más importante del estado de salud del MU es la pérdida de peso. Una pérdida de peso rápida o progresiva, una vez descartada la falta de alimentos, agua y sobrecrecimiento de los incisivos, es indicativo de vejez o bien de los trastornos patológicos previamente citados (génesis de tumores).

Este ratón no suele padecer trastornos de vías respiratorias altas, otitis ni neumonías, probablemente por la típica postura erguida, aunque la escasa longevidad del mismo puede también justificarlo.

Fulghum y cols. en 1985, citan la aparición de colesteatomas óticos espontáneos.

Harkness y Wagner en 1983 citan la aparición de hipercolesterolemia, hiperlipemia y lipidosis hepática, cuando a la dieta estándar se le añade un 1% de colesterol (citado en Loew 1984).

ANATOMIA Y FISIOLOGIA DEL OIDO :

En la descripción de la anatomía ótica del Mongolian Gerbil, vamos a seguir la estructuración del oído de ratón citada por Browning en 1978:

1.- Bulla Timpánica.

2.- Conducto Auditivo Externo y Membrana Timpánica.

3.- Cadena Osicular.

4.- Laberinto.

1.-Bulla Timpánica:

La Bulla Timpánica (BT), conforma la porción ósea que delimita el oído medio y la porción ósea del Conducto Auditivo Externo (CAE), conteniendo también el Laberinto.

Adopta una forma ovoide, con su eje mayor situado en dirección pósterioanterior y oblicua, como puede verse en el esquema de cráneo seco siguiente (Fortuny 1988).

Comparada con la BT de la Chinchilla, esta última es más elíptica y proporcionalmente menor (Daniel 1982).

El hueso que la compone es muy fino en condiciones normales, siendo muy fácil atravesarlo con un objeto punzante, como refiere Fulghum en 1982, permitiendo un fácil abordaje de la caja timpánica, como también está descrito en la literatura por otros autores (Fortuny 1988).

La BT posee en su cara interna varios engrosamientos óseos, en forma de "T", a modo de arbotantes, que no llegan a tabicar o compartimentar la caja timpánica (Lay 1972, Daniel 1982) y confieren sustento al CAE y al resto de la BT.

La relación entre el tamaño de la BT y la base del cráneo (Daniel 1982) en el MU es de un 43 %, comparada a la de la rata Long Evans de un 15 % y a la de la Chinchilla de un 45%, definiendo la base del cráneo como la distancia entre el borde anterior del foramen magno y la cara anterior de los incisivos superiores.

La cara externa de la BT está recubierta por músculo estriado, hecho diferencial con la Chinchilla, en su porción cefálica dorsal (Daniel 1982), en la cual el hueso de la BT es subcutáneo. Ello puede hacer más dificultosas algunas maniobras experimentales (por ejemplo: introducción de inóculum bacteriano).

Siguiendo con la descripción de la cara externa de la BT vamos a referirnos por separado a las diferentes caras de la misma, para describir los hallazgos anatómicos de interés (Fortuny 1988):

a/. Cara Lateral.

b/. Cara Caudal.

c/. Cara Medial.

a/.- Cara LATERAL: En ella destaca sobre todo el ostium externo del Conducto Auditivo Externo (CAE), de unos 2 mm. de diámetro, según cita Fulghum en 1987, en situación cefálica.

El ostium externo del CAE es mucho más estrecho que el ostium interno, donde se inserta la Membrana

Timpánica. Ello hace difícil trabajar a través del CAE (Fulghum 1987).

El punto de salida del nervio facial, equivalente en el humano al agujero estilomastoideo, se sitúa también en esta cara lateral, justo en la región pósterosuperior del ostium externo del CAE óseo (ver figura).

b/.- Cara CAUDAL: Aquí hay dos estructuras a remarcar, la primera de ellas es el orificio de entrada hacia la caja timpánica de la Arteria Estapedia, muy próxima al eje longitudinal de la base del cráneo, en la región más posterior de la BT.

La segunda estructura está situada en el vértice anterior de la BT y corresponde a la apertura exterior hacia la faringe, de la Trompa de Eustaquio.

c/.- Cara MEDIAL: Está en relación con el endocráneo y ocupada en su práctica totalidad por el Laberinto y las estructuras del Conducto Auditivo Interno.

Según cita Lay en 1972, la BT la podemos separar en dos mitades, una externa denominada porción Petromastoidea y otra medial o interna denominada porción Timpánica (ver figura).

2.-Conducto Auditivo Externo y Membrana Timpánica:

El CAE posee una porción ósea, que aproximadamente es la responsable de la mitad de su longitud total y una porción membranosa, apoyada parcialmente sobre una formación fibrocartilaginosa en forma de media luna.

El CAE tiene forma de tronco de cono, con su base más ancha cerrada por la Membrana Timpánica.

Un dato anatómico a destacar es que el nervio Facial, en su trayecto extracraneal, discurre adherido a la cara posterior del CAE membranoso, para incurvarse hacia abajo y adelante por debajo del mismo a la altura del cartílago que da soporte al CAE membranoso. Esta característica debe ser tenida en cuenta en la cirugía sobre la BT, para evitar lesionarlo (Fortuny 1988).

La Membrana Timpánica posee una pars tensa muy amplia, en dirección oblicua hacia abajo si la observamos por otomicroscopía desde el ostium externo del CAE y una membrana accesoria de Hirtl (Lay 1972), que se sitúa aproximadamente en la región que debería ocupar la pars flácida. Lay fundamenta este argumento en el Gerbil, en el hecho de que la estructura de la pars tensa y el tímpano accesorio es histológicamente idéntica. Sin embargo, otros autores como Fulghum (1987) denominan a la membrana que cierra la incisura timpánica superior como Membrana de Schrapnell (MS), que sería el equivalente a la membrana accesoria de Hirtl. A través de la MS podemos ver por transparencia el cuello del martillo.

3.-Cadena Osicular :

Está compuesta por la articulación del martillo con el yunque y de éste con el estribo. El martillo y el yunque están articulados mediante unas facetas articulares cartilaginosas, a diferencia de lo que ocurre en otros animales de laboratorio, en que se hallan fusionados (conejo y chinchilla) según Browning (1978) y Aly El-Mofty en 1967.

El martillo posee:

-Cabeza, alargada, con la faceta articular para el yunque.

-Cuello, que forma un ángulo abierto con el mango del martillo y podemos verlo por transparencia a través del tímpano.

-Mango, que posee una sección en forma de "T", firmemente adherido a la pars tensa y con una terminación aplanada y lenticular en su extremo distal.

-Dos apófisis:

* Anterior- de gran tamaño y que va a alojarse en una foseta a nivel de la espina timpánica anterior.

* Lateral- pequeña, equivalente a la apófisis corta del martillo en el humano.

El yunque es muy similar en su forma al humano, a excepción del tamaño respecto al martillo. Podemos identificar un cuerpo, una apófisis corta, una apófisis larga y la lenticular.

En 1967 Aly El-Mofty expone que la relación entre la longitud del martillo respecto al yunque, variará ampliamente en los diferentes animales, atribuyendo a ello la diferente sensibilidad para la percepción de los sonidos.

El estribo posee la forma ya descrita en el hombre, por Pedro Ximeno, Profesor de Anatomía de Valencia y posteriormente de Alcalá en el año 1549, adoptando una forma de triángulo o de delta griega mayúscula, en su libro *Dialogus de Re Médica*, pero a diferencia de él (exceptuando casos patológicos de persistencia), está atravesado en el MU adulto, por la Arteria Estapedia.

Según cita el Profesor Orts Llorca en 1932, la Arteria Estapedia en el humano se origina a partir de la Arteria Carótida Interna, interrumpiéndose dicho origen en el feto de 16- 18 mm.

El músculo del martillo y el del estribo, pueden ser identificados con facilidad y en situación anatómica similar a la humana.

4.-Laberinto:

Está compuesto por la Cóclea, Vestíbulo y los Canales Semicirculares Lateral, Superior y Posterior.

La Cóclea está formada, en la subfamilia Gerbillinae, por 2'5 a 3 vueltas de espira (Lay 1972) y posee una Membrana Basilar similar a la de los mamíferos. La Membrana Basilar es más estrecha en la espira basal y

posteriormente se ensancha progresivamente, para volver a estrecharse una vez se acerca al helicotrema.

La histología de la Cóclea es similar a la descrita en el resto de mamíferos (Lay 1972), aunque describe el hallazgo de una "Sustancia Hialina" en la cara subbasilar de la Membrana Basilar, dato citado por primera vez por Wisner en 1954. También parecen existir algunas diferencias morfológicas en las células de Hensen y Deiters, dentro de las diferentes especies de gerbils.

La sensibilidad auditiva (ver gráfico) descrita por Lay (1972), tiene un pico máximo entre 2200 y 3000 Hz, con un segundo pico entre 1200 y 1800 Hz y otras tres zonas más de sensibilidad aumentada entre 4000 y 4500 Hz, 8000 Hz y 1000 Hz.

Estos datos electrofisiológicos, unidos a las características anatómicas del oído del MU como posible caja de resonancia, permiten enunciar la hipótesis, a algunos autores (citados en Lay 1972), de que el aparato auditivo de los ratones que habitan áreas desérticas tienen una mayor sensibilidad auditiva, sobre todo para las frecuencias bajas, que les va a permitir evitar los predadores.

Los Canales Semicirculares mantienen su disposición en los tres planos del espacio, con la misma distribución anatómica que en el humano, pero con la particularidad de que se hallan esqueletizados dentro de la gran cavidad aérea que delimita la Bulla Timpánica.

Oído medio:

Para finalizar este capítulo de la anatomía del oído del MU, vamos a describir las estructuras hasta ahora no citadas de la caja timpánica, oído medio o cavidad aérea de la BT.

La cavidad del oído medio se divide en tres espacios, trazando unos planos horizontales:

- A.- EPITIMPANO o ATICO.
- B.- MESOTIMPANO.
- C.- HIPOTIMPANO.

A/ El epitímpano corresponde a la zona más alta de la caja timpánica y su límite inferior lo marca la porción más anterior del trayecto intraótico de la Arteria Estapedia, que posteriormente se va a hacer intracraneal. A partir de este punto va a dar origen a la Arteria Meníngea Media y a la Arteria Infraorbitaria (Bugge 1970 y 1974).

En el epitímpano o ático, existen dos compartimentos independientes, separados por un tabique óseo vertical. Los denominamos como: *Atico Anterior* y *Atico Posterior* (Fortuny 1988).

En el ático anterior se alojan la cabeza del Martillo y la dilatación ampular del Canal Semicircular Superior. Su cara medial limita con la fosa craneal.

El ático posterior comunica con el resto de la cavidad aérea del oído medio, a través de un amplio orificio delimitado por la concavidad del Canal Semicircular Lateral. En su interior se observan los canales semicirculares esqueletizados. Existe un tabique óseo que une la cara convexa del Canal Semicircular Posterior con la pared de la Bulla Timpánica, delimitando así una segunda celda.

B/ En el mesotímpano destaca el Promontorio, que corresponde al relieve de las espiras del Caracol. Observamos la existencia del Estribo, semitransparente, alojado en la Fosa Oval. Por debajo del estribo y hacia atrás ligeramente, se localiza el nicho de la Ventana Redonda, que está ocluida también por una membrana.

La Arteria Estapedia se introduce entre las dos ramas del estribo y cruza el mesotímpano por encima del promontorio de abajo hacia arriba y de atrás hacia delante, de forma muy evidente; estando recubierta por hueso la porción inicial de su trayecto.

La Arteria Estapedia en el humano, desarrolla una anastomosis con el sistema vascular de la arteria Carótida Externa en el feto de 15- 17 mm. (48- 50 días). Se comprueba la desaparición de la Arteria Estapedia del Oído Medio en el feto durante el tercer mes, con lo cual sus ramos terminales van a estar nutridos por la arteria Carótida Externa (Albiin y cols. 1983).

En la región ánterosuperior del promontorio se observa la emergencia del tendón del músculo Tensor del Tímpano, que va a insertarse en el martillo.

Desde el tendón del músculo Tensor del Tímpano hacia atrás, en dirección a la espina timpánica posterior, encontramos el nervio de la Cuerda del Tímpano, muy delgado y casi transparente.

C/ El hipotímpano tiene forma de fondo de saco y es la región más voluminosa de la caja timpánica, siendo solamente destacables dos estructuras anatómicas:

-Punto de entrada en el oído medio de la arteria estapedial, que como recordamos es una rama de la Arteria Carótida Interna.

-Ostium interno de la Trompa de Eustaquio, que se halla enmarcado entre dos crestas óseas ligeramente prominentes. La cresta más anterior, delimita por delante la *fossa nasalis* (Fortuny 1988). La trompa de Eustaquio en el Gerbil es más corta y con un ángulo más agudo que la de la Rata Long-Evans y la de la Chinchilla (Daniel III 1981).

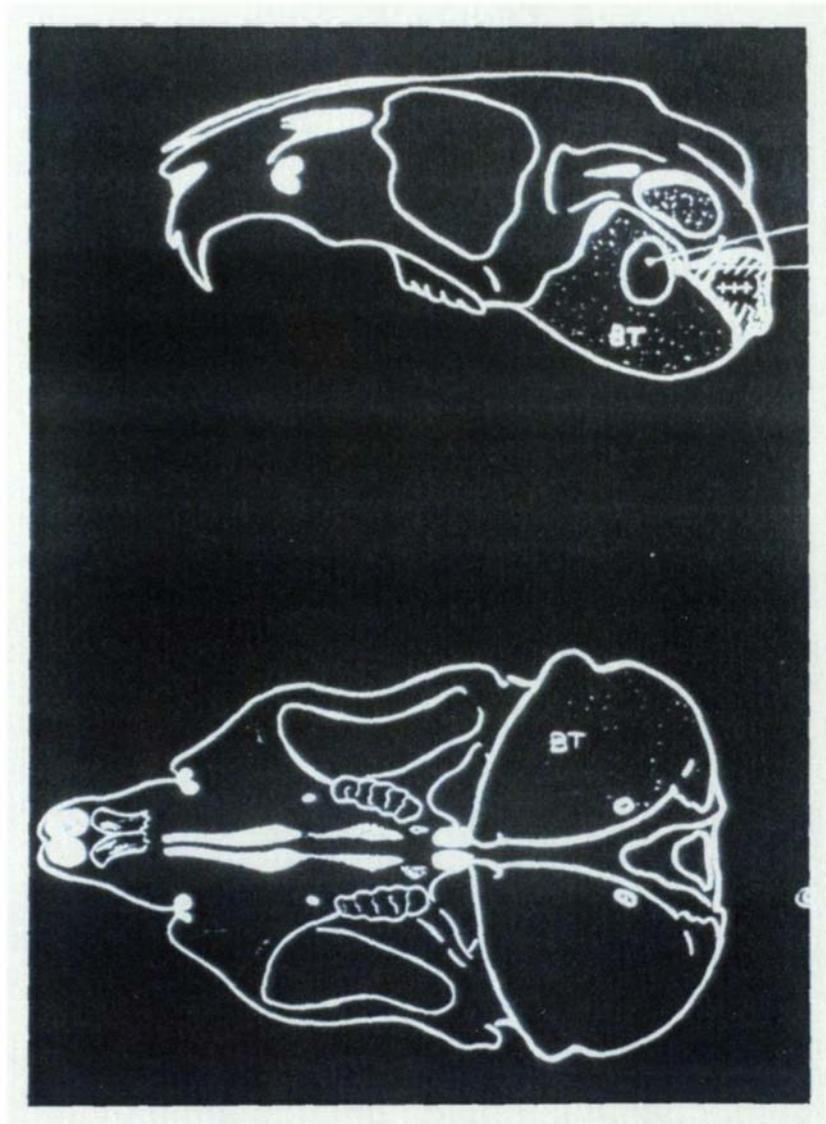
ULTRAESTRUCTURA DE LA MUCOSA DEL OIDO MEDIO:

Chole y col. publica en 1985 un excelente estudio de la mucosa del Oído Medio, del Mongolian Gerbil "*Meriones Unguiculatus*" sin patología ótica.

Describe la existencia de cinco tipos de células: *Células ciliadas columnares; células no ciliadas secretoras; células caliciformes; células basales y células escamosas simples.*

Las características y distribución de estas células es similar a la citada para el oído humano y a la de la rata.

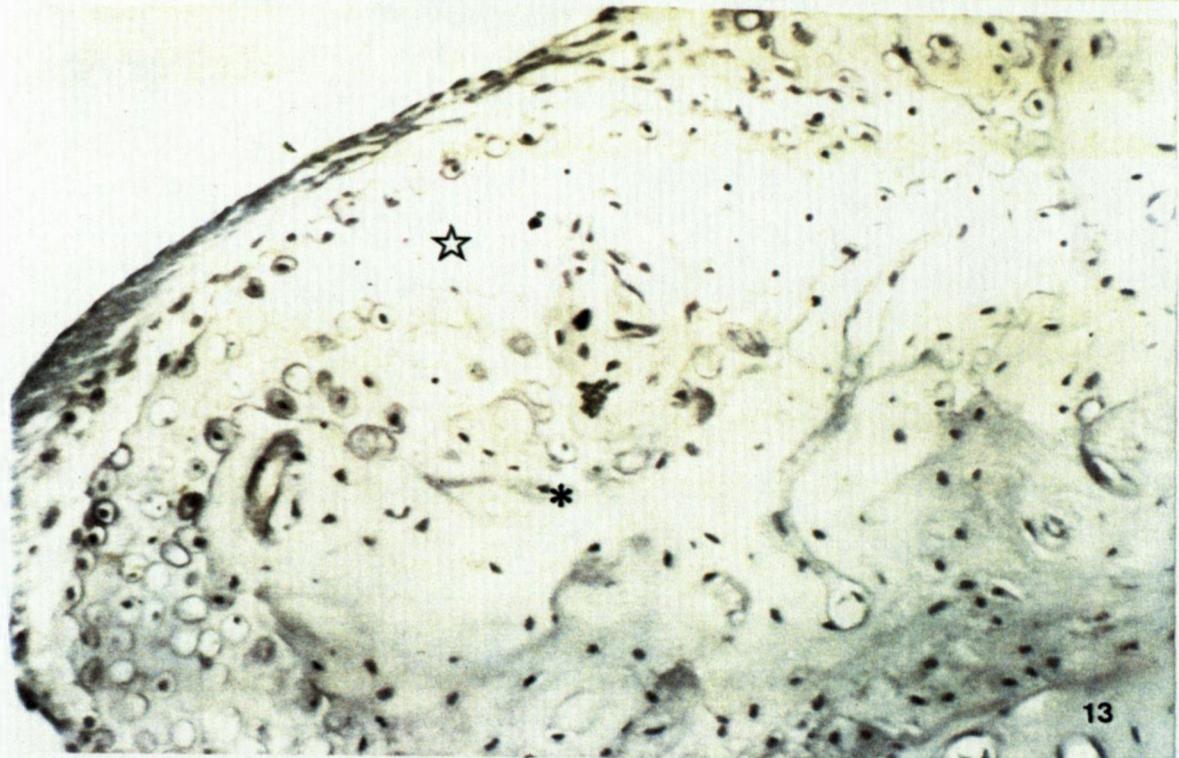
El resto de estructuras también se muestran muy similares a las del humano.



Esquema de cráneo seco de MU, en que se aprecia la bulla timpánica (BT) y el triángulo posterior ().

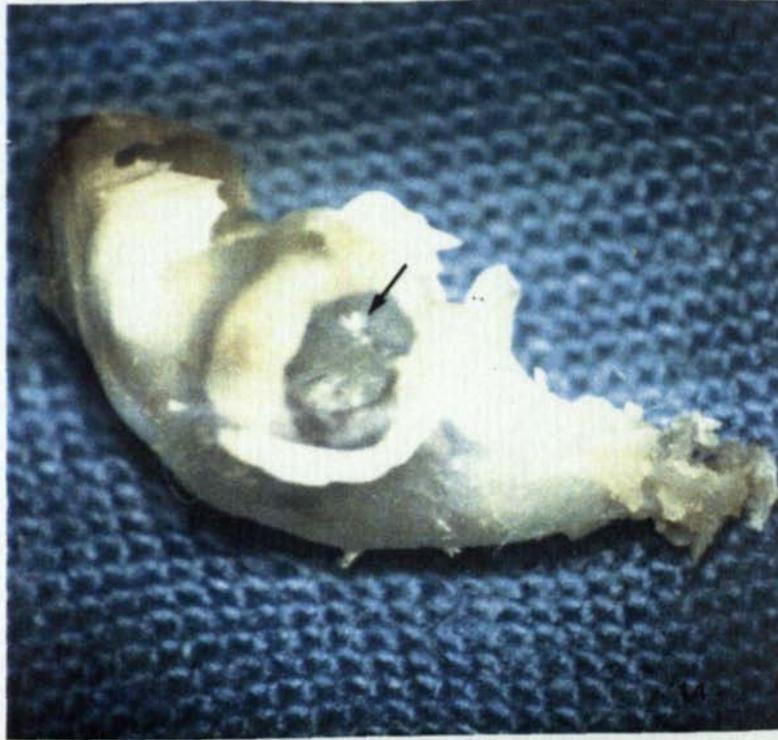


12

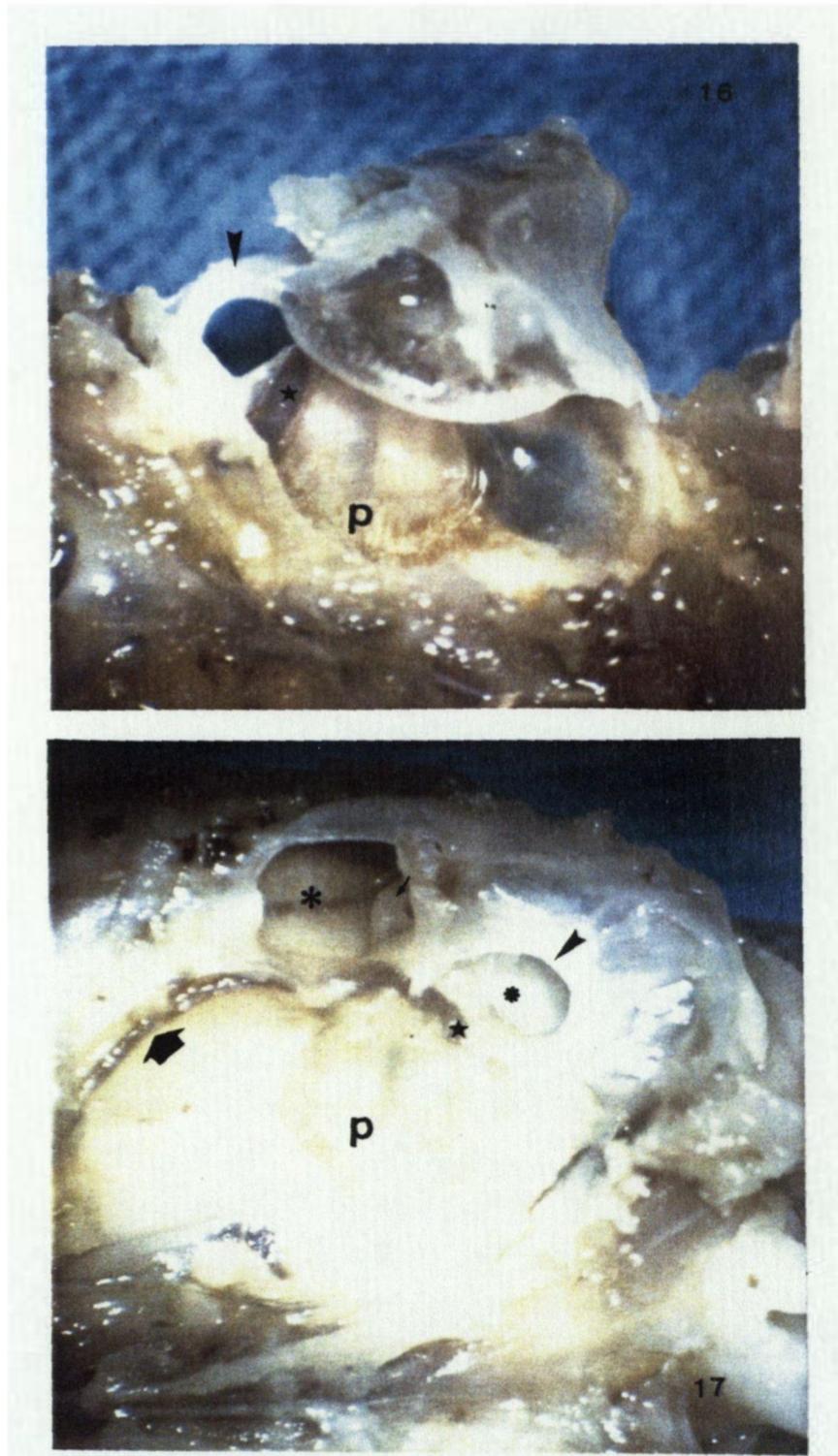


13

Figuras 12 - 13: Corte sagital a nivel del cuerpo del yunque a 155 y 387 aumentos. Se observa la existencia de cartílago articular (☆) y hueso (*).



Figuras 14 - 15: Porción Petromastoidea de la Bulla Timpánica donde se observa su forma, Pars Tensa (☆) y Pars Flácida (↔). Se observa el largo mango del martillo y la articulación entre yunque y martillo (✱).



Figuras 16 - 17: Promontorio (p), Arteria Estapedia (★) Atico anterior (*), Atico posterior (●), Canal Semicircular Externo (▶), dilatación ampular del Canal Semicircular Superior (←), Arteria Menígea Media (◄).



Figura 18: Aspecto infundibuliforme del Tímpano (☆) y tendón del músculo Tensor del Tímpano (←).

JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

El Colesteatoma ótico humano, fruto de controversia en su naturaleza desde las descripciones iniciales en el siglo XIX, sigue manteniendo un enorme interés en la actualidad por la incompleta comprensión de su fisiopatología.

Desde el punto de vista clínico y diagnóstico, todas sus características están claramente referidas en la literatura, hasta tal punto que las referencias bibliográficas serían prácticamente interminables.

Toda la habilidad como clínico, le es exigida al Otorrinolaringólogo para el diagnóstico del Colesteatoma ótico, sus complicaciones y la actitud terapéutica a seguir.

En la era quirúrgica previa al uso de instrumentos eléctricos, del microscopio y de los antibióticos, el otólogo debía dedicar todos sus esfuerzos a prevenir la muerte del paciente (Jahn 1989).

En la actualidad tenemos diversos agentes farmacológicos que permiten controlar la infección en la Otitis Media Crónica con Colesteatoma, tratar las complicaciones y diversas técnicas quirúrgicas para su erradicación, aunque todavía no disponemos de un fármaco completamente útil para erradicarlo o bien evitar la aparición de las consecuencias que depararía dejado a su evolución.

Todo ello va acompañado del avance tecnológico de la industria auxiliar en el instrumental óptico, tratamiento de la imagen, instrumental quirúrgico y estudios complementarios diagnósticos, como pueden ser la Tomografía Computerizada de alta resolución e incluso la Resonancia Magnética, con aplicación o no de contrastes radiológicos.

Sin embargo en el estudio de la Fisiopatología del Colesteatoma, todavía parecen quedar muchas incógnitas y estudios a realizar.

Los estudios, en líneas generales, se han basado fundamentalmente en el análisis del Colesteatoma ótico humano y en los estudios sobre el Colesteatoma ótico experimental en animales de laboratorio. La experimentación animal pretende poder extrapolar los resultados, aunque sea parcialmente, al estudio y mejor conocimiento del Colesteatoma humano. Debemos recordar la premisa general que cita Weiss (1989), en la que no todos los datos obtenidos de la experimentación animal son extrapolables al humano.

Así Berberich en 1928, Hoshiya en 1935, Ohta en 1940 y Schröer en 1958, provocaron colesteatomas típicos mediante la inyección de diferentes sustancias (Benzopireno, Aceite de Crotón, Aceite de Oliva) en el CAE e incluso en el oído medio de diferentes animales (citados en Rüedi 1959).

Rüedi en 1959 describe la formación de colesteatoma a tímpano íntegro mediante la instilación de talco y mixtura de fibrina.

Walsh en 1951 describe la formación de colesteatomas mediante la introducción de piel en el oído medio.

Los estudios experimentales continuaron a lo largo del tiempo, con trabajos publicados de Abramson en 1975 y Abramson y Huang en 1977.

Lim y Saunders en 1972 publicaron el primer estudio ultraestructural sobre el Colesteatoma humano, a partir de 60 especímenes diferentes. Sus conclusiones sugieren que la lesión ósea característica puede ser debida a la acción de los osteoclastos, toxinas bacterianas, enzimas o a la presión mecánica.

Dejando de citar trabajos de distintos autores, diremos que han sido empleados diferentes animales en el estudio experimental del Colesteatoma y que incluso algunos de ellos mostraban una baja capacidad para la aparición de Colesteatoma ótico.

McGinn y cols. en 1982, citan la provocación de colesteatoma ótico en un nuevo animal de laboratorio en experimentación otológica: el Mongolian Gerbil "Meriones Unguiculatus".

McGinn & cols. en 1984 realizan un estudio comparativo sobre la aparición de Colesteatoma ótico en el Gerbil, Gato, Ratón, Hámster, Cobaya y Rata.

Siguiendo los estudios de McGinn y Chole en el gerbil, hemos iniciado el presente trabajo experimental en el Mongolian Gerbil "Meriones Unguiculatus", centrando nuestra atención en las alteraciones que aparecen a nivel

del Conducto Auditivo Externo del ratón, tras la provocación de Colesteatoma ótico, con los siguientes Objetivos:

1.- Provocación de Colesteatoma en el Conducto Auditivo Externo (CAE) del Mongolian Gerbil "Meriones Unguiculatus".

2.- Valoración de la rentabilidad en la provocación de Colesteatoma.

3.- Estadiaje del mismo, siguiendo los criterios de McGinn y Chole en 1982 - 84.

4.- Descripción de los hallazgos macroscópicos en el Colesteatoma inducido.

5.- Estudio de la Flora Bacteriana hallada en el Colesteatoma inducido y su comparación con la del oído control no manipulado.

6.- Descripción de los cambios en la histología del Conducto Auditivo Externo, provocados por el Colesteatoma inducido.

7.- Valoración de los cambios provocados en la piel del CAE por el Colesteatoma inducido, con respecto a la piel normal.

8.- Análisis de los resultados.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL Y METODOS

Utilizamos para el estudio del colesteatoma ótico únicamente ratones de la especie Mongolian Gerbil "Meriones Unguiculatus". Este pequeño ratón, originario de las áreas desérticas de la meseta de Mongolia y Nor-Este de China (Loew 1984), fue capturado y se establecieron colonias en cautividad por primera vez en Japón, por Kasuga en 1935 (Marston 1976).

Una vez nos familiarizamos con el manejo del ratón y su anatomía ótica (Fortuny 1988), iniciamos la inducción de colesteatoma ótico.

Para ello utilizamos en el presente trabajo los ratones nacidos de seis parejas y sus descendientes.

Se utilizan un total de 49 ratones adultos, sin introducir sesgo por peso ni por sexo.

METODO ANESTESICO

Tras el pesaje de todos los ratones, con una precisión de décimas de gramo, se anestesian por vía intraperitoneal.

Administramos Pentothal (Thiopental Sódico) a dosis de 60 mg/kg de peso. El anestésico es preparado para cada una de las diferentes secciones quirúrgicas. Posteriormente la cantidad sobrante de anestésico, es desechada.

Se inyecta por vía intraperitoneal rápida y empleando jeringuillas de 1 ml y aguja subcutánea de un sólo uso, estériles.

Posteriormente el ratón es depositado en una caja adecuada, hasta que la acción del anestésico es completa.

En caso de dificultades para la correcta administración del fármaco por vía intraperitoneal en el primer intento, rechazamos administrar una segunda dosis y se devuelve al ratón a su jaula.

PROVOCACION DEL COLESTEATOMA

Una vez el ratón está inmóvil, manteniendo perfectamente su respiración, se prepara para la sección quirúrgica.

Instrumental utilizado:

- 1.- Microscopio quirúrgico Zeiss OPMI-1, de luz fría, equipa-do con lente de 200 mm.
- 2.- Tijeras de microcirugía de Westcott.
- 3.- Kocher de microcirugía.
- 4.- Pinzas de Adson sin dientes.
- 5.- Caja de instrumental de oído del Dr Prades.
- 6.- Tijeras curvas y rectas varias de microcirugía.
- 7.- Pinzas rectas y curvas de microcirugía.

Colocamos al ratón en decúbito prono sobre una plancha y se le fijan las cuatro extremidades con cinta adhesiva o bien con agujas si va a sacrificarse al animal.

En todos los procedimientos descritos, se tiene la máxima de no ser traumáticos, evitar fracturas, y obviar el sufrimiento del animal, tanto durante, como después de la sección quirúrgica.

Se rasura la región retro y supraauricular del oído izquierdo a 31 ratones, a los cuales se les va aligar el Conducto Auditivo Externo del mismo.

Se explora el oído derecho a todos los ratones, para observar la existencia o no de patología, ya sea en oído externo, membrana timpánica u oído medio.

A un total de 13 gerbils, también se les rasura la región retro y supraauricular del oído derecho, para trabajar en el mismo.

Se procede a provocar el colesteatoma ótico mediante la ligadura del CAE, según el procedimiento descrito por McGinn & cols. en 1982, utilizando seda de 3/0.

Tras practicar la incisión cutánea, curvilínea, supra-retroauricular, disecamos los planos subcutáneos mediante disección roma con las tijeras de Westcott. En este paso se debe ser cuidadoso, evitando lesionar el plexo venoso del área zigomática, ya que ello provocaría una intensa hemorragia que obligaría a suspender la intervención. Posteriormente identificamos la porción

membranosa del CAE y se disecciona con cuidado el nervio facial, despegándolo de la porción posterior del CAE membranoso, con un pequeño disector.

Se identifica el cartílago semilunar que soporta la porción inferior del CAE membranoso y se despegan del tejido periauricular y de la estructura glandular, correspondiente a la glándula parótida, con el fin de rodear por completo el CAE membranoso.

Una vez concluimos la disección, nos cercioramos nuevamente a través del ostium del CAE, de la inexistencia de patología ótica (fundamentalmente colesteatoma ótico espontáneo) en el oído que intervenimos.

Procedemos a practicar en este momento la ligadura del CAE membranoso, siguiendo los planos creados previamente, con seda de 3/0, sin lesionar el nervio facial.

Una vez concluida la ligadura del CAE, se cierra la piel con seda de 3/0 mediante sutura continua.

ESTUDIO MICROBIOLOGICO

Escogemos un total de 14 gerbils, a los que se les había practicado previamente la ligadura del Conducto Auditivo Externo del Oído izquierdo, entre 14 y 20 meses antes.

El Oído derecho se utiliza como control, no habiendo sido manipulado previamente. Asimismo se comprueba la inexistencia de patología en dicho oído, en el momento de entrar en el ensayo microbiológico.

Su edad varía entre 18 y 24 meses y su peso entre 62 y 90 grs., con un promedio de 76 grs.

Se obtienen muestras para cultivo en medios aerobio y anaerobio. Utilizamos para ello pequeños escobillones (Trans - Swab) para obtener muestras del Conducto Auditivo Externo del oído derecho y aspiramos con una pequeña jeringuilla estéril el contenido del Colesteatoma provocado en el Conducto Auditivo Externo izquierdo.

Estas muestras son introducidas inmediatamente en un medio anaerobio (Port A- Cul, BBL Microbiology Systems) y trasladadas inmediatamente al Laboratorio de Microbiología.

Los especímenes para cultivo aerobio son inoculados en placas Agar- Sangre, Chocolate y MacConkey, y en caldo Thioglicolato. Las bacterias son identificadas mediante métodos automáticos (Sceptor System, Johnston Laboratories) después de 40 horas de incubación.

Los especímenes para cultivo en medio anaerobio son sembrados en placas Agar- Sangre y Agar- Sangre con Hemina - Vitamina K - Kanamicina y Vancomicina en medio anaerobio, hasta un total de 5 días.

REVISION QUIRURGICA DE LOS OIDOS INTERVENIDOS:

Practicamos a diferentes intervalos un "second look" en los ratones intervenidos de ligadura del CAE, para verificar la existencia de colesteatoma y las alteraciones que aparecen.

El procedimiento que seguimos es similar al empleado en la primera fase quirúrgica.

Anestesiarnos al MU con Thiopental a 60 mg /kg de peso, por vía intraperitoneal.

Una vez inmóvil, se fija en una plancha en decúbito prono y se procede a rasurar por completo todo el dorso craneal, regiones retroauriculares y cervical.

Se practica una incisión en forma de "T" invertida sobre la calota craneal, que permite el acceso a la exploración de ambos oídos.

Después de disecar el plano subcutáneo y tener una exposición completa de la cara superior del cráneo y de la lateral, se procede a seccionar la musculatura estriada que recubre la Bulla Timpánica.

Proseguimos separando la musculatura de la cara lateral ósea en la región pósterosuperior de la BT.

Una vez expuesto el fino hueso de la BT, localizamos, por transparencia los refuerzos óseos de la misma y entramos en oído medio. El abordaje del oído medio es muy sencillo, ya que puede ser atravesado el hueso con facilidad, utilizando para ello un instrumento

punzante de la caja de instrumental otológico del Dr. Prades. La elección de la zona a trepanar la hemos escogido previamente, a nivel del "triángulo posterior", lo cual nos permite un buen acceso a gran parte de la caja timpánica (Fortuny 1988).

Vamos entonces a describir:

-Persistencia de la ligadura del CAE.

-Existencia de patología en el oído control.

-Existencia de Colesteatoma:

* en el CAE, por la protusión hacia caja timpánica de la membrana timpánica y estadiaje según los criterios de Chole & cols. en 1984.

* en el oído medio.

* exteriorizado.

-Cambios en las características óseas:

* de la Bulla Timpánica.

* en el CAE óseo.

-Existencia de evidencia de efusión en el oído medio.

-Existencia de signos evidentes de infección.

-Descripción de las alteraciones macroscópicas que provoca el Colesteatoma en las estructuras de la caja timpánica:

- * Membrana timpánica.
- * Cadena de huesecillos.
- * Pared medial del oído medio: caracol.
- * Arteria Estapedia.

-Elección de muestras para estudio Histopatológico, extrayendo la porción petromastoidea de la Bulla Timpánica, que contiene el Conducto Auditivo Externo.

También valoraremos en este momento el estado de salud del MU y si existe algún cambio en la conducta del mismo, atendiendo fundamentalmente a si existen trastornos del equilibrio, de la marcha y de la posición de la cabeza del animal.

PROCESADO DE LAS MUESTRAS PARA ESTUDIO HISTOPATOLOGICO:

Tras examinar las BT de los animales a los que se ha provocado Colesteatoma, se seleccionan para estudio histológico algunas de las muestras.

Escogemos solamente Colesteatoma y Conducto Auditivo Externo. Se descarta, ya que no es un objetivo del trabajo, el oído medio y Colesteatoma del interior de la Bulla Timpánica.

Microscopia Optica:

Se inyecta por vía intraperitoneal una sobredosis de Thiopental Sódico y se procede a practicar una esternotomía para la exposición del corazón. Se realiza una perfusión intracardiaca con paraformaldehido al 2% y glutaraldehido al 2% tamponado con fosfato hasta pH 7'4.

A algunos ratones se les extrae la porción petromastoidea de la BT y se introduce en fijador directamente, sin perfusión previa.

Posteriormente se sacrifica al animal con una sobredosis de anestésico.

Las piezas para Microscopia óptica van a seguir el siguiente proceso:

Tinción Hematoxilina-Eosina:

- Fijación con solución de Paraformaldehido al 2% y Glutaraldehido al 2% tamponado con Fosfato hasta pH de 7'4.

- Decalcificación con EDTA 0'1 M y glutaraldehido al 5% tamponado con Fosfato hasta pH 7'4, con cambios diarios de la solución de decalcificación.

- Deshidratación: Pasos sucesivos:

-Etanol 90 -- 30'
-Etanol 96 (I) 30'
(II) 30'
(III) 60'

-Etanol 100 (I),(II),(III) hasta un total de 2 horas.

-Xilol (I),(II),(III) hasta las 2 horas.

- Inclusión en baño de parafina y formación de bloques de parafina.

- Cortes en micrótopo a secciones de 5 micras y montaje en porta, dejándolas secar a temperatura ambiente.

- Xilol, tres pasos de 15 minutos cada uno.

- Etanol 100, dos cambios de 10 minutos cada uno.

- Etanol 96, dos pasos de 10 minutos.

- Agua destilada, baño durante 10 minutos.

- Hematoxilina, un paso de 15 a 20 minutos.

- Lavado en agua corriente durante 5 minutos.

- Acido Clorhídrico (5 ml de HCl en 200 ml de Etanol 95%) un baño durante 3 segundos.

- Lavado en agua corriente durante 10 a 15 minutos, hasta lograr contraste azul (puede detenerse el proceso).

- Eosina, baño durante 7 minutos.

- Etanol 96, dos pasos de 10 minutos cada uno.

- Etanol 100, dos pasos de 10 minutos cada uno.

- Xilol, dos pasos de 10 minutos cada uno.

- Xilol-Eucaliptol, baño de 10 minutos, pudiendo detenerse de nuevo el proceso.

- Montaje con cubre y DPX.

Preparación de los colorantes:

*** Hematoxilina de Harris:**

-Solución A: se mezclan en un recipiente 2'5 grs. de Hematoxilina en 25 ml. de etanol absoluto.

-Solución B: en un vaso de precipitados de 2 litros se mezclan en caliente 1/2 litro de agua destilada y 50 grs. de Sulfato Aluminico Potásico.

-Mezclamos las dos soluciones en caliente y se añaden 1'25 grs. de Oxido de Mercurio, enfriándolo en hielo posteriormente.

-Añadimos 2-4 ml. de Acido Acético Glacial por cada 100 ml. de solución.

*** Eosina Alcohólica:**

-Solución Eosina madre: 1 grs. de eosina disuelto en 20 ml. de agua y se le añaden 80 ml. de etanol 95%.

-La solución utilizada contiene una parte de Eosina madre disuelta en tres partes de etanol 80%.

-Se añaden 0'5 ml. de Acido Acético Glacial por cada 100 ml. de solución.

Microscopia Electrónica de Transmisión:

Las muestras para Microscopia Electrónica (ME), siguen el siguiente proceso:

- Fijación con Glutaraldehido 2% y Paraformaldehido 2'5% tamponado con Cacodilato 0'8M a pH 7'3, durante un período de 2 horas, hasta un máximo de 24 horas.

- Decalcificación con EDTA 0'1 M con glutaraldehido 5% y tampón cacodilato ajustado a pH 7'3, con cambios diarios hasta un total de 2 a 3 semanas.

- Lavado con solución buffer cacodilato a 40C, durante 20' hasta un máximo de 24 horas.

- Preparación de las muestras en bloques cuadrados de aproximadamente uno o dos mm.

- Post-fijación con Tetróxido de Osmio 1% durante 2 horas.

- Lavado de nuevo con solución buffer de 20' a 24 horas.

- Inclusión:

* Acetona 30%- 10'

* Acetona 50%- 10'

* Acetona 70% / Acetato de Uranilo- de 12 a 24 horas.

* Acetona 90%- 10'

* Acetona 100%- 30'

* Acetona 100%- 30'

* Acetona 100%- 30'

- Oxido de Propileno: dos pasos de 30-45' cada uno.
- Inclusión en resina Araldite (Fluka):
 - * Oxido de Propileno/Araldite M-I 3/1 - 30-40'.
 - * Oxido de Propileno/Araldite M-I 1/1 - 30-40'.
 - * Oxido de Propileno/Araldite M-I 1/3 - 30-40'.
 - * Araldite M-I 60' en estufa a 37°C.
 - * Araldite M-I 60' en estufa a 37°C.
 - * Araldite M-II 8 horas a 37°C, con dos cambios de 30' a 60°C.

-Inclusión de las muestras en bloques: dos días en estufa a 60°C.

Preparación de la resina Araldite:

- * M-I: - 10 ml de componente AM (rojo).
 - 10 ml de componente B (azul).
 - 0'1-0'2 ml de componente D (verde).

- * M-II:- 20 ml. de Araldite M-I.
 - 0'3-0'4 ml de componente C (amarillo).

Una vez que los bloques de resina están ya formados, pasamos a realizar cortes con Ultramicrotomo ("Ultracut E" de Reichert-Jung).

Primero realizamos cortes semifinos de 0'5 a 1 micra, con cuchilla de vidrio, para control del corte y elección de la zona de la muestra a la que posteriormente

realizaremos cortes ultrafinos con cuchilla de diamante, de 500 a 600 amstrongs.

Los cortes semifinos de control a Microscopia óptica, los teñimos con "Azul de Richardson" (Facultat de Medicina de LLeida) y con Azul de Metileno (Centre Científic i Tècnic de la Universitat de Barcelona).

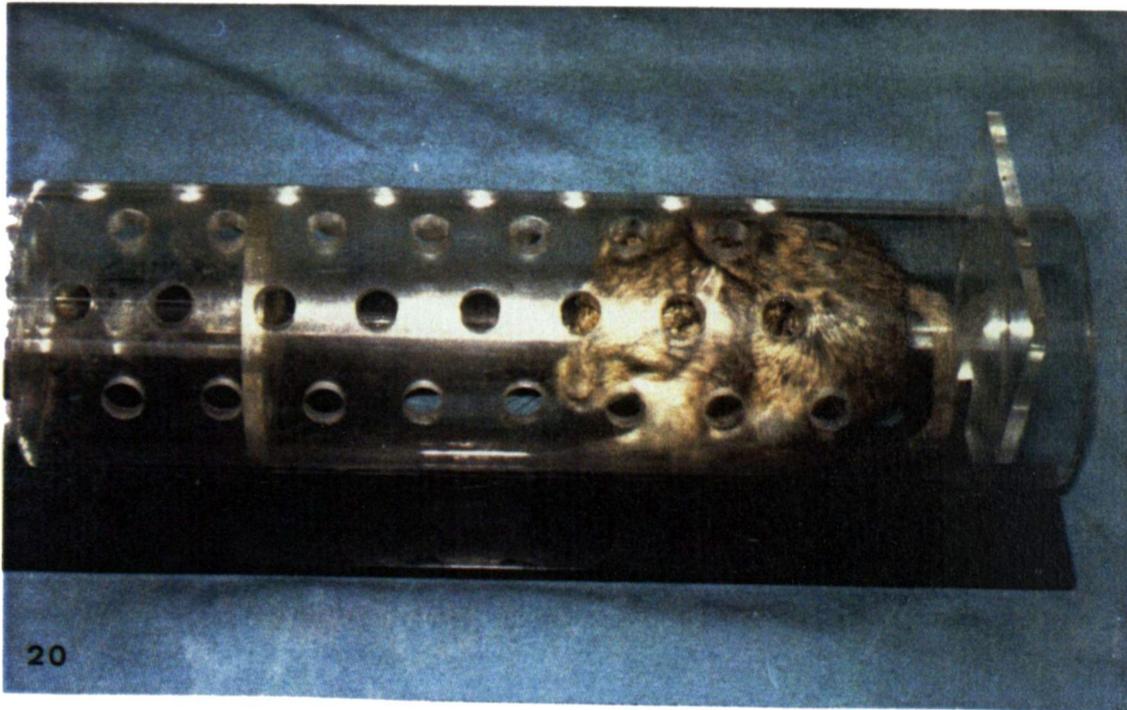
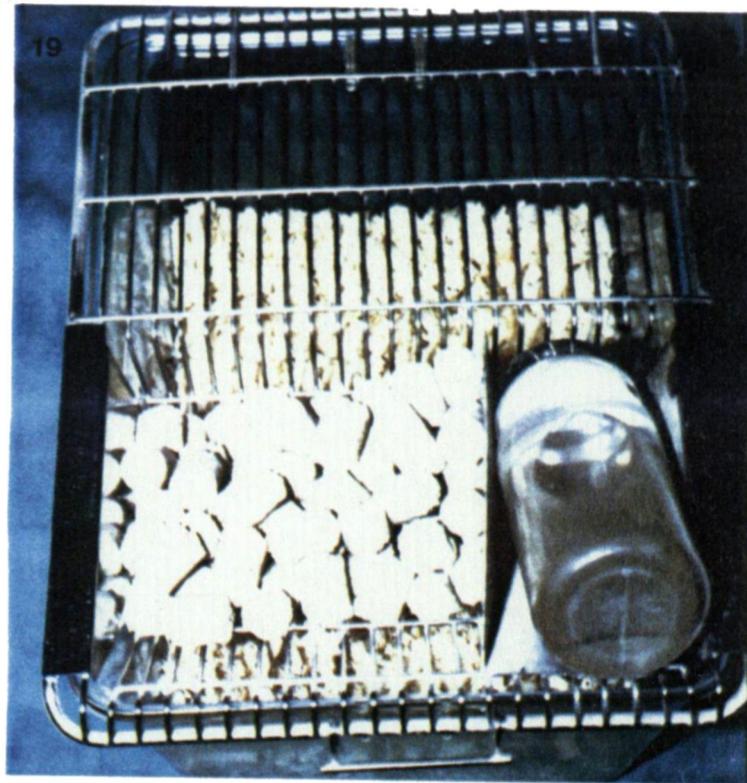
Colocamos los cortes semifinos teñidos en una plancha a 60° C y cuando están secos, los lavamos con agua corriente abundante, montándolos después con DPX.

Preparación del "Azul de Richardson":

- Bórax 1 grs.
- Azul de Metileno 1 grs.
- Azur II 1 grs.
- Agua destilada 100 ml.

Primero diluimos los colorantes en un volumen total de 100 ml. de agua y al final se añade el Bórax.

Los cortes ultrafinos se contrastan posteriormente con Acetato de Uranilo y con Citrato de Plomo (Chole & cols. 1985).



Figuras 19 - 20: Jaula y distribución de los alimentos. Receptáculo para el pesaje del Mongolian Gerbil.



Figura 21: Colocación del gerbil para su correcta inmovilidad y administración de anestesia.



Figura 22: Incisión supra- retroauricular y disección roma del Conducto Auditivo Externo hasta conseguir colocar un hilo de seda (3/0) alrededor del mismo.

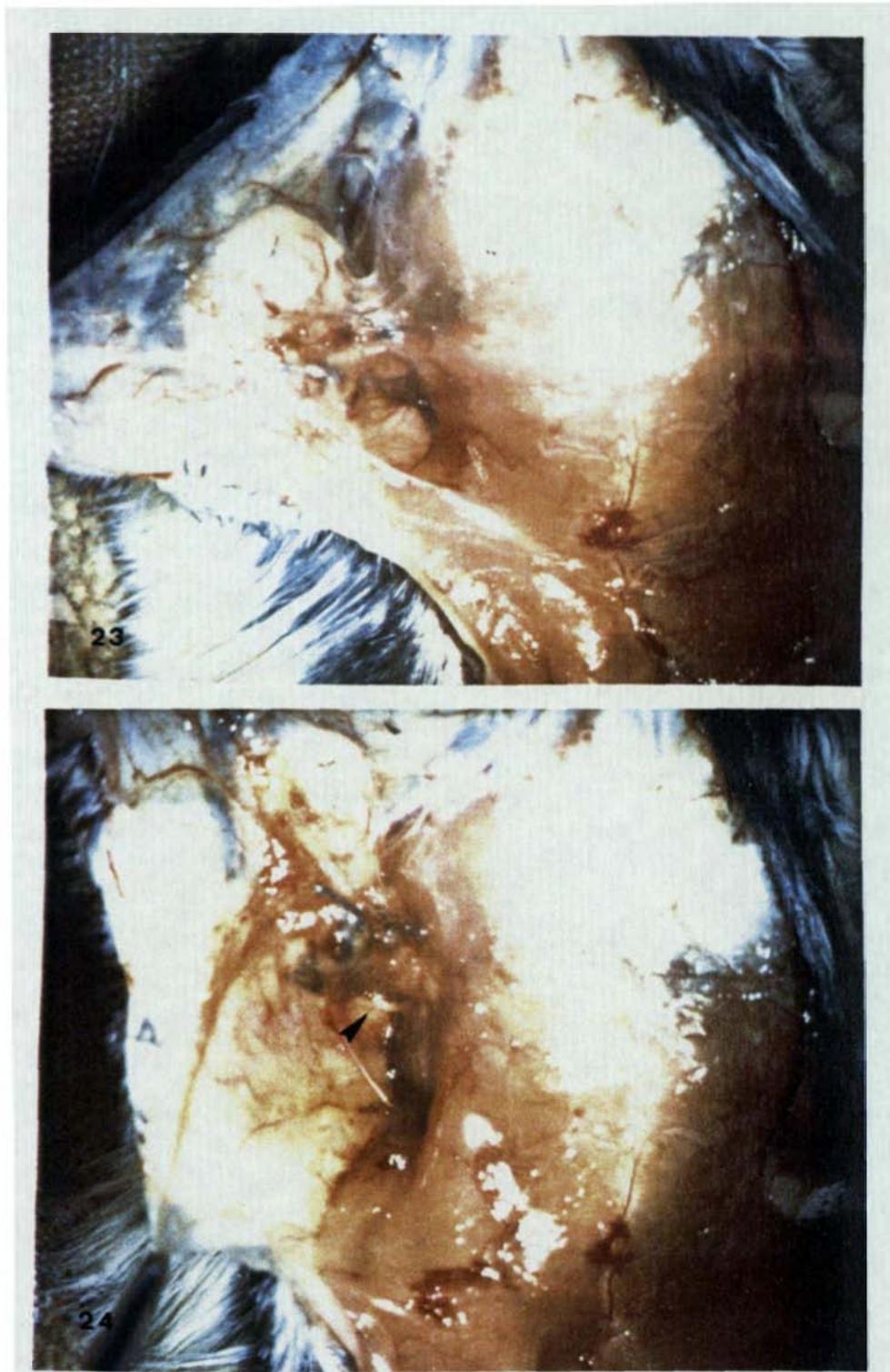


Figura 23 - 24: Tras practicar una incisión en "T" invertida en el second look, se inicia la disección del CAE membranoso. Se diseña el nervio Facial (►), para no lesionarlo.

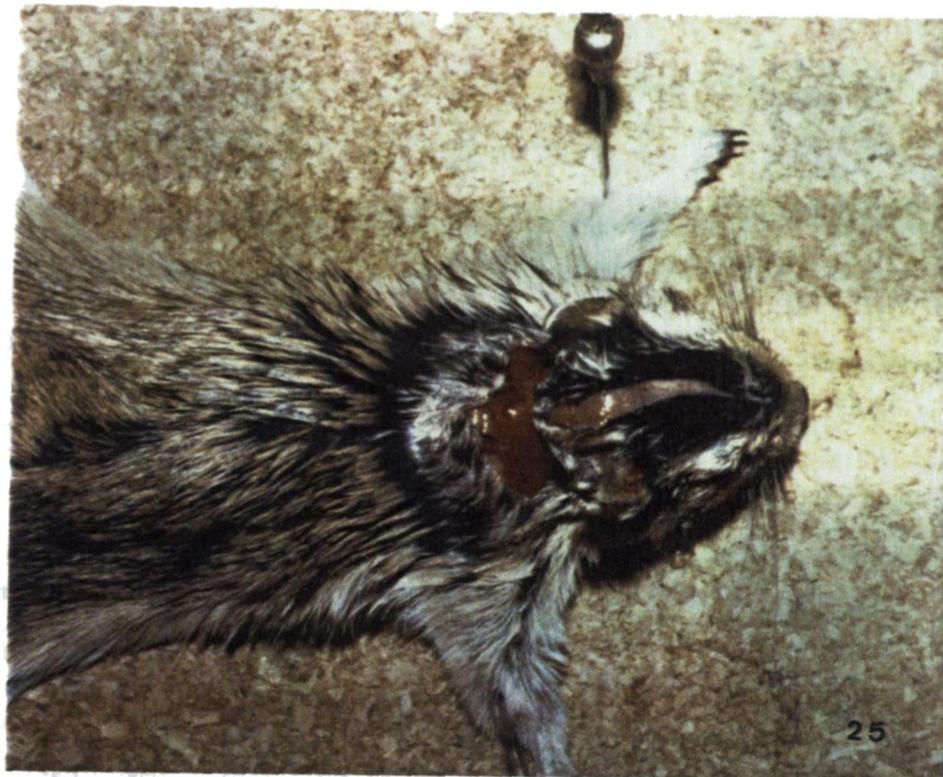


Figura 25: Incisión en "T" invertida en la revisión quirúrgica de los oídos intervenidos previamente (second look).

RESULTADOS

RESULTADOS

En los resultados vamos a enumerar y describir los hallazgos que han aparecido durante el desarrollo de la hipótesis de trabajo.

Centraremos los datos en referencia a:

- Manipulación y peso del Gerbil.
- Anestesia.
- Trastornos patológicos intercurrentes.
- Descripción de los hallazgos macroscópicos tras la provocación del Colesteatoma.
- Descripción de la Microbiología del Colesteatoma provocado.
- Histopatología del Colesteatoma experimental.

MANIPULACION y PESO DEL MONGOLIAN GERBIL

La manipulación debe ser correcta, como se ha descrito previamente, cogiendo al animal con una sola mano a nivel del dorso, cabeza y extremidad superior de la cola.

Previamente hay que protegerse siempre con un guante al efecto de evitar mordeduras del animal, que por

otra parte suelen ser solamente ocasionales si se actúa decididamente.

Con ello se consigue no lesionar al ratón y mantenerlo en esta posición de forma cómoda, pudiendo tranquilamente inyectarle (por ejemplo) el anestésico, por vía intraperitoneal.

Los accidentes durante la manipulación del ratón se limitaron únicamente a la fractura de una extremidad inferior, de la que el animal se recuperó satisfactoriamente, y a la pérdida de la extremidad distal de la cola en otro caso. En este último caso no se produjo una hemorragia importante y posteriormente no existieron signos de infección en la lesión.

Durante la manipulación previa al pesaje del ratón, se dieron convulsiones en tres casos. No existieron previamente maniobras agresivas ni bruscas, por lo que posiblemente sea debido a predisposición en algunos de estos ratones.

Durante toda la fase experimental utilizamos ratones adultos, con una edad mínima de 58 días y máxima de 220 días, situándose la mayoría de los ratones, en el momento de la ligadura del Conducto Auditivo Externo, en un rango entre los 90 y 120 días.

El peso de los ratones se determinó con una pequeña balanza, fiable tal como se ha descrito anteriormente, depositando encima de la misma al animal, dentro de un receptáculo a tal fin. Se obtiene la tara del receptáculo

y se programa en la balanza, de modo que durante el pesaje ya obtenemos el peso real del ratón.

Sobre el total de 49 ratones utilizados en este estudio, el peso inferior era de 50 grs. y el mayor de 79 grs. La media del peso se situó en 62'79 grs., con una desviación típica de 7'43. El rango era de 29 grs.

ANESTESIA:

Tras el pesaje del ratón, preparamos el fármaco anestésico que vamos a utilizar. Diluimos el Thiopental Sódico (Penthotal) hasta conseguir una dosificación de 2'5 mgrs/ ml.

Posteriormente rectificamos la dilución hasta conseguir una dosificación de 5 mgrs/ ml. Ello es debido a que es más fácil el manejo y administración de mayor dosis de Penthotal, en menos cantidad de solución anestésica.

Inicialmente administramos una dosis de 70 mgrs/ Kg de peso. Tras el pesaje del primer ratón que entra en el estudio, se inyecta el anestésico por vía intraperitoneal. El animal se duerme rápidamente, iniciándose la sección quirúrgica sin ningún tipo de problemas. El ratón mantiene correctamente su ritmo respiratorio y no hay respuestas dolorosas durante la intervención quirúrgica.

Dado el desconocimiento por nuestra parte del tiempo de recuperación post- anestesia, observamos que

este primer ratón no se recupera espontáneamente durante las primeras horas postoperatorias.

Al cabo de 24 horas, el ratón sigue estando dormido y mantiene su respiración.

Ante esta situación, se le administra por vía intraperitoneal atropina y posteriormente adrenalina, sin obtener ningún resultado. Se repite la administración de adrenalina y el animal fallece.

Ante esta situación se plantean dos posibilidades que justifiquen la sobredosificación anestésica: incorrecta preparación del anestésico o bien incorrecto cálculo de la dosis precisa.

Repetimos nuevamente todo el proceso y bajamos la dosificación a 60 mgrs/ Kg de peso, teniendo mucho cuidado en las diluciones progresivas del fármaco anestésico, dado que el Pentotal es suministrado en viales en polvo de 500 mgrs.

En los tres ratones siguientes anestesiados con esta nueva dosificación, se observa que no muestran una respuesta uniforme. A uno de ellos se le puede intervenir sin ninguna dificultad, despertando al cabo de unos 30 a 35 minutos y recuperándose posteriormente sin ningún tipo de problemas. Los dos ratones siguientes no pueden ser intervenidos, ya que se mantienen parcialmente despiertos y no es posible su inmovilización, descartando por completo el inicio de la sección quirúrgica.

Tras haber descartado un error en la dilución del Pentotal y observando que la dosis de 60 mgrs/ Kg es

válida para la anestesia del ratón, se plantea que el origen de la dificultad para la correcta anestesia del ratón, debe estar en el cálculo del peso del mismo.

Descartamos el instrumento de pesaje utilizado hasta ahora, que tenía poca precisión, con una variación de 2 a 3 grs y que además podía dar lugar a errores en la interpretación de las cifras. A partir de este momento, escogemos un nuevo instrumento de medida del peso, digital, con una precisión desde décimas de gramo hasta 300 grs de peso total admisible.

A partir de este momento no tenemos ninguna dificultad para conseguir el correcto estado anestésico en el ratón.

También observamos que la dosificación de 70 mgrs/ Kg es válida y que con 50 mgrs/ Kg obtenemos un periodo corto de duración del efecto anestésico, para intervenciones cortas o bien manipulaciones, que precisen un cómodo manejo del animal o bien, sean dolorosas.

La dosis que vamos a utilizar en general es la de 60 mgrs/ Kg de peso, reservando la dosificación de 70 mgrs/ Kg en los casos en que exista una previsión de intervención quirúrgica de larga duración.

Otra de las observaciones en el manejo del anestésico, es la pérdida de actividad del Pentotal ya diluido. Una vez se ha diluido el Thiopental Sódico en agua bidestilada o suero fisiológico, éste pierde actividad en las horas siguientes. Esta pérdida de capacidad anestésica del fármaco es mayor y más rápida si

se mantiene a temperatura ambiente. Este hallazgo se descubrió ante la gran dificultad que existió para la anestesia a una hembra de 66 grs de peso. Se le administró el doble de dosis a la que le correspondería a 60 mgrs/ Kg, observando que persistía la capacidad para las respuestas dolorosas, presentando sin embargo frecuentes apneas durante la sección quirúrgica. El animal falleció durante las 24 horas siguientes. Previamente también habían existido dificultades en la anestesia (60 mgrs/ Kg) de un macho de 79 grs, que se solucionaron administrando un 50% más de anestésico por vía intraperitoneal.

Por ello, en las secciones quirúrgicas de varios animales y varias horas de duración, mantenemos el anestésico refrigerado en el frigorífico.

Al iniciar posteriores sesiones de trabajo en el ratón, en días diferentes, preparamos nuevas diluciones de Pentotal, para asegurar una correcta dosificación y actividad anestésica.

La inducción del efecto anestésico dura entre uno y dos minutos y es de aparición progresiva. El ratón empieza a mostrar inestabilidad unos segundos antes de caer dormido.

Aunque no es un dato comprobado numéricamente, el ratón muestra una franca taquipnea, una vez se ha completo el efecto anestésico, mayor a la frecuencia respiratoria en reposo.

La duración del efecto anestésico se sitúa entre 25 y 30 minutos para una dosificación de 60 mgrs/ Kg. Si empleamos 70 mgrs/ Kg, el efecto se alarga hasta 40- 45 minutos, lo cual permite trabajar sobre ambos oídos o bien realizar técnicas de mayor duración sobre uno de los oídos (por ejemplo: extracción de tejido para estudio histopatológico).

Pasado el efecto anestésico, el ratón es introducido en una nueva jaula, aislado. Al cabo de escasos minutos muestra una actividad prácticamente normal, iniciando de nuevo la alimentación dentro de la primera hora.

En los primeros minutos tras la recuperación del efecto anestésico, presenta nuevamente inestabilidad y dificultades para mantener una posición erguida, que es muy habitual en el ratón. Hay que recordar que para la ingesta de alimentos sólidos y líquidos, el ratón debe estar en posición erguida.

La dosificación empleada absoluta para cada ratón va desde los 3 mgrs (0'6 ml. de solución) para un peso de 50 grs. hasta 4'74 mgrs (0'95 ml.) para 79 grs., cuando empleamos dosis de 60 mgrs/ Kg.

Si usamos una dosis de 70 mgrs/ Kg, abarca desde los 3'5 mgrs (0'7 ml.) para el mismo peso (50 grs.), hasta los 5'53 mgrs (1'1 ml.) para un peso de 79 grs.

No observamos diferencias en cuanto a la efectividad del Thiopental Sódico correctamente preparado

y administrado, para la intervención quirúrgica, según el peso ni la edad del ratón.

HALLAZGOS MACROSCOPICOS

En la descripción de los hallazgos macroscópicos en el Colesteatoma ótico provocado, se enumeran las observaciones en 49 ratones que entran en el estudio. De ellos se deben desechar a 5 gerbils. Los motivos para su exclusión fueron:

- Un ratón fallecido previamente a la ligadura del Conducto Auditivo Externo, debido a sobredosis de Pentotal. El motivo, ya citado anteriormente, fue una disminución de la actividad del anestésico debida a su preparación con excesiva antelación, lo cual obligó a aumentar la dosis del mismo, con fallecimiento posterior del animal.

- Un ratón no intervenido por fractura de una extremidad inferior durante la manipulación.

- Un ratón no intervenido por lesión en la cola durante la manipulación, descartándolo por cautela ante el riesgo de infección que ello conlleva en el gerbil.

- Dos ratones no intervenidos por dificultades para conseguir un correcto estado de analgesia e inmovilidad, debido al error en el cálculo de dosis de Pentotal, ya citado en otro apartado.

En el grupo de 44 gerbils que entran en el estudio, ligamos el Conducto Auditivo Externo izquierdo a 31 ratones. Ligamos ambos Conductos Auditivos Externos (CAE) a 13 ratones.

El total de oídos ligados para la provocación de Colesteatoma es de cincuenta y siete.

Tomamos como oído control un total de 31 oídos, siempre el lado derecho.

La ligadura del CAE de ambos oídos la efectuamos para observar si hay diferencias en el estadio evolutivo del colesteatoma, según la clasificación del mismo que efectúan McGinn y cols (1984).

Del grupo de ratones a los cuales se les liga solamente el oído izquierdo, catorce son separados para estudio microbiológico, cuyos resultados son descritos en otro apartado.

Descripción de los hallazgos macroscópicos:

Enunciaremos los resultados para cada oído de forma individualizada y analizando:

- Persistencia de la ligadura del CAE.
- Existencia de Colesteatoma provocado.
- Estadiaje según criterios de McGinn (1984).
- Alteraciones macroscópicas en la Bulla Timpánica.

- Alteraciones macroscópicas del CAE óseo.
 - Existencia de efusión dentro de la Bulla Timpánica.
 - Existencia de signos de infección por existencia de exudado en el contenido del saco de Colesteatoma o bien por inflamación de tejidos blandos vecinos.
 - Alteraciones que ocasiona el Colesteatoma provocado:
 - * Membrana Timpánica.
 - * Cadena de Huesecillos.
 - * Promontorio.
 - * Arteria Estapedia.
 - * Otras estructuras.
- Tiempo transcurrido desde la ligadura del CAE.

Número 1

Se mantiene la ligadura del CAE membranoso.

Existe Colesteatoma.

Estadío II.

No se objetivan alteraciones en la pared de Bulla Timpánica (BT).

Adelgazamiento uniforme de todo el CAE óseo, se observa por transparencia la piel pigmentada del CAE.

No hay efusión en caja.

No hay signos de infección, ni inflamatorios.

Membrana Timpánica (MT) íntegra, engrosada, con desinserción del anulus timpánico en su porción inferior y existen dos bolsas de invaginación en la Pars Flácida (PF), una por delante de la cabeza del martillo y otra por detrás del cuerpo del yunque.

Cadena de huesecillos sin alteraciones macroscópicas.

No hay alteraciones en el resto de estructuras del Oído Medio (OM).

Tiempo de ligadura: 30 días.

Número 2

Se mantiene íntegra la ligadura del CAE.

Existe Colesteatoma.

Estadío IV.

La pared de la BT está engrosada de forma uniforme, sin signos de resorción ósea.

Desaparición completa del CAE óseo.

No existe efusión en caja, ya que toda ella está ocupada por el colesteatoma.

Existe un tejido inflamatorio de coloración rosada en la cara medial del Colesteatoma, adherido íntimamente a la matriz. No se observa la existencia de exudado purulento en caja.

No es posible identificar la MT, ya que solamente se observa matriz de Colesteatoma.

Osteolisis de la cadena de huesecillos (CH) quedando únicamente un resto de cabeza de martillo y el cuerpo del yunque. Estribo íntegro.

Erosión ósea en el Promontorio.

Desaparición de la Arteria Estapedia en el 1/3 proximal.

Resultados

Erosión franca del nicho de la Ventana Redonda.

Tiempo de ligadura: 30 días.