



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**PETRÓLEOS MEXICANOS  
DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN  
HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD**

**“USO DE BIOMATERIALES COMO INJERTOS  
PARA TIMPANOPLASTIA TIPO I”**

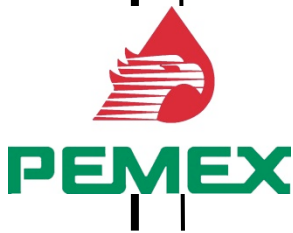
**TESIS DE POSGRADO  
PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MÉDICO ESPECIALISTA EN  
OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGÍA DE CABEZA Y CUELLO**

**PRESENTA:**

***DR. ENRIQUE GIRÓN ARCHUNDIA***

**TUTOR DE TESIS:**

***DR. RAFAEL ANTOLÍN ZÁRATE GARCÍA***



**MÉXICO, D.F JULIO 2012**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

---

**DR. FERNANDO ROGELIO ESPINOZA LÓPEZ**

**DIRECTOR**

**HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD, PETRÓLEOS MEXICANOS**

---

**DRA. JUDITH LÓPEZ ZEPEDA**

**JEFA DEL DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN**

**HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD, PETRÓLEOS MEXICANOS**

---

**DR. RAFAEL ANTOLÍN ZÁRATE GARCÍA**

**TUTOR DE TESIS**

**SUBDIRECTOR MÉDICO**

**HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD, PETRÓLEOS MEXICANOS**

---

**DR. LEÓN FELIPE INOMÍN GARCÍA LARA**

**PROFESOR TITULAR DE POSTGRADO**

**JEFE DE SERVICIO OTORRINOLARIONGOLOGÍA Y CCC**

**HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD, PETRÓLEOS MEXICANOS**

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Enrique y Araceli, a quienes les debo la vida y me enseñaron a tener un juicio firme y pulso sereno para la toma de decisiones, por el apoyo que me han brindado en todos los retos que me he propuesto y gracias a ellos los he completado de manera sobresaliente.

A mi hermana, Vanessa, quien siempre ha sido un apoyo en mi vida, cuyos consejos y palabras de aliento me han llevado paso a paso a mi propia superación personal.

A mi amiga, confidente y novia, Krystell, desde que nos conocimos hemos compartido alegrías, tristezas, triunfos y retos que hemos y seguiremos superando juntos.

A mi alma mater, Universidad Panamericana, quien siempre ha impulsado a sus egresados a continuar en el camino de la excelencia, siguiendo los principios éticos que todo médico debe cumplir en su práctica.

A mis maestros, quienes me han brindado su amistad y han aportado conocimientos a mi formación clínica y quirúrgica.

A mis compañeros de residencia, quienes me han demostrado que enseñar es aprender dos veces, sin embargo, enseñar bien es aprender dos veces bien.

“Todos los triunfos nacen cuando nos atrevemos a comenzar”

“Mientras todos decían entre sí no se puede..... SE HIZO”

## ÍNDICE

- I. Glosario
- II. Título
- III. Definición del problema
- IV. Marco teórico
  - Generalidades
  - La membrana timpánica
  - Historia de la timpanoplastía
  - Investigaciones concernientes acerca de las propiedades biofísicas intrínsecas de la membrana timpánica
  - Investigaciones relacionadas con el uso de materiales exógenos como injertos
  - Problemática
  - El bioplástico
- V. Justificación
- VI. Hipótesis
- VII. Objetivos
  - 1. Objetivo general
  - 2. Objetivo específico
- VIII. Tipo de estudio

IX. Materiales y métodos

1. Universo
2. Criterios
3. Tamaño de muestra
4. Variables
5. Métodos
6. Análisis estadístico

X. Resultados

XI. Discusión

XII. Conclusiones y trabajo a futuro

XIII. Anexos

XIV. Recursos y logística

XV. Mención especial

XVI. Referencias bibliográficas

## I. GLOSARIO

**AUTOINJERTO:** El injerto proviene del sujeto receptor.

**BIOPLÁSTICO:** Polímero de origen orgánico (biopolímero) catalogado como biodegradable.

**CADENA OSICULAR:** Huesos que forman una cadena situada en la cavidad timpánica del oído medio. En los mamíferos son tres (martillo, yunque y estribo) y en otros vertebrados terrestres solo existe uno (la columela).

**COBAYO:** Mamífero roedor de la familia Caviidae originaria de la región andina de América del Sur.

**COLESTEATOMA:** Alteración destructiva de una parte de la membrana mucosa del oído medio que pasa a ser tejido epitelial, produce células epiteliales muertas que al entrar en contacto con la mucosa en la que está situado se infectan con facilidad.

**HIPOACUSIA:** Déficit funcional que ocurre cuando un sujeto pierde capacidad auditiva, en mayor o menor grado.

**HUVEC's:** Línea comercial de células endoteliales de vena obtenidas de cordón umbilical.

**INJERTO:** Consiste en trasladar órganos, tejidos o células de una persona a otra. El órgano trasplantado reemplaza y asume la función del órgano dañado del receptor, salvándole la vida o mejorando la calidad de vida.

**OTORREA:** Flujo mucoso o en forma de pus que procede del conducto auditivo externo o del tímpano cuando este se ha perforado.

**[PCLDEGHDI]:** alfa,omega-telequelico poli(epsilon-caprolactona) diol y hexametilen diisocianato.

**PERFORACION TIMPÁNICA:** Es una abertura o agujero en el tímpano, el cual separa el oído medio del externo. Cuando el tímpano se daña, la audición puede verse afectada.



**POLIURETANO:** Polímero que se obtiene mediante condensación de bases hidroxílicas combinadas con disocianatos.

**TÍMPANO:** Membrana elástica, semitransparente y un poco cónica que comunica el canal auditivo externo con el oído medio, aunque esta sella la cavidad del oído medio.

**TIMPANOMETRÍA:** Es un examen utilizado para detectar problemas en el oído medio.

**TIMPANOPLASTIA/MIRINGOPLASTIA TIPO I:** Se refiere a uno o más procedimientos quirúrgicos que se hacen para corregir una ruptura u otro daño en el tímpano (membrana timpánica), con una cadena osicular intacta; en este texto el término timpanoplastia y miringoplastia se usaran como sinónimos.

**TOMOGRAFIA:** procesamiento de imágenes de rayos X por secciones.

**XENOINJERTO:** El injerto proviene de una especie diferente al receptor.

## I. TÍTULO

### USO DE BIOMATERIALES COMO INJERTOS PARA TIMPANOPLASTIA TIPO I

## II. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Cual es el efecto de los biomateriales (bioplástico e injerto autólogo) en la reparación de perforaciones timpánicas crónicas en un modelo animal experimental.

¿Es posible que el alfa,omega-telequelico poli(epsilon-caprolactona) diol y hexameten diisocianato [PCLDEGHDI] sea útil como injerto en la timpanoplastía tipo I y pueda sustituir los injertos autólogos de fascia?

## III. MARCO TEÓRICO

### GENERALIDADES

Filogeneticamente, los seres vivos, al emerger del medio acuático al terrestre tuvieron que romper la barrera agua/aire para mayor función auditiva. Békesy calculó de manera sobresaliente la superficie vibratoria de la membrana timpánica comparada con el área de la platina del estribo, dicho cálculo muestra una diferencia 17 a 1, lo cual da un aumento de 22 veces la presión ejercida y una ganancia de 26.8 dB (1).

En el oído perforado, la ventana redonda mantiene un papel importante en el acoplamiento acústico de transmisión de sonido. Cualquier perforación timpánica anula el mecanismo de protección, con lo cual el sonido alcanza ambas ventanas al mismo tiempo, cancelando el movimiento columnar coclear fisiológico. Dicho efecto de cancelación puede provocar pérdidas auditivas de hasta 45 dB (2).

La perforación timpánica crónica es una entidad común en la práctica otorrinolaringológica, la cual puede condicionar infección recurrente o crónica e hipoacusia conductiva en grados variables. La etiología de dichas perforaciones puede deberse a trauma, infecciones crónicas o agudas de oído medio, o a la colocación de tubos de ventilación.

La mayoría de las perforaciones timpánicas agudas presentan un cierre espontáneo, sin embargo las perforaciones timpánicas crónicas tienen origen por una falla en el patrón de migración epitelial a través de la perforación. Cuando dicha perforación persiste es indicación de manejo quirúrgico.

En la actualidad, existen diferentes tipos de materiales usados como injertos en una amplia gama de procedimientos. La selección de cualquier material como injerto debe ir dirigida específicamente a su capacidad de mantener su integridad estructural, química y mecánica; y a las características necesarias que permitan su función sustituta, con un adecuado perfil de seguridad para el paciente (3).

Esto traducido al contexto clínico, marca a cualquier injerto autólogo como el estándar de oro y exige a cualquier otro material exógeno una interacción tejido/material biológicamente compatible.

Diferentes injertos se han utilizado en la timpanoplastía tipo I con diferentes tasas de éxito reportadas. En el caso de los plásticos, se ha tratado de utilizar cianoacrilatos, alcohol polivinil, ácido poliglicólico, entre otros (4); en el caso de los injertos biológicos se han utilizado vena, placenta, duramadre (5).

## LA MEMBRANA TIMPÁNICA

En el ser humano, la membrana timpánica posee una forma redonda discretamente irregular y ligeramente conificada, el vértice de dicho cono se encuentra en el umbo, que corresponde

a la porción distal de manubrio del martillo. En el adulto presenta una angulación de 140° respecto a la pared superior del conducto auditivo externo.

El diámetro vertical de la membrana timpánica se determina por el eje largo del manubrio del martillo y mide aproximadamente entre 8.5 y 10 mm, mientras que el diámetro horizontal mide entre 8 y 9 mm. Hacia la porción proximal del manubrio se encuentra la apófisis lateral del martillo, La membrana timpánica se encuentra firmemente adherida a esta porción y al umbo denominándose *striae mallearis* (6).

Las estrías timpánicas anterior y posterior se extienden desde la apófisis lateral hacia las espinas timpánicas anterior y posterior respectivamente, estas dividen la membrana timpánica en una porción tensa y una porción flácida.

El receso superior de la membrana timpánica se conoce con el epónimo de espacio de Prussak, la *pars flacida* forma el borde lateral de este espacio desde su inserción en el borde superior del nicho de Rivinus en la incisura timpánica.

El ligamento maleolar anterior delimita este espacio anterosuperiormente desde la unión de la cabeza y el cuello del martillo a la periferia del nicho de Rivinus. Posteriormente, el espacio de Prussak se abre hacia el epitímpano. Los pliegues maleolares anterior y posterior limitan la porción inferior del espacio de Prussak.

La periferia engrosada de la pars tensa, el anulus timpanico (limbus) ancla la membrana timpánica al surco timpánico; hacia las porciones superiores (nicho de Rivinus) el surco timpánico y el anulus se encuentran ausentes. La *pars tensa* y la *pars flacida* difieren en su estructura (7):

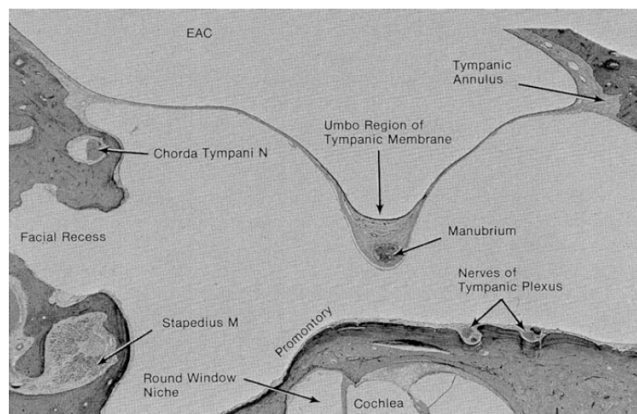
La *pars tensa*, se compone de tres capas: Una lateral epitelial que se continúa con la piel del conducto auditivo externo, una intermedia fibrosa con disposición radial externa y circular

interna y una mucosa medial que se continua con la mucosa de la caja timpánica.

A pesar de ser laxa la *pars flacida*, es mas gruesa que la *pars tensa*, consiste también de tres capas, sin embargo la epidermis se compone de solo 5 a 10 capas de epitelio y la capa fibrosa es un arreglo disperso de fibras elásticas y de colágeno.

La membrana timpánica que ha sufrido una perforación cicatriza dependiendo de la proliferación fibrosa, sin embargo en la mayoría de los especimenes el rearreglo de la capa fibrosa es deficiente, resultando en una membrana timpánica dimerica con solo dos capas una epitelial y una mucosa.

En la actualidad se han descrito diversos factores predictores de éxito en el cierre de una membrana timpánica, involucrando factores intrínsecos del huésped (adecuada función de la trompa de Eustaquio, alergia, tabaquismo, entre otras), factores inherentes de la propia perforación y la anatomía del paciente y factores relacionados con el injerto y la técnica quirúrgica (evitar “blunting”) (8).



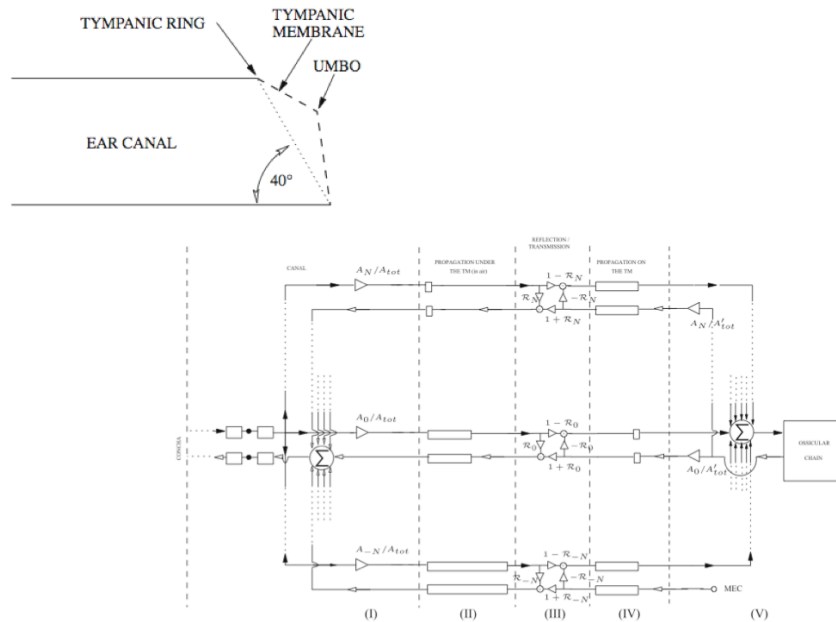
**Ilustración 1. Corte histológico que demuestra la angulación de la membrana timpánica.**

## HISTORIA DE LA TIMPANOPLASTIA

El concepto de reparar una perforación timpánica fue descrito por Berthold en 1878, dicho procedimiento fue denominado miringoplastía (9), el cual consiste en reparar la membrana timpánica sin desplazarla de su inserción ni alterando la función de la cadena osicular. No es hasta 1952 cuando Wullstein y Zöllner en la Ciudad de Reichenhall describen los conceptos básicos para reconstruir la membrana timpánica y los mecanismos de conducción de sonido de la cavidad timpánica (10); a partir de estas descripciones, la timpanoplastía tipo I o miringoplastía ha encontrado su lugar en la otología contemporánea y se han utilizado diversos materiales para dicho uso con diferentes resultados. En los siguientes párrafos los terminos miringoplastia y timpanoplastia tipo I se usarán como sinónimos.

## INVESTIGACIONES CONCERNIENTES ACERCA DE LAS PROPIEDADES BIOFÍSICAS INTRÍNSECAS DE LA MEMBRANA TIMPÁNICA

En la actualidad se estan desarrollando modelos que nos ayudan a entender mas sobre el complejo fenómeno de la acústica en las diferentes partes del oído y la transmisión del sonido en el cuerpo humano, dichas investigaciones se han realizado desde la década de los 60, sin embargo es hasta este milenio que se esta estudiando la dinamica del sonido acoplada a los mecanismos de audición mediante velocimetría e impedanciometría (11). Se ha descrito el patrón de propagación del sonido en párrafos previos, sin embargo la inclinación de la membrana timpánica propicia un retraso en la conducción del sonido que dependiendo de la situación y extensión de la perforación puede alterar los mecanismos de conducción del sonido a la cóclea.



**Ilustración 2. Demuestra la correlación que existe entre la anatomía del oído y el acoplamiento acústico y osicular necesario para una adecuada conducción del sonido en el aparato auditivo. Se muestra esquemáticamente el coeficiente de reflexión del sonido y la propagación del mismo de la membrana timpánica a la cóclea.**

## INVESTIGACIONES RELACIONADAS CON EL USO DE MATERIALES EXÓGENOS COMO INJERTOS

Desde la década de los 80 se han descrito diferentes materiales exógenos para la reparación o sustitución de órganos. Sin embargo muchas descripciones se han basado en el acierto error.

Se sabe que los materiales autólogos son los de elección debido a su baja inmunogenicidad, sin embargo en el cuerpo no existe ningún tejido similar a la membrana timpánica, ya sea en su composición histológica o en sus características físicas (12).

Es por eso que el uso de materiales exógenos biocompatibles y con un adecuado perfil bio físico químico podrían resultar en mejores resultados anatómicos, funcionales y costo-beneficio.

## PROBLEMÁTICA

Acusticamente, cualquier perforación timpánica se comporta de manera diferente, similar a un circuito eléctrico donde existe inductancia eléctrica y la cavidad de oído medio funciona como capacitancia. Una perforación timpánica pequeña actúa como un filtro de baja resistencia a frecuencias bajas, ya que estas, al llegar a la cavidad timpánica disminuyen la fuerza de vibración de la misma; así mismo, perforaciones grandes tienen un efecto acústico en frecuencias altas (2).

El efecto de una perforación timpánica no se limita al paso libre del sonido a la cavidad timpánica, sino también a cambios en el acoplamiento osicular, esto debido a que una perforación timpánica no solo debe evaluarse por su extensión, sino también por su localización. Las perforaciones timpánicas tienen un mayor efecto en la audición cuando se encuentran en las regiones posteriores y superiores de la membrana timpánica, debido a que los mecanismos de soporte del martillo se ven alterados. Diferentes experimentos han demostrado que la pérdida de audición puede afectarse hasta 40-60 dB a pesar de tener una cadena osicular intacta, debido a las características de la perforación, a la acción del acoplamiento osicular y al efecto de cancelación de la ventana redonda.

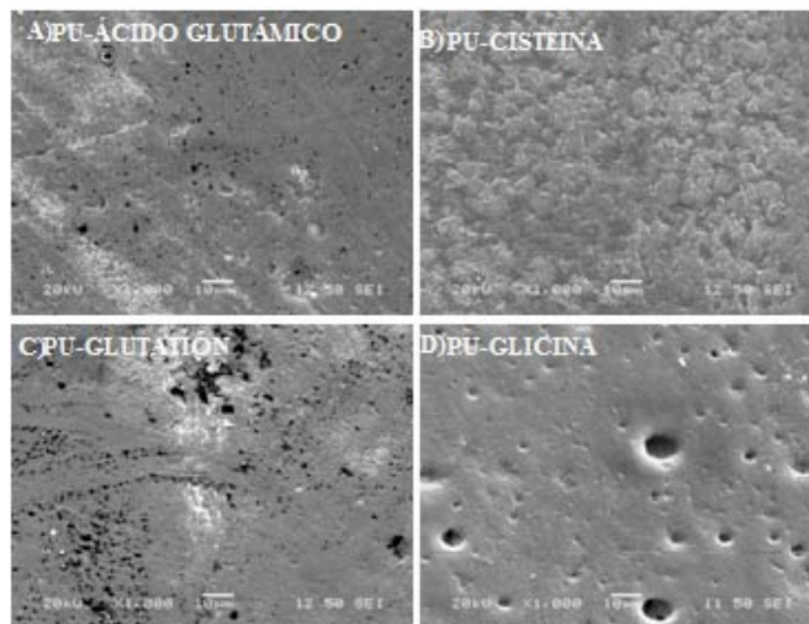
A pesar de que existen múltiples artículos relacionados con el manejo de la perforación timpánica, no existe casuística acerca de la verdadera prevalencia e incidencia de esta patología en nuestro país. Sin embargo cabe mencionar que podemos suponer que es una



entidad subdiagnosticada y frecuente en nuestro país, debido a los factores de riesgo promotores para la misma.

### EL BIOPLÁSTICO

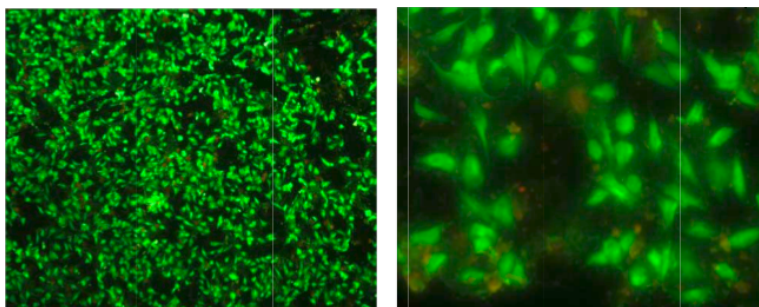
En este estudio se utilizó el alfa,omega-telequelico poli(epsilon-caprolactona) diol y hexametilen di-isocianato, el cual es un poliuretano segmentado biodegradable, utilizando como elemento flexible la policaprolactona de peso molecular de 2,000 gr/mol, y disocianatos de origen alifático que no son tóxicos a comparación de sus contrapartes aromáticas. Los segmentos rígidos que dan soporte estructural a este plástico se formaron mediante la reacción entre el 4-4´metilen bis – ciclohexilisocianato y el extensor de cadena L-glutación o cualquier aminoácido que lo forma: ácido glutámico, cisteína y glicina. La reacción es catalizada con octoato de estaño y como disolvente en la síntesis del poliuretano se utilizó dimetilformamida anhidra (13).



**Ilustración 3. Microscopía electrónica de barrido que demuestra la porosidad del poliuretano, necesario para su función de andamio. Cortesía Dr. Martínez Richa/Dr. Perales.**

En estudios previos se ha demostrado la biocompatibilidad de este poliuretano. Se realizó una evaluación de supervivencia con la línea celular de neuroblastoma CHP-212 de la siguiente manera:

Se esterilizaron las placas de poliuretano con tres diferentes métodos (luz UV, gas y plasma). Posteriormente se realizó el conteo de células mediante un microscopio invertido y una cámara de Neubauer, cultivando 80000 células en cada placa previo lavado con PBS 1X; 24 horas después se verificó la existencia de una monocapa celular adherida al poliuretano y se incubó al 5% de CO<sub>2</sub> y 37° C. Dicho procedimiento también se realizó con células HUVEC's (línea comercial de células endoteliales de cordón umbilical). Se utilizó un kit de viabilidad celular Invitrogen Live/dead, así como Calceína Am para señalar a las células vivas y homodímero de Etidio para su contraparte muerta. Finalmente se analizó la supervivencia mediante microscopio de fluorescencia demostrando adecuada viabilidad y adhesión de las células a las placas del poliuretano (14).



**Ilustración 4. Evaluación de supervivencia y viabilidad celular (CHP-212 y HUVEC's); sobre el poliuretano mediante microscopía de fluorescencia. Cortesía Dr. Martínez Richa/Dr. Perales.**

#### **IV. JUSTIFICACIÓN**

A través de la estrategia conjunta del Programa Gacela de la Secretaría de Economía y de Fundación México-Estados Unidos para la Ciencia (FUMEC) [15] se integró un análisis de las oportunidades que existen en el campo de Tecnologías de Salud en aspectos como dispositivos médicos, turismo médico, pruebas clínicas, entre otros. Se menciona que México es el segundo mercado más grande para dispositivos médicos en Latinoamérica, además de ser el tercer país importador de dispositivos en América, después de Estados Unidos y Canadá. Por otro lado, las empresas americanas de manufactura de dispositivos médicos se benefician de la posición geográfica de México y de el tratado de libre comercio para fabricar sus productos, los cuales regresan a Estados Unidos para ser validados e ingresar a México como importaciones. México también puede aprovechar estas relaciones para impulsar su propia industria de dispositivos médicos, identificando nichos en donde además de manufactura, se pueda trabajar en desarrollo de nuevos productos.



Principales mercados para dispositivos médicos en 2007 donde se puede observar que México es el segundo mercado más grande, en Latinoamérica.

**Ilustración 5. Se observa que México ocupa el segundo mercado mas grande de Latinoamérica en la distribución de dispositivos médicos de cualquier índole.**

La perforación timpánica es un padecimiento frecuente en nuestro medio sin importar su etiología. A pesar de que la membrana timpánica tiene una capacidad muy alta de regeneración espontánea de un 78.7% reportada por Kristensen (16); en el Hospital Central Sur de Petróleos Mexicanos los últimos 5 años se han visto 512 pacientes con diagnóstico de perforación timpánica, de los cuales 281 han sido atendidas en quirófano y bajo anestesia general, generando altos costos a la institución.

La frecuencia de la perforación timpánica se estima entre el 1–3% de la población general (17). La localización y el tamaño depende de la cronicidad. La búsqueda del mejor abordaje y el éxito en ésta cirugía han dado las diferentes alternativas quirúrgicas de las que disponemos en la actualidad.

Se ha descrito que una de las fallas en la miringoplastia es la experiencia del cirujano a pesar de los factores intrínsecos del paciente; sin embargo Liu y cols. reportan la curva de aprendizaje de la miringoplastía sin encontrar diferencia significativa en cuanto al éxito de la

misma entre las cirugías realizadas por residentes y adscritos de su centro hospitalario (18), por lo que suponemos que el éxito podría depender del tipo de injerto que se utilice.

La etiología de la perforación timpánica crónica va ligada con padecimientos propios de la edad pediátrica (otitis media, colocación de tubos de ventilación, trauma), donde el epitelio escamoso crece sobre su borde para encontrarse con la capa mucosa medial de la membrana timpánica, lo que impide la cicatrización espontánea (19); se ha reportado un porcentaje de perforación timpánica posterior a la colocación de tubos de ventilación de 2.2% a 16.6% con una media de 4.8% (20).

El alfa,omega-telequelico poli (epsilon-caprolactona) diol y hexameten di-isocianato [PCLDEGHDI] es un poliuretano segmentado biodegradable obtenido mediante una reacción enzimática única, que no presenta la toxicidad de aquellos que tienen origen aromático. Así mismo, se ha demostrado mediante una evaluación de supervivencia *in vitro* con línea celular de neuroblastoma CHP-212 que este material puede ser esterilizado sin perder sus capacidades físico-químico-biológicas mediante plasma, óxido de etileno y radiación de luz ultravioleta. En un ensayo piloto *in vitro* utilizando HUVEC's (línea comercial de células endoteliales de vena obtenidas de cordón umbilical) se demostró que el el alfa, omega-telequelico poli(epsilon-caprolactona) diol y hexameten di-isocianato [PCLDEGHDI] promueve la adhesión celular conservando una alta viabilidad celular (21).

Debido a los altos costos hospitalarios y a la falta de recursos físicos y de personal en diferentes centros de atención otorrinolaringológica en México, se deben considerar otras alternativas terapéuticas donde no se requiera un abordaje extenso o extra para poder extraer un injerto autólogo del paciente tomando en cuenta la morbilidad añadida que trae por si misma esta intervención, dentro de las posibles complicaciones que se pueden

presentar en el abordaje retroauricular son: Necrosis del colgajo cutáneo, hematoma, seroma, infección y dehiscencia de la herida (22). Por lo que proponemos se deben considerar novedosas alternativas terapéuticas (bioplástico) que ofrecen menor tiempo hospitalario, se realizan en el consultorio, tienen un bajo costo, no requiere equipo sofisticado, no requiere empaquetar el conducto auditivo externo y no presenta riesgo quirúrgico mayor ya que puede realizarse con anestesia local (23). Por lo que las técnicas propuestas mas adelante, son una alternativa para pacientes con oído único, niños con disfunción de trompa de Eustaquio con riesgo de desarrollar colesteatoma o aquellos pacientes que no desean cirugía bajo anestesia general.

## **V. HIPÓTESIS**

El alfa,omega-telequelico poli(epsilon-caprolactona) diol y hexameten di-isocianato [PCLDEGHDI] puede actuar como injerto y promover la generación de un neotímpano funcional en un modelo animal de perforación timpánica.

## **VI. OBJETIVOS**

### **Objetivo general:**

Determinar el uso de dos biomateriales (autoinjerto y bioplástico) en la reparación de perforaciones timpánicas crónicas en un modelo animal.

### **Objetivos específicos:**

Comparar la utilidad de un poliuretano contra fascia (estándar en la reparación primaria de perforaciones timpanicas [MIRINGOPLASTÍA])

Determinar las características macroscópicas de dichos materiales en la generación de un neotímpano

Evaluar las características microscópicas del neotímpano formado.

## VII. TIPO DE ESTUDIO

*Concise Oxford Thesaurus* define a los estudios piloto como aquellos estudios que prueban la factibilidad de diversos métodos y procedimientos para su uso posterior a gran escala e investigar posibles efectos y asociaciones que otorgarían algún beneficio a la población. El realizar un estudio piloto nos confiere la factibilidad y los procedimientos iniciales de una maniobra, el análisis minucioso de los recursos disponibles para realizar dicha maniobra, el potencial beneficio humano y su reproducibilidad y por último dilucidar el diseño óptimo para determinar la eficacia y la seguridad de la maniobra (24).

Se realizó un estudio piloto, experimental, prospectivo

## VIII. MATERIALES Y METODOS

### 1. Universo:

POBLACIÓN EXPERIMENTAL: Se utilizarán oídos de cobayos (*Cavia Porcellus*), se decide utilizar este modelo animal debido a que sus características fisiológicas y anatómicas son las óptimas para el estudio en oído (25). La población de estudio consiste en cobayos adultos de sexo masculino, en el cual cada sujeto de experimentación será su propio control, se dividieron de la siguiente manera: Grupo 1 casos [poliuretano]: oído izquierdo de cobayos. Grupo 2 controles [fascia de músculo recto abdominal] oído derecho de cobayos.

GRUPO 1 (casos). Oído izquierdo de cobayos clínicamente sanos en la esfera otorrinolaringológica, comprobándose mediante la ausencia de secreciones en vestíbulo nasal, ausencia de epífora, adecuada movilidad de bigotes y sin tos. Se realizará un modelo de perforación timpánica crónica (modelo descrito más adelante), posteriormente se realizara timpanoplastía tipo I aplicando el bioplástico [alfa,omega-telequelico poli(epsilon-caprolactona) diol y hexameten di-isocianato [PCLDEGHDI]]. Se evaluará estado macroscópico al inicio de la implantacion y 30 dias despues de la misma; y el estado histologico microscópico a los 60 días.

GRUPO 2 (controles). Oído derecho de cobayos clínicamente sanos en la esfera otorrinolaringológica comprobandose de la manera descrita previamente. Se realizará un modelo de perforación timpánica crónica (modelo descrito más adelante), posteriormente se realizará timpanoplastía tipo I aplicando fascia de músculo abdominal. Se evaluará estado macroscópico al inicio de la implantacion y 30 dias despues de la misma; y el estado histologico microscópico a los 60 días.

## 2. Criterios:

- **Inclusión:**
- Sujetos de experimentación juvenes (de 6 a 8 meses de edad) con peso mayor a 700gr
- Clínicamente sanos
- **Exclusión:**



- Sujetos de experimentación con proceso infeccioso activo
- Sujetos de experimentación clínicamente enfermos (Datos de escorbuto, alteraciones en pabellon auricular, malformaciones craneofaciales evidentes)
- **Eliminación:**
- Sujetos de experimentación que no sobrevivan al procedimiento de perforacion timpánica
- Sujetos de experimentación con cierre de perforación a los 30 días de haber sido realizada.
- Sujetos de experimentación que no sobrevivan a la timpanoplastia.
- Sujetos de experimentación que mueran durante el seguimiento en los 30 días posteriores a la implantación.

### **3. Tamaño de muestra:**

Debido a que no existe antecedente en la literatura y al ser en estudio piloto, se estimo el tamaño de muestra tomando en cuenta los siguientes parámetros:

Un tamaño del efecto (g de Hedge) de 0.2, con una probabilidad de error alfa de 0.05 y un poder del 85%, dando como resultado una N de 44 divididos en dos grupos; por lo que se utilizarán 26 cobayos tomando en cuenta un porcentaje arbitrario del 20% en perdidas, para quedar distribuidos de la siguiente manera:

Grupo 1. n=26 oídos, lado izquierdo. bioplástico

Grupo 2. n=26 oídos, lado derecho. fascia

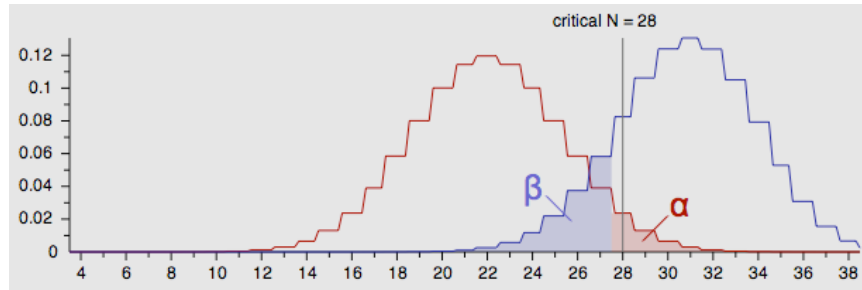


Ilustración 6. Distribución esperada según el cálculo de tamaño de muestra.

#### 4. Variables:

- **Independiente:** Perforación timpánica
- **Dependiente:** Cierre de perforación, celularidad, grosor, colágeno, vascularidad.

<b>Variable independiente</b>		
PERFORACIÓN TIMPÁNICA		
<b>Variable dependiente</b>		
Cierre de perforación	Cualitativa	Dicotomica/Nominal
Celularidad	Cualitativa	Ordinal
Grosor	Cualitativa	Ordinal
Colágena	Cualitativa	Ordinal
Vascularidad	Cualitativa	Ordinal

## 5. Método:

### DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO.

Se realizó en las instalaciones del bioterio de la Universidad Panamericana, ya que cuentan con los lineamientos para la adecuada manutención de los sujetos de experimentación conforme a la Norma Oficial Mexicana y la “*Guide for the care and use of laboratory animals*” de los Estados Unidos (26, 27). El estudio constará de dos etapas, la primera etapa consistirá en:

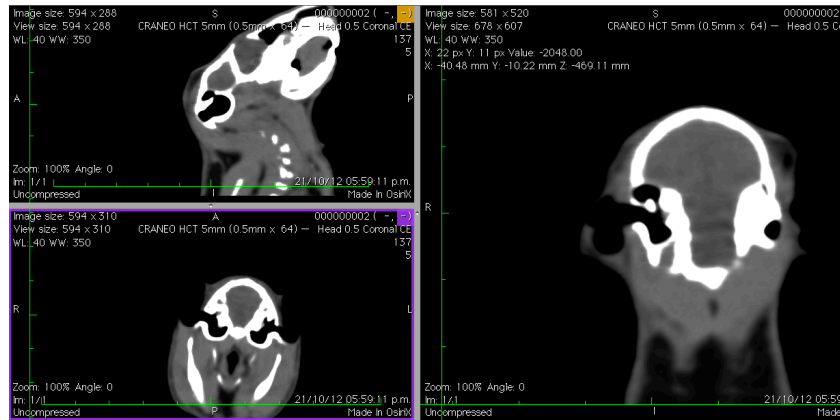


**Ilustración 7. Sujetos de experimentación: *Cavia porcellus*. Y las condiciones donde se mantuvieron durante el estudio.**

### *ESTUDIO MORFOLÓGICO DEL OÍDO MEDIO DEL COBAYO*

Se seleccionaron 5 cobayos jóvenes al azar (10 oídos). Se les realizó estudio tomográfico simple de oídos bajo sedación (0.05 mg de atropina vía subcutánea y una mezcla de clorhidrato de xilacina (0.5mg/kg) con clorhidrato de ketamina (70mg/kg) vía intramuscular). Se realizaron cortes cada 1 mm axial y coronal, los cuales fueron medidos mediante el software OsiriX para sistema operativo Mac Os X 10.6, posterior a esto se calcularon las medias en medidas de diámetro supero-inferior del conducto auditivo externo, anteroposterior del conducto auditivo externo, y la distancia del inicio del conducto auditivo

externo óseo a la cóclea. Posterior a esto se realizó timpanometría a los mismos sujetos de estudio, con la finalidad de conocer el volumen del conducto auditivo externo y las propiedades físicas de la membrana timpánica del cobayo.



**Ilustración 8. Estudio tomográfico del oído del cobayo. Se realizaron medidas pertinentes para conocer el espacio de trabajo disponible.**



**Ilustración 9. Estudio timpanométrico convencional en cobayos. En la gráfica se demuestran los valores de presión y volumen del oído medio y el volumen del conducto auditivo externo.**

Con estas medidas calculamos de manera directa las proporciones para poder realizar el modelo de perforación timpánica y poder introducir los instrumentos quirúrgicos en el conducto auditivo externo.



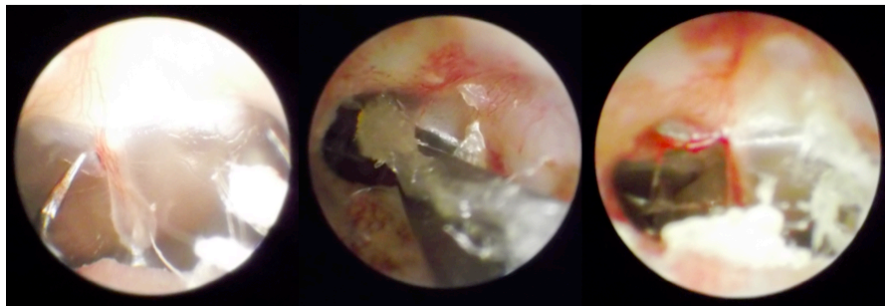
**Ilustración 10. Otoendoscopia del cobayo. Oído izquierdo.**

### *MODELO DE PERFORACIÓN TIMPÁNICA*

Para poder determinar el modelo de perforación timpánica se realizó un estudio piloto por separado con 17 sujetos de estudio tomando en cuenta los mismos criterios de inclusión; se realizó un modelo modificado en base a los trabajos de Truy y Amoils (28, 29). Previa anestesia general, asepsia y antisepsia del campo quirúrgico se procedió a lo siguiente:

Bajo visión endoscópica, con el uso de un endoscopio Hopkins 0° Karl Storz de 2.7 mm de diámetro y 11 cm de longitud, acoplado a una fuente de luz portátil Karl Storz, se realizó una perforación timpánica anterior en *pars tensa* mediante miringotomía en 3 sujetos de experimentación (6 oídos) que sirvieron como control para determinar la tasa de cierre espontánea posterior a una perforación traumática, a 14 sujetos de estudio (28 oídos) se les realizó miringotomía a manera de microcolgajos de manera radial, posteriormente con pick de 90° se desnudo la capa interna y se colocó una torunda de algodón montada en una pinza Hartmann impregnada con una solución de glutaraldehído al 2% de en los bordes libres de la perforación, se utilizó el glutaraldehído ya que gracias a su composición bifuncional de 5 carbonos, reacciona con el grupo epsilon amino de los residuos de lisina de colágeno estabilizando la cicatriz y disminuyendo la reacción inmunológica del tejido (30, 31);

posteriormente dichos microcolgajos se plegaron hacia la porción denudada de la membrana timpánica (porción medial de la membrana timpánica). Se dio seguimiento seriado mediante endoscopio durante 60 días para corroborar la patencia de dicha perforación. Aquellos oídos perforados con el uso único de miringotómo presentaron un cierre espontáneo de la perforación en el 100% de los casos en el seguimiento a dos semanas, en el 93 % de los casos tratados con glutaraldehído logramos la patencia de perforación en un seguimiento a 60 días con la confirmación de un anillo fibroso en los bordes de la perforación.



**Ilustración 11. Modelo de perforación timpánica. En la figura 1 se observa la miringotomía, en la figura 2 se observa la aplicación de glutaraldehído al 2%, en la figura 3 se corrobora la patencia de la perforación (izquierda a derecha).**

La reproducibilidad del modelo se estableció en el trabajo presentado en la XVI Reunión de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Panamericana celebrado en la Ciudad de Mexico el 26 de abril del 2013. Donde alumnos de 4to año de la licenciatura de Médico Cirujano, previa estandarización de la técnica quirúrgica demostraron una patencia de las perforación superior al 90% con la técnica quirúrgica descrita previamente, lo cual esta por encima de los reportes descritos en la literatura mundial (32).

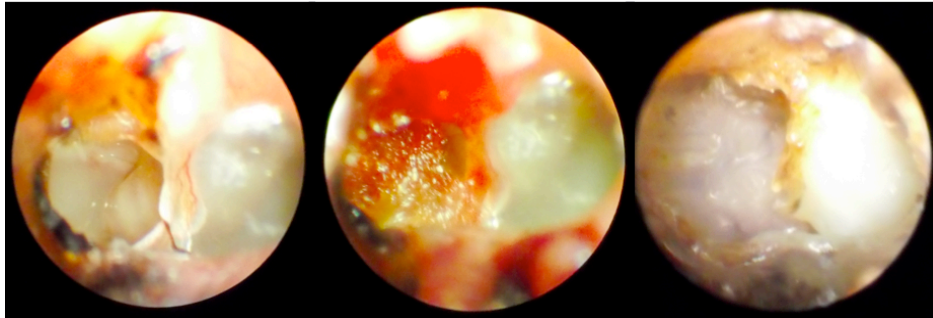


**Ilustración 12. Reproducibilidad del modelo, se observa a un estudiante de 4to año de la licenciatura de médico cirujano, realizando el procedimiento, se corrobora la patencia de la perforación realizada.**

*TIMPANOPLASTIA TIPO I EN EL OÍDO EXPERIMENTAL (IZQUIERDO). Grupo 1*

Previa anestesia general y preparación del campo quirúrgico se procedera a los siguiente:

Bajo visión endoscópica 0°, se corrobora patencia de la perforación, se reavivan bordes con pick angulado a 90°, se procede a llenar caja timpánica con gelfoam impregnado en solución salina, posteriormente se coloca la lámina de alfa,omega-telequelico poli(epsilon-caprolactona) diol y hexametilen di-isocianato [PCLDEGHDI] previamente irrigada con solución PBS 1X por debajo del remanente de la membrana timpánica (técnica underlay) de tal manera que el gelfoam de la caja timpánica sirva de soporte para el biomaterial en cuestion (33). Se dio seguimiento con endoscopio rígido Karl Storz 2.7 mm 0° al dia 30 y dia 60. Al dia 60 los sujetos de experimentación fueron sacrificados mediante camara de gas CO2 de acuerdo a los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana, mediante abordaje retroauricular y visión endoscópica, con cuchillo de Rosen de 1.4 mm se retiro un colgajo dermatimpánico total que incluía el injerto y el remanente timpánico, dicha muestra se fijo en formol al 10%.



**Ilustración 13.** Se observa en la figura 1 la perforación patente con su anillo fibroso, en la figura 2 posterior a reavivar los márgenes se coloca gelfoam en caja timpánica, en la figura 3 observamos el injerto plástico en posición (izquierda a derecha).

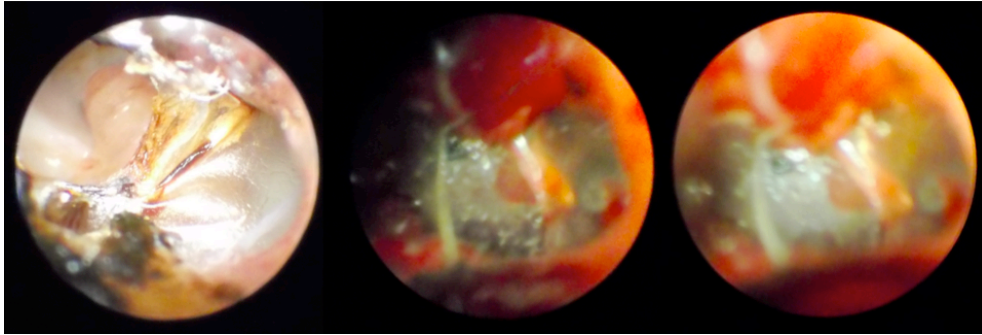
*TIMPANOPLASTIA TIPO I EN EL OIDO CONTROL (DERECHO). Grupo 2*

Previa anestesia general y preparación del campo quirúrgico se proceda a los siguiente:

Previo rasurado, asepsia y antisepsia de región abdominal, se colocan campos estériles, se realiza incisión abdominal en línea media de 1.5 cm aproximadamente, se identificó línea alba y se tomó injerto de fascia de músculo recto abdominal, el cual se deshidrató. Bajo visión endoscópica, se corrobora patencia de la perforación previamente realizada, se reavivan bordes con pick curvo, se procede a colocar fascia obtenida de músculo abdominal de la siguiente manera: se procede a llenar caja timpánica con gelfoam impregnado en solución salina, posteriormente se coloca la fascia abdominal deshidratada por debajo del remanente de la membrana timpánica (técnica underlay) de tal manera que el gelfoam de la caja timpánica sirva de soporte para el biomaterial en cuestión (33). Se dio seguimiento con endoscopio rígido Karl Storz 2.7 mm 0° al día 30 y día 60. Al día 60 los sujetos de experimentación fueron sacrificados mediante cámara de gas, mediante abordaje retroauricular y visión endoscópica, con cuchillo de Rosen de 1.4 mm se retiró un colgajo

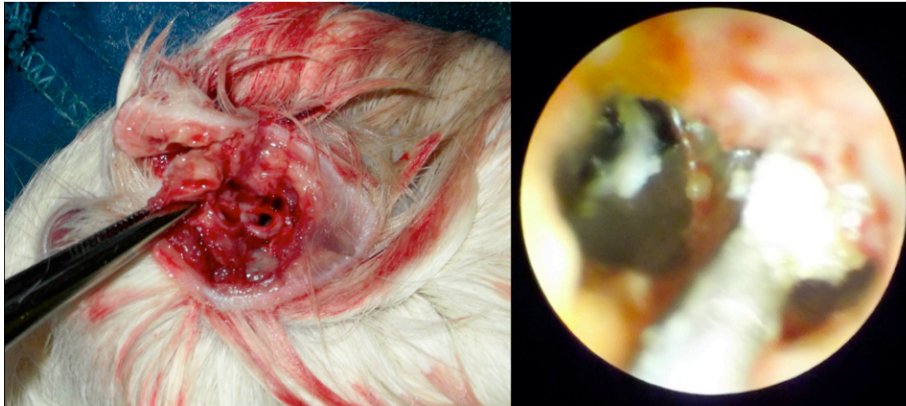


dermotimpánico total que incluía el injerto y el remanente timpánico, dicha muestra se fijó en formol al 10%.



**Ilustración 14.** Se observa en la figura 1 la perforación patente, en la figura 2 posterior a reavivar bordes se coloca gelfoam en caja timpánica, en la figura 3 se observa injerto de fascia en posición (izquierda a derecha).

Para el análisis histológico las piezas se incluyeron en bloques de parafina, se realizaron cortes con microtomo de rotación Leica RM 2125 a 10 micras, posteriormente se colocaron en laminillas y se procedió a su preparación con tinción de hematoxilina y eosina para su análisis histológico. Previamente se obtuvo una membrana timpánica íntegra como control. Se analizó de manera subjetiva asignando valores (una cruz a cinco cruces) el grosor, la celularidad, vascularidad, y cantidad de colágeno por un patólogo (MLL) que permaneció ciego a la recolección de las muestras. Las microfotografías se analizaron con el software ImageJ para sistema operativo Mac Os X 10.6.



**Ilustración 15.** Toma del espécimen para análisis histológico mediante abordaje retroauricular, en la figura 2 se observa el retiro de la pieza con cuchillo de Rosen.

## **6. Análisis estadístico:**

Se realizó análisis descriptivo mediante medidas de tendencia central adecuadas para cada variable, se determinó normalidad mediante test de Kolmogorov Smirnov, por lo que se realizó estadística no paramétrica con test exacto de Fisher para el contraste de hipótesis y U de Mann Whitney para comparación de medias entre tratamientos. Consideramos una  $p < 0.05$  estadísticamente significativa. El análisis se realizó mediante el programa estadístico SPSS versión 20.0 para sistema operativo Mac OsX 10.6.

## **IX. RESULTADOS**

Los sujetos de experimentación fueron donados por la Universidad Panamericana. Todos los sujetos fueron mantenidos en jaulas separadas, con ciclos controlados de vigilia/sueño 12 horas, con agua y alimento ad libitum. El alimento de los sujetos de experimentación se

encontraba adicionado con vitamina C, además de suplemento de vitamina C en el agua de los sujetos.

Todos los sujetos previo al evento quirúrgico y previo a las evaluaciones endoscópicas fueron anestesiados de la siguiente manera:

0.05 mg de atropina vía subcutánea y una mezcla de clorhidrato de xilacina (0.5mg/kg) con clorhidrato de ketamina (70mg/kg) vía intramuscular.

Posterior a la perforación timpánica y a la timpanoplastia se administró gotas óticas de ciprofloxacino a todos los sujetos y analgesia a base de Meloxicam 0.2 mg/kg vía subcutánea dosis única.

De los 26 sujetos de estudio se eliminaron 4 sujetos, 1 sujeto al cual no se le realizó ningún procedimiento murió de causa desconocida, 1 sujeto presentó condritis de pabellones auriculares y estenosis bilateral total del conducto auditivo externo acompañado de otorrea a los 9 días posteriores de la timpanoplastia y 2 sujetos presentaron datos de escorbuto a los 17 días posterior a la implantación de los injertos.

Por lo tanto se obtuvo un 100% de patencia de la perforación timpánica en 22 sujetos de experimentación, los cuales presentaron una adecuada evolución posterior a la timpanoplastia.

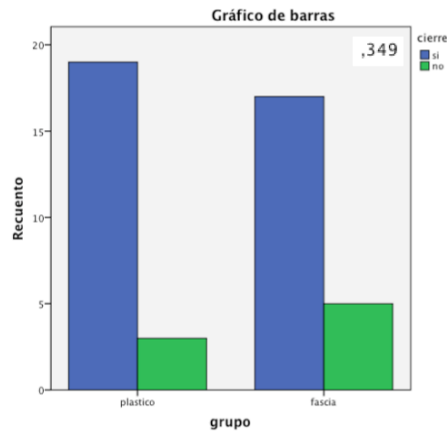
El análisis tomográfico demostró una media de 5.8 mm en el diámetro superoinferior y una media en el diámetro anteroposterior de 4.6 mm. La media de distancia entre el borde externo del conducto auditivo externo óseo a la cóclea fue de 7.6 mm. La timpanometría mostró una media en el volumen del conducto auditivo externo de 0.5 ml. Con estas medidas se comprobó que el equipo microquirúrgico podía ser utilizado en el espacio confinado al conducto auditivo externo.

Valores Anatómo-funcionales pre-perforación	
Variable	Media
Diámetro Superoinferior 1/3 externo de CAE	5.8 mm
Diámetro anteroposterior 1/3 interno de CAE	4.6 mm
Distancia Membrana Timpánica-Promontorio	7.6 mm
Volumen CAE	0.5 ml
Gradiente	191 daPa
Presión ("compliance")	-11 daPa

**Tabla 1. Medidas de tendencia central, se muestran las medias de las medidas anatómicas y físicas de las estructuras de oído externo y medio analizadas mediante tomografía y timpanometría.**

El test estadístico chi cuadrada con exacta de Fisher mostró una  $p=0.34$ , con lo que determinamos que no hay diferencia estadística en la tasa de cierre entre ambos injertos.

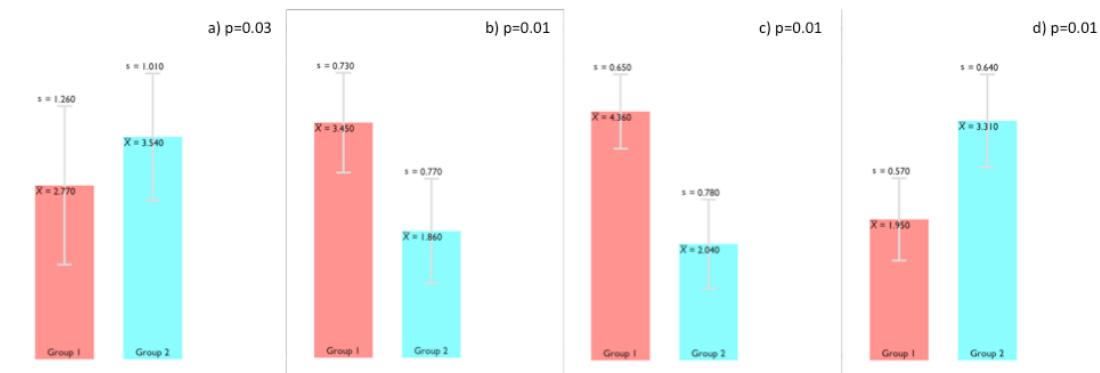
Recuento		cierre		Total
		si	no	
grupo	plastico	19	3	22
	fascia	17	5	22
Total		36	8	44



**Tabla 2. Se observa la tabla de contingencia empleada y su representación gráfica. No existe diferencia estadísticamente significativa en la tasa de éxito (definido como cierre de la perforación) entre ambos grupos.**

El contraste de medias realizado mediante U de Mann Whitney, demostro los siguientes resultados en el analisis histologico, de acuerdo a la escala de Ozisik:

Aquellos oídos con injerto tipo plástico presentaron mayor concentrado de células inflamatorias, mayor grosor, mayor disposición de fibras de colágena densas, y poca vascularidad.



**Gráfica 1. Grupo 1=barra roja; Grupo 2=barra azul. Diagrama “box plot”. Se observa en representación gráfica los resultados del análisis U de Mann Whitney. En la representación “a” se observa como el grupo 1 presenta mayor numero de células inflamatorias, en la representación “b” y “c” se observa como el grupo plástico presenta un mayor grosor y depositos de colageno densos respectivamente, en la representación “d” se observa como el injerto de fascia presento mayor vascularidad.**

## X. DISCUSIÓN

Una de las principales limitantes de este estudio es el diseño como estudio piloto en un modelo animal, sin embargo hemos demostrado reproducibilidad del modelo y la posible utilidad del bioplástico como injerto timpánico mediante una adecuada significancia estadística y biológica.

En la actualidad no existe un modelo animal de perforación timpánica crónica universal. De manera anecdótica, en la concepción de este trabajo se planeaba utilizar el conejo (*Oryctagulus cuniculus*) como modelo animal, sin embargo la anatomía asimétrica del oído medio y la tortuosidad del conducto auditivo externo lo hace un mal modelo. En una búsqueda sistemática realizada por Arch Tirado y cols (25) encontro 4 estudios publicados en los archivos de la Sociedad Mexicana de Otorrinolaringología, sin embargo estos estudios se basaron solo en el estudio del oído interno del cobayo. Asi mismo realizaron una

búsqueda sistemática en Medline entre 1968 y 1999 encontrando 15 artículos relacionados con el oído medio del cuyo incluyendo la membrana timpánica, la trompa de Eustaquio y la cadena osicular. En estos estudios describen abordajes extrameatales, sin embargo con el advenimiento del endoscopio, demostramos que es posible un abordaje endomeático a la membrana timpánica y a la cadena osicular del cobayo para realizar estudios en este modelo.

A pesar de existir múltiples estudios acerca del uso de bioplástico en diferentes ramas de la medicina, existe poca evidencia del posible uso de estos como injertos timpánicos. Los poliuretanos son buenos candidatos para sustituir a la membrana timpánica debido a su elasticidad y sus propiedades vibratorias demostradas *in vitro* (34). Varios estudios han demostrado resultados desalentadores con el uso de bioplásticos, sin embargo este estudio demuestra un adecuado cierre de la perforación timpánica.

La timpanoplastía tipo I es un procedimiento relativamente frecuente en nuestro medio, sin embargo, actualmente existen diferentes técnicas quirúrgicas con diferentes resultados reportados, por lo que no solo debemos poner atención en el tipo de cirugía, sino también en el tipo de injerto. Así mismo demostramos que el cobayo es un modelo animal barato, factible y fácilmente distribuido alrededor del mundo.

## **XI. CONCLUSIONES Y TRABAJO A FUTURO**

En este trabajo demostramos que el alfa,omega-telequelico poli(epsilon-caprolactona) diol y hexameten di-isocianato [PCLDEGHDI] es un bioplástico que puede tener uso como injerto timpánico, obtuvimos un porcentaje de cierre similar al estándar de oro (fascia) y no se

presentaron complicaciones al seguimiento a corto plazo; así mismo con el uso de este plástico, al no requerir un abordaje extra para obtenerlo como injerto y a su posible aplicación con el endoscopio, se podrían reducir costos hospitalarios al realizarse este procedimiento en consultorio bajo anestesia local.

Proponemos las siguientes líneas de investigación derivadas del presente estudio:

- Evaluar de manera objetiva la posible ototoxicidad mediante emisiones otoacústicas.
- Evaluar mediante seguimiento timpanométrico las propiedades biofísicas del injerto.
- Comparar este material con otros biomateriales biológicos (xenoinjertos).
- Aumentar el tamaño de muestra para poder realizar comparaciones estadísticas más exactas.
- Evaluar el comportamiento del injerto a largo plazo.
- Evaluar costo beneficio el posible uso de este material como injerto.

## **XII. ANEXOS**

Se anexan los documentos probatorios de aceptación de protocolo por parte del HCSAE de Petróleos Mexicanos y de la Universidad Panamericana.





Memorandum

Fecha México, D.F., a 16 de agosto de 2012

Remitente DIRECCIÓN CORPORATIVA DE ADMINISTRACIÓN  
SUBDIRECCIÓN DE SERVICIOS DE SALUD  
HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD  
DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

Número HCSAEA- 805-78550-03-2129/2012

Destinatario DR. ENRIQUE GIRÓN ARCHUNDIA  
Otorrinolaringología  
Presente.

Después de revisar el Proyecto de Investigación **19/12** titulado: “Uso de biomateriales como injerto para timpanoplastía tipo I”, informamos que fue:

**ACEPTADO**

Aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

**Atentamente,**

**M. en C. LOREDMY HERRERA KIENGELHER**  
Encargada del Área de Investigación.

c.c.p..Dr. Rafael A. Zárate García.- Profesor Titular- Tutor de Tesis

LHK/pak



UNIVERSIDAD  
PANAMERICANA

México D. F. a 21 de septiembre del 2012

Asunto: Dictamen  
Protocolo No. E1207

Dr. Enrique Girón Archundia  
PRESENTE

Con relación al protocolo No. E1207 turnado al Comité de Ética de Investigación de la Universidad Panamericana denominado:

**USO DE BIOMATERIALES COMO INJERTOS  
PARA TIMPANOPLASTÍA TIPO I**

Hago de su conocimiento que después de evaluarlo, el dictamen del Comité de Ética de la Investigación de la Escuela de Medicina de la Universidad Panamericana es de:

**ACEPTADO**

La vigencia de esta aprobación es de un año a partir de la emisión de este documento. Los responsables del estudio se comprometen a cumplir con todas las disposiciones éticas nacionales e internacionales, así como a presentar al Comité cualquier enmienda, cambio o irregularidad detectada durante la aplicación del protocolo, así como de dar aviso al Comité de la finalización del mismo.

ATENTAMENTE



Dr. Francisco Javier Marcó Bach  
Presidente del CEIUP

### **XIII. RECURSOS Y LOGISTICA**

El quirófano y bioterio fue prestado por la Universidad Panamericana, así como los sujetos de experimentación y los consumibles (aserrín, alimento adicionado con vitamina C, anestésicos, analgésicos y antibióticos, parafina, tinciones, formol), de acuerdo a la aprobación del protocolo E1207.

El instrumental utilizado pertenece al Dr. Enrique Giron Archundia.

### **XIV. MENCIÓN ESPECIAL**

Doy un agradecimiento al Dr. Gerardo Arrellín MVZ quien donó a los sujetos de experimentación y los mantuvo en condiciones óptimas durante el progreso de este estudio.

A la Dra. María Lilia Loredó quien realizó el análisis histológico.

A los estudiantes de medicina: Eduardo Sánchez y Cinthia Vargas quienes mostraron un gran interés en el desarrollo de este estudio.

Al personal administrativo de la Universidad Panamericana quienes contribuyeron con la realización de este estudio.

## XV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schmitt H. Importance of sound pressure and umbral protection in transformation of sound and hearing. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1957;49:71.
2. Møller, Aage R. *Hearing : anatomy, physiology, and disorders of the auditory system/A.R. Cap. 9 Pag 210. 2da edicion.*
3. Vermette P, Marois Y, Guidoin R et al. Biocompatibility of Polyurethanes. *Biomedical applications of polyurethanes. p. 77-96; 2001. Eureka*
4. L. Feenstra, F. E. Kohn, and J. Feijen, "The concept of an artificial tympanic membrane," *Clin. Otolaryngol.*, 9, 215-220 (1984).
5. Gibb AG, Chang SK. Myringoplasty. *J Laryngol Otol* 1982; 96:915-30.
6. Wever EG, Lawrence M. *Physiological Acoustics. Princeton: Princeton University Press, 1954.*
7. Lim DJ. Human tympanic membrane. An ultrastructural observation. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1970; 70:176.
8. Portmann G. Portmann M. The surgery of the deafness. *Arch otolaryngol* 1964;72: 230-6.
9. Berthold E. [About myringoplasty]. *Wien Med Blätter* 1878;26:627-39.
10. Wullstein HL. [Functional middle ear surgery with the aid of free graft]. *Arch Ohr- Nas- Kehlkopfheilk* 1952;161:422-35.
11. O'Connor, K.N., Puria, S., 2008. Middle-ear model parameters based on a population of human ears. *J. Acoust. Soc. Am.* 123(1), 197-211.

- 12.M. V. GRIFFITHS. Biomaterials in reconstructive head and neck surgery. *Clinical Otolaryngology & Allied Sciences*. Volume 4, Issue 5, pages 363–376, October 1979
13. West J.L., Jun H., Taite L.J. Peptide Modified Polyurethane Compositions and associated Methods. Patente US 2006/0067909. (2006)
14. Tesis postdoctoral. Dr. Adrian Perales, Dr. Antonio Martinez Richa. Universidad de Guanajuato.
- 15.Martínez, C. „Tecnologías para la salud“ Programa innovación orientada, FUMEC. México. 2008.
- 16.Kristensen S. Spontaneous Healing of traumatic tympanic membrane perforations in man: A century of experience. *The Journal of laryngology & Otology* 1992, 106,1037:1050
- 17.Ma YX, Zhao H, Zhou XN. Topical treatment with growth factors for tympanic membrane perforations: progress towards clinical application. *Acta Otolaryngol* 2002;122:586-99.
- 18.Chia-Yu Liu, Eric Chen-Hua Yu, An-Suey Shiao, Mao-Che Wang. Learning curve of tympanoplasty type I. *Auris Nasus Larynx*. Volume 36, Issue 1, February 2009, Pages 26–29.
- 19.Gladstone HB, Jackler RK, Varav K. Tympanic membrane wound healing. An overview. *Otolaryngol Clin North Am* 1995;28:913-32.
- 20.Kay DJ, Nelson M, Rosenfeld RM. Meta-analysis of tympanostomy tube sequelae. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;124:374Y80.
- 21.Comunicado personal. Dr. Antonio Martinez Richa. Profesor titular B. SNI II. Universidad de Guanajuato.

22. Gerard JM, Monnoye V, DEggouj N, Gersdorff M. A Classical Retro-Auricular Incision in Cochlear Implantation. *Mediterr J Otol* 2005;1:105-109.
23. Olmos Zuñiga R, Gonzalez Lopez R, Gaxiola M, Jasso R, Sotres Vega A, Soda Merhy A. Empaquetamiento del oído medio con esponja de colágena polivinil pirrolidona. Estudio experimental en cobayos. *Revista de investigación clínica*. 2009;61:497-504.
24. Lehana Thabane. A tutorial on pilot studies: the what, why and how. *BMC Medical Research Methodology* 2010, 10:1
25. Arch-Tirado E, Verduzco Mendoza A, Azuara Pliego E, Hernandez-Orozco F, Collado Corona MA. Utilidad del cobayo como modelo de estudios audiológicos y propuesta de accesos quirúrgicos al oído y cuello. *Cir Ciruj* 2005. 73:339-344.
26. Estados Unidos Mexicanos. AFIA. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO.1999. *Diario oficial de la Federación* 6 de dic. 1999.
27. NIH USA. Guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio. Edición mexicana auspiciada por la Academia Nacional de Medicina. México, D.F. 2002.
28. Truy E, Disant F, Morgon A. Chronic tympanic membrane perforation: an animal model. *Am J Otol* 1995; 16: 222–5.
29. Amoils CP, Jackler RK, Lustig LR. Repair of chronic tympanic membrane perforations using epidermal growth factor. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1992; 107: 669–83.
30. Yannas IV, Natural materials. In: Rather BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE, editor. *Biomaterial science*, San Diego: Academic Press, 1996. P. 84-94.
31. Nimni ME, Cheung D, Strates B, Kodama M, Shiekh K. Chemically modified collagen: a natural biomaterial for tissue replacement. *J Biomed Mater Res* 1987;21:741-71.

32. Reunión de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Panamericana celebrado en la Ciudad de Mexico el 26 de abril del 2013. 2do lugar en categoria poster.
33. Glasscock ME. Tympanic membrane grafting with fascia: overlay vs undersurface technique. *Laryngoscope* 1973;83:754-770
34. F. E. Kohn, Development of Biodegradable Polymers for Application in Myringoplasty. Thesis, Technological University of Twente, The Netherlands, 1984.