

11236

51



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO

SERVICIO DE OTORRINOLARINGOLOGIA

**“ VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL USO DE MATERIAL A BASE DE ACIDO
HIALURONICO EN LA CIRUGIA DE OIDO MEDIO EN ANIMALES DE
EXPERIMENTACION “**

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:

CIRUJANO OTORRINOLARINGOLOGO

PRESENTA:

DR. EDGAR ARTURO PERDOMO FLORES

JEFE DEL SERVICIO Y ASESOR PRINCIPAL
DR. GUILLERMO HERNANDEZ VALENCIA

ASESORES ASOCIADOS
M.V.Z. DR. EDUARDO TENA BETANCOURT
L.A.E. FERNANDO HUERTA VELAZQUEZ

COLABORADORES
M.V.Z. DR. RAFAEL PEREZ GONZALEZ
DR. ALAIN SANCHEZ VAZQUEZ DEL MERCADO
DRA. ROCIO RAMIREZ ACEVES



NOVIEMBRE 2002



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MÉXICO

HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO
SERVICIO DE OTORRINOLARINGOLOGIA



**“VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL USO DE MATERIAL A
BASE DE ACIDO HIALURONICO EN LA CIRUGÍA DE OIDO
MEDIO EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
CIRUJANO OTORRINOLARINGOLOGO

PRESENTA

DR. EDGAR ARTURO PERDOMO FLORES

JEFE DEL SERVICIO Y ASESOR PRINCIPAL
DR. GUILLERMO HERNÁNDEZ VALENCIA

ASESORES ASOCIADOS
M. V. Z. DR. EDUARDO TENA BETANCOURT
L.A.E. FERNANDO HUERTA V.

COLABORADORES
M. V. Z. DR. RAFAEL PEREZ GONZALEZ
DR. ALAIN SÁNCHEZ VAZQUEZ DEL MERCADO
DRA. ROCIO RAMÍREZ ACEVES

NOVIEMBRE/2001



EL COBAYO DE LABORATORIO
Cavia porcellus





HOJA DE APROBACIÓN



SECRETARIA DE SALUD
HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO
DIVISION DE ENSEÑANZA

DR. JORGE ALBERTO DEL CASTILLO MEDINA
JEFE DE LA DIVISION DE ENSEÑANZA

DR. GUILLERMO HERNÁNDEZ VALENCIA.
JEFE DEL SERVICIO DE OTORRINOLARINGOLOGÍA
ASESOR PRINCIPAL

M. V. Z. DR. EDUARDO TENA BETANCOURT
ASESOR



L. A. E. FERNANDO HUERTA VELAZQUEZ
ASESOR

SUBDIVISION DE ESPECIALIZACION
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
P. N. A. M.



4.

AGRADECIMIENTOS

Al Ser Supremo infinitas gracias por estar conmigo y darme a conocer que sin Ti no soy nadie.

A mi Mamá y Papá por darme la existencia, su apoyo incondicional y su eterno amor.

A Patty, Hugo y Virginia mis hermanos; por su cariño filial y su ejemplo de honestidad y lealtad.

a Frida y su planeta azul por su comprensión y estar conmigo en las buenas y las malas, siendo fuente de motivación e inspiración en mi vida.

A mi Familia por su comprensión absoluta.

A mi Maestro el Doctor Guillermo Hernández Valencia por su amistad, magisterio, presencia, docencia y ser modelo de excelencia.

A mis Profesores y Asesores por su paciencia, dándome soluciones a cada una de mis dudas con dedicación y sabiduría.

A mis Amigos y Compañeros por su compañía y ayuda en tantos diferentes momentos y que cuando los busque siempre los encontré.

A todos aquellos que de una u otra forma han colaborado en la realización de este ensayo experimental.

A Usted que me da la oportunidad de demostrarle que cuando se quiere hacer algo se puede; pues querer es poder; y que además se toma su tiempo para exponerle la investigación mas importante de mi vida.



DEDICADO A MI MADRE

Señor haced de mi un instrumento de vuestra paz
 que allí donde haya odio, ponga yo amor
 donde haya ofensa, ponga perdón
 donde haya discordia, ponga unión
 donde haya error, ponga verdad
 donde haya duda, ponga fé
 donde haya desesperación, ponga esperanza
 donde haya tinieblas, ponga vuestra luz
 donde haya tristeza, ponga yo alegría.
 Oh maestro!, que no me empeñe tanto
 en ser consolado, como en consolar
 en ser comprendido, como comprender
 en ser amado, como en amar
 pues dando, se recibe
 olvidando, se encuentra
 perdonando, se es perdonado
 muriendo, se resucita a la vida eterna.

DEDICADO A MI PADRE

El Señor es mi pastor, nada me falta,
 en verdes pastos El me hace reposar
 y a donde brota agua fresca me conduce,
 fortalece mi alma;
 me guía por el recto sendero
 por amor de su nombre.
 Aunque pase por quebradas oscuras
 no temo ningún mal
 porque tu estás conmigo;
 tu bastón y tu vara me confortan.
 Tú preparas ante mi una mesa
 frente a mis adversarios;
 con aceite perfumas mi cabeza
 y mi copa rebosa.
 Me acompañarán tu bondad y tu favor
 durante toda mi vida;
 mi mansión será la casa del Señor
 por largo, largo tiempo.



INDICE

INTRODUCCION.....	7
ACIDO HIALURONICO.....	8
□ GENERALIDADES.....	8
□ PROPIEDADES BIOLÓGICAS.....	8
□ MODIFICACIONES DEL ACIDO HIALURONICO.....	9
□ BIODEGRADACION.....	9
□ APLICACIONES DEL ACIDO HIALURONICO.....	10
• OFTÁLMICAS.....	10
• ARTICULACIONES GRANDES Y PEQUEÑAS.....	10
• CURACION DE HERIDAS Y CICATRIZACION.....	10
• PREVENCIÓN DE ADHESIONES.....	11
▪ ABDOMINO PELVIS.....	11
▪ TENDONES FLEXORES.....	11
▪ PERICARDIO.....	11
▪ OIDO MEDIO.....	12
□ ADMINISTRACION DE MEDICAMENTOS.....	12
□ BIOCMPATIBILIDAD.....	12
GELFOAM.....	12
DELIMITACION E IDENTIFICACION DEL PROBLEMA.....	13
OBJETIVO GENERAL.....	13
DISEÑO DEL ESTUDIO (ESTRUCTURA Y ESTRATEGIA).....	13
MATERIAL Y METODOS.....	13
DESCRIPCION DEL BIOTERIO Y CLINICA DE CIRUGIA EXPERIMENTAL.....	14
ANIMALES DE EXPERIMENTACION.....	16
□ EL COBAYO.....	16
□ NOMENCLATURA UTILIZADA PARA LOS COBAYOS.....	17
□ ANATOMIA DEL OIDO DEL COBAYO.....	18
□ IDENTIFICACION DE LOS ANIMALES.....	22
ANESTESIA.....	23
□ MEDICACION PREANESTESICA.....	23
□ ANESTESIA GENERAL.....	24
PREPARACION DE LOS ANIMALES PARA EL PROCEDIMIENTO.....	25
PROCEDIMIENTO.....	26
MATERIAL MICROTOLOGICO UTILIZADO.....	31
MEDICAMENTOS UTILIZADOS.....	33
USO DE ANTIBIOTICOS.....	33
VIAS DE APLICACIÓN FARMACOLOGICA Y TOMA DE MUESTRAS.....	33
ESPECIFICACIONES PARA LA APLICACIÓN DE MEDICAMENTOS.....	34
SACRIFICIO DE LOS ANIMALES.....	35
PAPEL DEL MEDICO VETERINARIO.....	36
DESCRIPCION DE LA PREPARACION PARA EL ESTUDIO HISTOPATOLOGICO.....	36
CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION.....	37
RESULTADOS.....	37
PRINCIPIOS ETICOS.....	40
DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	42
BIBLIOGRAFIA.....	43



7.

VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL USO DE MATERIAL A BASE DE ACIDO HIALURONICO EN LA CIRUGÍA DE OIDO MEDIO EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

DR. EDGAR ARTURO PERDOMO FLORES
RESIDENTE DE 4TO. AÑO. HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO.

ASESORES

- ¹ DR. GUILLERMO HERNÁNDEZ VALENCIA
- ² M. V. Z. DR. EDUARDO TENA BETANCOURT
- ³ L. A. E. FERNANDO HUERTA VELAZQUEZ

COLABORADORES

- ⁴ M. V. Z. DR. RAFAEL PEREZ GONZALEZ
- ⁵ DR. ALAIN SÁNCHEZ VAZQUEZ DEL MERCADO
- ⁶ DRA. ROCIO RAMÍREZ ACEVES

¹ JEFE DEL SERVICIO DE OTORRINOLARINGOLOGÍA. HJM. ASESOR PRINCIPAL.

² JEFE DE LA CLÍNICA DE CIRUGÍA EXPERIMENTAL Y BIOTERIO. CMN SIGLO XXI.

³ GERENTE GENERAL DE HUERTA MÉDICA MEXICANA.

⁴ MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNÓLOGO ADSCRITO A LA CLÍNICA DE CIRUGÍA EXPERIMENTAL Y BIOTERIO. CMN SIGLO XXI.

⁵ MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE OTORRINOLARINGOLOGÍA. HJM.

⁶ MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE PATOLOGÍA. HOSPITAL DE ESPECIALIDADES. CMN SIGLO XXI.

INTRODUCCIÓN

El uso de animales de laboratorio en las actividades de control de calidad de medicamentos y productos biológicos, constituye una de las etapas finales críticas en la tarea de producción de fármacos a nivel mundial. De hecho el desarrollo de un nuevo producto es un esfuerzo eminentemente científico, que esta basado en una sorprendente variedad de estudios de factibilidad y ensayos previos, así como de un tiempo considerable que se emplea desde que se concibe un nuevo agente terapéutico, hasta que es finalmente puesto en el mercado. Los beneficios de esta silenciosa labor, son observados prácticamente a diario en todos los hogares del mundo, pero especialmente en la elevación de los índices de la promesa de vida del hombre, que gracias a la investigación farmacéutica ha tenido un incremento espectacular en las ultimas cuatro décadas. En este contexto, los animales de laboratorio, su entorno e interrelación con el proceso productivo, han tomado una gran importancia como elemento de juicio crítico para la liberación final de un fármaco, evitando con ello un peligro potencial de salud pública. De ahí la imperiosa necesidad de producir y mantener animales de laboratorio de alta calidad, genética y ambientalmente definidos, mismos que resultan esenciales para el desarrollo óptimo y en particular reproducible, de las diversas pruebas biológicas y bioensayos a que son sometidos, para el aseguramiento de calidad y liberación de un determinado producto.

La mayoría de los procedimientos quirúrgicos están acompañados de daño tisular no deseado causado por el corte, la desecación, la pérdida de suministro sanguíneo adecuado y la abrasión por manipulación. La respuesta natural de curación de la herida producida por el cuerpo en el intento de proporcionar suministro sanguíneo a las zonas de tejido traumatizadas puede provocar la formación indeseable de puentes de tejido conectivo colagenoso en las superficies de los órganos o tejidos dañados. Razón por la cual es



8.

necesaria la intervención y aplicación de métodos preventivos para disminuir la formación de estructuras indeseables que limitan los resultados óptimos.^{1,3,5,6,7,11.}

Por mucho tiempo ha sido reconocido que la reconstrucción de la cadena osicular y la reparación de perforaciones de la membrana timpánica requiere de mecanismos de soporte dentro de la cavidad de oído medio. Zollner y Wullstein fueron los pioneros quienes inicialmente realizaron ensayos en la reconstrucción de oídos crónicamente infectados.^{20, 21.}

Diferentes materiales han sido utilizados en la reconstrucción del espacio del oído medio en un esfuerzo para prevenir los resultados adversos como las adherencias del injerto al promontorio y las adherencias fibrosas dentro del oído medio. Dentro de esos materiales se han utilizados una gran variedad de sustancias como el algodón, sangre liofilizada, espuma de gelatina y otros materiales sintéticos y semisintéticos. Reconociendo el potencial alcanzado por estas sustancias para este fin se debe tener en cuenta la efectividad de unos así como el fracaso de otros. Otro factor importante durante la reconstrucción del espacio del oído medio es la preservación de la mucosa de esta cavidad. Debido a que la mucosa denudada se ha descrito como contribuyente en incrementar los efectos adversos, la preservación de esta mucosa y su protección deben tenerse en cuenta y para ello se debe tratar de defender y proteger con materiales que disminuyen la incidencia del tejido fibroso. Materiales utilizados y que comparten en diferentes proporciones esta capacidad se encuentran: el silicon elastomerizado (Silastic, Duralastic, Silvardale, WA), polytef (Teflon, Ethicon, Cincinnati, OH), y las películas de gelatina (Gelfilm, Upjohn, Kalamazoo, MI). Esos materiales se han utilizado pensando en la función que poseen como barrera a la migración de fibroblastos dentro de las estructuras de soporte y como preventivos de las complicaciones en la formación de bandas cicatriciales y adherencias fibrosas, con el consecuente potencial de alterar los resultados en la audición.

ACIDO HIALURONICO

GENERALIDADES

El ácido hialurónico o hialuronano (AH) es un polisacárido lineal que se produce de forma natural. Es un constituyente común de los tejidos, biocompatible y biodegradable. El gel viscoso es una de las moléculas mas hidrofílicas de la naturaleza y se puede describir como un "humectante natural".

Ha sido estudiado durante los últimos veinte años, sobre todo en los procesos relacionados con la curación de heridas. Los estudios de curación de heridas en fetos y de heridas sin cicatrices mostraron que el AH juega un papel importante en el proceso. Como consecuencia, se han desarrollado polímeros de AH modificado para utilizarse en una serie de productos médicos que se consiguen por la mejora de las propiedades del material. Se han establecido importantes afirmaciones en productos que utilizan el AH, tales como la reducción de la incidencia, extensión y gravedad de las adhesiones postoperatorias en la cavidad abdomino-pélvica y en otros productos para aliviar el dolor y mejorar la movilidad de la articulación y amplitud de movimiento en pacientes con osteoartritis. A través de estudios clínicos se están desarrollando aplicaciones adicionales utilizando AH modificado y sus beneficios.

PROPIEDADES BIOLÓGICAS

El AH está presente en todos los tejidos blandos de los organismos superiores, y particularmente en gran concentración en el líquido sinovial y en el humor vítreo del ojo. Juega un papel vital en muchos procesos biológicos como la hidratación tisular, la



8.

necesaria la intervención y aplicación de métodos preventivos para disminuir la formación de estructuras indeseables que limitan los resultados óptimos.^{1,3,5,6,7,11.}

Por mucho tiempo ha sido reconocido que la reconstrucción de la cadena osicular y la reparación de perforaciones de la membrana timpánica requiere de mecanismos de soporte dentro de la cavidad de oído medio. Zollner y Wullstein fueron los pioneros quienes inicialmente realizaron ensayos en la reconstrucción de oídos crónicamente infectados.^{20, 21.}

Diferentes materiales han sido utilizados en la reconstrucción del espacio del oído medio en un esfuerzo para prevenir los resultados adversos como las adherencias del injerto al promontorio y las adherencias fibrosas dentro del oído medio. Dentro de esos materiales se han utilizados una gran variedad de sustancias como el algodón, sangre liofilizada, espuma de gelatina y otros materiales sintéticos y semisintéticos. Reconociendo el potencial alcanzado por estas sustancias para este fin se debe tener en cuenta la efectividad de unos así como el fracaso de otros. Otro factor importante durante la reconstrucción del espacio del oído medio es la preservación de la mucosa de esta cavidad. Debido a que la mucosa denudada se ha descrito como contribuyente en incrementar los efectos adversos, la preservación de esta mucosa y su protección deben tenerse en cuenta y para ello se debe tratar de defender y proteger con materiales que disminuyen la incidencia del tejido fibroso. Materiales utilizados y que comparten en diferentes proporciones esta capacidad se encuentran: el silicon elastomerizado (Silastic, Duralastic, Silvardale, WA), polytef (Teflon, Ethicon, Cincinnati, OH), y las películas de gelatina (Gelfilm, Upjohn, Kalamazoo, MI). Esos materiales se han utilizado pensando en la función que poseen como barrera a la migración de fibroblastos dentro de las estructuras de soporte y como preventivos de las complicaciones en la formación de bandas cicatriciales y adherencias fibrosas, con el consecuente potencial de alterar los resultados en la audición.

ACIDO HIALURONICO

GENERALIDADES

El ácido hialurónico o hialuronano (AH) es un polisacárido lineal que se produce de forma natural. Es un constituyente común de los tejidos, biocompatible y biodegradable. El gel viscoso es una de las moléculas mas hidrofílicas de la naturaleza y se puede describir como un "humectante natural".

Ha sido estudiado durante los últimos veinte años, sobre todo en los procesos relacionados con la curación de heridas. Los estudios de curación de heridas en fetos y de heridas sin cicatrices mostraron que el AH juega un papel importante en el proceso. Como consecuencia, se han desarrollado polímeros de AH modificado para utilizarse en una serie de productos médicos que se consiguen por la mejora de las propiedades del material. Se han establecido importantes afirmaciones en productos que utilizan el AH, tales como la reducción de la incidencia, extensión y gravedad de las adhesiones postoperatorias en la cavidad abdomino-pélvica y en otros productos para aliviar el dolor y mejorar la movilidad de la articulación y amplitud de movimiento en pacientes con osteoartritis. A través de estudios clínicos se están desarrollando aplicaciones adicionales utilizando AH modificado y sus beneficios.

PROPIEDADES BIOLÓGICAS

El AH está presente en todos los tejidos blandos de los organismos superiores, y particularmente en gran concentración en el líquido sinovial y en el humor vítreo del ojo. Juega un papel vital en muchos procesos biológicos como la hidratación tisular, la



organización del proteoglicano, la diferenciación celular, la angiogénesis y actos como el recubrimiento protector alrededor de la membrana celular.

Se sospecha que juega un papel importante en la movilidad celular y en las interacciones entre ellas.

El AH se une a las células a través de tres clases principales de receptores de superficie celulares, siendo el principal receptor el CD44, que es el que mas distribuido en el cuerpo. Si se une a las células o a los componentes de la matriz extracelular, su naturaleza hidrofílica crea un ambiente propicio para la migración de células a nuevas zonas tisulares, mientras que sus radicales libres y las propiedades de exclusión de proteínas ofrecen protección a las células y a las moléculas de la matriz extracelular contra los radicales libres y el daño proteolítico.

El AH es el glicosaminoglicano (gag) principal y está compuesto de unidades de disacárido repetidos de ácido glucurónico y n-acetil glucosamina unidos por enlaces glucosídicos β 1-3 y β 1-4, (FIGURA 1).

Comercialmente se obtiene de la fermentación de determinadas cepas de *Streptococo* o extraído de las crestas de gallo.

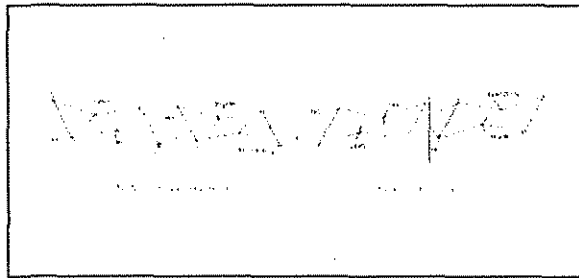


FIGURA 1. *Composición Química del Acido Hialurónico.*

MODIFICACIONES DEL HIALURONICO

Debido a que el AH es un gel viscoso muy hidratable, su uso como producto médico está limitado. El tiempo de permanencia del gel natural es demasiado corto para muchas aplicaciones. Se han realizado importantes esfuerzos para modificar el material, tales como ser procesado en variedades de formas utilizables en el mercado médico. Por ejemplo los polímeros son AH modificados obtenidos por esterificación del grupo carboxilo de partes del ácido glucurónico con alcoholes aromáticos o lineales.

Las propiedades del producto como la medida de degradación, la hidrofobicidad, la forma del producto acabado y otros se pueden adaptar variando la cantidad de esterificación y otros factores del proceso. Esto proporciona un método para dar al material forma de fibras, láminas, mallas, microesferas o materiales como esponjas.

BIODEGRADACION

La degradación media del AH modificado, esta influida por una serie de factores como las propiedades del material, la presentación física del producto y el lugar de implantación. El tiempo de permanencia *in vivo* puede variar desde varios días hasta meses. El proceso de degradación puede variar entre los diferentes productos hialurónicos modificados. Los estudios muestran que la degradación de estos AH modificados se produce a través de la hidrólisis de uniones éster, liberando alcohol libre, seguido de la solubilización del material, que posteriormente sufre la disociación completa hasta las dos especies moleculares que

luego son metabolizadas en el cuerpo por vías de degradación metabólica normal. FIGURA 2.

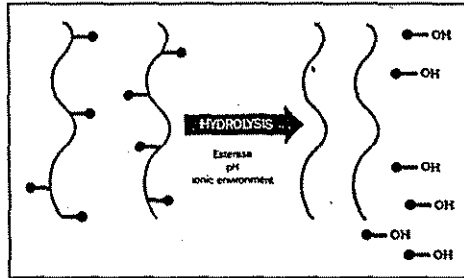


FIGURA 2. *Proceso de biodegradación del Acido Hialurónico.*

APLICACIONES DEL ACIDO HIALURONICO

En los últimos años se ha mostrado gran interés en materiales solubles que son altamente biocompatibles y que pueden tener un efecto terapéutico en el cuerpo. La capacidad para modificar el AH asociado con sus cualidades biológicas, le ha hecho protagonista de muchos estudios y, como consecuencia, se han introducido en el mercado varios productos basados en el AH. Dentro de las aplicaciones de este material podemos mencionar:

Oftálmicas

El AH fue comercializado por primera vez a principios del año 1980 como Healon (Upjohn-Pharmacia) en el campo de la oftalmología como un gel viscoso inyectable en la cámara anterior para proteger los tejidos del ojo como el endotelio corneal. Actualmente se comercializan otros productos con AH con gran competencia de firmas en el mercado de la oftalmología.

Articulaciones pequeñas y grandes

La administración intra-articular de AH se ha utilizado en animales y personas con eficacia clínica probada. En personas, el AH se está utilizando para aliviar el dolor y mejorar la movilidad de la articulación en el tratamiento de la osteoartritis mediante la inyección intra-articular de Hyalgan y Synvisc. También se ha propuesto para diversas enfermedades articulares degenerativas como alternativa a la terapia tradicional con esteroides.

Curación de heridas y cicatrización

Los estudios han demostrado que el AH puede ser un componente crucial para la reconstrucción tisular después de una lesión. Se ha propuesto que el AH realiza funciones estructurales y de regulación durante la curación de heridas mediante la estimulación o inducción de la movilidad celular, activando y regulando muchas funciones de las células inflamatorias de la sangre y de las células residentes en el tejido conectivo.

Se ha documentado bien el importante papel jugado por el AH en la determinación de la falta de cicatrices en la curación de las heridas fetales. La curación de heridas en adultos difiere del tejido fetal en una serie de parámetros clínicamente relevantes. La curación de heridas en adultos es un proceso reparador, acompañado por la formación de una cicatriz. En contraste, la curación de heridas dérmicas en fetos de gestación temprana es regenerativa por naturaleza con la formación de tejido nuevo resultante, libre de cicatrices. La curación de heridas fetales se caracteriza en los estadios iniciales de la gestación por una presencia



elevada y persistente de AH en el lugar de la herida comparado con el tejido de granulación del adulto.

Esta matriz, rica en AH, favorece la movilidad y la proliferación celular, y puede proporcionar una ambiente tolerante para la deposición ordenada de fibras de colágeno.

Estudios modelo de heridas demostraron que la aplicación de AH tiene un efecto significativo en la dermis de nueva formación, y que el AH reduce el grosor de la fibra de colágeno evitando el acúmulo de haces de colágeno en la forma típica de cicatrización y aumentando la resistencia a la tracción de la herida.

En el cultivo de un miembro de ratón se demostró que la aplicación repetida de AH en la zona de la herida induce la curación sin cicatriz incluso después del día 18 de gestación, tiempo clave en el cual la reparación de la herida cutánea normalmente procede de la forma habitual que la del adulto.

Los estudios han demostrado que la presencia de AH mejora significativamente el proceso de curación de la herida en adultos.

Se ha mostrado que las heridas se curan mas rápido y que la calidad de la reparación del tejido es superior con menos cicatrización fibrosa. En un estudio controlado por King, et al, el AH aumentaba significativamente la media de curación en un modelo hamster. Aprovechando las ventajas de las excelentes propiedades de curación del material se están desarrollando muchos productos.

Para pacientes con úlceras crónicas y sangrantes, se están comercializando en Europa, y están en proceso de utilización en Estados Unidos.

El potencial se mantiene para los Ácidos Hialurónicos en otras aplicaciones de la curación de heridas tales como taponamientos tópicos después de cirugías estéticas y estiramientos de la piel.

Se continúan los estudios para determinar los beneficios del material en el mercado de la cirugía de senos, para ayudar en la curación de heridas de superficies mucosas después de procedimientos nasales o de senos. Esta aplicación puede ser ideal debido a la proximidad de las superficies tisulares y el daño aplicado durante los procedimientos quirúrgicos ó eventos traumáticos.

PREVENCIÓN DE ADHESIONES

Se han realizado y publicado muchos estudios sobre los atributos del AH y su capacidad para reducir las adhesiones.

El AH esta siendo comercializado y estudiado en las siguientes áreas quirúrgicas por su capacidad para prevenir adhesiones postoperatorias y mejorar el resultado quirúrgico:

Abdominopelvis

Los hialurónicos se están utilizando para reducir la incidencia, la extensión y gravedad de las adherencias post-operatorias en la cavidad abdominopélvica.

Varios productos basados en el AH están en ensayo clínico en USA; mientras que el Seprafilm encabeza el mercado con mas repeticiones del producto en estudios.

Tendones flexores

Hay estudios en curso para demostrar la eficacia del material en el tratamiento de adhesiones postoperatorias en los tendones.

Pericardio

Los estudios han mostrado que los hialurónicos pueden reducir la incidencia de adhesiones pericardiales postoperatorias.



Oído Medio

La capacidad natural de curación de heridas de los hialurónicos puede ser ideal para la reparación de tejidos del oído medio después de intervenciones. En un estudio controlado en humanos, se utilizó un polímero del AH modificado en forma de membrana con microperforaciones, mejoró la curación de la cavidad de mastoides después de una timpanoplastia en una otitis media colesteatomatosa crónica. La re-epitelización fue significativamente más rápida comparada con el oído control. Un estudio en membranas timpánicas de ratas mostraron que el AH redujo el tiempo de cierre con menos cicatrices en la membrana timpánica. En un estudio sobre las membranas timpánicas rotas por traumatismo en humanos, el AH demostró esperanzas mejorando el potencial de curación de la membrana timpánica oponiéndose a las infecciones del oído medio. En otro estudio del AH en el oído medio, el AH redujo la formación de tejido conectivo cuando se aplicó a una esponja de gelatina absorbible comparado con una esponja de gelatina absorbible sin nada.

ADMINISTRACIÓN DE MEDICAMENTOS

El AH es una molécula ideal para utilizar como transportador de medicamentos, particularmente para la administración local. El polisacárido es inmunológicamente inerte y que se encuentra como componente de todos los tejidos y líquidos. Se puede metabolizar en los lisosomas de determinadas células, y la columna vertebral de la molécula proporciona diferentes grupos químicos que se unen a los medicamentos. Continúan las investigaciones para sistemas de administración de medicamentos por vía intravenosa y tópica utilizando hialurónicos modificados.

BIOCOMPATIBILIDAD

El AH por sí mismo es "bioseguro" ya que es un constituyente natural del cuerpo. El AH modificado ha sido estudiado ampliamente por compañías que realizan estudios de mercado o de seguimiento de ensayos clínicos con un producto en particular. En general, los hialurónicos modificados se han mostrado como seguros por estar demostrado en numerosas aplicaciones sensitivas biológicamente como el ojo, zonas abdominopelvicas y articulares y otras. Estudios independientes lubricantes de electrodos de implantes cocleares, demostraron que el material es no tóxico cuando se evaluó en oídos internos de cobayos.

GELFOAM

Es una esponja porosa desnaturalizada compuesta de una proteína no específica libre de antigenicidad. Este es un material insoluble que es absorbido y degradado por las enzimas proteolíticas²². El Gelfoam fue inicialmente desarrollado en 1949 como un agente hemostático y desde entonces se le han descrito y utilizado para otros fines en medicina. Uno de esos fines ha sido proveer soporte en el oído medio para la membrana timpánica y la reconstrucción osicular. Existen homólogos del Gelfoam como el Gelfilm, el cual se encuentra disponible desde 1950. Este es un material no-poroso similar al celofán que toma una consistencia y características gomosas cuando se humidifica. Este es aproximadamente 0.075mm. de ancho y se encuentra en láminas que pueden ser cortadas en cualquier tamaño y forma²².

Se han tenido muchos elementos de juicio y preocupación en el rol que juega el gelfoam en el desarrollo de fibrosis en el oído medio. Muchos estudios se han realizado y publicado demostrando la conducta y la responsabilidad del Gelfoam en las reacciones postoperatorias en el oído medio^{23,28}. Doyle-Kelly demostraron que cuando el espacio del oído medio de los conejos tenían una mucosa intacta y era abierta y empaquetada con Gelfoam, no se



Oído Medio

La capacidad natural de curación de heridas de los hialurónicos puede ser ideal para la reparación de tejidos del oído medio después de intervenciones. En un estudio controlado en humanos, se utilizó un polímero del AH modificado en forma de membrana con microperforaciones, mejoró la curación de la cavidad de mastoides después de una timpanoplastia en una otitis media colesteatomatosa crónica. La re-epitelización fue significativamente más rápida comparada con el oído control. Un estudio en membranas timpánicas de ratas mostraron que el AH redujo el tiempo de cierre con menos cicatrices en la membrana timpánica. En un estudio sobre las membranas timpánicas rotas por traumatismo en humanos, el AH demostró esperanzas mejorando el potencial de curación de la membrana timpánica oponiéndose a las infecciones del oído medio. En otro estudio del AH en el oído medio, el AH redujo la formación de tejido conectivo cuando se aplicó a una esponja de gelatina absorbible comparado con una esponja de gelatina absorbible sin nada.

ADMINISTRACIÓN DE MEDICAMENTOS

El AH es una molécula ideal para utilizar como transportador de medicamentos, particularmente para la administración local. El polisacárido es inmunológicamente inerte y que se encuentra como componente de todos los tejidos y líquidos. Se puede metabolizar en los lisosomas de determinadas células, y la columna vertebral de la molécula proporciona diferentes grupos químicos que se unen a los medicamentos. Continúan las investigaciones para sistemas de administración de medicamentos por vía intravenosa y tópica utilizando hialurónicos modificados.

BIOCOMPATIBILIDAD

El AH por sí mismo es "bioseguro" ya que es un constituyente natural del cuerpo. El AH modificado ha sido estudiado ampliamente por compañías que realizan estudios de mercado o de seguimiento de ensayos clínicos con un producto en particular. En general, los hialurónicos modificados se han mostrado como seguros por estar demostrado en numerosas aplicaciones sensitivas biológicamente como el ojo, zonas abdominopelvicas y articulares y otras. Estudios independientes lubricantes de electrodos de implantes cocleares, demostraron que el material es no tóxico cuando se evaluó en oídos internos de cobayos.

GELFOAM

Es una esponja porosa desnaturalizada compuesta de una proteína no específica libre de antigenicidad. Este es un material insoluble que es absorbido y degradado por las enzimas proteolíticas²². El Gelfoam fue inicialmente desarrollado en 1949 como un agente hemostático y desde entonces se le han descrito y utilizado para otros fines en medicina. Uno de esos fines ha sido proveer soporte en el oído medio para la membrana timpánica y la reconstrucción osicular. Existen homólogos del Gelfoam como el Gelfilm, el cual se encuentra disponible desde 1950. Este es un material no-poroso similar al celofán que toma una consistencia y características gomosas cuando se humidifica. Este es aproximadamente 0.075mm. de ancho y se encuentra en láminas que pueden ser cortadas en cualquier tamaño y forma²².

Se han tenido muchos elementos de juicio y preocupación en el rol que juega el gelfoam en el desarrollo de fibrosis en el oído medio. Muchos estudios se han realizado y publicado demostrando la conducta y la responsabilidad del Gelfoam en las reacciones postoperatorias en el oído medio^{23,28}. Doyle-Kelly demostraron que cuando el espacio del oído medio de los conejos tenían una mucosa intacta y era abierta y empaquetada con Gelfoam, no se



13.

presentaba fibrosis postoperatoria.²⁶ Hellstrom utilizó Gelfoam en el oído medio de ratas después de que la mucosa de estos era denudada.

Su estudio demostró que ocurre una reacción tisular significativa dentro del oído medio que lleva a una formación extensa de fibrosis y de tejido conectivo.²³

Usando un modelo en perros, Joseph demostró que el Gelfoam empaquetado en oídos medios que previamente se habían denudados a nivel de sus promontorios, presentaban un significativo grado de fibrosis.

Histologicamente él demostró que la fibrosis y el tejido cicatricial ocurrió entre la membrana timpánica y el promontorio del oído medio²⁵.

DELIMITACION E IDENTIFICACION DEL PROBLEMA

El problema por investigar es:

La eficacia de las microláminas hechas a base de Acido Hialurónico en la disminución de las adherencias y fibrosis tisulares postoperatorias en animales de experimentación describiendo sus ventajas y desventajas para tal fin.

OBJETIVO GENERAL

Demostrar que con la utilización de miniláminas a base de Acido Hialurónico en oídos medios de animales de experimentación intervenidos quirúrgicamente disminuyen y/o eliminan las adherencias y fibrosis que se podrían formar; y por lo tanto obtener mejores resultados posquirúrgicos.

DISEÑO DEL ESTUDIO (ESTRUCTURA Y ESTRATEGIA)

Es un estudio longitudinal, prospectivo, experimental, biomédico, clínico, original y replicativo.

MATERIAL Y METODOS

Acciones ejecutadas

Se utilizaron veinte y cinco cobayos de la especie Dunkey-Hartley hembras, realizándose timpanotomías exploradoras con la colocación transoperatoria de dos diferentes materiales en el oído medio, dejándolo por el término de 1 mes y realizando una nueva intervención en cada animal para evaluar los cambios posquirúrgicos al excoriarseles el promontorio derecho como parte de la lesión quirúrgica y examinando la formación o no de fibrosis en la cavidad de oído medio y otras alteraciones así como exponer las ventajas encontradas así como sus desventajas con cada uno de los materiales utilizados.

El protocolo de estudios fuè evaluado y autorizado por la División de Enseñanza è Investigación del Hospital Juárez de México así como por el Servicio de Clínica Experimental y Bioterio del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Las muestras de oído medio ya intervenidas fueron evaluadas al término del plazo estipulado por un histopatòlogo quien analizó los tejidos de los oídos intervenidos por medio de técnicas de fijación, descalcificación y tinción especializadas describiendo lo observado y comparando el efecto de las sustancias colocadas. Los animales fueron divididos en 2 grupos; Grupo A (13 animales) a los que se les rellenò con Gelfoam® solo (Pharmacia and Upjohn y Grupo B (12 animales) se les rellenò con Acido Hialurónico solo, tomando el oído izquierdo de 6 animales del mismo total de 25 en forma aleatoria como control histológico con fines comparativos.

Dichas intervenciones se realizaron en el Bioterio y Clínica de Cirugía experimental del Centro Médico Nacional Siglo XXI perteneciente al Instituto Mexicano del Seguro Social y en donde se les proporcionaron a los animales intervenidos cuidados tanto pre, trans y postoperatorios hasta la finalización del estudio.



presentaba fibrosis postoperatoria.²⁶ Hellstrom utilizó Gelfoam en el oído medio de ratas después de que la mucosa de estos era denudada.

Su estudio demostró que ocurre una reacción tisular significativa dentro del oído medio que lleva a una formación extensa de fibrosis y de tejido conectivo.²³

Usando un modelo en perros, Joseph demostró que el Gelfoam empaquetado en oídos medios que previamente se habían denudados a nivel de sus promontorios, presentaban un significativo grado de fibrosis.

Histologicamente él demostró que la fibrosis y el tejido cicatricial ocurrió entre la membrana timpánica y el promontorio del oído medio²⁵.

DELIMITACION E IDENTIFICACION DEL PROBLEMA

El problema por investigar es:

La eficacia de las microláminas hechas a base de Acido Hialurónico en la disminución de las adherencias y fibrosis tisulares postoperatorias en animales de experimentación describiendo sus ventajas y desventajas para tal fin.

OBJETIVO GENERAL

Demostrar que con la utilización de miniláminas a base de Acido Hialurónico en oídos medios de animales de experimentación intervenidos quirúrgicamente disminuyen y/o eliminan las adherencias y fibrosis que se podrían formar; y por lo tanto obtener mejores resultados posquirúrgicos.

DISEÑO DEL ESTUDIO (ESTRUCTURA Y ESTRATEGIA)

Es un estudio longitudinal, prospectivo, experimental, biomédico, clínico, original y replicativo.

MATERIAL Y METODOS

Acciones ejecutadas

Se utilizaron veinte y cinco cobayos de la especie Dunkey-Hartley hembras, realizándose timpanotomías exploradoras con la colocación transoperatoria de dos diferentes materiales en el oído medio, dejándolo por el término de 1 mes y realizando una nueva intervención en cada animal para evaluar los cambios posquirúrgicos al excoriarseles el promontorio derecho como parte de la lesión quirúrgica y examinando la formación o no de fibrosis en la cavidad de oído medio y otras alteraciones así como exponer las ventajas encontradas así como sus desventajas con cada uno de los materiales utilizados.

El protocolo de estudios fuè evaluado y autorizado por la División de Enseñanza è Investigación del Hospital Juárez de México así como por el Servicio de Clínica Experimental y Bioterio del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Las muestras de oído medio ya intervenidas fueron evaluadas al término del plazo estipulado por un histopatòlogo quien analizó los tejidos de los oídos intervenidos por medio de técnicas de fijación, descalcificación y tinción especializadas describiendo lo observado y comparando el efecto de las sustancias colocadas. Los animales fueron divididos en 2 grupos; Grupo A (13 animales) a los que se les rellenò con Gelfoam® solo (Pharmacia and Upjohn y Grupo B (12 animales) se les rellenò con Acido Hialurónico solo, tomando el oído izquierdo de 6 animales del mismo total de 25 en forma aleatoria como control histológico con fines comparativos.

Dichas intervenciones se realizaron en el Bioterio y Clínica de Cirugía experimental del Centro Médico Nacional Siglo XXI perteneciente al Instituto Mexicano del Seguro Social y en donde se les proporcionaron a los animales intervenidos cuidados tanto pre, trans y postoperatorios hasta la finalización del estudio.



13.

presentaba fibrosis postoperatoria.²⁶ Hellstrom utilizó Gelfoam en el oído medio de ratas después de que la mucosa de estos era denudada.

Su estudio demostró que ocurre una reacción tisular significativa dentro del oído medio que lleva a una formación extensa de fibrosis y de tejido conectivo.²³

Usando un modelo en perros, Joseph demostró que el Gelfoam empaquetado en oídos medios que previamente se habían denudados a nivel de sus promontorios, presentaban un significativo grado de fibrosis.

Histologicamente él demostró que la fibrosis y el tejido cicatricial ocurrió entre la membrana timpánica y el promontorio del oído medio²⁵.

DELIMITACION E IDENTIFICACION DEL PROBLEMA

El problema por investigar es:

La eficacia de las microláminas hechas a base de Acido Hialurónico en la disminución de las adherencias y fibrosis tisulares postoperatorias en animales de experimentación describiendo sus ventajas y desventajas para tal fin.

OBJETIVO GENERAL

Demostrar que con la utilización de miniláminas a base de Acido Hialurónico en oídos medios de animales de experimentación intervenidos quirúrgicamente disminuyen y/o eliminan las adherencias y fibrosis que se podrían formar; y por lo tanto obtener mejores resultados posquirúrgicos.

DISEÑO DEL ESTUDIO (ESTRUCTURA Y ESTRATEGIA)

Es un estudio longitudinal, prospectivo, experimental, biomédico, clínico, original y replicativo.

MATERIAL Y METODOS

Acciones ejecutadas

Se utilizaron veinte y cinco cobayos de la especie Dunkey-Hartley hembras, realizándose timpanotomías exploradoras con la colocación transoperatoria de dos diferentes materiales en el oído medio, dejándolo por el término de 1 mes y realizando una nueva intervención en cada animal para evaluar los cambios posquirúrgicos al excoriarseles el promontorio derecho como parte de la lesión quirúrgica y examinando la formación o no de fibrosis en la cavidad de oído medio y otras alteraciones así como exponer las ventajas encontradas así como sus desventajas con cada uno de los materiales utilizados.

El protocolo de estudios fuè evaluado y autorizado por la División de Enseñanza è Investigación del Hospital Juárez de México así como por el Servicio de Clínica Experimental y Bioterio del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Las muestras de oído medio ya intervenidas fueron evaluadas al término del plazo estipulado por un histopatòlogo quien analizó los tejidos de los oídos intervenidos por medio de técnicas de fijación, descalcificación y tinción especializadas describiendo lo observado y comparando el efecto de las sustancias colocadas. Los animales fueron divididos en 2 grupos; Grupo A (13 animales) a los que se les rellenò con Gelfoam® solo (Pharmacia and Upjohn y Grupo B (12 animales) se les rellenò con Acido Hialurónico solo, tomando el oído izquierdo de 6 animales del mismo total de 25 en forma aleatoria como control histológico con fines comparativos.

Dichas intervenciones se realizaron en el Bioterio y Clínica de Cirugía experimental del Centro Médico Nacional Siglo XXI perteneciente al Instituto Mexicano del Seguro Social y en donde se les proporcionaron a los animales intervenidos cuidados tanto pre, trans y postoperatorios hasta la finalización del estudio.



13.

presentaba fibrosis postoperatoria.²⁶ Hellstrom utilizó Gelfoam en el oído medio de ratas después de que la mucosa de estos era denudada.

Su estudio demostró que ocurre una reacción tisular significativa dentro del oído medio que lleva a una formación extensa de fibrosis y de tejido conectivo.²³

Usando un modelo en perros, Joseph demostró que el Gelfoam empaquetado en oídos medios que previamente se habían denudados a nivel de sus promontorios, presentaban un significativo grado de fibrosis.

Histologicamente él demostró que la fibrosis y el tejido cicatricial ocurrió entre la membrana timpánica y el promontorio del oído medio²⁵.

DELIMITACION E IDENTIFICACION DEL PROBLEMA

El problema por investigar es:

La eficacia de las microláminas hechas a base de Acido Hialurónico en la disminución de las adherencias y fibrosis tisulares postoperatorias en animales de experimentación describiendo sus ventajas y desventajas para tal fin.

OBJETIVO GENERAL

Demostrar que con la utilización de miniláminas a base de Acido Hialurónico en oídos medios de animales de experimentación intervenidos quirúrgicamente disminuyen y/o eliminan las adherencias y fibrosis que se podrían formar; y por lo tanto obtener mejores resultados posquirúrgicos.

DISEÑO DEL ESTUDIO (ESTRUCTURA Y ESTRATEGIA)

Es un estudio longitudinal, prospectivo, experimental, biomédico, clínico, original y replicativo.

MATERIAL Y METODOS

Acciones ejecutadas

Se utilizaron veinte y cinco cobayos de la especie Dunkey-Hartley hembras, realizándose timpanotomías exploradoras con la colocación transoperatoria de dos diferentes materiales en el oído medio, dejándolo por el término de 1 mes y realizando una nueva intervención en cada animal para evaluar los cambios posquirúrgicos al excoriarseles el promontorio derecho como parte de la lesión quirúrgica y examinando la formación o no de fibrosis en la cavidad de oído medio y otras alteraciones así como exponer las ventajas encontradas así como sus desventajas con cada uno de los materiales utilizados.

El protocolo de estudios fuè evaluado y autorizado por la División de Enseñanza è Investigación del Hospital Juárez de México así como por el Servicio de Clínica Experimental y Bioterio del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Las muestras de oído medio ya intervenidas fueron evaluadas al término del plazo estipulado por un histopatòlogo quien analizó los tejidos de los oídos intervenidos por medio de técnicas de fijación, descalcificación y tinción especializadas describiendo lo observado y comparando el efecto de las sustancias colocadas. Los animales fueron divididos en 2 grupos; Grupo A (13 animales) a los que se les rellenò con Gelfoam® solo (Pharmacia and Upjohn y Grupo B (12 animales) se les rellenò con Acido Hialurónico solo, tomando el oído izquierdo de 6 animales del mismo total de 25 en forma aleatoria como control histológico con fines comparativos.

Dichas intervenciones se realizaron en el Bioterio y Clínica de Cirugía experimental del Centro Médico Nacional Siglo XXI perteneciente al Instituto Mexicano del Seguro Social y en donde se les proporcionaron a los animales intervenidos cuidados tanto pre, trans y postoperatorios hasta la finalización del estudio.



13.

presentaba fibrosis postoperatoria.²⁶ Hellstrom utilizó Gelfoam en el oído medio de ratas después de que la mucosa de estos era denudada.

Su estudio demostró que ocurre una reacción tisular significativa dentro del oído medio que lleva a una formación extensa de fibrosis y de tejido conectivo.²³

Usando un modelo en perros, Joseph demostró que el Gelfoam empaquetado en oídos medios que previamente se habían denudados a nivel de sus promontorios, presentaban un significativo grado de fibrosis.

Histologicamente él demostró que la fibrosis y el tejido cicatricial ocurrió entre la membrana timpánica y el promontorio del oído medio²⁵.

DELIMITACION E IDENTIFICACION DEL PROBLEMA

El problema por investigar es:

La eficacia de las microláminas hechas a base de Acido Hialurónico en la disminución de las adherencias y fibrosis tisulares postoperatorias en animales de experimentación describiendo sus ventajas y desventajas para tal fin.

OBJETIVO GENERAL

Demostrar que con la utilización de miniláminas a base de Acido Hialurónico en oídos medios de animales de experimentación intervenidos quirúrgicamente disminuyen y/o eliminan las adherencias y fibrosis que se podrían formar; y por lo tanto obtener mejores resultados posquirúrgicos.

DISEÑO DEL ESTUDIO (ESTRUCTURA Y ESTRATEGIA)

Es un estudio longitudinal, prospectivo, experimental, biomédico, clínico, original y replicativo.

MATERIAL Y METODOS

Acciones ejecutadas

Se utilizaron veinte y cinco cobayos de la especie Dunkey-Hartley hembras, realizándose timpanotomías exploradoras con la colocación transoperatoria de dos diferentes materiales en el oído medio, dejándolo por el término de 1 mes y realizando una nueva intervención en cada animal para evaluar los cambios posquirúrgicos al excoriarseles el promontorio derecho como parte de la lesión quirúrgica y examinando la formación o no de fibrosis en la cavidad de oído medio y otras alteraciones así como exponer las ventajas encontradas así como sus desventajas con cada uno de los materiales utilizados.

El protocolo de estudios fuè evaluado y autorizado por la División de Enseñanza è Investigación del Hospital Juárez de México así como por el Servicio de Clínica Experimental y Bioterio del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Las muestras de oído medio ya intervenidas fueron evaluadas al término del plazo estipulado por un histopatòlogo quien analizó los tejidos de los oídos intervenidos por medio de técnicas de fijación, descalcificación y tinción especializadas describiendo lo observado y comparando el efecto de las sustancias colocadas. Los animales fueron divididos en 2 grupos; Grupo A (13 animales) a los que se les rellenò con Gelfoam® solo (Pharmacia and Upjohn y Grupo B (12 animales) se les rellenò con Acido Hialurónico solo, tomando el oído izquierdo de 6 animales del mismo total de 25 en forma aleatoria como control histológico con fines comparativos.

Dichas intervenciones se realizaron en el Bioterio y Clínica de Cirugía experimental del Centro Médico Nacional Siglo XXI perteneciente al Instituto Mexicano del Seguro Social y en donde se les proporcionaron a los animales intervenidos cuidados tanto pre, trans y postoperatorios hasta la finalización del estudio.



Los animales fueron adquiridos del Centro de control de calidad animal del Instituto Mexicano del Seguro Social por conducto del mismo Bioterio antes mencionado.

Además se utilizó equipo de cirugía experimental incluido un microscopio quirúrgico e instrumental microquirúrgico.

Al mes se sacrificaron por medio de el método de cámara de Bióxido de Carbono proveída por el mismo Bioterio.

El mismo día del sacrificio se retiró el hueso temporal trabajado por medio de decapitación removiendo la cabeza y retirándoles la piel y los músculos; el cráneo fuè seccionado sagitalmente a nivel de la línea media y anteriormente al Conducto Auditivo Externo en sentido coronal.

Luego se procesaron las muestras por el Servicio de Patología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional perteneciente al Instituto Mexicano del Seguro Social.

Las muestras seccionadas fueron evaluadas por la presencia o ausencia de Gelfoam, Epifilm y fibrosis.

El grado de fibrosis fuè determinado por la medida subjetiva en que ésta se encontró rellenando la cavidad del oído medio. Si el oído medio se encontraba rellenado del 0% al 25% de fibrosis, al espécimen se le categorizó con grado I. Si se encontró del 25 al 50% de fibrosis, se le categorizó con grado II. Si se encontró del 50% al 75% se le categorizó con grado III y si se encontró del 75% al 100% se le dió el grado IV.

Además se encontraron otros tipos de reacciones fibróticas en el análisis como pueden ser la presencia de bandas fibrosas, fibroblastos, cartílago y glándulas. (TABLA 1).¹⁸

TABLA 1.

ESCALA GRADUADA DE FIBROSIS			
Grado I	Grado II	Grado III	Grado IV
0% a 25%	>25% a <50%	>50% a <75%	>75%

Posteriormente se reunió toda la información analizándose y obteniéndose respuestas en cuanto a la efectividad de el producto estudiado en evitar o disminuir la formación de fibrosis y otros cambios tisulares así como cualquier otro tipo de efecto a nivel del oído medio.

Luego se obtuvieron conclusiones las cuales irían encaminadas a dar recomendaciones y limitaciones para poder ser utilizado este producto en cirugías de oído medio en humanos sin producir mayor daño y obteniendo los resultados finales esperados.

En las secciones posteriores se describen los procedimientos que se siguieron en una forma detallada así como otras especificaciones de vital importancia para la elaboración de un trabajo de investigación como éste.

DESCRIPCIÓN DEL BIOTERIO Y CLINICA DE CIRUGÍA EXPERIMENTAL

Un Bioterio constituye una área de apoyo básico, especializado en la producción y mantenimiento de diversas especies de animales de laboratorio.

Su misión institucional generalmente se establece en relación directa con la naturaleza del propósito para el cual haya sido creado.

En aquellas instancias en donde el énfasis del programa sea la enseñanza e investigación biomédica, su esquema de trabajo será enfocado con mayor cobertura e interés hacia la



Los animales fueron adquiridos del Centro de control de calidad animal del Instituto Mexicano del Seguro Social por conducto del mismo Bioterio antes mencionado.

Además se utilizó equipo de cirugía experimental incluido un microscopio quirúrgico e instrumental microquirúrgico.

Al mes se sacrificaron por medio de el método de cámara de Bióxido de Carbono proveída por el mismo Bioterio.

El mismo día del sacrificio se retiró el hueso temporal trabajado por medio de decapitación removiendo la cabeza y retirándoles la piel y los músculos; el cráneo fuè seccionado sagitalmente a nivel de la línea media y anteriormente al Conducto Auditivo Externo en sentido coronal.

Luego se procesaron las muestras por el Servicio de Patología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional perteneciente al Instituto Mexicano del Seguro Social.

Las muestras seccionadas fueron evaluadas por la presencia o ausencia de Gelfoam, Epifilm y fibrosis.

El grado de fibrosis fuè determinado por la medida subjetiva en que èsta se encontró rellenando la cavidad del oído medio. Si el oído medio se encontraba rellenado del 0% al 25% de fibrosis, al espécimen se le categorizó con grado I. Si se encontró del 25 al 50% de fibrosis, se le categorizó con grado II. Si se encontró del 50% al 75% se le categorizó con grado III y si se encontró del 75% al 100% se le dió el grado IV.

Además se encontraron otros tipos de reacciones fibróticas en el análisis como pueden ser la presencia de bandas fibrosas, fibroblastos, cartílago y glándulas. (TABLA 1).¹⁸

TABLA 1.

ESCALA GRADUADA DE FIBROSIS			
Grado I	Grado II	Grado III	Grado IV
0% a 25%	>25% a <50%	>50% a <75%	>75%

Posteriormente se reunió toda la información analizándose y obteniéndose respuestas en cuanto a la efectividad de el producto estudiado en evitar o disminuir la formación de fibrosis y otros cambios tisulares así como cualquier otro tipo de efecto a nivel del oído medio.

Luego se obtuvieron conclusiones las cuales irían encaminadas a dar recomendaciones y limitaciones para poder ser utilizado este producto en cirugías de oído medio en humanos sin producir mayor daño y obteniendo los resultados finales esperados.

En las secciones posteriores se describen los procedimientos que se siguieron en una forma detallada así como otras especificaciones de vital importancia para la elaboración de un trabajo de investigación como éste.

DESCRIPCIÓN DEL BIOTERIO Y CLINICA DE CIRUGÍA EXPERIMENTAL

Un Bioterio constituye una área de apoyo básico, especializado en la producción y mantenimiento de diversas especies de animales de laboratorio.

Su misión institucional generalmente se establece en relación directa con la naturaleza del propósito para el cual haya sido creado.

En aquellas instancias en donde el énfasis del programa sea la enseñanza e investigación biomédica, su esquema de trabajo será enfocado con mayor cobertura e interés hacia la

provisión de servicios muy generales, en donde deberá mantener en ocasiones pequeños núcleos de diferentes especies para satisfacer necesidades específicas.^{1,11} (FOTO 1)

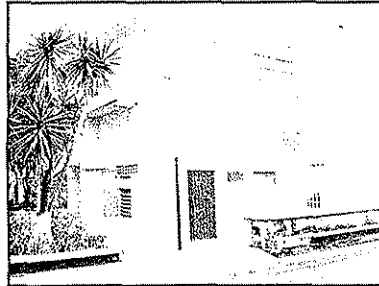


FOTO 1. BIOTERIO DEL CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

Asimismo si la tarea medular es el control de la calidad de productos químicos y biológicos, entonces serán enfatizadas la compra y cuarentena o bien, la producción masiva de roedores y lagomorfos de laboratorio usados en dichas pruebas.

Sin embargo, independientemente del enfoque dado a un bioterio y sus sectores de servicio, considerando que la mayoría de las funciones y responsabilidades que les son inherentes en las diferentes instituciones, comparten un grado de similitud importante, se concluye que estas áreas poseen necesidades de tipo organizacional muy similares entre si, mismas que deberán ser estructuradas con la meta de que les permitan operar en un marco de alta eficiencia para el desarrollo de cualquier trabajo de investigación el cual involucre animales de experimentación; para ello es indispensable contar con el apoyo absoluto de un Bioterio el cual debe de poseer como parte integral del mismo una clínica de cirugía experimental, siendo que al realizar los procedimientos dentro de las mismas instalaciones se les podrán proporcionar los cuidados inmediatos a los animales así como el alojamiento y mantenimientos necesarios todo dentro de un mismo marco protocolario.

Dentro de la organización interna de este Bioterio se debe de contar con:

◆SERVICIOS MEDICO VETERINARIOS

- ×SECCION DE PRODUCCIÓN ANIMAL
- ×SECCION DE ADQUISICIÓN Y CUARENTENA DE ANIMALES
- ×SECCION DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

◆SERVICIOS GENERALES DE CUIDADO ANIMAL

◆SERVICIOS ADMINISTRATIVOS

Se nos facilitaron sus instalaciones físicas en donde se pudieron desarrollar intervenciones experimentales en estos animales; las cuales serán descritas posteriormente y que por medio de las cuales se aportan recomendaciones y medidas generales.

Utilizamos sus quirófanos los cuales cuentan con todo lo elemental para desarrollar un trabajo experimental de este tipo. (FOTO 2 y 3). Este Bioterio cuenta con su sistema de autoclave para la esterilización de los diferentes instrumentos quirúrgicos. (FOTO 4). Además



de sus lavatorios para realizar las cirugías con las manos lo mas asépticas posibles. (FOTO 5).^{1,6,7,11.}

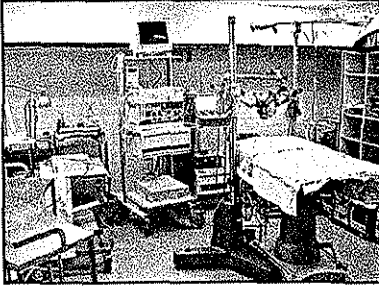


FOTO 2 Y 3.
QUIRÓFANOS DE
CIRUGÍA
EXPERIMENTAL

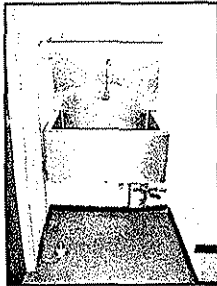
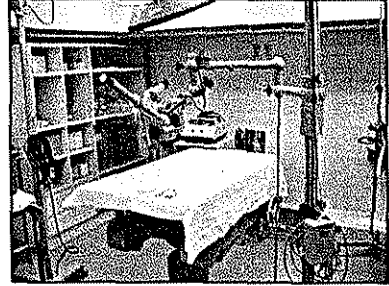


FOTO 4. SISTEMA DE
ESTERILIZACIÓN AUTOCLAVE

FOTO 5. SISTEMA DE LAVADO DE
MANOS QUIRÚGICO



ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

En el desarrollo de este ensayo experimental se eligió al cobayo como modelo anatómico quirúrgico, por contar con muchas facilidades en cuanto a su cuidado, así como la similitud con el oído humano.

Los animales se nos entregan para la realización de los procedimientos con todas las medidas higiénicas necesarias y exigidas tanto por el Bioterio como por control de calidad.

A continuación presentamos una descripción detallada de este útil animal de laboratorio:

EL COBAYO

Es llamado también cuyo o curí, es un mamífero roedor originario de la zona andina de Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú donde fueron encontrados en las casas de los indios, ya que estos eran utilizados como alimento.

Pruebas existentes demuestran que el cuyo fue domesticado hace 2500-3600 años.

La distribución de la población de cuyos en el Perú y el Ecuador es amplia; se encuentran en la casi totalidad del territorio, mientras que en Colombia y Bolivia su distribución es regional y con poblaciones menores.

Por su capacidad de adaptación a diversas condiciones climáticas, los cuyos pueden encontrarse desde la costa o el llano hasta alturas de 4500 metros sobre el nivel del mar y en zonas tanto frías como cálidas.

Después de la conquista fué exportado y ahora es un animal casi universal. En la actualidad tiene múltiples usos (mascotas, animal experimental, etc.), aunque en los Andes sigue siendo utilizado como un alimento tradicional.^{1,6,9,11.} (DIBUJO 1).



de sus lavatorios para realizar las cirugías con las manos lo mas asépticas posibles. (FOTO 5).^{1,6,7,11.}

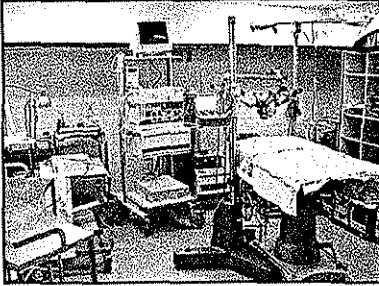


FOTO 2 Y 3.
QUIRÓFANOS DE
CIRUGÍA
EXPERIMENTAL

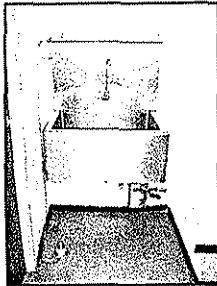
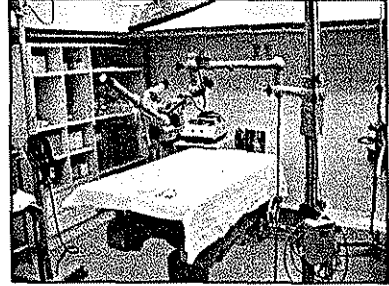
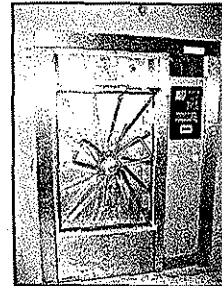


FOTO 4. SISTEMA DE
ESTERILIZACIÓN AUTOCLAVE

FOTO 5. SISTEMA DE LAVADO DE
MANOS QUIRÚGICO



ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

En el desarrollo de este ensayo experimental se eligió al cobayo como modelo anatómico quirúrgico, por contar con muchas facilidades en cuanto a su cuidado, así como la similitud con el oído humano.

Los animales se nos entregan para la realización de los procedimientos con todas las medidas higiénicas necesarias y exigidas tanto por el Bioterio como por control de calidad.

A continuación presentamos una descripción detallada de este útil animal de laboratorio:

EL COBAYO

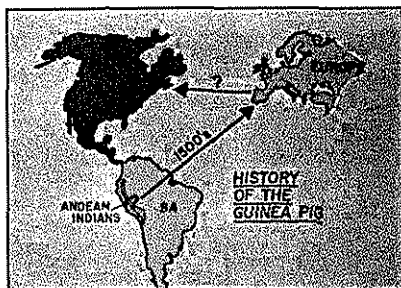
Es llamado también cuyo o curí, es un mamífero roedor originario de la zona andina de Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú donde fueron encontrados en las casas de los indios, ya que estos eran utilizados como alimento.

Pruebas existentes demuestran que el cuyo fue domesticado hace 2500-3600 años.

La distribución de la población de cuyos en el Perú y el Ecuador es amplia; se encuentran en la casi totalidad del territorio, mientras que en Colombia y Bolivia su distribución es regional y con poblaciones menores.

Por su capacidad de adaptación a diversas condiciones climáticas, los cuyos pueden encontrarse desde la costa o el llano hasta alturas de 4500 metros sobre el nivel del mar y en zonas tanto frías como cálidas.

Después de la conquista fué exportado y ahora es un animal casi universal. En la actualidad tiene múltiples usos (mascotas, animal experimental, etc.), aunque en los Andes sigue siendo utilizado como un alimento tradicional.^{1,6,9,11.} (DIBUJO 1).



DIBUJO 1. RUTA DE DISEMINACIÓN E HISTORIA DEL COBAYO.

NOMENCLATURA UTILIZADA PARA LOS COBAYOS

Los científicos y los neófitos usan el término *CERDO DE GUINEA* a pesar de que en realidad los cobayos no sean originarios de guinea.

Los criadores frecuentemente usan el término *CAVY* que deriva del nombre genérico. (TABLA 2).

TABLA 2.

CLASIFICACION TAXONOMICA

COBAYO, CAVY, CUYO Ò CURI CAVIA PORCELLUS	
ORDEN:	RODENTIA
SUBORDEN:	HYSTRICOMORPHA
FAMILIA:	CAVIIDAE
GÉNERO:	CAVIA
ESPECIES:	CAVIA APEREA APEREA ERXLEBEN
	CAVIA APEREA APEREA LICHTENSTEIN
	CAVIA CUTLERI KING
	CAVIA PORCELLUS LINNAEUS
	CAVIA COBAYA

Existen tres tipos o variedades que se caracterizan por tener una textura diferente en el pelo:

✓ El cobayo *inglés* tiene el pelo corto, liso derecho y un poco grueso.

✓ El cobayo *abisinio* tiene el pelo corto y grueso, distribuido irregularmente en diversos sitios en forma de remolino, rosetas ò espigas, lo cual da al animal una apariencia de desaliñados.

✓ El cobayo *peruano* tiene el pelo largo, fino y sedoso, el cual puede estar o no distribuido en forma de remolino. Tiene una capa de pelo mucho más larga (hasta 16 cm) además de poseer también formaciones de rosetas.

Existen también animales peruanos de pelo largo y suave llamados *angora* o *sheltis*. Los cobayos pueden ser albinos, blancos, negros, agouti, arenoso, bicolor o tricolores. Poseen un

cuerpo compacto y carecen de cola.

El 90% de los cobayos usados en la investigación son de origen inglés, del cual provienen las siguientes cepas:

- ✓ *DUNKIN-HARTLEY
- ✓ *HARTLEY
- ✓ *PILBRIGHT-HARTLEY
- ✓ *SHORTHAIR.



FOTO 6. COBAYO ESPECIE DUNKIN-HARTLEY

El Dunkin-Hartley; animal elegido en este estudio; se caracteriza por un pelo relativamente suave, corto, bien implantado y dirigido hacia atrás, de una longitud de unos 4 cm.

Las dos estirpes de cobayo más empleadas en investigación son la 2 y la 13. ambos son de pelo corto, son tricolores en su mayoría blancos normalmente con manchas negras o marrones alrededor de orejas y cabeza.

Los cobayos ocupan el cuarto lugar en número de animales empleados en investigación.^{1,9,11.} (FOTO 6).

ANATOMIA DEL OÍDO DEL COBAYO

La descripción anatómica del órgano vestibulococlear de los cabayos (cuyos-guinea pigs) puede ser dividida en dos partes:

1. PORCION CARTILAGINOSA
2. PORCION OSEA

La PORCION CARTILAGINOSA del oído de los cabayos consiste principalmente de una gran aurícula con prominencias cartilaginosa y concavidades que son homólogas a las aurículas de otras especies de mamíferos. Esta aurícula con sus prominencias termina en forma de embudo en el meato auditivo y en su conducto auditivo externo cartilaginosa siendo este último poco tortuoso y largo. La porción medial de este conducto es continua con la porción ósea del conducto auditivo externo siendo la proporción entre la cartilaginosa y la ósea de 2 ó 3 veces mas grande la primera que la segunda. Debido a el tamaño y la tortuosidad es extremadamente difícil visualizar la membrana timpánica en estos animales. La exposición quirúrgica de el conducto auditivo óseo y de la membrana timpánica así como de estructuras internas debe ser logrado por la remoción quirúrgica o incisión de parte del conducto cartilaginosa.

Un elemento anatómico importante en el conducto auditivo externo es que la porción extratemporal del nervio facial pasa en una proximidad cercana en sentido caudal y ventral a la unión de las dos partes del conducto. Esta posición vulnerable ha sido determinada por la

localización inusual del foramen estilomastoideo en el hueso temporal el cual se encuentra posicionado caudal y dorsal al conducto auditivo externo óseo. (FOTO 7)

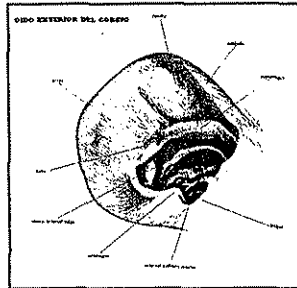


FOTO 7. PABELLÓN AURICULAR Y OIDO EXTERNO.

La PORCION OSEA puede ser convenientemente descrita en términos de 3 segmentos: la Timpánica, Bullar y la Porción Petrosa del hueso temporal. Los dos temporales tienen forma irregular y en conjunto forman la mayor parte de la bóveda ósea que incluye al cerebro. Ellos se articulan en sentido dorsorostral con la escama, ventrorostral con las alas laterales de la basiesfenoides, ventromedial con la basiesfenoides y basioccipital, caudalmente con el occipital y lateralmente con los huesos accesorios.

La bulla timpánica la cual es una cavidad prominente en posición ventral, contiene el oído medio interno, esta bulla se encuentra medial al conducto auditivo externo y su meato.

El segmento o porción timpánica del hueso temporal es una parte circular o incompletamente circular de segmento óseo, extendiéndose lateralmente de la membrana timpánica. En estos animales es una porción extremadamente pequeña y en un corte sagital; el diámetro es aproximadamente la mitad de el diámetro de la membrana timpánica, por ello la membrana timpánica no puede observarse completamente por el conducto auditivo externo. Por su disposición excéntrica la visión proveída es mejor en su porción dorsal que la ventral. Lo anterior es debido a que se observa mejor la porción ventral del hueso timpánico.

El conducto óseo se encuentra rodeado por uno o dos pequeños ventrorostrales semicirculares huesos accesorios. El hueso proximal, llamado hueso anular es plano y semicircular, articulándose con el labio ventral del conducto externo. Este es el que se presenta en forma más consistente y es el más grande. Cuando los dos huesos están presentes, el más lateral es llamado hueso auricular tiene forma triangular y semicircular con su ápex dirigido en forma lateral. Estos huesos se encuentran unidos fuertemente por ligamentos y bandas fibrosas.

El segmento bullar se encuentra posicionado entre el segmento petroso del hueso temporal y el segmento timpánico. Esta porción incluye el espacio aéreo del oído medio o cavidad timpánica, mastoidea y el receso que incluye las estructuras vitales del oído medio importantes en la audición. En ella existen tres protuberancias ---la dorsal, laberíntica y la bulla mastoidea---están formados por esta porción de hueso temporal; ellos están localizados de tal forma que se comunican con el espacio del oído medio por conexiones aéreas.

La *bullas dorsal*, la cual puede ser llamada receso epitimpánico. Esta localizada inmediatamente dorsal al conducto auditivo externo y la membrana timpánica. Puede ser abordada quirúrgicamente con facilidad por una incisión dorsal al canal auditivo. A través de esta bulla se puede observar con facilidad la cabeza del martillo y el cuerpo del yunque, los cuales están unidos por la articular incudomaleolar. Medial y dorsal a estos osículos pueden ser vistas las prominencias óseas de los canales semicirculares anterior y lateral. El hueso

sobre los canales puede ser tan delgado que una fina línea gris puede delinear el lugar en donde pasa el conducto membranoso. Ventral a las prominencias de los canales se encuentra localizado el segmento horizontal del nervio facial en su canal óseo (Canalis Facialis).

En una proyección ventral de el segmento bullar se encuentra la mas grande de las 3 bullas, la *bulla laberíntica*. Es aquí donde se encuentra la cóclea con sus 4 y media vueltas. Esta es una porción ósea del laberinto que incluye en su interior al órgano sensitivo de la audición acomodando en su interior a la microscópica membrana basilar y al órgano de Corti el cual toma forma acomodándose en su continente óseo ò cóclea. La cubierta ósea que incluye al órgano sensorial del laberinto membranoso es llamado cápsula òtica.

Dos ventanas o fenestras están asociadas con la cóclea y pueden ser encontradas cerca. La vestibular o oval (Fenestra Vestibuli), incluye a la platina del estribo (Basis Estapedis) y es la principal entrada de las ondas conductivas de presión sonora a los fluidos laberínticos por la vía de la cadena osicular. La coclear ò ventana redonda (Fenestra Coclear), incluye a la membrana de la ventana redonda (Membrana Timpánica Secundaria), la cual logra una liberación de presiones al permitir el desplazamiento de los fluidos laberínticos debido a los movimientos estapediales. La ventana redonda de estos animales esta directamente caudal y dorsal, mas que en dirección ventral como en la mayoría de los mamíferos. Debido a que esta ventana no tiene un labio óseo, la membrana de la ventana redonda es extremadamente vulnerable a las lesiones y además es fácilmente accesible para la instrumentación quirúrgica. La ventana redonda se encuentra casi de frente directamente hacia el estribo en la ventana oval. (FOTO 8).



FOTO 8. ASPECTO INTERNO DE LA BULLA TIMPANICA VISTA DESDE ABAJO.

La pared lateral de esta bulla esta formada por la membrana timpánica y por el mango y la columna del martillo. La membrana timpánica (Membrana Tympani) es como en otros mamíferos, de forma cónica con una delgada capa, la cual en los cobayos tiene una gran superficie comparada con la ventana vestibular.

El diámetro de la membrana timpánica es de aproximadamente 9 ò 10 mm, lo cual varia de especie en especie de cobayos no importando así su tamaño ò peso. Mientras que la ventana vestibular puede medir menos que 1 por 1 mm de diámetro. Esto logra un gran radio aéreo que ayuda a facilitar el mecanismo de conducción de las ondas sonoras de presión de la membrana timpánica al laberinto.

Los huesecillos auditivos (Ossicula Auditus) en los cobayos consisten en 3 pequeños huesos. El mayor es el martillo (malleus), el cual tiene una cabeza (caput mallei), un cuello (collum mallei), y un mango ò proceso largo (manubrium mallei). Un proceso corto lateral (processus lateralis), se extiende lateralmente de la terminación dorsal del mango mientras que otro mas largo se extiende en forma rostral (processus rostralis), este ayuda a anclar el martillo al aspecto rostral de la cavidad timpánica por sus ligamentos. (FOTO 9).

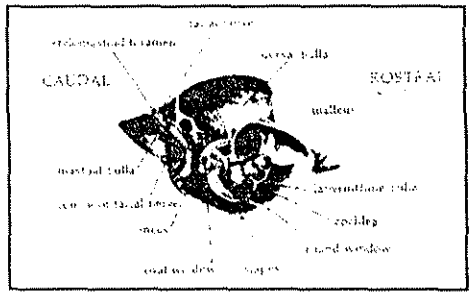


FOTO 9. ASPECTO INTERNO DE LA BULLA TIMPANICA VISTO POR ARRIBA.

La columna es parte de este hueso y el mango del martillo es una pequeña formación ósea en medio de la membrana timpánica conocido como Umbo (umbo membranae tympani). El cuello del martillo se encuentra unido con el cuerpo del yunque siendo esta unión conocida como la articulación incudomaleolar (articulatio incudomallearis). El segundo osículo mas grande es el yunque (incus), el cual tiene un cuerpo (corpus incudis), un proceso largo (crus longum), y un proceso corto (crus breve). Estos osículos se articulan con la cabeza del martillo por medio de una fusión incudomaleolar y con la cabeza del estribo por medio de la articulación incudoestapedial (articulatio incudostapedia), una articulación diartrodial. Una extensión posterior del cuerpo del yunque, el proceso corto, anclan a la cadena osicular hacia el epitímpano por medio de ligamentos fuertes. El proceso largo se extiende ventralmente de el cuerpo y forma un ángulo recto con el proceso terminal (os lenticulare), el cual se articula con la cabeza del estribo. El estribo (stapes) es el más pequeño de los huesos auditivos y se encuentra interpuesto entre el proceso largo del yunque y el laberinto. La cabeza del estribo (caput stapedis) se encuentra unido a la platina (basis stapedis) por medio de 2 cruras (crura rostrale et caudale). La platina se encuentra anclada en la fenestra vestibular y se conoce como la articulación estapediovestibular (articulatio vestibuli stapedia), la cual se clasifica como una articulación sindesmotica. Un hallazgo inusual en la ventana oval es la presencia de un puente delicado de hueso que se extiende de el Canal de Falopio a través de un espacio intercrural de el estapedio al promontorio. Posiblemente este es un remanente de la arteria estapedial. (FOTO 10).

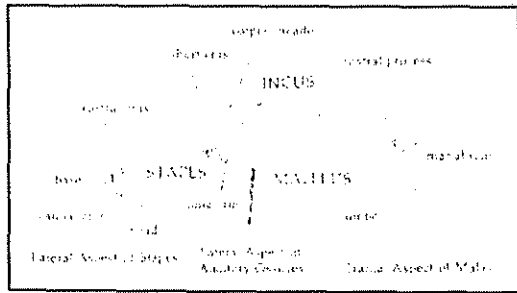


FOTO 10. OSICULOS AUDITIVOS

Con los osículos del oído medio se involucran 2 músculos: el músculo estapedio (m. stapedius) tiene su origen dentro del canal descendente del facial y la eminencia piramidal



(eminencia piramidalis), y se inserta por medio de un pequeño tendón en el aspecto caudal del cuello del estapedio.

Se encuentra inervado por una rama del nervio facial.

Otro es el músculo tensor del tímpano (m. tensor tympani), este se origina de una depresión cóncava y ósea en la región anterior de el epitímpano en sentido rostral a la ventana redonda. Se inserta por medio de un pequeño tendón que protruye lateralmente al aspecto medial del cuello del martillo. Se encuentra inervado por una rama del 5to. par craneal.

En los cobayos también existe la Trompa de Eustaquio (tuba auditiva) la cual mide aproximadamente 1 cm. Esta se abre directamente en la cavidad nasal en una región por arriba del paladar blando y rostral a la glotis.

La última bulla es la *bulla mastoidea* (paries mastoideus), la cual es la mas pequeña del hueso temporal y la cual se encuentra caudal al conducto auditivo externo.

Esta se encuentra separada de la bulla epitimpánica por el foramen estilomastoideo.

En este se encuentra incluido el nervio facial y la membrana laberíntica. (FOTO 11).

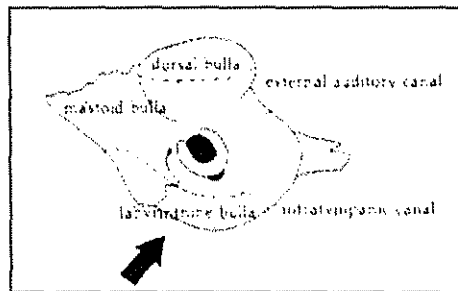


FOTO 11. DISTRIBUCION DE LAS BULLAS MASTOIDEAS.

Cuenta con un conducto auditivo interno por donde entra el nervio facial y los nervios vestibulares encargados del equilibrio.

Se encuentra dividido por diversos canaliculos separados por la cresta vertical.

Estos nervios inervan las dos maculas tanto la sacular como la utricular encargadas de las aceleraciones lineales.

Cuenta además con 3 canales semicirculares los cuales se encuentran de las aceleraciones angulares.

Además se describe el nervio coclear el cual inerva la cóclea.

Este nervio representa aproximadamente 24,000 neuronas mientras que el nervio vestibular representa aproximadamente 8,000 neuronas.

A nivel del hueso temporal se encuentran además la apertura del acueducto coclear y la apertura para el acueducto vestibular.^{12,14}

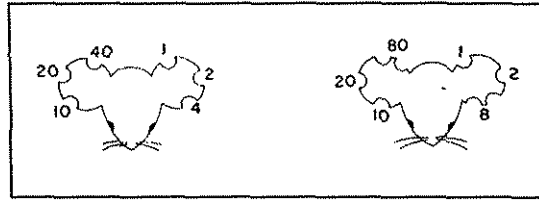
IDENTIFICACIÓN DE LOS ANIMALES

Existen algunos códigos de identificación para animales de talla pequeña como pueden ser los roedores.

Este tipo de sistemas resultan extremadamente útiles para lograr una identificación positiva de los sujetos, ya sea en colonias de producción o en las pruebas diversas.

Para implementar este control se emplea un dispositivo llamado perforador de membranas con el cual se hacen muescas en una o las dos orejas del roedor, adjudicándoles un valor convencional. Dicho valor depende del lugar de la muesca en la oreja del animal.^{2,11}

(DIBUJO 2).



DIBUJO 2. CODIGO DE IDENTIFICACIÓN PARA COBAYOS

ANESTESIA

Los cobayos se encuentran entre los roedores más difíciles para conseguir anestesia segura y eficaz. Su respuesta a muchos anestésicos es muy variable y se observan frecuentemente complicaciones post-anestésicas como infecciones respiratorias, alteraciones digestivas y depresión generalizada e inapetencia.

Estos problemas pueden evitarse mediante una selección cuidadosa de anestésicos y un alto estándar de cuidados intra y post-operatorios. En la foto 12 se presentan los 3 medicamentos recomendados y utilizados en el presente ensayo.

Dichos medicamentos tienen un alto beneficio en cuanto a analgesia, anestesia tanto general como local así como miorelajación. Ellos son el Clorhidrato de Ketamina, Clorhidrato de Xilocaína y Clorhidrato de Xilacina.^{8,9,13.}



FOTO 12. MEDICAMENTOS ANESTESICOS USADOS

Medicación pre-anestésica

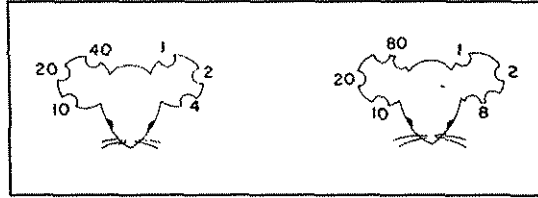
Por lo regular no es necesaria, ya que son animales no agresivos y fáciles de manejar, pero si se va a administrar un anestésico intravenoso (IV) en la vena de la oreja, es ventajosa una sedación inicial.

La Xilacina administrada sola tiene efectos sedantes muy variables en los cobayos, pero potencian los efectos de otros agentes anestésicos.

La atropina debería administrarse para minimizar el volumen de secreciones bronquiales y salivares. Este medicamento no fue utilizado en nuestro estudio.

Es particularmente útil en los cobayos debido a sus vías aéreas relativamente estrechas, las cuales son propensas a la obstrucción.

En caso de no utilizar preanestésicos, la dosis de los agentes anestésicos deberá reducirse la dosis en un 30-50%.



DIBUJO 2. CODIGO DE IDENTIFICACIÓN PARA COBAYOS

ANESTESIA

Los cobayos se encuentran entre los roedores más difíciles para conseguir anestesia segura y eficaz. Su respuesta a muchos anestésicos es muy variable y se observan frecuentemente complicaciones post-anestésicas como infecciones respiratorias, alteraciones digestivas y depresión generalizada e inapetencia.

Estos problemas pueden evitarse mediante una selección cuidadosa de anestésicos y un alto estándar de cuidados intra y post-operatorios. En la foto 12 se presentan los 3 medicamentos recomendados y utilizados en el presente ensayo.

Dichos medicamentos tienen un alto beneficio en cuanto a analgesia, anestesia tanto general como local así como miorelajación. Ellos son el Clorhidrato de Ketamina, Clorhidrato de Xilocaina y Clorhidrato de Xilacina.^{8,9,13.}

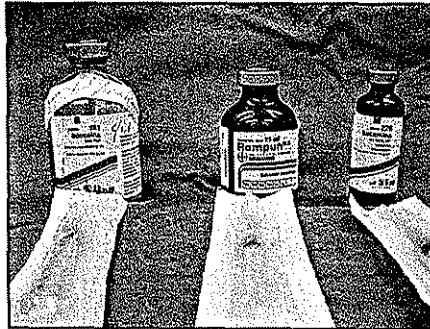


FOTO 12. MEDICAMENTOS ANESTESICOS USADOS

Medicación pre-anestésica

Por lo regular no es necesaria, ya que son animales no agresivos y fáciles de manejar, pero si se va a administrar un anestésico intravenoso (IV) en la vena de la oreja, es ventajosa una sedación inicial.

La Xilacina administrada sola tiene efectos sedantes muy variables en los cobayos, pero potencian los efectos de otros agentes anestésicos.

La atropina debería administrarse para minimizar el volumen de secreciones bronquiales y salivares. Este medicamento no fue utilizado en nuestro estudio.

Es particularmente útil en los cobayos debido a sus vías aéreas relativamente estrechas, las cuales son propensas a la obstrucción.

En caso de no utilizar preanestésicos, la dosis de los agentes anestésicos deberá reducirse la dosis en un 30-50%.



Nosotros recomendamos para este tipo de intervenciones Clorhidrato de Xilacina a dosis de 1-5 mg/kg de peso con lo cual se mantuvo en excelentes condiciones a los animales pudiéndoseles aplicar el anestésico y sin producir molestia alguna.

La vía fue intramuscular en la región del muslo con la rutina ya establecida de aspiración previa para evitar que el fármaco vaya directamente al torrente sanguíneo.

Este medicamento tiene un efecto miorelajante, sedante y analgésico.^{8,9,13} (FOTO 13).

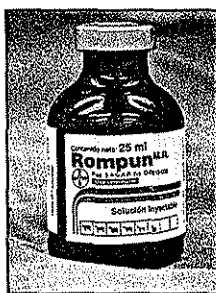


FOTO 13. FRASCO DE CLORHIDRATO DE XILACINA.

Anestesia General

Agentes inyectables: la administración intravenosa (IV) de fármacos anestésicos es difícil en cobayos; normalmente se aplican vía intraperitoneal (IP), subcutánea (SC) o intramuscular (IM).

Los cobayos enfermos son extremadamente susceptibles a la anestesia. Los animales se pesan cuidadosamente y se calcula la dosificación de manera precisa.^{8,9,11} (FOTO 14).

El peso recomendado para la aplicación de los anestésicos se concluyó en este ensayo que debería de ser de entre 600 y 900grs. Con este peso se obtuvo resultados favorables disminuyendo los efectos adversos producido por dichos fármacos y obteniendo sedación, analgesia, hipnosis y anestesia tanto general como local óptimos para trabajar en un período de entre 45 minutos a 1 hora sin producir daño a la especie con un período de hipnosis de 90 a 120 min.¹³

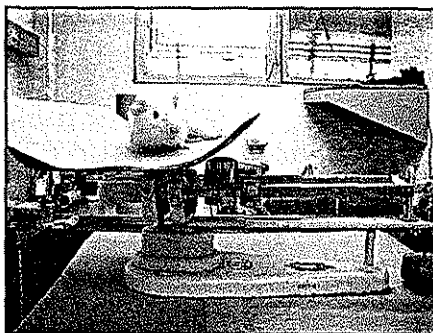


FOTO 14. EVALUACIÓN DEL PESO DE LOS COBAYOS

Para lograr ese efecto se recomienda utilizar una combinación estándar muy utilizada por los servicios de bioterio y que produce efectos excelentes; dicha combinación es de Clorhidrato de Ketamina con clorhidrato de Xilacina a razón de 60-70 mg/kg + 1-5 mg/kg peso por vía intramuscular. (FOTO 13 y 15)

Esta fórmula fue la utilizada por nosotros durante este ensayo. 8,9,11,13.



FOTO 15. FRASCO DEL CLORHIDRATO DE KETAMINA

Posterior al procedimiento de pesar al animal y de aplicársele los anestésicos, analgésicos y miorelajantes procedemos a esperar aproximadamente 10 minutos para lograr el efecto medicamentoso necesario para poder iniciar la cirugía.

Para poder iniciar la cirugía tenemos que realizar antisepsia de la región operatoria, en este caso es la región periauricular.

Esta previamente se realiza limpieza con alcohol al 70% y luego se le aplica timerosal como desinfectantes locales.

Posteriormente se realiza un rasurado riguroso con el mayor cuidado para no producir lesiones innecesarias a los animales. (FOTO 16, 17 Y 18).



FOTO 16. RASURADO PERIAURICULAR CON ANTISEPSIA CON ALCOHOL DEL 70%.

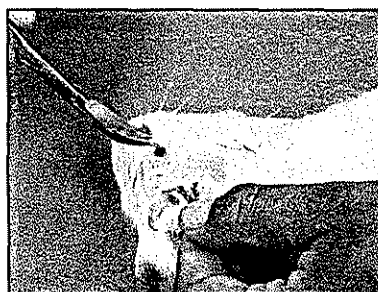


FOTO 17. POSTERIOR AL RASURADO SE COLOCA TIMEROSAL.

Seguidamente colocamos al animal en un aparato de sujeción que tiene su forma asegurándolo con tela adhesiva sobre los 4 miembros. (foto 19).

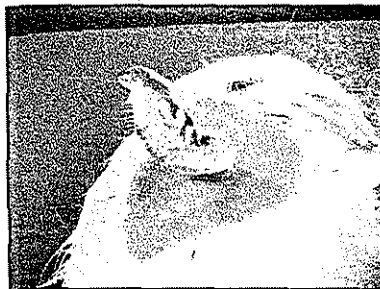


FOTO 18. REGION PERIAURICULAR RASURADA.

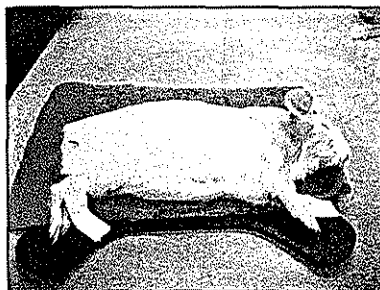


FOTO 19. ANIMAL BAJO EFECTO ANESTESICO Y
SUJETADO SOBRE EL APARATO DE SUJETAMIENTO

Lo llevamos a la mesa de operaciones y en forma estéril le colocamos los campos dejando solamente la región a intervenir descubierta. (foto 20 y 21).

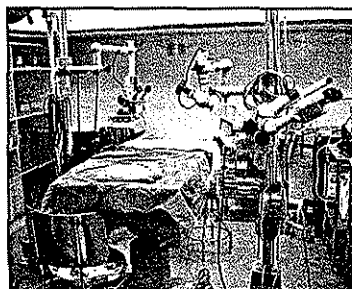


FOTO 20. COBAYO EN MESA QUIRÚRGICA Y VISTA DEL QUIRÓFANO

PROCEDIMIENTO

La intervención se realizó bajo visión microscópica para lo cual se nos fue proporcionado un microscopio con lente de 200mm con opción al de 300 mm y con visores múltiples para poder hacer el seguimiento en conjunto de la cirugía con otros cirujanos e instrumentistas. (FOTO 40).

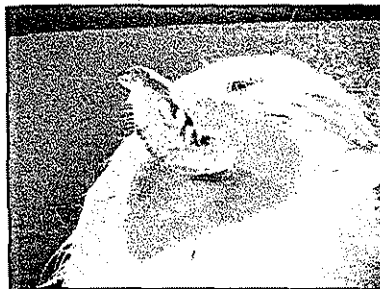


FOTO 18. REGION PERIAURICULAR RASURADA.

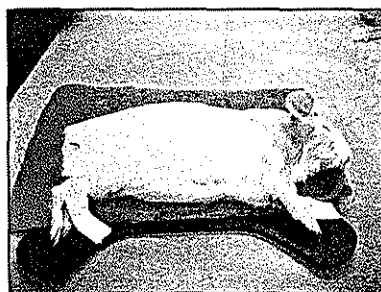


FOTO 19. ANIMAL BAJO EFECTO ANESTESICO Y
SUJETADO SOBRE EL APARATO DE SUJETAMIENTO

Lo llevamos a la mesa de operaciones y en forma estéril le colocamos los campos dejando solamente la región a intervenir descubierta. (foto 20 y 21).

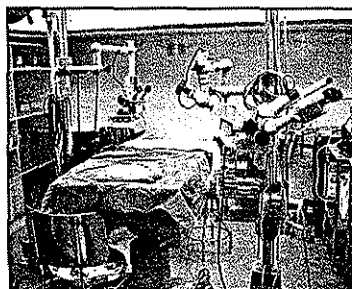


FOTO 20. COBAYO EN MESA QUIRÚRGICA Y VISTA DEL QUIRÓFANO

PROCEDIMIENTO

La intervención se realizó bajo visión microscópica para lo cual se nos fue proporcionado un microscopio con lente de 200mm con opción al de 300 mm y con visores múltiples para poder hacer el seguimiento en conjunto de la cirugía con otros cirujanos e instrumentistas. (FOTO 40).



FOTO 21. COBAYO CON CAMPOS ESTERILES

Con vestimenta quirúrgica estéril iniciamos la intervención la cual consideramos esencial para evitar los procesos infecciosos mórbidos posquirúrgicos. (FOTO 22)



FOTO 22. CIRUJANO EN INTERVENCIÓN QUIRURGICA

Se aplicó anestesia local en la región donde se realizaría la incisión (Región periauricular) y en los cuatro cuadrantes del conducto auditivo externo. Aplicamos Xilocaina al 2% + Epinefrina en una dilución al 1/100,000 con lo cual conseguimos anestesia local con vasoconstricción necesaria para la intervención. (FOTO 23 y 24).

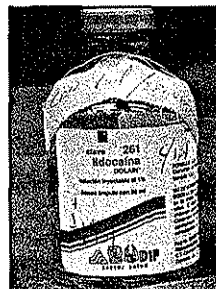


FOTO 23. CLORHIDRATO DE XILOCAINA AL 2%+ EPINEFRINA 1/1000



**FOTO 24. INFILTRACIÓN DE XILOCAINA
+ EPINEFRINA EN DILUCIÓN DE 1/100,000 EN LOS 4 CUADRANTES DEL CAE.**

La incisión que identificamos como la de mejor exposición y menores complicaciones fue una retro e infraauricular respetando el paquete neurovascular este atraviesa la región retro e infraauricular.

Utilizamos un bisturí del tipo Bald-parker con hoja N° 15 para dicha incisión. (FOTO 25 y 26).



FOTO 25. INICIO DE LA INSICION RETRO E INFRAURICULAR



FOTO 26. INSICION REALIZADA

Acto seguido disecamos en forma cuidadosa los tejidos blandos hasta alcanzar la pared posterior del conducto auditivo externo el cual es en parte cartilaginosa y parte ósea.

Para que la exposición sea mayor utilizamos separadores automáticos para tal fin utilizamos separadores de párpado; estos también se utilizan para realización de cirugías oftalmológicas. (FOTO 27 y 28).

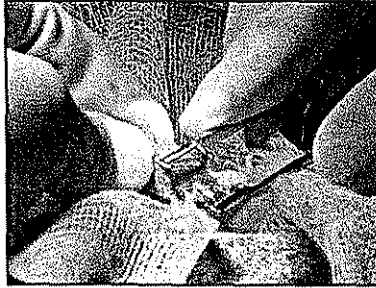


FOTO 27. COLOCACIÓN DE SEPARADORES

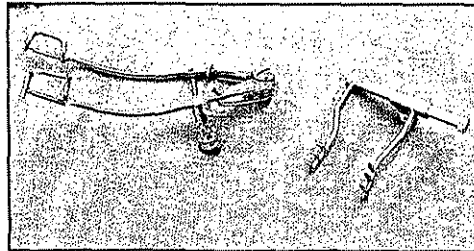


FOTO 28. SEPARADORES AUTOMATICOS

Realizando posteriormente una incisión en la unión de las dos con el mismo bisturí de la incisión inicial y con el mismo número de hoja; introduciéndonos al tercio interno del CAE donde se puede acceder a la cavidad de oído medio. En la foto 29 se observa un estilete dirigido a la porción cartilaginosa del CAE con la incisión ya realizada. Se le retira la pared posterior cartilaginosa para mayor visibilidad. (FOTO 30). Para posteriormente realizar una timpanotomía con el bisturí tipo Lenteja (Rosen) separando la membrana timpánica de su anulus iniciando en la porción anterior y superior (FOTO 31). Luego se accesò directamente a oído medio y se realizó un pequeño legrado con el mismo bisturí tipo Lenteja (Rosen) de la región del promontorio a fin de poder simular una lesión ,retirando la mayor parte de mucosa (FOTO 32), colocando posteriormente tanto gelfoam a unos (FOTO 33) como Acido Hialurónico a otros (FOTO 34).

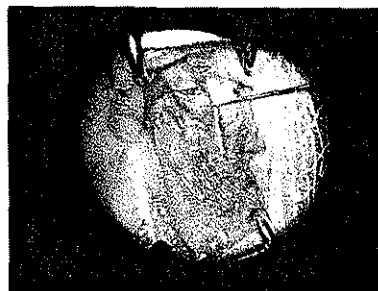


FOTO 29. PARED POSTERIOR DEL CAE SEÑALADO POR EL ESTILETE È
INSINUADA INSICION DEL CAE

Así mismo se les realizó el mismo procedimiento en 6 cobayos pero en el lado contralateral a los que se les tomó como control sin colocárseles ninguna sustancia.



FOTO 30. RETIRO DE LA PARED POSTERIOR DEL CAE, OBSERVAMOS TERCIO INTERIOR DEL CAE Y MEMBRANA



FOTO 31. REALIZACIÓN DE LA TIMPANOTOMIA



FOTO 32. LEGRADO DE PROMONTORIO

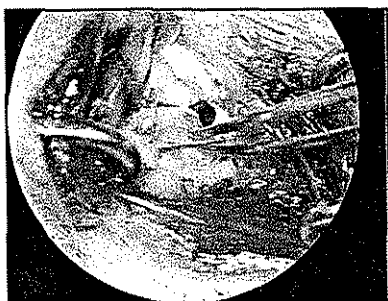
Terminada la cirugía procedemos al cierre de la cavidad por planos faciales con suturas absorbibles y en piel con suturas a base de nylon 4-0. (FOTO 35 y 36).

El cobayo fuè colocado posterior a la cirugía en un cuarto de recuperación bajo una lámpara de calor y posteriormente en su jaula.

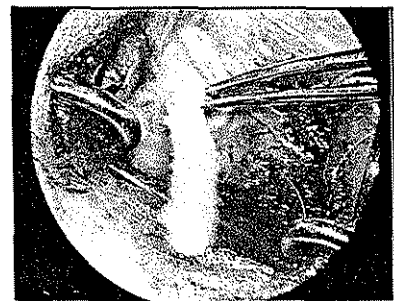
La cicatriz la dejamos descubierta realizando revisiones periódicas para evaluar el estado de la herida suturada con curaciones diarias.



La cicatrización se logra en forma completa en 1 semana y media, tiempo en el cual se retiran los puntos pasando a las evaluaciones subsecuentes. (FOTO 37 y 38).



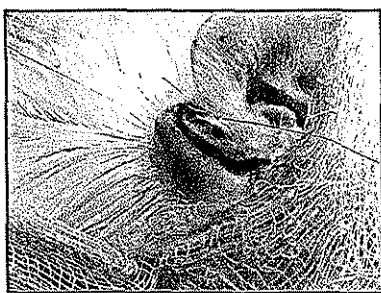
A.



B.

FOTO 33 Y 34. INTRODUCCIÓN EN OIDO 1/2 DE ACIDO HIALURONICO (A) E INTRODUCCIÓN EN OIDO MEDIO DE GELFOAM (B).

A.

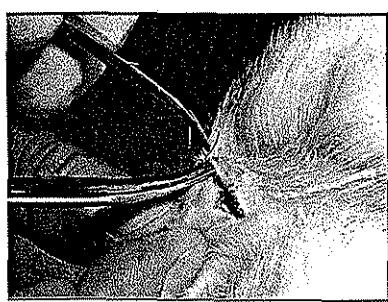


B.



FOTO 35 Y 36. INICIO DE LA SUTURA (A) Y SUTURA TERMINADA (B).

A.



B.

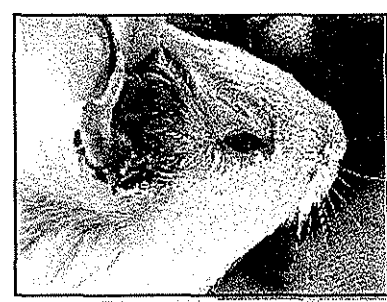


FOTO 37 Y 38. RETIRO DE PUNTOS DE SUTURA (A) Y HERIDA CICATRIZADA (B).

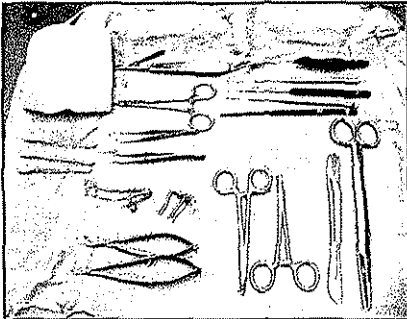


MATERIAL MICROOTOQUIRURGICO UTILIZADO

El material utilizado es uno microotoquirùgico diseñado para cirugías otológicas convencionales así como material para intervenciones quirùrgicas elementales. A continuación se describen: (fotos 39, 40 y 41)

- ✓ Otoscopios metálicos (3.5 mm., 4.0 mm., 4.5 mm.)
- ✓ Bisturí tipo guadaña o del tipo lenteja en sentido vertical.
- ✓ Bisturí horizontal.
- ✓ Pico de entrada a caja.
- ✓ Pico de 90 y 45 grados.
- ✓ Pinza tipo cocodrilo y pinza de copas.
- ✓ Tijera de Belluci y microtijeras.
- ✓ Legra de conducto y cucharilla de serumen.
- ✓ Aspiradores metálicos + mandril.
- ✓ Separador para blefaroplastias.
- ✓ Pinzas de Adson con y sin dientes y pinzas de Adson Brown.
- ✓ Porta agujas y pinzas de mosco.
- ✓ Mango de bisturí numero 3 y 4.
- ✓ Microscopio quirùrgico con lente 200mm y 300mm.
- ✓ Tijera tipo Mayo.

A.



B.

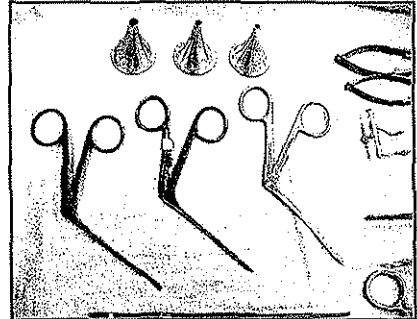


FOTO 39 Y 40. MATERIAL QUIRÙRGICO (A) Y MICROOTOQUIRUGICO (B).

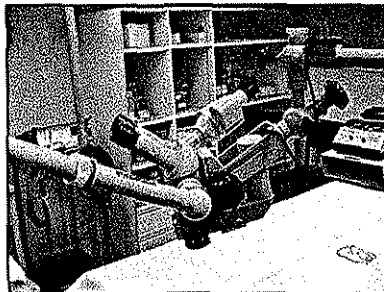


FOTO 41. MICROSCOPIO QUIRURGICO



MEDICAMENTOS UTILIZADOS

- ✓ Trimetropin / Sulfametoxazol 250mgs/5ml
- ✓ Xilocaina 1% + Epinefrina. Fco. de 50 ml.
- ✓ Clorhidrato de Xilacina 2%.
- ✓ Ketamina 50 mgs/1 ml.
- ✓ Adrenalina 1/1000 Amp. de 1 ml.
- ✓ Timerosal
- ✓ Alcohol naftalinado en dilución comercial.

USO DE ANTIBIÓTICOS

Como en la mayoría de procedimientos quirúrgicos, la utilización de antibióticos resulta de vital importancia para evitar una morbilidad innecesaria.

Los antibióticos pueden ocasionar un desequilibrio en la flora intestinal y producir una enteritis aguda o una toxemia que puede resultar mortal unas 48 horas o más después de la administración de un antibiótico.

Los antibióticos en los cobayos tienen un uso restringido ya que muchos de ellos se consideran tóxicos como lo son: la Penicilina, Bacitracina, Meticilina, Eritromicina y Tetraciclina, los cuales en general están contraindicados en ellos.

Existen pocos trabajos sobre el empleo de antibióticos en el tratamiento de enfermedades del cobayo por lo que deben extremarse las precauciones cuando se utilicen.

Nosotros utilizamos Trimetoprim / Sulfametoxazol en una concentración de 250mg/5ml, diluyendo 5 ml en 50 cc de agua bidestilada y dándolos a libre demanda por el término de 5 días.

Los antibióticos pueden ser dados VO, IM, SC, IP.^{1,8,9,13} (Tabla 3)

TABLA 3. ANTIBIÓTICOS RECOMENDADOS

ANTIBIÓTICO	DOSIS/COBAYO
Cloramfenicol	30-50 mg/kg cada 12 hrs.
Enrofloxacin	5 mg/kg cada 12 hrs.
Tmt / Sulfa	30 mg/kg cada 12 hrs.
Cefalosporinas	5-30 mg/kg cada 12 hrs.
Penicilina	no usar
Ampicilina	no usar

VIAS DE APLICACIÓN FARMACOLÓGICA Y TOMA DE MUESTRAS

Los tipos de administración farmacológica son diversas la que utilizamos nosotros y que recomendamos fue la intramuscular en la pata trasera derecha y dentro de otras podemos citar:



MEDICAMENTOS UTILIZADOS

- ✓ Trimetropin / Sulfametoxazol 250mgs/5ml
- ✓ Xilocaina 1% + Epinefrina. Fco. de 50 ml.
- ✓ Clorhidrato de Xilacina 2%.
- ✓ Ketamina 50 mgs/1 ml.
- ✓ Adrenalina 1/1000 Amp. de 1 ml.
- ✓ Timerosal
- ✓ Alcohol naftalinado en dilución comercial.

USO DE ANTIBIÓTICOS

Como en la mayoría de procedimientos quirúrgicos, la utilización de antibióticos resulta de vital importancia para evitar una morbilidad innecesaria.

Los antibióticos pueden ocasionar un desequilibrio en la flora intestinal y producir una enteritis aguda o una toxemia que puede resultar mortal unas 48 horas o más después de la administración de un antibiótico.

Los antibióticos en los cobayos tienen un uso restringido ya que muchos de ellos se consideran tóxicos como lo son: la Penicilina, Bacitracina, Meticilina, Eritromicina y Tetraciclina, los cuales en general están contraindicados en ellos.

Existen pocos trabajos sobre el empleo de antibióticos en el tratamiento de enfermedades del cobayo por lo que deben extremarse las precauciones cuando se utilicen.

Nosotros utilizamos Trimetoprim / Sulfametoxazol en una concentración de 250mg/5ml, diluyendo 5 ml en 50 cc de agua bidestilada y dándolos a libre demanda por el término de 5 días.

Los antibióticos pueden ser dados VO, IM, SC, IP.^{1,8,9,13} (Tabla 3)

TABLA 3. ANTIBIÓTICOS RECOMENDADOS

ANTIBIÓTICO	DOSIS/COBAYO
Cloramfenicol	30-50 mg/kg cada 12 hrs.
Enrofloxacin	5 mg/kg cada 12 hrs.
Tmt / Sulfa	30 mg/kg cada 12 hrs.
Cefalosporinas	5-30 mg/kg cada 12 hrs.
Penicilina	no usar
Ampicilina	no usar

VIAS DE APLICACIÓN FARMACOLÓGICA Y TOMA DE MUESTRAS

Los tipos de administración farmacológica son diversas la que utilizamos nosotros y que recomendamos fue la intramuscular en la pata trasera derecha y dentro de otras podemos citar:



MEDICAMENTOS UTILIZADOS

- ✓ Trimetropin / Sulfametoxazol 250mgs/5ml
- ✓ Xilocaina 1% + Epinefrina. Fco. de 50 ml.
- ✓ Clorhidrato de Xilacina 2%.
- ✓ Ketamina 50 mgs/1 ml.
- ✓ Adrenalina 1/1000 Amp. de 1 ml.
- ✓ Timerosal
- ✓ Alcohol naftalinado en dilución comercial.

USO DE ANTIBIÓTICOS

Como en la mayoría de procedimientos quirúrgicos, la utilización de antibióticos resulta de vital importancia para evitar una morbilidad innecesaria.

Los antibióticos pueden ocasionar un desequilibrio en la flora intestinal y producir una enteritis aguda o una toxemia que puede resultar mortal unas 48 horas o más después de la administración de un antibiótico.

Los antibióticos en los cobayos tienen un uso restringido ya que muchos de ellos se consideran tóxicos como lo son: la Penicilina, Bacitracina, Meticilina, Eritromicina y Tetraciclina, los cuales en general están contraindicados en ellos.

Existen pocos trabajos sobre el empleo de antibióticos en el tratamiento de enfermedades del cobayo por lo que deben extremarse las precauciones cuando se utilicen.

Nosotros utilizamos Trimetoprim / Sulfametoxazol en una concentración de 250mg/5ml, diluyendo 5 ml en 50 cc de agua bidestilada y dándolos a libre demanda por el término de 5 días.

Los antibióticos pueden ser dados VO, IM, SC, IP.^{1,8,9,13} (Tabla 3)

TABLA 3. ANTIBIÓTICOS RECOMENDADOS

ANTIBIÓTICO	DOSIS/COBAYO
Cloramfenicol	30-50 mg/kg cada 12 hrs.
Enrofloxacin	5 mg/kg cada 12 hrs.
Tmt / Sulfa	30 mg/kg cada 12 hrs.
Cefalosporinas	5-30 mg/kg cada 12 hrs.
Penicilina	no usar
Ampicilina	no usar

VIAS DE APLICACIÓN FARMACOLÓGICA Y TOMA DE MUESTRAS

Los tipos de administración farmacológica son diversas la que utilizamos nosotros y que recomendamos fue la intramuscular en la pata trasera derecha y dentro de otras podemos citar:

- ✓ Intramuscular (IM)
- ✓ Intracardiaca (IC)
- ✓ Intraperitoneal (IP)
- ✓ Oral (VO)
- ✓ Subcutanea (SC)
- ✓ Transmucosa

Previa a la aplicación del medicamento, el animal se debe de sujetar bien y disponerse de 2 personas; pues de lo contrario se puede lesionar al animal. ^{9,11}. (foto 42).

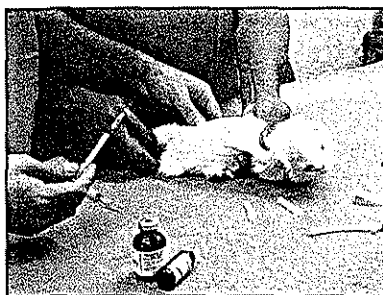


FOTO 42. SUJETAMIENTO DEL ANIMAL

En este ensayo nosotros solamente utilizamos el tipo intramuscular aplicándola a nivel del muslo derecho y con la técnica de aspiración previa. (foto 43).

Y dentro de los lugares para la toma de muestras de líquidos corporales tenemos: vías para toma de muestras: ^{8,9,11,13}.

- | | |
|-----------|----------------------------|
| ✓ Sangre: | Intracardiaca (ic), Oreja. |
| ✓ Orina: | Cateterismo. |



FOTO 43. APLICACIÓN DE MEDICAMENTOS INTRAMUSCULARES

ESPECIFICACIONES PARA LA APLICACIÓN DE MEDICAMENTOS

En la TABLA 4 se resumen ciertos elementos importantes a tomar en cuenta relacionado con los lugares de aplicación, volumen recomendado de líquido aplicado para evitar lesiones tisulares así como el calibre de las agujas. ^{9,11}

- ✓ Intramuscular (IM)
- ✓ Intracardiaca (IC)
- ✓ Intraperitoneal (IP)
- ✓ Oral (VO)
- ✓ Subcutanea (SC)
- ✓ Transmucosa

Previa a la aplicación del medicamento, el animal se debe de sujetar bien y disponerse de 2 personas; pues de lo contrario se puede lesionar al animal. ^{9,11}. (foto 42).

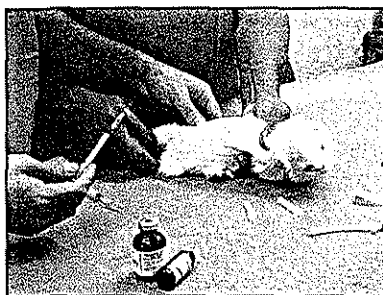


FOTO 42. SUJETAMIENTO DEL ANIMAL

En este ensayo nosotros solamente utilizamos el tipo intramuscular aplicándola a nivel del muslo derecho y con la técnica de aspiración previa. (foto 43).

Y dentro de los lugares para la toma de muestras de líquidos corporales tenemos: vías para toma de muestras: ^{8,9,11,13}.

- | | |
|-----------|----------------------------|
| ✓ Sangre: | Intracardiaca (ic), Oreja. |
| ✓ Orina: | Cateterismo. |



FOTO 43. APLICACIÓN DE MEDICAMENTOS INTRAMUSCULARES

ESPECIFICACIONES PARA LA APLICACIÓN DE MEDICAMENTOS

En la TABLA 4 se resumen ciertos elementos importantes a tomar en cuenta relacionado con los lugares de aplicación, volumen recomendado de líquido aplicado para evitar lesiones tisulares así como el calibre de las agujas. ^{9,11}



TABLA 4. RECOMENDACIONES PARA LA APLICACIÓN DE LOS MEDICAMENTOS

SITIO DE INYECCION	LUGAR	VOL	CALIBRE DE AGUJA
SC	Piel del cuello, lomo	5-10ml	menos de 20 gauze
IM	Cuadriceps musculos	0.3 ml	menos de 21 gauze
IP	Abdomen	10-15 ml	menos de 21 gauze
IV	Vena de oreja, Safena, Dorsal del pene.	0.5 ml	menos de 23 gauze

SACRIFICIO DE LOS ANIMALES

Para la realización de las evaluaciones subsecuentes en la gran mayoría de casos se necesita sacrificar al animal por lo tanto consideramos necesario hacer una descripción de este procedimiento según las normas éticas de animales de laboratorio a nivel internacional.

El sacrificio de un animal o grupo de estos mediante técnicas reconocidas como humanitarias, es denominado en todas sus dimensiones como eutanasia. Para que este procedimiento pueda ser conceptualizado y aceptado como tal, deberá implicar una muerte tranquila sin dolor, o ansiedad por parte del sujeto.

De acuerdo con la literatura, el criterio de aceptación para un método eutanásico, tiene como condición básica el que éste sea capaz de inducir en forma inicial, una acción depresiva sobre el sistema nervioso central, asegurando consecuentemente una insensibilidad simultánea tanto al dolor como al medio externo. En la actualidad se han descrito varios métodos para el sacrificio de animales, que son considerados como eutanásicos; entre estos sobresalen los físicos y los químicos. Los primeros incluyen entre otros, la decapitación mediante el uso de una guillotina, la dislocación cervical, el desnucamiento así como el aturdimiento. Dichas prácticas son principalmente empleadas con pequeños roedores y conejos, resultando antiestéticas a la vista y sugiriendo la posibilidad de infligir un dolor extenuante, si no son aplicadas de manera efectiva.

Otras formas de eutanasia, incluyen la electrocución, el empleo de Acido Cianhídrico gaseoso, monóxido de carbono, etc. Sin embargo, dados los peligros potenciales derivados del manejo de estos agentes, su uso no es recomendable. En contraste, considerando las especies de laboratorio utilizadas en los bioterios institucionales, se sugiere el uso de dos métodos altamente económicos y efectivos, que son descritos a continuación:

La eutanasia para roedores mediante el uso de **bióxido de carbono** es un método que resulta práctico y económico, debiéndose llevar a cabo por medio de una cámara de eutanasia diseñada de acuerdo con las necesidades particulares de la empresa. Los animales son colocados en el interior de la misma, introduciendo el bióxido de carbono por espacio de 3 o mas minutos. Esto último, dependerá del volumen y capacidad del dispositivo empleado y la cantidad de roedores sacrificados. Las ventajas mas sobresalientes del uso de este gas, incluyen una acción de narcosis inicial que induce en los animales de la cual no se recuperan, muriendo prácticamente sin tener noción de nada desagradable. Asimismo, se menciona la inocuidad de este agente y su uso potencial en varias especies de laboratorio, como son los conejos, gatos, etc. de igual forma, se destaca su facilidad de adquisición en cilindros o bien, en su estado sólido como hielo seco, constituyendo a la fecha el método mas eficaz y económico. Este fué el método utilizado en nuestra investigación, realizando el



TABLA 4. RECOMENDACIONES PARA LA APLICACIÓN DE LOS MEDICAMENTOS

SITIO DE INYECCION	LUGAR	VOL	CALIBRE DE AGUJA
SC	Piel del cuello, lomo	5-10ml	menos de 20 gauze
IM	Cuadriceps musculos	0.3 ml	menos de 21 gauze
IP	Abdomen	10-15 ml	menos de 21 gauze
IV	Vena de oreja, Safena, Dorsal del pene.	0.5 ml	menos de 23 gauze

SACRIFICIO DE LOS ANIMALES

Para la realización de las evaluaciones subsecuentes en la gran mayoría de casos se necesita sacrificar al animal por lo tanto consideramos necesario hacer una descripción de este procedimiento según las normas éticas de animales de laboratorio a nivel internacional.

El sacrificio de un animal o grupo de estos mediante técnicas reconocidas como humanitarias, es denominado en todas sus dimensiones como eutanasia. Para que este procedimiento pueda ser conceptualizado y aceptado como tal, deberá implicar una muerte tranquila sin dolor, o ansiedad por parte del sujeto.

De acuerdo con la literatura, el criterio de aceptación para un método eutanásico, tiene como condición básica el que éste sea capaz de inducir en forma inicial, una acción depresiva sobre el sistema nervioso central, asegurando consecuentemente una insensibilidad simultánea tanto al dolor como al medio externo. En la actualidad se han descrito varios métodos para el sacrificio de animales, que son considerados como eutanásicos; entre estos sobresalen los físicos y los químicos. Los primeros incluyen entre otros, la decapitación mediante el uso de una guillotina, la dislocación cervical, el desnucamiento así como el aturdimiento. Dichas prácticas son principalmente empleadas con pequeños roedores y conejos, resultando antiestéticas a la vista y sugiriendo la posibilidad de infligir un dolor extenuante, si no son aplicadas de manera efectiva.

Otras formas de eutanasia, incluyen la electrocución, el empleo de Acido Cianhídrico gaseoso, monóxido de carbono, etc. Sin embargo, dados los peligros potenciales derivados del manejo de estos agentes, su uso no es recomendable. En contraste, considerando las especies de laboratorio utilizadas en los bioterios institucionales, se sugiere el uso de dos métodos altamente económicos y efectivos, que son descritos a continuación:

La eutanasia para roedores mediante el uso de **bióxido de carbono** es un método que resulta práctico y económico, debiéndose llevar a cabo por medio de una cámara de eutanasia diseñada de acuerdo con las necesidades particulares de la empresa. Los animales son colocados en el interior de la misma, introduciendo el bióxido de carbono por espacio de 3 o mas minutos. Esto último, dependerá del volumen y capacidad del dispositivo empleado y la cantidad de roedores sacrificados. Las ventajas mas sobresalientes del uso de este gas, incluyen una acción de narcosis inicial que induce en los animales de la cual no se recuperan, muriendo prácticamente sin tener noción de nada desagradable. Asimismo, se menciona la inocuidad de este agente y su uso potencial en varias especies de laboratorio, como son los conejos, gatos, etc. de igual forma, se destaca su facilidad de adquisición en cilindros o bien, en su estado sólido como hielo seco, constituyendo a la fecha el método mas eficaz y económico. Este fuè el método utilizado en nuestra investigación, realizando el

sacrificio en 17 animales para ser luego procesadas las piezas otológicas para que fueran estudiadas y evaluadas por el histopatólogo. En la FOTO 44 mostramos el aparato de Eutanasia utilizado así como el tanque cilíndrico de bióxido de carbono necesario para tal fin. En cuanto a la eutanasia para diversas especies usando **barbitúricos**, cuando la necesidad del analista o del clínico veterinario, es el eutanazar tan solo un número reducido de animales y no se cuente con bióxido de carbono, se puede emplear una sobredosis de agentes anestésicos como el pentobarbital sódico o un compuesto preparado a base de drogas similares, administrando en forma intravenosa o intraperitoneal, obteniendo efectos casi inmediatos en ambos casos. Finalmente se enfatiza la necesidad de que las prácticas eutanásicas referidas, sean ejecutadas por personal altamente responsable y debidamente entrenado.^{3,4,11.}



FOTO 44. APARATO DE EUTANASIA A BASE DE BIÓXIDO DE CARBONO

PAPEL DEL MEDICO VETERINARIO

Dentro del servicio que nos proporcionaron los médicos veterinarios vemos que generalmente fueron servicios de apoyo a la operación, mediante la realización de actividades médicas, apoyo quirúrgico, zootécnicas y sanitarias. Dichas responsabilidades resultan indispensables para definir los cuidados, manejo clínico y quirúrgico; así mismo este profesionalista fue un auxiliar básico en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades, previéndonos de asistencia experta a nosotros como investigadores y analistas en nuestro programa de investigación. De igual forma, asumió también funciones de supervisión y de tipo administrativas de la operación experimental. La cobertura y ámbito de acción de este, estuvo invariablemente determinada por el tamaño del proyecto y el número de especímenes involucrados. Culminando su excelente participación en el sacrificio de los animales y la posterior preparación de los especímenes para patología.^{9,11.}

DESCRIPCION DE LA PREPARACION PARA EL ESTUDIO HISTOPATOLOGICO

Se entregaron al Servicio de Patología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Seguro Social, los hemicráneos derechos con piel y oreja de 17 cobayos y 6 hemicraneos izquierdos, fijados en formol al 10% y cada uno se sometió al siguiente procedimiento: se seccionó el cráneo con un corte sagital la línea media y el canal auditivo externo en corte coronal con una sierra Striker, se cortó el hueso temporal y se identificó la bulla timpánica, la cual fue seccionada y sumergida en ácido nítrico al 5% con recambios cada 3 horas durante 24 horas a temperatura ambiente para remover el calcio, se lavaron con agua tridestilada, con agua corriente y finalmente a chorro de agua por dos horas. Se realizaron cortes a 4 micras y se tiñó con Hematoxilina y Eosina así como con Tricrómico de Masson. Luego se sometieron a proceso de deshidratación con alcohol

sacrificio en 17 animales para ser luego procesadas las piezas otológicas para que fueran estudiadas y evaluadas por el histopatólogo. En la FOTO 44 mostramos el aparato de Eutanasia utilizado así como el tanque cilíndrico de bióxido de carbono necesario para tal fin. En cuanto a la eutanasia para diversas especies usando **barbitúricos**, cuando la necesidad del analista o del clínico veterinario, es el eutanazar tan solo un número reducido de animales y no se cuente con bióxido de carbono, se puede emplear una sobredosis de agentes anestésicos como el pentobarbital sódico o un compuesto preparado a base de drogas similares, administrando en forma intravenosa o intraperitoneal, obteniendo efectos casi inmediatos en ambos casos. Finalmente se enfatiza la necesidad de que las prácticas eutanásicas referidas, sean ejecutadas por personal altamente responsable y debidamente entrenado.^{3,4,11.}



FOTO 44. APARATO DE EUTANASIA A BASE DE BIÓXIDO DE CARBONO

PAPEL DEL MEDICO VETERINARIO

Dentro del servicio que nos proporcionaron los médicos veterinarios vemos que generalmente fueron servicios de apoyo a la operación, mediante la realización de actividades médicas, apoyo quirúrgico, zootécnicas y sanitarias. Dichas responsabilidades resultan indispensables para definir los cuidados, manejo clínico y quirúrgico; así mismo este profesionalista fue un auxiliar básico en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades, previéndonos de asistencia experta a nosotros como investigadores y analistas en nuestro programa de investigación. De igual forma, asumió también funciones de supervisión y de tipo administrativas de la operación experimental. La cobertura y ámbito de acción de este, estuvo invariablemente determinada por el tamaño del proyecto y el número de especímenes involucrados. Culminando su excelente participación en el sacrificio de los animales y la posterior preparación de los especímenes para patología.^{9,11.}

DESCRIPCION DE LA PREPARACION PARA EL ESTUDIO HISTOPATOLOGICO

Se entregaron al Servicio de Patología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Seguro Social, los hemicráneos derechos con piel y oreja de 17 cobayos y 6 hemicraneos izquierdos, fijados en formol al 10% y cada uno se sometió al siguiente procedimiento: se seccionó el cráneo con un corte sagital la línea media y el canal auditivo externo en corte coronal con una sierra Striker, se cortó el hueso temporal y se identificó la bulla timpánica, la cual fue seccionada y sumergida en ácido nítrico al 5% con recambios cada 3 horas durante 24 horas a temperatura ambiente para remover el calcio, se lavaron con agua tridestilada, con agua corriente y finalmente a chorro de agua por dos horas. Se realizaron cortes a 4 micras y se tiñó con Hematoxilina y Eosina así como con Tricrómico de Masson. Luego se sometieron a proceso de deshidratación con alcohol

sacrificio en 17 animales para ser luego procesadas las piezas otológicas para que fueran estudiadas y evaluadas por el histopatólogo. En la FOTO 44 mostramos el aparato de Eutanasia utilizado así como el tanque cilíndrico de bióxido de carbono necesario para tal fin. En cuanto a la eutanasia para diversas especies usando **barbitúricos**, cuando la necesidad del analista o del clínico veterinario, es el eutanazar tan solo un número reducido de animales y no se cuente con bióxido de carbono, se puede emplear una sobredosis de agentes anestésicos como el pentobarbital sódico o un compuesto preparado a base de drogas similares, administrando en forma intravenosa o intraperitoneal, obteniendo efectos casi inmediatos en ambos casos. Finalmente se enfatiza la necesidad de que las prácticas eutanásicas referidas, sean ejecutadas por personal altamente responsable y debidamente entrenado.^{3,4,11.}



FOTO 44. APARATO DE EUTANASIA A BASE DE BIÓXIDO DE CARBONO

PAPEL DEL MEDICO VETERINARIO

Dentro del servicio que nos proporcionaron los médicos veterinarios vemos que generalmente fueron servicios de apoyo a la operación, mediante la realización de actividades médicas, apoyo quirúrgico, zootécnicas y sanitarias. Dichas responsabilidades resultan indispensables para definir los cuidados, manejo clínico y quirúrgico; así mismo este profesionalista fue un auxiliar básico en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades, previéndonos de asistencia experta a nosotros como investigadores y analistas en nuestro programa de investigación. De igual forma, asumió también funciones de supervisión y de tipo administrativas de la operación experimental. La cobertura y ámbito de acción de este, estuvo invariablemente determinada por el tamaño del proyecto y el número de especímenes involucrados. Culminando su excelente participación en el sacrificio de los animales y la posterior preparación de los especímenes para patología.^{9,11.}

DESCRIPCION DE LA PREPARACION PARA EL ESTUDIO HISTOPATOLOGICO

Se entregaron al Servicio de Patología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Seguro Social, los hemicráneos derechos con piel y oreja de 17 cobayos y 6 hemicraneos izquierdos, fijados en formol al 10% y cada uno se sometió al siguiente procedimiento: se seccionó el cráneo con un corte sagital la línea media y el canal auditivo externo en corte coronal con una sierra Striker, se cortó el hueso temporal y se identificó la bulla timpánica, la cual fue seccionada y sumergida en ácido nítrico al 5% con recambios cada 3 horas durante 24 horas a temperatura ambiente para remover el calcio, se lavaron con agua tridestilada, con agua corriente y finalmente a chorro de agua por dos horas. Se realizaron cortes a 4 micras y se tiñó con Hematoxilina y Eosina así como con Tricrómico de Masson. Luego se sometieron a proceso de deshidratación con alcohol



absouto, etílico y xilol y se incluyeron en parafina parafina., cada corte fue examinado en microscopio ocular a 10X y 40X.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Considerando que el análisis depende de la calidad de los animales adquiridos para la realización de las pruebas, en el caso de encontrar un sujeto con apariencia enfermiza, debilitado por el estrés del transporte, o bien enfermara con posterioridad a su llegada al Bioterio, este era objeto de aislamiento para evitar la posible propagación de una enfermedad, se eutanizó al animal que entró en esta categoría y se notificó al proveedor acerca de ello, y se les solicitó el reemplazo de aquellos rechazados. Se incluyen 25 animales de experimentación, cobayos de la raza Dunkey-Harley hembras teniendo en cuenta que se incluyeron aquellos con una edad de 3 meses, con un peso de entre 600 y 900 grs. con la apariencia sana y se descartaron todo tipo de patologías para tener elementos en la muestra totalmente sanos. Los animales que posterior al procedimiento accidentalmente murieron no se tomaron en cuenta para los estudios histopatológicos ni los resultados. El resto de variables son tomadas en cuenta al realizar la evaluación preoperatoria.

RESULTADOS

De los 25 cobayos incluidos en el estudio se incluyeron 17 los cuales tuvieron las condiciones adecuadas sin cambios deletéreos, los 8 restantes fallecieron debido a 2 diferentes causas muy particulares; una fue la presencia de infección postoperatoria debida a fractura de una o las dos patas traseras del animal sufridas al introducirlas en la rejillas de las jaulas con el posterior mecanismo de fractura y la consecuencia infecciosa resultado directo del trauma.

El número de animales muertos por esta causa fue de 6 en total, de ellos 4 del grupo A y 2 del grupo B. La otra causa fue debida a obstrucción intestinal debido a la ingestión de serrín en el postoperatorio inmediato lo que les ocasionó alteraciones digestivas, obstrucción a la ingestión de el alimento preparado y deshidratación.

De ellos 1 fue del Grupo A y 1 del Grupo B.

De los 17 incluidos tenemos que 8 animales se clasificaron como grupo A operándoseles los oídos derechos colocándoseles solo Gelfoam; de los cuales 6 desarrollaron un grado 1 de fibrosis (FOTO 45) y 2 desarrollaron el grado 2 (FOTO 46).

No se observó ni el grado 3 ni el grado 4. Esto se observó al mes de intervenidos.



ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

FOTO 45. CORTE PARCIAL DE LA MUCOSA DEL OIDO MEDIO PRESENTANDO FIBROSIS GRADO 1 CON PROLIFERACION DE COLAGENA(ESTRELLA). SE PRESENTA CARTILAGO DE OIDO MEDIO (ASTERISCO), ADEMÁS VASOS SANGUINEOS (FLECHA), TEÑIDO CON HEMATOXILINA Y EOSINA AL 40X.



absouto, etílico y xilol y se incluyeron en parafina parafina., cada corte fue examinado en microscopio ocular a 10X y 40X.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Considerando que el análisis depende de la calidad de los animales adquiridos para la realización de las pruebas, en el caso de encontrar un sujeto con apariencia enfermiza, debilitado por el estrés del transporte, o bien enfermara con posterioridad a su llegada al Bioterio, este era objeto de aislamiento para evitar la posible propagación de una enfermedad, se eutanizó al animal que entró en esta categoría y se notificó al proveedor acerca de ello, y se les solicitó el reemplazo de aquellos rechazados. Se incluyen 25 animales de experimentación, cobayos de la raza Dunkey-Harley hembras teniendo en cuenta que se incluyeron aquellos con una edad de 3 meses, con un peso de entre 600 y 900 grs. con la apariencia sana y se descartaron todo tipo de patologías para tener elementos en la muestra totalmente sanos. Los animales que posterior al procedimiento accidentalmente murieron no se tomaron en cuenta para los estudios histopatológicos ni los resultados. El resto de variables son tomadas en cuenta al realizar la evaluación preoperatoria.

RESULTADOS

De los 25 cobayos incluidos en el estudio se incluyeron 17 los cuales tuvieron las condiciones adecuadas sin cambios deletéreos, los 8 restantes fallecieron debido a 2 diferentes causas muy particulares; una fue la presencia de infección postoperatoria debida a fractura de una o las dos patas traseras del animal sufridas al introducirlas en la rejillas de las jaulas con el posterior mecanismo de fractura y la consecuencia infecciosa resultado directo del trauma.

El número de animales muertos por esta causa fue de 6 en total, de ellos 4 del grupo A y 2 del grupo B. La otra causa fue debida a obstrucción intestinal debido a la ingestión de serrín en el postoperatorio inmediato lo que les ocasionó alteraciones digestivas, obstrucción a la ingestión de el alimento preparado y deshidratación.

De ellos 1 fue del Grupo A y 1 del Grupo B.

De los 17 incluidos tenemos que 8 animales se clasificaron como grupo A operándoseles los oídos derechos colocándoseles solo Gelfoam; de los cuales 6 desarrollaron un grado 1 de fibrosis (FOTO 45) y 2 desarrollaron el grado 2 (FOTO 46).

No se observó ni el grado 3 ni el grado 4. Esto se observó al mes de intervenidos.



**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

FOTO 45. CORTE PARCIAL DE LA MUCOSA DEL OIDO MEDIO PRESENTANDO FIBROSIS GRADO 1 CON PROLIFERACION DE COLAGENA(ESTRELLA). SE PRESENTA CARTILAGO DE OIDO MEDIO (ASTERISCO), ADEMÁS VASOS SANGUINEOS (FLECHA), TEÑIDO CON HEMATOXILINA Y EOSINA AL 40X.



absouto, etílico y xilol y se incluyeron en parafina parafina., cada corte fue examinado en microscopio ocular a 10X y 40X.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Considerando que el análisis depende de la calidad de los animales adquiridos para la realización de las pruebas, en el caso de encontrar un sujeto con apariencia enfermiza, debilitado por el estrés del transporte, o bien enfermara con posterioridad a su llegada al Bioterio, este era objeto de aislamiento para evitar la posible propagación de una enfermedad, se eutanizó al animal que entró en esta categoría y se notificó al proveedor acerca de ello, y se les solicitó el reemplazo de aquellos rechazados. Se incluyen 25 animales de experimentación, cobayos de la raza Dunkey-Harley hembras teniendo en cuenta que se incluyeron aquellos con una edad de 3 meses, con un peso de entre 600 y 900 grs. con la apariencia sana y se descartaron todo tipo de patologías para tener elementos en la muestra totalmente sanos. Los animales que posterior al procedimiento accidentalmente murieron no se tomaron en cuenta para los estudios histopatológicos ni los resultados. El resto de variables son tomadas en cuenta al realizar la evaluación preoperatoria.

RESULTADOS

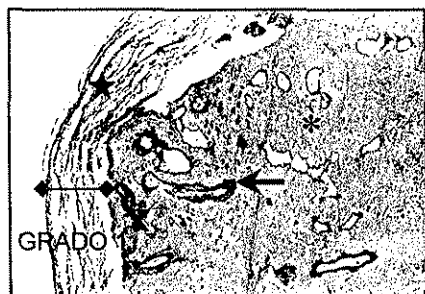
De los 25 cobayos incluidos en el estudio se incluyeron 17 los cuales tuvieron las condiciones adecuadas sin cambios deletéreos, los 8 restantes fallecieron debido a 2 diferentes causas muy particulares; una fue la presencia de infección postoperatoria debida a fractura de una o las dos patas traseras del animal sufridas al introducirlas en la rejillas de las jaulas con el posterior mecanismo de fractura y la consecuencia infecciosa resultado directo del trauma.

El número de animales muertos por esta causa fue de 6 en total, de ellos 4 del grupo A y 2 del grupo B. La otra causa fue debida a obstrucción intestinal debido a la ingestión de serrín en el postoperatorio inmediato lo que les ocasionó alteraciones digestivas, obstrucción a la ingestión de el alimento preparado y deshidratación.

De ellos 1 fue del Grupo A y 1 del Grupo B.

De los 17 incluidos tenemos que 8 animales se clasificaron como grupo A operándoseles los oídos derechos colocándoseles solo Gelfoam; de los cuales 6 desarrollaron un grado 1 de fibrosis (FOTO 45) y 2 desarrollaron el grado 2 (FOTO 46).

No se observó ni el grado 3 ni el grado 4. Esto se observó al mes de intervenidos.



**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

FOTO 45. CORTE PARCIAL DE LA MUCOSA DEL OIDO MEDIO PRESENTANDO FIBROSIS GRADO 1 CON PROLIFERACION DE COLAGENA(ESTRELLA). SE PRESENTA CARTILAGO DE OIDO MEDIO (ASTERISCO), ADEMÁS VASOS SANGUINEOS (FLECHA), TEÑIDO CON HEMATOXILINA Y EOSINA AL 40X.



FOTO 46. CORTE PARCIAL DE CAVIDAD DE OÍDO MEDIO MOSTRANDO **FIBROSIS GRADO 2**. PRESENTANDO PROLIFERACION DE FIBROBLASTOS (ESTRELLA) Y COLAGENA (ASTERISCO) CON GELFOAM, CARTILAGO DE OIDO MEDIO (PUNTO), RESTOS DE AC. HIALURONICO (FLECHA), TINCIÓN CON H Y E AL 40X.



FOTO 47. CORTE PARCIAL DE OÍDO MEDIO MOSTRANDO **FIBROSIS GRADO 3** PRESENTANDO PROLIFERACION DE FIBROBLASTOS Y COLAGENA INTENSA (ESTRELLA), CARTILAGO (ASTERISCO), FORMACIÓN DE NEOCARTILAGO (FLECHA), FORMACION DE NEOVASOS (TREBOL), TEÑIDO CON HEMATOXILINA Y EOSINA AL 40X.



FOTO 48. CORTE DE OÍDO MEDIO, MOSTRANDO CARTILAGO (ESTRELLA), ASÍ COMO EL EPITELIO CON UN PEQUEÑO GRADO DE FIBROSIS CATALOGADO COMO CONTROL, VASOS SANGUINEOS (ROMBO). TEÑIDO CON HEMATOXILINA Y EOSINA Y AL 40X.



Dentro de los 9 animales del grupo B, se encuentran los animales a los que se les intervino el oído derecho y que se le colocó solo Acido Hialurónico; encontramos que 6 animales desarrollaron un grado 1 (FOTO 45). Dos animales desarrollaron el grado 2 (FOTO 46) y 1 animal desarrolló fibrosis grado 3. (FOTO 47)

Ninguno de los animales desarrollaron el grado 4 de fibrosis. Estos resultados se encuentran especificados y detallados en la TABLA 6 y ejemplificados en las fotografías de los cortes descritas. Además se tomó como referencia la **Tabla de grados de fibrosis** expuesta en la sección de material y métodos. En ambos grupos se encontraron restos tanto de Gelfoam como de Acido Hialurónico, encontrándose en mayor cantidad el Gelfoam en comparación con el Acido Hialurónico. Hemos tomado convencionalmente un tercer grupo al que denominamos grupo C (Control). (FOTO 48). Este grupo control se encuentra formado por 6 animales tomados en forma aleatoria y a quienes además de trabajárseles el oído derecho se les escorió el oído izquierdo contralateral dejándolos por el término de 1 mes al igual que los oídos derechos de los grupos A y B a los que si se les aplicó uno de los dos materiales antes descritos. Los resultados histológicos se encuentran resumidos en la TABLA 6.

En los 6 oídos izquierdos de los animales del grupo C se encontraron solamente grado 1 de fibrosis. Esta distribución aleatoria de los grupos A, B y C así como las muertes se encuentra detallado en la siguiente TABLA 5:

TABLA 5 INTEGRANTES DE LOS GRUPOS Y FALLECIMIENTOS DE CADA GRUPO

CATEGORIA	GRUPO A GELFOAM	GRUPO B ACIDO HIALURONICO	GRUPO C CONTROL
INCLUIDOS ESPECIMENES #	1	11	
	2	13	1
	3	14	3
	4	16	8
	5	17	11
	6	18	17
	7	20	18
	8	22	
		24	
MUERTES ESPECIMENES #	9		
	10	21	
	12	23	0
	15	25	
	19		
SUB-TOTALES	13	12	6
TOTALES	A + B = 25		C = 6



Tabla 6. *Resultados por Grupo de Grados de fibrosis*

GRUPO	GRADO 1	GRADO 2	GRADO 3	GRADO 4
A TOTAL: 8 COBAYOS	6/8	2/8	0/8	0/8
B TOTAL: 9 COBAYOS	6/9	2/9	1/9	0/9
C TOTAL: 6 COBAYOS	6/6	0/6	0/6	0/6

PRINCIPIOS ETICOS

Actualmente, de conformidad con los principios éticos establecidos por organismos internacionales, el uso de animales experimentales deberá adherirse a criterios humanitarios muy estrictos, en donde el reemplazo, la reducción y el refinamiento de técnicas, así como la categorización del grado o intensidad de los procedimientos invasivos, debe considerarse como un aspecto fundamental, sujeto a ser sancionado por los comités institucionales para el uso y cuidado de animales de laboratorio.

De igual forma, el bienestar animal y su empleo ético en el laboratorio, sugieren el desarrollo de lineamientos y recomendaciones generales, para áreas particulares de investigación o de control de calidad, con el énfasis especialmente orientado a satisfacer tanto las demandas de la sociedad, como las necesidades de un trato humanitario de los sujetos de investigación. Por lo antes expuesto, es necesario que las instituciones en las cuales se utilizan animales de experimentación, establezcan comités que normen y supervisen estas actividades, con base en los principios éticos y de cuidado postulados. Describimos a continuación ciertas normas aceptadas por las leyes para el trato de los animales experimentales.

1. Todo experimento que involucre el uso de animales vivos, deberá ser desarrollado por, o bajo la supervisión de un científico debidamente calificado.
2. En toda instancia en donde sea requerido el uso de animales de laboratorio para control de calidad o investigación, estos deberán ser mantenidos en tal forma que se asegure su confort físico y su bienestar psicológico.
3. Los animales de laboratorio no deberán ser sujetos al dolor o bien, a un sufrimiento realmente innecesario. El protocolo de investigación deberá salvaguardar dicha condición, sin importar la naturaleza de la prueba en investigación, enseñanza o control de calidad de medicamentos. Así mismo, el costo y la conveniencia, no deberán prevalecer por encima de la salud física o mental de los animales.
4. Se procurará la opinión experta para juzgar la validez potencial del uso de animales de laboratorio, en especial para justificar el desarrollo de algunos procedimientos o prácticas restringidas, como las mencionadas a continuación:



41.

- 4.1. Las lesiones por calor o congelación, fracturas y otros tipos de traumas causados a animales anestesiados, deberán de ser desarrolladas de acuerdo con las prácticas aceptables de anestesia y analgesia de la medicina veterinaria, para aliviar el dolor durante y posterior a dichos procedimientos.
- 4.2. El encuentro y/o el confinamiento de animales depredadores con sus presas, o bien de especies en donde fuera probable la ocurrencia de lesiones por peleas prolongadas.
5. Si el dolor o el sufrimiento son concomitantes necesarios para el estudio, estos deberán ser reducidos tanto en su período de duración, como en intensidad. consecuentemente, los investigadores y comités de uso y cuidados de animales, observaran una especial cautela, al evaluar los propósitos y el valor real de realizar procedimientos como los siguientes:.
6. Procedimientos como los ejemplificados a continuación:
 - 6.1. Experimentos que impidan la medicación analgésica de tipo pre y postoperatoria.
 - 6.2. Experimentos que provoquen una inmovilización o parálisis en el sujeto, sin la reducción de la sensación al dolor.
 - 6.3. Experimentos con reforzamientos negativos, en donde se utilicen electrochoques.
 - 6.4. Experimentos que involucre condiciones ambientales extremas como baja o alta temperatura, humedad relativa, etc. o cambios bruscos de estas.
 - 6.5. Experimentos destinados al estudio del estrés y el dolor.
 - 6.6. Experimentos que requieran la privación de alimento y de agua durante períodos incompatibles con las necesidades fisiológicas particulares del animal; enfatizando que este tipo de estudios, no deberán tener efectos que actúen en detrimento de la salud del sujeto.
7. De observarse un animal sufriendo dolor severo intratable, este deberá ser sacrificado humanitariamente, mediante un método eutanásico que induzca una inconsciencia inicial.
8. Experimentos capaces de inducir un dolor excesivo y que por lo tanto resultan inaceptables, incluyen los siguientes:
 - 8.1. El uso de drogas paralizantes o relajantes musculares (tipo curare y curareiformes), solas sin anestésicos durante procedimientos de orden quirúrgicos.
 - 8.2. Aquellos procedimientos de trauma directo, como lo son el aplastamiento, quemaduras, impactos o bien, golpes en animales sin anestesiarse.
9. En investigaciones de tipo toxicológico, cáncer y de enfermedades infecciosas, en donde un estudio pudiese continuar hasta la muerte del animal, se deberá aplicar el criterio de modificación de objetivos,
10. De observarse signos distintivos de sufrimiento o dolor irreversible. De esta manera pueden ser conciliados, tanto los requerimientos del estudio así como las necesidades del animal.
11. La sujeción física prolongada de los animales, únicamente debe de ser considerada si todas las alternativas han sido agotadas. En todo evento, los sujetos mantenidos bajo



este régimen deben ser objeto de cuidados extraordinarios, conforme lo requieran las especies en estudio.

12. No se justifica el desarrollo de procedimientos dolorosos o invasivos del tipo múltiple, tan solo para efectos de enseñanza o bien, para la comprobación de conocimiento científico ya establecido. En estos casos, es muy recomendable el recurrir al uso de métodos alternos audiovisuales, para difundir esta información en forma preliminar, tratando con ello de limitar un uso innecesario de animales de laboratorio.^{11.}

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Es conocido que ocurre un proceso de fibrosis en la cavidad del oído medio después de un procedimiento quirúrgico y que esta fibrosis tiene la habilidad de producir bandas cicatriciales cuando la mucosa se encuentra alterada. Teóricamente, este proceso puede afectar la aireación de la cavidad del oído medio, disminuir -por efecto mecánico- la movilidad de la cadena y afectar el nivel auditivo máximo que se podría lograr en forma postoperatoria. Si tenemos un oído con epitelio sano y una cirugía poco invasiva no tendrá gran impacto en el oído.^{18.}

A diferencia de la cirugía realizada en un oído sano y en un oído crónicamente infectado; el impacto de esta es mínimo en el primero; pero es mucho mayor en la segunda, debido a que la mucosa de este último esta frecuentemente edematosa, mostrando cambios de un epitelio cuboidal a escamoso y con pérdida de la función ciliar.¹⁸ En esos casos, al realizar una cirugía, frecuentemente toda la mucosa es denudada y removida en un intento de limpiar el oído de toda la enfermedad.

Ha sido bien demostrado en animales de experimentación que el Gelfoam colocado dentro del oído medio produce fibrosis en una mucosa denudada^{23,24,25,27,28.}; como se hizo notar en los estudios de Hellstrom y Joseph²³ en donde se puntualizó que se produce una reacción fibrosa extensa al colocar Gelfoam en la cavidad de oído medio después de realizarse excoりación a la mucosa, lo cual no resultó del todo cierto en nuestro estudio; probablemente porque previamente toda la mucosa era sana.

Es importante hacer notar que si tenemos una mucosa sana y que además se encuentra bien aireada, la fibrosis no ocurrirá y la mucosa regresará a su estado normal.^{26.} Lo cual si fué demostrado en nuestro trabajo.

Como datos anexos a este estudio podemos comentar que en el animal etiquetado como número 11 perteneciente al Grupo B (Acido Hialurónico) no se le encontró fibrosis. En el animal número 6 del Grupo A; como hallazgo curioso se encontró incidentalmente un paraganglioma que no alteró los resultados del estudio. En el animal número 13 del Grupo B (Acido Hialurónico); se identificó inflamación crónica granulomatosa con reacción a cuerpo extraño que se podría relacionar con la presencia de sutura que pudo ser incluida en forma accidental dentro de la cavidad de oído medio. Además como dato importante en nuestro estudio se encontró que la cantidad de tejido de granulación (capilares, fibras de colágenas individuales y signos de inflamación crónica) fueron identificados en menor índice en los animales del grupo B en comparación con los del grupo A.

Hemos intentando demostrar el efecto protector logrado por el Acido Hialurónico en disminuir la fibrosis postoperatoria cuando se utiliza sobre la mucosa denudada del oído medio. Se identificó que su eficacia al utilizarlo solo es similar a la eficiencia del Gelfoam para lograr este efecto. No se logró encontrar una cavidad libre tanto de Gelfoam como de Acido Hialurónico, posiblemente esto se logra evaluando su ausencia o presencia dejando un poco



este régimen deben ser objeto de cuidados extraordinarios, conforme lo requieran las especies en estudio.

12. No se justifica el desarrollo de procedimientos dolorosos o invasivos del tipo múltiple, tan solo para efectos de enseñanza o bien, para la comprobación de conocimiento científico ya establecido. En estos casos, es muy recomendable el recurrir al uso de métodos alternos audiovisuales, para difundir esta información en forma preliminar, tratando con ello de limitar un uso innecesario de animales de laboratorio.^{11.}

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Es conocido que ocurre un proceso de fibrosis en la cavidad del oído medio después de un procedimiento quirúrgico y que esta fibrosis tiene la habilidad de producir bandas cicatriciales cuando la mucosa se encuentra alterada. Teóricamente, este proceso puede afectar la aireación de la cavidad del oído medio, disminuir -por efecto mecánico- la movilidad de la cadena y afectar el nivel auditivo máximo que se podría lograr en forma postoperatoria. Si tenemos un oído con epitelio sano y una cirugía poco invasiva no tendrá gran impacto en el oído.^{18.}

A diferencia de la cirugía realizada en un oído sano y en un oído crónicamente infectado; el impacto de esta es mínimo en el primero; pero es mucho mayor en la segunda, debido a que la mucosa de este último esta frecuentemente edematosa, mostrando cambios de un epitelio cuboidal a escamoso y con pérdida de la función ciliar.¹⁸ En esos casos, al realizar una cirugía, frecuentemente toda la mucosa es denudada y removida en un intento de limpiar el oído de toda la enfermedad.

Ha sido bien demostrado en animales de experimentación que el Gelfoam colocado dentro del oído medio produce fibrosis en una mucosa denudada^{23,24,25,27,28.}; como se hizo notar en los estudios de Hellstrom y Joseph²³ en donde se puntualizó que se produce una reacción fibrosa extensa al colocar Gelfoam en la cavidad de oído medio después de realizarse excoaración a la mucosa, lo cual no resultó del todo cierto en nuestro estudio; probablemente porque previamente toda la mucosa era sana.

Es importante hacer notar que si tenemos una mucosa sana y que además se encuentra bien aireada, la fibrosis no ocurrirá y la mucosa regresará a su estado normal.^{26.} Lo cual si fué demostrado en nuestro trabajo.

Como datos anexos a este estudio podemos comentar que en el animal etiquetado como número 11 perteneciente al Grupo B (Acido Hialurónico) no se le encontró fibrosis. En el animal número 6 del Grupo A; como hallazgo curioso se encontró incidentalmente un paraganglioma que no alteró los resultados del estudio. En el animal número 13 del Grupo B (Acido Hialurónico); se identificó inflamación crónica granulomatosa con reacción a cuerpo extraño que se podría relacionar con la presencia de sutura que pudo ser incluida en forma accidental dentro de la cavidad de oído medio. Además como dato importante en nuestro estudio se encontró que la cantidad de tejido de granulación (capilares, fibras de colágenas individuales y signos de inflamación crónica) fueron identificados en menor índice en los animales del grupo B en comparación con los del grupo A.

Hemos intentando demostrar el efecto protector logrado por el Acido Hialurónico en disminuir la fibrosis postoperatoria cuando se utiliza sobre la mucosa denudada del oído medio. Se identificó que su eficacia al utilizarlo solo es similar a la eficiencia del Gelfoam para lograr este efecto. No se logró encontrar una cavidad libre tanto de Gelfoam como de Acido Hialurónico, posiblemente esto se logra evaluando su ausencia o presencia dejando un poco



más de tiempo estas sustancias en oído medio como se propone en estudios previos; siendo este tiempo aproximado de unos 60 días.

Por otra parte sería recomendable evaluar el efecto en conjunto del Acido Hialurónico sobre la mucosa desnuda y empaquetar la cavidad con Gelfoam y realizar el estudio a los 60 días de operados los animales y observar el comportamiento tanto de la fibrosis como la presencia de ambas sustancias lo cual suponemos será de menor cantidad de fibrosis como de ausencia de las sustancias. Esta propuesta sería aplicable por ejemplo a las reconstrucciones osiculares las cuales necesitan ser proveídas de soporte el cual puede ser dado por el Gelfoam por un tiempo suficiente para su estabilización.

Un dato importante aportado por el trabajo es la gran capacidad de biodegradación¹⁷ alcanzada por el ácido Hialurónico al ser encontrado en menor cantidad que el Gelfoam¹⁸ lo cual lo hace un producto atractivo para ser usado en humanos. Esta capacidad es compartida por las películas de gelatina (Gelfilm) y no la presentan sustancias utilizadas en cirugías de oído medio como lo es el Teflón y el Silastic. Concordamos con Leining²⁸ el cual refiere que es difícil hacer conclusiones secundariamente en humanos debido a las variaciones interespecie. Aún con todo esto los datos son alentadores y se necesitará realizar trabajos posteriores similares con la esperanza de obtener resultados concluyentes al respecto que puedan ser aplicables a la cirugía otológica humana.

BIBLIOGRAFIA

1. **GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS.** COMMITTEE ON CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS OF THE INSTITUTE OF LABORATORY ANIMAL RESOURCE., COMMISSION ON LIFE SCIENCES., NATIONAL RESEARCH COUNCIL. REVISED EDITION, 1985.
2. **NASCO FARM AND RANCH CATALOG.**, MODESTO, CA. 32450 USA.
3. AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. 1993. **1993 REPORT OF THE AVMA PANEL ON EUTHANASIA.** AM. J. VET. MED. ASSOC. 202(2): 229-249.
4. HUGHES, H.D. 1976. **EUTHANASIA OF LABORATORY ANIMALS.** PP. 553-560. EN: HANDBOOK OF LABORATORY ANIMAL SCIENCE. VOL. III. EDITADO POR E.D. MELBY JR. Y N. H. ALTMAN., C.R.C. PRESS, CLEVELAND, OH., USA.
5. ANCHEL, M. 1976. **BEYOND "ADEQUATE VETERINARY CARE".** AM. J. VET. MED. ASSOC. 168: 513-515.
6. CCAC (CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE). 1989. **CATEGORIES OF INVASIVENESS IN ANIMAL EXPERIMENTS. A REPORT,** OCTOBER 1989. OTTAWA, ONTARIO K1P 5H3, CANADA.
7. DRESSER, R. 1989. **DEVELOPING STANDARDS IN ANIMAL RESEARCH REVIEW.** AM. J. VET. MED. ASSOC. 194 (9): 1184-1191.
8. LATT, R.H. 1976. **DRUG DOSAGES IN LABORATORY ANIMALS.** PP. 561-568. EN: HANDBOOK OF LABORATORY ANIMAL SCIENCE. VOL. III. EDITADO POR E.D. MELBY JR. Y N. H. ALTMANN., C.R.C. PRESS INC. CLEVELAND, OH., USA.



más de tiempo estas sustancias en oído medio como se propone en estudios previos; siendo este tiempo aproximado de unos 60 días.

Por otra parte sería recomendable evaluar el efecto en conjunto del Acido Hialurónico sobre la mucosa desnuda y empaquetar la cavidad con Gelfoam y realizar el estudio a los 60 días de operados los animales y observar el comportamiento tanto de la fibrosis como la presencia de ambas sustancias lo cual suponemos será de menor cantidad de fibrosis como de ausencia de las sustancias. Esta propuesta sería aplicable por ejemplo a las reconstrucciones osiculares las cuales necesitan ser proveídas de soporte el cual puede ser dado por el Gelfoam por un tiempo suficiente para su estabilización.

Un dato importante aportado por el trabajo es la gran capacidad de biodegradación¹⁷ alcanzada por el ácido Hialurónico al ser encontrado en menor cantidad que el Gelfoam¹⁸ lo cual lo hace un producto atractivo para ser usado en humanos. Esta capacidad es compartida por las películas de gelatina (Gelfilm) y no la presentan sustancias utilizadas en cirugías de oído medio como lo es el Teflón y el Silastic. Concordamos con Leining²⁸ el cual refiere que es difícil hacer conclusiones secundariamente en humanos debido a las variaciones interespecie. Aún con todo esto los datos son alentadores y se necesitará realizar trabajos posteriores similares con la esperanza de obtener resultados concluyentes al respecto que puedan ser aplicables a la cirugía otológica humana.

BIBLIOGRAFIA

1. **GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS.** COMMITTEE ON CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS OF THE INSTITUTE OF LABORATORY ANIMAL RESOURCE., COMMISSION ON LIFE SCIENCES., NATIONAL RESEARCH COUNCIL. REVISED EDITION, 1985.
2. **NASCO FARM AND RANCH CATALOG.**, MODESTO, CA. 32450 USA.
3. AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. 1993. **1993 REPORT OF THE AVMA PANEL ON EUTHANASIA.** AM. J. VET. MED. ASSOC. 202(2): 229-249.
4. HUGHES, H.D. 1976. **EUTHANASIA OF LABORATORY ANIMALS.** PP. 553-560. EN: HANDBOOK OF LABORATORY ANIMAL SCIENCE. VOL. III. EDITADO POR E.D. MELBY JR. Y N. H. ALTMAN., C.R.C. PRESS, CLEVELAND, OH., USA.
5. ANCHEL, M. 1976. **BEYOND "ADEQUATE VETERINARY CARE".** AM. J. VET. MED. ASSOC. 168: 513-515.
6. CCAC (CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE). 1989. **CATEGORIES OF INVASIVENESS IN ANIMAL EXPERIMENTS. A REPORT,** OCTOBER 1989. OTTAWA, ONTARIO K1P 5H3, CANADA.
7. DRESSER, R. 1989. **DEVELOPING STANDARDS IN ANIMAL RESEARCH REVIEW.** AM. J. VET. MED. ASSOC. 194 (9): 1184-1191.
8. LATT, R.H. 1976. **DRUG DOSAGES IN LABORATORY ANIMALS.** PP. 561-568. EN: HANDBOOK OF LABORATORY ANIMAL SCIENCE. VOL. III. EDITADO POR E.D. MELBY JR. Y N. H. ALTMANN., C.R.C. PRESS INC. CLEVELAND, OH., USA.



9. **GUIDE TO THE CARE AND USE OF EXPERIMENTAL ANIMALS.** 1980. VOL. I. EDITADO POR THE CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE. OTTAWA, ONTARIO KIP 5H3, CANADA.
10. **NUTRIENT REQUIEREMENTS OF LABORATORY ANIMALS.** 1978. 3RD REV. ED. BAAR (BOARD ON AGRICULTURE AND REVEWABLE RESOURCES) SUBCOMMITTEE ON LABORATORY ANIMAL NUTRITION., COMMITTEE ON ANIMAL NUTRITION., NUTRIENT REQUIEREMENTS ON DOMESTIC ANIMALS SERIES. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES., WASHINGTON, D.C., USA.
11. TENA BETANCOURT E. **GUIA DE PROCEDIMIENTOS ADECUADOS DE USO Y CUIDADO DE ANIMALES DE LABOBATORIO Y BIOTERIO.** 1RA. EDICIÓN. C. I. P. A. M. MONOGRAFÍA TÉCNICA. 1994.
12. COOPER G. AND SCHILLER A. **ANATOMY OF THE GUINEA PIG.** 1975. HARDVARD UNIVERSITY PRESS. 1975. CAMBRIDGE MASSACHUSETT.
13. FLECKNELL P. A. **LABORATORY ANIMAL ANESTHESIA.** ACADEMIC PRESS. THIRD EDITION. PRINTING 1992.
14. WAGNER JG. AND MANNING PJ. **THE BIOLOGY OF THE GUINEA PIG.** ACADEMIC PRESS. COPYRIGHT 1975.
15. LARS-ERIC STENFORS. **REPAIR OF TRAUMATICALLY RUPTURED TYMPANIC MEMBRANE USING HYALURONAN.** ACTA OTOLARYNGOL (Stockh) 1987. 442: 88-91.
16. **ACIDO HIALURONICO. UN BIOMATERIAL PARA APLICACIÓN EN LA CURACION DE HERIDAS.** MONOGRAFIA TECNICA.
17. **EPIFILM™ UNA NUEVA LAMINA BIOACTIVA PARA INTERVENCIONES OTOLOGICAS.**
18. MCGHEE MA & DORNHOFFER JL., **THE EFFECT OF GELFILM IN THE PREVENTION OF FIBROSIS IN THE MIDDLE EAR OF THE ANIMAL MODEL.** THE AMERICAN JOURNAL OF OTOTOLOGY. 29:712-716 ©1999. THE AMERICAN JOURNAL OF OTOTOLOGY, INC.
19. **EPIFILMTM "CLUB SANDWICH" TECHNIQUE FOR TYMPANOPLASTY.** PRESENTED BY TERENCE SCHENEIDERMAN, MD.
20. ZOLLNER F. **PLASTICHE EINGRIFFE AN DEN LABYRINTHFENSTER.** ARCH OHREN NASEN HEILKD. 1952;181:414-422.
21. WULSTEIN H. **FUNKTIONELLE OPERATIONEN IM MITTLEOHR MIT HIFLE DES FREINEN SPALTLAPPEN TRANSPLANTATES.** ARCH OHREN NASEN HEILKD. 1952;161:422-435.
22. HOLZER F. **THE FATE OF GELATIN FILM IN THE MIDDLE EAR.** ARCH OTOLARYNGOL. 1973;98:319-321.
23. HELLSTROM S, SALEN S, STENFORS L, ET AL. **ABSORBABLE GELATIN SOPONGE (GELFOAM) IN OTOSURGERY: ONE CAUSE OF UNDESIRABLE POSTOPERATIVE RESULT?. AN EXPERIMENTAL STUDY IN THE RAT.** ACTA OTOLARYNGOL. 1983;96:269-275.



-
24. LAURENT C, HELLSTROM S, STENFORS S, ET AL. *HYALURONIC ACID REDUCES CONNECTIVE TISSUE FORMATION IN MIDDLE EARS FILLED WITH ABSORBABLE GELATIN SPONGE: AN EXPERIMENTAL STUDY*. AM J OTOLARYNGOL. 1986;7:181-186.
 25. JOSEPH RB. *THE EFFECT OF ABSORBABLE GELATIN SPONGE PREPARATIONS AND OTHER AGENTS ON SCAR FORMATION IN THE DOG'S MIDDLE EAR. AN EXPERIMENTAL HYSTOPATHOLOGIC STUDY*. LARYNGOSCOPE 1962;72:1528-48.
 26. DOYLE-KELLY W. *BEHAVIOUR OF ABSORBABLE GELATIN SPONGE IN THE ANIMAL MIDDLE EAR*. J LARYNGOL OTOL. 1961;75:152-162.
 27. SCHACHERP, PAPARELLA M, GOYCODEA M, ET AL. *EXPERIMENTAL GRAFTING OF THE ROUND WINDOW MEMBRANE: PART I*. LARYNGOSCOPE. 1987;97:790-796.
 28. LEINING D, LUNDY L, SILBERBERG B, ET AL. *A COMPARISON OF THE BIOCOMPATABILITY OF THREE ABSORBABLE HEMOSTATIC AGENTS IN THE RAT MIDDLE EAR*. OTOLARYNGOL-HEAD NECK SURG. 1997;116:454-457.