



Universitat de Lleida

ESTUDIO HISTOLÓGICO DE LA MUCOSA DEL OÍDO MEDIO TRAS LA OCLUSIÓN TUBARICA PROLONGADA. MODELO EXPERIMENTAL.

Josep Soteras Ollé

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

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

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

**ESTUDIO HISTOLOGICO
DE LA MUCOSA DEL
OIDO MEDIO TRAS LA
OCLUSION TUBARICA
PROLONGADA.
MODELO EXPERIMENTAL.**

Josep Soteras Ollé

Universitat de Lleida

Dirigida por el Prof. V. Palomar.

JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

Justificación y objetivos

Justificación:

La otitis media es un proceso muy frecuente en nuestro medio, pudiendo dar lugar a una serie de problemas intrínsecos y también una serie de complicaciones como son el colesteatoma y la timpanosclerosis.

Son muchos los autores que han estudiado este problema desde diversos puntos de vista, pero esta patología no está enteramente resuelta y por eso nosotros queremos contribuir a su mejor conocimiento con este trabajo.

El estudio histológico, histoquímico y estructural de la mucosa del oído medio y Trompa de Eustaquio nos permitirá comprender las efusiones del oído medio. Así se han detectado niveles elevados de lisozima y de inmunoglobulinas del tipo IgA, IgG, IgE e IgM en la otitis media con efusión, junto con un aumento de la población de células secretorias (LIM DJ. 1976).

Los estudios de la efusión del oído medio en la otitis media nos aportan información sobre la etiología, estadíos inflamatorios y evaluación de la eficacia del tratamiento realizado. La lisozima es un enzima lisosómico secretado por el epitelio de la mucosa del

Justificación y objetivos

oído medio que deriva de los leucocitos polimorfonucleares y de los macrófagos. Los niveles de lisozima elevados se correlacionan con el hallazgo de bacterias en el exudado de la otitis media (JUHN SK. 1982).

La disfunción tubárica aislada no es condición suficiente para el desarrollo de una otitis media con supuración, pero si es importante para la prolongación del estado patológico de la otitis media supurativa persistente (TAKAHASHI H. 1990).

Para poder realizar estudios longitudinales en el laboratorio, sobre la otitis media efusiva, debemos de encontrar animales que sean buenos modelos experimentales y este es el caso de la chinchilla (*Chinchilla laniger*) y del Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) (DANIEL III HJ. 1982).

La otitis media no sólo comporta cambios en el oído medio, sino que se ha observado una disminución de la audición, en niños con historia de otitis media, de componente neurosensorial, ello sugiere que hay una serie de cambios en el oído medio y en el oído interno (MARGOLIS RH. 1993, LÖPPÖNEN H. 1992).

Justificación y objetivos

La existencia de una hipoacusia conductiva en las frecuencias de 600 a 1800 Hz. en sujetos que han presentado una otitis media efusiva de repetición, y ahora la otitis media ya está solucionada pueden ser debidas a las placas de timpanosclerosis (LÖPPÖNEN H. 1992).

La otitis media crónica comporta una serie de posibles complicaciones, tales como: colesteatoma, cambios óseos, fibrosis, perforaciones timpánicas, timpanosclerosis, meningitis, absceso subdural, absceso cerebral, petrositis e hidrops endolaberíntico. En un estudio de 800 temporales con historia de patología ótica se observó (MEYERHOFF WL. 1978):

- 1- La otitis media crónica ocurre bastante frecuentemente en ausencia de perforación timpánica.
- 2- El tejido de granulación asienta con mayor frecuencia en la otitis media crónica que en el colesteatoma.
- 3- Las complicaciones y secuelas de la otitis media tienden a ser secundarias más al tejido de granulación que al colesteatoma.

La prevalencia de miringoincudopexia tras una otitis

Justificación y objetivos

secretoria es del 0.5% a los 5 años de haber padecido la otitis, a los 7 años es del 2.5% y a los 16 años es del 4.2%. Un 40% de las pexias quedaron estables, un 36% fluctuaron y un 26% desaparecieron. Así que observamos que la pexia tiende a progresar a lo largo del tiempo, pero que la audición es buena a los 16 años del seguimiento (TOS M. 1992).

Uno de los objetivos de tratar una otitis secretoria es evitar el proceso adhesivo, para ello se realizan distintos tipos de tratamiento: colocación de tubos de drenaje y limpieza del oído medio, disminución de la infección mediante antibióticos y antiinflamatorios, y apoyar al organismo aumentando la defensa inmunológica (ZECHNER G. 1983).

Con la colocación de un drenaje transtimpánico se resuelve el problema inmediato, que supone la ocupación del oído medio, tanto por la aspiración de la efusión como por el efecto ventilatorio (CASTRO G. 1978).

Se han practicado estudios sobre el tratamiento a realizar, empleando o no adenoidectomía, y combinando a ésta con la colocación o no colocación de tubos de drenaje, observando una mejoría de la audición y en la efusión en los niños a los 6 meses de haberles practicado

Justificación y objetivos

la adenoidectomía (DEMPSTER JH. 1993).

Mediante el tratamiento con tubos de drenaje, a lo largo del tiempo se ha observado que casi todos los sujetos presentan una mejoría de la audición. Al practicar una otoscopia se observa que el aspecto del tímpano es normal en el 21%, y la alteración más frecuentemente observada fue la timpanosclerosis en un 61% de los casos. En algunos casos se observaron atrofia y retracciones, y sólo se observaron un 3% de perforaciones, pero ningún colesteatoma (BARFOED C. 1980).

Se ha observado desarrollo de timpanosclerosis en los pacientes a los que se les ha colocado drenajes transtimpánicos. Se ve que los cambios escleróticos se estabilizan hacia los 2-3 años. Se han visto en el 39% de los pacientes que precisaron un drenaje y en el 49% de pacientes a los que se les colocó más de un tubo de drenaje. La extensión de las lesiones fue igual en el grupo que precisó un drenaje que en el grupo que precisó más de uno (MAW AR. 1991).

Mediante la colocación de drenajes transtimpánicos se observa un aumento del número de células ciliadas, las células ciliadas fueron menos conspicuas y varió la

Justificación y objetivos

composición de sus gránulos pasando a ser del tipo seroso en vez de mucoide (KIROGLU F. 1990).

La infección a nivel del oído medio provoca una disminución de la neumatización del hueso temporal y un aumento de densidad del hueso cortical (AOKI K. 1990). La buena neumatización mastoidea es un signo importante del buen pronóstico de la otitis media efusiva (NAKANO Y. 1990).

Es necesario conocer el buen funcionamiento de la Trompa de Eustaquio para saber si la cirugía reconstructiva sobre el oído medio será probablemente efectiva o bien podrá fracasar. Entre las pruebas que se pueden realizar tenemos (KUMAZAWA T. 1993):

- 1- Gráfica tubotimpánica dinámica con Valsalva.
- 2- Igual que la anterior con catéter de inflación.
- 3- Test de inflación-deflación.
- 4- Sonotubometría.

La sonotubometría es un buen método para detectar trastornos de la función activa de apertura tubárica, pero no siempre indica de forma satisfactoria la capacidad de equilibrio de la Trompa de Eustaquio (IWANO T. 1993).

Justificación y objetivos

Así en los casos en que observa una mala función tubárica, se colocan tubos de drenaje, para mantener ventilado el oído y así evitar retracciones y reperforaciones (TOS M. 1980).

O bien se puede realizar tratamiento médico postoperatorio, para mejorar los resultados de las intervenciones del oído medio (EKWALL L. 1970).

Así tenemos que en los casos en que existe una buena función tubárica, los éxitos de las miringoplastias son superiores (HOLMQUIST J. 1968).

Justificación y objetivos

Objetivos:

- 1- Provocar una otitis serosa crónica en la bulla del Mongolian gerbil.
- 2- Valorar la rentabilidad de su provocación.
- 3- Descripción de los hallazgos macroscópicos que se observan en el oído medio y membrana timpánica.
- 4- Estudio de los cambios histológicos de la mucosa del oído medio provocados por la oclusión de la Trompa de Eustaquio.
- 5- Análisis de los resultados.

MATERIAL Y METODOS

Material y métodos

Anestesia:

Se pueden utilizar distintos anestésicos para poder intervenir quirúrgicamente al Mongolian gerbil, entre estos tenemos el Pentobarbital (Nembutal) a razón de 1.2 microgramos/g inyectado por vía intraperitoneal, junto con sulfato de atropina 0.1 cc. por vía subcutánea (WOLFMAN DE. 1986), o bien el Thiopental Sódico (Pentothal) a razón de 60 mg/Kg de peso inyectado por vía intraperitoneal (ABERG B. 1989, FORTUNY JC. 1993).

Nosotros hemos realizado la anestesia en todos los animales de experimentación con Thiopental Sódico a razón de 60 mg/Kg de peso. Para ello utilizamos viales de 500 mg de Thiopental Sódico en polvo, realizando la siguiente dilución: añadimos al vial 10 ml de agua bidestilada, obteniendo de esta manera una primera dilución de 50 mg/ml del anestésico, como la concentración del anestésico es demasiado grande para nuestras necesidades y cualquier error en el pesaje del animal, puede provocar una sobredosificación de anestésico y ello dar lugar a la muerte del mismo, realizamos una segunda dilución, utilizando en la misma 1 ml de la primera dilución que mezclaremos con 9 ml de agua bidestilada, de esta manera tenemos una segunda dilución a razón de 5 mg/ml de Thiopental Sódico.

Material y métodos

Observamos que la efectividad del anestésico es limitada por el paso del tiempo, así si queremos utilizar una dilución anestésica preparada un día para intervenir ratones pasado cierto tiempo, hemos visto que éste anestésico pierde efectividad y que para lograr un mismo efecto anestésico precisamos mayor cantidad del mismo, pudiendo llegar a producirse a su vez muchas veces la muerte del Mongolian gerbil al no llegar a despertar. Por esta razón decidimos preparar cada día una nueva dilución de anestésico. A si mismo nos dimos cuenta que los días que operábamos durante más de dos horas consecutivas, el efecto del anestésico también decrecía por lo que decidimos entonces guardarlo en nevera.

Una vez pesado el animal en una báscula de precisión, que nos dará el peso exacto del mismo, procedemos a inyectarle la cantidad de anestésico necesario por vía intraperitoneal.

A un ratón que pese 60 g. precisará 3.6 mg de Thiopental Sódico, que resultarán 0.72 ml de la segunda disolución preparada. Y a uno que pese 80 g. precisará de 4.8 mg de anestésico que resultan 0.96 ml de la segunda dilución. Y de esta manera para cada peso del ratón calcularemos la cantidad de anestésico que deberemos de

Material y métodos

inyectar.

Para la administración del anestésico precisamos inmovilizar al roedor, para ello cogemos al animal con la mano derecha para colocarlo bien y poder coger el dorso y la cola del mismo con la mano izquierda. Inmovilizado de esta manera y mostrándonos el abdomen procedemos a inyectar el anestésico, realizándolo justo por encima del meato urinario. Después dejamos al ratón en la jaula y observamos que empieza a dar vueltas y de forma progresiva va perdiendo el equilibrio hasta quedar del todo inmóvil pasados unos 2-3 minutos. Tenemos entonces unos 30-35 minutos para poder intervenirlo sin que muestre signos de dolor, pasado este tiempo si lo seguimos manipulando, el animal empieza a quejarse y mueve las extremidades y la cabeza. Hacia la hora empieza a moverse sin que se le estimule y entre las 2-4 horas realizan una deambulación más o menos correcta.

Oclusión de la Trompa de Eustaquio:

WOLFMAN DE. y CHOLE RA. en 1986 describen un método de oclusión tubárica en el Mongolian gerbil por vía transpalatina, nosotros lo intentamos en diversas ocasiones, obteniendo resultados diversos y fallando en demasiadas ocasiones, por lo que optamos por abandonar esta vía y buscar una más asequible y de más fácil acceso y control del orificio tubárico para poder así ocluir la Trompa de Eustaquio con certeza.

Pasamos entonces a intentar una vía posterior (FORTUNY JC. 1988, FULGHUM RS. 1985), para ello realizamos una incisión retroauricular, despegamos la piel y nos encontramos con una musculatura que recubre la bulla del Mongolian gerbil, esta musculatura la seccionamos y la disecamos tanto hacia adelante como hacia atrás; habremos de tener en cuenta cuando la disequemos hacia atrás que esta zona está muy bien vascularizada y deberemos de realizar una buena hemostasia para evitar el sangrado del animal. Una vez localizada la bulla, se procede a realizar una trepanación de la misma. La zona ideal es la más baja y próxima a la membrana timpánica. Una vez hemos practicado un orificio en esta zona de unos 2-3 mm², procedemos a colocar la cabeza del ratón en una posición ideal, que

Material y método

consistirá en realizar una flexión anterior de la cabeza, y una cierta lateralización de la misma hacia el mismo lado del oído que estemos operando. Colocado así el ratón y utilizando ahora de forma obligatoria un microscopio quirúrgico, intentaremos localizar el orificio timpánico de la Trompa de Eustaquio. Si dirigimos la mirada hacia adelante, entre el espacio que deja la arteria estapedia y la membrana timpánica, en el fondo de la bulla observaremos dos crestas óseas, que son las que limitan el orificio de entrada tubárico.

Ahora ya tenemos localizado el orificio timpánico de la Trompa de Eustaquio, así que cualquier manipulación que realicemos, no la haremos en ningún momento a ciegas, pudiendo siempre controlar si la oclusión se ha realizado o no.

Intentamos primero ocluirla con un material inerte, moldeable (Plastilina), localizamos el orificio y con ayuda de un instrumento otológico introducíamos este material obturando el orificio; posteriormente movíamos la cabeza del animal, observando que este material no salía del lugar donde lo habíamos colocado. Pasado un mes procedimos a revisar los cinco oídos operados con este sistema. En todos los casos se había repermeabilizado la Trompa de Eustaquio, y el material que era de color azul,

Material y métodos

se encontraba en el interior de la cavidad timpánica, no existía efusión serosa, ni retracción timpánica.

Iniciamos de nuevo el intento de ocluir la trompa, esta vez lo probamos con un pegamento sintético (Superglu-3), una vez localizado el orificio tubárico, dejábamos una gota del pegamento en el lugar deseado y procedíamos a terminar la intervención. Observamos que ningún animal de los cinco intervenidos despertaba. Procedimos a practicar la necropsia de los ratones, visualizando que se había producido una lisis de todo el hueso que había tocado el pegamento.

Intentamos un tercer sistema de oclusión, esta vez con un pegamento biológico, que se utiliza para unir uréteres que han sido seccionados en una intervención quirúrgica. Al mes sacrificamos los cinco animales intervenidos viendo que el orificio tubárico no estaba ocluído, no existía efusión serosa en el oído, ni retracción timpánica.

Pensamos en un cuarto sistema (TISSU-COL), pero era de difícil preparación, de precio alto y nos obligaba a utilizar un envase cada día que operábamos y que no podíamos volver a utilizar. No llegamos a probarlo, por razones económicas.

Material y métodos

Finalmente intentamos practicar la cauterización de la Trompa de Eustaquio con nitrato de plata. Colocábamos una pequeñísima cantidad de nitrato de plata en la punta de un instrumento de cirugía otológica, y una vez localizado el orificio tubárico, éste se cauterizaba con el nitrato, observándose como quedaba ennegrecida la zona de la mucosa que había sido tocada por el cauterio. Pasado un mes de la intervención, reoperamos a los cinco ratones que habíamos intervenido. En todos los casos observamos la existencia de una efusión serosa en la cavidad del oído medio, aspiramos la efusión y pudimos observar que existía una zona cicatricial a nivel del orificio tubárico, que provocaba la disfunción tubárica.

Procedimos ahora a intervenir a 70 ratones, ocluyendo en 50 de ellos la Trompa de Eustaquio del oído derecho, a 10 ratones más les practicamos la misma intervención pero sin oclusión tubárica, siendo este el grupo control que utilizamos y a los otros 10 les practicamos la misma intervención pero les cauterizamos una zona de mucosa próxima a la Trompa de Eustaquio pero sin lesionar su entrada.

Antes de intervenir al ratón, revisábamos el oído del animal para descartar la existencia de patología ótica como el colesteatoma espontáneo.

Material y métodos

Revisión de los oídos intervenidos:

Para descartar que los hallazgos observados a nivel de la mucosa no son resultado del proceso inflamatorio por la utilización del nitrato de plata, se espera a sacrificar a los animales un mínimo de 9 meses y un máximo de 13 meses.

Se procede a la anestesia del ratón, y se practica una esternotomía media para visualizar el corazón; se practica la cateterización del ventrículo izquierdo y la perfusión con fijador; se realiza una punción a nivel de la aurícula derecha para que salga la sangre y posteriormente el líquido utilizado en la perfusión. Observamos como a medida que pasa el líquido de fijación, se producen una serie de contracciones en el cuerpo del ratón hasta que este queda en posición de extensión de sus cuatro extremidades, y totalmente endurecido.

Una vez está bien fijado, decapitamos al Mongolian gerbil, y procedemos a extraer la bulla timpánica derecha, que es la que siempre intervenimos.

Realizamos una descripción macroscópica de la membrana timpánica, describiendo la existencia o no de colesteatoma o de retracción timpánica.

Material y métodos

Reabrimos el orificio que habíamos practicado durante la oclusión tubárica, y procedemos a describir si existe o no efusión serosa en la caja timpánica.

Material y métodos

Procesado histológico de las muestras:

Las muestras para microscopía óptica van a seguir el siguiente proceso:

La perfusión intracardíaca se realizará con formol al 4%. Posteriormente una vez extraídas las bullas, se dejan unas 48 horas en este mismo fijador (formol al 4%). Seguidamente se procede a la decalcificación de las muestras, para poder posteriormente ser cortadas.

La decalcificación se realiza con el siguiente preparado:

- . Acido fórmico al 5%.
- . Formol al 5%.
- . Agua destilada hasta completar los 100ml.

El proceso de decalcificación dura unos 30 días. Se proceden a realizar cambios diarios y no se precisa de conservación en frío. Una vez comprobada la consistencia de la pieza, y observándose que se pueden cortar sin problemas se procede al proceso de deshidratación.

La deshidratación es un proceso largo, pero sencillo de realizar. Procedemos a cortar las piezas en dos pedazos, uno al que llamamos A y otro que llamamos B. La

Material y métodos

porción A corresponde al hipotímpano y es donde localizaremos a la Trompa de Eustaquio. La porción B corresponde al resto de la bulla.

Procedemos a colocar las piezas una vez numeradas en unas cestillas individuales fabricadas con gasa, y cerradas con hilo. Los pasos del proceso de deshidratación son los siguientes:

- . Etanol 60º.....1 hora.
- . Etanol 90º.....1 hora.
- . Etanol 96º I.....1 hora.
- . Etanol 96º II....1 hora.
- . Etanol 100º I....1 hora.
- . Etanol 100º II...1 hora.
- . Etanol 100º III..1 hora.
- . Xilol I.....1 hora.
- . Xilol II.....1 hora.
- . Xilol III.....1 hora.

Posteriormente se colocan las cestillas en un baño de parafina a 62ºC. durante un mínimo de 6 horas y un máximo de 8 horas. En este momento, al colocar las cestillas con las piezas en la parafina líquida podemos parar el proceso si dejamos enfriar y solidificar la parafina. Una vez hemos dejado las piezas en esta

Material y métodos

parafina líquida el tiempo reseñado, podremos pasar a la formación de los bloques de parafina. Para ello es muy importante la buena orientación de las piezas en los bloques de parafina, para saber posteriormente en que zona estamos cortando.

Pasaremos ahora a cortar estos bloques de parafina con un microtomo, realizando secciones de 6 micras, y posteriormente se montan estas piezas cortadas en un porta, dejándolas secar a temperatura ambiente.

El siguiente paso será ya la tinción con hematoxilina-eosina. Para ello se seguirán una serie de pasos que nos permitirán desparafinar, deshidratar, teñir y lavar las muestras. Los pasos realizados son los siguientes:

- . Xilol I.....10 minutos.
- . Xilol II.....10 minutos.
- . Xilol III....15 minutos. Aquí el proceso se puede detener.
- . Etanol 100%.10 minutos.
- . Etanol 100%.10 minutos.
- . Etanol 96%...10 minutos.
- . Etanol 96%...10 minutos.
- . Agua destilada, un baño durante 10 minutos.
- . Hematoxilina, un baño de 15 a 20 minutos.

Material y métodos

- . Lavado con agua corriente durante 5 minutos.
- . Acido clorhídrico (5 ml de HCL en 200 ml de etanol al 96%), un baño durante 3 segundos.
- . Lavado en agua corriente durante 10 a 15 minutos, hasta lograr un contraste de azul.
- . Eosina, un baño durante 5-7 minutos.
- . Etanol 96%. . . 10 minutos.
- . Etanol 96%. . . 10 minutos.
- . Etanol 100%. . 10 minutos.
- . Etanol 100%. . 10 minutos.
- . Xilol fenol, un baño durante 10 minutos.
- . Xilol, un baño de 10 minutos.
- . Xilol eucaliptol un baño durante 15 minutos. El proceso se puede detener en este punto.

Posteriormente se procede al montaje con cubre y DPX.

La preparación de los colorantes que hemos utilizado es el siguiente:

Hematoxilina de Harris:

. Solución A: se mezclan en un recipiente 2.5 grs. de Hematoxilina en 25 ml de etanol al 100%.

. Solución B: En un vaso de precipitados de 2

Material y métodos

litros se mezclan en caliente 0.5 litros de agua destilada y 50 grs. de Sulfato Aluminico Potásico.

. Mezclamos las dos soluciones en caliente y se añaden 1.25 grs. de Oxido de Mercurio, enfriándolo en hielo posteriormente.

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

Eosina Alcohólica:

. Solución de Eosina madre: 1 grs. de eosina disuelto en 20 ml. de agua y se le añaden 80 ml. de etanol al 96%.

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

. Se le añaden 0.5 ml. de Acido Acético Glacial por cada 100ml. de solución.

Se procedió a practicar tinción PAS-AB, para la caracterización de las diferentes mucosustancias. Es una tinción combinada con azul alcian (pH 2.5)/ácido periódico-reactivo de Schiff (PAS-AB).

Material y métodos

Azul alcian:

. Se disuelven 1 grs. de Azul Alcian en 97 ml. de agua destilada y 3 ml. de Acido Acético Glacial.

Acido periódico:

. Se disuelve 1 grs. de Acido periódico en 100 ml. de agua destilada.

Metabisulfito sódico:

. Se prepara la solución de stock disolviendo 10 grs. de Metabisulfito sódico en 100 ml. de agua destilada.

. La solución de trabajo se prepara con la mezcla de 30 ml. de la solución de stock y 570 ml. de agua destilada.

Solución de Schiff:

. Se prepara disolviendo 4 grs. de fuschina básica con 7.6 grs. de Metabisulfito sódico en 400 ml. de CLH 0.25 N.

Material y métodos

Se agita la solución a intervalos durante 2 horas, hasta que quede clara y amarillenta o ligeramente pardusca clara. Se añaden de 0.5 a 1 grs. de carbón activado, agitando durante 1-2 minutos. Se filtra en una probeta, lavando el residuo del filtro con agua destilada hasta recuperar el volumen de 400 ml.

La solución debe guardarse a 4°C.

El protocolo de tinción de PAS-AB es el siguiente:

Se desparafina hasta agua destilada como en el protocolo de Hematoxilina-Eosina. Los pasos sucesivos son los siguientes:

- . Azul alcian.....5 minutos.
- . Lavado con agua destilada
- . Oxidación con Acido Periódico.....15 minutos.
- . Lavado con agua destilada
- . Solución de Schiff.....25 minutos.
- . 3 baños sucesivos de Metabisulfito sódico....de 2 minutos de duración cada uno, lavando entre ellos.
- . Lavado en agua corriente.....5 minutos.
- . Hematoxilina de Harris.....2 minutos.

Posteriormente se deshidrata y se monta con DPX como en la tinción de Hematoxilina-Eosina.

Material y métodos

En una serie de preparaciones se utilizó la tinción Tricrómico de Masson para delimitar mejor el espacio subepitelial.

El protocolo de tinción es el siguiente:

Se desparafina hasta agua destilada como en el protocolo de Hematoxilina-Eosina. Siendo los pasos sucesivos los siguientes:

- . Se coloca en solución de Bouin durante 24 horas a temperatura ambiente.
- . Lavado con agua del grifo hasta que desaparezca el color amarillo.
- . Se coloca en una solución de Hematoxilina de Weigert A+B, a partes iguales, que se prepara al momento, se filtra y se deja durante 11 minutos.
- . Lavado con agua destilada.
- . Se coloca en Tricromo durante 17 minutos, que también se ha filtrado.
- . Se deja en una solución de ácido acético al 0.5% durante 30 segundos.
- . Se lava con agua destilada.
- . Se baña en Verde Luz durante unos 20-30 segundos. El Verde Luz estará disuelto a partes iguales con agua.
- . Se realiza un lavado rápido con agua destilada:

Material y métodos

Posteriormente se deshidrata y se monta con DPX como en la tinción de Hematoxilina-Eosina.

La preparación de los colorantes en la tinción del tricrómico de Masson es la siguiente:

Hematoxilina de Weigert:

Solución A: . Hematoxilina.....1 grs.
. Alcohol absoluto.....100 ml.
Se deja madurar durante 7 días.

Solución B: . Cloruro férrico al 20%.....4 ml.
. Agua destilada.....100 ml.
. CLH.....1 ml.

Para su uso se mezclan a partes iguales de A y B justo antes de usarlo, primero se coloca la A y posteriormente la B. La solución queda violeta negruzco.

Solución del tricromo:

. Cromotrope 2R.....1.2 grs.
. Verde luz.....0.6 grs.
. Acido acético glacial.....0.2 ml.
. Acido fosfotungstico.....1.6 grs.
. Agua destilada.....200 ml.

Material y métodos

Solución de Verde Luz:

- . Verde Luz.....5 grs.
- . Agua destilada.....250 ml.
- . Acido acético glacial.....2 ml.

Se calienta el agua, se le añade el Verde Luz y lo disolvemos, se deja enfriar y posteriormente se añade el ácido acético glacial.

Material y métodos

Las muestras para microscopía electrónica van a seguir el siguiente proceso:

La perfusión intracardíaca se realiza con glutaraldehído al 2.5% junto con tampón fosfato al 0.1 Molar.

Una vez extraídas las bullas, se fijan con la misma solución utilizada en la perfusión por un tiempo que va desde 2 a 24 horas, conservándose en frío.

Posteriormente se procede a la decalcificación de las muestras. Se realiza con el siguiente preparado:

- . EDTA 0.1 Molar.
- . Glutaraldehído al 5% en Tampón Fosfato al 0.1 Molar.

Se realizan cambios diarios con la solución anteriormente preparada durante unos 40 días, dejando siempre las muestras en el frigorífico.

Una vez decalcificado se procede a realizar tres lavados con Tampón Fosfato de 10 minutos de duración cada uno.

Procedemos a cortar las muestras de la zona que nos

Material y métodos

interesa, formando bloques cuadrados de uno o dos mm.

Posteriormente se realiza la Osmificación, que durará dos horas y se realizará en frío. Para la osmificación se realiza con Tetróxido de Osmio al 1%.

Luego se pasa a realizar varios lavados:

- . Tampón Fosfato al 0.1 Molar, 3 lavados de 10 minutos de duración cada uno.
- . Acetona al 30% durante 10 minutos.
- . Acetona al 50% durante 10 minutos.

Finalmente se dejan las piezas en acetona al 70% saturada con Acetato de Uranilo durante un tiempo que va desde las 12 a las 24 horas.

Ahora volvemos a realizar varios lavados:

- . Acetona al 95% durante 10 minutos.
- . Acetona al 100%, tres lavados de 30 minutos cada uno.

Dejamos ahora las piezas en Oxido de propileno, realizando dos pasos de 45 minutos de duración cada uno.

Hasta este punto las preparaciones de microscopía electrónica se deben de guardar en nevera una vez

Material y métodos

realizado el cambio, y en espera del próximo paso.

A partir de aquí los pasos se realizan a temperatura ambiente, menos cuando se colocan en la estufa.

El siguiente paso es colocar las muestras en un preparado formado por: tres partes de Oxido de Propileno y una parte de Resina I, dejándolo un tiempo de 45 minutos.

Después se colocan las piezas en una solución formada por una parte de Oxido de Propileno y una parte de Resina I, también durante 45 minutos.

Ahora se colocan las muestras en una tercera solución formada por una parte de Oxido de Propileno y tres de Resina I, también durante 45 minutos.

Colocaremos las piezas en Resina I a 37°C, pudiéndolas dejar aquí hasta un máximo de 24 horas.

Posteriormente realizaremos tres pasos de 30 minutos cada uno a 60°C en Resina II.

Y llegamos al último paso que consiste en la inclusión de las piezas y polimerización, que se practica

Material y métodos

a una temperatura de 60°C en Resina II, durante un tiempo mínimo de 48 horas. Pasado este tiempo podremos sacar las piezas del molde en las habíamos colocado.

La Resina I está formada por:

- . 10 mg. del componente AM rojo. (DURKUPAN^R ACM. Referencia 44610/44611) Casa FLUKA.
- . 10 mg. del componente B azul. (DURKUPAN^R ACM. Referencia 44610/44612) Casa FLUKA.
- . 0.1-0.2 cc de componente D verde. (DURKUPAN^R ACM. Referencia 44610/44614) Casa FLUKA.

La Resina II está formada por:

- . 20 ml de Resina I.
- . 0.3-0.4 ml del componente C amarillo.
(DURKUPAN^R ACM. Referencia 44610/44613) Casa FLUKA.

Una vez los bloques de resina están formados, se pasa a practicar los cortes con Ultramicrotomo (Ultracut E de Reichert-Jung).

Primero practicaremos cortes semifinos de un espesor de 0.5 a 1 micra, mediante una cuchilla de vidrio, que los utilizaremos para elegir la zona de la pieza deseada,

Material y métodos

para así posteriormente realizar cortes ultrafinos con cuchilla de diamante, de un grosor de 500-600 amstrongs.

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

Los cortes semifinos teñidos los colocamos sobre una plancha a 60º C, y una vez secos los lavamos con agua corriente abundante para montarlos después con DPX.

La preparación del Azul de Richardson es la siguiente:

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

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

Los cortes ultrafinos se contrastan posteriormente con Acetato de Uranilo y con Citrato de Plomo.

RESULTADOS

Resultados

Manipulación y peso

Utilizamos 70 Mongolian gerbil, dividiéndolos en tres grupos, un grupo A de 50 ratones a los que se les practicó la oclusión tubárica descrita en el apartado de material y métodos, un segundo grupo B que sería el control, que estaba formado por 10 ratones a los que se les practicó la misma intervención pero no se les ocluyó la Trompa de Eustaquio y un tercer grupo C a los que se les cauterizó una zona próxima al orificio tubárico.

Resultados

Grupo A

Mongolian gerbil nº 1

sexomacho
Peso64 grs
Fecha de nacimiento25/10/90
Fecha de intervención30/01/91
Fecha de sacrificio30/10/91
Tiempo de oclusión9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusión:presente
aspecto de T.E.ocluida
colesteatomano
retracción timpánicasi

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosasi

Mongolian gerbil nº 2

sexomacho
Peso64 grs
Fecha de nacimiento25/10/90
Fecha de intervención30/01/91
Fecha de sacrificio30/10/91
Tiempo de oclusión9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónsi
aspecto de T.Eocluida
colesteatomasi
retracción timpánicasi

Resultados microscópicos:

colesteatomasi
metaplasia de la mucosasi

Resultados

Mongolian gerbil nº 3

sexomacho
Peso65 grs
Fecha de nacimiento25/10/90
Fecha de intervención30/01/91
Fecha de sacrificio30/10/91
Tiempo de oclusión9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.ocluida
colesteatomano
retracción timpánicasi

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosasi

Mongolian gerbil nº 4

sexomacho
Peso64 grs
Fecha de nacimiento01/10/90
Fecha de intervención09/01/91
Fecha de sacrificio30/10/91
Tiempo de oclusión9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.ocluida
colesteatomano
retracción timpánicasi

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosasi

Resultados

Mongolian gerbil nº 5

sexomacho
Peso65 grs
Fecha de nacimiento01/10/90
Fecha de intervención09/01/91
Fecha de sacrificio30/10/91
Tiempo de oclusión9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.ocluida
colesteatomano
retracción timpánicasi

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosasi

Mongolian gerbil nº 6

sexohembra
Peso60 grs
Fecha de nacimiento07/10/90
Fecha de intervención06/02/91
Fecha de sacrificio30/10/91
Tiempo de oclusión9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.ocluida
colesteatomano
retracción timpánicasi

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosasi

Resultados

Mongolian gerbil nº 7

sexohembra
Peso61 grs
Fecha de nacimiento07/10/90
Fecha de intervención06/02/91
Fecha de sacrificio30/10/91
Tiempo de oclusión9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.ocluida
colesteatomano
retracción timpánicasi

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosasi

Mongolian gerbil nº 8

sexohembra
Peso60 grs
Fecha de nacimiento07/10/90
Fecha de intervención06/02/91
Fecha de sacrificio30/10/91
Tiempo de oclusión9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.ocluida
colesteatomano
retracción timpánicasi

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosasi

Resultados

Mongolian gerbil nº 9

sexohembra
Peso61 grs
Fecha de nacimiento07/10/90
Fecha de intervención06/02/91
Fecha de sacrificio30/10/91
Tiempo de oclusión9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.ocluida
colesteatomano
retracción timpánicasi

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosasi

Mongolian gerbil nº 10

sexohembra
Peso.....60 grs
Fecha de nacimiento.....07/10/90
Fecha de intervención06/02/91
Fecha de sacrificio.....30/10/91
Tiempo de oclusión.....9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificado
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 11

sexomacho
Peso.....68 grs
Fecha de nacimiento.....15/10/90
Fecha de intervención28/02/91
Fecha de sacrificio.....30/09/91
Tiempo de oclusión.....9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....si
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomasi
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 12

sexomacho
Peso.....67 grs
Fecha de nacimiento.....15/10/90
Fecha de intervención28/02/91
Fecha de sacrificio.....30/09/91
Tiempo de oclusión.....9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 13

sexomacho
Peso.....68 grs
Fecha de nacimiento.....15/10/90
Fecha de intervención28/02/91
Fecha de sacrificio.....30/09/91
Tiempo de oclusión.....9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 14

sexomacho
Peso.....68 grs
Fecha de nacimiento.....10/10/90
Fecha de intervención28/02/91
Fecha de sacrificio.....30/09/91
Tiempo de oclusión.....9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 15

sexomacho
Peso.....66 grs
Fecha de nacimiento.....10/10/90
Fecha de intervención28/02/91
Fecha de sacrificio.....30/09/91
Tiempo de oclusión.....9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificado
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 16

sexohembra
Peso.....64 grs
Fecha de nacimiento.....10/10/90
Fecha de intervención04/03/91
Fecha de sacrificio.....30/09/91
Tiempo de oclusión.....9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 17

sexohembra
Peso.....63 grs
Fecha de nacimiento.....10/10/90
Fecha de intervención04/03/91
Fecha de sacrificio.....30/09/91
Tiempo de oclusión.....9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 18

sexohembra
Peso.....64 grs
Fecha de nacimiento.....10/10/90
Fecha de intervención04/03/91
Fecha de sacrificio.....30/09/91
Tiempo de oclusión.....9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 19

sexohembra
Peso.....65 grs
Fecha de nacimiento.....10/10/90
Fecha de intervención04/03/91
Fecha de sacrificio.....30/09/91
Tiempo de oclusión.....9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 20

sexohembra
Peso.....64 grs
Fecha de nacimiento.....10/10/90
Fecha de intervención04/03/91
Fecha de sacrificio.....30/09/91
Tiempo de oclusión.....9 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 21

sexo.....macho
Peso.....68 grs
Fecha de nacimiento.....11/11/91
Fecha de intervención03/04/92
Fecha de sacrificio.....11/02/93
Tiempo de oclusión.....10 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 22

sexo.....macho
Peso.....67 grs
Fecha de nacimiento.....11/11/91
Fecha de intervención03/04/92
Fecha de sacrificio.....11/02/93
Tiempo de oclusión.....10 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 23

sexo.....macho
Peso.....68 grs
Fecha de nacimiento.....11/11/91
Fecha de intervención03/04/92
Fecha de sacrificio.....11/02/93
Tiempo de oclusión.....10 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....si
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomasi
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 24

sexo.....macho
Peso.....67 grs
Fecha de nacimiento.....15/11/91
Fecha de intervención03/04/92
Fecha de sacrificio.....11/02/93
Tiempo de oclusión.....10 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificado
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 25

sexo.....macho
Peso.....68 grs
Fecha de nacimiento.....15/11/91
Fecha de intervención03/04/92
Fecha de sacrificio.....11/02/93
Tiempo de oclusión.....10 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 26

Sexo.....hembra
Peso.....64 grs
Fecha de nacimiento.....11/11/91
Fecha de intervención18/03/92
Fecha de sacrificio.....21/03/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 27

Sexo.....hembra
Peso.....65 grs
Fecha de nacimiento.....11/11/91
Fecha de intervención18/03/92
Fecha de sacrificio.....21/03/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 28

Sexo.....hembra
Peso.....64 grs
Fecha de nacimiento.....15/11/91
Fecha de intervención18/03/92
Fecha de sacrificio.....21/03/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 29

Sexo.....hembra
Peso.....64 grs
Fecha de nacimiento.....30/11/91
Fecha de intervención08/04/92
Fecha de sacrificio.....21/03/93
Tiempo de oclusión.....11 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....si
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomasi
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 30

Sexo.....hembra
Peso.....64 grs
Fecha de nacimiento.....30/11/91
Fecha de intervención28/04/92
Fecha de sacrificio.....21/03/93
Tiempo de oclusión.....11 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 31

Sexo.....macho
Peso.....70 grs
Fecha de nacimiento.....15/12/91
Fecha de intervención13/05/92
Fecha de sacrificio.....12/05/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 32

Sexo.....macho
Peso.....71 grs
Fecha de nacimiento.....15/12/91
Fecha de intervención13/05/92
Fecha de sacrificio.....12/05/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 33

Sexo.....macho
Peso.....70 grs
Fecha de nacimiento.....20/12/91
Fecha de intervención20/05/92
Fecha de sacrificio.....12/05/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 34

Sexo.....macho
Peso.....70 grs
Fecha de nacimiento.....20/12/91
Fecha de intervención20/05/92
Fecha de sacrificio.....12/05/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 35

Sexo.....macho
Peso.....71 grs
Fecha de nacimiento.....20/12/91
Fecha de intervención20/05/92
Fecha de sacrificio.....12/05/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 36

Sexo.....hembra
Peso.....66 grs
Fecha de nacimiento.....15/12/91
Fecha de intervención13/05/92
Fecha de sacrificio.....12/05/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 37

Sexo.....hembra
Peso.....67 grs
Fecha de nacimiento.....15/12/91
Fecha de intervención13/05/92
Fecha de sacrificio.....12/05/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 38

Sexo.....hembra
Peso.....66 grs
Fecha de nacimiento.....12/12/91
Fecha de intervención13/05/92
Fecha de sacrificio.....12/05/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 39

Sexo.....hembra
Peso.....66 grs
Fecha de nacimiento.....12/12/91
Fecha de intervención13/05/92
Fecha de sacrificio.....12/05/92
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 40

Sexo.....hembra
Peso.....66 grs
Fecha de nacimiento.....15/12/91
Fecha de intervención13/05/92
Fecha de sacrificio.....12/05/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 41

Sexo.....macho
Peso.....69 grs
Fecha de nacimiento.....08/01/92
Fecha de intervención10/06/92
Fecha de sacrificio.....07/07/93
Tiempo de oclusión.....13 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 42

Sexo.....macho
Peso.....70 grs
Fecha de nacimiento.....08/01/92
Fecha de intervención10/06/92
Fecha de sacrificio.....07/07/93
Tiempo de oclusión.....13 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 43

Sexo.....macho
Peso.....70 grs
Fecha de nacimiento.....10/01/92
Fecha de intervención10/06/92
Fecha de sacrificio.....07/07/93
Tiempo de oclusión.....13 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 44

Sexo.....macho
Peso.....70 grs
Fecha de nacimiento.....10/01/92
Fecha de intervención10/06/92
Fecha de sacrificio.....07/07/93
Tiempo de oclusión.....13 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 45

Sexo.....macho
Peso.....70 grs
Fecha de nacimiento.....08/01/92
Fecha de intervención10/06/92
Fecha de sacrificio.....07/07/93
Tiempo de oclusión.....13 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 46

Sexo.....hembra
Peso.....66 grs
Fecha de nacimiento.....08/01/92
Fecha de intervención09/06/92
Fecha de sacrificio.....10/06/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 47

Sexo.....hembra
Peso.....65 grs
Fecha de nacimiento.....08/01/92
Fecha de intervención09/06/92
Fecha de sacrificio.....10/06/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 48

Sexo.....hembra
Peso.....66 grs
Fecha de nacimiento.....10/01/92
Fecha de intervención09/06/92
Fecha de sacrificio.....10/06/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Mongolian gerbil nº 49

Sexo.....hembra
Peso.....66 grs
Fecha de nacimiento.....10/01/92
Fecha de intervención09/06/92
Fecha de sacrificio.....10/06/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Mongolian gerbil nº 50

Sexo.....hembra
Peso.....66 grs
Fecha de nacimiento.....10/01/92
Fecha de intervención09/06/92
Fecha de sacrificio.....10/06/93
Tiempo de oclusión.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: .opacificada
efusiónsi
aspecto de T.E.....ocluida
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....si

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....si

Resultados

Grupo B

Mongolian gerbil nº 51

Sexo.....macho
Peso.....70 grs
Fecha de nacimiento.....12/02/92
Fecha de intervención15/07/92
Fecha de sacrificio.....04/06/93
Tiempo transcurrido.....11 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Mongolian gerbil nº 52

Sexo.....macho
Peso.....69 grs
Fecha de nacimiento.....12/02/92
Fecha de intervención15/07/92
Fecha de sacrificio.....04/06/93
Tiempo transcurrido.....11 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Resultados

Mongolian gerbil nº 53

Sexo.....macho
Peso.....69 grs
Fecha de nacimiento.....12/02/92
Fecha de intervención15/07/92
Fecha de sacrificio.....04/06/93
Tiempo transcurrido.....11 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Mongolian gerbil nº 54

Sexo.....macho
Peso.....68 grs
Fecha de nacimiento.....20/02/92
Fecha de intervención08/07/92
Fecha de sacrificio.....04/06/93
Tiempo transcurrido.....11 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Resultados

Mongolian gerbil nº 55

Sexo.....macho
Peso.....68 grs
Fecha de nacimiento.....20/02/92
Fecha de intervención08/07/92
Fecha de sacrificio.....04/06/93
Tiempo transcurrido.....11 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Mongolian gerbil nº 56

Sexo.....hembra
Peso.....65 grs
Fecha de nacimiento.....20/02/92
Fecha de intervención08/07/92
Fecha de sacrificio.....04/06/93
Tiempo transcurrido.....11 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Resultados

Mongolian gerbil nº 57

Sexo.....hembra
Peso.....66 grs
Fecha de nacimiento.....20/02/92
Fecha de intervención08/07/92
Fecha de sacrificio.....04/06/93
Tiempo transcurrido.....11 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Mongolian gerbil nº 58

Sexo.....hembra
Peso.....65 grs
Fecha de nacimiento.....17/03/92
Fecha de intervención15/07/92
Fecha de sacrificio.....14/07/93
Tiempo transcurrido.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Resultados

Mongolian gerbil nº 59

Sexo.....hembra
Peso.....66 grs
Fecha de nacimiento.....17/03/93
Fecha de intervención15/07/92
Fecha de sacrificio.....14/07/93
Tiempo transcurrido.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Mongolian gerbil nº 60

Sexo.....hembra
Peso.....65 grs
Fecha de nacimiento.....12/02/92
Fecha de intervención10/06/92
Fecha de sacrificio.....14/07/93
Tiempo transcurrido.....13 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Resultados

Grupo C

Mongolian gerbil nº 61

Sexo.....macho
Peso.....68 grs
Fecha de nacimiento.....14/05/92
Fecha de intervención01/10/92
Fecha de sacrificio.....06/10/93
Tiempo transcurrido.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Mongolian gerbil nº 62

Sexo.....macho
Peso.....70 grs
Fecha de nacimiento.....14/05/92
Fecha de intervención01/10/92
Fecha de sacrificio.....06/10/93
Tiempo transcurrido.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Resultados

Mongolian gerbil nº 63

Sexo.....macho
Peso.....68 grs
Fecha de nacimiento.....28/05/92
Fecha de intervención01/10/92
Fecha de sacrificio.....06/10/93
Tiempo transcurrido.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Mongolian gerbil nº 64

Sexo.....macho
Peso.....68 grs
Fecha de nacimiento.....28/05/92
Fecha de intervención01/10/92
Fecha de sacrificio.....06/10/93
Tiempo transcurrido.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Resultados

Mongolian gerbil nº 65

Sexo.....macho
Peso.....68 grs
Fecha de nacimiento.....28/05/92
Fecha de intervención01/10/92
Fecha de sacrificio.....06/10/93
Tiempo transcurrido.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Mongolian gerbil nº 66

Sexo.....hembra
Peso.....66 grs
Fecha de nacimiento.....04/05/92
Fecha de intervención09/09/92
Fecha de sacrificio.....06/10/93
Tiempo transcurrido.....13 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Resultados

Mongolian gerbil nº 67

Sexo.....hembra
Peso.....66 grs
Fecha de nacimiento.....04/05/92
Fecha de intervención09/09/92
Fecha de sacrificio.....06/10/93
Tiempo transcurrido.....13 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Mongolian gerbil nº 68

Sexo.....hembra
Peso.....67 grs
Fecha de nacimiento.....12/05/92
Fecha de intervención23/09/92
Fecha de sacrificio.....06/10/93
Tiempo transcurrido.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Resultados

Mongolian gerbil nº 69

Sexo.....hembra
Peso.....68 grs
Fecha de nacimiento.....12/05/92
Fecha de intervención23/09/92
Fecha de sacrificio.....06/10/93
Tiempo transcurrido.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Mongolian gerbil nº 70

Sexo.....hembra
Peso.....66 grs
Fecha de nacimiento.....12/05/92
Fecha de intervención23/09/92
Fecha de sacrificio.....06/10/93
Tiempo transcurrido.....12 meses

Resultados macroscópicos:

aspecto de la bulla: transparente
efusiónno
aspecto de T.E.....permeable
colesteatoma.....no
retracción timpánica.....no

Resultados microscópicos:

colesteatomano
metaplasia de la mucosa.....no

Resultados

Generalidades:

Resumiendo los datos obtenidos en el desarrollo del trabajo, podemos decir, en cuanto a hechos generales, que los animales han quedado agrupados de la siguiente manera:

Grupo A, está formado por 25 machos, que en el momento de la oclusión tubárica tenían una edad comprendida entre los 3 y 5 meses y su peso variaba entre los 64 y 71 grs, y por 25 hembras con edades comprendidas entre los 4 y 5 meses y de un peso que oscila entre los 60 y 67 grs.

Grupo B, está formado por 10 ratones, 5 de los cuales son machos con edades comprendidas entre los 4 y 5 meses y de un peso entre los 68 y 70 grs; y por 5 hembras también entre 4 y 5 meses de edad y con peso que oscila entre los 65 y 66 grs.

Grupo C, está formado por 10 ratones, 5 machos con una edad que oscila entre los 4 y 5 meses y con un peso comprendido entre los 68 y 70 grs. y por 5 hembras de una edad que va de los 4 a los 5 meses y que tienen un peso de 66 a 68 grs.

El manejo de todos los roedores no fue difícil,

Resultados

debido al aclimatamiento que tienen en el estabulario y a que están acostumbrados a ser manipulados prácticamente a diario. Se dejan coger con bastante facilidad y si la manipulación es correcta no suelen dar problemas. En una ocasión en que se cogió a un ratón por la cola, el roedor realizó un movimiento rápido de giro y se desprendió la porción de piel más distal de su cola, cayendo el animal al suelo sobre sus cuatro patas, no produciéndose ningún otro tipo de lesión.

Resultados

Anestesia

La dosis de anestesia requerida osciló entre los 3.6 mg de Thiopental Sódico para los Mongolian gerbil de 60 grs. y los 4.2 mg de Thiopental Sódico para los ratones cuyo peso era de 70 grs.

La duración de la anestesia fue de una hora, tiempo más que suficiente para la intervención quirúrgica.

En 10 ocasiones tuvimos el problema de que la anestesia no fue lo suficiente profunda y el animal se quejaba cuando se le tocaba, procedimos a administrarle 1 mg más de anestésico (0.2 ml de la segunda dilución), a pesar de ello el animal seguía moviéndose, por lo que optamos por no seguir con la intervención. En todos los casos el pesaje era correcto y el anestésico acababa de ser preparado. Los animales acabaron despertándose por completo al cabo de unas 3 horas. De esta manera tuvimos que anestesiar a 10 roedores más.

Resultados

Hallazgos macroscópicos

Una vez transcurridos entre 9 y 13 meses de la intervención quirúrgica procedemos a sacrificar a los animales, y a la descripción de los hallazgos macroscópicos obtenidos.

En todos los casos del grupo A observamos una retracción de la membrana timpánica, y en 4 casos además coexistía con un colesteatoma.

El aspecto exterior de las bullas del grupo A estaba opacificado en 46 bullas, mientras que el aspecto de 4 era normal (transparente), correspondiéndose a las bullas que presentaban colesteatoma.

En las bullas del grupo B no se observó retracción timpánica, ni colesteatoma, y el aspecto exterior de la misma era normal.

El orificio de trepanación estaba ocluido en todas las bullas de los tres grupos, pero era de fácil localización. Procedimos a su reapertura, observando que en las bullas cuyo aspecto estaba opacificado existía una efusión en su interior, pero mientras que las que tenían un aspecto normal no existía efusión. La cantidad de

Resultados

efusión variaba de unas gotas que no rellenaban toda la cavidad, a estar toda la cavidad rellena por la efusión.

Pasamos a aspirar el contenido de la bulla, para poder visualizar el orificio timpánico de la Trompa de Eustaquio. En todos los casos del grupo A ésta se encontraba total o parcialmente ocluída.

En el grupo B el orificio era totalmente permeable.

En el grupo C el aspecto de la bulla era normal, no existía efusión en la caja, ni retracción timpánica y tampoco se encontró colesteatoma.

Resultados

Hallazgos microscópicos

*** Microscopía óptica:**

Tanto en el grupo B como en el C el aspecto de la mucosa era normal, es decir se mantenía el epitelio plano, con unas células cuyo grosor era mínimo y en algunos puntos parece no existir. La mucosa de estos dos grupos tiene el mismo aspecto que la mucosa que observamos en los ratones que sacrificamos sin haber practicado ningún tipo de cirugía sobre sus bullas.

El aspecto de la mucosa de las bullas del grupo A era patológico, teniendo un aspecto totalmente distinto a las bullas normales, y a las bullas de los grupos B y C (de aspecto también normal).

A nivel de la cavidad timpánica observamos una efusión de coloración eosinófila (Tinción de Hematoxilina-Eosina), que según la bulla puede presentar o no leucocitos polimorfonucleares en su interior.

En un caso hemos observado que en el exudado existen abundantes neutrófilos polimorfonucleares. La mucosa de esta bulla está formada por un epitelio plano poliestratificado, no observamos la existencia de un

Resultados

espacio subepitelial aumentado de tamaño. La mucosa descansa directamente sobre el hueso (figuras 42 y 43).

En cuatro bullas hemos observado como se produce una organización de esta efusión, mostrándonos la presencia de fibroblastos, fibras de colágeno, cristales de colesterol y vasos sanguíneos en su interior. La efusión organizada se localiza en la zona del ático, y coexiste con efusión sin organizar en el resto de la cavidad (figuras 44, 45 y 46).

En un caso hemos observado como este tejido inflamatorio provoca una retracción de la membrana timpánica, llegando a fijar el tímpano a la pared a la pared del promontorio. Observamos también en esta bulla la existencia de colesteatoma a nivel del Conducto Auditivo Externo (figura 46).

La mucosa de la zona del hipotímpano, es la que muestra menos metaplasia. Suele presentar un aspecto de epitelio plano en una o dos capas, siempre de un grosor mucho mayor al del epitelio normal. Hay puntos en que el aspecto es cuboidal. El espacio subepitelial no se encuentra aumentado de tamaño (figura 18).

La mucosa que recubre a los canales semicirculares

Resultados

también se muestra poco engrosada observándose normalmente sólo una o dos capas de células de características epiteliales, siempre de mayor tamaño si las comparamos con una bulla normal (figuras 27 y 28).

A nivel del resto de la cavidad timpánica observamos que la mucosa puede ir variando de forma continua. Así vemos como de forma paulatina el grosor de la misma va aumentando, dando lugar primero un aspecto pseudoestratificado, posteriormente cuboidal en una o más capas y finalmente el de un epitelio poliestratificado (figura 22).

El grosor del espacio subepitelial también varía, aumentando de forma paulatina al aumentar el grosor del epitelio, aunque hay zonas con sólo una capa de células epiteliales que presenta una capa subepitelial amplia. El espacio subepitelial queda muy bien delimitado con la tinción del Tricrómico de Masson (figura 36), y nos ayuda a diferenciar en ocasiones epitelios que parecen formados por dos capas, cuando en realidad esta segunda capa la forman fibroblastos que parecen células epiteliales aplanadas.

Con la tinción de PAS A-B, pudimos observar que no existen células secretorias de moco a nivel de la mucosa del grupo A (figura 37).

Resultados

Únicamente localizamos células secretorias a nivel de la zona de la Trompa de Eustaquio. La efusión que observamos no es PAS positiva.

En los cuatro casos que observamos colesteatoma, éste se produce a partir de una bolsa de retracción, no existiendo perforación timpánica. La mucosa de estas cuatro bullas era prácticamente normal, observándose un discreto aumento del tamaño de las células de la mucosa que reviste la cavidad timpánica, se observa una mínima efusión en la cavidad timpánica. La membrana timpánica se encuentra siempre aumentada de grosor, y existen puntos de la misma en que han desaparecido la capa fibrosa media y la capa de revestimiento interna (figuras 32 y 33), observándose únicamente la capa epitelial externa que se encuentra muy hipertrofiada.

Observamos zonas donde el espesor del hueso prácticamente se ha reducido a la mitad, habiendo sido sustituido por una mucosa aumentada de tamaño y por un amplio espacio subepitelial formado por fibroblastos y fibras de colágeno. Estos puntos podrían corresponder a zonas donde existe remodelación ósea, en la cual no hemos observado osteoclastos. Pudiendo corresponder a una fase inactiva de remodelación ósea, o bien que esta remodelación no sea debida a los osteoclastos sino que su

Resultados

origen sea enzimático (figura 23).

En una bulla pudimos observar como su mucosa presentaba una metaplasia escamosa y el espacio subepitelial se encontraba aumentado de tamaño, tal y como se puede observar en la figura 47.

Resultados

*** Microscopía electrónica:**

Hemos podido observar como la mucosa del oído medio con otitis media crónica está formada por células de estirpe epitelial, que presentan una marcada actividad mitocondrial y que nos muestran la existencia de desmosomas, como se puede observar en la figura 49.

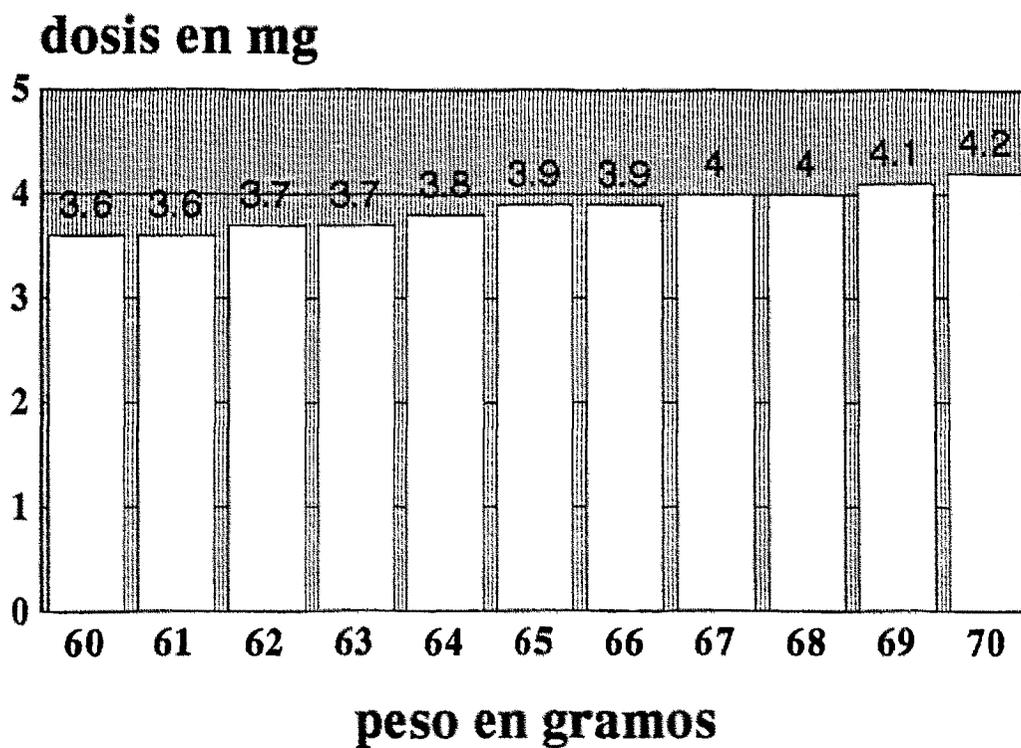
Esta mucosa está formada por 3-4 capas de células de estirpe epitelial delimitadas por una membrana basal. Por debajo de la misma se observa un espacio subepitelial que sirve de nexo de unión entre la mucosa y el hueso. Esto se puede observar en la figura 48.

A nivel del espacio subepitelial a más aumentos podemos observar la existencia de fibroblastos, fibras de colágeno y capilares sanguíneos con algún hematíe en su interior, tal y como se ve en la figura 50.

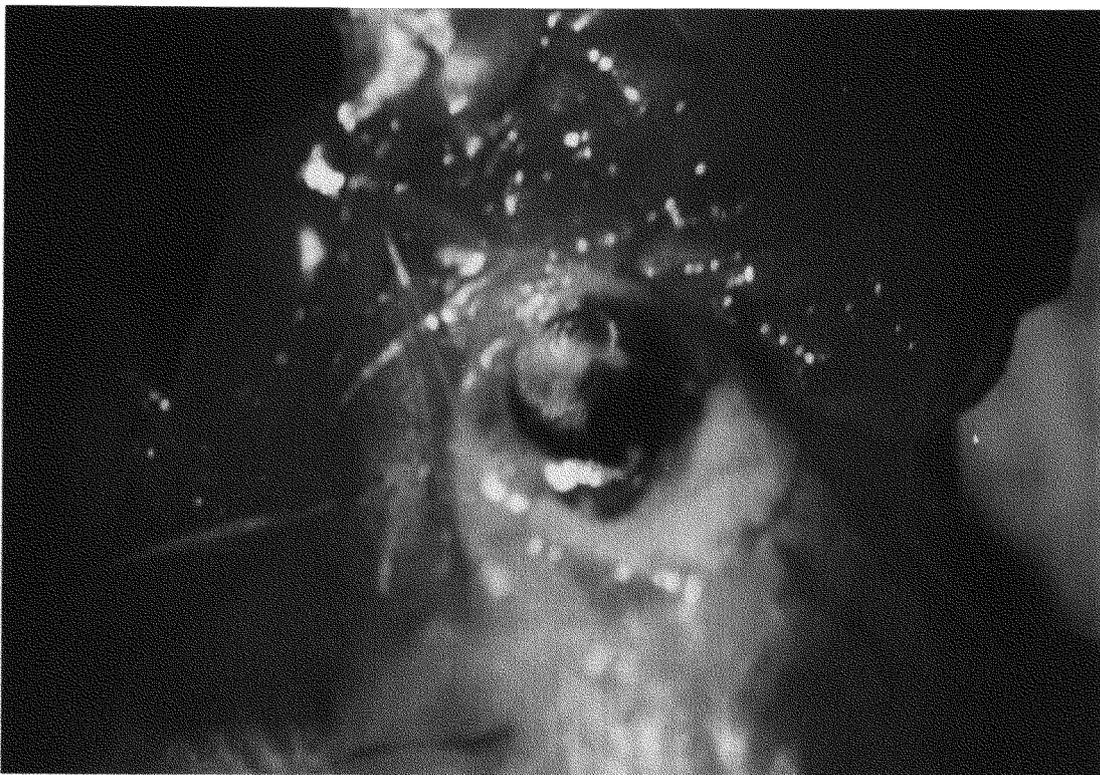
A nivel del espacio subepitelial y en contacto con el hueso podemos observar la presencia de algún osteoblasto (figura 51).

En el interior del hueso podemos observar: osteocitos, fibras de colágeno y canales de Havers (figura 52).

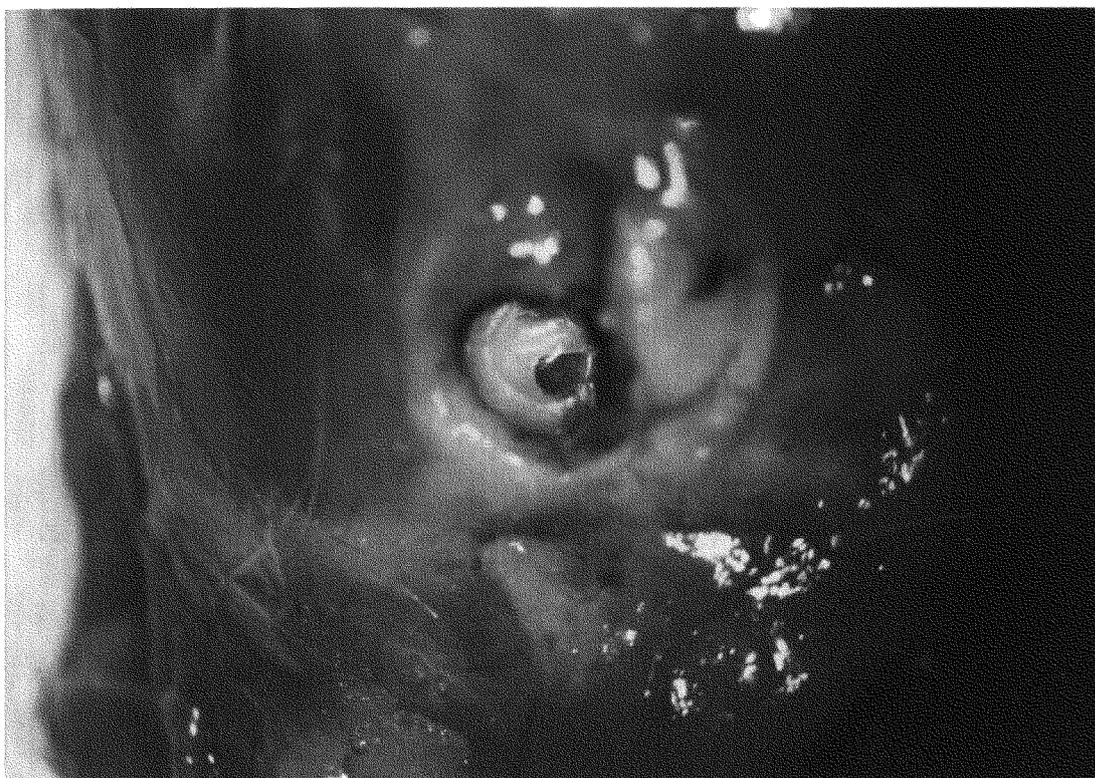
Tabla 2
Relación peso/dosis de anestésico



Resultados



Tímpano de aspecto normal.



Retracción timpánica.

Resultados



Orificio de trepanación de la bulla timpánica. T marco timpánico, A arteria estapedia.

Resultados

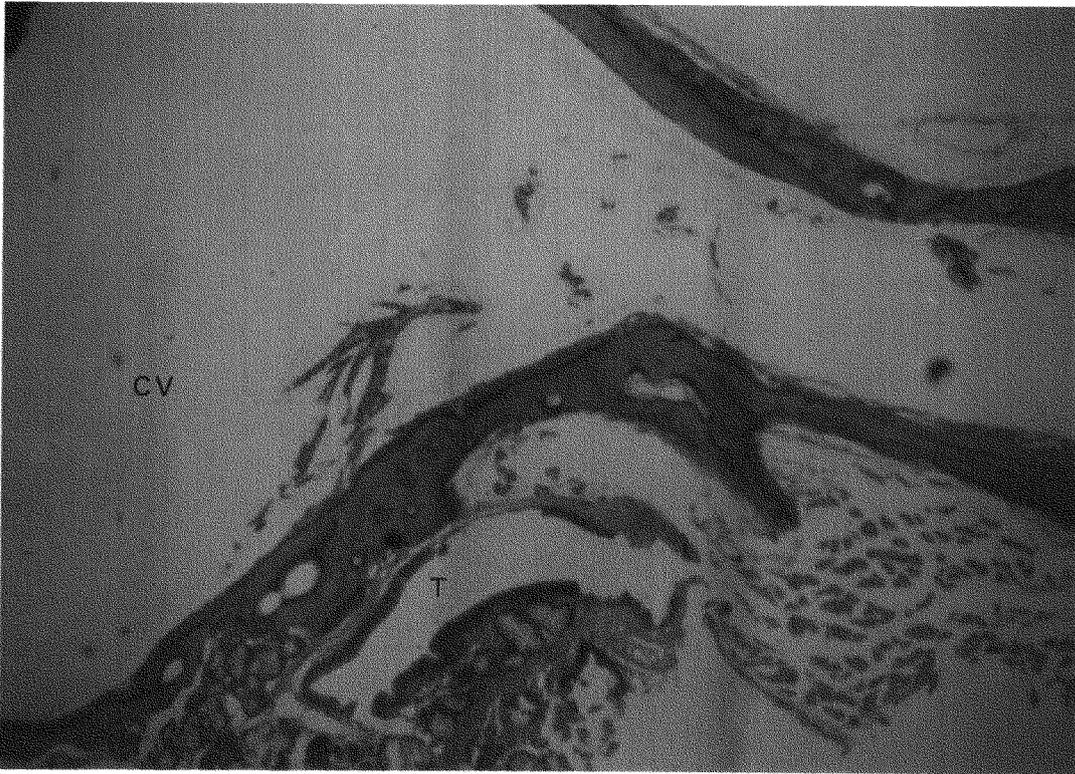


Figura 17. H-E 75X. Hipotímpano con ligera efusión. T T.E., CV cavidad timpánica.

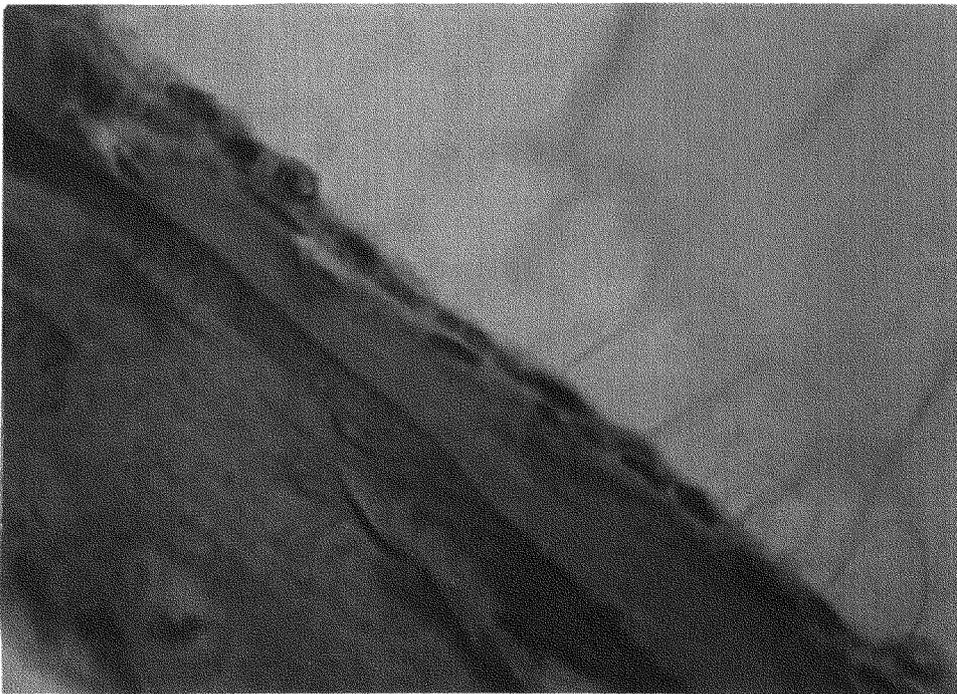


Figura 18. H-E 1140X. Detalle de la anterior. Mucosa engrosada, en una o dos capas.

Resultados

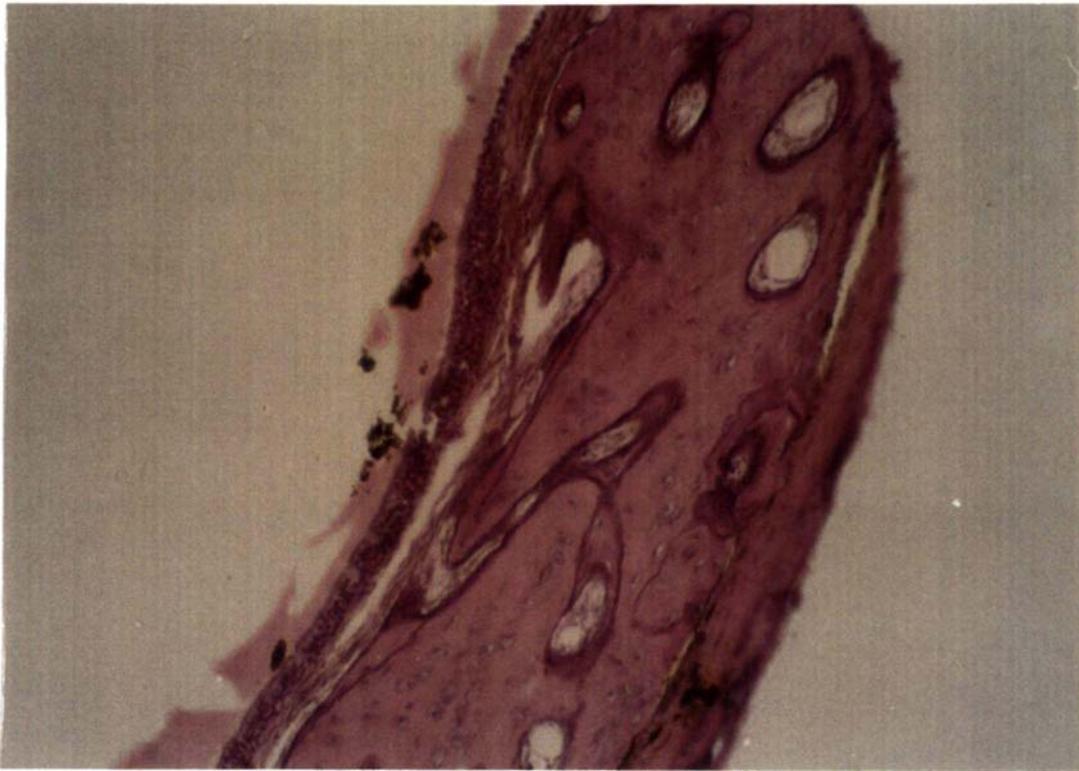


Figura 19. H-E 186X. Efusión en caja. Se observa toda la transición de un epitelio en una capa a uno poliestratificado. Espacio subepitelial muy aumentado.

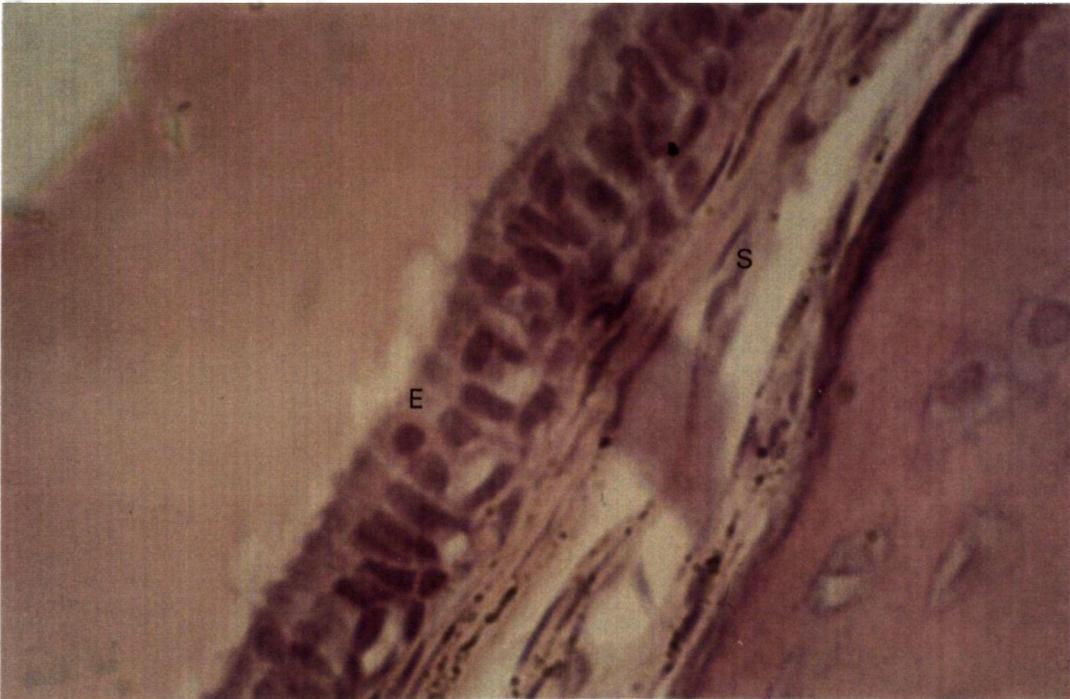


Figura 20. H-E 1140X. Detalle de la anterior. E epitelio pseudoestratificado. S subepitelio con fibroblastos.

Resultados

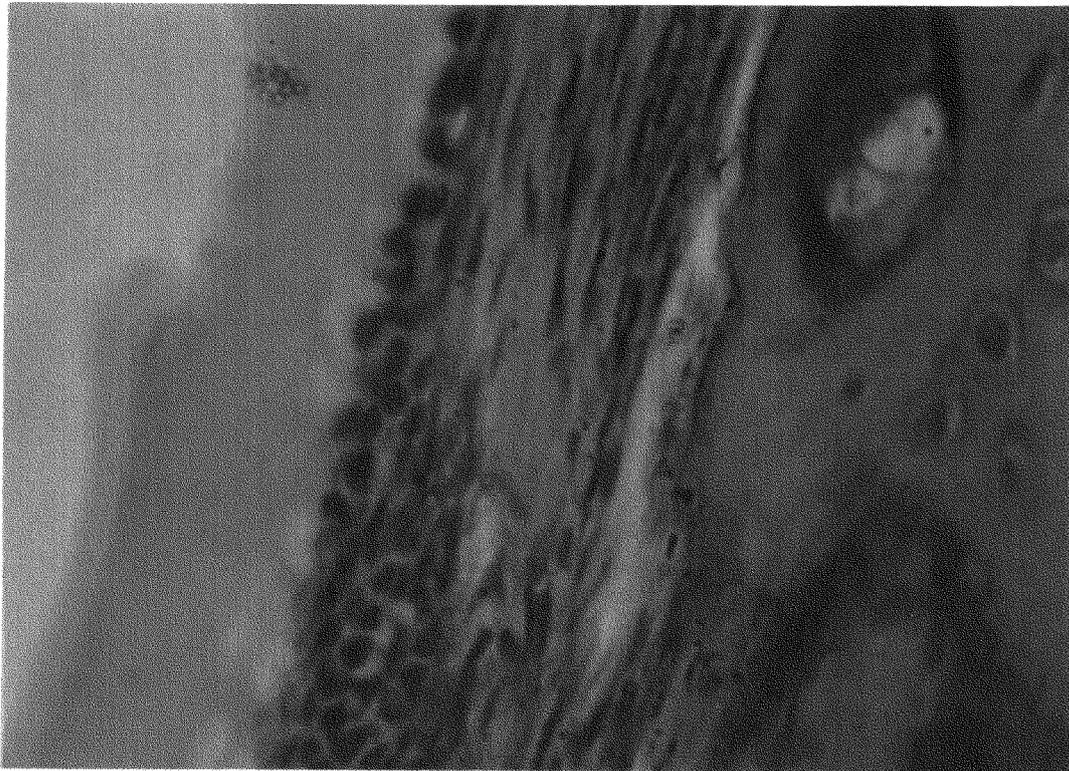


Figura 21. H-E 1140X. Se observa transición de una a varias capas. Subepitelio aumentado de tamaño.

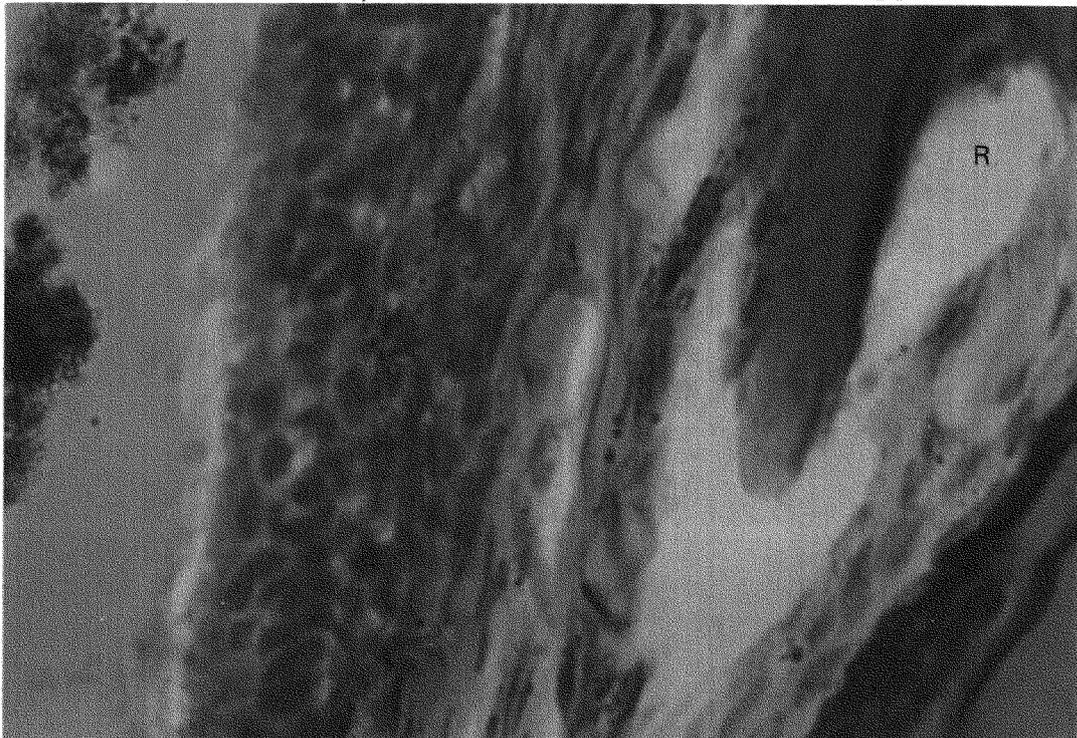


Figura 22. H-E 1140X. Epitelio poliestratificado. R reabsorción ósea sin osteoclastos.

Resultados

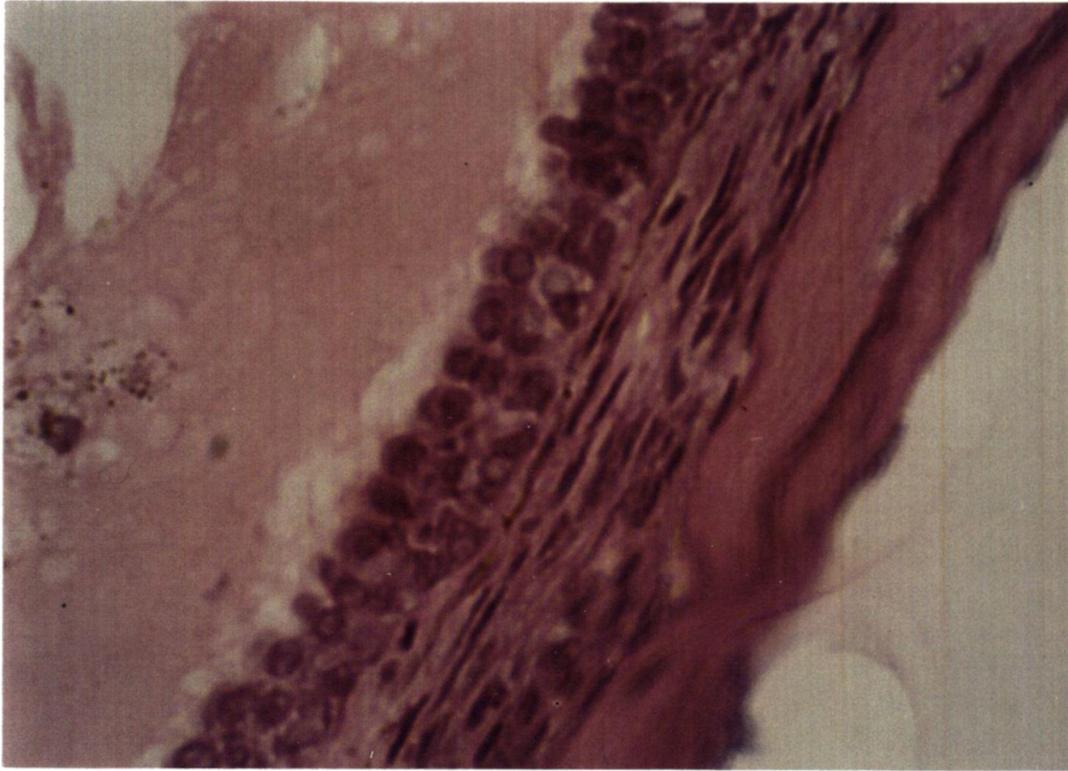


Figura 23. H-E 1140X. Epitelio en dos capas. Subepitelio muy aumentado. Adelgazamiento del espesor del hueso.



Figura 24. H-E 1140X. P piel del CAE. H hueso. M mucosa. E efusión.

Resultados

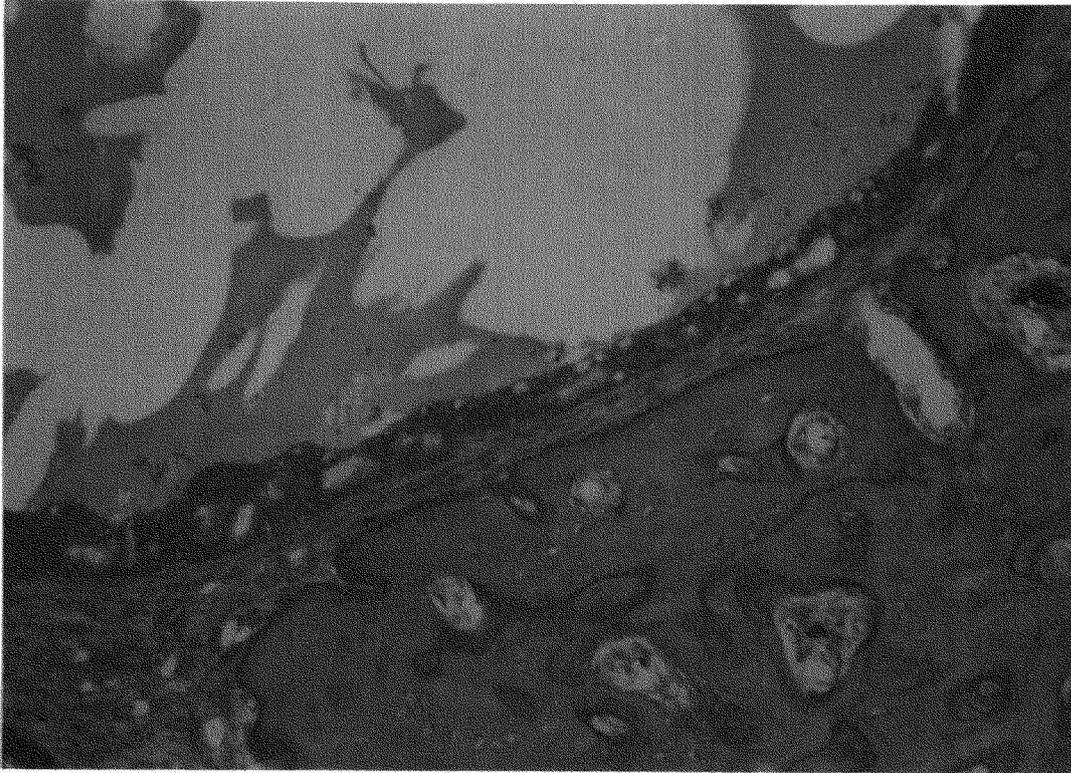


Figura 25. H-E 186X. Epitelio glandular con subepitelio aumentado de tamaño. Efusión en caja.

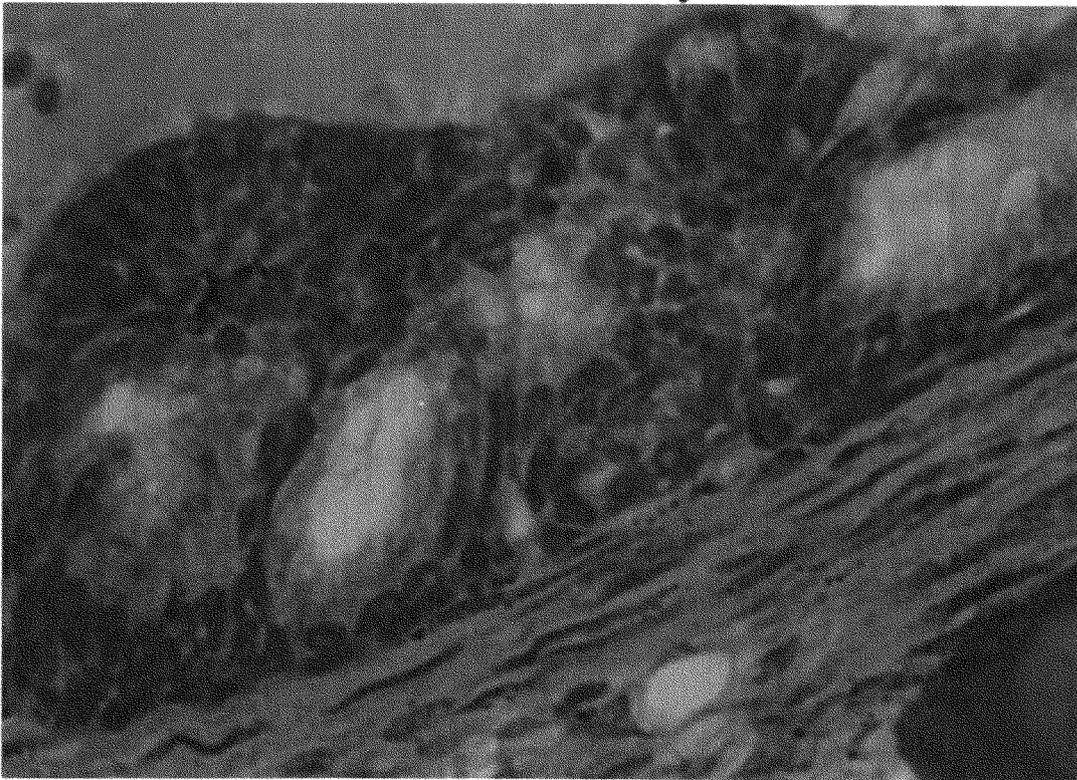


Figura 26. H-E 1140X. Detalle de la anterior.

Resultados

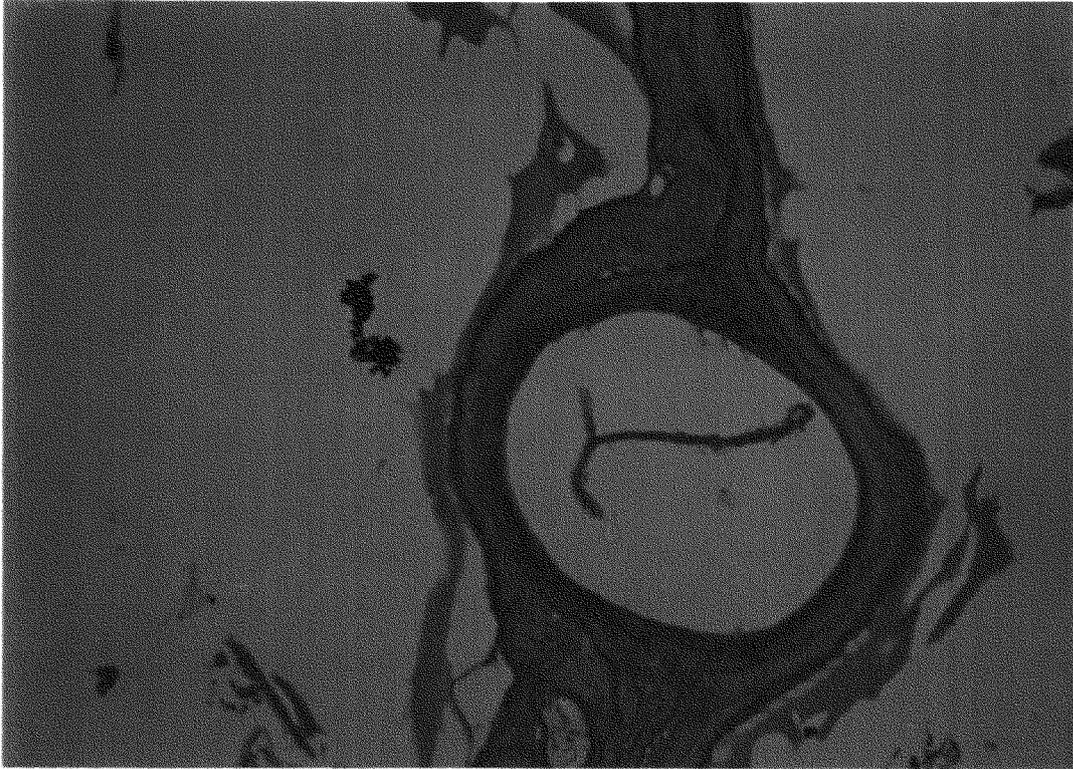


Figura 27. H-E 186X. Canal semicircular con efusión en caja.



Figura 28. H-E 465X. Detalle de la anterior.