



Tratamiento de la perforación aguda de la membrana timpánica de cobayos con glucosamina-condroitina-vitamina C

RESUMEN

Objetivos: determinar el alivio de la perforación aguda de la membrana timpánica postratamiento con glucosamina-condroitina-vitamina C en cobayos, conocer el tiempo de alivio de la perforación aguda de membrana timpánica con y sin tratamiento con glucosamina-condroitina-vitamina C, así como determinar si existe relación con el tamaño de la perforación de la membrana timpánica.

Material y método: estudio experimental, prospectivo, longitudinal y comparativo, en el que se incluyeron 20 cobayos sanos, adultos, 10 hembras y 10 machos, con peso de 400 a 1,000 g. Se realizaron otoscopias a fin de valorar la integridad de la membrana timpánica de los cobayos y descartar procesos infecciosos, documentar anatomía y tamaño de la membrana timpánica. Al grupo B se le inició tratamiento con sulfato de glucosamina-sulfato de condroitina-vitamina C (450 mg/10 mg/30 mg), vía oral cada 12 horas, durante un mes.

Resultados: el cierre de la perforación de las membranas timpánicas ocurrió a las dos semanas en seis membranas timpánicas (dos en el grupo control, cuatro en el grupo experimental); a las tres semanas en 30 membranas timpánicas (14 en el grupo control y 16 en el grupo experimental) y durante la cuarta semana, dos membranas pertenecientes al grupo control. Sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($p=4.8$, $gl=2$, $p=0.091$).

Conclusiones: el tratamiento de la perforación aguda de la membrana timpánica en cobayos no mejora ni reduce el tiempo de cierre de la perforación.

Palabras clave: perforación, membrana timpánica, cobayos, glucosamina, condroitina, vitamina C.

Ciro Irving Garzón-Arruel
Isabel Mora-Mendoza
Raúl Barranco

Hospital Central Militar.

Recibido: 15 de mayo 2015

Aceptado: 26 de agosto 2015

Correspondencia: Dr. Ciro Irving Garzón Arruel
Hospital Central Militar
Blvd. Manuel Ávila Camacho s/n, esq. Av. Industria
Militar
11200 México, DF

Este artículo debe citarse como
Garzón-Arruel CI, Mora-Mendoza I, Barranco R. Tratamiento de la perforación aguda de la membrana timpánica de cobayos con glucosamina-condroitina-vitamina C. An Orl Mex 2015;60:243-251.

Treatment of acute perforation of tympanic membrane of guinea pigs with glucosamine-chondroitin-vitamin C

ABSTRACT

Objectives: To determine the relieve of acute perforation of tympanic membrane posttreatment with glucosamine/chondroitin/vitamin C in

guinea pigs, to know the time of cure of acute perforation of tympanic membrane with or without glucosamine/chondroitin/vitamin C, as well as to determine if there is a relation to the size of perforation of tympanic membrane.

Material and method: An experimental, prospective, longitudinal and comparative study was made including 20 healthy, adults guinea pigs, of both sexes, with weight of 400 to 1,000 g. Otoscopies were done in order to assess the integrity of tympanic membrane of guinea pigs and to discard infectious processes, to document anatomy and size of tympanic membrane. Guinea pigs were distributed into two groups; all subjects were submitted to myringotomy of pars tensa of each tympanic membrane; group B was given treatment with glucosamine-chondroitin sulphate-vitamin C (450 mg/10 mg/30 mg), VO, each 12 hours, for a month.

Results: Closing of perforation of tympanic membranes occurred after two weeks in six membranes (two of the control group [A] and four in experimental group [B]); at three weeks in 30 tympanic membranes (14 in group A and 16 in group B) and at four weeks, two of group A. However, there was not statistically significant difference between groups ($p=4.8$, $gl=2$, $p=0.091$).

Conclusions: Treatment of acute perforation of tympanic membrane in guinea pigs does not improves nor reduce the time for closing of perforation.

Key words: perforation, tympanic membrane, guinea pigs, glucosamine, chondroitin, vitamin C.

ANTECEDENTES

Existen diversas causas de perforación de la membrana timpánica; las más frecuentes son las traumáticas y las secundarias a un proceso infeccioso del oído medio. Las de origen por traumatismo agudo tienden a cerrar espontáneamente, mientras que el resto puede ser necesario tratarlas con procedimiento quirúrgico.¹ La regeneración de la membrana timpánica, posterior a una perforación traumática, es un complejo proceso biológico que implica la proliferación y migración epitelial, la proliferación fibroblástica, la angiogénesis y la remodelación tisular. Existe una amplia variedad de técnicas para prevenir la remoción del epitelio escamoso y desencadenar una reacción reparativa fibroblástica en la capa fibrosa media de la membrana timpánica, desde el uso de agentes químicos, como el nitrato de plata o el ácido tricloroacético, hasta la prescripción de ácido hialurónico y factores de crecimiento.^{1,2}

El colágeno es la proteína más abundante del cuerpo y es el principal componente del tejido conectivo. La molécula de colágeno se compone de tres cadenas de polipéptidos, que están trenzados uno alrededor del otro, y forman una triple cadena helicoidal larga y fuerte, estabilizada por los aminoácidos de prolina y glicina. Estas estructuras helicoidales forman fibrillas de colágeno que son de 10 a 300 nm de diámetro; éstas se agrupan en unidades más grandes, llamadas fibras de colágeno, que son de varios micrómetros de diámetro y, por tanto, visibles con un microscopio de luz.² Se han descrito 25 diferentes cadenas, cada una codificada por genes separados y que forman, aproximadamente, 20 tipos diferentes de colágeno, que son característicos de diferentes tejidos.³

Las fibras de colágeno son de diversos diámetros y están dispuestas en patrones diferentes en tejidos diferentes. El colágeno tipo I es el principal colágeno del hueso, la piel, el tendón y de las



heridas recientemente cicatrizadas. El colágeno tipo II es más delgado y es el colágeno típico de cartílago. El colágeno tipo III se encuentra en gran medida en el tejido embrionario, la cicatrización de las heridas, el tejido conectivo de la piel, los vasos sanguíneos, el útero, el pulmón y el hígado.^{3,6}

En la perforación experimental de la membrana timpánica en modelos animales, la capa epitelial pronto comienza a proliferar sobre el defecto, en la dirección de la migración epitelial de la membrana timpánica, apoyada por una capa subyacente de tejido conectivo inflamado; la capa fibrosa se restableció después de que la capa epitelial se regeneró.^{4-6, 13-15}

El colágeno tipo II es un componente principal de la lámina propia de la pars tensa, mientras que el colágeno tipo I se encuentra principalmente en la pars fláctica. El colágeno tipos I y III se encontró en la inserción en el mango del martillo y en el tejido conectivo laxo que rodea a la capa de colágeno principal de la pars tensa. Después de una miringotomía, el colágeno tipos I y III se encontró en la periferia de la perforación alrededor de los vasos sanguíneos dilatados, en la fase temprana de la regeneración. Durante un proceso infeccioso, la capa de colágeno se espesa y se fortalece por colágeno tipo II. El colágeno tipos I y III se encuentra en el tejido conectivo alrededor de los vasos sanguíneos dilatados tres meses después de la perforación o de un proceso infeccioso; los tres tipos de colágeno estaban presentes en la lámina propia de la membrana timpánica y en el tejido de cicatrización de la membrana timpánica de ratas que habían sido sometidas a miringotomía por otitis media aguda.^{4-7, 19-22-27}

La lámina propia de la pars tensa se compone principalmente de colágeno tipo II, mientras que el colágeno tipo I se encuentra en la pars fláctica. Así, la estructura fibrosa de la pars tensa

y fláctica se compone de diversos tipos de colágeno, lo que refleja las diferentes propiedades fisiológicas de estos tejidos. El colágeno tipo I y III se encuentra en la fase de curación después de una miringotomía aguda o de una infección, y el contenido de colágeno de la membrana timpánica se modifica durante el proceso inflamatorio y la curación.^{6,7,23-27}

La glucosamina es un aminoazúcar, molécula mixta que se comporta como componente natural de los mucopolisacáridos que están en el tejido conectivo. En particular, sirve para la síntesis de los proteoglicanos, macromoléculas formadas por una proteína central, a la que se unen, mediante enlaces covalentes, los glucosaminoglicanos (queratán-sulfato y condroitina-sulfato), polisacáridos formados por polímeros de N-acetilglucosamina. Los proteoglicanos se depositan en la matriz intercelular del tejido cartilaginoso y cumplen con la importantísima función de absorber moléculas de agua sobre su superficie para, de esta manera, proporcionar elasticidad y tolerancia a las cargas de presión que caracterizan a este tejido, extremadamente útil para reducir la fricción y evitar el desgaste de las extremidades óseas articulares. El componente sulfato de su molécula es fundamental porque por su carga eléctrica impide que las moléculas de condroitina se adhieran unas a otras, haciendo que se mantengan desplegadas permanentemente.⁸⁻¹⁰

La administración de glucosamina por sí sola, y más aún, asociada con uno de sus principales derivados, condroitina-sulfato, facilita enormemente la biosíntesis de proteoglicanos. De manera adicional, la glucosamina inhibe la liberación de interleucina 1-beta por parte de los leucocitos infiltrados, lo que reduce de manera rápida el dolor y el componente inflamatorio.⁸⁻¹⁰

Luego de la administración oral de glucosamina, la absorción de ambas moléculas es de aproximadamente 90%. Estas moléculas son

transportadas en su mayor parte ligadas a las proteínas plasmáticas y aunque penetran a todos los órganos en los que hay tejido conectivo, las mayores concentraciones se alcanzan en el cartílago y otros componentes articulares. Se metabolizan parcialmente en el hígado y se eliminan principalmente por vía renal. La absorción oral de la vitamina C es inversamente proporcional a la cantidad ingerida y la absorción es mediada por un transportador específico, que es oxidado para ingresar a los enterocitos, donde mediante glutatión es reducido nuevamente a ascorbato. De ese modo pasa primero a la circulación portal y luego, a la circulación general. Se distribuye de manera uniforme por los tejidos y es metabolizado por oxidorreducción y el ascorbato y sus metabolitos se excretan por la orina.⁸⁻¹⁰

Aunque existen algunos datos que indican que la glucosamina y condroitina-sulfato pueden influir en el metabolismo del cartílago, la mayor parte de la información proviene de modelos *in vitro* o de estudios en animales. Estos efectos no están establecidos en modelos *in vivo* realizados en seres humanos, tampoco se ha observado que las respuestas metabólicas ocurran en cartílagos artríticos o senescentes.⁸⁻¹⁰ Ambos agentes aparentan tener más de un mecanismo de acción: parecen estimular la producción de matriz cartilaginosa y reducir la producción de moléculas proteolíticas. Además, se ha observado que la glucosamina posee propiedades antiinflamatorias al identificarla como inhibidora de la producción de óxido nítrico, inducido por el factor de necrosis tumoral alfa y de la interleucina 1 β . También se ha observado que suprime, mediante una vía indirecta, la producción de ciclooxygenasa-2 y de interleucina 6. Las evidencias recientes sugieren que la glucosamina puede afectar de manera favorable el equilibrio entre la degradación del cartílago y la síntesis.^{8-10,28}

El condroitina-sulfato tiene propiedades similares a las de la glucosamina. Se ha observado

que inhibe la quimiotaxis de los leucocitos humanos, disminuye la fagocitosis y la liberación de lisozima, además de que protege a la membrana plasmática de las especies reactivas de oxígeno.⁸⁻¹⁰ En perros y en ratas, una dosis oral de condroitina marcada con radionucleidos provocó una absorción de 70%, con un valor pico a las dos horas. El hígado, el riñón, los intestinos, el líquido sinovial y el cartílago mostraron la radiactividad más alta 24 horas después de la administración. Cuando se administró una dosis única de 800 mg de condroitina-sulfato y en dos dosis diarias de 400 mg cada una a voluntarios humanos, provocó un incremento significativo en la concentración plasmática de condroitina cuando se la comparó con los valores preadministración durante un periodo de 24 horas.^{8-10,28}

Investigadores europeos y asiáticos realizaron diversos ensayos controlados con placebo a comienzos del decenio de 1980. En estos estudios, las preparaciones orales, intramusculares e intraarticulares de glucosamina se asociaron con un alivio del dolor más duradero, mejoría en el grado de movilidad de las articulaciones y con disminución de la tumefacción o inflamación en menor grado.^{8-10,28} En estudios experimentales se demostró un efecto sinérgico cuando se administró de manera conjunta glucosamina y condroitina-sulfato. Se han reportado efectos adversos menores, como malestares gastrointestinales, cefalea, dolor en los miembros, edema y picazón y no se sabe si la administración prolongada tiene consecuencias fisiológicas. Los datos sugieren que la glucosamina afecta el metabolismo de la glucosa y de la insulina, pero no se conoce por completo la manera en la que esto ocurre, ni la dosis de glucosamina que puede tener este efecto. En un estudio reciente se observó que la infusión exógena de glucosamina en ratas de laboratorio afectó la función de la insulina y la de su receptor, y que su administración en pacientes diabéticos puede potenciar esta enfermedad; aunque hasta el momento no se han



realizado correlaciones con los seres humanos. Las concentraciones de glucosamina alcanzadas en estos animales fueron significativamente más altas que las que se consiguen luego de una dosis terapéutica del medicamento.^{8,9,28}

El cobayo es un modelo ideal para estudios otoaudiológicos porque las dimensiones de la membrana timpánica y del oído medio son grandes, por lo que el abordaje quirúrgico es relativamente fácil y se puede realizar por el oído externo, el oído medio o el oído interno, con mínima pérdida de sangre y baja mortalidad.¹¹

Debido a que no existe ningún estudio que demuestre la utilidad de la glucosamina-condroitina-vitamina C como opción terapéutica en el tratamiento de la perforación aguda de la membrana timpánica, es importante realizar este estudio en modelo animal (cobayos) con el fin de determinar su función y constituir así una nueva modalidad de tratamiento médico de la perforación aguda de la membrana timpánica, además de reducir la posibilidad de tratamiento quirúrgico; o en su defecto, ser un tratamiento coadyuvante al quirúrgico para incrementar el éxito posoperatorio.

De acuerdo con la composición histológica de la membrana timpánica, y al considerar la farmacodinamia y farmacocinética de la glucosamina-condroitina-vitamina C, nos cuestionamos si esta combinación puede ser una nueva opción terapéutica para el cierre de la perforación aguda de la membrana timpánica en cobayos.

Por ello, los objetivos de este estudio es determinar la curación de la perforación aguda de la membrana timpánica postratamiento con glucosamina-condroitina-vitamina C en cobayos, conocer el tiempo de alivio de la perforación aguda de membrana timpánica con y sin tratamiento con glucosamina-condroitina-vitamina C, así como determinar si existe relación con el tamaño de la perforación de la membrana

timpánica y conocer si existen cambios histopatológicos entre los grupos de estudio.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio experimental, prospectivo, longitudinal y comparativo, en el que se incluyeron 20 cobayos sanos, adultos, 10 hembras y 10 machos, con peso de 400 a 1,000 g, que se alojaron en el bioriego del Hospital Central Militar, bajo la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) de especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales en laboratorio. Los sujetos de estudio se alojaron en jaulas de metal de 70 x 50 x 40 cm, con cama de pino compacto y deshidratado, a temperatura ambiente, con alimento comercial especial para cobayos (guinea Pig Diet 5025 ad libitum); la dieta se complementó con agua.

Los criterios de inclusión fueron: cobayos adultos, de raza Dunkin-Harley, clínicamente sanos, con la membrana timpánica íntegra, sin perforación de ésta y sin datos de infección ótica. Los criterios de exclusión incluyeron: cobayos con alteración o malformación anatómica ótica, con perforación de la membrana timpánica, con otitis externa, media aguda o crónica, o que hubieran participado en otro estudio experimental. Los criterios de eliminación fueron: cobayos que tuvieran infección ótica aguda, los que murieron durante el estudio y los que no ingirieron el medicamento glucosamina-condroitina-vitamina C durante el estudio.

Este estudio tuvo como variables cualitativas: sexo de los cobayos, neovascularización, inflamación, actividad de fibroblastos y collagenización, y como variables cuantitativas: peso de los cobayos, tamaño de la membrana timpánica, tamaño de la perforación de la membrana timpánica, porcentaje de la perforación de la membrana timpánica y tiempo de cierre de la perforación de la membrana timpánica.

Se realizaron otoscopias a fin de valorar la integridad de la membrana timpánica de los cobayos, descartar procesos infecciosos y documentar anatomía y tamaño de la membrana timpánica. Los cobayos se clasificaron en dos grupos: grupo A (control), compuesto por cinco hembras y cinco machos y grupo B (experimental), compuesto de la misma manera que el grupo control. En el laboratorio de cirugía experimental del Hospital Central Militar, a ambos grupos se les realizó miringotomía en la pars tensa de cada membrana timpánica, con sedación previa con ketamina base 100 mg/mL, a 70 mg/kg de peso, con observación bajo endoscopio de 0 grados de 1.9 mm, previa asepsia, antisepsia y vestido quirúrgico, con equipo de disección otológica. Al grupo B se le inició tratamiento con sulfato de glucosamina-sulfato de condroitina-vitamina C (450 mg/10 mg/30 mg), vía oral cada 12 horas, durante un mes. Posterior a la miringotomía se realizó la valoración otoscópica de cada cobayo del grupo control y del experimental, cada semana, durante un mes, con el fin de valorar la evolución de la perforación de la membrana timpánica.

Al finalizar el tiempo de estudio de un mes, los cobayos de ambos grupos se sacrificaron, con aplicación intracardíaca de pentobarbital sódico (0.5 mL/100 g) y se les realizó miringectomía total en el laboratorio de cirugía experimental con equipo de disección otológica y bajo observación con microscopio electrónico; las muestras se fijaron en solución de formaldehído a 10% y se enviaron al departamento de Patología del Hospital Central Militar, para su estudio histopatológico. Asimismo, se realizó el análisis

estadístico mediante la prueba t de Student, χ^2 y coeficiente de correlación de Pearson y Rho Spearman con el sistema SPSS versión 19 IBM Wacker Drive, Chicago, Illinois.

RESULTADOS

Se analizaron 40 membranas timpánicas, 20 en el grupo control y 20 en el grupo experimental, que tuvieron en promedio un área de 108 mm² (94.2-175.93 mm²) y un porcentaje de perforación de 14% (8.3-15.5 mm²).

Se realizó análisis estadístico con la prueba t de Student y se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el peso de los cobayos entre los dos grupos ($t=2.067$, $gl=38$, $p=0.046$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tamaño de la membrana timpánica, ni en la perforación de la misma, entre el grupo control y el grupo experimental o de estudio ($t=0.881$, $gl=38$, $p=0.384$; $t=0.044$, $gl=38$, $p=0.771$, respectivamente). El cierre de la perforación de las membranas timpánicas ocurrió a las dos semanas en seis membranas timpánicas (dos en el grupo control y cuatro en el grupo experimental); a las tres semanas en 30 membranas timpánicas (14 en el grupo control y 16 en el grupo experimental) y durante la cuarta semana, dos membranas pertenecientes al grupo control. Sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($p=4.8$, $gl=2$, $p=0.091$). Cuadro 1

En relación con la valoración histopatológica, en el grupo control, 16 membranas tuvieron neovas-

Cuadro 1. Registro del tiempo de cierre de la perforación timpánica en ambos grupos del estudio

	Cierre de perforación en la semana 2	Cierre de perforación en la semana 3	Cierre de perforación en la semana 4	Total
Grupo control	2	14	4	20
Grupo experimental	4	16	0	20
Total	6	30	4	40



cularización positiva y en el grupo experimental, 14 membranas. Sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($p=0.533$, $gl=1$, $p=0.465$). Con respecto a la actividad de fibroblastos, ésta fue positiva en todas las membranas del grupo experimental ($n=20$) y sólo en ocho membranas del grupo control, por lo que hubo diferencia estadísticamente muy significativa entre los dos grupos ($p=17.4$, $gl=1$, $p<0.005$). La inflamación en el grupo control se reportó más en 12 membranas y en cuatro del grupo de estudio, por lo que existió diferencia estadísticamente significativa entre estos grupos ($p=6.6$, $gl=1$, $p=0.01$). La colagenización fue más

positiva en 18 membranas del grupo experimental y 10 en el grupo control, con diferencia estadísticamente muy significativa entre ambos grupos ($p= 7.6$, $gl=1$, $p=0.006$). Cuadro 2 y Figuras 1 y 2

Se encontró una correlación positiva muy significativa entre el peso y el tamaño de la membrana ($p= 0.825$, $p<0.005$), y hubo una correlación negativa muy significativa entre el peso y el tamaño de la perforación de la membrana timpánica ($p= -0.837$, $p< 0.005$). Por ello, se reportó una correlación negativa y significativa entre el tamaño de la membrana timpánica y el tamaño de la perforación de la misma ($p= -0.799$, $p< 0.005$).

Cuadro 2. Comparación de resultados histopatológicos entre el grupo control y el experimental

		Neovascularización		Actividad fibroblástica		Inflamación		Colagenización	
		+	-	+	-	+	-	+	-
Grupo control	n	16	4	8	12	12	8	10	10
	%	80	20	40	60	60	40	50	50
Grupo experimental	n	14	6	20	0	4	16	18	2
	%	70	30	100	0	20	80	90	10
p χ^2		0.533		17.4		6.6		7.6	
P		0.465		<0.005		0.01		0.006	



Figura 1. Microfotografía 400x, que corresponde a tinción tricrómica de Masson, donde se observan fibras de colágeno con escasos fibroblastos en el grupo control.

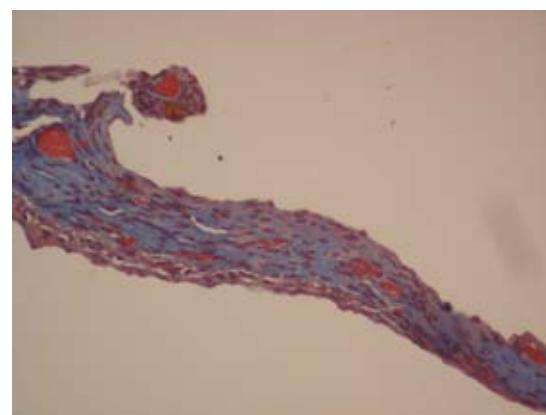


Figura 2. Microfotografía 400x, que corresponde a tinción tricrómica de Masson, donde se identifican fibras de colágeno, organizadas, con capilares, sin proceso inflamatorio y con actividad fibroblástica en el grupo experimental.

El peso tuvo una correlación negativa muy significativa con el porcentaje de perforación de la membrana timpánica ($p= 0.874$, $p< 0.005$) y hubo una correlación positiva muy significativa entre el porcentaje de perforación y la semana de cierre de la misma ($r= 0.576$, $p< 0.005$). Asimismo, encontramos una correlación positiva no significativa entre el peso y la neovascularización ($r= 0.205$, $p=0.20$) entre el peso y la actividad fibroblástica ($r= 0.01$, $p=0.95$) y entre el peso y la colagenización ($r=0.11$, $p=0.48$).

Existe una correlación positiva significativa entre el porcentaje de perforación de la membrana timpánica y el proceso inflamatorio ($r= 0.378$, $p=0.016$).

DISCUSIÓN

En este trabajo, con el fin de observar si la administración de glucosamina-condroitina-vitamina C cierra la perforación de la membrana timpánica o disminuye el tiempo de cierre de la perforación, se evaluaron los cambios otoscópicos y microscópicos que sufre la membrana timpánica de cobayos después del tratamiento con glucosamina-condroitina-vitamina C.

La glucosamina-condroitina-vitamina C no reduce significativamente el tiempo de cicatrización de la perforación de la membrana timpánica, con una correlación positiva significativa entre el porcentaje de perforación y la semana de cierre de la misma; es decir, a mayor porcentaje de perforación, se requiere más tiempo para su cierre. Puede inferirse que el tiempo de retraso en el cierre de la perforación de las cuatro membranas timpánicas del grupo control se debió a que no hubo una adecuada migración celular durante el proceso de cicatrización que permitiera el cierre en el mismo tiempo que el promedio de las membranas timpánicas, pues en contraste con otros tejidos, el de la membrana timpánica no tiene una matriz de soporte que

permita esta migración, como lo describieron Glasscock, Somers, Ozturk, Kutluhan y Güneri, al valorar la utilidad de los moduladores de la cicatrización, así como de algunos factores de crecimiento para mejorar la calidad de la cicatrización de perforaciones timpánicas.^{22,25,27,29-31}

En este estudio se observó también que el tratamiento de la perforación aguda de la membrana timpánica con glucosamina-condroitina-vitamina C incrementa la actividad fibroblástica y la colagenización y disminuye el proceso inflamatorio, que se considera resultado de los efectos de este tratamiento, como se describe en diferentes estudios realizados en modelos animales;^{8-10, 28} además de ser similar al tratamiento con insulina tópica, reportado por Eken y colaboradores.²⁰

CONCLUSIONES

El tratamiento de la perforación aguda de la membrana timpánica en cobayos no mejora ni reduce el tiempo de cierre de la perforación, porque no existe diferencia estadísticamente significativa con el grupo control. Sin embargo, se requieren más estudios en los que se identifique el tiempo exacto de cierre de la perforación. Además, el tratamiento de la perforación aguda de la membrana timpánica incrementa la actividad fibroblástica y de colagenización y disminuye el proceso inflamatorio, por lo que podría utilizarse como coadyuvante del tratamiento quirúrgico (miringoplastia), o bien, ser benéfico como tratamiento de la membrana atrófica.

REFERENCIAS

1. Hellstrom S, Laurent C. Hyaluronan and healing of tympanic membrane perforations. An experimental study. *Acta Otolaryngol Suppl* 1987;1442:54-61.
2. Lim DJ. Tympanic membrane. Electron microscopic observation. I: pars tensa. *Acta Otolaryngol* 1968;66:181-198.
3. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, et al. Extracellular matrix of animals. In: *Molecular Biology of the Cell*. 4th ed. New York: Garland Science; 2002.



4. Johnson AP, Smallman LA, Kent SE. The mechanism of healing tympanic membrane perforations. A two-dimensional histological study in guinea pig. *Acta Otolaryngol* 1990;109:406-415.
5. Magnuson K, Hermansson A, Hellström S. Healing of tympanic membrane after myringotomy during *Streptococcus pneumoniae* otitis media. An otomicroscopic and histologic study in the rat. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1996;105:397-404.
6. Spratley J, Hellström S, Eriksson PO, Pais-Clemente M. Early structural tympanic membrane reactions to myringotomy: a study in an acute otitis media model. *Acta Otolaryngol* 2002;122:479-487.
7. Stenfeldt K, Johansson C, Hellström S. The collagen structure of the tympanic membrane collagen types I, II, and III in the healthy tympanic membrane, during healing of a perforation, and during infection. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;132:293-298.
8. Owens S, Wagner P, Vangsness CT. Avances recientes en la suplementación con glucosamina y condroitina. *J Knee Surgery* 2004;17:185-193.
9. Calvo R. Sulfato de glucosamina y condroitín sulfato, fármacos para el tratamiento de la artrosis, acusados de no presentar eficacia clínica. ¿Culpables? *Gaceta Médica de Bilbao*. España, 2012.
10. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. México: PLM 2012.
11. Arch-Tirado E, Verduzco-Mendoza A, Azuara-Pliego E. Utilidad del cobayo como modelo de estudios audiológicos y propuesta de accesos quirúrgicos al oído y cuello. *Academia Mexicana de Cirugía* 2005.
12. Albuquerque AA, Rossato M, Apparecido de Oliveira JA, Hippolito MA. Understanding the anatomy of ears from guinea pigs and rats and its use in basic otologic research. *Braz J Otorhinolaryngol* 2009;75:43-49.
13. Afolabi OA, Aremu SK, Alabi BS, Segun-Busari S. Traumatic tympanic membrane perforation: an aetiological profile. *BMC Res Notes* 2009;2:232.
14. Olmos-Zúñiga R, González-López R. Empaqueamiento del oído medio con esponja de colágena polivinil pirrodilona. Estudio experimental en cobayos. *Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Revista de Investigación Clínica* 2009;497-504.
15. Drogu S, Haholu A, Gunor A, Kucukodaci Z, et al. Histologic analysis of the effects of three different support materials within rat middle ear. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2009;140:177-182.
16. Estados Unidos Mexicanos. AFÍA. Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Diario Oficial de la Federación 6 de diciembre de 1999.
17. National Institutes of Health USA. Guía para el cuidado y uso de los animales de laboratorio. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health USA. Edición Mexicana Auspiciada por la Academia Nacional de Medicina. México: 2002.
18. Academy of Surgical Research. Course of animal anesthesia and models. Memories of the course of animal anesthesia and models of the 12th annual meeting and 1ST International Conference of the Academy of Surgical Research, October 1996. Muenster, Germany: Academy of Surgical Research, 1996.
19. Amoils CP, Jackler RK, Milczuk H, Nelly KE, Cao K. An animal model of chronic tympanic membrane perforation. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1992;106:47-55.
20. Eken M, Ates G, Sanli A, Evren C, Bozkurt S. The effect of topical insulin application on the healing of acute tympanic membrane perforations: a histopathologic study. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2007;264:999-1002.
21. Ishibashi T, Shinogami M, Ishimoto SI, Yoshida K, Kaga K. Induction of KGF, basic FGF, and TGFalpha mRNA expression during healing of experimental TM perforations. *Acta Otolaryngol* 1998;118:701-704.
22. Glasscock ME, Shambough Jr GE. Closure of tympanic membrane perforations. In: *Surgery of the Ear*, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1990;335-349.
23. Rivas Lacarte MP, Casasín T, Pumarola F, Alonso A. An alternative treatment for the reduction of tympanic membrane perforations: sodium hyaluronate. A double blind study. *Acta Otolaryngol* 1990;110:110-114.
24. O'Daniel TG, Petitjean M, Jones SC, Zogg J, et al. Epidermal growth factor binding and action on tympanic membranes. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1990;99:80-84.
25. Somers T, Goovaerts G, Schelfhout L, Peeters S, et al. Growth factors in tympanic membrane perforations. *Am J Otol* 1998;19:428-434.
26. Johnson A, Hawke M. The function of migratory epidermis in the healing of tympanic membrane perforations in guinea-pig. A photographic study. *Acta Otolaryngol* 1987;103:81-86.
27. Yeo SW, Kim SW, Suh BD, Cho SH. Effects of platelet-derived growth factor-AA on the healing process of tympanic membrane perforation. *Am J Otolaryngol* 2000;21:153-160.
28. Beren J, Hill SL, Diener-West M, Rose NR. Effect of pre-loading oral glucosamine HCl/chondroitin sulfate/manganese ascorbate combination on experimental arthritis in rats. *Exp Biol Med* 2001;226:144-151.
29. Ozturk K, Yaman H, Cihat Avunduk M, Arbag H, et al. Effectiveness of merogel hyaluronic acid on tympanic membrane perforations. *Acta Otolaryngol* 2006;126:1158-1163.
30. Kutluhan A, Ugras S, Inalkaç E, Akpolat N. The effects of hyaluronic acid on myringoplasty in rats. *Tr J of Med Scien* 1999;29:401-407.
31. Güneri EA, Tekin S, Yilmaz O, Ozkara E. The effects of hyaluronic acid, epidermal growth factor, and mitomycin in an experimental model of acute traumatic tympanic membrane perforation. *Otol Neurotol* 2003;24:371-376.