

Evaluación histopatológica del oído interno de curieles sometidos a toxicidad por estreptomomicina y tratados con ozono

Addys González Palomo, Ernesto Basabe,* Nelson Merino, Silvia Menéndez,** Magalys Gómez Regüíferos,** Amelia Capote.****

Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Avenida 25 y 158, Playa, *Clínica Central "Cira García", **Centro de Investigaciones del Ozono, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 25 de noviembre de 1997. Aceptado: 20 de diciembre de 1997.

Palabras clave: oído interno, ozono, ototoxicidad, órgano de Corti.
Key words: innear ear, ozone, ototoxicity, organ of Corti.

RESUMEN. Se realizó un estudio histopatológico de oído interno de curieles intoxicados con estreptomomicina y tratados con ozono (O_3). Paralelamente, se realizó un estudio comparativo con oxígeno (O_2). La inclusión de las muestras, se se realizó en celoidina y parafina. Se utilizaron dosis de 100, 200 y 300 mg del tóxico/kg de peso corporal (vía intramuscular) y de 0,25 mg/kg, tanto del ozono como del oxígeno. Ambos productos se aplicaron por insuflación rectal. En el grupo intoxicado con 300 mg del fármaco/kg de peso corporal y tratado con O_3 se observó pérdida completa de las células del órgano de Corti, de las células del limbo espiral y atrofia de la estria vascular. En los grupos en los que se aplicaron 100 y 200 mg del tóxico/kg de peso corporal + O_3 , se observó una disminución del número de lesiones y estructuras dañadas y no se encontraron diferencias morfológicas con respecto a los grupos tratados con O_2 . Estos hallazgos constituyen la base para estudios morfológicos posteriores sobre la reversibilidad del daño del oído interno bajo determinados tratamientos.

ABSTRACT. The histopathological changes in the innear ear of guinea pigs after ototoxic damage with streptomycin sulfate and treatment with Ozone (O_3) and oxygen (O_2) was study. Celoidin and paraffin methods were employed. The group damage with 300 mg/kg streptomycin and treatment with O_3 shown complete destruction of the sensory epithelium over the basilar membrane, atrophy of the stria vascularis and atrophy del limbus spiralis. In the rest of groups with ototoxic drugs (100 y 200 mg/kg) and treatment with O_3 a reduction in the number of damaged structure was found, however there were not morphological differences to compare with the group treated with O_2 . This findings provides a morphological basis for the concept that innear ear cell damage may be reversible under specific treatments.

INTRODUCCION

En los animales como en el hombre, el sistema periférico auditivo es altamente vulnerable tanto a una sobreestimulación acústica¹ como a una gran variedad de agentes químicos que van desde la aspirina² hasta los antibióticos.³

Son numerosas las aplicaciones del ozono como virucida, fungicida, bactericida y estimulador de la circulación sanguínea y de los procesos de metabolización del oxígeno,

siendo utilizado por varias vías y en diferentes patologías.^{4,6}

En Cuba, recientemente, se ha utilizado con resultados clínicos prometedores en la hipoacusia en niños y adultos.⁷ Por tal razón, en el año 1990, se realizó un trabajo inicial sobre los cambios histológicos en la estructura del oído interno.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la histopatología del oído interno de curieles sometidos a ototoxicidad inducida y tratados con ozono.

MATERIALES Y METODOS

Fueron utilizados 50 cobayos con un peso entre los 250-350 g de peso corporal, los cuales se distribuyeron aleatoriamente en 10 grupos (5 animales por grupo).

Grupos de tratamiento

	Ozono (mg/kg)	Oxígeno (mg/kg)
	0,25	0,25
Control negativo	—	—
Estreptomomicina	100	100
	200	200
	300	300
Control positivo (estreptomomicina)		300

El tóxico fue administrado en una sola dosis mientras que el O_3 y el O_2 fueron aplicados durante 7 d, siempre después del primero. Las vías utilizadas fueron la intramuscular para el tóxico y la rectal (insuflación) para el O_3 y el O_2 .

Los animales fueron primeramente anestesiados y después sacrificados por decapitación a temperatura ambiente, lo que fue seguido de una rápida disección de ambos huesos temporales.

Preparación histológica del hueso temporal.

La fijación se realizó con formol al 10 % neutro amortiguado durante 48 h.

Para la eliminación del calcio del hueso temporal, se utilizó el método de los descalcificadores compuestos.⁸ La disolución se cambió dia-

riamente. Para chequear el punto final de ese proceso, se utilizó un método químico en el que se empleó una mezcla de calcio con oxalato de amonio al 5 %.⁹

La neutralización se realizó durante 24 h con sulfato de sodio al 5 % y carbonato de litio (disolución acuosa). Para la deshidratación, se utilizaron disoluciones alcohólicas acuosas de concentración creciente (80, 95 y 100 %). Cada tres días se cambió la concentración de alcohol y se repitió la última.

El blanqueo se realizó durante un día en una mezcla de alcohol-éter etílico (1:1).

El método utilizado para la inclusión en celoidina (pro-celoidina con alcohol isopropílico al 35 %, Fluka Chemie AGLH-9470 Buchs), fue el descrito por Schuknecht.¹⁰

Luego del corte, se procedió a la extracción de la celoidina. Se colocaron las muestras en una mezcla de alcohol-éter etílico (1:1) y se realizaron pases por disoluciones alcohólicas de concentración descendiente (95, 80, 60 y 40 % respectivamente). A continuación, se efectuó un pase por agua destilada.

Las muestras a procesar por el método de rutina fueron incluidas y cortadas en parafina. Los cortes obtenidos por ambos métodos, fueron coloreados con hematoxilina y eosina.

Se realizó la evaluación histopatológica de dichas muestras.

RESULTADOS

En el grupo Control negativo se observó la estructura normal del oído interno (Fig. 1).

Se pudieron constatar las tres rampas: timpánica, media (conducto coclear) y la vestibular, además, la estría vascular, el ligamento espiral y el hueso lateral.

Dentro de la cóclea se observaron los dos tipos de células funcionales (las ciliadas interiores con su forma de frasco y las exteriores con su forma alargada y tubular). Por debajo de éstas últimas, aparecen unas células cuyas prolongaciones llegan hasta la superficie del órgano de Corti y forman una trama reticular con las estructuras ciliares de la superficie de las células ciliadas exteriores, llamadas de Deiters (células de sostén). Por arriba de esa trama, se encuentra una estructura en forma de cinta llamada membrana tectoria que corre por encima de todo el órgano de Corti.

Al lado de las células de Deiters aparecen unas células de Claudius (cuboidales) que se extienden desde

la última de Deiters hasta unas altas células epiteliales.

Se observó el surco interior y en ocasiones, los espacios de Nuel, que se encuentran por debajo de la membrana tectoria y que ópticamente se ven vacíos, pero que están ocupados por líquido.

En determinados casos, se pudieron observar las dos capas de células de la membrana vestibular (de Reissner) extendida aproximadamente desde el limbo. La obtención de la menor cantidad de capas de células de ésta membrana está en dependencia del grosor del corte.

En el grupo Control positivo (estreptomycin 300 mg/kg) aparecieron lesiones en la mayoría de las estructuras del conducto coclear (Fig. 2). Se observó pérdida completa de las células del órgano de Corti, atrofia de la estría vascular y pérdida de las células del limbo espiral.

No hubo diferencias morfológicas en las lesiones encontradas en los grupos tratados con estreptomycin (300mg/kg) + O₃ y estreptomycin (300 mg/kg) + O₂.

En los animales pertenecientes a los grupos tratados con 100 y 200 mg/kg del

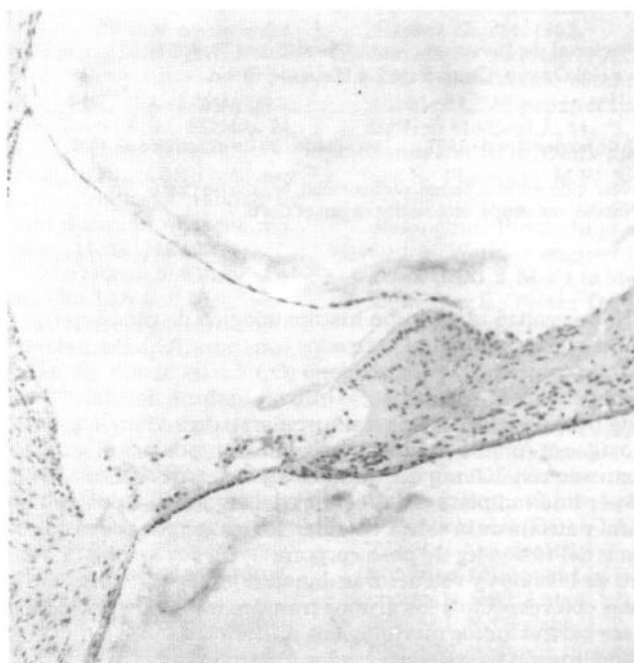


Fig. 1. Histología normal del oído interno de curieles. Organó de Corti normal. HE 25x 75x1,25.

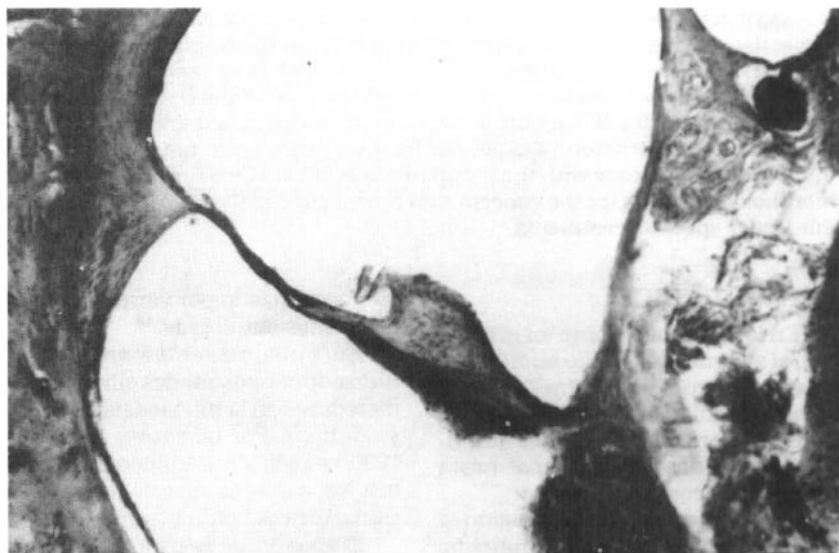


Fig. 2. Curieles sometidos a 300 mg de estreptomycin/kg de peso corporal. Pérdida completa del organó de Corti. Atrofia de la estría vascular. Pérdida de la membrana de Reissner. HE 25x 75x1,25.

tóxico + O₃, se observó la pérdida de los cilios de las células en cepillos exteriores y la aparición de vacuolas citoplasmáticas en ellas (Fig. 3). Se observó la estría vascular intacta al igual que el resto de las estructuras del órgano.

En los grupos tratados con 100 y 200 mg/kg del tóxico + O₃, se presentó también la pérdida de los cilios de las células de cepillos exteriores.

DISCUSION

La ototoxicidad inducida por estreptomycin ha sido estudiada desde hace años y los cambios que le acompañan van desde la degeneración de las células funcionales hasta la pérdida de las enterocilias, abarcando todo un conjunto de lesiones donde está incluida la pérdida completa del epitelio sensorial.^{2,11}

En los últimos años, se ha estado investigando la posible regeneración o recuperación del epitelio sensorial del oído interno después de un daño acústico o de una ototoxicidad inducida, tanto por estudios *in vivo* como *in vitro*.^{8,12,13} En todos ellos, se han obtenido resultados alentadores.

En este trabajo se observó una disminución de las lesiones en los animales tratados con las dosis más bajas de tóxico + O₃, mientras las restantes estructuras se mantuvieron normales.

La atrofia de la estría vascular es una de las lesiones encontradas en los animales expuestos al tóxico.^{14,15} Esta estría es una estructura importante en la audición y requiere de grandes cantidades de oxígeno para su normal funcionamiento. Cualquier factor que afecte esa dependencia del oxígeno provocará consecuencias desfavorables para el proceso de la audición, ya que ese gas resulta necesario para el metabolismo activo en la creación de los potenciales de acción.³

La disminución del daño inducido luego del tratamiento con ozono conduce a pensar en una de las propiedades terapéuticas más importantes del ozono: su efecto estimulador sobre los procesos metabólicos del oxígeno y la circulación sanguínea.^{16,17}

La complementación de estos resultados con experiencias funcionales acompañadas de estudios a nivel de microscopia electrónica u óptica (pero por cortes semifinos) podría aportar nuevas evidencias morfológicas de las lesiones del oído interno acompañadas del tratamiento con ozono.

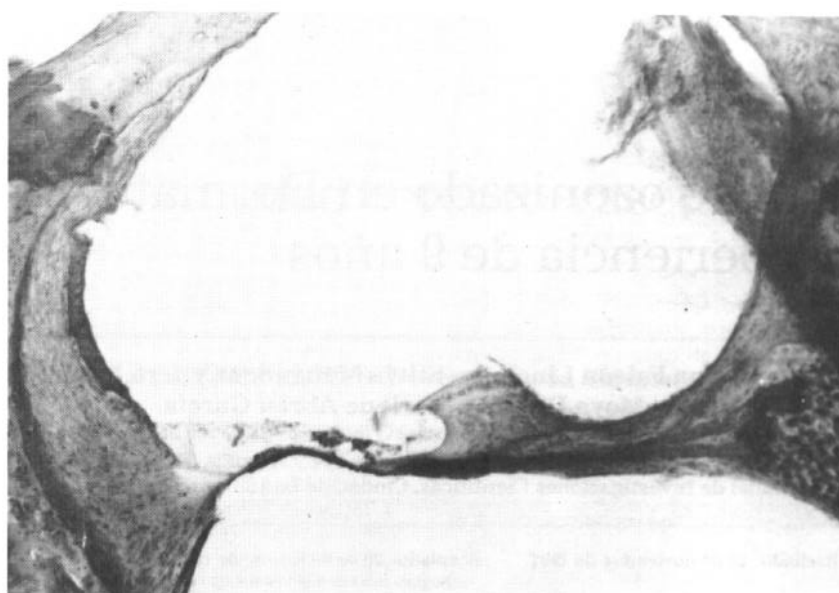


Fig. 3. Curieles tratados con 300 mg de estreptomycin/kg de peso corporal + ozono. Recuperación de la estructura del órgano de Corti. Rotura de la membrana de Reissner. HE 25x 75x1,25.

CONCLUSIONES

Se comprobó que el tratamiento con ozono sobre las lesiones provocadas por la estreptomycin reduce la toxicidad.

BIBLIOGRAFIA

- Gary W. Harding, Patric J. Baggot and Barbara A. Bohne. Height change in the organ of Corti after noise exposure. *Hearing Research*, 63, 26, 1992.
- Davis, H., et al. Modification of cochlear potentials produced by streptomycin poisoning and by extensive venous obstruction. *Laryngoscope*, 68, 596, 1958.
- Joseph E. Hawkins and Hans Engstrom. Effects of Kanamycin on cochlear cytoarchitecture. *Acta Otolaryngologica Suppl.* 188, 100, 1961.
- Grillo R., Falcón L., Menéndez S., Gómez M., Carbonell S. y Eng L. Tratamiento del herpes simple genital con aceite ozonizado. Estudio preliminar. I Congreso Iberoamericano de Aplicaciones del Ozono, 1990.
- Menéndez S., Blanco Rebas et al. Comparación del uso del aceite ozonizado en la gingivomastitis con relación a otros tratamientos de uso frecuente. I Congreso Iberoamericano de Aplicaciones del Ozono, 1990.
- Menéndez S., Iglesias O., Bidot C., Puga A. and Carballo A.. Application of ozone therapy in children with humoral immunity deficiency. th Proceedings of the 12 World Congress Ozone in Medicine. Lille, France. 271-274, 1995.
- Basabe E., et al. Ozonoterapia como elemento favorecedor en la rehabilitación de niños hipoacúsicos. Pedagogía. II Encuentro Nacional de Rehabilitación de Sordos. 1993.
- Warchol M.E., Lambert P.R., Golstein B.J., Forge A., Corwin, J. Regenerative

Proliferation in Inner Ear Sensory Epithelia from Adult Guinea Pigs and Humans. *Science*, 259, 1619, 1993.

- Schuknecht H.F. Techniques for studying of cochlear function and pathology in experimental animals. Development of the anatomical frequency scale for the cat, *A.M.A. Arch. Otolaryng.*, 58, 377, 1953.
- Schuknecht H. Temporal bone removal at autopsy. *Arch. Otolaryngol.*, 87, 33, 1968.
- McGEE T. and Olszewski J. Streptomycin Sulfate and Dihydrostreptomycin Toxicity. *Otolitic*. Vol. 75, 235-311, 1961.
- Cotanche D.A., Lee K.H., Stone J.S. and Picard D.A. Hair cell regeneration in the bird cochlea following noise damage or ototoxic drug damage. *Anat. Embryol.*, 189, 1 1994.
- Sobkowicz H.M., August B.K. and Slapnick S.M. Epithelial Repair following Mechanical Injury of the Developing Organ of Corti in Culture: An Electron Microscopic and Autoradiographic Study. *Experimental Neurology*, 115, 44 1992.
- Hawkins H.E. and Lurie M.H. The ototoxicity of Streptomycin. *Ann. Otol.*, 61, 789, 1952.
- Myers E. and Bernstein J. Salicylate ototoxicity: A clinical and experimental study. *Archives of Otolaryngology*, 82, 483, 1965.
- Viebahn R. The biochemical process underlying ozone therapy. *Ozon-Nachrichten*, 4, 21, 1985.
- Friman M., Walker D., Menéndez Silvia, Gómez M. and Eng L. Effect of ozone in vascular endothelium. Proceeding of the First National Conference on Ozone Applications. Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de La Habana, 1988.