

TITULO DE LA TESIS: Estudio morfológico de las células ciliadas del órgano de Corti, de la membrana tectoria y de sus interrelaciones.

AUTOR: JAIME MARCO ALGARRA

DIRECTOR: JAIME MARCO CLEMENTE

TRIBUNAL: **Prof.Dr.D.** Victor Smith Ageeda
Prof.Dr.D. Amando Peydró Olaya
Prof.Dr.D. José M^a. Sanchez Fernandez
Prof.Dr.D. Antonio Pellin Pérez
Prof.Dr.D. FRANCISCO Zaragosi Moliner

FECHA DE LECTURA: 13 de mayo de 1983

CALIFICACION OBTENIDA: SOBRESALIENTE "CUM LAUDE"

UMI Number: U607441

All rights reserved

INFORMATION TO ALL USERS

The quality of this reproduction is dependent upon the quality of the copy submitted.

In the unlikely event that the author did not send a complete manuscript and there are missing pages, these will be noted. Also, if material had to be removed, a note will indicate the deletion.



UMI U607441

Published by ProQuest LLC 2014. Copyright in the Dissertation held by the Author.
Microform Edition © ProQuest LLC.

All rights reserved. This work is protected against
unauthorized copying under Title 17, United States Code.



ProQuest LLC
789 East Eisenhower Parkway
P.O. Box 1346
Ann Arbor, MI 48106-1346

JAIME MARCO CLEMENTE, CATEDRATICO NUMERARIO Y DIRECTOR DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE OTORRINOLARINGOLOGIA DE LA FACULTAD - DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE VALENCIA.

CERTIFICA: Que la presente Tesis Doctoral "Estudio Morfológico de las Células Ciliadas del Organó de Corti, de la Membrana Tectoria y de sus interrelaciones", ha sido realizada íntegramente por D. JAIME MARCO ALGARRA, bajo mi dirección.



Fdo.: Prof. Dr.D. JAIME MARCO CLEMENTE.

Valencia, 29 de Marzo de 1.983

ESTUDIO MORFOLOGICO DE LAS CELULAS CILIADAS DEL
ORGANO DE CORTI, DE LA MEMBRANA TECTORIA Y DE -
SUS INTERRELACIONES.

Valencia, Marzo de 1.983

A Piti y Julia.

A mis padres.

Quiero expresar mi agradecimiento al Prof. Llobbart, Director del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina, así como al Prof. Peydro Olaya, por las facilidades que he tenido para realizar esta Tesis Doctoral.

También quiero agradecer muy especialmente la ayuda y consejos aportados por el Prof. Pellin Perez, Agrogado de Biología de la Facultad de Medicina, para la realización del presente trabajo, asimismo no quiero dejar de agradecer al Prof. Morera Perez, su dedicación y vocación docente, que tan útiles me han sido.

No quiero dejar de citar aquí, a todos aquellos que hicieron la realización de este trabajo (ATS, personal auxiliar, etc...), especialmente a las Srtas. Elena y M^a Angeles cuya colaboración ha sido de tanto valor.

En último lugar deseo agradecer a mi padre su constante estímulo y ejemplo, sin los cuales no hubiera podido realizar el presente trabajo.

INDICE

	<u>Págs.</u>
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETO DEL TRABAJO.	12
III. EMBRIOLOGIA.	19
IV. ANATOMIA DE LA COCLEA.	32
V. CONDUCTO COCLEAR.	45
VI. ORGANO DE CORTI.	48
VII. CELULAS CILIADAS.	74.
A) C.C.E.	75
B) C.C.I.	91
VIII. MEMBRANA TECTORIA.	98
IX. RELACION CC. MT.	124
X. FISILOGIA DEL OIDO INTERNO.	135
XI. MATERIAL.	154
XII. RESULTADOS.	207
A) M.T.	208
B) C.C.	281
C) RELACION CC. MT.	327
XIII. DISCUSION.	347
A) MT.	348
B) CC.	369
C) RELACION CC. MT.	388
XIV. CONCLUSIONES.	398
XV. BIBLIOGRAFIA.	412

I. INTRODUCCION.

INTRODUCCION.

El problema de la relación entre las denominadas - membranas gelatinosas, DOHLMAN, G.F. (1971), y la superficie de las células sensoriales del órgano de Corti, ya antiguo, no parece haber sido resuelto de manera satisfactoria hasta el momento.

Aunque las investigaciones sobre la relación entre la membrana tectoria (MT), y las células sensoriales del órgano de Corti, dieron como resultado en un principio, la descripción de una firme unión entre ambas estructuras, -- BOETTCHER, A. (1859) y SHAMBAUGH, G. (1907). Posteriores estudios pusieron en duda la continuidad estructural de dicha unión, SMITH, G. y DEMPSEY, A. (1957) y SPOENDLIN, H. (1957), por lo que existe todavía confusión respecto al mecanismo por el que los cilios de las células sensoriales son flexionados debido al movimiento de cizalla que ocurre entre éstos y la MT.

En la revisión bibliográfica por nosotros realizada, se comprueba que en distintas ocasiones se han descrito contactos de algunos cilios con la superficie inferior de la MT, mediante el microscopio electrónico de transmisión, (MET), IURATO, S. (1960).

KIMURA, R.S. (1966), en un estudio muy minucioso de la relación que existe entre las células ciliadas (CC) y la MT, en diversas especies de mamíferos, parece demostrar como los cilios más largos de las células ciliadas externas

(CCE), contactan o incluso están unidos al material que tapiza a la superficie inferior de la MT. Los cilios de las células ciliadas internas (CCI) sin embargo los observa -- flotando libremente en el espacio subtectorial y sin ninguna conexión con la superficie inferior de la MT.

La mayoría de los autores están, sin embargo, de - acuerdo en que no existe continuidad estructural de los cilios con la MT, SMITH, G. y DEMPSEY, A. (1957), SPOENDLIN, H. (1957), ENGSTROM, H. (1958) y IURATO, S. (1961).

La importancia del tema a desarrollar viene justificada por el papel que juegan estas formaciones, MT y cilios de las CC en la fisiología de la audición, ya que son los últimos elementos que intervienen en la transmisión de la onda sonora y al mismo tiempo son los responsables de la - transformación de la energía mecánica en energía eléctrica y como consecuencia de ello surgirá el potencial de acción que recorrerá la rama auditiva del VIII p.c. hasta llegar a los centros más elevados en el cortex auditivo.

Como ya hemos expuesto, el mecanismo íntimo de la - estimulación de la célula sensorial no está aclarado en la actualidad. La creencia general es que la onda que viaja - por la perilinfa en la rampa timpánica moviliza a la mem--brana basilar a consecuencia de lo cual, va a resultar un desplazamiento del órgano de Corti, que a su vez entrará - en contacto, mediante las fuerzas de cizallamiento que ocurren entre él y la MT, con los cilios de las células sensoriales. Ya VON BEKESY, G. (1960), consideraba que la fuerza de cizalla de la MT, en dirección radial, desde la parte

más interna del órgano de Corti hacia las células de Hen--sen, produce un cambio máximo en el potencial de reposo de las CCE. Por otro lado el desplazamiento longitudinal de la MT sobre los cilios de las células sensoriales, provoca el mismo fenómeno pero en el área de las CCI.

De ahí la importancia de demostrar la relación íntima que existe entre los cilios y la superficie inferior de la MT.

Al revisar la bibliografía sobre esta cuestión desde que se empezó a estudiar y valorar este problema, se pueden comprobar tres tipos de opiniones:

1) A finales del siglo XIX y principios del XX, la mayoría de los autores se inclinaba a pensar que la MT estaba unida al epitelio subyacente, aunque diferían en cuanto al grado de unión, sobre todo en los especímenes adultos, BOETTCHER, A. (1859), AYERS, H. (1892) y SHAMBAUGH, G. (1907).

2) Algunos autores parecen demostrar que existe una relación directa entre las extremidades de los cilios de las CCE y la superficie inferior de la MT, precisándose además según estos autores un contacto del complejo marginal de la tectoria con la superficie de las células de Deiters, KOSAKA, N., TANAKA, T., y TAKIGUCHI, T. (1971) y LIM D.J. (1972).

3) Otros autores afirman que existe una relación directa entre la MT y los cilios de las CCI, TANAKA, K. (1973).

Para la mayor parte de los investigadores pertenecientes a estos dos últimos grupos, el contacto de la MT - con el epitelio subyacente va a variar a lo largo del desarrollo del órgano de Corti. Según ellos, la unión o contacto va a ir disminuyendo conforme avanza la maduración del órgano de Corti.

De acuerdo con la opinión expuesta por dichos autores, existiría una explicación fisiológica para que los hechos acontecieran de tal forma.

Los avances logrados en los estudios realizados sobre la coclea, han venido determinados de forma muy directa por la perfección de la técnica microscópica, y en particular por la aparición del microscopio electrónico. Una excepción a este hecho la constituyen los trabajos realizados por RETZIUS, G. entre 1881 y 1884, los cuales mantienen una actualidad permanente y todavía pueden ser catalogados como minuciosos y precisos.

La MT ha sido considerada como una estructura fibrilar como lo demuestran las primeras descripciones del oído interno de KOLLICKER, A. (1854), BOETTCHER, A. (1859), HENLE, J. (1880) y RETZIUS, G. (1884). Se trataría de una membrana formada por fibrillas rodeadas de una matriz gelatinosa y amorfa, RETZIUS, G. (1884), HARDESTY, I. (1908), WISLOCKI, G.B. (1955) y IURATO, S. (1960). Para otros, estaría constituida por una serie de láminas en su totalidad o en parte, HELD, H. (1902) y PRENTISS, C.W. (1913). Para COYNE P. y CANNIEU, A. (1895), se trataría de una formación reticular.

Algunos autores pensaban que las fibrillas se podían formar por coagulación de la endolinfa, CZINNER, H.I. (1897), o bien eran continuación de los cilios de las CC, AYERS, H. (1892), BORGHESAN, E. (1952) y MYGIND, S.H. (1952).

BORGHESAN, E. (1971), sugiere que los cilios de las CC penetraban profundamente en la MT, por lo que eran artificialmente elongados por los medios de fijación al producirse la retracción.

En las observaciones realizadas con microscopio de contraste de fases o con luz polarizada de la MT, ésta aparece como una estructura filamentosa, HILDING, A.C. (1952) y IURATO, S. (1960).

Por medio de la MET se demuestra que la MT, estaría formada por filamentos que varían algo en su grosor dependiendo de las diferentes especies, IURATO, S. (1962).

Sin embargo SPOENDLIN, H. (1957), señala que la presencia de los filamentos podría ser debida a un artefacto de las preparaciones, y ENGSTROM, H. y WERSALL, J. (1958) indican que debido a su tamaño no podían ser los mismos que se observaban en la microscopia óptica. Para estos últimos autores la MT podría ser una formación gelatiniforme con partículas micelares dispersas en alguna substancia que se disolvería al preparar el tejido.

Según los estudios realizados por medio de la microscopia electrónica de barrido (MEB), la MT estaría formada por una estructura claramente fibrilar en su parte

superior y en su interior, pero en su parte inferior sería homogénea, KOSAKA, N., TANAKA, T. y TAKIGUCHI, T. (1971) y LIM, D.J. (1972).

LIM, D.J. (1972) presenta un esquema mostrando que la parte homogénea estaría formada por láminas separadas - que se corresponderían con la banda de Hensen y la membrana de Hardesty.

Los primeros investigadores consideraban que la MT estaba unida a todos los elementos celulares del órgano de Corti, antes de que éste comenzara su desarrollo, pero diferían en su opinión sobre el grado de unión que existía en los animales adultos. KÖLLICKER, A. (1861), RETZIUS, G. (1884) y HARDESTY, I. (1908).

WALDEYER, W. (1873), relata que ocasionalmente observaba como los cilios de las CCE estaban relacionados íntimamente con la MT, y que tras fijar la pieza en alcohol - a veces se observaba que la membrana reticular aparecía levantada junto con la MT al retraerse ésta por la deshidratación.

BOETTCHER, A. (1859), indica que la MT no flotaba libremente sino que estaba en contacto con el órgano de Corti. Esta opinión es compartida por SHAMBAUGH, G. (1907) y PRENTISS, C.W. (1913). Este último autor hace hincapié - en que la unión es con todo el órgano de Corti como ocurre durante el estado fetal.

CORTI, A. (1851), BOETTCHER, A. (1859), y LOWENBERG B. (1864), consideran que la MT se extiende más allá del -

órgano de Corti, incluso hasta el ligamento espiral. HENLE J. (1880), la describe unida a las células que están por detrás de la última fila de CCE. KEITH, A. (1918), menciona la unión de la tectoria, en su parte más interna, a las células de sostén más internas y en la periferia su unión a las células de Deiters.

Autores más cercanos en el tiempo como WITMAACK, K. (1936), VON BEKESY, G. (1960) y HAWKINS, J.E. y JOHNSON, L.G. (1968), sostienen que la MT está unida tanto a los cilios de las CCE, como de las CCI. Para WITMAACK, K. (1936) también existen otras uniones de la tectoria con las células frontera del surco espiral interno y con las células de Hensen.

Las opiniones anteriores son compartidas por HILDING, A.C. (1952), si bien él no observa las uniones de la tectoria con los cilios de las CCI.

La unión de la tectoria con la lámina reticular y con las células de Hensen, ha sido descrita como muy firme por VON BEKESY, G. (1960) y por TONNDORF, J. (1962), de tal manera que formaría un verdadero tabique entre el órgano de Corti y la endolinfa.

Los estudios realizados con la MEB han demostrado uniones de la membrana tectoria con diversas partes del órgano de Corti. KOSAKA, N. TANAKA, T. y TAKIGUCHI, T. (1971), describen las huellas de las puntas de los cilios de las CCE en la superficie inferior de la MT, LIM D.J. (1972), encuentra uniones de la MT con las CCE y con las células -

de Deiters más periféricas. TANAKA, K. y SMITH, C.A. (1975) observan uniones tanto de las CCE como de las CCI.

Para LIM D.J. (1972), el límite externo de la MT es tá unido a la fila más externa de las CCE, permitiendo a su través el paso de la endolinfa al órgano de Cortí.

La MET no ha obtenido sin embargo tanto éxito en demostrar la unión de los cilios con la MT, KIMURA, R.S. (1966) señala esta relación con las CCE, IURATO, S. (1967) dice haber observado también uniones de la tectoria y las CCI.

Para DOHLMAN, G.F. (1971) y TAKASAKA, T. y SMITH, C.A. (1971) la MT estaría unida a los microvillis de las células de sostán.

Con el presente trabajo, pretendemos realizar un estudio lo más completo posible de la MT, de las CC y de la relación entre los cilios de estas células sensoriales y la MT. Para la consecución de tal fin y para poder obtener una visión de conjunto de todo el problema, hemos realizado una serie de estudios con diferentes métodos y obteniendo los materiales con diversas técnicas.

I. TECNICAS PARA LA OBTENCION DE MUESTRAS:

1) Cortes celulares:

- a) Mediante cortes histológicos de un caracol completo, previa descalcificación. La inclusión la hemos realizado con una nueva técnica en materiales plásticos, glicol metacriloto concretamente.

b) Técnica de microdiagnóstico con lupa, MORERA, -
C. (1976).

2) Técnica de los especímenes de superficie ya empleada por RETZIUS, G. (1864) y actualizada por ENGSTROM, H. et al. (1962), y en nuestro país por CIGES, M. et al. - (1972) y MORERA, C. (1976).

Estas dos últimas técnicas tienen un especial valor al permitir el estudio en vivo y en fresco de amplias superficies de la MT. Son técnicas que además son compatibles con diferentes métodos de observación como la MEB y la de transmisión.

También estas dos técnicas permiten obtener muestras a las cuales podremos aplicar los métodos de IURATO, S. -- (1975) y SPOENDLIN, H. (1974), para la reinclusión de los cortes del material seccionado y su estudio mediante la -- MET.

II. METODOS DE OBSERVACION.

1) Microscopia óptica.

a) Microscopia convencional; que por su amplia difusión y uso no merece mayor comentario.

b) Microscopia de contraste de fases; con este método se obtiene una visión completa de la tectoria, así como también permite apreciar la arquitectura de las diferentes zonas en que podemos dividirla, como ya señaló IURATO S. (1960).

c) Microscopia de interferencia diferencial de NOMARSKY; es un método para el estudio y observación de especímenes en fresco. En su interpretación hay que tener en cuenta que las imágenes ofrecen un relieve óptico, que es debido a la alteración de los rayos luminosos, al atravesar sustancias de distinto índice de refracción. Este relieve óptico no reproduce el relieve real o geométrico de las distintas estructuras, si bien puede coincidir con él, MORERA, C. (1976). Es un método que consideramos fundamental en el estudio de los relieves de la MT.

2) Microscopia electrónica.

- a) Microscopia electrónica de transmisión; método muy importante, tanto para el estudio de la MT, IURATO, S. (1960) como para establecer su relación con los cilios de las CC, KIMURA, R.S. (1965). Además es fundamental para el estudio de las CC y de los cilios en sí y de la relación que se establece entre ellos, FLOCK, A., FLOCK, B. y MURRAY, E. (1977) y ENGSTROM, H. y ENGSTROM, B. (1978)
- b) Microscopia electrónica de barrido; es insustituible para el estudio de las superficies y por tanto de la MT. Fue aplicado por primera vez para el estudio de este problema por LIM, D.J. y LANE, W.C. (1969).

II. OBJETO DEL TRABAJO.

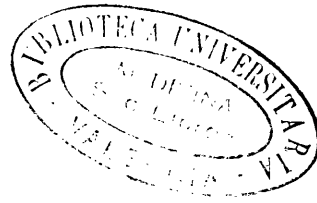
En el sistema auditivo hay que distinguir desde el punto de vista anatómico-fisiológico, los siguientes procesos: transmisión, recepción-transformación, percepción (o transmisión de los impulsos nerviosos a través de la vía auditiva) e integración.

Cada uno de estos procesos fisiológicos tiene una base anatómica. La transmisión afecta al oído externo, medio y parte del interno (líquidos laberínticos y membranas del conducto coclear.)

La recepción-transformación asienta en las CC del órgano de Corti. Los estímulos nerviosos originados a este nivel, recorren el nervio auditivo en forma de trenes de impulsos y llegan hasta los centros más elevados, constituyendo la base del mensaje auditivo.

Finalmente la integración es el último eslabón de la cadena de fenómenos fisiológicos que tienen lugar a nivel del sistema auditivo, es en este punto donde se descifra el contenido informativo del mensaje auditivo, esto ocurre en el cortex auditivo.

De la revisión bibliográfica realizada por nosotros referente al desarrollo embriológico del órgano de Corti, y a su anatomía macro y microscópica es interesante resaltar el desacuerdo existente, a pesar de los avances conseguidos en los últimos años mediante la observación con la MFI y la MEB y las técnicas histoquímicas, en cuanto a las relaciones anatómicas entre las CC y la MT. Es admitido de forma unánime que las CCE están en contacto con la MT, HILDING, A.C.



(1952) y KIMURA, R.S. (1966) entre otros autores, de tal manera que la extremidad de sus cilios penetra a través de su cara inferior en la intimidad de la estructura de dicha membrana.

Esta relación anatómica es la base en que se sustentan todos los fenómenos fisiológicos que permiten explicar el mecanismo de estimulación de las CCE y en concreto su papel en el proceso fisiológico de la recepción sonora y más concretamente del fenómeno de la transducción o transformación de la energía mecánica generada por los estímulos sonoros, en otro tipo de energía, energía eléctrica que va a estimular las terminaciones nerviosas del nervio auditivo en el órgano de Corti.

Por lo que se refiere a la relación existente entre las CCI y la MT, la situación en la actualidad es diferente con respecto a la de las CCE y la MT. No existe unanimidad en cuanto a cual es la situación anatómica entre las extremidades de los cilios de las CCI y la MT. Ciertos autores como LIM, D.J. (1972) y HOSHINO, T. (1976) consideran, fruto de sus observaciones, que los cilios de las CCI no tienen contacto alguno con la MT en el animal adulto. En publicaciones de otros investigadores, KIMURA, R.S. (1965), SOUDJIN, E.R. (1971) y ROSS, M.D. (1972), se afirma que sí existe contacto entre los cilios de las CCI y la MT e incluso existe otro estado de opinión defendido por aquellos que afirman o al menos admiten, la posibilidad de que los cilios de las CCI establezcan contacto con la superficie inferior de la MT e incluso penetran en la intimidad de la -

misma, BORGHESAN, E. (1952).

La importancia de establecer claramente la relación existente entre las CCI y la MT, es fundamental para poder averiguar cual es el mecanismo de estimulación de las CCI, que tendría que ser diferente al de las CCE, si se admite y logra demostrar que sus cilios no contactan con la MT, o si lo hacen es de una forma menos íntima que los cilios de las CCE.

Se admiten dos posibilidades de estimulación, una de bajo umbral para estimular las CCE, y otra con un umbral más alto para las CCI.

Cabe considerar que el más bajo umbral para las CCE es consecuencia de su más estrecha relación con la MT, en razón de que mínimos movimientos de la basilar son suficientes para flexionar los cilios de dichas células. Por el contrario la existencia de una mayor distancia entre los cilios de las CCI y la MT, presupone que para que estos cilios estableciesen contacto con dicha membrana y fuesen de formados, base de su estimulación y origen de los potenciales de estimulación, se necesitará un mayor desplazamiento de la membrana basilar para lo cual se precisa a su vez -- una mayor intensidad de estimulación, puesto que la magnitud de los desplazamientos de la membrana basilar son proporcionales a la intensidad del estímulo sonoro.

En la coclea existe un sistema de baterías biológicas que dan lugar al potencial de reposo positivo y negativo endococlear y por tanto crean y mantienen una diferencia

de potencial entre el conducto coclear y el interior de las CC.

A nivel de las CC y en virtud de la deformación me
cánica sufrida por sus cilios durante los movimientos de -
la membrana basilar al ser estimulada por la onda sonora -
se produce un potencial que es conocido como microfónico -
coclear, DAVIS, H. et al. (1958). Por el contrario otros -
autores consideraron que los potenciales microfónicos se -
originarían durante la vibración de una membrana polarizada.

En la actualidad se cree con cierta seguridad que -
el microfónico coclear es originado por las células senso-
riales. De esenciales se pueden clasificar las experiencias
de TASAKI, I., DAVIS, H. y FLOREDGE, D.H. (1954), que permi
tieron considerar al polo superior de las CC como punto de
origen del microfónico coclear y en concreto a la base de -
los cilios de dichas células.

Funcionalmente se admite un comportamiento diferente
para las CCE y las CCI, es la hipótesis de las dos po--
blaciones de células, esto permite que nos planteemos la -
siguiente pregunta: ¿En la génesis del potencial microfónico
participan ambas poblaciones celulares por igual o una-
es predominante frente a la otra?

Para DAVIS, H. et al. (1958), las CCE serían las -
que principalmente contribuirían a la génesis del potencial
microfónico. A esta hipótesis se adhieren DALLOS, P. y BREDBERG,
G. (1970), basados en su experiencia tras provocar -
traumas acústicos, de tal manera que para estos autores la

producción del microfónico coclear es consecuencia fundamental de las CCE.

En cuanto a la participación de las CCI en la producción del microfónico DALLOS, P. (1973), precisa que ésta es proporcional a la velocidad de desplazamiento de la membrana basilar. Las observaciones de HONRUBIA, V., STRELILOFF, D. y SITKO, S.T. (1976), sugieren una interacción eléctrica entre las CCE y las CCI.

La batería eléctrica que existe en el conducto coclear es lo que da lugar al potencial de reposo que a su vez originará el microfónico coclear cuando el estímulo sonoro llegue a la coclea.

La energía vibratoria del estímulo acústico provoca, cuando posee una intensidad y frecuencia adecuada, movimientos a nivel de la basilar y la tectoria, las que a su vez dan lugar a una deformación de los cilios de las CC que se incurvan en sentido opuesto durante los sucesivos movimientos. Estos desplazamientos hacia tras y hacia delante provocan cambios en la resistencia eléctrica de reposo del conducto coclear o, lo que es lo mismo, producen una modulación de la corriente eléctrica de reposo, la cual aparece reflejada en el registro del microfónico coclear. Es decir el microfónico es consecuencia de un proceso de modulación del potencial de reposo coclear por el órgano de Corti.

Será a partir de este punto cuando se produzca, por mecanismos todavía no muy bien aclarados, la despolari-

zación celular y la estimulación de las sinapsis que existen en la base de las células sensoriales, teniendo lugar a partir de este momento la aparición del potencial de acción en el nervio auditivo, con lo que este mensaje eléctrico llegará hasta el cortex auditivo donde será descifrado.

Con la finalidad de intentar contribuir al esclarecimiento del funcionalismo de las CCI y más concretamente de su mecanismo de estimulación en cuanto hace referencia a las relaciones anatómicas que puedan existir entre la -- MT y los cilios de dichas células, así como un mejor y más exacto conocimiento de la anatomía y relaciones del órgano de Corti, es lo que nos ha impulsado a realizar este trabajo que presentamos como tesis doctoral.

III. EMBRIOLOGIA.

Vamos a hacer especial hincapié en la embriología del desarrollo ciliar por lo que tiene de importancia funcional para comprender mejor el papel de los cilios y de su relación con la MT.

El oído interno tiene un doble origen embriológico, el laberinto membranoso deriva, junto con los elementos nerviosos, del ectoblasto. El laberinto óseo y los vasos derivan del mesoblasto y su aparición es más tardía.

El laberinto membranoso inicia su desarrollo como un engrosamiento del ectodermo cefálico, la denominada placa auditiva, esto ocurre hacia el día 21, la cual se excava transformándose en la fosa ótica, cuyos bordes al aproximarse la convierten en la vesícula ótica.

Sobre el día 37, aparece una evaginación en su parte ventral, la futura coclea o laberinto membranoso anterior que se va a individualizar en forma de tubo y se va a arrollar sobre sí mismo. Hacia el día 70 de la evolución, termina este crecimiento formándose la última vuelta de espira correspondiente al apex y adaptando este tubo la característica forma de caracol.

El mecanismo de este crecimiento espiral se debe para algunos autores a la influencia de las fibras nerviosas del nervio acústico que posteriormente lo inervarán -- VAN DE WATER, T.R. (1976). Para EYRIES, C. (1960), este fenómeno es debido a un crecimiento desigual de las partes laterales del conducto coclear.

La diferenciación celular comienza precozmente en

la fase de placoda auditiva, lo mismo ocurre a nivel ultraestructural MAROVITZ, W.F. (1977).

Para MOATTI, L. (1976), el proceso de este crecimiento espiral interviene en la diferenciación de las células más internas del futuro conducto coclear.

El desarrollo del órgano de Corti tiene lugar entre el tercero y sexto mes, y según MOATTI, L. (1976), no es un crecimiento continuo ni regular, lo que se comprueba al realizar un estudio biométrico.

Durante el desarrollo embriológico coclear la diferenciación celular varía según el grado de crecimiento de las células del órgano de Corti. En relación de mayor a menor velocidad de diferenciación celular podemos distinguir según los estudios autoradiográficos de RUBEN, R.J. (1967) en ratones:

- Células que formarán el órgano de Corti.
- Células del limbo y del surco espiral.
- Células de la estria vascular.
- Células de las membranas de Reissner y basilar.

La maduración según RUBEN, R.J. (1967), es más veloz en el laberinto anterior que en el posterior. Asimismo este crecimiento es más rápido en el apex que en la base del caracol membranoso, por lo que las células del apex -- son más jóvenes que las de la base, en contra de lo que se suponía según estudios previos. De acuerdo con las observaciones de RUBEN, R.J. (1967), el área de mayor crecimiento en el desarrollo coclear estaría en el punto de unión de -

dicho conducto con el saculo.

Según NAKAI, Y. (1970), en el feto humano de cinco meses el futuro órgano de Corti consta de dos o tres capas de células cilíndricas pseudoestratificadas, que descansan sobre la membrana basal. Para este y otros autores, NAKAI, Y. y HILDING, A.C. (1968), la diferenciación celular comienza en las espiras basales. Esta población celular se va a diferenciar en dos crestas, de la cresta mayor derivarán - las CCI y sus células de sostén, y de la menor las CCE, las de Deiters y las de Hensen.

Desarrollo de los elementos celulares del órgano de Corti:

1) Células sensoriales y sus cilios.

Las primeras células que podemos identificar son - las células de los pilares, inmediatamente después se pueden distinguir las CC debido a su forma de botella y a su pérdida de contacto con la membrana basilar, según cita -- HILDING, A.C. (1969). Hay que destacar que entre las células cilíndricas no existen espacios intercelulares, KIKUCHI, K. y HILDING, A.C. (1965).

En el feto humano de cinco meses, NAKAI, Y. (1970) y en el embrión de rata de 22 días NAKAI, Y. y HILDING, A. C. (1968), ya se pueden diferenciar cuales serán las células de sostén y las ciliadas, ya que los microvilli que - existen en la superficie de estas últimas, son más anchos - y largos, al mismo tiempo que terminan en una dilatación o vesícula. Para COHEN, G.M. y FERMIN, C.D. (1978), esta di-

ferenciación es posible ya que las CC tienen en su citoplasma, un patrón granular más denso que las de sostén, esto - ocurriría en embriones de pollo.

Para la mayoría de los autores esta diferenciación comienza antes de que se produzca, la unión sináptica con las fibras nerviosas cocleares. Asimismo las CC y las de sostén, presentan según KIKUCHI, K. y HILDING, A.C. (1965) un metabolismo más elevado que el resto de las células del órgano de Corti.

De acuerdo con las observaciones de MAROVITZ, W.F., KHAN, K.M. y SCHULTE, T. (1977), en el embrión de rata de nueve días, no se observan los cilios pero sí los corpúsculos basales en la parte apical del citoplasma de las futuras CC. Posteriormente nacen los cilios que aparecen bien en una depresión o en una elevación de la superficie cuticular de la célula, siguiendo al cilio en el citoplasma se observa que éste procede de una vesícula que posteriormente desaparecerá. La estructura de los cilios en este animal es la típica, estando formados por fibrillas que se concentran en la parte central del cilio. A diferencia de otras CC del organismo en la base del cilio de las futuras CC, no se encuentran las estructuras procentriolares que les dieron origen, MAROVITZ, W.F., KHAN, K.M. y SCHULTE, T. -- (1977).

Según los anteriores autores, el tamaño de los cilios de las CC del órgano de Corti, es variable y mayor que los cilios de las CC del laberinto posterior. Para LINDEMAN, H.

et al. (1971), en un estudio realizado en fetos de gato -- el tamaño de los cilios de las CC aumenta conforme la célula es más externa, este hecho es más evidente en la espira apical, asimismo los cilios de las CCE son más gruesos que los de las CCI.

ENGSTROM, H. y ENGSTROM, B. (1978), en un minucioso estudio realizado en diversos mamíferos, refieren que en un principio los cilios recubren toda la superficie de las CC sin orden alguno, para posteriormente limitar su área en la superficie de la célula ciliada y adoptar la estructura típica en "V" de las CCE y de cilios en empalizada de las CCI. La "V" está formada por varias filas de cilios ordenadas de menor a mayor tamaño, siendo el ángulo de la "V" más cerrado en la espira apical que en la basal. Como se demuestra en este estudio los cilios mantienen la misma estructura que en los animales adultos de las diferentes especies estudiadas.

Durante el desarrollo fetal en diferentes especies animales, cabe distinguir dos tipos de cilios en la misma célula unos más numerosos y cortos y otro mayor que los demás, el kinocilio. Para LINDEMAN, H. et al. (1971) y de sus observaciones realizadas en fetos de gato, comprueban que el kinocilio nace por fuera de los cilios en una elevación de la membrana celular siendo más ancho y alto que los estereocilios. Este kinocilio con la maduración de la coclea llega a desaparecer quedando a veces un rudimento al que denominamos corpúsculo basal.

El kinocilio ya fué descrito por HELD, H. (1926) como un cilio que partía de un corpúsculo basal en el citoplasma celular. Para BREDBERG, G., ADES, H. y ENGSTROM, H. (1972) es posible encontrarlo al principio de la vida postnatal como un órgano rudimentario en al menos 1/3 de las CCE en algunas especies de monos. También es posible encontrar un corpúsculo basal por debajo de la membrana celular de la parte superior de las CC haciendo protusión en ella como demuestran ENGSTROM, H., ADES, H. y HAWKINS, J.E. (1962), y FLOCK, A. y WERSALL, J. (1962). SPOENDLIN, H. (1966) considera que la existencia de este corpúsculo es menos frecuente que la citada por los anteriores autores.

Por lo que se refiere a la especie humana se puede observar el kinocilio en el feto de tres meses, aunque los estereocilios no presentan todavía su distribución típica.

KIKUCHI, K. y HILDING, A.C. (1965) en su estudio realizado en ratón, observan este kinocilio tanto en las CC como en las células de sostén, mostrando la estructura tubular típica de los cilios móviles del organismo. Sin embargo no lo encuentra en el animal adulto. Para MAROVITZ, W.F., KHAN, K.M. y SCHULTE, T., las estructuras tubulares no llegan hasta la extremidad del kinocilio.

Solamente TAKASAKA, T. y SMITH, C.A. (1971) y ENGSTROM, H. y ENGSTROM, B. (1978), dicen haber observado el kinocilio en el animal adulto tanto en aves como en algunas especies de monos.

Para TANAKA, K., SAKAI, N. y TERAYAMA, Y. (1979) en

el feto humano el kinocilio de las CCE es más largo que el de las CCI. Según estos autores el kinocilio no tiene en general la estructura típica de nueve parejas periféricas de túbulos y una pareja central, ni tampoco se continua -- con el interior del citoplasma celular.

Según KIKUCHI, K. y HILDING, A.C. (1965), el kinocilio procede de uno de los centriolos, que tras la división celular, emigra al borde apical de la célula y es a partir de él que se va a desarrollar.

En el estudio de estos embriones y fetos, también se halló otra formación "cilios"; el microvilli. De sus observaciones NAKAI, K. y HILDING, A.C. (1968), deducen que en el feto del conejo de 22 días no se ven microvillia en las CC, pero sí en las células de sostén, posteriormente se diferencian claramente de los estereocilios al ser aquellos de menor tamaño y no terminar en una dilatación. LINDEMAN, H. et al. (1971), que en el gato de dos días estos microvillis son incluso de mayor tamaño que en el animal adulto, si bien al cabo de unas semanas los términos se invierten. Para ENGSTROM, H. y WERSALL, J. (1953), estos microvillis tendrían un importante papel en la absorción de fluidos.

2) Células de sostén:

Respecto a los elementos de sostén del órgano de Corti, las células de los pilares son las primeras que se pueden identificar, HILDING, A.C. (1969). Para NAKAI, Y. (1970) en el feto humano de tres meses todavía aparecen --

juntas las células de los pilares no habiéndose formado todavía el tunel de Corti, este hecho es de gran importancia funcional, ya que mientras que no se forme el tunel de Corti no es posible la función auditiva. Según KIKUCHI, K. y HILDING, A.C. (1965), el tunel de Corti empieza a formarse en la espira basal y luego progresa hacia el apex.

El tipo habitual de célula de sostén en el órgano de Corti, viene representado por la célula de Deiters que tiene una amplia base que contiene el núcleo y una parte apical que sirve de sostén a la CC, FRIEDMANN, I. (1959).

Conforme la CC se diferencia y su citoplasma se -- hace más denso al aparecer más estructuras, en las células de sostén el citoplasma se hace más transparente y cambia su forma cilíndrica a la anteriormente mencionada.

Estas células están unidas en su apex a la CC, ya en la vida fetal, por medio de desmosomas y "tight junctions", también están completamente cubiertas en su superficie por microvillis a los que algunos autores dan un significado secretor, COHEN, G.M. y FERMIN, C.D. (1978)

3) Membrana tectoria:

Para DOHLMAN, G.V. (1971), la MT procede de las células de la pared anterosuperior del conducto coclear, las células inclinadas mayores. Estas células producirían la materia básica que la constituye, sin embargo para THORN, L. et al. (1978), ésta se originaría de las células de sostén más internas o bien puede existir la posibilidad de -- que la relación que existe entre las células de sostén y --

la MT se deba a que dichas células absorban material de esta membrana.

En las observaciones del desarrollo de la MT realizadas por NAKAI, K. y HILDING, A.C. (1968) en el feto humano de 22 días, comprueban que la MT no es visible en la espira apical, pero sí que la encuentran en la espira basal. Según TANAKA, K., SAKAI, N. y TERAYAMA, Y. (1979), la MT - en el feto humano de tres meses sólo cubre a las CCI en la espira apical, mientras que en la basal llega hasta las células de Hensen a las que está fuertemente unida.

KIKUCHI, K. y HILDING, A.C. (1965), en ratones recién nacidos, describen a la MT como constituida por una - capa gelatinosa plana que cubre a las CC y unida a las células de sostén más externas. Posteriormente y conforme -- avanza el desarrollo, esta unión se va haciendo progresivamente más frágil. La unión entre la MT y las CC tiene lugar en esta época por medio de los microvillis de las células-de sostén. El tamaño de los microvilli va disminuyendo con la maduración y la MT se va separando de ellos hasta que - dicha unión llega a desaparecer como ocurre en los anima--les adultos.

LINDEMAN, H. et al. (1971) describen como la tectoria en los gatos recién nacidos está unida a las células - de sostén que están situadas por fuera de la última fila - de CCE, esta unión no es uniforme a todo lo largo del órgano de Corti, siendo más firme en las espiras basales.

Para KRONESTER-FREI, A. (1976) la unión entre la -

MT y las células de sostén, se realiza merced a la red marginal de la tectoria. Esta red aparece en un principio como una membrana, para posteriormente surgir en la misma, - unos orificios que se van ampliando hasta darle un aspecto reticular.

La mayoría de los autores mencionados opinan con - FRIEDMAN, I. (1959) que los cilios de las CC parecen introducirse en la MT al principio del desarrollo embriológico, sin embargo a medida que avanza la maduración, el contacto entre la tectoria y dichos cilios desaparece o disminuye en alto grado.

4) Estría vascular:

La estría vascular está formada por células ectodérmicas prismáticas que descansan sobre una membrana basal, - las células emiten unos procesos digitiformes que la atraviesan e incluso llegan a contactar con algún vaso, por lo que cuando éstos desarrollen su propia membrana estarán rodeados por una doble formación de membrana, HILDING, A.C. (1969). Estas células prismáticas serán las futuras células marginales. Este autor describe en el tejido conectivo subyacente a la membrana basal de las células de la estría, - un tipo de células semejantes a las de Schwann y que para él no serían más que las propias células de Schwann que llegan con las fibras nerviosas. NAKAI, Y. (1970) describe en las futuras células marginales de la estría vascular la -- presencia de un kinocilio que posteriormente desaparecería durante el proceso de maduración, lo que ocurriría también con la membrana basal.

5) Limbo espiral:

En cuanto al limbo según HAWKINS, J.E. y JOHNSON, L.G. (1968), parece que algunas células epiteliales que lo forman, en el feto de mono de 75 días, emigran hacia abajo para convertirse en células intermedias que en el animal adulto tienen unos procesos dendríticos, reminiscencia de las células nerviosas de que proceden. Estas prolongaciones se extienden hasta los dientes de Huschke y se mantienen ahí, incluso después de que las células epiteliales hayan emigrado y parecen hacer contacto con las células interdientales. Otras prolongaciones diferentes de las anteriores y cuya función es desconocida, se extiende hacia la vertiente timpánica del limbo.

6) Membrana de Reissner:

La membrana de Reissner está formada por unas células cuboides, en su cara endolinfática, existiendo interdigitaciones entre ellas. En el conejo y en el momento del nacimiento, existen escasos microvillis en su superficie, así como vesículas pinocíticas, si bien a veces encontramos un kinocilio en su superficie. Posteriormente aparecen múltiples microvillis en su cara endolinfática celular así como vesículas pinocíticas, lo que se puede relacionar con una posible función de transporte, NAKAI, Y. y HILDING, A. C. (1968).

En resumen el conducto coclear procede de una evaginación de la vesícula ótica, que tiene un crecimiento espiral, este crecimiento es más rápido en el apex que en la

base de la coclea.

Del futuro órgano de Corti se destacan dos crestas, de la mayor derivarán las CCI y de la menor las CCE. Las primeras células identificables son las de los pilares que en un principio están unidas y posteriormente se separan para formar el tunel de Corti. Después se pueden identificar las CC por su forma y porque pierden el contacto con la membrana basilar, así como por las características de su citoplasma.

Los cilios presentan las mismas características que en el animal adulto en cuanto a su forma, interrelación y disposición, si bien en un primer momento ocupan toda la superficie celular.

Un elemento específico del desarrollo embriológico es el kinocilio, cilio de mayores dimensiones que los de las CC (estereocilios), es único y desaparece con la maduración del órgano de Corti.

La MT aparece desde los primeros momentos del desarrollo y mantiene una relación estrecha con los cilios de las CC, si bien con la maduración del embrión esta relación disminuirá. Dicha membrana está unida a los microvillis de las células de sostén desde las primeras etapas del desarrollo. En su formación intervienen las células del surco espiral interno, que parece ser que segregan los materiales necesarios para ello, THORN, L. et al. (1978)

IV. ANATOMIA DE LA COCLEA.

La coclea también denominada caracol debe su nombre a su forma. La coclea es parte del laberinto anterior y por tanto como todos los elementos de éste, va a estar formada por una porción ósea y otra membranosa.

I) Laberinto anterior óseo (Fig. 1):

Clásicamente la porción ósea de la coclea se considera formada por tres elementos:

1) Parte central columela o modíolo, en forma de cono truncado, con una altura de tres mm., que va a estar atravesada por la porción más periférica de las fibras nerviosas del nervio auditivo procedentes de las CC, que siguen los denominados conductos de Rosenthal, en una dilatación de los cuales asienta la primera neurona de esta vía o ganglio de Corti.

2) Lámina ósea espiral, de unos tres mm. de longitud, se sitúa alrededor de la columela, rodeándola desde la base hasta el apex, describiendo una serie de espiras progresivamente decrecientes. En el hombre existen dos espiras y media, las dos primeras alrededor de la columela y la tercera incompleta, formada a expensas de la propia lámina espiral en su porción terminal.

3) Lámina de los contornos, es un tubo óseo incompleto en su cara interna, por la que se une a la columela, formando de este modo un tubo espiral cuyo diámetro disminuye conforme se aproxima a su porción más apical. Contiene en su interior la lámina espiral, así este tubo queda dividido parcialmente, en dos rampas una superior y otra -

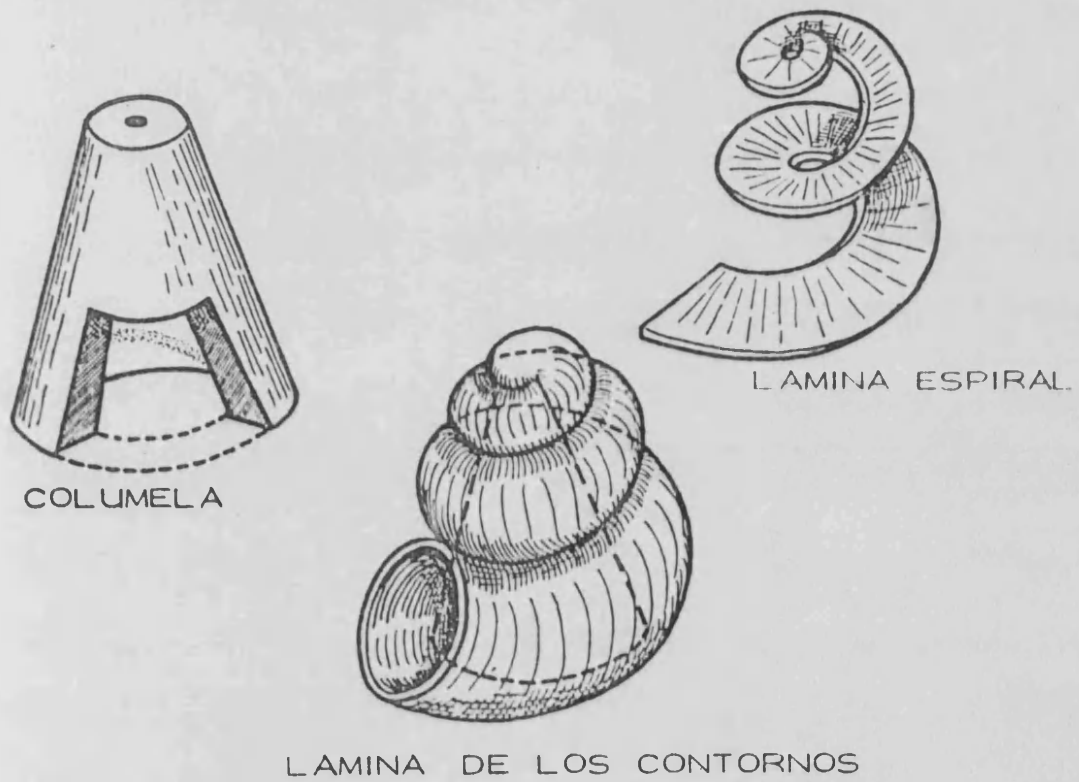


Fig. 1. CARACOL OSEO

inferior, en su interior se alojará el caracol membranoso donde asienta el órgano de Corti.

En resumen la coclea ósea está formada por un solo bloque ósea, a cuya superficie se fija la lámina espiral - que se introduce en el conducto coclear óseo adosado éste a la superficie del modiollo en forma de espira.

Tanto la porción basal como la apical de la coclea tienen sus particularidades. La porción apical del caracol está formada por la tercera espira, a cuyo nivel la lámina ósea espiral que ya ha recorrido todo el modiollo, queda libre y se arrolla sobre sí misma, constituyendo una especie de gancho de 1/4 de espira, el cual se denomina rostrum o hamulus. A este nivel el conducto coclear membranoso dejará, como ya expondremos más adelante, un espacio entre él y el rostrum, al cual se le denomina helicotrema. Va a ser a través del helicotrema por donde se van a comunicar las rampas timpánica y vestibular, este hecho tiene una gran importancia en la fisiología de la audición.

El caracol óseo o coclea en su base se prolonga -- perdiendo su forma espiroidea, tal y como lo hace la lámina espiral. Esta prolongación va a constituir el suelo del vestíbulo óseo y la cavidad infravestibular.

La parte central de la coclea, la columela está -- atravesada en su base o por las fibras nerviosas auditivas. A este nivel existen una serie de orificios dispuestos en una doble línea espiral que se denomina criba espiroidea.- Estos orificios van a dar paso a la porción más periférica

de las fibras nerviosas auditivas que se dirigen hacia las CC. Estos orificios constituyen la porción inicial de unos conductos que existen en el espesor de la columela, en ellos existe una dilatación donde se aloja el ganglio de Corti, - primera neurona de la vía auditiva, de dicho conducto parten otros más pequeños que penetran en el espesor de la lámina espiral, son los foramina nervina que dan paso a las terminaciones más periféricas de las fibras nerviosas auditivas que se dirigen a la base de las CC.

II) Laberinto anterior membranoso (Fig. 2):

Está formado por un tubo conjuntivo-epitelial que sirve de sostén a los elementos sensoriales. Se distinguen en él dos partes:

1) Una parte muy corta situada sobre el suelo del vestíbulo, que recibe el nombre de "ductus reuniens" que une al conducto coclear con el saculo.

2) Una porción arrollada sobre sí misma que se introduce en el caracol óseo, al cual sigue en todo su curso. Es el caracol membranoso. Esta parte es la que nos interesa.

En el hueso seco el caracol óseo está dividido de forma incompleta, como ya expusimos, por la lámina espiral-ósea, en el animal vivo este conducto óseo queda tabicado completamente por el conducto coclear membranoso quedando dividido el caracol óseo en tres compartimentos o rampas, la vestibular o superior, la media o conducto coclear y la inferior o timpánica. (Fig. 3).

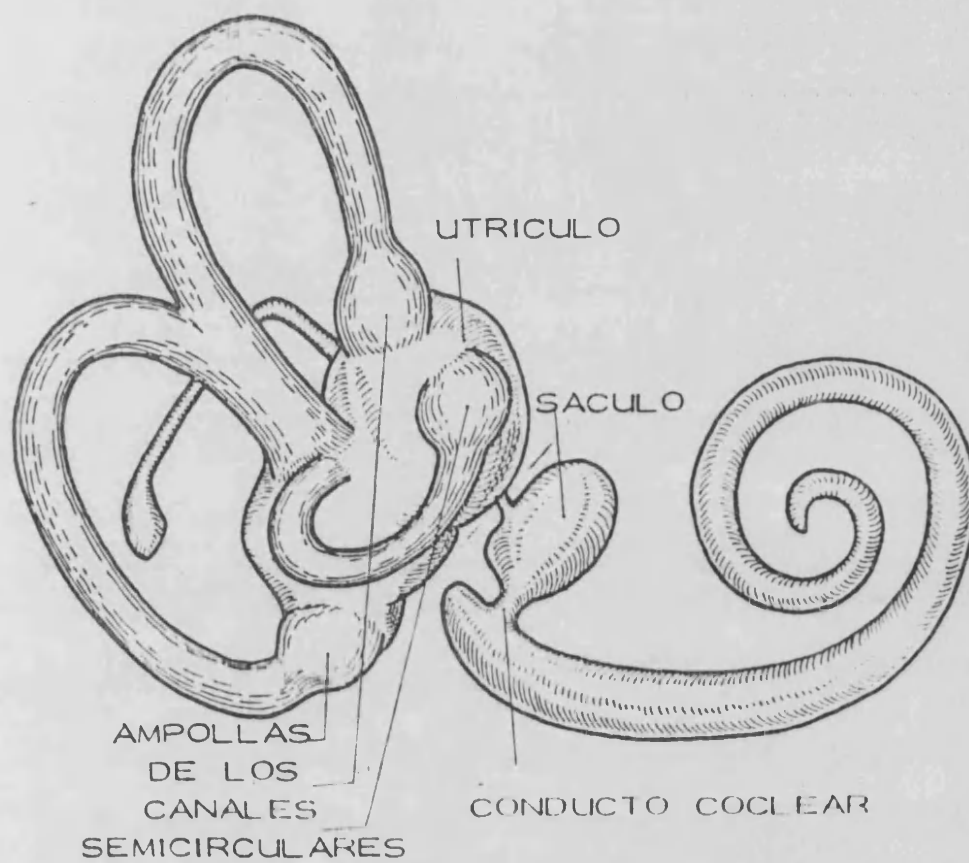


Fig. 2. Laberinto anterior y posterior membranoso.

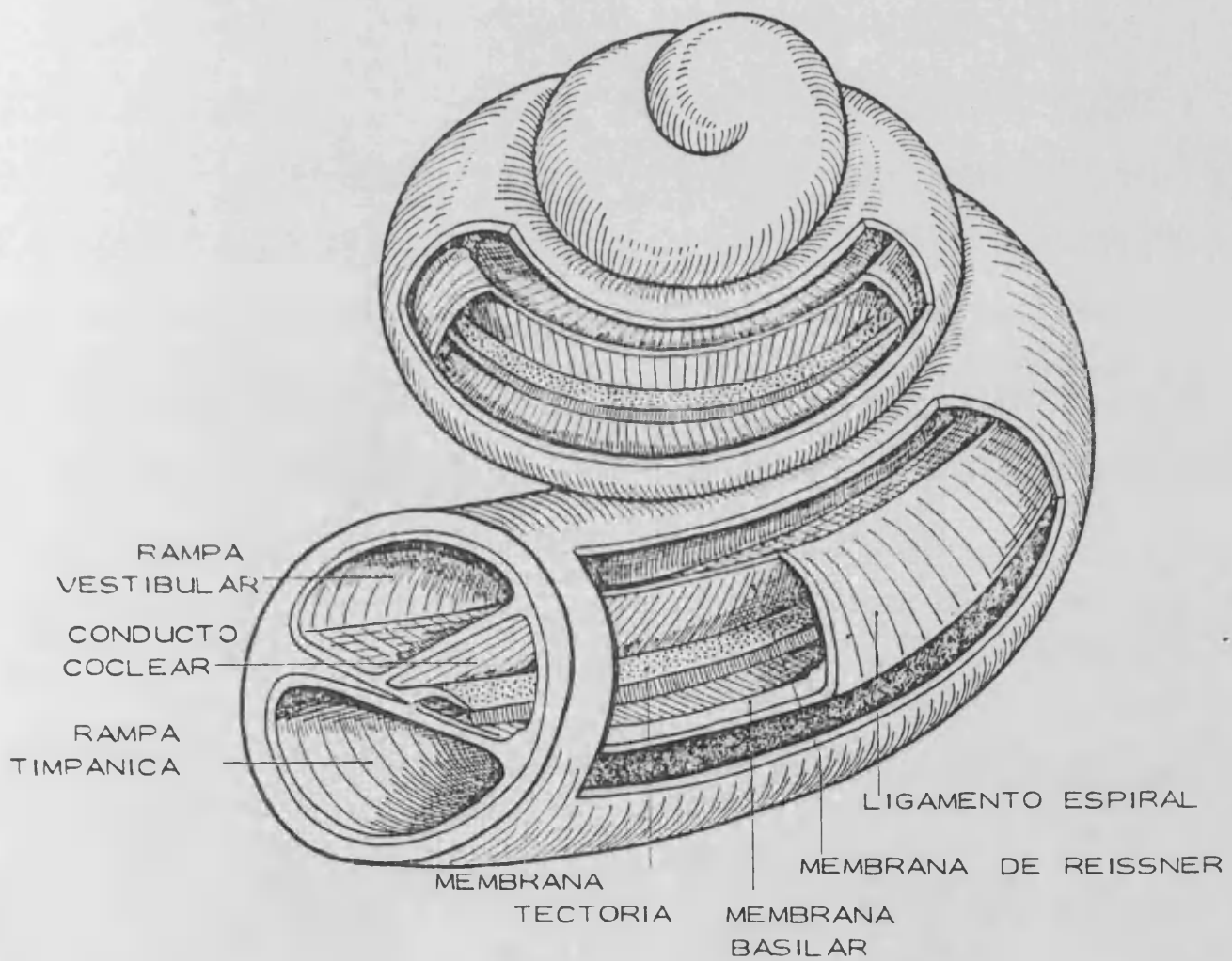


Fig. 3. COCLEA

El conducto coclear consta de tres paredes (Fig.4), una superior que es la membrana de Reissner, una inferior que es la membrana basilar y una externa que es el ligamento espiral externo. La estructura de estas dos membranas - entre las que está el conducto coclear es la siguiente:

a) Membrana basilar:

La membrana basilar está formada por varias capas de tejido conjuntivo, cuyas propiedades mecánicas tienen un gran interés fisiológico. Esquemáticamente la podemos dividir en tres capas:

- Capa vestibular, formada por una sustancia hialina homogénea y que carece de fibras conjuntivas.
- Capa timpánica, constituida por tejido conjuntivo común con fibras de distribución helicoidal.
- Capa media, con fibras conjuntivas de distribución radial.

b) Membrana de Reissner:

Se trata de una delgada lámina de tejido conjuntivo que está tapizada en sus dos caras por células epiteliales. (Fig. 5).

Todo el caracol óseo está tapizado por un perlostio o endostio endolaberíntico que se espesa en dos zonas, en la periferia donde forma el ligamento espiral externo.

También se engruesa este endostio en la parte inferior y anterior de la lámina espiral ósea, donde forma una depresión profunda y regular que es el ligamento espiral interno.

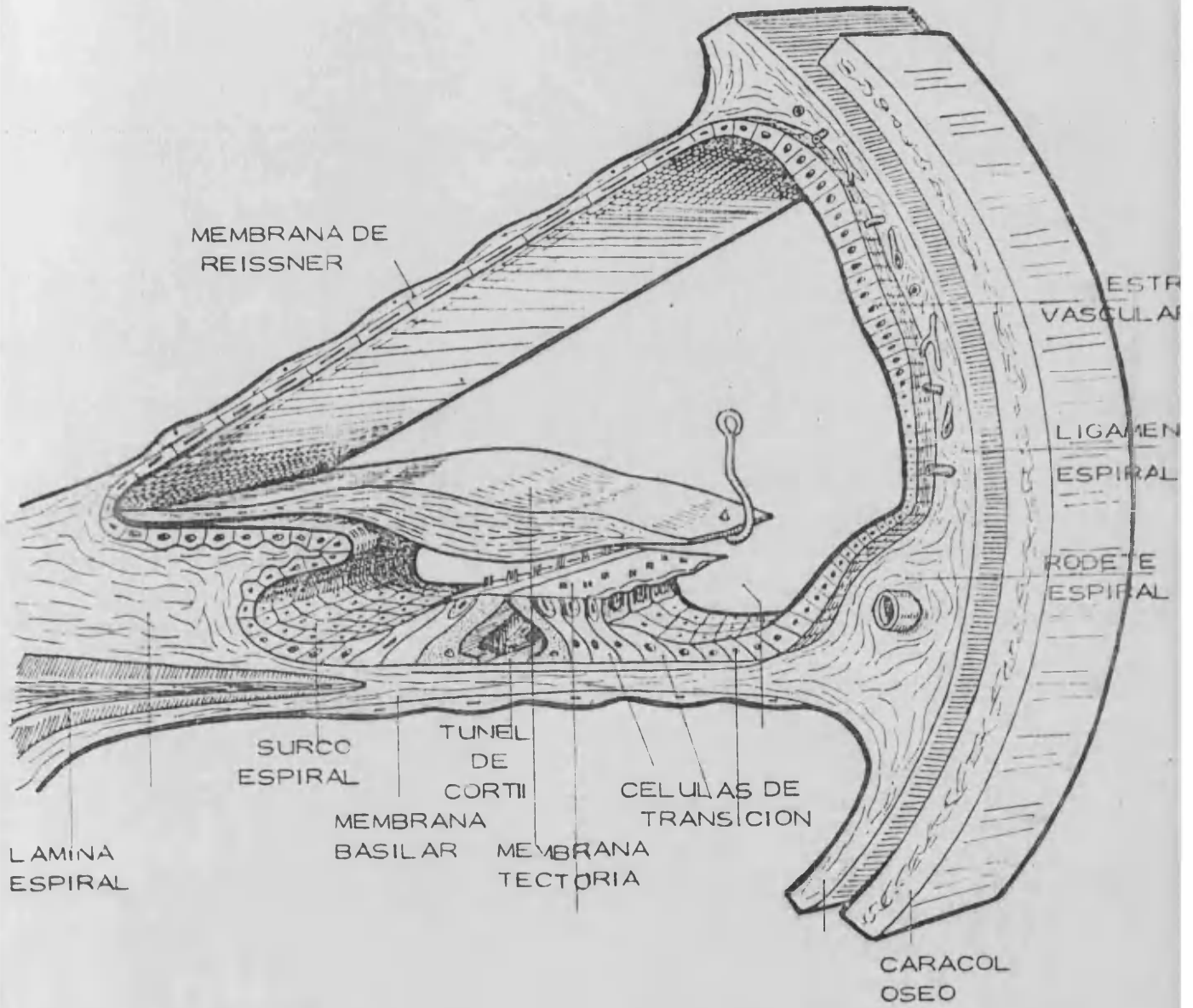


Fig. 4. Conducto coclear.

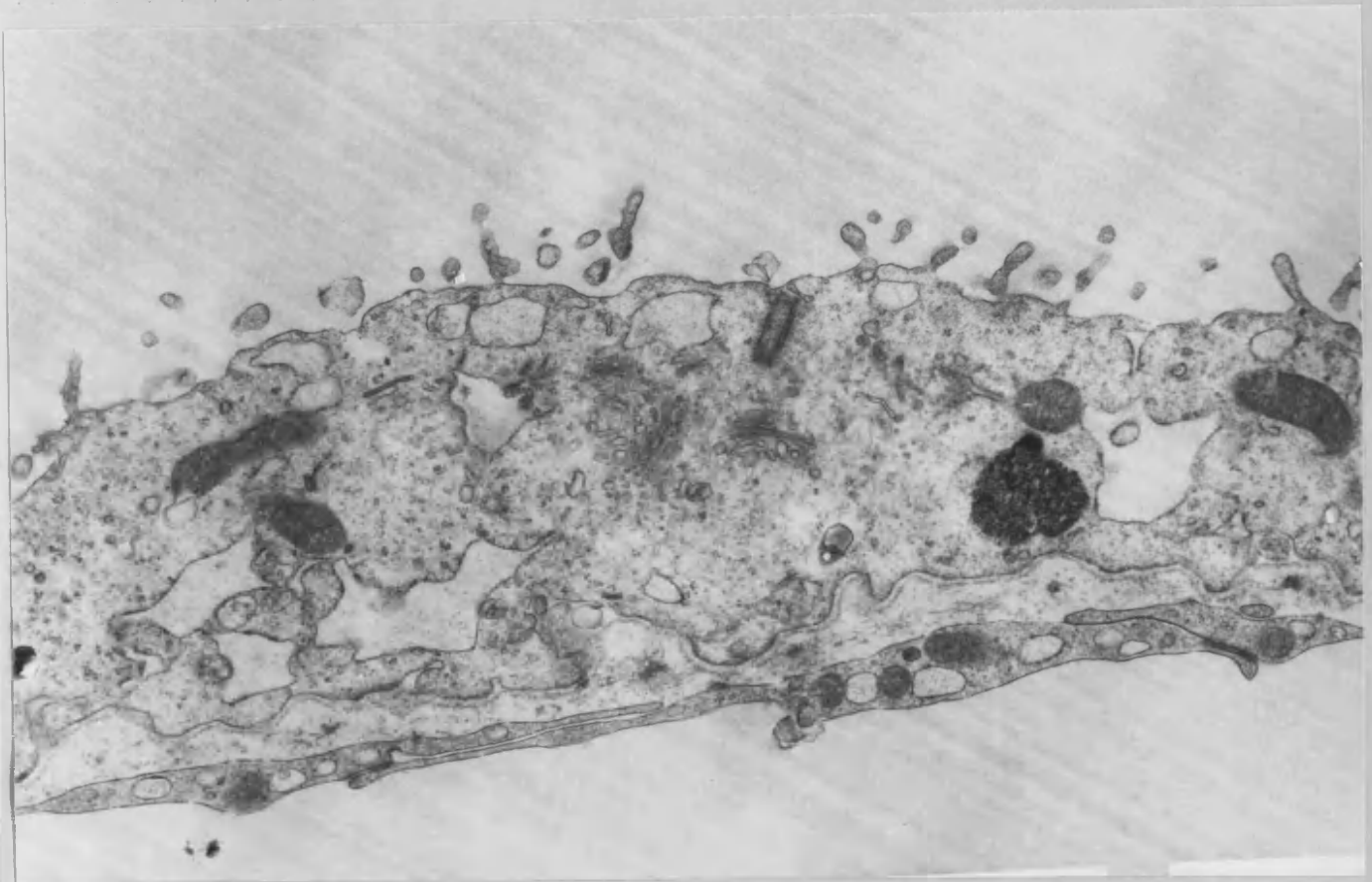


Fig. 5 A). Imagen de MEI donde se observa la membrana de Reissner con las dos capas de células que la componen, separadas por una membrana basal. 8300x.

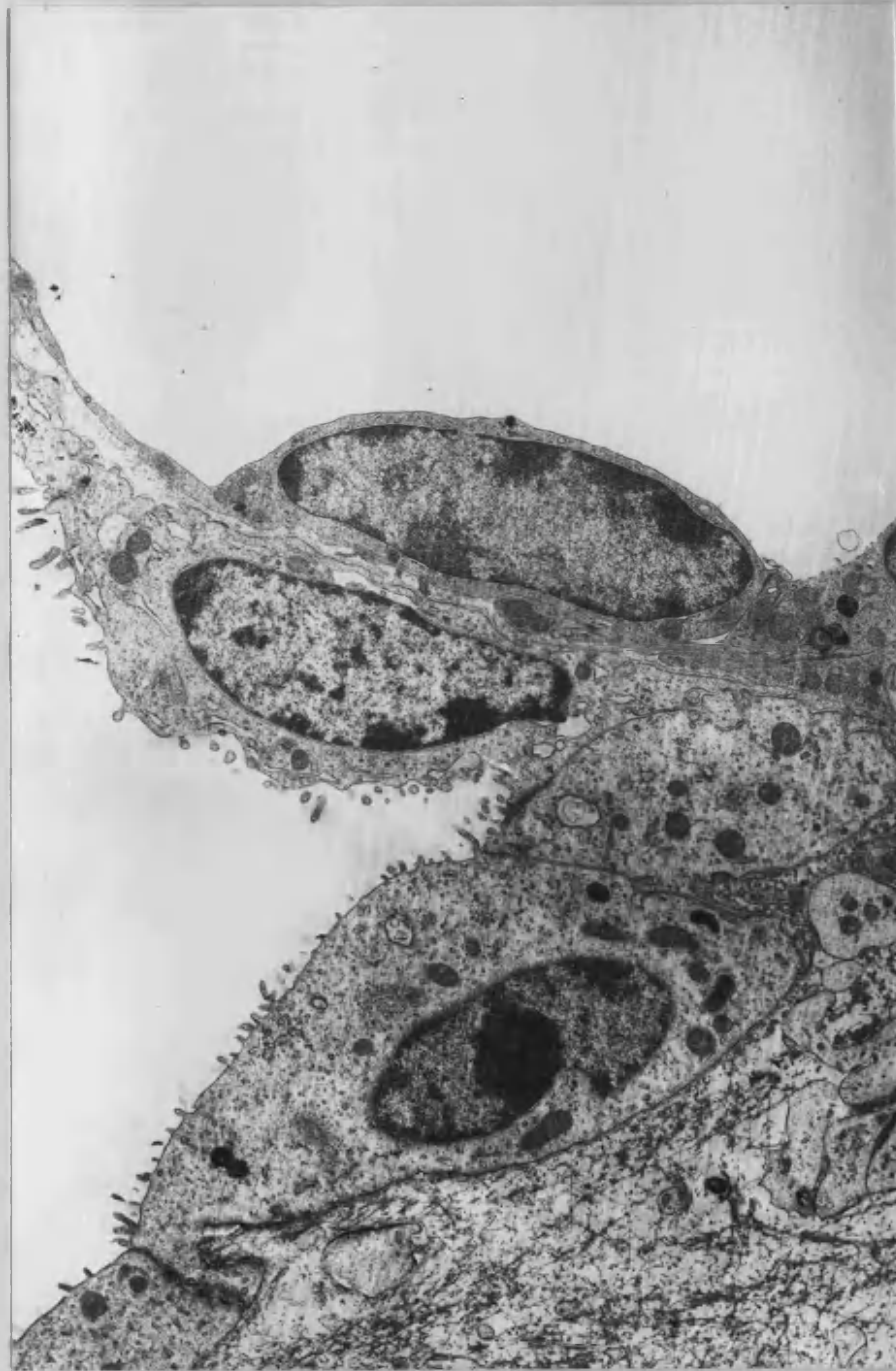


Fig. 5 B). Imagen de MET donde se aprecia como la membrana de Reissner se inserta en el labio timpánico -- del limbo. 3500x.

Entre estas dos estructuras se extienden las dos for
maciones membranosas anteriormente citadas, las membranas ba
silar y de Reissner, de esta forma dentro del conducto óseo
del caracol se delimitan tres rampas (Fig. 6):

- Rampa superior o vestibular.
- Rampa media o conducto coclear.
- Rampa inferior o timpánica.

Entre la rampa timpánica y el conducto coclear, es
tá la membrana basilar y entre el conducto coclear y la --
rampa vestibular está la membrana de Reissner.

De estos tres conductos o rampas, el que más nos in
teresa es el coclear ya que en él está situado el órgano de
Corti, estructura que contiene a las células sensoriales de
la vía auditiva.

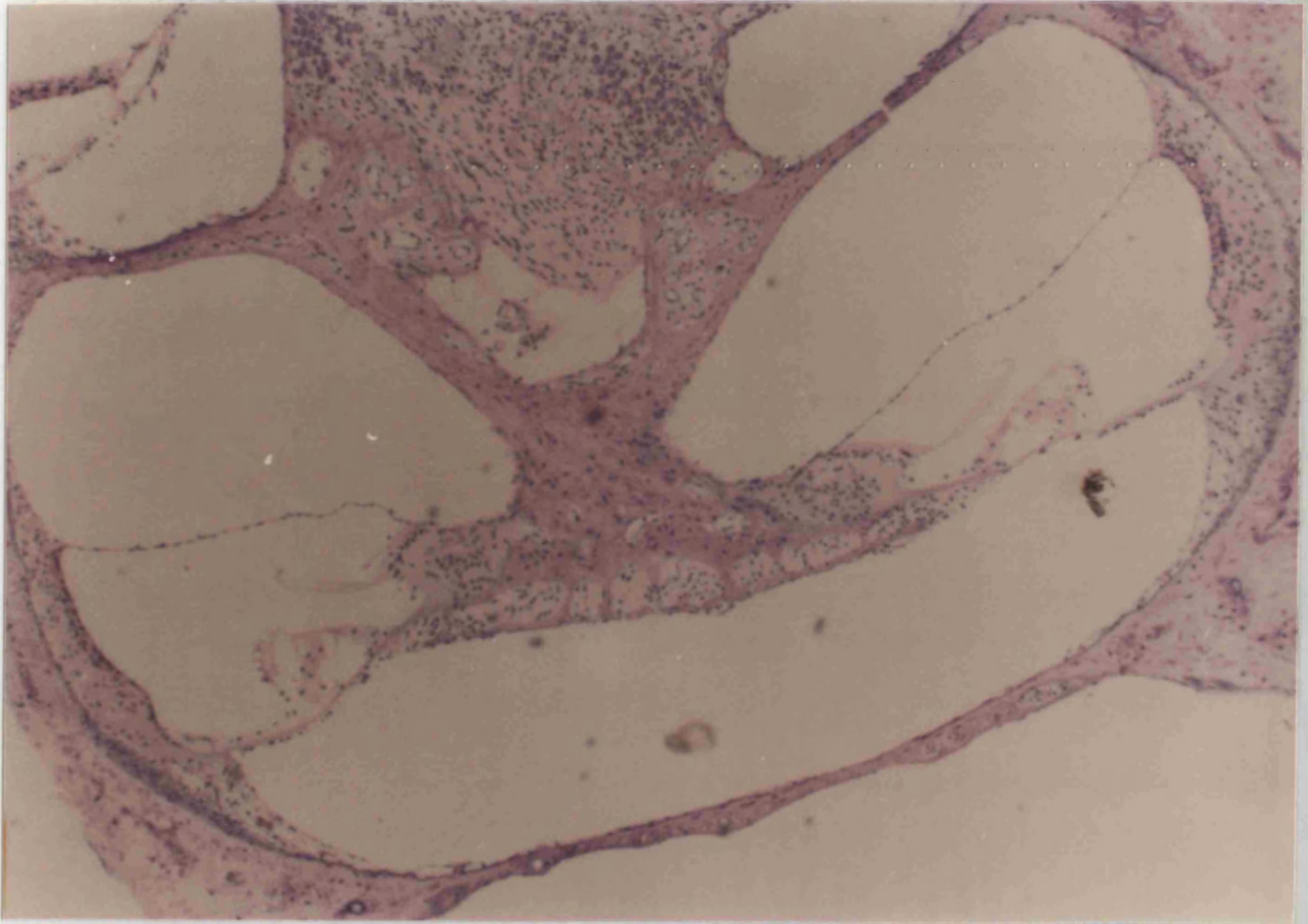


Fig. 6. Rampas de la coclea. Observadas mediante microscopía óptica, tinción de Giemsa, 10 x.

V. CONDUCTO COCLEAR.

Cuando realizamos un corte perpendicular al plano que sigue el eje longitudinal del conducto coclear se observa que éste tiene forma triangular y que está formado por paredes de tejido conjuntivo, tapizadas por un epitelio de origen ectodérmico. Su pared superior es la membrana de Reissner. Su pared externa está formada por la porción del ligamento espiral externo situada entre las membranas de Reissner y basilar. En esta pared existen una serie de accidentes, en su parte media aparece una estructura que sobresale, es la prominencia de un vaso, se denomina rodete espiral, entre este rodete y la membrana de Reissner existe una gran vascularización y pigmentación, a esta parte se le llama estría vascular. Entre dicho rodete y la membrana basilar se encuentra un espesamiento del endotelio que recibe el nombre de ligamento espiral externo (Fig. 7):

La pared inferior está formada por la membrana basilar y parte de la lámina ósea espiral, sobre esta pared asienta el órgano de Corti.

La pared más interna de este conducto coclear es el vértice interno del triángulo y está formado por el limbo.

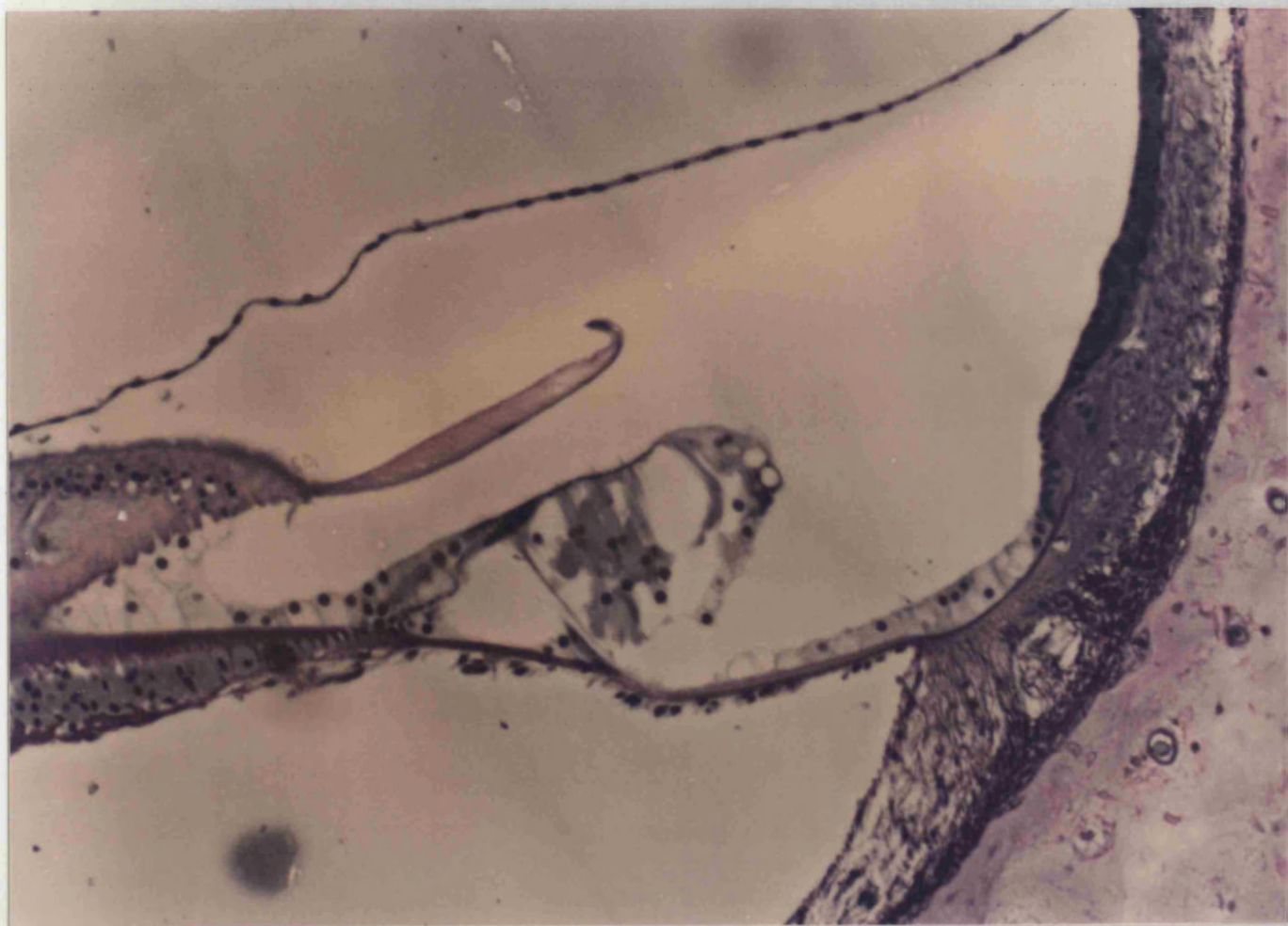


Fig. 7. Conducto coclear teñido mediante la técnica de
May-Grunwald-Giemsa, 20 x.

VI. ORGANO DE CORTEI.

Es la parte noble, sensorial del conducto coclear-
(fig. 8), reposa sobre la membrana basilar.

En él distinguimos las siguientes formaciones:

Células de sostén:

- Células de los pilares, son células de sostén mo
dificadas, que delimitan el tunel de Corti. Son-
de dos tipos, externas e internas.
- Células de Deiters, son las células de sostén de
las CCE, entre ellas se delimitan los espacios -
de Nuel.
- Células de sostén de las CCI.

Elementos sensoriales:

- CCE, situadas en tres filas, su número es de unas
15.000 en el hombre.
- CCI, forman una sola fila, su número es de 3.500
en el hombre.

Otras células del órgano de Corti son:

- Células cúbicas de los ligamentos espirales interer
no y externo.
- Células de Hensen situadas por fuera de las céluu
las de Deiters.
- Células de Claudius, situadas entre las de Hensen
y las del ligamento espiral externo.

Membranas:

- Membrana tectoria, que nace en el ligamento espiral

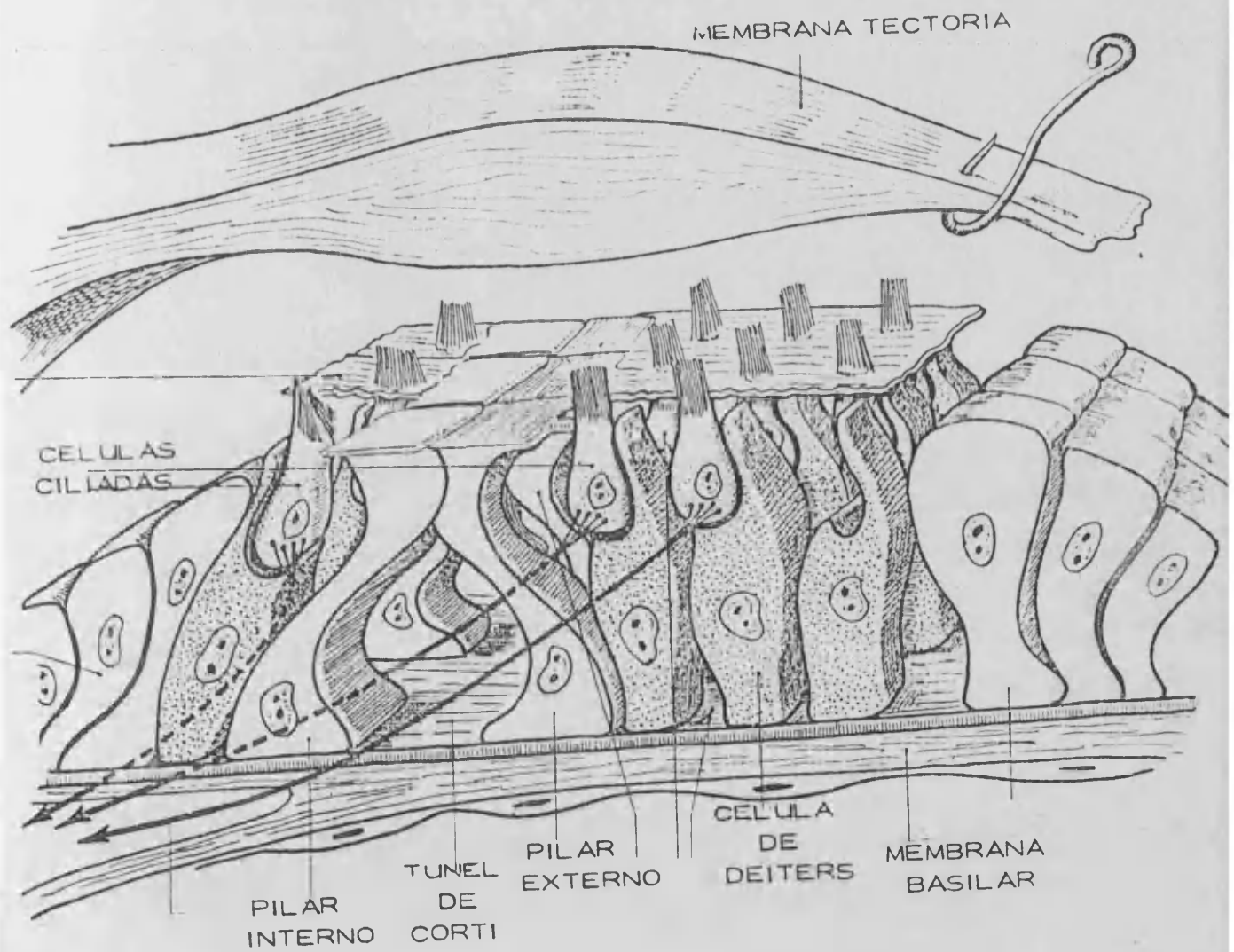


Fig. 8. Organo de Corti. Tomado de LEGENT, F., PERLEMUTER, L. y VANDENBROUCK, C. (1968).

interno y se une a las células de Deiters y de Hensen, mediante su borde libre. Está situado -- por encima de las CCE y de las CCI.

Vascularización del laberinto anterior membranoso:

- La vascularización arterial es proporcionada exclusivamente por la arteria auditiva interna, rama de la cerebelosa media.
- La arteria auditiva interna mediante su rama coclear, da lugar a las arterias espirales, que son las encargadas de irrigar el conducto coclear.
- Los troncos venosos encargados de recoger el aporte sanguíneo son la vena auditiva interna, la vena del acueducto del caracol y la del acueducto del vestíbulo.

La vía auditiva, encargada de recoger los estímulos sonoros que llegan a las CC, donde son transformados en -- energía eléctrica, empieza en las fibras nerviosas que haciendo sinapsis en el polo inferior de estas CC, reciben -- los potenciales eléctricos que se producen en ellas y dan lugar al potencial de acción en el VIII pc. en su pars coclear . Estas fibras se dirigen hacia el modiollo atravesando la lámina espiral, en el modiollo y en los canalículos -- por donde pasan estas fibras nerviosas, canalículos de Rosenthal; existe una dilatación donde se encuentra el gan--glio de Corti, en él está la primera neurona de esta vía.-- Desde aquí salen unos cilindroejes que atraviesan el modiollo llegando hasta su parte más ancha o base, cruzando la --

lámina cribiforme, en la cara interna del vestíbulo, y entrando en el conducto auditivo interno a través de la parte anteroinferior de la criba espiroidea y formando entonces estas fibras la pars coclear del VIII pc. Al salir del conducto auditivo interno el VIII pc. atraviesa el ángulo pontocerebeloso y penetra en el tronco del encéfalo por el surco bulboprotuberancial llegando hasta la fosa lateral del bulbo donde se encuentra la segunda neurona de esta vía, en el núcleo ventral y desde aquí y por el fascículo dorsal o principal atraviesa la oliva homo y heterolateral, ascendiendo por la cinta de Reil lateral o lemnisco lateral hasta que llega a los cuerpos geniculados internos, donde está la tercera neurona de la vía auditiva. Posteriormente pasa por el brazo conjuntival a los tubérculos cuadrigéminos posteriores y desde aquí y mediante el fascículo talamo cortical llega hasta el cortex temporal por debajo de la cisura de Silvio en la circunvolución de Heschl a las áreas 41, 42 y 22 de Brodman donde se encuentra el área auditiva y donde se interpreta el mensaje sonoro.

MEMBRANA BASILAR.

La membrana basilar se extiende desde la lámina ósea espiral hasta la cresta basilar del ligamento espiral externo, formando la base del conducto coclear y siendo soporte del órgano de Corti.

Al estudiar con el microscopio óptico la membrana basilar, ésta aparece como una cinta ancha y bien desarrollada en la que se pueden distinguir varias capas que ya fueron descritas por HENSEN en 1853, BOETICHER, A. en 1869, RETZIUS, G. en 1884, y por otros autores.

Observándola en fresco al microscopio óptico por transparencia se distinguen dos partes: una interna (pars tecta o arcuata) que se extiende desde el borde de la lámina ósea espiral, hasta la altura de las células de los pilares internos, y otra parte externa (pars pectinea) que se extiende desde las células de los pilares externos hasta la cresta basilar del ligamento espiral externo.

En la membrana basilar cabe distinguir varias capas según IURATO, S. (1962):

- Una capa basal en contacto con el órgano de Corti, con un espesor de 200 Å, que se continúa con la capa basal del ligamento espiral externo.
- Capa de substancia algodonosa.
- Capa de fibras de grosor medio, con gran número de anastomosis entre ellas lo que simula una capa continúa.

- Capa de sustancia algodonosa, existen dos, y entre ambas se encuentra la:
- Capa de fibras con forma cilíndrica, estas fibras están muy separadas entre sí.
- En último lugar existe la capa celular timpánica, que mira a la rampa timpánica, estas células están en íntimo contacto entre sí en el animal adulto, en el animal joven son más numerosas y forman una capa más ancha.

Para SANCHEZ FERNANDEZ, J.M. (1969), la membrana basilar estaría compuesta por:

- Una capa basal de 200 Å^g de espesor donde reposan los elementos del órgano de Corti, cuya unión se realiza mediante una "zonula ocludens" superficial y una "zonula adherens" profunda.
- Capa filamentososa de grosor variable, siendo máxima en la pars pectinea o pectinata.
- Células de la membrana basilar, son fusiformes y estrelladas, con prolongaciones que contactan -- con las células vecinas.
- Capilares de la membrana basilar. Entre la pars tecta y el extremo timpánico del limbus spiralis existe el denominado vaso espiral constituido por una capa continua de células endoteliales sin poros.

La capa de fibras de la basilar estudiada con luz polarizada por IURATO, S. (1961), se compone de tres grupos de éstas, que van desde el ligamento espiral hasta el surco espiral. Un grupo va directa y paralelamente a la superficie vestibular de la lámina espiral, el segundo grupo con una cierta inclinación y en línea recta termina en la superficie timpánica de la lámina espiral, el tercer grupo, el más amplio, tiene forma de "C" y su cara convexa enfrente del modiolo.

El mayor grosor de la "pars pectinata" es debido a la presencia de una abundante capa algodonosa.

LIMBO ESPIRAL.

Es un espesamiento triangular del endotelio del -- conducto coclear situado sobre la lámina espiral ósea. Es homogéneo o ligeramente filamentososo y contiene vasos san-- guíneos y abundantes células, unas se sitúan cerca de la - superficie y otras más profundamente. Las células más su-- perfciales se localizan en los surcos interdentes, que-- están entre los dientes de Huschke.

También existen en su espesor fibras que aparecen-- rodeadas en algunos puntos por prolongaciones que emiten - las células. La substancia fundamental es muy escasa entre las fibras y muy diferente a la de la membrana basilar. Las fibras se unen en grupos de tamaño muy variables, teniendo unos patrones hexagonales y simétricos.

Al estudiarlo con el MET podemos distinguir en el -- limbo espiral diversas zonas:

- Zona superficial:

Incluye a los dientes de Huschke, los surcos inter-- dentes y un área localizada entre la inserción de la mem-- brana de Reissner y el modiollo (Fig. 9):

Los dientes de Huschke son unos procesos con una ba-- se inclinada y una expansión en la parte superior, están - formados en su mayor parte por substancia intercelular. -- Los filamentos se sitúan en grupos muy compactos con esca-- sa substancia basal y van desde la base hasta el apex.

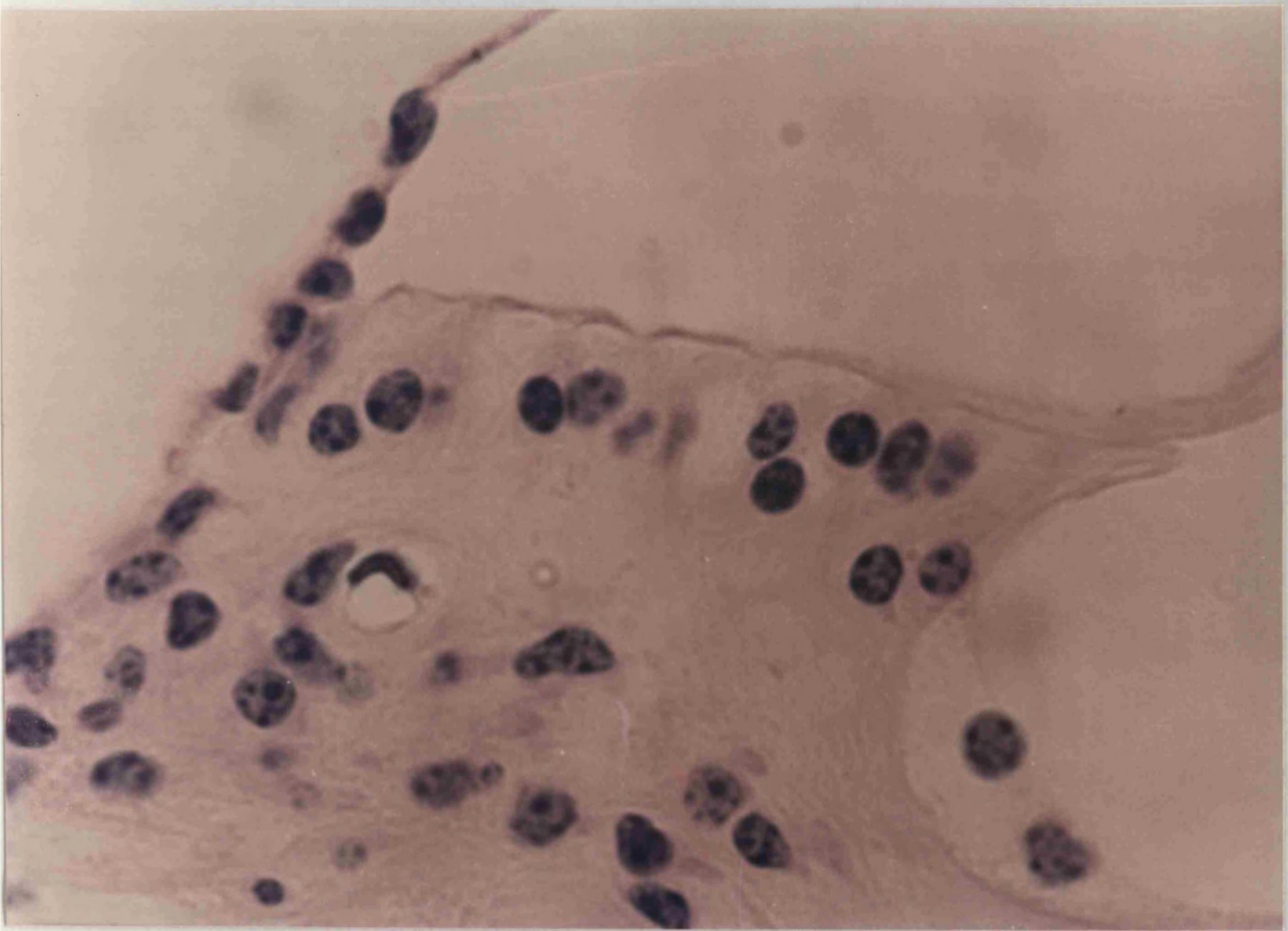


Fig. 9. Tinción de Giemsa donde se aprecian los dientes de
Huschke y las células interdientales donde ser inser
ta la MT, 60 x.

Las células se sitúan entre los surcos interdenta-
les, o mejor dicho se trata de unas prolongaciones de las-
células. Entre los dientes y la membrana celular existe --
otra membrana de unos 200 Å que recubre a los dientes.

- Zona del surco espiral interno:

Las fibras que la componen forman una curva ce-
rrada, estas fibras se continúan con las de los dientes de
Huschke y constituyen el labio vestibular del limbo espiral.
En los surcos interdentaes las fibras terminan en el fondo
de los mismos.

- Zona central:

Aquí las fibras se sitúan formando pequeños grupos
sin dirección especial. Existen más células que en otras -
zonas, son estrelladas con prolongaciones en todas las di-
recciones, siendo éstas más largas en los animales más jó-
venes.

- Zona profunda:

Las fibras se unen en grupos sin orientación fija,
pero con dirección radial. Las células son fusiformes y se
localizan entre los filamentos, en las espiras basal y me-
dia esta zona está en contacto directo con la lámina espi-
ral. En la espira apical las fibras nerviosas mielinizadas
están en contacto con la zona profunda, estando recubierta
por las prolongaciones de las células de Schwann.

El labio timpánico del limbo espiral está formado
por las fibras radiales muy compactas.

Más allá de la zona de transición de la "pars tecta"

de la membrana basilar está la "habenula perforata" con los "foramina nervina".

Hay que recordar que el limbo espiral está recubierto por las células del órgano de Corti, las del surco espiral interno y las células interdentesales.

LIGAMENTO ESPIRAL EXTERNO.

Está formado por filamentos que se agrupan en fibras de dirección variable, que tienen su origen en el punto de inserción de la membrana basilar (cresta basilar) y se dirigen hacia la formación ósea que lo sustenta, entre los grupos de fibras encontramos células dispersas. Existe también abundante substancia intercelular que se encuentra en forma de láminas con interconexiones entre ellas (Fig.10).

A nivel del ligamento espiral externo podemos distinguir las siguientes zonas:

- Parte principal:

Aquí la substancia intercelular se agrupa en forma de láminas y fibras. Las células son fusiformes y se sitúan en grupos de tres o cuatro, teniendo prolongaciones citoplasmáticas (Fig. 11).

- Cresta basilar:

Está formada casi exclusivamente por substancia intercelular, existen fibras que son continuación de las de la "pars pectinata". Hacia la parte principal los filamentos se agregan en forma de grupos o láminas.

- Area de transición:

Es la zona de inserción en el hueso, lámina de los contornos. Al aproximarse al hueso las fibras se van a disociar en filamentos que se insertan en la lámina de los contornos.

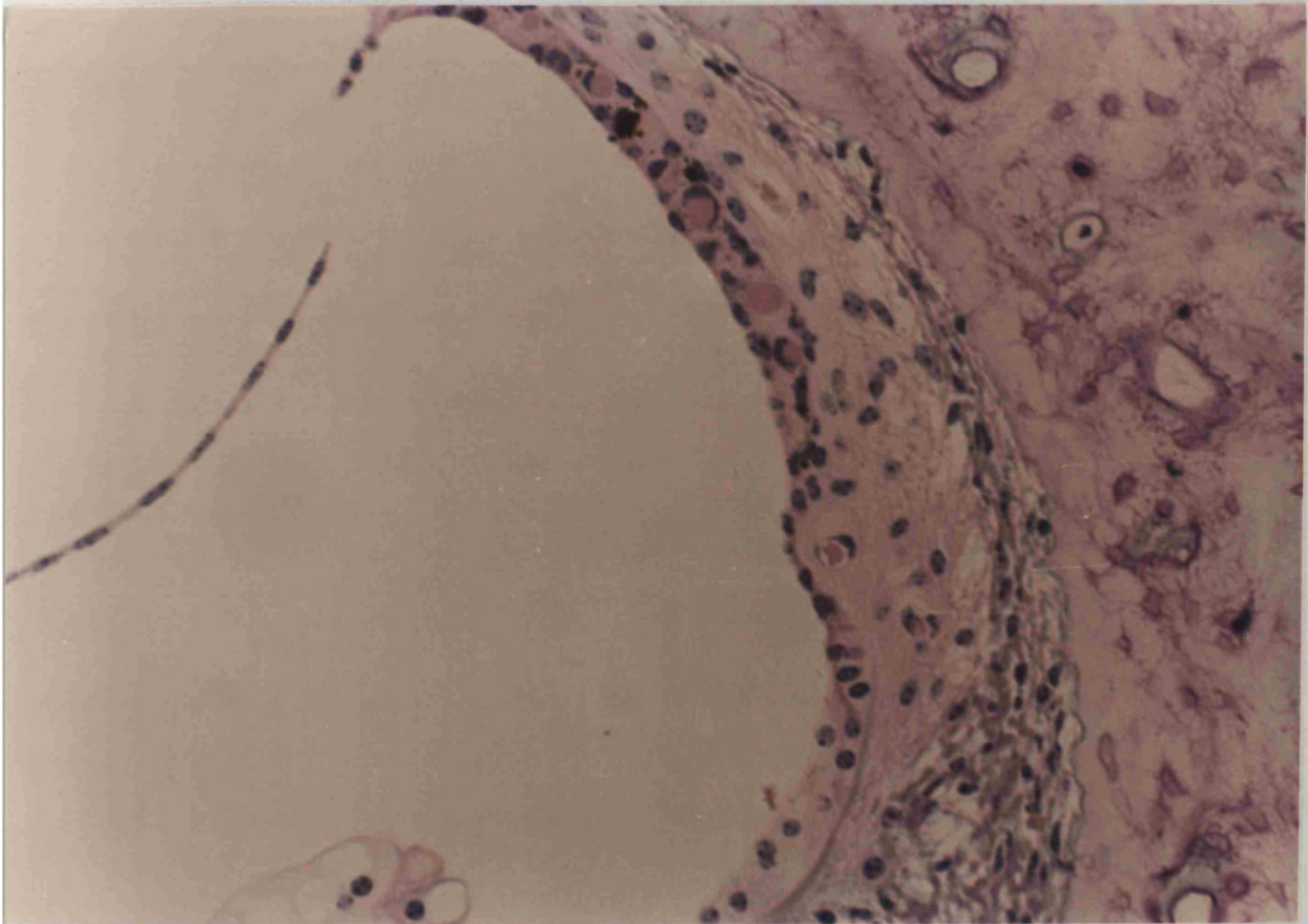


Fig. 10. Pared externa del conducto coclear donde se aprecia el ligamento espiral externo, la estria vascular y el rodete espiral. Tinción de Giemsa, 40 x.

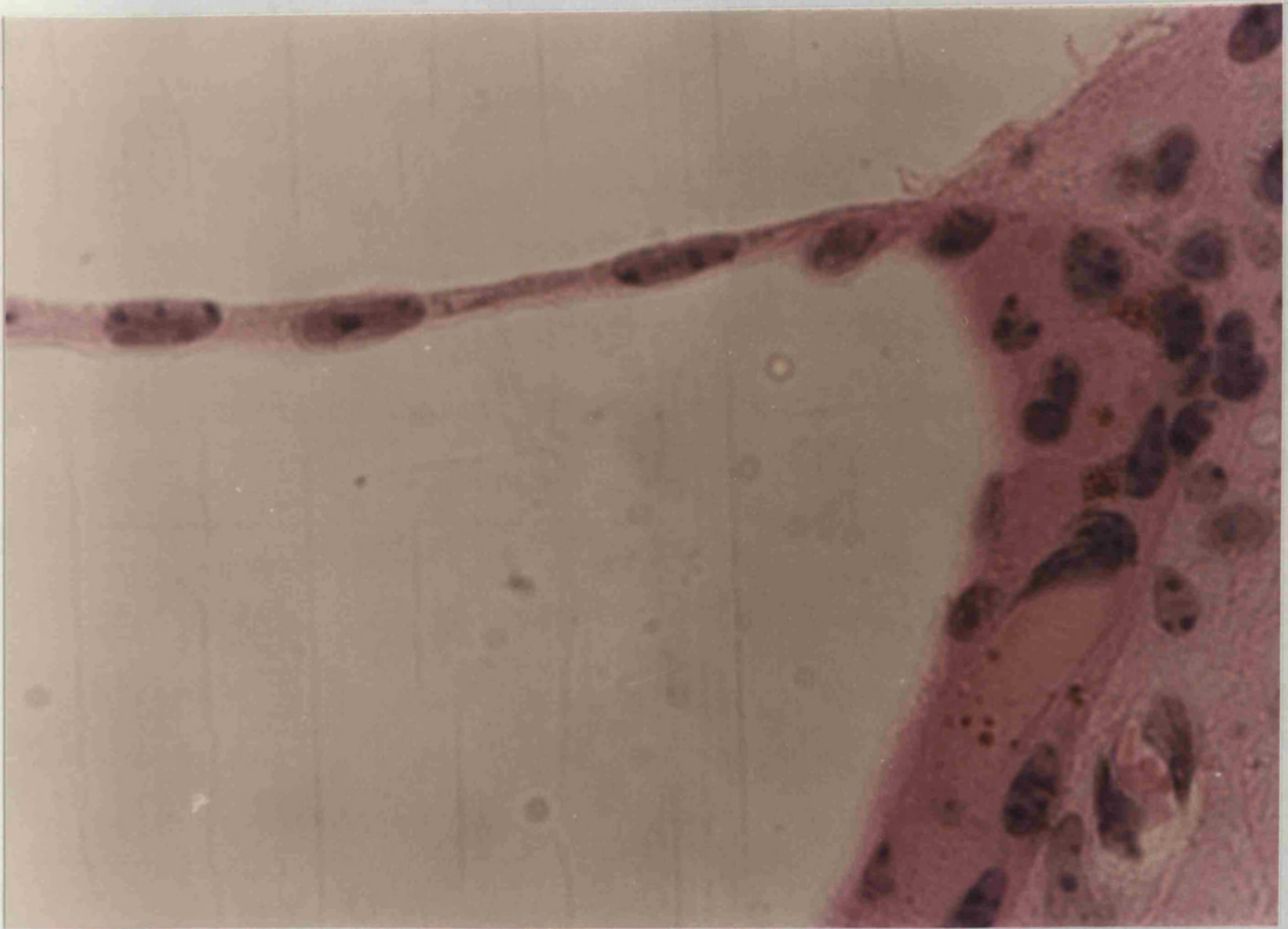


Fig. 11. Punto de unión entre la estría vascular y la membra
na de Reissner, se aprecian concentraciones de hemo
siderina en la estría vascular. Tinción con hema-
xilina eritrosina, 60 x.

EPITELIO DEL CONDUCTO COCLEAR Y DEL ORGANNO DE CORTI.

Desde la parte más interna, el limbo espiral, hasta la parte más externa, el ligamento espiral externo, nos vamos a encontrar con las siguientes células (Fig. 12):

- Células interdentales.
- Células frontera o limitantes.
- CCI.
- Células de sostén internas.
- Células del pilar interno.
- Células del pilar externo.
- CCE.
- Células de Deiters.
- Células de Claudius.
- Células de Hensen.

1) Células interdentales: están rodeadas por una membrana de unos $70 \overset{0}{\text{Å}}$ de espesor. Se puede distinguir en ellas un cuerpo, cuello y porción horizontal. La parte inferior del cuerpo contiene al núcleo (Fig. 13).

En el citoplasma del cuello y del cuerpo existe -- abundante material hialoplásmico poco electrodensso y manteniendo en su espesor escasas vesículas y túbulos.

Las mitocondrias ovales o redondeadas son escasas o pequeñas, estando muy distribuídas por todo el citoplasma.

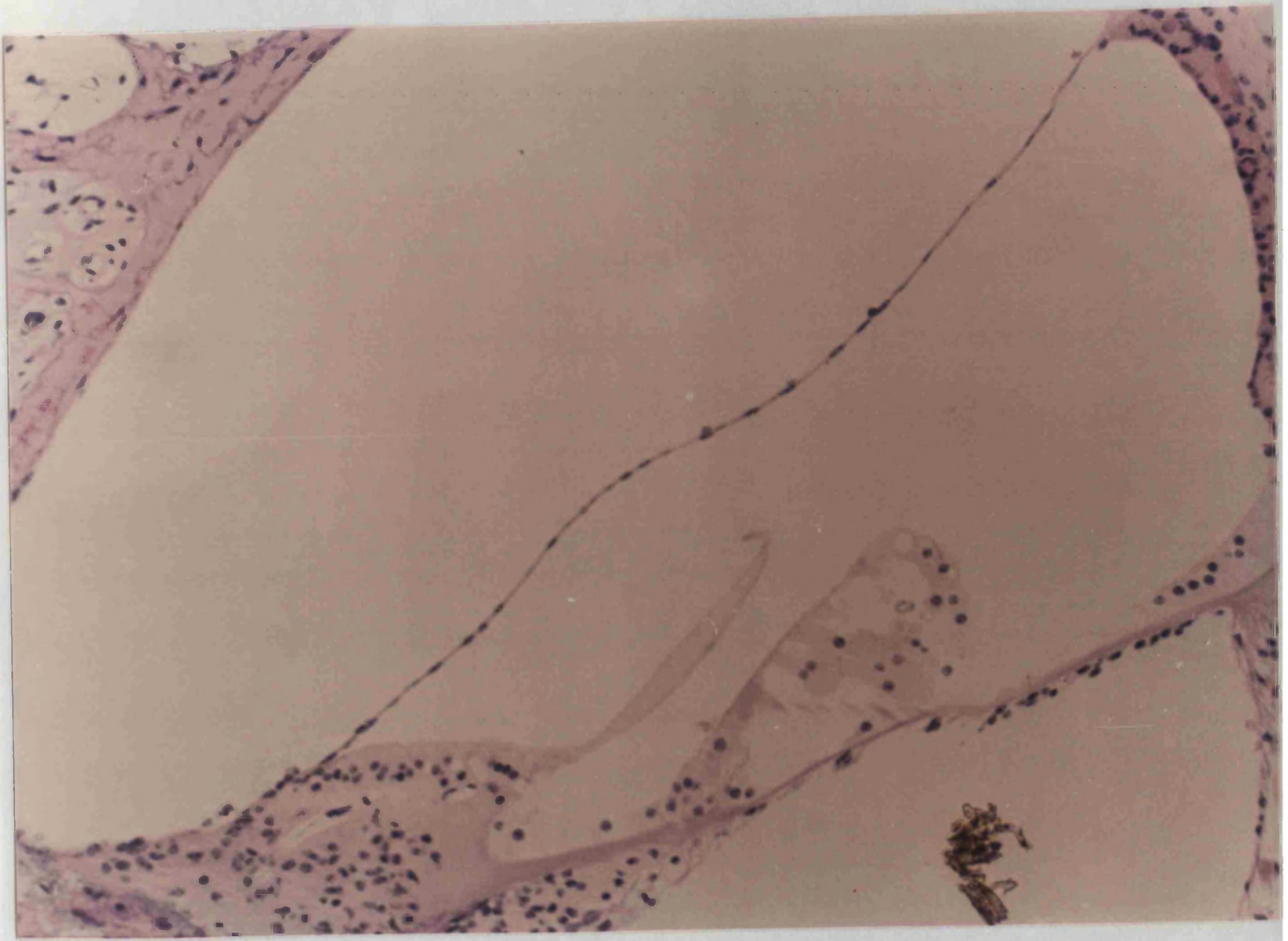


Fig. 12. Organo de Corti. Tinción de Giemsa, 20 x.



Fig. 13. Células interdientales y dientes de Huschke. Tinción de May-Grunwald-Giemsa, 60 x.

En la porción horizontal no existen mitocondrias, ni retículo endoplásmico liso, sin embargo el hialoplasma está formado por un material granuloso muy electrodenso. - Existen abundantes vesículas que parecen depender del aparato de Golgi, algunas de estas vesículas están en contacto con la membrana limitante, provocando irregularidades en ésta.

Según lo anteriormente expuesto, se puede deducir que la célula interdental genera un material que pasará al interior de la MT, la cual está unida a la porción horizontal de estas células.

En los animales jóvenes o recién nacidos, el cuerpo y el cuello de las células interdetales, contiene un abundante retículo endoplásmico, asimismo la matriz del hialoplasma es más electrodensa que en el animal adulto. - El aparato de Golgi está muy desarrollado y con abundantes vesículas.

En la porción horizontal las vesículas proceden del aparato de Golgi y se unen formando unidades más amplias, - siendo más numerosas en el animal joven.

Todas las anteriores diferencias pueden estar relacionadas con la producción de material fibrilar para la MT.

Sin embargo es desconcertante que mientras que en todas las células que existen en las estructuras de sostén del órgano de Corti el retículo endoplásmico está muy desarrollado, como ocurre en otras células (fibroblastos y osteoblastos) donde hay una gran síntesis de proteínas, en -

las células interdenciales la formación más diferenciada es el aparato de Golgi.

2) Células del surco espiral interno y células frontera o limitantes; se trata de unas células de tipo prismático que descansan sobre la superficie del surco espiral, -- su altura va aumentando conforme se acerca al órgano de -- Corti.

Su membrana limitante se compone de un material -- osmiofílico ancho, sin ningún tipo de refuerzo. En su superficie libre existen numerosas expansiones digitiformes, -- los microvilli. En su membrana limitante se pueden observar las mismas características que en la de los cilios de las -- CC. El material hialoplásmico del citoplasma es muy poco -- electrodensos con escasas vesículas o túbulos y mitocondrias.

3) Células de sostén internas; sus características son exactamente iguales a las anteriores, excepto en lo que concierne a su membrana limitante en donde existen unas zonas de mayor grosor que se corresponden con los puntos de contacto de la CCI.

4) Células de los pilares (Fig. 14 y 15); estas células que forman el tunel de Corti, son células de sostén -- que forman el soporte principal de todo el epitelio del órgano de Corti. Su base está separada de la membrana basilar sobre la que descansa, por una membrana. El cuerpo celular de la célula del pilar externo es cilíndrico, está situado entre el espacio de Nuel y el tunel de Corti y unido a la primera fila de células de Deiters, el resto de la célula

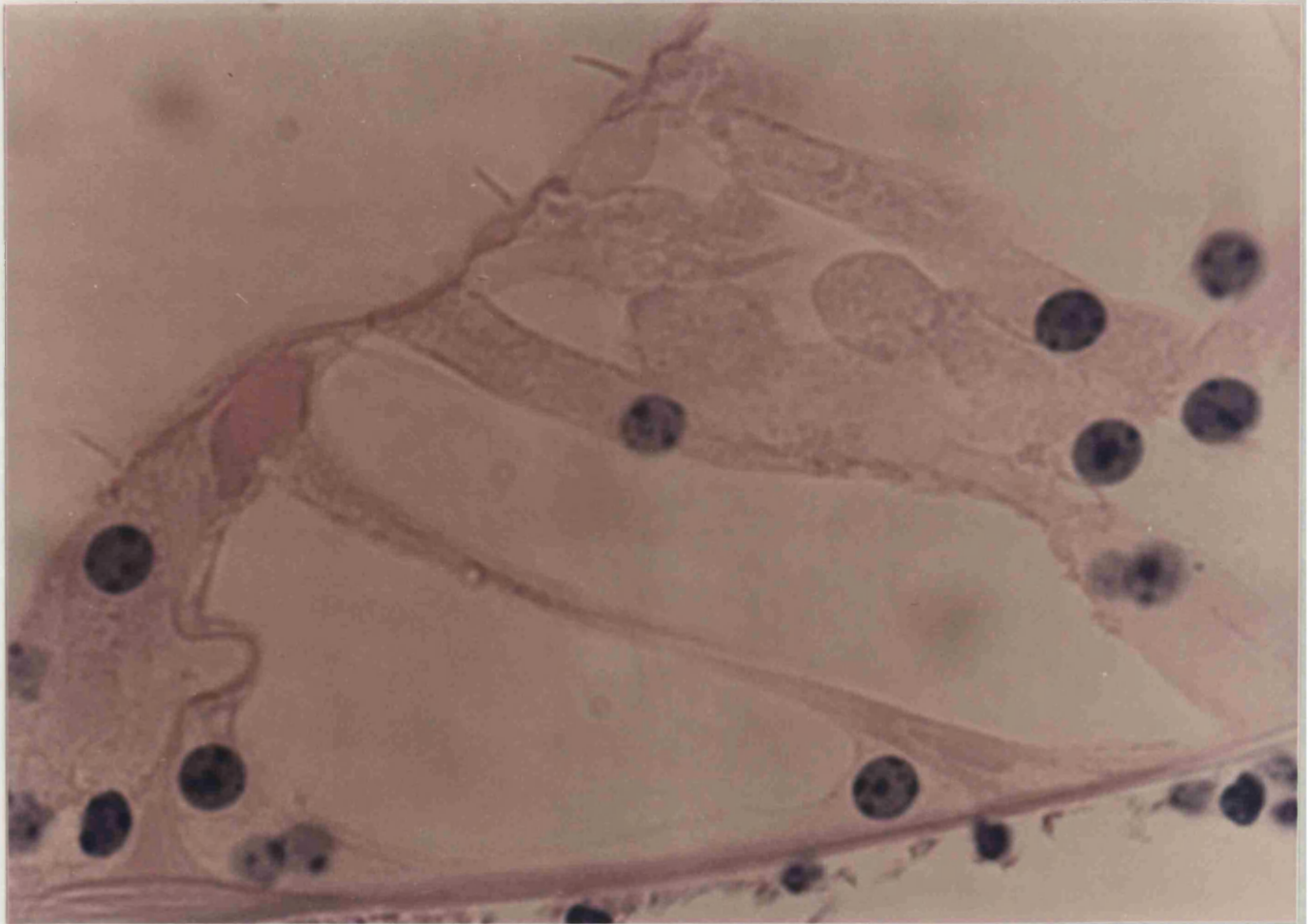


Fig. 14. CCE y CCI donde se aprecian sus cilios, también se observan las células de los pilares internas y externas, así como las células de Deiters. Tinción de hematoxilina eritrosina, 60 x.

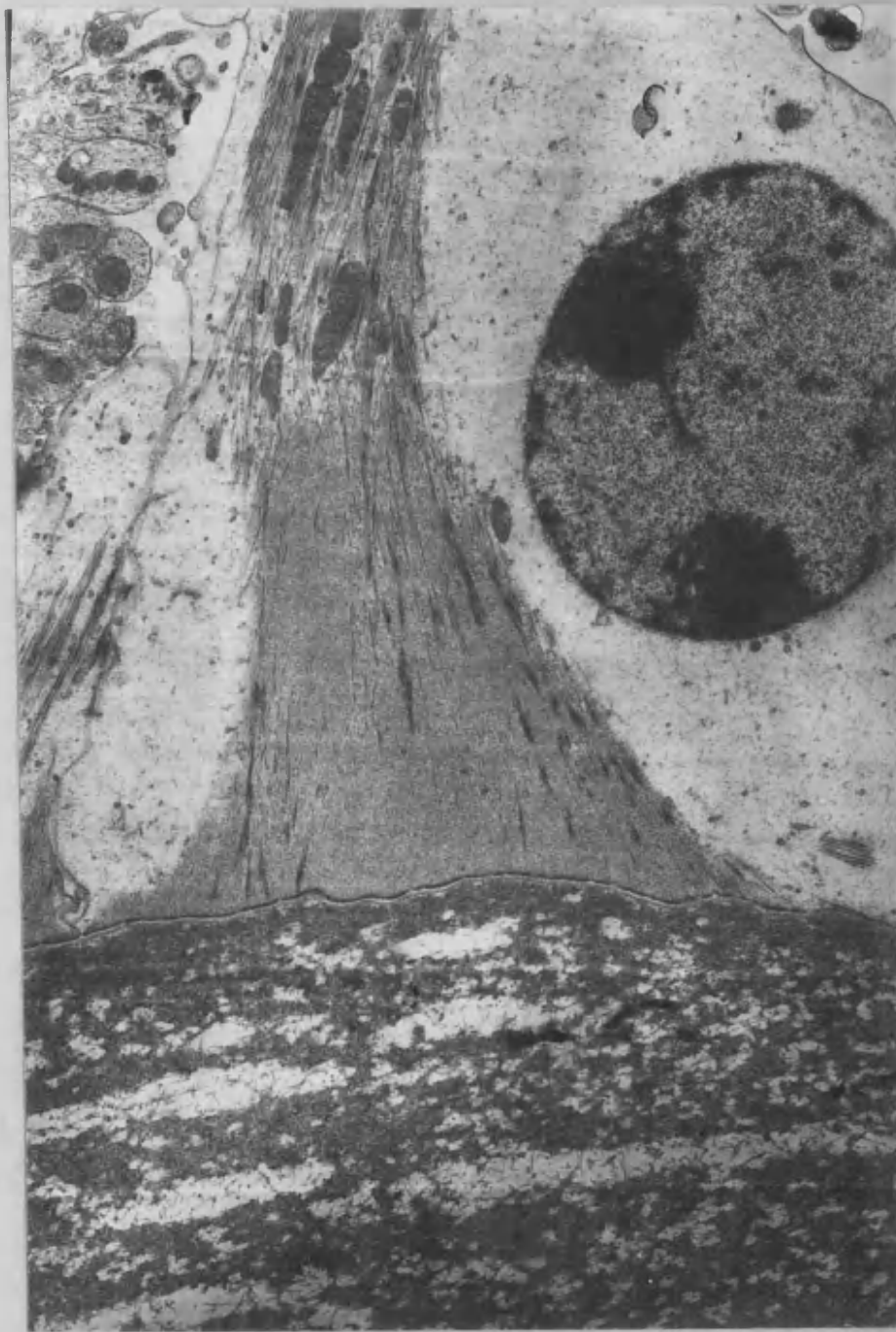


Fig. 15. Imagen de MET del citoplasma de una célula del pilar externo donde se aprecian las fibras que forman su esqueleto, entre las fibras se observan mitocondrias con sus típicas crestas. 5000x.

está rodeado por endolinfa. El cuerpo de las células de los pilares internos es prismático, en la faceta que mira al mo diolo se relaciona con las células de sostén internas y con las CCI.

El citoplasma está recorrido por un esqueleto filamentososo que se concentra en la base donde está el núcleo. - El retículo endoplásmico está poco desarrollado, existen pocas mitocondrias. Hay un engrosamiento en la parte inferior de la membrana celular y en los puntos donde termina la estructura filamentososa citoplásmica.

Los filamentos tienen las mismas longitudes que la célula ya que la recorren desde la base hasta la parte superior. En el cuerpo de las células de los pilares externos - los filamentos son rectos y están reunidos en el centro. En el cuerpo de las células de los pilares internos estos filamentos están menos compactos y no son tan rectos. En ambos tipos de células los filamentos al llegar a la base se abren y ocupan toda la extensión de ésta. En la parte superior de las células de los pilares internos los filamentos se incurvan y su concavidad está enfrentada a las células de los pilares externos. Los filamentos son un material proteico.

5) Células de Deiters; son células de sostén con una estructura similar a las células de los pilares, aunque se diferencian por su forma.

Mientras que el cuerpo tiene forma rectangular y se relaciona con las células vecinas por medio de una simple membrana, el cuello es recto y no tiene contacto alguno ya

que atraviesa el espacio entre las CCE. Mediante la falange se relacionan con dichas células y ésta es la formación que les sirve a las CCE de sostén.

En las zonas donde los filamentos, que atraviesan todo su citoplasma, comienzan y terminan la membrana limitante se engruesa considerablemente. La estructura filamentosa de la célula se compone de una banda de alrededor de 600 filamentos idénticos a los de las células de los pilares.

La falange de la célula de Deltora no es una estructura homogénea, está formada por encasco citoplasmático, su superficie está cubierta por una membrana con abundantes microvillis, contiene los filamentos que proceden del cuello, no tiene mitocondrias.

6) Células de Hensen; tienen forma de prismas hexagonales anchos y altos, su altura varía según la espira en que se encuentre, en la espira apical su superficie libre se hace prominente. En su superficie existen abundantes microvillis (Fig. 16).

7) Células de Claudius; son más pequeñas aunque tienen la misma forma de prismas hexagonales, su tamaño disminuye progresivamente conforme se acerca al ligamento espiral externo (Fig. 17).

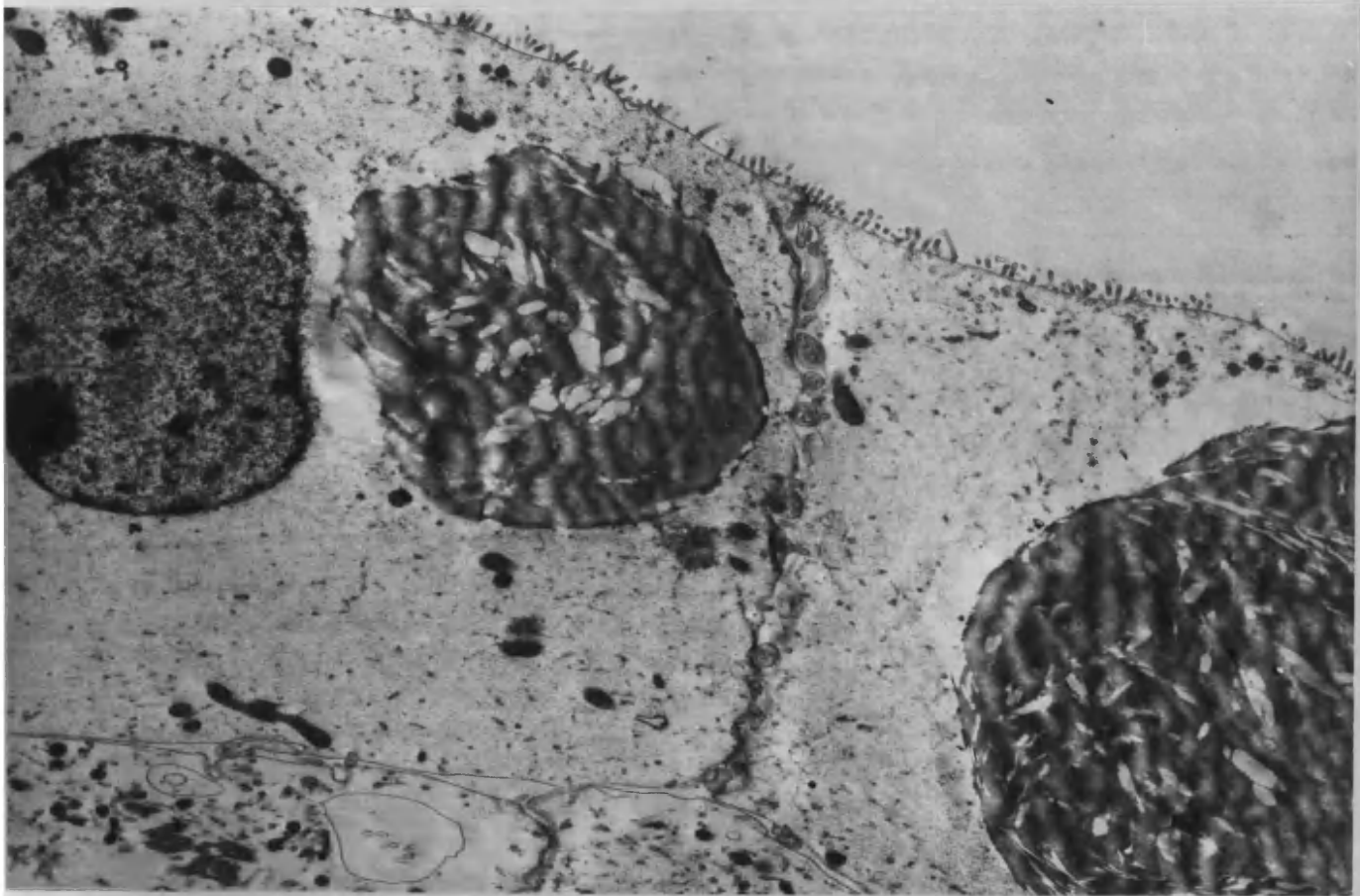


Fig. 16. Células de Hensen observadas al MET. 6000x.



Fig. 17. Células de Claudius y de transición al ligamento
espiral externo. Tinción de May-Grunwald-Giemsa,
60 x.

VII. CELULAS CILIADAS.

A) CELULAS CILIADAS EXTERNAS.

Las CCE se sitúan en tres hileras a lo largo de todo el conducto coclear, si bien este número de hileras puede variar según sea la especie estudiada, así en algunos antropoides este número aumenta hasta cuatro o cinco hileras en las espiras apicales, VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. (1964).

Las CCE tienen forma cilíndrica con una superficie libre que es hexagonal en la hilera más interna y octogonal en las dos externas, la parte inferior es redondeada, es su base o zona de apoyo y relación con las células de sostén de Deiters, así como el lugar donde se realizan las sinapsis con las fibras nerviosas. (Fig. 18).

Las CCE varían en su forma, volumen y longitud, según las diferentes especies estudiadas, e incluso en la misma especie, así en el cobaya la tercera hilera es casi dos veces más alta que la hilera más interna o primera hilera.

Las CCE de una misma hilera no están firmemente -- unidas entre sí, sino que dejan unos espacios libres, en su parte media, por los que circula la cortilinfá.

En relación al órgano de Corti las CCE están situadas formando un ángulo que mira hacia las CCI, es decir están inclinadas con respecto a la membrana basilar.

La membrana plasmática que rodea a las CCE muestra las características propias de las membranas celulares, tiene un grosor de 70 Å, con dos capas de elevada densidad para los electrones de unos 20 Å, separadas por un espacio claro de unos 30 Å, de grosor. Cuando la célula contacta --

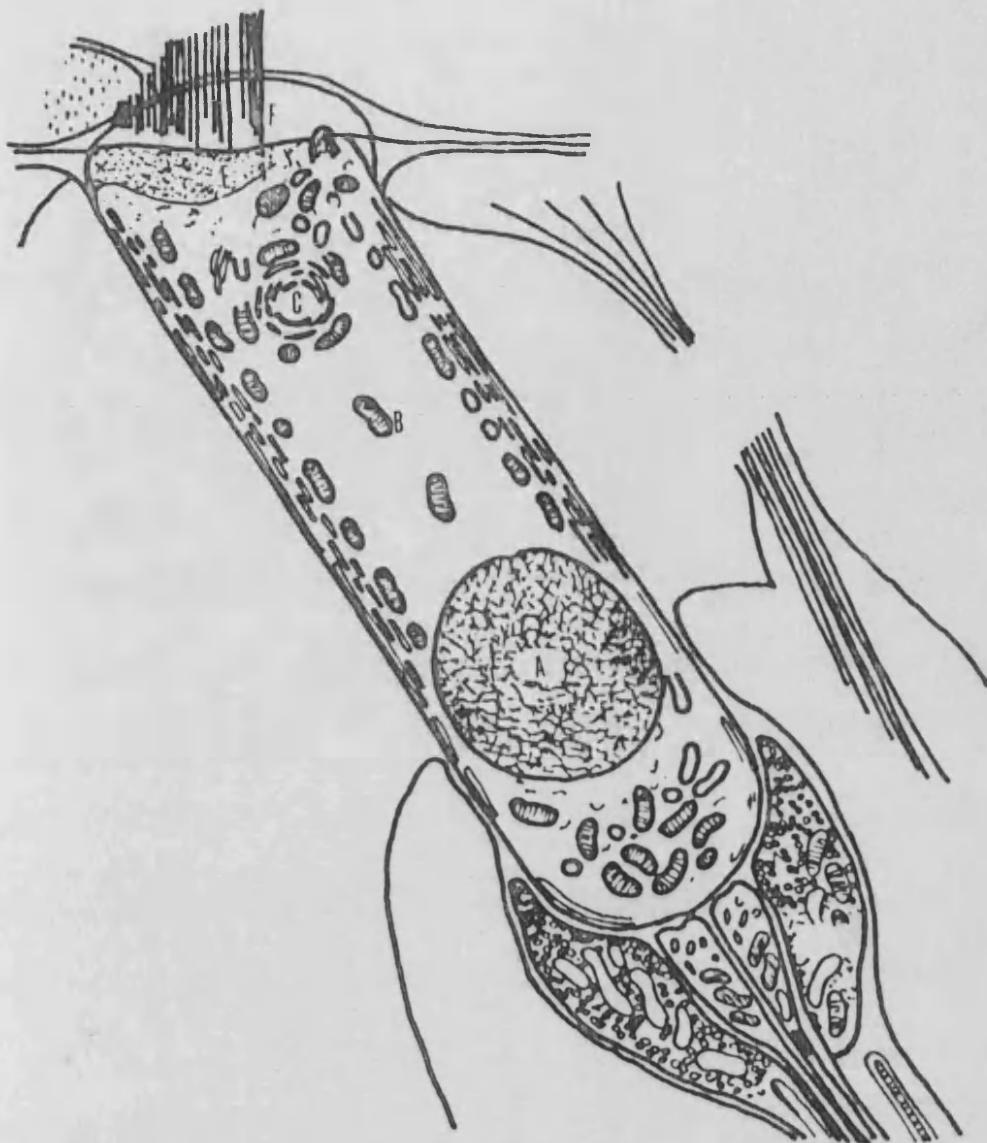


Fig. 18. Esquema de una CCE según ADES, H. y ENGSTROM, H. (1974), en donde se observan las características de estas células. A) Núcleo de la CCE. B) Mitochondrias. C) Cuerpo de Hensen que aquí ha sido situado supranuclearmente. D) Capas de túbulos paralelas a la membrana celular. E) Cutícula. -- F) Cilios.

con las células vecinas y las de sostén, la membrana se en gruesa, formándose una banda de material denso y compacto a los electrones.

En cuanto a sus características, para ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973), se trata de una membrana lisa con escasas irregularidades. Para VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. -- (1964), es una membrana muy peculiar que tiene una serie de evaginaciones en las zonas en que se relaciona con los espacios libres. En estas evaginaciones destacan unas capas granulares en contraposición con las vacuolas que existen en el resto de la membrana.

En la base de la célula, punto de contacto con la célula de sostén, la membrana aparece menos compacta, más fluida. En su parte superior la membrana es más gruesa teniendo en su parte más interna una substancia osmiofílica. En la parte media de la célula la membrana tiene adosadas a su vez una serie de membranas a las que más tarde nos re feriremos.

En el polo superior de la CCE y sobre su superficie podemos observar como hacen protusión una serie de formaciones que ocupan su parte central, son los estereocilios, comunmente denominados cilios o pelos, que en el cobaya se disponen en forma de "V" ENGSTROM, H. y WERSALL, J. (1953) y VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. (1964), y en el hombre y otros mamíferos superiores forman una "W", en ambos casos el ángulo está abierto hacia el modíolo.

Los cilios se agrupan de esta forma en diversas --

hileras, en el cobaya constituyen tres hileras o filas en la espira basal, pero su número puede aumentar hasta cuatro y cinco filas según ascendemos hacia el apex, el tamaño de estos cilios es uniforme en cada hilera y disminuye gradualmente desde la hilera más externa a la más interna. Además de estas hileras existen otras que apenas son perceptibles, pues los estereocilios casi no hacen protusión en la superficie celular, KIMURA, R.S. (1966). Su longitud varía en una misma célula desde las seis micras de la fila más externa a la micra de la más interna, ENGSTROM, H. --- (1967).

El número de cilios es mayor en la fila más externa de cada célula y también es mayor en las CCE de la espira basal que en el apex, KIMURA, R.S., SCHUKNECHT, H.F. y SANDO, I. (1964). Para VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. (1964) - el número de cilios permanecería constante a lo largo de todo el recorrido espiral del órgano de Corti.

Según ENGSTROM, H. y ADES, H. (1966), la fila más externa tendría una rigidez superior al resto de las filas de estereocilios.

El ángulo que forman los brazos de la "V" varía según la espira, así en la inferior o basal es de unos 120 grados, y en la apical es de 60 grados. El tamaño de estos cilios es menor que el de los cilios de las CCI, si comparamos la fila más externa y el nivel o altura a que se encuentra en la espira.

Los estereocilios se componen de una parte extra--

celular y otra intracelular o raiz, el diámetro de la parte intracelular es de 0,1 micra y su longitud de una micra aproximadamente, la parte extracelular tiene una longitud variable y es continuación de la intracelular. La parte extracelular está rodeada de una estructura de membrana típica que es continuación de la membrana celular, no es infrecuente encontrar en esta membrana que recubre al cilio pequeñas evaginaciones, así como extrusiones del "citoplasma" ciliar sin que esto tenga significación patológica alguna. La raiz ciliar se extiende por la cutícula e incluso por la región infracuticular, ENGSTROM, H. y WERSALL, J. (1953).

El punto de la superficie celular por donde emerge el estereocilio es más delgado y lo denominamos cuello, es la parte con menor diámetro de todo el cilio, 500 Å, IURATO, S. (1961). El diámetro de los cilios de las CCE es la mitad del de los cilios de las CCI.

La parte central de cada cilio está ocupada por un eje fibrilar denso a los electrones y que ocupa 2/3 de la longitud del cilio, este eje fibrilar está rodeado por un material menos denso y similar apariencia al de la cutícula celular; Para IURATO, S. (1961) no existe material filamentosa o tubular en el interior del cilio.

Este eje fibrilar se introduce como una raiz en la cutícula, JAHNKE, V., LUNDQUIST, P.G. y WERSALL, J. (1969). Esta raiz es también cilíndrica y su porción periférica es más densa a los electrones que el centro, ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973). El estereocilio no tiene pues en su interior estructuras tubulares.

Las fibrillas que contiene el cilio tienen un diámetro de 50 \AA y su número es de unas 350, algo menos de la mitad de las existentes en el interior de los cilios de las CCI. El diámetro es bastante regular a lo largo de su longitud, si bien este no es totalmente circular, y tiene ligeras irregularidades, ENGSTROM, H. y ENGSTROM, B.(1980).

Las fibrillas que componen el eje central al introducirse en el interior de la célula se aproximan entre sí, formando un eje denso en el centro de la raíz, así adopta una forma tubular o cilíndrica. Conforme la raíz penetra en la cutícula ésta se va adelgazando, disminuyendo progresivamente su diámetro, hasta llegar a desaparecer. En algunos casos la raíz puede atravesar toda la zona cuticular y alcanzar el citoplasma infracuticular, siendo difícil discernir si la raíz en el citoplasma está rodeada por una capa de sustancia cuticular, ENGSTROM, H. y ENGSTROM, B.-(1980).

No se ha podido establecer si existe alguna relación entre la raíz ciliar y las estructuras tubulares del citoplasma celular, ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973), y ENGSTROM, H. y ENGSTROM, B. (1980).

En la superficie de la CCE, sobre la cutícula y por fuera de la "V" que forman los cilios, en concreto por detrás del punto de unión de las ramas de la "V", encontramos una formación redondeada que recuerda vagamente a un cilio deformado pero de mayor tamaño, es un resto del kinocilio o corpúsculo basal. Este corpúsculo suele estar pre-

sente en las dos hileras más internas de las CCE, KOSAKA, N., TANAKA, T. y TAKIGUCHI, T. (1971). Este kinocilio es evidente durante el desarrollo embriológico y primeras semanas de vida en mamíferos inferiores, posteriormente se reduce su tamaño para convertirse en el adulto en una estructura vestigial.

El kinocilio se encuentra rodeado por la misma membrana plasmática celular, y en su parte central existen nueve parejas de túbulos que rodean a una pareja central de ellos, esta estructura tubular se continua en el citoplasma, pues el kinocilio no se encuentra sobre la cutícula celular, en este punto se le añade otro túbulo conformándose entonces el centriolo, estructura de la que deriva el kinocilio, sin embargo en el adulto este se reduce al corpúsculo basal que hace protusión en la membrana plasmática sobre la superficie celular. El centriolo forma un ángulo obtuso en relación con el corpúsculo basal.

Además de las estructuras anteriormente señaladas, también podemos encontrar en la superficie celular microvillus, ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973).

La parte más superficial de la CCE, de su contenido, es la cutícula, que ocupa la parte central de la superficie celular, ENGSTROM, H. (1967). Su grosor varía desde 0,7 micras a una micra, su longitud es de una micra, es homogénea y densa a los electrones, IURATO, S. (1961).

La cutícula está formada por una materia granular muy fina, ENGSTROM, H. y WERSALL, J. (1953), que refuerza-

la superficie celular y es el punto de anclaje de las raíces de los estereocilios, debido a ello se extiende en la profundidad del citoplasma, acompañando a las fibrillas de las raíces de los estereocilios junto con mitocondrias y gránulos densos.

Esta cutícula no cubre toda la superficie celular, sino solamente la parte central, es en las regiones periféricas del citoplasma superficial donde se acumulan las organelas, pues en el espesor de la cutícula no existen estructuras celulares.

En la parte inferior de la CCE, en su polo basal se encuentra el núcleo, que es redondeado u ovoide, y que tiene una estructura granular con una red de cromatina muy densa, VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. (1964), en su interior existe un nucleolo bien desarrollado que se sitúa en la periferia, ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973).

En el citoplasma de las CCE nos encontramos con las estructuras propias de todas las células del organismo pero además existen una serie de formaciones y organelas propias y exclusivas de las CC, o bien se trata de formaciones que adquieren unas características particulares (Fig. 19).

1) Mitocondrias:

Las mitocondrias que se observan en el citoplasma de las CCE tienen la morfología habitual de estas formaciones, son redondeadas o fusiformes y con tabiques internos-perpendiculares a su eje mayor. Algunas tienen unos corpúscu

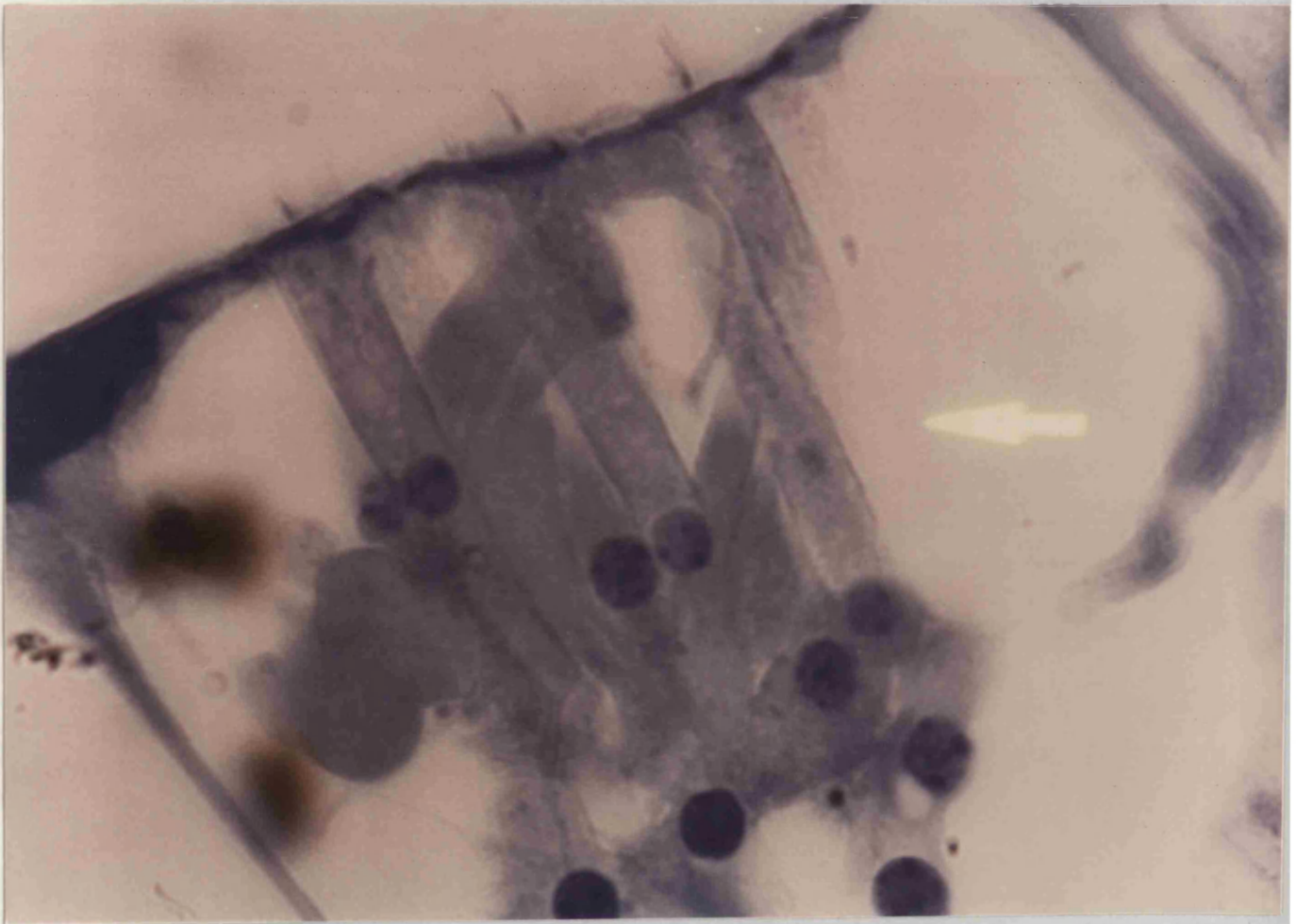


Fig. 19. CCE, tinción de May-Grunwald-Giemsa, la flecha señala a la tercera fila o fila más externa de CCE, - 60 x.

los granulares en sus extremidades. Para VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. (1964), la mayor concentración de estos elementos se sitúa en la mitad basal de la célula, infranuclearmente y cerca de las terminaciones nerviosas. En la mitad de la célula y alineadas con las estructuras de membrana paralelas a la membrana plasmática también se encuentran abundantes mitocondrias.

Para SPÖNDLIN, H.H. (1961), existe también en la región subapical un acúmulo de mitocondrias. La región supranuclear de la CCE está casi desabastecida de mitocondrias, habiendo sido sustituidas por un gran número de gránulos pequeños y redondeados, ENGSTROM, H. y ADES, H. (1966).

El tamaño de estas mitocondrias es muy variable, - así para ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973) son muy alargadas, en la región basal del cobaya, donde son muy pequeñas y se distribuyen en dos formas, bien equitativamente o bien concentrándose en la parte inferior de la célula, suelen tener 0,25 micras de diámetro y una micra de longitud, JAHNKE V.; LUNDQUIST, P.G. y WERSALL, J. (1969).

La distribución de las mitocondrias viene a ser -- pues la misma que la de los cuerpos de Hensen y que el aparato de Golgi, manteniendo una estrecha relación con estas estructuras, ENGSTROM, H. (1969).

En resumen las mitocondrias se acumulan en la región infracuticular, en la porción media paralelamente a las estructuras de membrana y en la región basal cerca de las terminaciones nerviosas, ENGSTROM, H. (1966).

2) Aparato de Golgi:

Se encuentra situado el aparato de Golgi en la parte superior de la CCE, infracuticularmente y tiene un desarrollo importante de todos sus componentes, vesículas, vacuolas y membranas, IURATO, S. (1961) y JAHNKE, V., LUNDQUIST, P.G. y WERSALL, J. (1969).

3) Retículo endoplásmico:

En la CCE lo encontramos en sus dos formas, liso y rugoso, es decir con y sin ribosomas, si bien existe un predominio de este último. Se sitúa en la región infracuticular en forma de un delicado retículo entre las mitocondrias, filamentos y gránulos. En la región perinuclear existe un escaso y poco desarrollado retículo endoplásmico, IURATO, S. (1966) y ENGSTROM, H. y ADES, H. (1966).

4) Granos de glucógeno:

En la región supranuclear existe un gran número de pequeños granos con elevada densidad para los electrones y que contienen glucógeno, estos granos también se encuentran distribuidos por todo el citoplasma de forma muy amplia. - ENGSTRON, H. (1966) y ENGSTROM, H. y ADES, H. (1966).

5) Otras organelas:

Los lisosomas o mejor dicho las estructuras denominadas "lisosomas like", se encuentran en la región infracuticular, JAHNKE, V., LUNDQUIST, P.G. y WERSALL, J. (1969).

6) Sistema laminar de membranas:

En la parte interna de la membrana plasmática celular se pueden observar en diferentes partes de la célula y sobre todo en la zona media, un sistema de vesículas aplanadas en varias capas cuyo eje mayor es paralelo a la membrana celular, se trataría de un sistema de membranas continuas, IURATO, S. (1961).

Para ENGSTROM, H. (1966), existe un sistema de membranas laminares en varias capas que se sitúan por la parte interna de la membrana celular, alrededor de casi toda la célula, relacionándose directamente con los cuerpos de Hensen y con el aparato de Golgi, con los que se comunicaría.

El grosor y el número de las capas que forman estas membranas varía, así en la parte supranuclear y de la cutícula, consta de una sola capa, poco después en la parte media de la célula adquiere varias capas, siendo este el punto de mayor grosor, posteriormente y según descendemos, el número de capas vuelve a disminuir en la región nuclear, para quedar una sola capa en la región inferior donde tienen lugar las sinapsis.

Aunque el sistema de membranas recubre a toda la membrana plasmática en su parte interna, éstas se interrumpen de forma irregular, dándole un aspecto fenestrado.

Según ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973), se trataría de un sistema de túbulos que recorren la membrana plasmática por su parte interna desde la región cuticular hasta el punto donde están las sinapsis, serían pues unos microtúbu

los similares a los de los cilios olfatorios.

7) Cuerpos de Hensen:

Se trata de unas estructuras semejantes a las membranas anteriormente descritas, pero que aquí se sitúan con céntricamente y que se denominan cuerpos lamelares o de -- Hensen, pueden aparecer aisladamente o en grupos, pero ca- si siempre en la región subcuticular y la supranuclear. Con sisten en capas concéntricas de membranas, ricas en mito-- condrias, con una porción central marcada y muy densa a -- los electrones, que también denominamos línea osmiofílica. Parecen tener una cierta relación con las membranas antes-- descritas, ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973).

Para los primeros investigadores que los estudia-- ron con microscopia óptica, se trataba de un aparato de -- Golgi, KAWANA (1922) o de acúmulos de mitocondrias, IWASO, (1925), según KIMURA, R.S., SCHUKNECHT, H. F. y SANDO, I.-- (1964) y mediante el MET se trata de retículo endoplásmico.

Están formados por membranas concéntricas, con un espesor de 50 \AA y un diámetro de 100 \AA , VINNIKOV, Y.A. y -- TITOVA, L.K. (1964). Estarían pues formadas por lípidos y proteínas. Según ENGSTROM, H. (1966), se trata de un sistema de membranas discontinuo, con poros amplios, granos de glucógeno y ribosomas adosados.

Actualmente se piensa que derivan del aparato de -- Golgi, formando las vacuolas de éste una esfera, y estando rodeado de membranas, esta estructura esférica puede variar y tener un eje que predomine sobre el otro.

Se encuentran en las regiones supranucleares del citoplasma, en relación con el sistema de membranas laminares, siendo en este punto casi imposibles de diferenciar.- A veces se le puede observar en la parte central de la célula e incluso en la parte basal más inferior, ENGSTROM, H. (1967).

Las CCE mantienen su cohesión mediante sus uniones superiores y por la relación tan estrecha que tienen con la célula de sostén, la cual adopta una forma especial en su parte superior y emite una prolongación, falange, para poder recibir mejor a la CC.

Entre la CCE y la célula de Deiters, existen unos complejos de unión, como son las "tight-junctions" de 0,1 a 0,3 micromilímetros, de profundidad que cierra el espacio endolinfático, estas "tight-junctions" en unas cuatro a siete fusiones en punta de las membranas celulares enfrentadas. Debajo de estas "tight-junctions" existen las zonas de adhesión de 0,2 a 0,3 micromilímetros de profundidad. Las membranas plasmáticas en el punto donde están las zonas de adhesión, están separadas por un espacio extracelular de 20 nanomilímetros de anchura.

Una capa de material denso fibrilar se adosa a la parte interna de las membranas en los puntos donde tienen lugar las "tight-junctions" y las zonas de adhesión. A veces se observan desmosomas pero no están bien desarrollados.

Estas uniones además de contribuir a mantener la solidez de la relación entre la CCE y la célula de sostén,

parecen tener un importante papel en la impermeabilización del intersticio existente entre ambas células, HIROKAWA, N. (1980).

Para VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. (1964), existe entre la CCE y la célula de Deiters, un espacio intercelular que está bañado por el líquido que recorre el tunel de Corti, la cortilinfá.

También se observa en la célula de Deiters y a lo largo de la parte del citoplasma próximo a la membrana de la CCE, abundantes fibrillas que forman un marco que refuerza el punto de unión entre ambas células, ENGSTROM, H. y WERSALL, J. (1953).

En cuanto a la composición de la CCE cabe mencionar el glucógeno que forma parte de la célula en un porcentaje importante, este glucógeno se concentra en forma de gránulos en la parte superior. Existe un predominio del glucógeno en la hilera más externa de las CCE, MORALES, J. (1975). THALMANN, R. y THALMANN, I. (1970), describen que en las CCE se encuentra cerca del 50% de toda la actividad de lactodeshidrogenasa en el órgano de Corti, sin embargo con respecto a la malicodeshidrogenasa, la actividad es uniforme con el resto del órgano de Corte.

B) CELULAS CILIADAS INTERNAS.

Las CCI forman junto con las CCE los elementos sen soriales del órgano de Corti, si bien son menos numerosas -- que estas últimas. Al observar su morfología se aprecia -- que es muy similar, a veces igual a la de las CCE, aunque -- existen rasgos diferenciales importantes que serán los que destacaremos.

Se ha descrito la CCI como si tuviera forma de pera o de botijo, con una amplia base. Su eje forma con el de la membrana basilar, un ángulo de 140 grados, estando abierto hacia el modíolo. Están formando una sola hilera entre las falanges de las células de sostén internas y las células -- más externas del surco espiral interno, y también cerca -- del apex de las células de los pilares internos, VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. (1964). Para IURATO, S. (1961), su for ma recuerda la de un prisma hexagonal con caras centradas -- y regulares, su parte inferior es un prisma irregular y la superior tiene forma de elipse con su eje mayor paralelo al conducto coclear (Fig. 20).

La membrana que rodea a la CCI tiene las mismas ca racterísticas que la de la CCE, si bien aquí consiste en -- una ligera capa osmiofílica, ligeramente engrosada en la -- región apical debido a la existencia de una capa de vesícu -- las que se le unen. La impresión general es que estas vesí -- culas se forman por evaginación de la propia membrana celu -- lar.

En la superficie ligeramente convexa de la CCI en -- contramos, al igual que en la CCE, unos estereocilios en n^ú -- mero de 30 a 60 y dispuestos en tres o cuatro hileras que

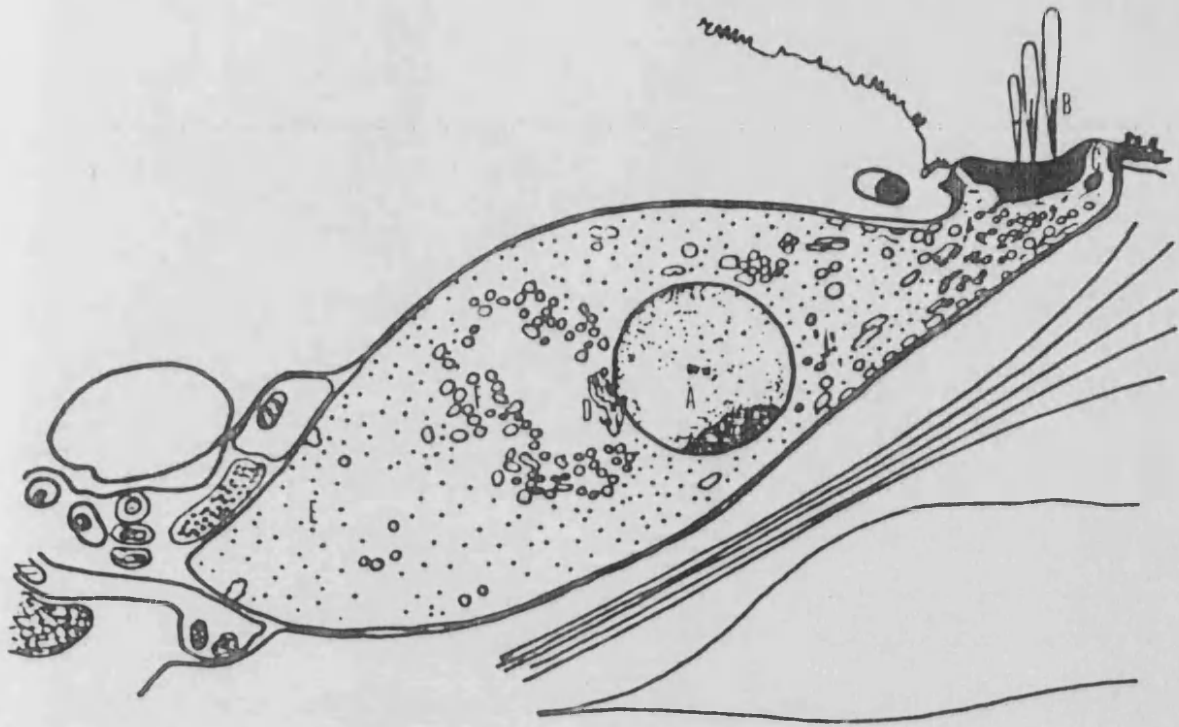


Fig. 20. Esquema de una CCI según ADES, H. y ENGSTROM, H. (1974), en donde se observan: A) Nucleo. B) Cilios. C) Cutícula. D) Aparato de Golgi. E) Retículo endoplásmico liso. F) Vesículas.

siguen el eje del conducto coclear. Este número de hileras varía según el nivel o espira coclear y según cual sea la especie animal estudiada, VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. -- (1964). Si bien tanto las hileras como el número de cilios son menores que en las CCE, al igual que la superficie celular, ENGSTROM, H. y ENGSTROM, B. (1980). Sin embargo los cilios son de mayor tamaño, en longitud y diámetro, que los de las CCE, sobre todo en las cercanías del apex coclear - donde encontramos cilios con una longitud de 15 micras y - un diámetro de 0,5 a 0,6 micras. No es raro encontrar cilios gigantes que aparecen por fusión de dos o tres cilios a lo largo de su crecimiento, y no por simple adherencia, - ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973).

De todas las filas que existen solo las dos más externas son apreciables, ya que el resto apenas sobresale - de la superficie, en estas dos filas y sobre todo en la -- más externa el tamaño de los cilios es homogéneo, mientras que en el resto de las filas es variable, KOSAKA, N., TANAKA, T. y TAKIGUCHI, T. (1971). La hilera más externa está recubierta por una delgada capa de material fibrilar que - conecta a los cilios entre sí, como si se tratara de una - red.

La estructura interna de estos estereocilios es la misma que los de las CCE, están rodeados por una doble membrana plasmática que es una continuidad de la membrana celular, en su interior existen unas fibrillas de 50 Å de -- diámetro en un número mayor del doble que las que existen - en los cilios de las CCE, estas fibrillas se van reuniendo

en la parte central conforme descienden y atraviesan la cutícula llegando hasta el citoplasma celular, siempre rodeados de material cuticular, ENGSTROM, H. y ENGSTROM, B. --- (1980).

En la CCI también podemos encontrar al corpúsculo-basal, vestigio del kinocilio, en la parte más externa de la superficie de cada célula, si bien aquí es menos aparente y en la mayoría de las células apenas perceptible. Al igual que en las CCE el corpúsculo basal no se encuentra sobre la cutícula.

Inmediatamente por debajo de la superficie celular nos encontramos con la cutícula que es muy densa a los electrones y compuesta por un material homogéneo y granular, - está atravesada por las raíces de los estereocilios. Hay - que destacar en la cutícula de la CCI la presencia de pequeñas vacuolas semejantes a las que contiene el retículo-endoplásmico, VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. (1964).

El núcleo de la CCI se encuentra en la parte central del citoplasma e incluso un poco más alto, es de mayor tamaño y con la cromatina más laxa que el de la CCE, - habitualmente tiene uno o dos nucleolos, ENGSTROM, H. (1967).

En el citoplasma de la CCI encontramos significativas diferencias con el de la CCE, no solo en cuanto a la - distribución de las diferentes organelas, sino además en - cuanto a la presencia de alguna de ellas:

1) Mitocondrias:

Las mitocondrias de las CCI tiene una forma redondeada u oval, tienden a formar grupos junto a las membranas del retículo endoplásmico en la parte apical, también forman grupos muy amplios debajo del núcleo. En su interior - además de las crestas tienen granos osmiofílicos, ENGSTROM H., ADES, H. y ANDERSSON, A. (1966).

2) Aparato de Golgi:

Existe un aparato de Golgi bien desarrollado entre la porción supranuclear y la infracuticular, con abundantes vacuolas y vesículas, y entre ellas partículas osmiofílicas y granos densos. El aparato de Golgi y sus vacuolas, rodean al núcleo en su parte superior, en este punto tiene una estrecha relación con las mitocondrias, VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. (1964), y ENGSTROM, H. (1967).

3) Retículo endoplásmico:

Según ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973), existe un retículo endoplásmico bien desarrollado y abundante, sobre todo en la región supranuclear. El retículo endoplásmico-rugoso es escaso. Para SPOEDLIN, H. (1961), existe un abundante retículo endoplásmico rugoso en la región infranuclear que no está presente en la CCE.

4) Otras organelas:

En la zona infracuticular encontramos corpúsculos-osmiofílicos y "lisosomas like", pero en menor cantidad -- que en la CCE.

Hay que destacar la falta de cuerpos de Hensen a pe

ser de que existe un aparato de Golgi bien desarrollado.

También llama la atención el escaso desarrollo de las llamadas membranas lineales que son paralelas a la membrana de la CCI y que están presentes en una sola capa o línea que recorre la distancia entre la superficie y el polo inferior, ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973).

De lo anteriormente expuesto, se deduce que la CCI es una estructura menos especializada que la CCE, SPOENDLIN H. (1961).

La CCI está unida a la célula de sostén por las mismas estructuras que unen a las CCE y las células de Deiters, pero aquí su unión solo tiene lugar en la parte o polo superior, VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. (1964), y IURATO, S. (1961), así entre ambas estructuras existirían cavidades bañadas por la cortilinfá. Por el contrario para SPOENDLIN, H. (1961), la CCI está completamente aislada tanto de la cortilinfá, como de la endolinfá, debido a la firme unión que existe entre las células.

En cuanto a su composición las CCI carecen de glucógeno, a diferencia de las CCE, MORALES, J. (1975). Su concentración en lactodeshidrogenasa es menor que la de las CCE, la de malicodeshidrogenasa es equivalente en ambos tipos celulares. THALMANN, R. y THALMANN, I. (1970).

VIII. MEMBRANA TECTORIA.

La superficie del órgano de Corti está recubierta por una formación de aspecto gelatinoso y filamentososo, la MT, que se origina en el limbo espiral y se extiende por encima de las células sensoriales hasta que llega a la altura de las células de Hansen, BREDBERG, G., ADES, H. y ENGSTROM, H. (1972). El borde libre de la MT tiene unas prolongaciones digitiformes que le llevan a conformar una red junto con las células de Hansen y los procesos falán- gicos de la fila más externa de las células de Deiters, -- LINDEMAN, H. et al. (1971).

En un principio se pensó que la MT era un coágulo de endolinfa, HAMMERSCHLAG, V. (1898). Para HELD, H. (1902) era un acúmulo de fibras y láminas de aspecto cuticular. -- Según HARDESTY, I. (1908) se trataba de fibras inmersas en una matriz gelatinosa, mientras que para PRENTISS, C.W. -- (1912), tenía una estructura reticular.

SHAMBOUG, G. (1907) creía que la tectoria estaba formada por láminas agrupadas y colocadas una encima de la otra, comportándose como un resonador. AYERS, H. (1891) y BORGHEAN, E. (1952), mantenían la opinión, apoyada por -- MYGIND, S.H. (1952), de que la MT estaba formada por los -- cilios de las células sensoriales.

El polimorfismo aparente de la MT puede ser atribuido a su especial constitución anatómica, lo que le permite aparecer con distinto aspecto según las influencias físicas y químicas del medio que la rodea, BORGHEAN, E. -- (1952).

La morfogénesis de la MT no está aclarada del todo. Se piensa que la membrana es segregada por las células epiteliales de la coclea y por las células interdenciales, posiblemente también está formada por agregaciones de substancias segregadas en la endolinfa por las células de sostén, LIM, D.J. (1972).

Para THORN, L. et al. (1978), en el desarrollo de la MT es importante la relación que existe entre los micróvilli de las células de sostén del órgano de Corti y las fibrillas de la MT.

Según LIM, D.J. (1972), es posible que las diferentes regiones de la tectoria tengan su origen y sean mantenidas por diferentes células de la coclea, lo que proporcionaría una característica propia a cada una de estas zonas.

A) INSERCIONES DE LA MEMBRANA TECTORIA.

El origen de la MT se sitúa en el labio vestibular del limbo del conducto coclear, extendiéndose sobre la lámina espiral ósea de este labio. En esta zona se une a la parte superior de las células que componen el labio vestibular, las células interdentes, HILDING, A.C. (1952).

Esta región límbica o de origen de la MT puede dividirse en tres subzonas que difieren entre sí. La más interna se sitúa sobre el margen interno del limbo, cerca de la lámina ósea y consta de una serie de anclajes que fijan la membrana.

La siguiente subzona es la más delgada y sutil, -- comprende la región vertical del anclaje anteriormente descrito. Supone 1/3 de la región límbica.

La tercera subzona es la más gruesa y firme, abarcando 2/3 de la región límbica. Es aquí donde las fibras oblicuas de la porción superior de la tectoria pasan en dirección tangencial formando con el eje longitudinal de la membrana un ángulo de 30 a 50 grados hacia fuera y hacia el apex, posteriormente se insertan en el margen externo de la membrana. Estas fibras deben tener su origen en la primera subzona de las tres descritas.

Toda la región límbica de la tectoria, se une a las células subyacentes o células interdentes, por medio de un material adherente o cemento. Al examinar la superficie de la tectoria que se adhiere a las células interdentes o células en T de Huschke se observan unas indentaciones y unos microgranulos de origen desconocido según LIM, D.J. y LANE, W.C. (1969).

Además de estas inserciones en el limbo también parecen existir otras en el surco espiral interno en su pared interna, si bien pudiera tratarse de un artefacto de las preparaciones, HILDING, A.C. (1952).

La inserción de la MT en el órgano de Corti no es simple, sino más bien compleja y consta al menos de cuatro planos según HILDING, A.C. (1952):

1) Capa o membrana continua que se extiende hacia dentro desde las células de Hensen, por encima del órgano de Corti.

2) Capa o red que se origina en el margen externo de la MT y que llega al órgano de Corti, a las células de Deiters y de Hensen. Esta capa parece estar compuesta de un material homogéneo.

3) Procesos digitiformes de una substancia adherente, unidos a la superficie inferior de la MT y que pasan por encima del órgano de Corti.

4) Unión entre la banda de Hensen y las células frontera, que están por dentro de las CCI en el surco espiral.

Según HILDING, A.C. (1952), la superficie inferior de la tectoria desde el surco espiral interno hasta la fila más externa de las CCE está en contacto con el órgano de Corti a través de los procesos digitiformes.

La MT puede ser dividida en tres zonas diferentes, la límbica o interna, una zona media y una zona marginal o externa, LIM, D.J. (1972).

La parte más interna está anclada, como ya hemos - descrito, en la superficie de las células interdentales. - La zona más externa o marginal está formada por la red marginal y la zona marginal, conformando entre ambas el com-plejo marginal. Este complejo se continúa con la red que - cubre la parte superior de la tectoria y en la parte infe-rior con la capa basal homogénea o membrana de Hardesty.

La red marginal aparece fragmentada en los anima-- les adultos, mientras que en los animales jóvenes, está -- formada por unos procesos digitiformes regularmente situa- dos. En algunos animales como el cobaya esta red está escasamente desarrollada. En todas las especies esta red está- unida a las falanges de la fila más externa de las células de Deiters y a veces a las células de Hansen, cuando así - ocurre quedan amplio espacios entre los procesos digitiformes que permiten el paso de la endolinfa.

La zona media de la tectoria es la parte principal de la membrana, constituyendo su cuerpo. Tiene una estruc- tura diferente en la superficie superior y en la inferior. La superficie superior está cubierta por una red que se extiende desde la zona marginal hasta la zona límbica.

Las formaciones que hacen prominencia en la super- ficie inferior de la MT son la banda de Hansen y la capa - basal homogénea o membrana de Hardesty, estos dos últimas- estructuras son similares a la banda de Hansen. El término membrana de Hardesty es utilizado cuando la capa basal ho- mogénea se aprecia claramente en el margen interno de la -

membrana, sino se denomina capa basal homogénea. Esta formación es más prominente en la espira basal que en la apical. La membrana de Hardesty se continúa con la banda marginal. En el cobaya la capa basal homogénea apenas es perceptible debido a su escaso desarrollo, LIM, D.J. (1972).

La banda de Hensen recorre toda la longitud de la MT, a veces emite unas trabeculas que pueden llegar a tener contacto con las CCI, LIM, D.J. (1972). Esta banda tiene una estructura amorfa con unas cinco micras de anchura, esto contrasta con la superficie fibrilar de la MT, LIM, D.J. y LANE, W.C. (1969). Se localiza medialmente a la capa basal homogénea a la que está unida mediante unas bandas estrechas e irregulares, KAWABATA, I. y NOMURA, Y. (1981). Es en este punto donde la MT tiene mayor grosor, siendo la más delgada la que está encima de las CCE. LAWRENCE, M. y BURGIO, P. A. (1980).

Resumiendo lo anteriormente expuesto, la composición de la tectoria descrita por HELD, H. (1926), consta de las siguientes capas (Fig. 21):

- 1) Red de la superficie superior.
- 2) Capa intermedia.
- 3) Capa fibrosa principal.
- 4) Capa fibrosa inferior.
- 5) Capa basal homogénea.

Mientras que LIM, D.J. (1972) solamente diferencia tres capas (Fig. 22):

- 1) Red de la superficie superior.

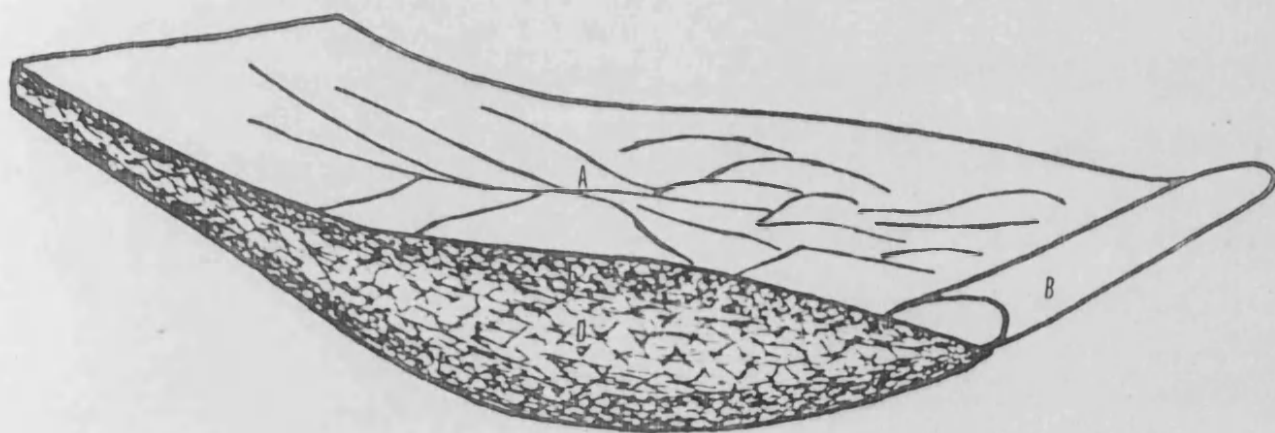


Fig. 21. Esquema de la composición de la MT según HELD, H. (1926), en donde se observa: A) Red de superficie superior. B) Región marginal. C) Capa intermedia. D) Capa fibrosa principal. E) Capa fibrosa inferior.

2) Cuerpo fibroso.

3) Capa basal homogénea o membrana de Hardesty.

La unión de la MT en su margen al órgano de Corti, es distinta para las diferentes espiras. En la parte apical esta unión tiene lugar mediante extensiones largas e irregulares y contacta no solo con las falanges de las células de Deiters más externas, sino también con las células de Hensen. A medida que descendemos hacia la espira basal, esta unión se hace más regular, tal vez debido a que la posición de las células de Deiters es más uniforme. LINDEMAN, H. et al. (1971), esta unión es más firme en los fetos y animales jóvenes, lo que es relacionado con la maduración funcional de la coclea.

Según HILDING, A.C. (1952), estas prolongaciones - digitiformes de la red marginal de la MT pueden llegar hasta las células de Claudius. Sin embargo para KOSAKA, N. TANAKA, T. y TAKIGUCHI, T. (1971) no existen evidencias de esta unión del margen externo de la tectoria a las células de Hensen ni de Claudius.

BORGHESAN, E. (1952) señala que en algunas células de Hensen, las más próximas a las células sensoriales, les falta el protoplasma e incluso el núcleo, estando las células rotas e incompletas. En estos casos según dicho autor, no es difícil hallar estos restos que faltan en el lugar - correspondiente de la MT.

La MT se une mediante la banda de Hensen a las células de sostén internas o a las células frontera o a ambas,

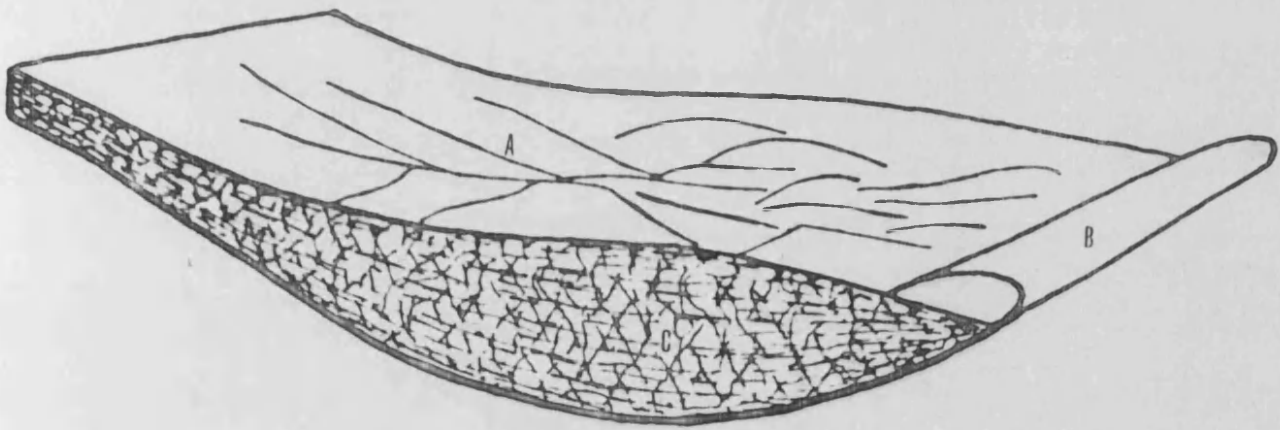


Fig. 22. Esquema de la MT según LIM, D.J. (1972) en donde según este autor se observa: A) Red de superficie superior. B) Región marginal. C) Cuerpo fibroso.

LIM, D.J. (1972). LIM, D.J. y LANE, W.C. (1969), describen en la banda de Hensen unas protusiones cada 50 a 300 micras que serían los puntos por donde se realiza esta unión.

B) MORFOLOGIA DE LA MEMBRANA TECTORIA.

El cuerpo de la MT asume diversos aspectos, a veces aparece como una lámina homogénea, en otras ocasiones tiene apariencia foliar o filamentosa, siempre sin especificidad para tinción alguna (Fig. 23).

Cuando está recién extraída del vivo aparece como una formación anhistá y transparente, pero al estudiarla con el microscopio de contraste de fases se observa que se trata de una formación con una estructura elaborada que -- permite distinguir varias zonas.

La porción límbica es estrecha y tiene un aspecto turbio, con pequeños gránulos, sin textura particular.

La parte principal, más amplia, es la parte más importante de la MT y está situada sobre las CC. En fresco no tiene estructura fibrosa, observándose solamente unas fibrillas debilmente refringentes, de un calibre difícil de evaluar, que se extienden desde la región turbia del limbo -- hasta el margen externo, IURATO, S. (1960). Para HILDING, A.C. (1952) la MT está compuesta por numerosas fibrillas oblicuas que van desde el limbo hasta el apex, con un ángulo de 20 a 30 grados en relación con la tangente.

La tercera porción, excéntrica, se situa sobre las células de Hensen y de Claudius. En esta zona hay cuatro o cinco fibras más gruesas que forman un ángulo recto con las fibras radiales y que se anastomosan entre ellas. Estas fibras recorren la superficie superior de la MT y se corresponden con la estructura denominada por HARDESTY, I. (1908) como membrana tectoria accesoria y por KOLMER, W. (1927) como "randfasernetz".

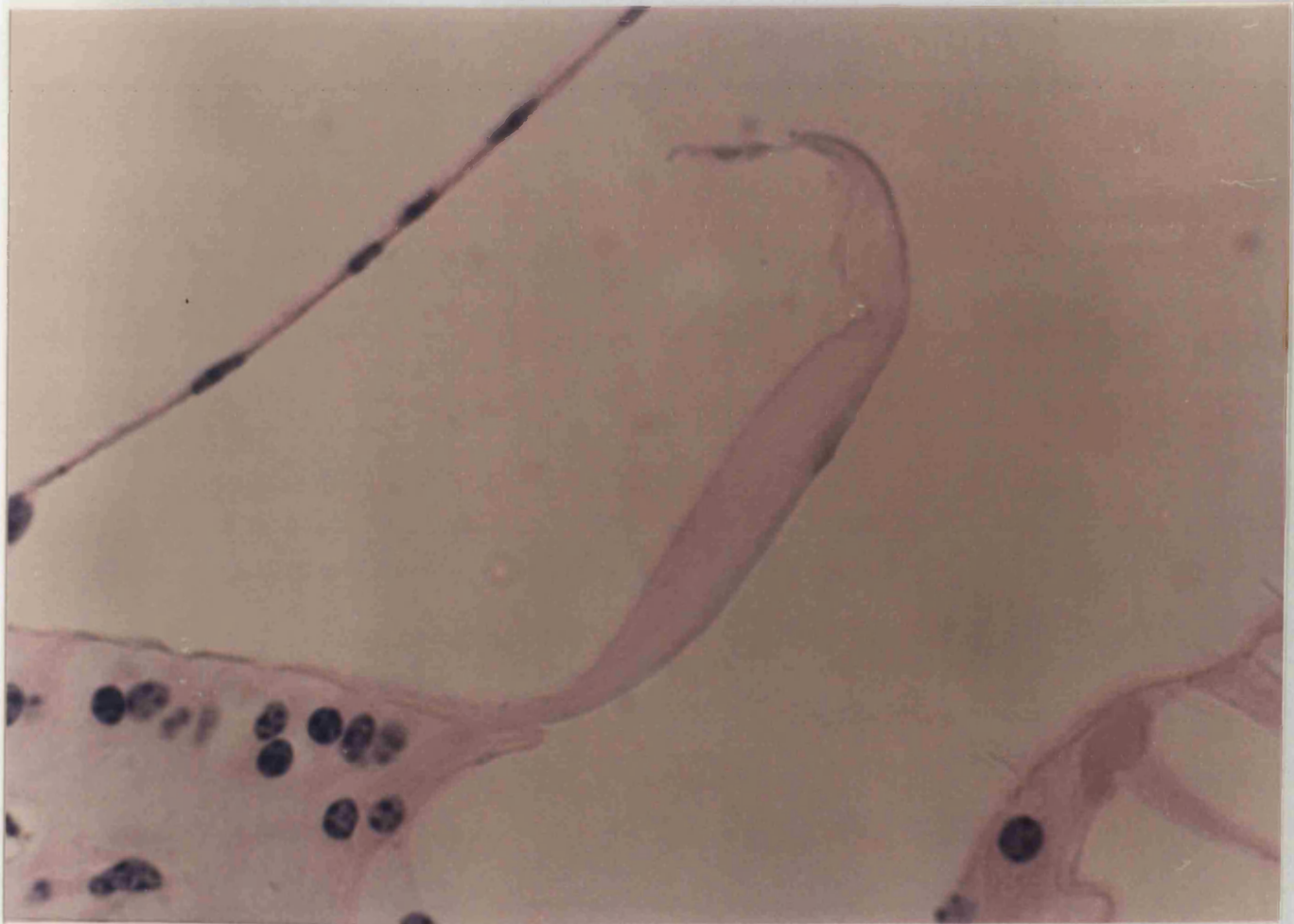


Fig. 23. MT y su inserción el labio espiral del limbo,
tinción de Giemsa, 40 x.

Al MET, SPOENDLIN, H. (1957) describe a la MT formada por frágiles fibrillas interconexas, de irregular grosor, mientras que la parte límbica estaría formada por un material de apariencia homogénea. ENGSTROM, H. y WERSALL, J. (1958) mediante secciones ultrafinas observan unos filamentos con un diámetro de 40 Å.

Según IURATO, S. (1960), la MT está formada por unos delgados filamentos, submicroscópicos, anclados y de longitud indeterminada, con un diámetro de unos 95 Å.

En la sección transversa los filamentos aparecen como ligeramente granulares, lo que podría interpretarse como si de estructuras periódicas se tratase, pero no hay detalles que permitan confirmar esta suposición. Estos filamentos se dirigen radialmente desde la zona de inserción en el limbo hasta la parte más periférica del cuerpo de la tectoria.

La conjunción de los filamentos es muy variable, sin embargo tienen una organización clara. En la capa más superficial estas fibras se agrupan pero sin llegar a formar una cápsula. Los espacios interfilamentosos están ocupados por una substancia granular de naturaleza desconocida. Las fibras que recorren el límite más externo de la MT están formadas por grupos de filamentos muy próximo entre sí.

El hecho de que al observar la MT mediante contraste de fases aparezcan unas fibras irregulares, es debido a que realmente se trata de grupos de filamentos situados en diferentes planos y la imagen será pues la suma de varios-

de ellos, IURATO, S. (1960).

Según KRONESTER-FREI, A. (1978) los diámetros y características de los filamentos de la tectoria, varían según las diferentes especies, pero se mantienen constantes en cada una de ellas. En el ratón como señala este autor, se distinguen dos tipos de protofibrillas o filamentos, el tipo A que son rectas y están aisladas, de 110 \AA de diámetro y con una estructura periódica. Las del tipo B tienen forma curva con uniones entre ellas y miden de 150 a 300 \AA de diámetro.

Este autor estudia las protofibrillas según las diferentes zonas de la MT, así las de la zona límbica se dirigen hacia el apex formando un ángulo de 64 grados con el eje longitudinal de la coclea y en el cuerpo o zona media forman un ángulo de 52 grados. En la red que cubre la superficie inferior en el extremo marginal se dirigen oblicuamente hacia la base de la coclea, cuando están cerca del margen externo se hacen paralelas a él. En la superficie inferior se dirigen hacia el apex formando un ángulo de 29 grados entre la zona marginal y la banda de Hensen y de 16 -- grados entre el limbo y la banda de Hensen.

La distribución de las protofibrillas según KRONESTER-FREI, A. (1978), se realiza de esta forma (Fig. 24):

1) Zona límbica:

La tectoria está unida al limbo mediante una sustancia gelatiniforme, estableciéndose la unión con las células interdentes mediante protofibrillas estrechamente-

agrupadas. Esta capa tiene tres micromilímetros de espesor y cubre totalmente la superficie del limbo. Axialmente la tectoria tiene solamente esta capa, pero cerca de las proximidades de la membrana de Reissner desaparece. Axialmente la MT tiene unos grupos fibrilares que se pierden lateralmente. Existen unas inclusiones que aparentemente son fragmentos celulares y que podrían ser identificados como membranas celulares. El significado de la invaginación del epitelio límbico en esta región es desconocido. También se pueden observar microgránulos de 0,5 a 5 micromilímetros de la superficie.

Radialmente la MT aumenta su grosor progresivamente. En dirección timpano-ventibular las protofibrillas tipo B se separan cada vez más y se entrelazan con las de tipo A radiales. Esta asociación de protofibrillas se abre a la endolinfa sin que se pueda reconocer su límite en la superficie de la membrana.

2) Zona media o cuerpo:

La superficie de esta zona media sobre el órgano de Corti tiene un espesor de un micromilímetro, está formada por protofibrillas de tipo A paralelas y estrechamente agrupadas, sin tener una orientación radial estricta. Desde la parte inferior de esta zona los grupos de protofibrillas ascienden oblicuamente hasta la superficie de la MT con una distancia entre cada grupo de unos 2,5 micromilímetros.

En la mitad superior de la MT las fibrillas se dirigen paralelamente a la membrana basilar y terminan en el

limbo. Estos grupos de protofibrillas aparecen como fibras en el microscopio óptico. El sistema de protofibrillas de esta zona, también está abierto a la endolinfa.

La superficie de la MT en esta región está cubierta por una red que lateralmente se fusiona con la zona marginal.

La banda de Hensen tiene una apariencia ultraestructural de protofibrillas de tipo B muy densas.

3) Zona marginal:

La red que cubre la superficie superior en esta zona está formada por protofibrillas tipo B curvas, formando grupos irregulares, las protofibrillas están más hidratadas en la parte central de la MT. Existen regiones electrodensas donde se aglutinan grupos de protofibrillas con espacios libres entre ellos.

La región de transición entre la capa basal fibrilar y el límite de la zona marginal es claramente visible. La fuerte orientación paralela de las protofibrillas tipo A se pierde y los grupos de protofibrillas tipo B que existen entre las anteriores se hacen más grandes. En el extremo de la zona marginal las protofibrillas de tipo B estrechamente agrupadas predominan claramente. Lo mismo ocurre en las prolongaciones de la red marginal.

Existe una gran afinidad ultraestructural entre el extremo de la zona marginal, la red marginal con sus prolongaciones y la banda de Hensen.

La ultraestructura de la parte más lateral de la red que cubre la MT, muestra claramente como las protofibrillas tipo B, que en el interior de la MT están ampliamente separadas, son idénticas a las protofibrillas irregulares del extremo de la zona marginal.

La MT no tiene siempre la misma configuración en los diferentes animales, así en las aves, en el gallo en concreto, se trata de una estructura gruesa y sólida. Está fuertemente unida a los microvilli de las células de sostén y a las extremidades de los cilios de las CC, TANAKA, K. y SMITH, C. (1975). Tiene forma triangular y apariencia reticular siendo más gruesa en su unión con el limbo. Las uniones periféricas más firmes las mantiene la tectoria, con las células columnares (células de transición similares a las de Hensen).

La MT no es en las aves una estructura maciza, como ocurre en los mamíferos, sino que está perforada por cavidades de variable tamaño de forma tubular que alcanzan la superficie superior de la MT, TANAKA, K. y SMITH, C. (1975).

Entre los microvilli de las células de sostén en las aves, existe una verdadera membrana de estructura fibrilar que los une entre sí y a la MT, denominados por DOHLMAN, G. F. (1971) como velos. La cara inferior de la MT tiene pues forma de panal según TANAKA, K. y SMITH, C. (1975).

Los espacios tubulares que existe en la MT de las aves serían verdaderos canales labrados por los procesos digestivos de los lisosomas procedentes de las células que

se corresponden con las interdentales en el limbo de los -
mamíferos, DOHLMAN, G.F. (1971).

En los lagartos, en el "calotes versicolor" concretamente, la MT consta de dos formaciones; una lámina fibrosa y una fina red de delgados filamentos que la unen a los cilios, asimismo existe una membrana que une a los cilios-entre sí, BAGGER-SJOBACK, D. y WERSALL, J. (1973).

<u>PROTOFIBRILLAS</u>	<u>TIPO A</u>	<u>TIPO B</u>	
CARBOHIDRATOS:	ACIDO GLICOSAMINO GLICANICO.	GLICOPROTEINAS	
HIDRATACION:		Elevada	Escasa
Zona límbica:	+	++	
Zona Media:		+	
Capa basal	++		
Banda de Hensen			++
Red superior			++
Zona Marginal:		+	++
Procesos digitiformes.			++

Fig. 24. Distribución de las protofibrillas en la MT. Según
KRONESTER-FREI, A. (1979).

C) COMPOSICION DE LA MEMBRANA TECTORIA.

Según TACHIBANA, M., SAITO, H. y MACHINO, M. (1973) la MT se compone en los mamíferos de carbohidratos secretados al espacio extracelular de la escala media por las células epiteliales del conducto coclear. Para IGARASHI, I. y ALFORD, B.R., la MT tiene sacaridos altamente polimerizados.

Para NAFTALIN, L., HARRISON, M.S. y STEPHENES, A. (1964), y para LAWRENCE, M. y BURGIO, P.A. (1980), el agua entra a formar parte de la MT en un 90%.

El estudio histoquímico de la MT muestra que se compone principalmente de tres tipos de proteínas de elevado peso molecular, STEEL, K. (1980). Asimismo se tiñe muy positivamente con el PAS lo que indica un elevado contenido en glicoproteínas que serían sintetizadas por las células interdentes, según ROSS, M.D. (1974). Estas glicoproteínas en estrecho contacto con el fluido formarían una estructura coloidal o semisólida. La cantidad de líquido varía según el desarrollo funcional de la coclea, la conclusión pues es que se trata de un gel.

El contenido de la MT en nitrógeno es del 15% entre los aminoácidos que entran a formar parte de su composición los más importantes son la leucina, isoleucina, ácido glutámico, lisina, glicina, alanina y ácido aspártico. Las proteínas de la MT no tienen relación con el colágeno, la ausencia de oxiprolina y su escaso contenido en glicina así lo demuestran, IURATO, S. (1960), y NAFTALIN, L., HARRISON, M. S. y STEPHENS, A. (1964).

La MT está compuesta por filamentos no colagenásicos

de mucopolisacaridos ácidos, TACHIBANA, M., SAITO, H. y -- MACHINO, M. (1973). También entran en su composición mucopolisacaridos neutros y mucoproteínas IGARASHI, I. y ALFORD B.R. (1969). Al no encontrarse el ácido hexúrico en su composición se demuestra que no se trata de mucopolisacaridos conectivos, IURATO, S. (1960).

El potasio se encuentra en una concentración de -- 0,4 meq/l y el calcio de 0,24 meq/l, NAFTALIN, L., HARRISON M.S. y STEPHENS, A. (1964).

Según KRONESTER-FREI, A. (1979) las protofibrillas están fuertemente influenciadas por los cambios iónicos del medio. Así el sodio provoca una intensa retracción irreversible en las protofibrillas, por eso las protofibrillas de la zona marginal están tan escasamente hidratadas. Si disminuye el calcio las protofibrillas se hinchan.

Estos fenómenos son debidos a que las protofibrillas son macromoléculas que contienen aniones e iones y por tanto dependen de su punto isoeléctrico, éste se encuentra a un pH de 4,3, los cationes tienen una unión más fuerte que los aniones y esto les permite admitir tanta agua.

La composición iónica demuestra que existen amplios espacios porosos por donde se admitirían aniones y cationes. Los iones son diferentes en la superficie superior y en la inferior de la MT y asimismo difieren en sus concentraciones de la endolinfa y de la perilinfa, ROSS, M.D. (1974).

Según lo anteriormente descrito la MT no actuaría

como una simple esponja sino que sería una verdadera barra
ra electrolítica que retardaría la difusión de iones de un
lado al otro. ROSS, M.D. (1974).

IX. RELACION ENTRE LAS CELULAS CILIADAS Y LA
MEMBRANA TECTORIA.

Los primeros investigadores que estudiaron la MT, consideraban en su mayoría que esta formación estaba unida a las células epiteliales del órgano de Corti, pero diferían en cuanto al grado de unión. Si bien otros autores creían que la MT estaba libre y flotaba sobre el órgano de Corti, aunque sin embargo WALDEYER, W. (1873), ya precisaba que ocasionalmente encontraba que los cilios de las CCE penetraban en la MT.

Para BOETTCHER, A. (1859), la tectoria no flotaba libremente en el conducto coclear sino que estaba unida al órgano de Corti, tal y como ocurría en el estado fetal. Según PRENTISS, C.W. (1913) esta unión era total. HILDING, A. C. (1952) observó uniones de las CCE, a la MT, pero no de las CCI.

Al utilizar el MEB se observaron uniones de la MT con varias zonas del órgano de Corti. Así KOSAKA, N., TANAKA, T. y TAKIGUCHI, T. (1971), describen las huellas dejadas por las extremidades de los cilios de las CCE en la superficie inferior de la tectoria. LIM, D.J. (1972) encuentra también conexiones entre la tectoria y las CCE. TANAKA, K. et al. (1973), observan además uniones de los cilios y la MT, tanto de las CCE como de las CCI. Según LIM, D.J. (1972) el margen externo de la MT está unido solamente a la fila más externa de las CCE.

Mediante el MET, KIMURA, R.S. (1966) dice haber observado uniones de las CCE a la tectoria, y IURATO, S. (1967), observa uniones de las terminaciones libres de los cilios de las CCI a la tectoria.

Según BORGHESEAN, E. (1971), la diferente relación entre las extremidades de los cilios de las células sensoriales y la MT se produce por la retracción de la membrana durante el proceso de la fijación, así si esta se realiza lentamente se produce un progresivo despegamiento de la tectoria que comienza por la primera fila de las CCE y prosigue con las CCI para terminar despegándose de las dos filas más externas de CCE. Según este autor no existiría solamente un mero contacto sino que los cilios penetrarían en la tectoria formando parte de ella.

Según LINDEMAN, H. et al. (1971), existe un acuerdo general sobre el hecho de que durante la vida fetal la MT tiene una estrecha relación con el epitelio subyacente. KIKUCHI, K. y HILDING, A.C. (1965), admiten que durante la maduración de la coclea se produce una alteración de las relaciones de la tectoria con el órgano de Corti, tanto sobre las células sensoriales como sobre las de sostén.

A) RELACION ENTRE LAS CELULAS CILIADAS
EXTERNAS Y LA MEMBRANA TECTORIA.

En todas las especies animales estudiadas es evidente que los cilios de las CCE dejan huellas en la capa basal homogénea de la cara inferior de la MT. Si bien solamente - los cilios más altos consiguen contactar con la MT. Esta adherencia es tan fuerte que algunos cilios se rompen, durante la preparación, y quedan unidos a la superficie inferior de la tectoria, LIM, D.J. (1972).

Cerca del margen interno de la membrana de Hardesty se observan las huellas de los cilios de la primera fila de CCE, la más interna. Es interesante señalar que las huellas de la última hilera de CCE, la más externa, están en la banda marginal, a veces en la red marginal, LIM, D.J. (1972).

Las huellas de la última hilera de CCE dibujan una "W" inclinada hacia el apex, esta inclinación es interpretada de la situación de los cilios in vivo, LIM, D.J. (1972).

Para SAITO, G., KOGAKU, K. y KIYOSHI, H. (1979) las huellas de los cilios de las CCE dibujan una "V" en la MT - en las espiras apicales y una "W" en las espiras basal y media.

Según HOSHINO, T. (1977) las extremidades de los cilios dibujan en la espira basal una "W" que está formada - por tres filas de impresiones que se corresponden con las tres filas más altas de los cilios, estas huellas son de tamaño irregular.

Los brazos de la "W" consisten en una sola línea de huellas o impresiones, pero en la base se pueden observar - dos o tres filas de impresiones.

El margen lateral de la MT suele estar perforado en la espira apical, en algunas zonas el borde de esta perforación estaba desgarrado, observándose en este punto las huellas de la última fila de CCE. En la espira apical las huellas son más evidentes que en la espira basal, HOSHINO, T. (1977).

KAWABATA, I. y NOMURA, Y. (1981), estudian los ángulos de estas huellas mediante MEB, observando que la superficie de la capa basal homogénea era rugosa, existiendo en ella unas prominencias, en estas zonas elevadas se donde se encuentran las mencionadas huellas, que aparecen en forma de arco o semiluna, siendo en su borde interno donde se encontraban las impresiones de las extremidades de los cilios.

Estas huellas son visibles incluso tres meses después de la destrucción del órgano de Corti por trauma acústico o por ototóxicos, por lo que no pueden ser utilizadas como el único criterio para determinar la relación entre los cilios y la MT, ya que aunque pueda parecer que son consecuencia directa de la acción ciliar podría tratarse de una forma de organización tisular independiente y esto mismo podría ocurrir con las elevaciones de la superficie inferior de la MT, ya que si existen diferentes tipos de protofibrillas según las zonas de la MT, también podría ocurrir lo mismo con la substancia basal, KAWABATA, I. y NOMURA, Y. (1981).

Para ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973), las extremidades de los cilios de las CCE son redondeadas y están en es-

trecho contacto con la superficie inferior de la MT pero sin relacionarse directamente con las protofibrillas, sin embargo KIMURA, R.S. (1965) opinaba que la tectoria emite unas digitaciones hacia las terminaciones libres de estos cilios y así se unen a las fibrillas de la tectoria.

Entre los cilios se observa una substancia granular similar a la que existe en la cara inferior de la MT, por lo que esta substancia servirá de cohesión entre los cilios, que de esta forma actuarían como un todo funcional, esto también permite suponer un contacto indirecto entre los cilios más pequeños y la MT.

Según ENGSTROM, H. y WERSALL, J. (1953), esta substancia granular es electrodensa, formando un anillo reticular alrededor de los cilios, con forma de cuña .

Para algunos autores las uniones entre los cilios y la MT son a veces tan fuertes que las células son luxadas y quedan unidas a la superficie inferior de la MT, en otras ocasiones las puntas de los cilios o los cilios enteros se rompen y permanecen unidos a la MT, o estos traccionan tanto que deforman la superficie inferior de la MT, KIMURA, R.S. (1965) y ROSS, M.D. (1974). Otras veces se rompe la tectoria y queda adherida a los cilios, BORGHEGAN, E (1952).

B) RELACION ENTRE LAS CELULAS CILIADAS
INTERNAS Y LA MEMBRANA TECTORIA.

Medialmente a las impresiones de las CCE existen - otras huellas muy evidentes y paralelas a las anteriores, - que pueden ser observadas en las espiras basales de los es pecímenes cualquiera que sea su grado de madurez, aunque - no se ven en las espiras apicales del gato ni del cobaya, - KIMURA, R.S. (1965) y LINDEMAN, H. et al. (1971).

Cada una de estas impresiones tiene forma de arco con una pequeña muesca en el centro. Se diferencia de las huellas de las CCE en que aquí no se pueden individualizar las impresiones de cada cilio. Estas huellas se pueden observar sobre regiones ligeramente elevadas con proyecciones fibrosas en cada extremo del arco, HOSHINO, T. (1976).

Para HOSHINO, T. (1976), la distancia que ocupan - seis de estas huellas se corresponde con la distancia que ocupan las huellas de seis CCE, coincidiendo esta distancia con la que existe en el órgano de Corti entre las CCE y las CCI. La distancia entre tres CCE y la distancia radial entre los cilios de las CCE y las CCI fué medida , también lo fue ron las huellas respectivas en la superficie inferior de la MT comprobándose que los resultados se correspondían. La an chura de la superficie de la CCI se corresponde con la del arco que deja en la superficie inferior de la tectoria, -- HOSHINO, T. (1976).

LIM, D.J. (1972) precisa que si bien no se ven huellas evidentes en los cilios de las CCI en la MT si que exis ten unas formaciones arqueadas en los puntos que las corres pondería estar a las impresiones de las CCI. La forma de es tas impresiones sugiere que ha existido en algún momento -

un contacto laxo. Puede que las extremidades de los cilios no estén fijadas a la MT como lo hacen los cilios de las CCE, sino que éstos se deslizarían por la superficie inferior de la MT. Parece que existe una sustancia gelatinosa que rodea a estos cilios y que al mismo tiempo los uniría a la MT.

HAWKINS, J.E. y JOHNSON, L.G. (1981), describen estas huellas pero en el borde externo o distal de la banda de Hensen, este hecho sin embargo no es observado por KAWABATA, I. y NOMURA, Y. (1981).

HOSHINO, T. (1976) no encuentra estas huellas en el cobaya, pero en su lugar describe unas estrías fibrosas sin una distribución regular y de gran longitud, existiendo en el extremo de estas estrías unas formaciones globulares o bien unas bandas que sugieren unas uniones muy laxas de los cilios mediante fibras cortas, también las localiza en la banda de Hensen pero en su parte central.

LIM, D.J. y LANE, W.C. (1969), describen estas huallas cada 50 a 300 micromilímetros en la banda de Hensen.

Esta unión más laxa de los cilios de las CCI con la MT en relación con la unión más fuerte de los cilios de las CCE puede estar en relación con la función de cada una de ellas, ya que las CCE estarían sometidas a unas vibraciones más fuertes, KIMURA, R.S. (1965). Sin embargo algunos autores destacan unos signos inequívocos de la relación entre estos cilios y la tectoria, ya que observan a estos hiperextendidos e incluso a veces se rompen y quedan adheridos a -

a la superficie inferior de la MT, BORGHEGAN, E. (1952), -
SOUNDJIN, E.D. (1971) y ROSS, M.D. (1972).

En nuestra opinión estos resultados indican que la unión de la tectoria con el órgano de Corti se realiza de dos formas: una mediante la unión de los cilios y otra mediante la red marginal que se une a las células de Deiters y de Hensen.

En cuanto a la relación de las extremidades de los cilios con la superficie inferior de la MT, parece ser evidente que existe una relación clara y fuerte de los cilios de las CCE con la MT en la parte comprendida entre la banda de Hensen y la red marginal. Por otro lado la relación de los cilios de las CCI con la MT ya es más difícil de evaluar, sin embargo de todo lo que ha sido expuesto anteriormente se puede intuir que si bien existe una relación, ésta es muy labil e incluso puede ser de tipo indirecto a través de fibras que relacionan las extremidades de estos cilios con la MT. Esta relación asimismo parece ser que va ría a lo largo de la maduración de la coclea, siendo más directa en los animales durante la vida fetal y el período de maduración que en los animales adultos.

X. FISILOGIA DEL OIDO INTERNO:
MECANISMO DE TRANSDUCCION Y TRANSFORMACION DE
LA ENERGIA MECANICA EN ELECTRICA.

Las ondas sonoras a través del conducto auditivo externo y la membrana timpánica, alcanzan la cadena osicular (martillo, yunque y estribo) y mediante la platina del estribo provocan el desplazamiento de las formaciones membranosas y líquidas del conducto coclear, se trata en todo momento de un fenómeno mecánico.

Los movimientos del estribo dan lugar en la perilinfa a una serie de trenes de ondas de presión. Estas se van a propagar por la perilinfa de la rampa vestibular y de la timpánica tras atravesar el helicotrema, alcanzando así la ventana redonda, cuya membrana es la única zona de expansión de la perilinfa en la coclea. Debido al pequeño volumen de la coclea el aumento de presión es prácticamente simultáneo en toda su extensión.

Estas ondas van a poner en movimiento el conducto coclear y en concreto la membrana basilar, que debido a -- sus propiedades mecánicas presenta movimientos de amplitud distintos según la zona afecta. La frecuencia de la sonora será la que determine la región de la membrana basilar que tendrá una mayor amplitud de movimientos.

La membrana basilar es más estrecha y al mismo tiempo más rígida en la espira basal que en el apex, al tener - allí menos masa, mientras que en el apex al ser más ancha, flácida y poseer mayor masa, las características se invierten.

En virtud de las diferencias de masa y rigidez de la basilar así como de la frecuencia de la onda sonora se

produce el fenómeno de que las ondas sonoras procedentes de sonidos agudos, alcanzan su mayor amplitud en la espira basal, las que provienen de sonidos de frecuencia media lo hacen en la espira media y los que proceden de sonidos graves alcanzan su máxima amplitud en el apex, la membrana basilar actúa pues como un analizador de frecuencias y supone el primer proceso de la localización tonal o tonotópica, que no significa más que una distribución anatómica de los sonidos en la membrana basilar según su frecuencia. Este fenómeno se basa en las características anatómicas de la membrana basilar y en que las CC del órgano de Corti reciben una inervación procedente de diferentes protoneuronas que no se relacionan entre sí, recogiendo cada neurona los estímulos procedentes de CC situadas en una parte concreta - del órgano de Corti.

Los trabajos de VON BEKESY, G. en las décadas de los 40 y los 50, son la base para el conocimiento de las características de la onda vibratoria a nivel del conducto coclear.

La presión ejercida por los movimientos del estribo a nivel de la ventana oval son el origen de unos trenes de ondas que se propagan por el conducto coclear. Sus diferentes elementos, membrana basilar, órgano de Corti, MT y la membrana de Reissner, vibran en la misma fase.

La MT está unida al limbo y al órgano de Corti y se mueve sobre los cilios en un plano horizontal. Los movimientos de estas membranas debido a su íntimo contacto con los

cilios de las células sensoriales, provocarían la flexión de éstos. Estos movimientos ciliares pueden ser considerados como el último acto mecánico de la fisiología de la -- audición.

En el interior del conducto coclear existe un verdadero almacén eléctrico constituido por el conjunto endolinfa-órgano de Corti, donde se registran potenciales de corriente continua y potenciales de corriente alterna. Los de corriente continua son tres:

- Potencial positivo endococlear, aislado por VON-BEKESY, G. (1953) y producido por la endolinfa.

- Potencial negativo del órgano de Corti, aislado también por VON BEKESY (1953).

- Potencial de sumación, aislado por DAVIS, H. et al. (1954).

Algunos de estos potenciales se registran sin estimulación de la coclea, son los potenciales de reposo, potencial endococlear y el del órgano de Corti, que surgen -- como consecuencia de fenómenos metabólicos a nivel coclear. También existen otros potenciales como el de sumación y el microfónico coclear, que se registran cuando la coclea es estimulada y se denominan potenciales receptores del estímulo auditivo, DAVIS, H. et al. (1957).

Según DAVIS, H. (1958), el estado bioeléctrico del conducto coclear se descompone así:

- Endolinfa + 80 mV.

- Cortilinfia y CC - 80 mV.
- Membranas tectoria y reticular 0 mV.
- Membrana de Reissner y células de Hensen y de --
Claudius - 20 mV.

DAVIS, H. (1958) estima que este sistema oléctrico está alimentado por dos fuentes, la estría vascular y las CC, dominando claramente la primera estructura.

A continuación describiremos cada uno de estos potenciales receptores:

- Potencial microfónico:

Aparece cuando se modifica el potencial continuo y es debido a los movimientos de la membrana basilar siendo consecuencia del estímulo sonoro. Se trata de un fenómeno que reproduce bajo una forma eléctrica la vibración aplicada al oído, por esto también se la ha denominado efecto microfónico.

Nace el potencial microfónico a nivel de la parte apical de las células sensoriales y es una modulación del almacén de energía que existe en el conducto coclear. Es un potencial poco sensible a la fatiga y a la adaptación.

- Potencial de sumación:

Solo reproduce de forma aproximada al estímulo sonoro. Según DAVIS, H. (1958), provendría de la modificación de los cilios al separarse de la MT.

Existen dos tipos de potencial de sumación, uno positivo y otro negativo, el primero es más fragil.

- Potencial de acción:

Ocurre a nivel de la sinapsis entre el polo basal de las células sensoriales y las extremidades de las fibras nerviosas, se propaga por el nervio coclear y a lo largo de la vía coclear hasta llegar al cortex temporal.

Transmisión de la onda sonora en los líquidos laberínticos:

Como relata BORGHEGAN, E. (1954), COTUGNO en 1760, describía un simil de la fisiología coclear que aún hoy -- día es aplicable:

"La apreciación de los sonidos consiste en la percepción de las vibraciones emitidas por los cuerpos sonoros. Cuando la membrana basilar es estimulada por los movimientos del estribo ésta no continúa oscilando de forma continua sino que alcanza un estado de reposo hasta que recibe un nuevo impulso por parte del estribo".

"En la coclea se pueden observar una serie de cuerdas paralelas y tensas como en un piano, que se sitúan sobre la membrana basilar. Las cuerdas más cortas se disponen cerca de la entrada de la coclea y las de mayor longitud en el otro extremo. Cuando se emite un sonido, de entre todas las cuerdas, solo una se pone en movimiento".

El aumento de presión en la platina del estribo producido por la onda sonora, da lugar a una onda de presión que se propaga por los líquidos laberínticos y debido al -- pequeño tamaño de la coclea el incremento de presión es --

prácticamente simultáneo en toda ella. La única porción -- elástica en la coclea es la membrana de la ventana redonda el fluido irá pues desde la ventana oval a la redonda a -- través de las rampas timpánica y vestibular.

Sin embargo no todas las partes de la coclea se mueven al unísono, la parte basal de la membrana basilar, más rígida, se mueve en fase con la onda de presión, pero no -- la porción apical más elástica que queda retrasada.

La onda aumenta de presión conforme se dirige hacia el apex y alcanza su máxima amplitud que corresponde a la base para las frecuencias agudas y al apex para las frecuencias graves.

El retraso de la fase aumenta progresiva y rápidamente conforme la onda de presión se dirige hacia el apex. La velocidad de la onda disminuye por tanto y su longitud se hace más pequeña. Un poco más allá del punto de máxima amplitud no hay movimiento alguno de la membrana basilar. En la zona de disminución rápida de la amplitud el retraso de la fase alcanza hasta un ciclo completo o más.

Si la frecuencia de la onda aumenta, la zona de máxima amplitud en la membrana basilar estará más cerca de -- la ventana oval, si la frecuencia disminuye esta zona estará más cerca del apex.

Según PETERSON, L.C. y BOGERT, B.P. (1950), puede haber dos tipos de onda en la coclea, ondas de compresión, en las que el líquido laberíntico se comprime y se expande y ondas de superficie independientes de la densidad del --

fluido.

Por la escasa compresibilidad de la endolinfa y su elevada impedancia el efecto de las ondas de compresión sobre la membrana basilar es despreciable, lo que quiere decir que los movimientos del estribo producen un cambio de presión en ambas rampas, vestibular y timpánica, que por tanto es igual en ambas, por lo que el gradiente de presión a través de la membrana basilar es mínimo. Esto se comprende mejor ya que las células sensoriales son excitadas como resultado de la flexión de sus cilios más que por la presión a que están sometidos, de ahí que las ondas de compresión no tengan ningún papel en la fisiología de la audición, ZWISLOCKI, J.J. (1980).

Las ondas de superficie en la coclea son el resultado de la presión diferencial entre la membrana basilar y el órgano de Corti. La elevada complianza de la membrana de Reissner hace que su efecto sea insignificante, ZWISLOCKI, J.J. (1980).

El estudio de la dinámica de la membrana basilar fue realizado por VON BEKESY. Este autor colocaba pequeños cristales de plata en el conducto coclear y sobre la membrana de Reissner provocando posteriormente una vibración sinusoidal del estribo con una amplitud constante. Esto lo hacía tanto en modelos físicos como en cocleas de diversos animales, así observaba los movimientos de la membrana basilar mediante iluminación estroboscópica y con un microscopio óptico.

Observó que si aumentaba la frecuencia del estímulo sonoro, la posición de máxima amplitud estaba cerca del es tribo, si la disminuía, este punto se dirigía hacia el apex.

Así utilizando presiones de 3×10^3 dinas/cm² a 2×10^4 dinas/cm², que se correspondían al umbral para 1000 ciclos por segundo (CPS) se producen movimientos de la membrana - de 2×10^{-3} Å, longitud muy pequeña.

La onda que recorre la membrana basilar se mueve muy rápidamente al principio, para después hacerlo progresivamente más despacio. Como ya hemos descrito su amplitud aumen ta conforme progresa, llega a un máximo y a partir de aquí disminuye bruscamente dicha amplitud y velocidad. El punto de máxima amplitud es función de la frecuencia de la onda y la mayor amplitud de la vibración del desplazamiento es función de la intensidad de la onda.

En el estudio de la mecánica coclear la aplicación del efecto Mossbauer para valorar los movimientos de la - membrana basilar, supuso una nueva luz en la fisiología de la audición, así se obtienen movimientos de la membrana ba silar de 1,8 kilociclos por segundo (KCPS) a 0 decibelios de presión sonora (sound pressure level, SPL), JOHNSTONE, - B.M., TAYLOR, K.J. y BOYLE, A.J. (1970).

RHODE, W.S. y ROBLES, L. (1974), utiliza el mismo - efecto y llega a la conclusión de que la MT tiene una vibra ción no lineal para las frecuencias que producen una máxima vibración en un punto determinado.

Para VON BEKESY, G. en cualquier segmento de los -

movimientos de la membrana basilar, la MT, el órgano de Corti y la membrana de Reissner vibran en la misma fase. Las características de la membrana basilar determinan el patrón de la onda. Sin embargo VON BEKESY, G. (1960), observó una diferencia de fase importante entre los movimientos del es tribo y los elementos del conducto coclear.

De todo lo anteriormente descrito se deduce que la membrana basilar y la coclea actúan como un analizador de frecuencias, la parte apical vibra con los sonidos graves y la parte basal con los agudos. VON BEKESY, G. (1953) y DAVIS, H. (1958).

La MT no es una estructura rígida y se mueve de -- forma perpendicular a la membrana basilar. VON BEKESY, G. (1953) señala que la elevada sensibilidad del oído requiere que la energía de transmisión sea muy eficiente, lo -- que quiere decir que la impedancia mecánica debe de estar equilibrada. Una forma de equilibrarla consiste en transformar una presión sobre una membrana elástica en una fuerza de cizallamiento, lo que flexionaría los cilios, DAVIS, H. (1957).

La MT está unida al limbo, es dúctil a los movimientos lentos pero resistente a los rápidos. Por otro lado -- las células de Hensen a las que está unida la MT, forman -- un suave cojín que sostiene su margen.

Aparentemente la membrana basilar se desplaza hacia arriba y hacia abajo, moviéndose sobre un eje que se sitúa en la unión de esta membrana con la lámina espiral ósea. -

La MT, tiende a oscilar sobre un eje que se situa en su punto de unión al limbo, el resultado es un movimiento de cizallamiento entre la MT y la basilar. Los cilios que estarían unidos a la superficie inferior de la MT se flexionan cuando la basilar se eleva.

El movimiento anteriormente descrito se asocia a un movimiento radial de las células de Hansen, por tanto del margen tectorial, correspondiéndose con una ligera flexión de los cilios. Este movimiento es característico de la parte basal de la coclea en su punto de máxima amplitud.

En la parte apical la membrana basilar se mueve siguiendo un eje longitudinal por lo que predomina un movimiento en este sentido y probablemente éste sea el sentido de la dirección de la flexión ciliar en vez de hacerlo radialmente.

Seguiremos a HILDING, A.C. (1952) para intentar precisar el mecanismo íntimo de la fuerza de cizallamiento. Es difícil imaginar una presión vertical actuando sobre las extremidades de los cilios ya que esta misma fuerza sería transmitida desde la membrana basilar a las células sensoriales y a los cilios y la MT, con lo que se elevarían sincrónicamente sin deformarse.

Pero hay que tener en cuenta que las CC y los cilios se encuentran entre dos arcos que si bien tienen un mismo punto de unión periférico, células de Hansen, su punto de unión en el limbo es diferente, por lo que este

movimiento de arriba a abajo y viceversa dará lugar a una fuerza de cizallamiento sobre los cilios.

Estos dos arcos se cruzan en un punto teórico de reposo, por encima y por debajo de este punto se separan. Al producirse un movimiento vertical esto se transforma en un movimiento de cizalla que sería superior en fuerza a ese movimiento vertical en proporción inversa entre la longitud del radio y la distancia entre los dos ejes de los arcos (labios timpánico y vestibular del limbo).

La fuerza de cizalla resultará de una tracción de la MT dirigida radialmente hacia el modíolo. Cuando se eleva la basilar en la inclinación que se dirige hacia el apex se producirá una resultante en dirección del modíolo y otra hacia la base, ya que el grosor y la masa de la MT no resistirían una flexión hacia abajo.

Como ya hemos descrito los movimientos de la membrana basilar son casi moleculares y por tanto la fuerza de cizalla sería aún menor, pero mientras esta fuerza sea paralela a la dirección de las fibras de la MT se iniciaría el movimiento de cizalla.

Cuando el estribo se hunde en la ventana oval merced a un estímulo sonoro, ocurre un aumento de presión en la rampa vestibular que se transmite a la endolinfa del conducto coclear iniciando entonces los siguientes movimientos:

1) Una zona de la membrana basilar junto con el órgano de Corti y la MT son deprimidos.

2) Surge entonces una fuerza de cizalla con tres resultantes: radialmente, hacia el modiollo y el apex en la - inclinación que se dirige hacia la base y la tercera hacia el modiollo y la base en la inclinación que se dirige hacia el apex.

3) La región límbica de la MT cede permitiendo que el arco se dirija hacia abajo sin que aparezca fuerza de - cizalla alguna.

4) La fuerza dirigida hacia dentro y hacia la base es aplicada siguiendo el eje de las fibras de la MT fijadas al limbo, lo que provoca un movimiento de cizalla que es transmitido a los cilios.

5) Los cilios se flexionan.

6) El margen de la tectoria sufre una tracción que es absorbida por las células de Hensen.

7) El movimiento hacia abajo de la membrana basilar es frenado por su inserción en el ligamento espiral.

8) Comienza la fase de recuperación hasta que se llega al estado de reposo.

Según ZWISLOCKI, J.J. y KLETSKY, E.J. (1979) el movimiento entre la MT y los cilios depende de cuatro factores:

- Unión de la MT al limbo y al órgano de Corti.
- Longitud de la onda.
- Rigidez de la MT en el sentido transversal.

Cerca de la base de la coclea la longitud de ondas es máxima y la fase de la membrana basilar cambia lentamente con la distancia, de acuerdo con esto, cuando las ondas son de una gran longitud, el órgano de Corti ejerce fuerzas radiales sobre la MT, con lo que esta depende totalmente de aquel, según esto la fuerza de cizalla es mínima.

Si la longitud de onda es más pequeña, las fuerzas radiales ejercidas por el órgano de Corti sobre la MT cambian su dirección de un lado al otro. En tales condiciones los efectos de las fuerzas se anulan unos a otros debido a la rigidez de la MT, con lo que la fuerza radial es minimizada y las fuerzas de cizalla son máximas.

Parece pues evidente que la flexión de las extremidades de los cilios por la fuerza de cizalla sería el último fenómeno mecánico en la fisiología de la audición el momento de la transducción en que la energía mecánica pasaría a transformarse en energía eléctrica.

La flexión de los cilios puede ocurrir a través de diferentes mecanismos:

1) Lo más común es que debido a la posible unión de las puntas de los cilios con la superficie inferior de la MT, ya sea de forma directa o indirecta, el movimiento relativo entre ella y la superficie de las células lo flexione.

2) Pero no todos los cilios contactan con la superficie inferior de la MT.

El primer supuesto correspondería a los cilios de -

las CCE más externas y el segundo a los de las CCI.

Esto quiere decir que distintos mecanismos de estimulación implican diferentes propiedades mecánicas. En este caso se depende del desplazamiento relativo de la MT sobre la superficie celular que a su vez es directamente proporcional al desplazamiento de la membrana basilar, por lo que los cilios de las CCE son detectores primarios de desplazamiento. Esto contrasta con los cilios libres, es decir los más pequeños que no contactan con la MT y los de las --CCI, cuya flexión depende de las fuerzas de rozamiento ejercidas por la endolinfa, estas fuerzas dependen en último lugar de la velocidad de la corriente endolinfática que a su vez es producida por el desplazamiento de la basilar, por lo que las CCI son detectores primarios de velocidad. Las CCE al tener cilios libres también son estimuladas por un componente de velocidad, DALLOS, P. et al. (1972) y MANLEY, G.A. (1978). Un factor muy importante en el movimiento de los cilios libres por la corriente endolinfática es la subtancia amorfa que los rodea y aglutina por lo que la endolinfa no se puede mover libremente entre ellos propiciando su flexión, ZWISLOCKI, J.J. y KLETSKY, E.J. (1979).

Para poder explicar la flexión y el movimiento de los cilios también se han expuesto otras teorías, así según FROMMER, G.H. (1979) al moverse la membrana basilar hacía arriba se modifica el volumen de endolinfa contenido--por el surco espiral interno, lo que ejerce una fuerza sobre el fluido y éste actúa sobre los cilios de las CCI. Este desplazamiento sería pues función de la frecuencia y no

de la fuerza de cizallamiento.

Para ZWISLOCKI, J.J. (1980), el mecanismo de cizallamiento es probablemente insuficiente para explicar el efecto "analizador de la basilar" y es inefectivo en ausencia de la MT, como ocurre en la papila auditiva de los lagartos, para ello sería necesaria una resonancia mecánica y radial de los propios cilios. Esta posibilidad es realizada por el hallazgo de FLOCK, A., FLOCK, B. y MURRAY, E. (1977), de que los cilios son estructuras rígidas y frágiles. Si esto ocurre así la deformidad de los cilios debe de ser reforzada por la masa de la tectoria, el hecho de que puedan ser estimulados por una determinada frecuencia dependerá de su rigidez, masa y capacidad de amortiguación. Pero la tectoria no está unida solo al limbo, sino también a las células de Hensen y a los microvillios de las CC. Si existe un sistema local de resonancia, ese sistema debe provenir de una interacción entre la MT y el órgano de Corti.

Según SOUDJIN, E.R. (1976), cuando los cilios son -- flexionados hacia la estria vascular su resistencia aumenta progresivamente y el desplazamiento será pequeño, si lo son hacia el limbo su resistencia es menor, debido a la presencia de los cilios más pequeños.

Pero existe una polaridad en el movimiento de flexión que depende del corpúsculo basal, el vestigio del kinocilio, así para DAVIS, H. (1958) la dirección del eje de polaridad es transversa al eje longitudinal del conducto coclear, esto para las CCE, por tanto si el movimiento es hacia el coro

púsculo basal la despolarización es mayor que cuando ocurre en sentido contrario. Para las CCI el eje de polaridad es paralelo al eje longitudinal del conducto coclear, así si el movimiento es hacia el apex se despolarizará más que si lo hace hacia la base.

Así pues la flexión de los cilios es el mecanismo final esencial y es aceptado como el proceso íntimo de estimulación.

Como se produce la excitación de las CC tras la -- flexión ciliar sigue siendo un enigma en la actualidad, - existiendo diversas hipótesis:

1) Hipótesis mecanoeléctricas:

- a) Por resistencia variable, DAVIS, H. (1958): El - potencial eléctrico del conducto coclear es considerado como una batería que sería la fuente de una corriente energética desde la endolinfa hasta las neuronas a través de la CC. En la interfa se entre la CC y la endolinfa existiría una re-- sistencia variable, presumiblemente los cilios - que aumentarían o disminuirían su resistencia me diante la flexión.
- b) Por semiconductores, LAWRENCE, M. (1967): La tec toria tiene un potencial eléctrico de 0 mV y ser viría como semiconductor entre el potencial de - reposo de la endolinfa y el potencial negativo - del órgano de Corti.

2) Acción de transducción, ENGSTROM, H., ADES, H. y HAWKINS, J.E. (1962):

Los cilios actúan como transductores transmitiendo la energía mecánica desde la tectoria hasta el corpúsculo-basal, que sería la estructura excitable por excelencia.

3) Teoría citoquímica, VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. (1964):

La superficie de los cilios estaría cubierta por -- ciertos enzimas que permiten el flujo químico que excitaría a las CC.

4) Hipótesis del potencial reemplazado, JENSEN, C.E., KOEFOE, D.J. y VILSTRUP, T. (1954):

La hialurínidasa presente en la endolinfa induciría este potencial.

Mediante cualquiera de estas hipótesis se excitaría la célula sensorial liberándose el mediador químico, acetilcolina, en la base de las CC dando lugar al potencial de acción en las fibras nerviosas de la pars coclear del VIII pc, DAVIS, H. (1958).

En resumen y según nuestra opinión parece que está bastante bien establecido cual es el tipo de estímulo que reciben los cilios de las CCE, éste sería según la mayoría de los autores la flexión de los propios cilios en sentido transversal al eje longitudinal del conducto coclear y su polaridad variará según el sentido en que se realice la flexión, es decir bien hacia el modíolo o bien hacia el --

ligamento espiral externo.

Sin embargo y a pesar de lo expuesto parece bastante evidente que el mecanismo de estimulación de los cilios de las CCI no está aclarado, ya que al parecer el movimiento de cizalla de la MT no llegaría a afectar a estos cilios, por no ser tan íntimo su contacto con la MT. Por otro lado las hipótesis expuestas de que la estimulación de los cilios de las CCI se produce mediante un movimiento de deslizamiento de la MT sobre la basilar en el mismo sentido que el eje longitudinal del conducto coclear o que se produce por la disminución de volumen del surco espiral interno, lo que haría que la endolinfa contenida en él se dirigiera hacia los cilios de las CCI, ninguna de estas dos hipótesis es admitida por la mayoría de autores.

Este es el punto en que hay que destacar la importancia que tiene la relación que mantienen las extremidades de los cilios de las CCI, ya que el conocimiento de esta realidad anatómica permitiría establecer cual podría ser el mecanismo íntimo de estimulación de los cilios de las CCI al ser deformados por los movimientos recíprocos de la membrana basilar sobre la que asientan y la MT que los cubre.

XI. MATERIAL.

El animal utilizado para nuestras observaciones ha sido el cobaya, dada la facilidad que existe para conseguirlos y manejarlos. Otro factor en favor de la elección de estos animales es el grán número de estudios realizados sobre el oído interno de los mismos, lo que nos permite hacer un estudio comparativo.

Se han utilizado 202 cocleas provenientes de 101 cobayas adultos de ambos sexos, cuyos pesos oscilaban entre los 300 y los 800 gramos con una media de 550 gramos. Además de cuatro fetos de cobaya a los cuales les faltaban 20 días de gestación, lo cual nos permite estudiar 8 cocleas más.

Con preferencia se eligieron:

1) Animales cuyo pelaje estuviera pigmentado de color negro o marrón oscuro, ya que en los mismos la MT a pesar de su transparencia toma un ligero tinte oscuro, por acción del pigmento, lo que facilita su identificación y posterior disección.

2) Cobayas jóvenes, ya que la consistencia del hueso de la lámina de los contornos es menor, lo que facilita su disección y en consecuencia se producirán menos lesiones del órgano de Corti y en especial de la MT, disminuyendo así los artefactos.

En cada cobaya se han estudiado ambas cocleas, en un principio utilizábamos la misma técnica de fijación para ambas, posteriormente hemos realizado diferentes técnicas de fijación en cada coclea así como diferentes tiempos en los

pasos de lavado y deshidratación del material para poder -
comparar los resultados.

Presentamos a continuación una relación de los difere
ntes medios de observación y las técnicas utilizadas pa-
ra el estudio de las cocleas (Fig. 28), asimismo mostramos
a modo de ejemplo los protocolos correspondientes a los difi
ferentes métodos y técnicas de disección.

La técnica para obtener estas cocleas ha sido sistema
tizada en cada caso, comenzando siempre por la disección
mediante un microscopio estereoscópico NIKON tipo SW 6 con
zoom (Fig. 25), trabajando entre seis y cuarenta aumentos,
preferentemente estos últimos dada la transparencia y dificul
tad para reconocer a la MT.

El instrumental utilizado en la disección de la co-
clea y de la MT así como de las espiras cocleares consiste
en parte del usado por los relojeros, así como material quiru
rgico de oftalmología y microcirugía otológica. Este instr
umental comprende (Fig. 26 y 27):

- Tijeras fuertes para decapitar.
- Tijeras normales.
- Bisturí con hojas de los números 15 y 21.
- Agujas para engrasar (material de relojero).
- Pinzas de disección finas con y sin dientes.
- Pinzas de hemostasia para fracturar el temporal.
- Destornilladores del nº 3 (material de relojero).
- Pinzas finas del nº 5 (material de oftalmología).
- Puntas (instrumental de microcirugía otológica).



Fig. 25. Microscopio estereoscópico NIKON tipo SW 6 con zoom para realizar la disección de la coclea y de la MT.



Fig. 26. Material para realizar la decapitación y disección
grosera de la coclea.

- Ganchos (instrumental de microcirugía otológica).
- Micropipetas Pasteur de 150 mm.
- Placas de Petri anchas.

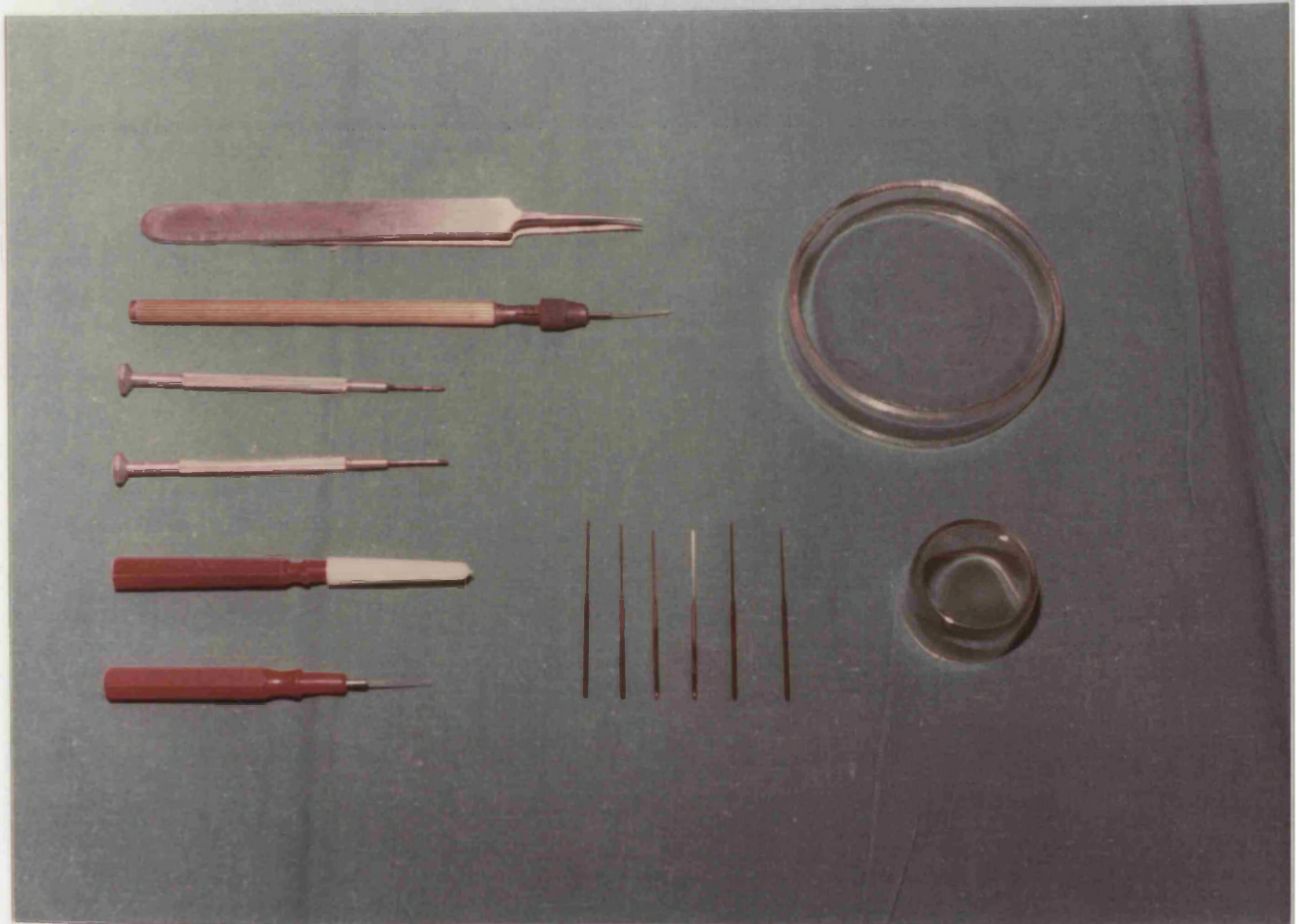


Fig. 27. Material utilizado en la realización de la disección fina bajo la lupa de la MT y espiras cocleares.

TIPO DE MICROSCOPIA	TECNICAS DE DISECCION	
	Especímenes de Superficie	Aislados bajo microdisección.
M. de campo claro		20 cocleas
M. de Nomarski.		30 cocleas
M. de contraste de fases		30 cocleas
M.E.T.	80 cocleas	
M.E.B.	30 cocleas	20 cocleas

Fig. 28. Distribución de las cocleas según el método de observación y la técnica de disección.

A) PROCOLOS.

COBAYA 62

Color: Negro y blanco.

Tipo de muestra:

Peso: 340 gr.

Especímenes de superficie.

Sexo: Hembra.

Tipo de microscopía:

Coclea izquierda.

Optica de campo claro.

Se decapita y se fija en glutaraldehído antes de transcurridos seis minutos. Se deja en el fijador durante dos horas, posteriormente se descalcifica en una solución de EDTA al 2% (tamponada con fosfato de Sorensen). El control de la descalcificación se realiza mediante radiografías. Posteriormente se sigue la técnica de inclusión en glicol metacrilato.

COBAYA 8

Color: Marrón y blanco.

Peso: 400 gr.

Sexo: Macho.

Coclea: Izquierda.

Tipo de muestra:

Aislado bajo microdissección.

Tipo de microscopia:

Contraste de fases.

Se decapita y se extrae la coclea izquierda, fijándose en glutaraldehído al 2% antes de transcurridos seis minutos. Se deja en tampón fosfato de Sorensen y se procede a la extirpación de la lámina de los contornos y extracción de la MT de las espiras basal y media. Por medio de una micropipeta se deposita la MT, en un porta sobre una gota de glicerina.

COBAYA 96.

Color: Blanco y marrón.

Tipo de muestra:

Peso: 530 gr.

Aislado bajo microdisección.

Sexo: Macho.

Tipo de microscopía:

Coclea izquierda.

Microscopía de Nomarski.

Se decapita y se aísla la coclea izquierda que es depositada en una solución Ringor, se extirpa la lámina de los contornos y se extrae la MT de la espira basal y de la apical. Con una micropipeta se deposita la tectoria sobre un porta con una gota de glicerina. Se visualiza por la técnica de Nomarski.

COBAYA 30

Color: Blanco y marrón.

Peso: 350 gr.

Sexo: Hembra.

Coclea derecha.

Tipo de muestra:

Especímenes de superficie.

Tipo de microscopia:

MEB.

Se decapita, fijándose en glutaraldehído la coclea - derecha antes de transcurridos cinco minutos, para ello se abren el apex y la ventana redonda introduciéndose el fijador por estas vías. Se deja la coclea en la fijador durante una hora, posteriormente se coloca la coclea en una solución de osmio al 2% en tampón fosfato de Sorensen. Se sigue para fijarla el procedimiento de la doble fijación.

La disección de la lámina de los contornos se realiza durante el proceso de deshidratación.

COBAYA 26

Color: Gris y marrón.

Tipo de muestra:

Peso: 400 gr.

Aislamiento bajo microdissección.

Sexo: Hembra.

Tipo de microscopia:

Coclea derecha.

MET.

Desde la decapitación hasta la fijación en glutaldehído al 2% en tampón fosfato de Sorensen, transcurren seis minutos, se deja en esta solución durante dos horas. Posteriormente permanece 24 horas en tampón fosfato de Sorensen, cambiando el tampón varias veces, en este momento se realiza la microdissección de la espira basal y de la media, previamente se había extirpado de la espira basal la MT. Se procesan para MET.

FIJADORES.

Hemos utilizado dos tipos de fijadores, el tetroxido de osmio y el glutaraldehido bien aisladamente o conjuntamente mediante la técnica de la doble fijación.

1) Tetroxido de osmio:

Comunmente denominado ácido ósmico. Este compuesto actúa sobre las grasas y los lípidos rompiendo los dobles enlaces de los lípidos insaturados, además de fijarlos los tiñe simultáneamente en negro, es un fijador de acción rápida.

Como desventaja presenta la friabilidad que provoca en los tejidos lo que dificulta la microdissección. Tiene escaso poder de penetración. Lo hemos utilizado para la MET y la MEB, así como a veces en las microscopias de contraste de fases o en la técnica de interferencia diferencial de Nomarski, ya que al teñir a la MT de un ligero tono oscuro facilita su reconocimiento y disección.

Provoca cambios en la estructura química de los tejidos. No se debe usar en las muestras que van a ser teñidas. Se utiliza en un porcentaje del 1 o 2%.

2) Glutaraldehido:

Es el fijador que hemos utilizado con más frecuencia, al igual que con el ácido ósmico en una solución de tampón fosfato de Sorensen al 2%. Es un fijador de acción lenta pero muy eficaz.

DESCALCIFICADORES.

Los hemos utilizado en la microscopia óptica de campo claro o convencional, para así obtener cortes totales de la coclea de forma seriada.

Se ha usado el ácido etilen diamino tetraacético - (EDTA) en una solución de tampón fosfato de Sorensen al 2%. La elección de este descalcificador se ha debido a la escasa acción que tiene sobre las frágiles estructuras de la coclea en comparación con otras sustancias descalcificadoras.

B) METODO.

OBTENCION DE LAS MUESTRAS.

Utilizamos la técnica de los especímenes de superficie de ENGSTROM, H. (1966), para el laberinto anterior.

Una vez seleccionado el cobaya según su peso y color procedemos a su decapitación. En los primeros animales usábamos como anestesia una inyección intraperitoneal según la técnica descrita por MARCO, J., SANCHEZ FERNANDEZ J.M. y RIVERA, J.M. (1971). Posteriormente hemos preferido realizar directamente la decapitación tras descerebrar al animal, esto se realiza mediante unas tijeras fuertes de disección, en la decapitación hay que evitar lesionar las mastoides.

Posteriormente se cortan las ramas ascendentes del maxilar inferior introduciendo una de las hojas de la tijera a través de la boca del animal, seccionando la comisura labial así como toda la masa muscular y piel.

Al separar el maxilar inferior aparecen las puntas de las mastoides detrás de las cavidades glenoideas de las articulaciones temporo-mandibulares. Tras limpiar a aquellas de las masas musculares que las cubren (Fig. 29) y extirpar las vértebras cervicales superiores que están adosadas al cráneo, se coloca la región media del cráneo entre las dos hojas de la tijera, se cierran estas entonces fuertemente y realizando unos movimientos enérgicos hacia los lados, se consigue con cierta facilidad fracturar la pirámide petrosa y que esta pueda aislarse del cráneo junto con las mastoides.

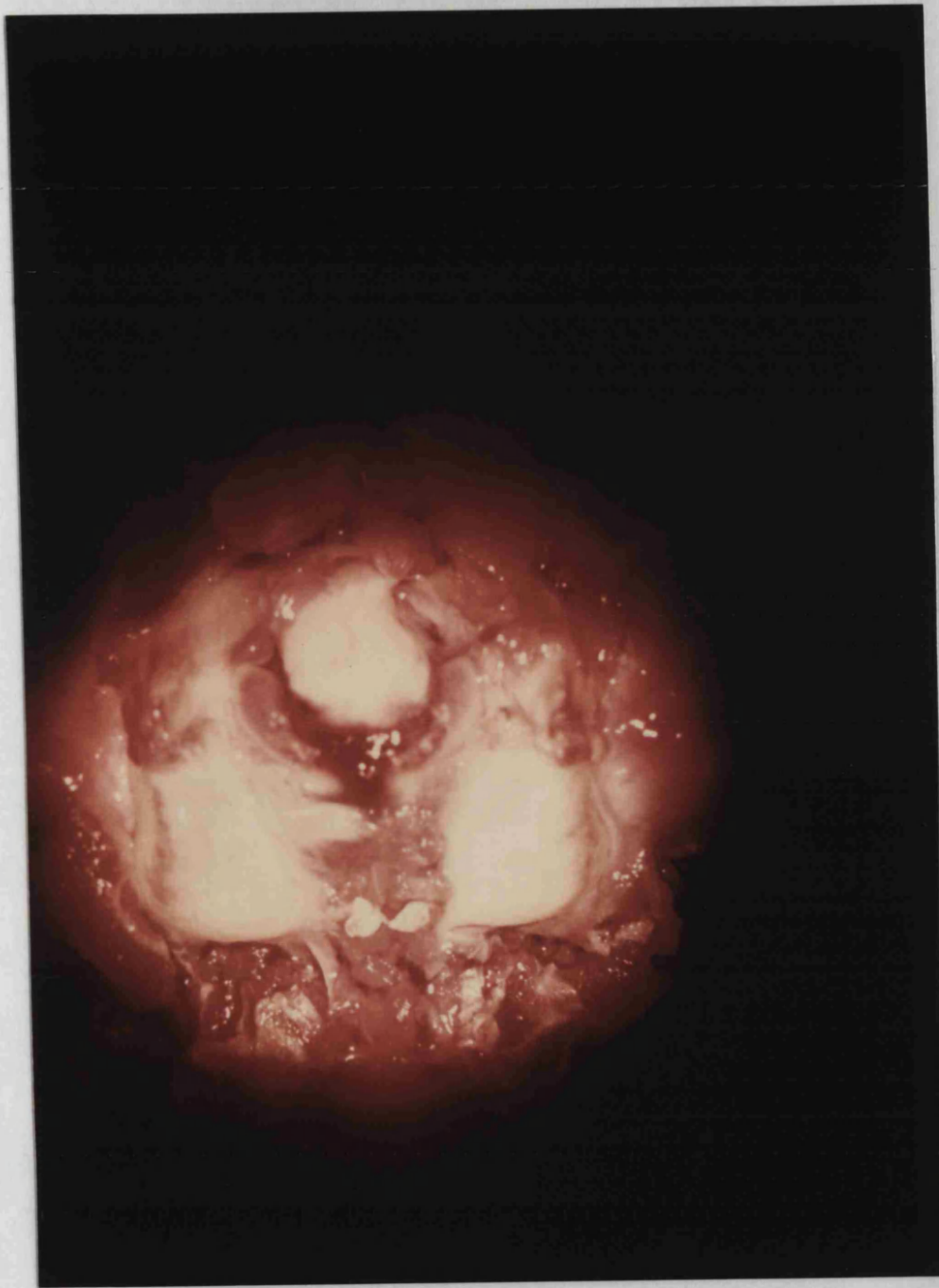


Fig. 29. En la imagen se aprecia las puntas de las mastoides tras la decapitación y sección del maxilar inferior.

Tras limpiar a este bloque de los músculos y esquir las óseas del cráneo se procede a abrir las puntas de las mastoides apareciendo a la vista el caracol o coclea (Fig. 30).

Inmediatamente extraemos el yunque y el estribo --- abriendo la ventana oval, así como la ventana redonda y - lámina de los contornos en el apex del caracol (Fig. 31). En este momento procedemos a introducir por las vías abier- tas y mediante una micropipeta tipo Pasteur el fijador, evi- tando siempre introducir burbujas de aire que interrumpieran el flujo del fijador por las rampas de la coclea.

En ocasiones se procede a retirar la lámina de los-- contornos a partir de la ventana redonda y de la apertura que hemos realizado en el apex, siempre con sumo cuidado- y respetando a la estría vascular. Posteriormente y en -- cualquiera de los casos se sumerge la pieza en el fijador.

Desde que se decapita el cobaya hasta que se introdu- ce en el fijador no deben pasar más de seis minutos para - evitar alteraciones ultramicroscópicas en las estructuras celulares y membranosas del órgano de Corti.

Todas las anteriores maniobras de disección se pueden realizar sin aumentos, es decir sin el microscopio estereoa- cópico, si bien la apertura y la extirpación de la lámina - de los contornos se hacen con mayor seguridad y precisión - utilizando la visión ampliada.



Fig. 30. Mastoides abierta pudiéndose apreciar la coclea en su interior.



Fig. 31. Coclea en la que ya ha sido ampliada la ventana redonda y se ha abierto el apex.

MICRODISECCION.

Una vez que hemos aislado la coclea, durante los procesos de disección y deshidratación podemos continuar con la técnica de los especímenes de superficie que a partir de este momento debe hacerse utilizando un microscopio estereoscópico que nos permite obtener desde 4 hasta 45 amentos.

Siempre trabajaremos con la muestra sumergida en los fijadoras, en los alcoholes o en el tampón y dentro de una placa de Petri, para evitar la desecación y contaminación por el medio ambiente, lo que provocaría la aparición de artefactos en la pieza, por esto mismo es importante mantener limpio el líquido durante la microdisección, esto se consigue cambiándolo y limpiándolo con una micropipeta.

Para extirpar la lámina de los contornos utilizaremos una fina pinza sin dientes que sujetará a la mastoideas y el peñasco, esto con una mano, mientras que con la otra tendremos un fino punzón con el que iremos extirpando con sumo cuidado el hueso y procurando mantener siempre limpio el campo de trabajo, cambiando si es preciso el líquido de inmersión varias veces.

Cuando hayamos extirpado toda la lámina de los contornos aparecerá la estria vascular con el ligamento espiral externo, que ocultan al órgano de Corti y a la MT.

Utilizando entonces unas finas pinzas de cirugía ocular del número 5, procederemos a extraer estas estructuras tratando de conseguir que la MT se despegue de sus puntos

de unión con la membrana basilar, lo que evita lesionar al órgano de Corti (Fig. 32).

Sobre el órgano de Corti y la MT, flota la membrana de Reissner que es fácilmente identificable, esta membrana no solo nos impide tener un buen campo de visión de la tectoria, sino que además nos dificultará su extracción, por lo que debe ser extirpada en la zona en que vayamos a trabajar con la tectoria o con el órgano de Corti.

Todas las anteriores maniobras se pueden realizar manteniendo unos 20 aumentos en la lupa, apareciendo entonces ante nuestros ojos el modíolo y la lámina espiral con sus estructuras celulares y ligamentosas.

La MT es difícil de ver, en un primer momento para identificarla lo que hacemos es tocarla simplemente con una fina punta de las utilizadas en la microcirugía del oído. A partir de estos momentos se deben de usar los máximos -- aumentos posibles así como una buena fuente luminosa bien orientada hacia el punto en que estamos trabajando.

Debido a la dificultad en visualizar la MT por su -- transparencia, es conveniente utilizar animales con pelaje negro o marrón, ya que en ellos la tectoria adquiere un ligero tinte oscuro que facilita su reconocimiento. También si la muestra ha sido tratada con tetroxido de osmio al impregnar este a la MT, ésta será identificada más fácilmente.



Fig. 32. Coclea a la que se le han quitado la lámina de los contornos y el ligamento espiral externo pudiéndose observar el órgano de Corti y la MI.

Una vez llegados a este punto describiremos las diver
sas técnicas de aislamiento que usamos en la coclea, MT y -
espiras del órgano de Corti.

1) Aislamiento de la coclea:

Esta técnica la utilizamos para las MET y la MEB. Pa
ra ello es conveniente extirpar en su totalidad la lámina-
de los contornos y la unión posterior de la coclea al hueso
temporal. Esta unión es muy sólida y el anclaje óseo muy du
ro, por lo que al romperlo hay que ser muy cuidadoso para -
evitar fracturar la coclea o alguna de sus espiras. Una vez
separada la coclea de sus anclajes se introduce un fino pun
zón entre la base del modíolo y su punto de unión al tempo-
ral en la cavidad mastoidea. Haciendo entonces unos ligeros
movimientos de palanca se desprende la coclea con sus espi-
ras, pudiendo entonces comenzar su procesamiento según el -
método elegido.

2) Aislamiento de la MT:

Si el procedimiento de fijación ha sido correcto la -
tectoria mantendrá sus relaciones y uniones con el órgano -
de Corti, células de Deiters y de Hensen, lo que va a difi-
cultar sobremanera el despegamiento de la membrana cuando -
queramos aislarla para su observación en fresco o mediante-
microscopia de contraste de fases o la de interferencia di-
ferencial de Nomarski. Para evitar este escollo y asimismo
no lesionar el órgano de Corti, nosotros sometemos la mues
tra a un paso previo por alcohol de 60 grados durante tres
minutos como máximo, de este modo y mediante la mínima des

hidratación que se produce la tectoria sufre una retracción aislándose de sus uniones periféricas y elevándose sobre el órgano de Corti un poco. Todos estos fenómenos facilitan el reconocimiento de la membrana así como el hecho de poder introducir un fino punzón entre el órgano de Corti y la tectoria, sin destruir a ninguna de las estructuras hasta llegar al punto de inserción de la MT en el limbo, procediéndose entonces a separarla.

A continuación tomamos el extremo de la MT que hemos separado con una fina pinza de oftalmólogo y procedemos a aislar el resto de la tectoria de su inserción límbica, siempre traccionando de un extremo de ella, así conseguiremos porciones de 2 y 3 mm. e incluso a veces fragmentos correspondientes a espiras completas.

Todas las anteriores maniobras se realizan con la pinza sumergida en el líquido en que estemos trabajando, dentro de la placa de Petri, para evitar alteraciones y artefactos en la estructura de la MT. Hay que tener siempre en cuenta que el extremo de la tectoria que ha sido manipulado debe de ser desechado.

3) Aislamiento de las espiras cocleares:

Utilizando los máximos aumentos que nos permita el microscopio estereoscópico y mediante un fino punzón o unas tijeras de microcirugía procederemos a cortar en bloque el órgano de Corti. La tectoria y la membrana basilar de una espira, en dos puntos separados entre sí, unos 3 o 4 mm., posteriormente y mediante un fino punzón separaremos esta -

porción de espira de su unión con el modíolo rompiendo la lámina espiral, así aislaremos un fragmento de espira con su membrana basilar, órgano de Corti y MT. Es conveniente que esta porción de espira tenga la menor cantidad posible de lámina espiral ósea, así se facilitará el corte con el ultratomo, evitándose de esta forma la aparición de fisuras y desgarros en la pieza cortada.

Esta técnica la utilizaremos para la MEB, pero sobretudo para la MET, con lo cual evitamos los problemas de de calcificación que tanto alterarían una estructura tan delicada como es la MT y las relaciones de ésta con las células subsacentes del órgano de Corti. Asimismo con este método tampoco es necesario emplear la técnica de los bloques de superficie de SPOENDLIN, H. y BRUN, J.P. (1974), ni la de las pirámides de epon de IURATO, S. (1975).

Pensamos que esta técnica que permite la microdisec--ción aislada de diferentes espiras cocleares es de gran utilidad para el estudio de las relaciones morfológicas entre el órgano de Corti y la tectoria. Estas espiras aisladas, que apenas tiene tejido óseo, permiten un aprovechamiento en toda su longitud para realizar los ultracortes.

Por otro lado y a diferencia de los otros métodos como más tarde expondremos, solo es necesaria una inclusión en epon, lo que acorta mucho el tiempo que se necesita para procesar las piezas.

En la MEB el estudio de estas espiras aisladas tiene la ventaja sobre el de la coclea en su totalidad, de que -

permite una mejor orientación sobre la platina de observación, lo que se puede aprovechar para dirigir el objetivo directamente entre la MT y las CC del órgano de Corti, así se puede llegar a una mayor profundidad del campo permitiendo incluso la visión de las CCI y su relación con la tectoria suprayacente.

PROCESADO DE LAS PIEZAS.

1) Microscopia óptica de luz convencional o de campo claro:

En este tipo de microscopia hemos utilizado cocleas-completas obtenidas mediante la técnica de los especímenes de superficie y posterior separación de la coclea en su totalidad del temporal.

A continuación o mejor aún al mismo tiempo y siempre antes de que hayan transcurrido 6 minutos desde el momento de la decapitación, se procede a abrir las ventanas oval y redonda así como el apex, inmediatamente se procede a introducir por el apex y mediante una micropipeta tipo Pasteur - una solución de glutaraldehído al 2% en tampón fosfato de Sorensen, observándose como este líquido sale por las ventanas citadas. Posteriormente se sumerge toda la coclea en la misma solución del fijador al 2%. En este momento se realiza una radiografía de la coclea para que nos sirva de control durante la descalcificación, esta radiografía la realizamos mediante un aparato de Rx para odontólogos, el Heliodent 70 de Siemens y con una intensidad de 70 kv. y un amperaje de 7 mA. en un tiempo que va desde 0,8 a 1,2 seg.

Tras estar la coclea de 12 a 24 horas en la solución de glutaraldehído al 2%, se pasa a una solución descalcificadora de EDTA al 2% en tampón fosfato de Sorensen, realizándose controles radiográficos cada 6 horas y renovando la solución de EDTA para evitar su saturación.

Cuando se aprecia mediante las radiografías que la -
coclea está decalcificada se procede a su inclusión en glicol metacrilato según el método de BENNET, H.S., WYRICK, A. D., LEE, S.W. y McNEIL, J.H. (1976). Este método que utiliza el glicol metacrilato para la inclusión de la pieza ya fué desarrollado para la MET y el microscopio óptico por LEDUC, A. y BERNHARD, F. (1967), COPE, J. (1968), etc..... Sin embargo el valor y utilidad de esta sustancia como material de inclusión en la microscopia óptica no fué reconocido hasta que FEDER, J.A. y O'BRIEN, H. (1968) lo utilizaron en muestras vegetales, posteriormente SIMS, G. (1974) y COLE, H. y SYKES, W. (1976) usaron el glicol metacrilato para incluir tejidos animales.

Las ventajas del glicol metacrilato se basan principalmente en su menor índice de distorsión y en que proporciona más información al teñir las piezas si lo comparamos con los cortes obtenidos de los bloques de parafina. Con respecto a las inclusiones en epon, el glicol metacrilato presenta la ventaja de que aquel proporciona menos información ya que algunos de los grupos tisulares que reaccionan con los colorantes también lo hacen con los monómeros del epon y pierden capacidad para unirse a los colorantes ácidos, de ahí que los cortes de epon pierdan su capacidad -- eosinofílica aunque mantienen su poder para unirse a los colorantes catiónicos con los grupos fosfato, carboxílicos y sulfato. En contraste el glicol metacrilato cuando se polimeriza no reacciona con los grupos tisulares importantes para la tinción, por lo que los cortes se tiñen mejor que

los de parafina y epon.

El glicol metacrilato es una forma monomérica, del monoester etilen glicol del ácido metacrílico. Su molécula es pequeña y penetra rápidamente entre los componentes moleculares de los tejidos.

Para la fijación hemos utilizado el glutaraldehído al 2%, en tampón fosfato de Sorensen. En la preparación del monomero hemos purificado preparados comerciales de glicol metacrilato utilizando la técnica de FEDER, J.A. (1968). Para obtener buenos resultados es importante que su acidez sea baja.

En la inclusión también hemos seguido la técnica de FEDER, J.A. (1968), que mezcla un plastificador inerte, un preparado de glicol polietileno con un peso molecular de unos 400 Daltons, con el monomero, así se consigue un bloque final con unas características apropiadas para el corte.

Después de la inclusión el tejido (bloque) se coloca en un molde de las dimensiones adecuadas y cerrado para evitar el contacto con el oxígeno, se introduce en una estufa a 38 o 40° C de 15 a 96 horas o bien se deja a la temperatura de la habitación desde uno a siete días.

El grado de polimerización debe de ser cuidadosamente regulado o se corre el riesgo de que se formen burbujas de gas con la consiguiente inutilización del bloque. La polimerización se realiza a la temperatura ambiente.

Para la sección utilizamos un ultratomo al igual que para la MET, con una cuchilla de cristal, los cortes se mon

tan en portas de cristal previamente limpiados con etanol y posteriormente secados.

Como métodos de tinción hemos usado la metoxilina eritrosina, la técnica de Giemsa y la de May-Grunwald-Giemsa.

2) Microscopia de contraste de fases y de interferencia diferencial de Nomarski:

En ambos casos la técnica de procesamiento ha sido la misma. Tras aislar la coclea se fija, al igual que para la microscopia óptica, con glutaraldehído al 2% en solución de tampón fosfato de Sorensen, dejándolo en esta solución un par de horas, posteriormente se aísla la MT. Como ya hemos comentado es conveniente realizar un paso previo por alcohol de 60º para provocar una ligera retracción de la tectoria lo que nos facilitará su reconocimiento y su disección. Una vez aislada se la deja flotar en el líquido, en este caso el alcohol o la solución Ringer y mediante una micropipeta se la traslada hasta un porta en el que se ha dejado caer una gota de glicerina. Va a ser en este medio de glicerina donde observaremos a la membrana pudiendo manipularla más fácilmente, siempre hemos de tener en cuenta que un extremo de la tectoria está alterado debido a la manipulación, ya que será del de donde traccionaremos.

También podemos realizar las observaciones en fresco, utilizando la misma técnica excepto el paso por la solución de glutaraldehído al 2%, aquí como medio líquido usamos una solución Ringer, depositando posteriormente la tectoria en la gota de glicerina del porta.

Siempre hay que tener en cuenta que en ningún punto la tectoria debe de estar en contacto con el medio ambiente aéreo debido a los problemas de contaminación, artefactos y sobre todo deshidratación que darán lugar a alteraciones en su morfología y estructura.

3) MEB:

Una vez extraída la coclea y previa fijación en glutaraldehído al 2% en una solución tampón fosfato de Sorensen y antes de transcurridos 6 minutos desde la decapitación del animal, se realiza el primer paso consistente en dejar la pieza en la solución de glutaraldehído al 2% durante 2 horas, en un segundo paso se lava la pieza, en la solución de tampón de fosfato de Sorensen por un periodo de tiempo que puede ir desde las cuatro horas, el doble que el tiempo en la solución de glutaraldehído al 2%, hasta unas 24 horas. Si se deja más tiempo la coclea se altera.

El tercer paso consiste en la inmersión de la coclea en tetroxido de osmio ($Os O_4$) durante al menos 45 minutos y como máximo una hora.

En cualquiera de estos tiempos y si no se ha eliminado la lámina de los contornos, es necesario introducir con una micropipeta y por uno de los orificios abiertos en la lámina, bien el lavador, el osmio o el fijador.

Previamente a la deshidratación se ha de lavar la pieza en una solución Ringer durante 15 minutos al menos. La deshidratación debe de ser realizada de forma muy progresiva y lenta para evitar una brusca retracción de la

tectoria que conllevaría su separación de los cilios de las CC del órgano de Corti y una alteración en su morfología, para ello se parte de una solución de alcohol de 50% en Ringer y posteriormente se va aumentando el porcentaje de este alcohol bien vertiéndolo en la propia placa de Petri o mejor según nuestro criterio colocando la coclea en una serie de placas de Petri que contengan un porcentaje progresivamente mayor de alcohol hasta llegar al de 100% es decir - alcohol absoluto.

Durante el período de deshidratación realizamos la - disección de la coclea separando la lámina de los contornos, la estria vascular y el ligamento espiral externo así como la membrana de Reissner. Además así aprovechamos los cambios de placa para mantener limpio el medio y evitar contaminaciones de la coclea.

Posteriormente se ponen las piezas en acetona al 50% y progresivamente se va aumentando la concentración de ésta hasta llegar al 100% de acetona. Este paso por acetona es - obligado, debido a que son miscibles tanto en el alcohol - como en el ácido carbónico que se usa en el punto crítico.

El almacenamiento de las piezas a lo largo de todas las operaciones anteriormente descritas, se realiza en nevera a 4° C, tanto durante el proceso de fijación como en el lavado y la deshidratación.

Llegados a este punto hay que secar las piezas mediante la técnica del punto crítico, que realizamos en una cámara de presión L.W.U. modelo E 300.

Tanto la deshidratación como el secado de estas piezas son siempre pasos delicados e importantes pero cuando se trata de la MT aún lo son más, debido a su elevado contenido en agua, por eso una deshidratación brusca y un secado anómalo darían lugar a una retracción con lo que se alteraría su morfología y su relación con los elementos ciliados del órgano de Corti.

A veces sin embargo es conveniente utilizar en favor de nuestros fines de investigación una deshidratación rápida que provoca una retracción de la tectoria y a la vez ésta gira sobre su eje límbico elevándose, de esta forma se expone la cara inferior de la tectoria, permitiéndonos un estudio inmejorable de las huellas de los cilios de las CC mediante el MEB.

Cuando las piezas han salido de la cámara del punto crítico procedemos a colocarlas en una platina especial para la observación en el MEB uniéndolas a ella mediante una solución adhesiva de plata (Dotite), que es conductora de electrones, esto lo realizamos bajo la visión de un microscopio estereoscópico a unos 15 aumentos, así evitaremos que la solución de plata cubra a la espira basal de la coclea o a las espiras aisladas de la platina.

También hemos usado para unir la pieza a la platina papeles adhesivos por sus dos caras pero los resultados son peores y con el paso del tiempo las piezas tienden a desprenderse.

El recubrimiento de las piezas con un material conduc

tor para que éstas puedan observarse al MEB lo realizamos con oro y carbón, mediante una unidad de vacío y evaporación JEOL JEE 4A con electrodos para carbón y oro (Fig.33): Consideramos esta operación muy importante para poder observar correctamente la superficie inferior de la tectoria y evitar que una excesiva de oro y de carbón recubra a las huellas impidiendo su visión y reconocimiento, lo que nos proporcionaría una información errónea. Por eso no nos parece correcto recomendar un tiempo determinado para realizar el sombreado de las piezas, sino que esto dependerá del estado de los electrodos, por lo tanto hay que realizar varias pruebas con diversas piezas hasta determinar el tiempo idóneo de sombreado.

Cuando se han sombreado las piezas podemos pasar a observarlas al MEB.

4) MET:

Una vez aislada la coclea completa o bien una espira se fija en glutaraldehído al 2% en una solución tampón fosfato de Sorensen 0,1 molar y con un Ph entre 7,3 y 7,4, de jándola en esta solución durante 2 horas. Como siempre, la fijación ha de hacerse antes de que transcurran 6 minutos desde la decapitación del cobaya. Luego se lava en tampón fosfato de Sorensen durante 24 horas cambiando la solución 2 o 3 veces durante este periodo de tiempo.

Posteriormente se fija en tetroxido de osmio al 1% en tampón fosfato de Sorensen durante dos horas, se lava después en agua destilada durante 15 minutos y se comienza la deshidratación, que será progresiva, en acetonas, empezando



Fig. 33. Unidad de vacío y evaporación JEOL JEE 4A.

por una solución de éstas al 30% en agua destilada, luego al 50% y al 70% dejándola en esta última durante una noche para pasarla al día siguiente a una solución al 90% y por fin en acetona absoluta. Cada pase tiene una duración de 30 minutos. Tras la deshidratación se bañan las piezas dos veces durante 30 minutos cada vez en sulfato de cobre, luego se dan dos pases de una hora cada uno en óxido de propileno al 50%.

Todo el proceso anterior se debe desarrollar con una temperatura de 49 C en una nevera, para a continuación dejar las piezas en epon puro a temperatura ambiente durante una noche.

En último lugar se pone la muestra en epon puro en un molde y se deja 24 horas en una estufa a 60° C. Al cabo de este tiempo obtenemos un bloque duro de epon con la pieza en su interior.

Una vez que tenemos incluida la pieza el procedimiento a seguir será diferente según se trate de una coclea -- completa con todas sus espiras o bien una espira aislada o parte de ella.

En el primer caso hemos de proceder a dividir toda la coclea en pequeñas porciones que contengan espiras aisladas, para ello utilizamos la técnica de los bloques de superficie o de las pirámides descrita por IURATO, S. (1975) y por SPOENDLIN, H. y BRUN, J.P.(1974)e, en primer lugar y utilizando una fina sierra de ebanista cortamos circunferencialmente la resina sin tocar la pieza, lo cual es fácil -- ya que la vemos por transparencia a través del epon. Tras-

esto en el surco que ha hecho la sierra, introduciremos -- una hoja de bisturí y dándole un fuerte golpe conseguiremos que la coclea se parta en dos mitades. Posteriormente se repite el mismo proceder con cada una de las hemicocleas obtenidas, con lo que conseguiremos al menos 6 pequeños bloques que contienen espiras, estos bloques una vez orientados se vuelven a colocar en un molde con epon y una vez que se haya polimerizado podremos realizar con ellos las pirámides para cortar las espiras.

Frente a este método que es muy costoso en material y tiempo la inclusión de las espiras aisladas previa microdissección, tiene las ventajas de un gran ahorro en material y tiempo, además permite una mejor y más fácil orientación de las piezas, lo que es muy difícil de conseguir en la segunda reinclusión que hacemos con el método anterior.

Por otro lado la inclusión de una espira aislada permite un mejor aprovechamiento de la pieza ya que en nuestra opinión se obtienen un mayor número de ultracortes.

La inclusión de la espira aislada mediante el método que proponemos permite hacer cortes tanto perpendiculares como paralelos al eje longitudinal del canal coclear, lo que facilitará la realización de cortes a nivel de las células de Claudius o de Hensen o de la fila más externa de CCE y del borde más externo de la tectoria o de la inserción límbica de la tectoria, etc.

Siempre hacemos en primer lugar un corte semifino de 1 micra y lo teñimos con azul de toluidina, así se podrán

orientar posteriormente los cortes evitando la lámina espi
ral ósea ya que debido a su diferente consistencia dará lu
gar a fisuras y desgarros en la parte membranosa del conduc
to coclear.

La inclusión de la espira aislada en vez de realizar
la en los moldes y cápsulas habituales, la hacemos en una-
especie de bandeja de goma con 24 compartimentos numerados,
de 15 mm. de profundidad, 12 mm. de longitud y 5 mm. de an
chura, si bien su parte anterior es más estrecho, lo que--
permite la orientación de la pieza (Fig. 34). Cada compar-
timento tiene un número grabado en relieve, lo que poste--
riormente y al quedar marcado en el epon, nos permitirá la
identificación de la pieza. Posteriormente se realizan los
ultracortes (Fig. 35).

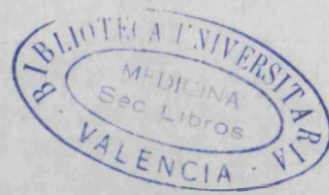


Fig. 34. Bandeja con los moldes para incluir las piezas de MET.

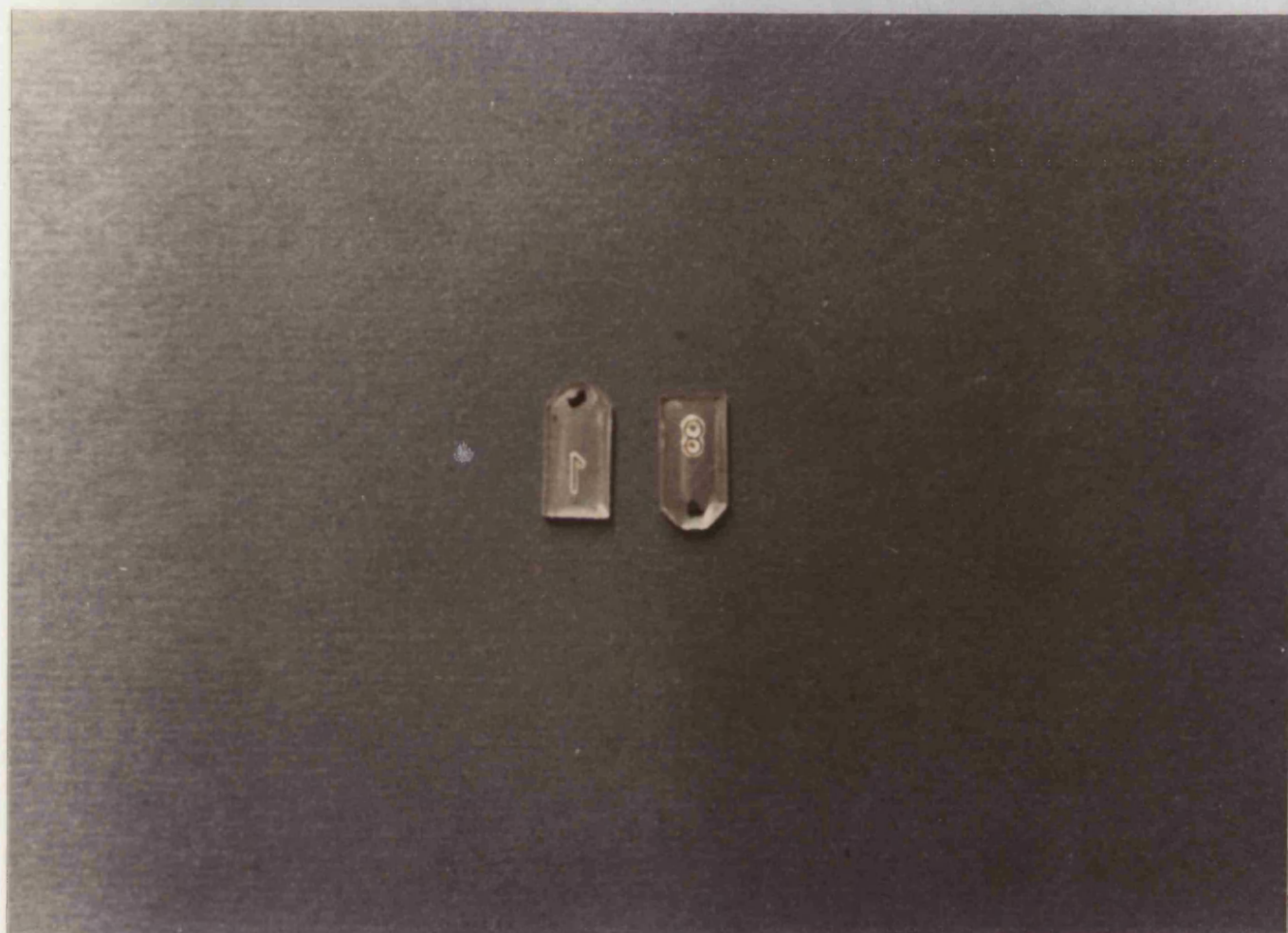


Fig. 35. Bloques obtenidos en la bandeja de la Fig. 34.

C) PROCEDIMIENTOS DE OBSERVACION.

MICROSCOPIA OPTICA.

A) De campo claro o convencional:

No vamos como es lógico a describir aquí este tipo de microscopía que es suficientemente conocida.

B) De contraste de fases:

Fué el primer método utilizado en el estudio de las muestras de superficie del laberinto, tanto anterior como posterior, ENGSTROM, H. (1962) en la descripción de esta técnica, utilizó como base de sus observaciones muestras del epitelio ciliado laberíntico.

Actualmente continua manteniendo la misma vigencia del primer día, debido a parte de los excelentes resultados que proporciona al hecho, de la escasa preparación que necesitan las muestras ya que se trata de un método para la observación de muestras de superficie en fresco sin tinción previa.

Debido a la estructura particular de la MT y a la -- dificultad que representa la inclusión aislada de ésta y -- la realización de cortes histológicos, este método que en definitiva no trata más que de la obtención de cortes ópticos, según el enfoque del microscopio, no permite estudiar tanto la superficie superior como la inferior de la MT y -- la estructura interna además del borde de unión con el limbo y de su borde libre.

Para observarla la situamos en un porta que tiene una gota de glicerina, lo que nos permitirá manipularla si lo deseamos.

C) De interferencia diferencial o de Nomarski:

Este método de microscopía de interferencia descrito por Nomarski en 1955, es de reciente aparición en relación con otros métodos de microscopía óptica.

El fundamento físico de este tipo de microscopía se basa en la interferencia de dos grupos de ondas luminosas que atraviesan prácticamente el mismo objeto puesto que la separación entre los haces es mínima, NOMARSKI, G. (1957).

Para que se produzca una diferencia de fase entre -- las ondas, lo que se hace es polarizarlas linealmente en -- dos haces perpendiculares entre sí. El sistema comprende -- una fuente de luz cuyos rayos han sido polarizados linealmente (por medio de un polarizador) para incidir sobre un prisma modificado de Wollaston (denominado prisma de Nomarski por ser este el autor de la modificación), siendo separadas en dos haces divergentes y linealmente polarizados en sentido perpendicular entre sí, que se convierten en haces paralelos antes de atravesar la muestra merced a un condensador.

Tras atravesar el objetivo del microscopio se les hace pasar a través de un segundo prisma de Nomarski que los reúne para pasar después por un analizador para que pueda producirse el fenómeno de la interferencia. Estos prismas se componen básicamente de dos prismas independientes de un material monoáxico birrefringente (cuarzo) pegados entre sí y cuyos ejes ópticos son paralelos con respecto al borde de los mismos en el prisma de Wollaston. La modificación

de Nomarski consiste en que en uno de ellos la dirección - del eje es oblicua.

Por las razones descritas del distinto índice de refracción de las muestras bajo estudio, cuando las estructuras a examinar tienen un alto poder de refracción o cuando éstas interfieren en las de alrededor, este método brinda unos resultados excelentes.

Con respecto a la microscopia de contraste de fases, hay que destacar que esta técnica tiene la ventaja para el estudio de materiales con alto poder de refracción de eliminar el halo luminoso de refracción que se produce alrededor del espécimen.

Hay que aclarar sin embargo, que el medio en el que se encuentran los especímenes en la preparación tiene gran importancia en este método, debido a que el índice de refracción de éste, influye en las imágenes obtenidas.

En la interpretación de los resultados, hay que tener en cuenta que las imágenes ofrecen un relieve óptico que es debido a la alteración de los rayos luminosos al atravesar materiales de distinto índice de refracción. Desde luego este relieve óptico no reproduce el relieve real o geométrico de las distintas estructuras, si bien puede coincidir con él.

Por todo lo anterior, la MI parece reunir las características más apropiadas para ser estudiada con la técnica de Nomarski debido a su elevado índice de refracción, además de ser adecuada para estudiar superficies, estas dos -

circunstancias lo convierten en una técnica ideal para observar las huellas que dejan los cilios de las CC en la superficie inferior de la tectoria así como su morfología externa.

Al igual que ocurría con la técnica de contraste de fases el medio en que queda suspendida la tectoria, es la glicerina.

MICROSCOPIA ELECTRONICA.

A) De barrido:

La MEB proporciona una visualización perfecta y un estudio tridimensional de las muestras, permitiéndonos un estudio completo de éstas, ya sean normales o patológicas, en las que nos interesa el estudio cuantitativo celular. Sin embargo hay que tener en cuenta que esta técnica no sustituye a las clásicas ni a la MET de tanto valor en el estudio cualitativo celular, ni a la microscopia de contraste de fases, sino que viene a complementarlas.

La MEB es de reciente aparición, puesto que fué comercializada en 1965, aunque su fundamento fué descrito por KNOLL, K. en 1938. En el laberinto los primeros estudios fueron realizados por LIM, D.J. y LANE, W.C. (1969).

La MEB se basa en los siguientes conceptos:

Al ser bombardeada una muestra con un haz de --- electrones, se produce una energía que se evidencia de tres maneras:

- a) En forma de ondas electromagnéticas, son los rayos X.
- b) En forma de fuerza electromotriz (solo en el caso de muestras semiconductoras).
- c) En forma de electrones, que pueden ser de varios tipos, reflejados, secundarios, transmitidos y absorbidos.

La forma de energía que nos interesa es la de los electrones ya que son los que nos sirven para la formación

de imágenes.

En el MEB es emitido un haz de electrones por medio de un filamento de tungsteno. Este haz es concentrado por medio de una serie de lentes electromagnéticas hasta - hacerlo prácticamente puntiforme. Una vez desplazado merced a un sistema de bobinas de barrido sobre la superficie de la muestra con continuos movimientos de vaiven.

Al chocar el haz con la muestra se producen unos electrones secundarios que son recojidos por un detector. - Estos electrones tras ser amplificados y acelerados son -- proyectados sobre una pantalla fluorescente en un tubo similar a un osciloscopio de rayos catódicos en la que se dibujará la imagen de la superficie de la muestra.

La MEB es pues un métodos perfecto para observar superficies y por tanto la MT y el órgano de Corti con sus CC, así como la relación entre la tectoria y los cilios de aquellas células, también los propios cilios. Con este tipo de microscopia se observaron por primera vez las huellas de los cilios de las CC en la superficie inferior de la tectoria, KOSAKA, N., TANAKA, T. y TAKIGUCHI, T. (1971).

B) De transmisión:

La MET se basa en el hecho de que los haces de - electrones son desviados por campos magnéticos de modo similar a la deflexión provocada por lentes de vidrio sobre el haz luminoso.

Los electrones se producen por el calentamiento-

en el vacío de un filamento, el cátodo, que emite electrones. Estos son acelerados gracias a la diferencia de potencial existente entre el filamento y el ánodo. Este se presenta como una lámina perforada en el centro que solo permite el paso de una parte de los electrones producidos, formándose así el haz de electrones.

Este haz de electrones es desviado por lentes electromagnéticas de modo semejante a como ocurre con el haz luminoso y las lentes de vidrio en el microscopio óptico.

El condensador focaliza el haz en el plano del objeto y en el objetivo se forma una imagen de éste. Esta imagen se amplía todavía más por una o dos lentes que proyectan (lentes proyectoras) la imagen final sobre una pantalla fluorescente o sobre la placa fotográfica.

XII. RESULTADOS.

A) MEMBRANA TECTORIA.

La MT es una estructura que recorre todo el conducto coclear desde la espira basal hasta el apex de la coclea, situándose por encima del órgano de Corti al que cubre en condiciones anatómicas de normalidad.

Su apariencia externa es muy variable dependiendo del método de observación elegido, así como de los procesos de fijación y tinción que hayamos empleado. Así en fresco parece tratarse de una estructura anhista, mientras que cuando ha sido fijada mediante glutaraldehído y teñida con tetroxido de osmio parece tratarse de una formación con mayor consistencia.

Hay que tener en cuenta en el manejo y preparación de la MT, que es una formación delicada, debido a su escasa consistencia y a su elevado contenido en agua, y además que las uniones que mantiene con el órgano de Corti son muy débiles. Las anteriores características hacen que pueda sufrir importantes alteraciones durante su manipulación o deshidratación, así como también puede contaminarse por el medio ambiente aéreo o líquido. Debido a estas características los procesos de fijación y deshidratación han de realizarse con suma lentitud para evitar retracciones bruscas o rápidas -- que alterarían no solo su morfología sino también sus relaciones con el órgano de Corti. También tendremos que tener en cuenta que habrá que manipularla sumergida en los diferentes líquidos en que estemos trabajando y cuidando escrupulosamente de que todos los medios líquidos estén lo más limpio posible.

El estudio de la MT como formación aislada añade a las dificultades anteriormente descritas, la complejidad de su disección, sobre todo si pretendemos realizar su estudio en gresco, ya que será más difícil de reconocer al ser prácticamente invisible para nuestros ojos, incluso utilizando el microscopio estereoscópico al máximo aumento.

La observación de la MT mediante la microscopía convencional de campo claro, no aporta ningún dato de interés sobre su morfología, salvo el hecho de que parece estar constituida por un material laminar o fibrilar. Tampoco podemos obtener mucha información sobre sus relaciones con el órgano de Corti, ya que las técnicas habituales de fijación van a producir una retracción de la MT. Si que podemos obtener algún dato sobre el origen de la tectoria en el labio vestibular del limbo espiral.

Para el estudio de la conformación interna de la MT, la dividiremos en tres zonas que son claramente visibles y distinguibles por cualquier tipo de microscopía:

- A) Región límbica.
- B) Región del cuerpo de la MT.
- C) Región marginal.

A) Región límbica:

Los métodos de observación mejores para estudiar la composición interna de la MT, tanto de esta región como de las otras, son la microscopía de contraste de fases y la MET. Ocasionalmente podría ser útil la MEB, cuando incidamos sobre una zona en que la superficie de la MT está rota, pudiendo así observar su interior, si bien este no ha sido el caso, o cuando visualizamos el punto en que la MT, se despega del limbo.

Para estudiar esta zona mediante la microscopía de contraste de fases, es necesario que al disecar y extraer la MT, consigamos también extraer su zona de inserción en el limbo, esto es más fácil de realizar en las espiras basal y media del conducto coclear que en la espira apical, en nuestra opinión esto se debe a la mayor consistencia a la tracción que existe en estas espiras de la coclea, lo que nos permite arrancarla materialmente de su punto de apoyo en el limbo, este hecho no se produce de forma tan fácil en las espiras superiores.

Con el microscopio de contraste de fases distinguimos dos zonas bien diferenciadas en la región límbica:

A) Zona proximal: esta zona parece que está formada por vacuolas. Estas vacuolas no están en contacto directo unas con otras, sino que están separadas por una estrechísima franja de espacio libre. Sin embargo esto no es siempre así a lo ancho de esta zona, ya que parece haber una separación progresiva de estas vacuolas conforme avanzamos --

hacia la periferia o sea, hacia el borde marginal de la MT, hasta el punto de que en la parte más periférica de la zona proximal las vacuolas están claramente separadas unas de otras y existe un predominio de los espacios libres que aquí ya parecen estar ocupados por un fino material granular e incluso por unas formaciones oscuras puntiformes.

Por lo tanto en esta zona proximal distinguimos dos subzonas, la más proximal con predominio de vacuolas y la más distal con predominio de los espacios libres que aparecen ocupados por material granular (Fig. 36).

b) Zona distal: En esta zona no existen vacuolas y parece estar ocupada por fibras que no serían más que la parte más interna o proximal de las fibras del cuerpo de la MT. Es sin embargo difícil de apreciar, en las imágenes por nosotros obtenidas, si se trata en realidad de fibras aisladas de las que van a formar parte del cuerpo de la tectoria o sin continuidad con ella o incluso si el material que ocupa esta zona distal son fibras ya que en alguna imagen parece tratarse de una sustancia amorfa (Fig. 37).

Existe un límite bien marcado entre la región límbica y el cuerpo de la tectoria, es decir entre la zona distal de la región límbica y el cuerpo de la MT.

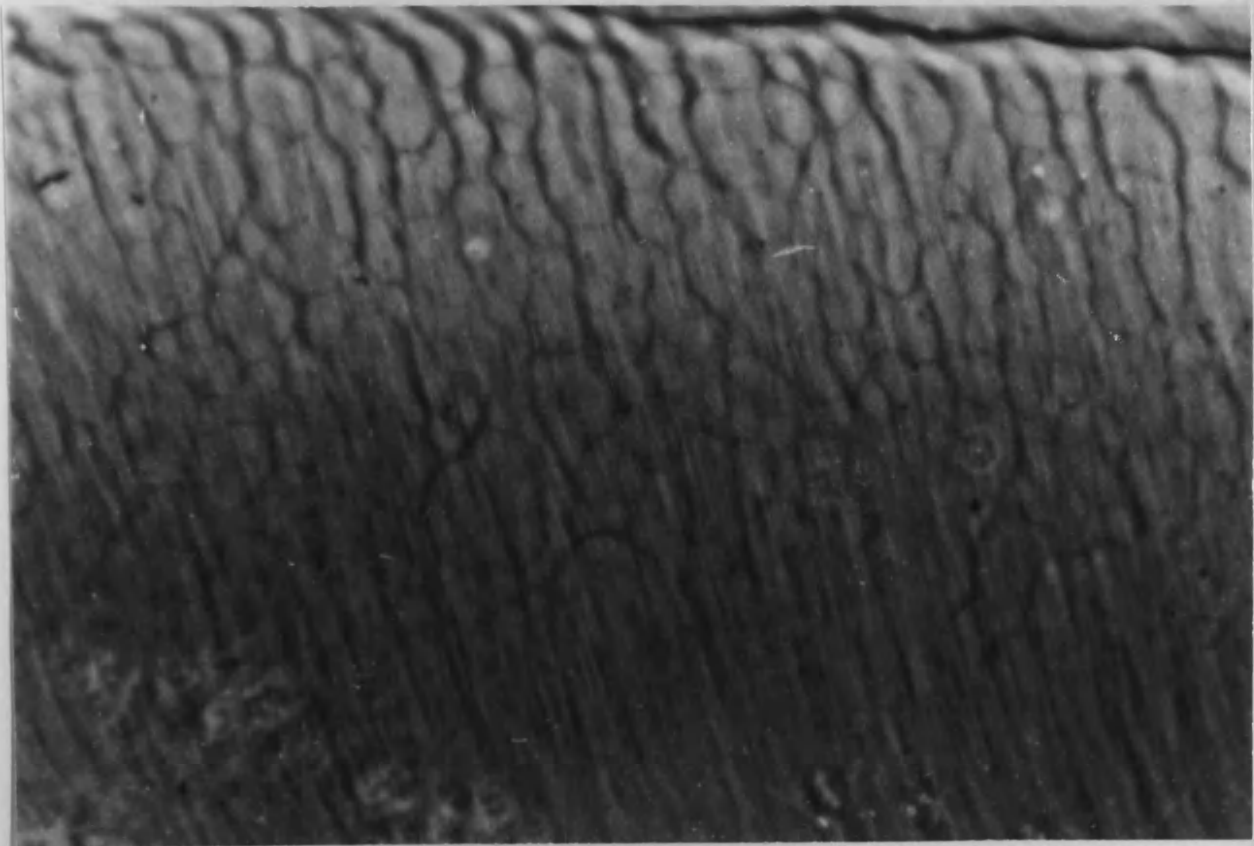
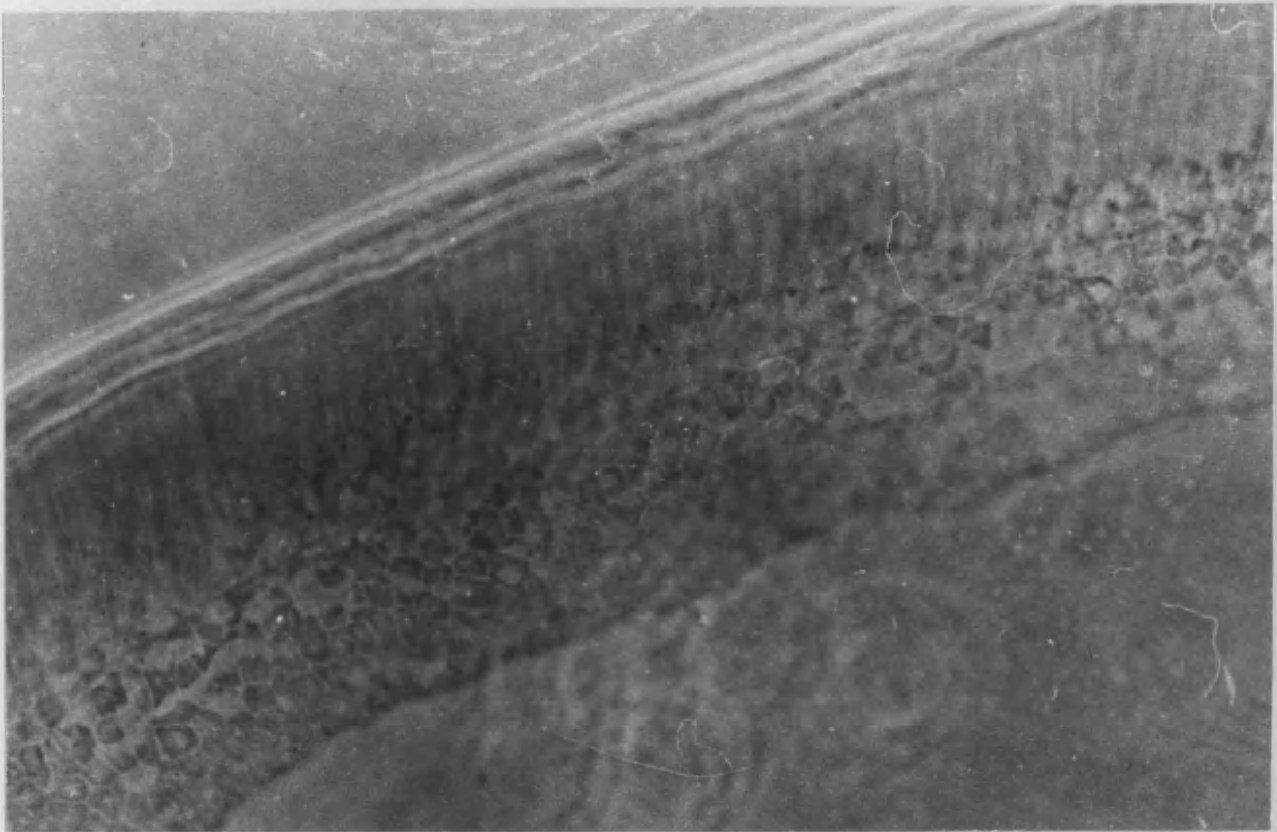
La región límbica es en nuestra opinión la que presenta un menor grosor como se demuestra en las imágenes obtenidas (Fig. 38).

Fig. 36. Página siguiente, imagen superior.

Imagen obtenida mediante el microscopio de contraste de fases donde se observa la zona proximal de la región límbica de la MT con sus dos subzonas, - en la más proximal existe un predominio de las imágenes vacuolares. 20x.

Fig. 37. Página siguiente imagen inferior.

Imagen obtenida mediante contraste de fases donde se puede apreciar la zona distal de la región límbica de la MT, en la cual parecen existir fibras. También se aprecia la separación entre las regiones -- límbicas y del cuerpo de la MT. 60x.



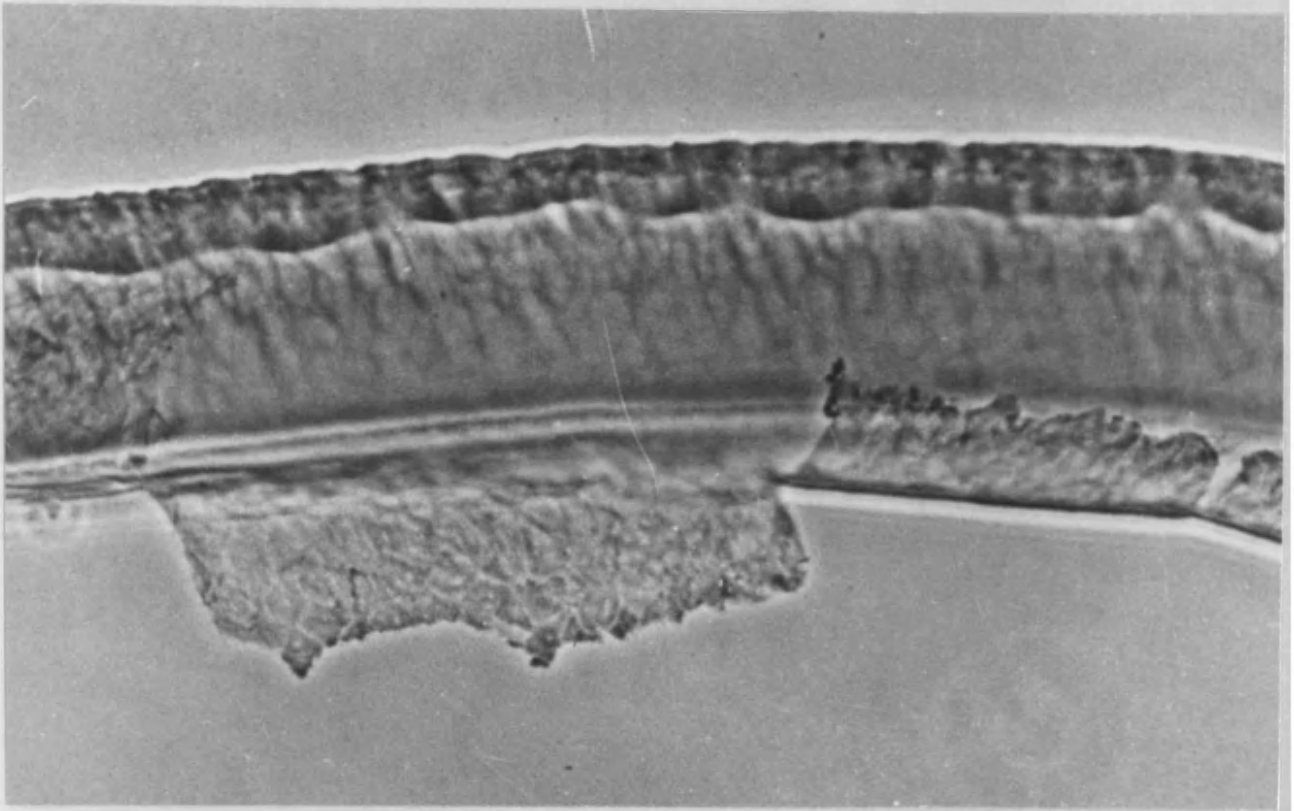


Fig. 38. Imagen obtenida mediante contraste de fases donde se aprecia el escaso grosor de la región límbica- en relación con el escaso grosor del resto de la- MT. 20x.

Por los resultados obtenidos y según las afirmaciones anteriores, las imágenes vacuolares o mejor dicho las -- huellas que existen en la zona proximal de la región límbica, obtenidas con la microscopia de contraste de fases, se tratarían de las huellas dejadas en esta zona por las porciones -- horizontales de las células interdenciales del limbo espiral, de su labio vestibular, en la substancia amorfa que sirve para cementar o unir la región límbica de la MT al limbo espiral.

Por las mismas razones la zona distal de la región límbica, no sería más que la substancia amorfa en el punto -- en que la MT se separa del labio vestibular del limbo, quedando suspendida sobre el surco espiral. Así en esta zona ya podremos utilizar la MEB, obteniendo imágenes muy clarificadoras para poder mantener estas opiniones. En la superficie inferior de la MT y en su punto más proximal, es decir la zona en que se separa el limbo, se puede apreciar al MEB una -- línea evidente de separación entre las fibras que forman el cuerpo de la MT y una superficie amorfa en la que no parecen existir fibras, apreciándose sin embargo unas formaciones -- elevadas que se continúan con el surco espiral (Fig. 39).

Con el máximo aumento del microscopio de contraste de fases, se puede intuir en la zona distal de la región límbica, un fino dibujo fibrilar que tiene una dirección parecida a la de las fibras del cuerpo de la tectoria, sin embargo se sigue apreciando una línea de separación entre estas dos regiones de la MT y a partir de la cual se ve claramente como surgen las fibras del cuerpo de la MT (Fig. 37).

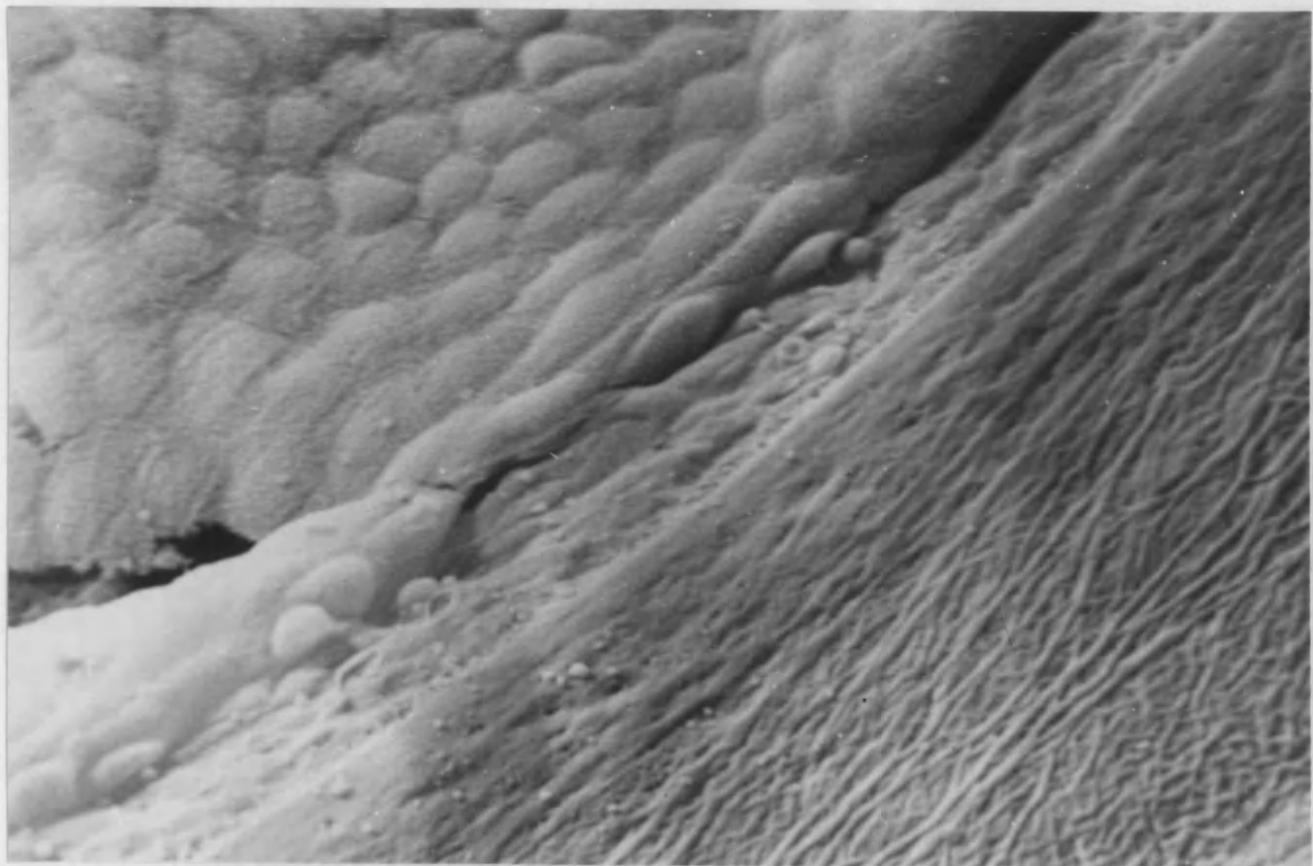


Fig. 39. Región límbica de la MT observada mediante MEB en el punto en que ésta se separa del labio vestibular observándose una línea de separación con el cuerpo fibroso de la MT, por detrás de esta línea se aprecia una superficie que da la sensación de estar formada por una substancia amorfa. 600x.

Con los mismos aumentos también se aprecia con la microscopía de contraste de fases una especie de red fibrilar superficial sumamente laxa y que ocupa tan solo la zona distal de la región límbica.

Pero el mejor método para estudiar las fibras de la MT y de esta región son los ultracortes y la MET, así - en los cortes estudiados se aprecia como el origen de la MT está situado sobre el labio vestibular o superior del limbo, reposando sobre los elementos que lo componen, las células interdentales y los dientes de Huschke, el citoplasma de estas células es poco denso a los electrones, lo que los hace destacar frente a la apariencia más oscura de los vecinos dientes de Huschke.

Estos dientes se sitúan entre las células interdentarias, formando prolongaciones que se proyectan entre las células sin alcanzar nunca la superficie libre del limbo, están compuestas por un material fibroso que se extiende de manera irregular en todas las direcciones formando una densa trama reticular sobre una matriz clara. Las zonas donde existe una mayor densidad fibrilar se sitúan en la base de los dientes. Entre estas fibras ocasionalmente encontramos islotes claros correspondientes a prolongaciones celulares, como lo evidencia la presencia de mitocondrias en los mismos (Fig. 40).

Las células interdentales presentan una forma característica en la que podemos distinguir tres partes (fig. 40):

. Porción basal o cuerpo, engrosada y de aspecto esférico en la que se encuentra el núcleo.

. Porción media o cuello, la más delgada.

. Porción apical que forma una expansión horizontal extremadamente fina en algunos puntos y que establece contactos con las células vecinas, cubriendo toda la superficie del limbo. Es la zona de contacto con la MT.

En el citoplasma de las células interdientales encontramos los diversos elementos propios de las células del organismo, así el núcleo contiene abundante cromatina que está unida a la carioteca. No existe un nucleolo evidente. El nucleoplasma está formado por un fino material electrónico denso. Se trata siempre de un núcleo redondeado.

Las mitocondrias no son muy abundantes y se encuentran distribuidas de forma muy regular por todo el citoplasma.

El retículo endoplásmico predomina en su forma lisa está también regularmente distribuido por el citoplasma, como ocurre con los ribosomas que están libres.

En la región apical, la zona mediante la cual la célula interdental contacta con la MT, existe una elevada concentración de microfilamentos, que se disponen en haces, y también en microtúbulos. Esta es para nosotros la región más rica en organelas pues en ella encontramos no solo mitocondrias sino también retículo endoplásmico y un fino material granular electrónico que se acumula alrededor de -

Fig. 40. Página siguiente.

Imagen obtenida mediante MET de la región del labio vestibular donde se observan los dientes de Huachke y las células interdientales, con las características descritas. 5000x.



la membrana celular, también aparecen en esta zona unas ve
sículas con granos finos en su interior, este material es-
 más denso a los electrones que el del citoplasma que le ro
dea, para nosotros se trataría de vesículas con material -
 proteico en su interior y procedentes del aparato de Golgi,
 estas vesículas parece que tienen su origen en la parte su
perior del cuello y se dirigen hacia la periferia celular-
 hasta que contactan con la membrana celular.

Esta membrana celular es bastante regular en toda
 su extensión, excepto en la zona que contacta con la MT, -
 donde aparecen unas evaginaciones que se introducen en ella,
 su tamaño es muy variable y va desde unas vesículas que son
 muy anchas hasta algunas que están cerca de la estrangula-
 ción. Estas evaginaciones contienen un fino material granu-
 lar electrodensó similar al que existe en el cuello de la-
 célula interdental (Fig. 41).

En los puntos donde la célula interdental contac-
 ta con una homóloga, en la región horizontal, en la membra-
 na celular aparecen uniones adherentes, esto no ocurre en-
 la región del cuerpo celular cuando en este punto contactan
 las células interdentales (Fig. 41).

La parte de la MT que está sobre el limbo, es de
cir, sobre las células interdentales, no es homogénea sino
 que existen zonas en donde las fibras han sido sustituidas
 por material no fibrilar (Fig. 42). Sin embargo la homoge-
 neidad de la MT en lo que respecta a sus fibras, se produce
 de forma progresiva conforme ésta se aleja del punto de --

Fig. 41. Página siguiente imagen superior.

Imagen obtenida mediante MET de la región límbica donde se aprecia la membrana de la célula interdental con sus evaginaciones en la MT y las uniones adherentes con la membrana de las células vecinas. 12000x.

Fig. 42. Página siguiente imagen inferior.

Obtenida también mediante MET y donde se observa - la región límbica de la MT en donde existen zonas sin fibras que están ocupadas por vesículas que - tienen en su interior material granular similar al de la porción apical de la célula interdental, tam - bién existen en estos espacios vacuolas y vesículas. 12000x.



origen en el labio vestibular del limbo.

Las vesículas o vacuolas que existen en el espesor de la MT, son más numerosas cuanto más cerca estamos de su punto de origen. Estas vacuolas son muy similares a las -- que se encuentran en la porción apical de la célula interdental, incluso el material granular que tienen en su interior es igual al de aquellas (Fig. 42).

En el interior de la MT además de las vacuolas -- con un fino material electrodensó en su interior, existen otras que contienen un material denso a los electrones formando como una pequeña vacuola dentro de la propia vacuola (Fig. 43).

En esta zona de la MT existen espacios vacíos -- que tienen en su interior vacuolas de un tamaño muy variable y con un contenido cuya densidad a los electrones es -- muy diferente entre sí (Fig. 43).

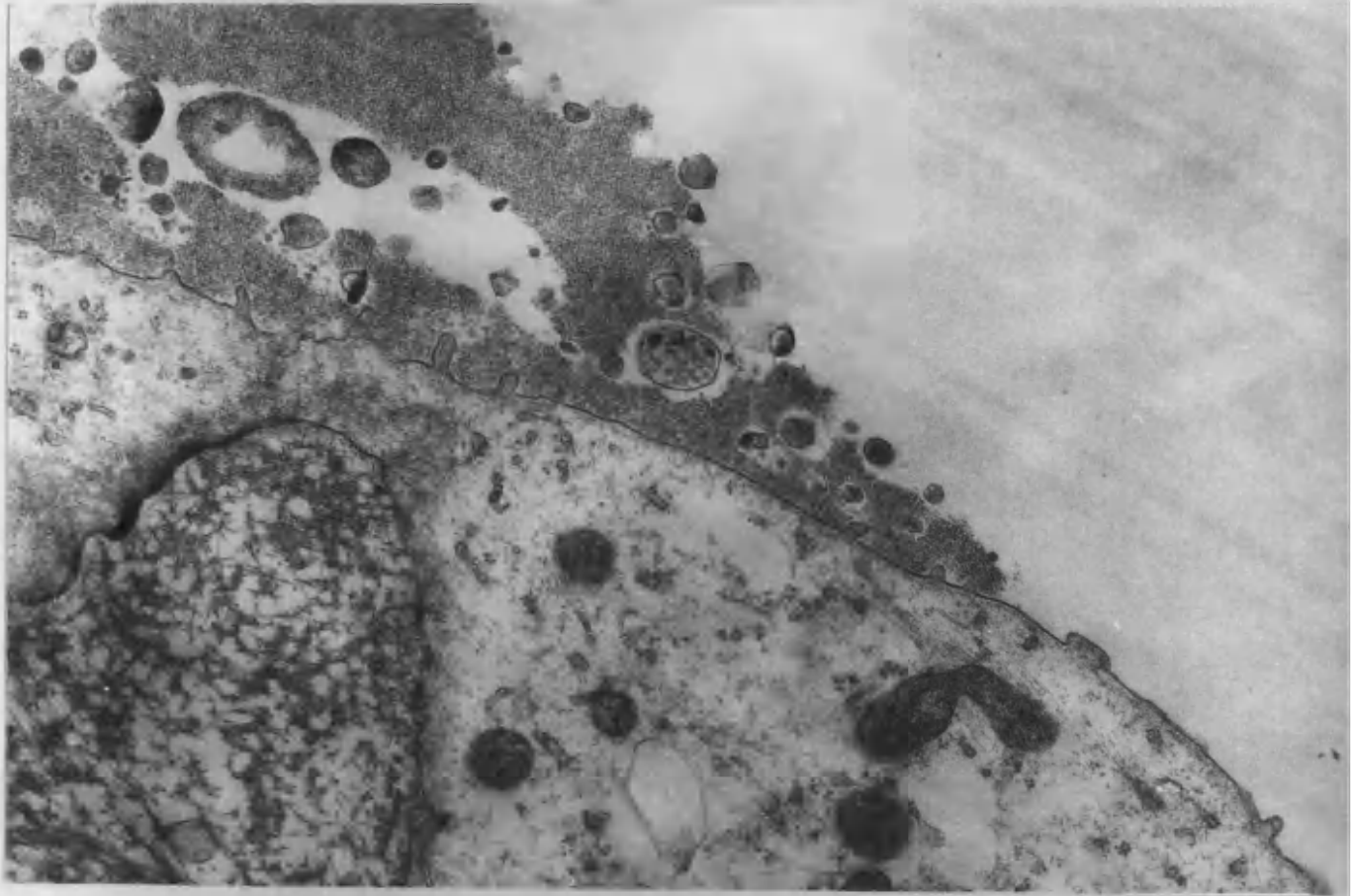
Las fibras de la MT tampoco tienen una estructura homogénea en toda su región de contacto con las células interdetales. Así en la zona más cercana a su origen podemos apreciar dos niveles de orientación, en el nivel más inferior, las fibras aparecen como cortadas de través mientras que en el nivel superior, la dirección es la misma que las fibras del cuerpo de la MT, cuando está sobre el órgano de Corti (Fig. 44). Al alejarnos de su origen en el limbo la capa más inferior de fibras va disminuyendo de tamaño -- hasta que desaparece, existiendo entonces una sola capa o nivel, ya homogéneo, de fibras en donde tienen todas la --

Fig. 43. Página siguiente, imagen superior.

Imagen similar a la de la Fig. 42, donde se observan también esos espacios vacíos de fibras en la MT, ocupados por vacuolas y material granular. 12000x.

Fig. 44. Página siguiente, imagen inferior.

MET de la región límbica de la MT donde se pueden observar los dos niveles de fibras, el superior - con una orientación perpendicular al eje longitudinal de la MT y el inferior paralelo a éste, por lo que aparece como cortado de través. 10000x.



misma dirección, siendo ésta la misma que hay en el cuerpo de la MT.

Así las fibras de la MT en esta región no tienen la misma dirección, sino que ésta es muy variable, si bien conforme nos acercamos al punto en que ésta se separa del limbo y queda suspendida sobre el órgano de Corti, las fibras van adoptando todas la misma dirección, es decir, quedan perpendiculares al eje longitudinal de la MT (Fig.45).

A lo largo de la zona de la MT que es sobre el limbo se pueden observar, como ya hemos mencionado, dos capas de fibras, una superior y otra inferior.

En esta capa inferior que está en contacto directo con las regiones apicales de las células interdentes, observamos que las fibras aparecen cortadas de través mientras que en la superior se disponen como si siguieran una dirección longitudinal.

La separación entre las dos capas de fibras es a veces muy evidente, incluso en algunos puntos y tal vez debido a la realización del corte, ha desaparecido la capa superior permaneciendo la inferior, como si este hecho nos pusiera en evidencia la existencia de dos capas de fibras claramente separadas entre sí. Esto no es así a lo largo de toda la región límbica de la MT, sino que conforme nos alejamos de su zona de origen, se homogeinizan ambas capas a expensas de la inferior, que progresivamente va disminuyendo de tamaño hasta que desaparece en el punto en que la MT se separa del limbo espiral elevándose.



Fig. 45. Imagen de MET donde se observa el punto en que la MT abandona el labio vestibular del limbo. Se -- aprecia claramente como todas las fibras se sitúan en un mismo plano con idéntica dirección. 10000x.

Según los resultados obtenidos, hay que concluir que la región límbica de la tectoria está formada por fibras que en su mayor parte tienen la función de fijar la MT al limbo. Estas fibras seguirían un eje vertical-oblicuo en relación con el eje longitudinal de la MT, así se fijarían junto con la substancia adherente a la porción horizontal de las células interdenciales. De ahí que las huellas de la región apical de estas células quede dibujada de una forma tan evidente, señalándose los límites de ésta.

B) Cuerpo de la MT:

El cuerpo de la MT es la región de esta estructura que se sitúa sobre el órgano de Corti, comprendiendo la zona entre la región límbica y la región marginal.

Lo primero que destaca en la observación del cuerpo de la MT mediante la microscopia de contraste de fases, es la uniformidad y la homogeneidad en la dirección de las fibras, éstas tienen su origen en el punto en que termina la zona distal de la región límbica, es un límite muy neto y evidente y desde este punto se dirigen las fibras hacia la región marginal, así debido a su dirección oblicua, éstas fibras forman con el eje longitudinal de la MT y del conducto coclear un ángulo de unos 60 grados (Fig. 46).

Debido al mayor grosor de la región del cuerpo en relación con la del limbo, podemos observar variando el enfoque del microscopio de contraste de fases, tres planos:

- Superior.
- Medio.
- Inferior o de relación con el órgano de Corti.

En el plano superior existe una elevada densidad de fibras que se mantiene a todo lo largo del cuerpo de la MT, excepto en su parte más distal, si bien consideramos que esto es debido a una ilusión óptica por el grosor máximo que presenta el cuerpo de la MT en las proximidades de la región marginal. Además hay que considerar en este punto la interferencia de los gruesos cordones de fibras que forman la red superior y que interfieren la visión de esta

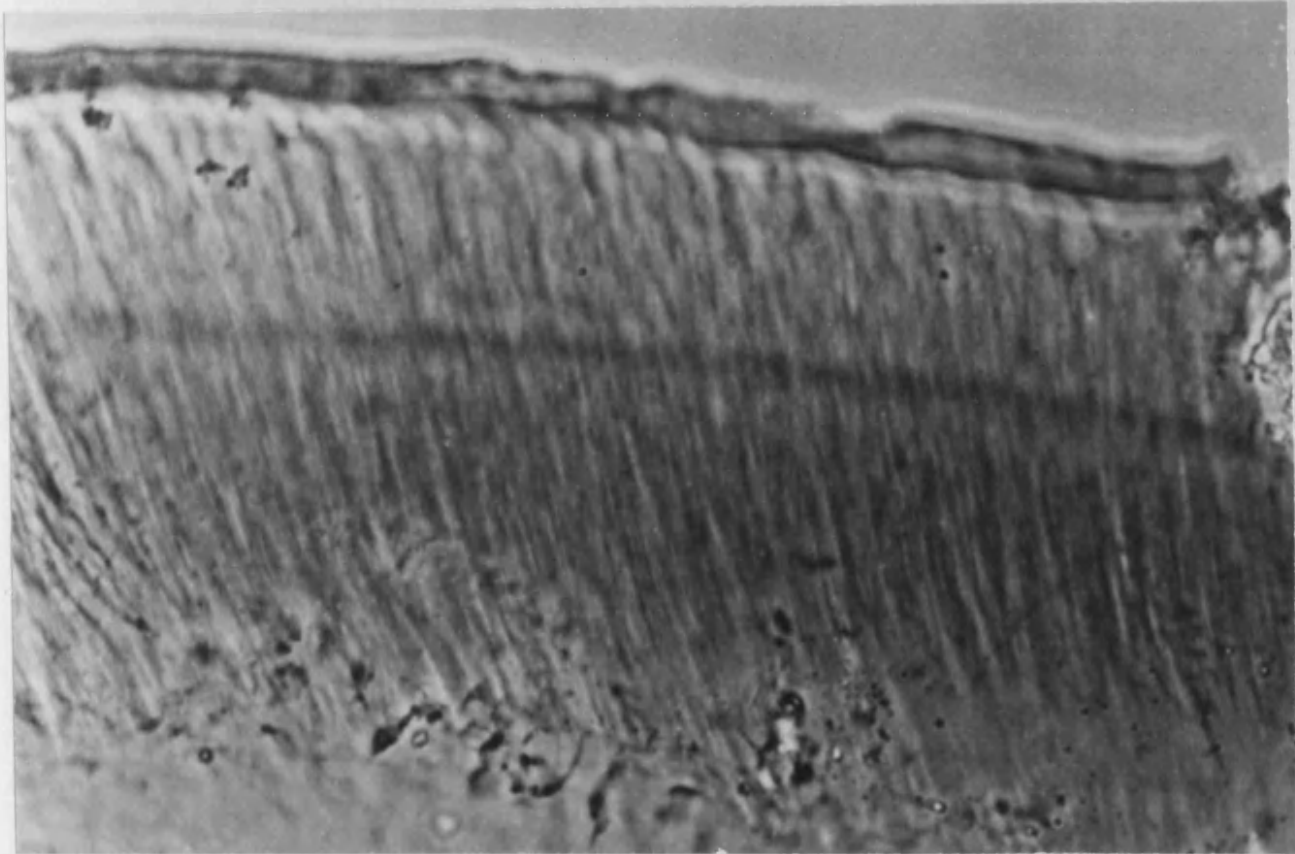


Fig. 46. Microscopia de contraste de fases del cuerpo de la MT, donde se observan las fibras que lo componen, - así como los límites de éstas y el ángulo que forman con el eje longitudinal de la MT. 40x.

parte distal (Fig. 47).

El plano medio o central es el que aparece como más homogéneo en las imágenes de contraste de fases, manteniendo las fibras las características ya descritas de uniformidad y dirección. También aparece en este plano y en su parte más distal, un aclaramiento o mayor transparencia de la MT, que es debido a la dificultad de enfoque en este plano por el grosor que tiene la parte distal de la MT (Fig. 48).

El plano inferior en relación con el órgano de Cortí, es el que parece ser más complejo cuando lo observamos con el microscopio de contraste de fases, apreciándose dos tipos de fibras claramente separadas por una línea en la que aparecen de forma irregular unas indentaciones, esta línea separa a la porción proximal del plano inferior de la distal. La porción proximal aparece como más densa y obscura mientras que la distal es menos transparente y densa, sin embargo en cuanto a la densidad de las fibras hay que señalar que cuando incrementamos el número de aumentos en el microscopio de contraste de fases se aprecia que ésta es la misma en ambos lados de la línea divisoria. Para nosotros esta línea no representa más que el borde proximal de la línea de Hensen y que debido a su altura aparece de forma muy marcada en el plano inferior, además la parte distal es de un menor grosor, ya que a partir de la banda de Hensen y hacia la región marginal, el cuerpo de la MT es menos grueso. En alguna ocasión podemos ver las dos líneas dentadas que limitan a la banda de Hensen (Fig. 49) .

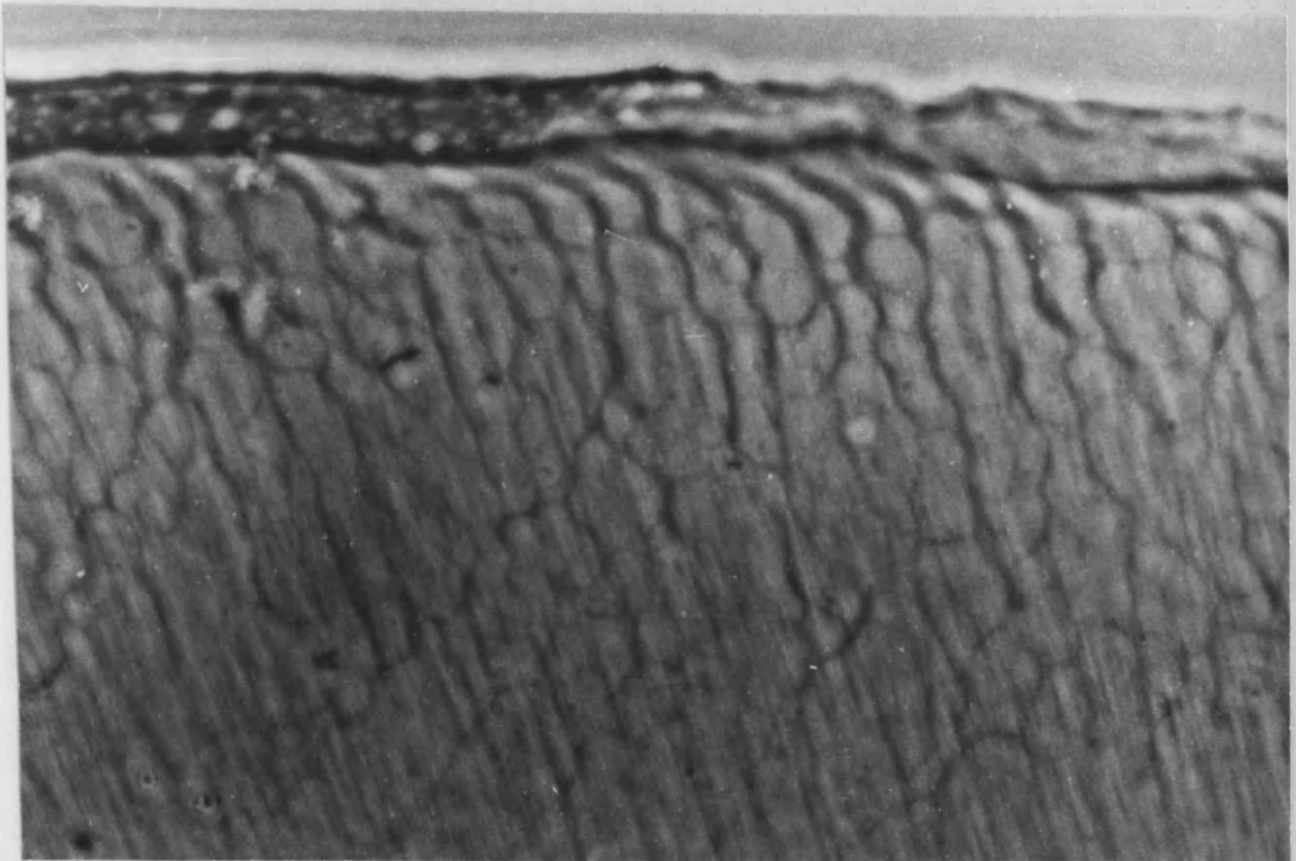


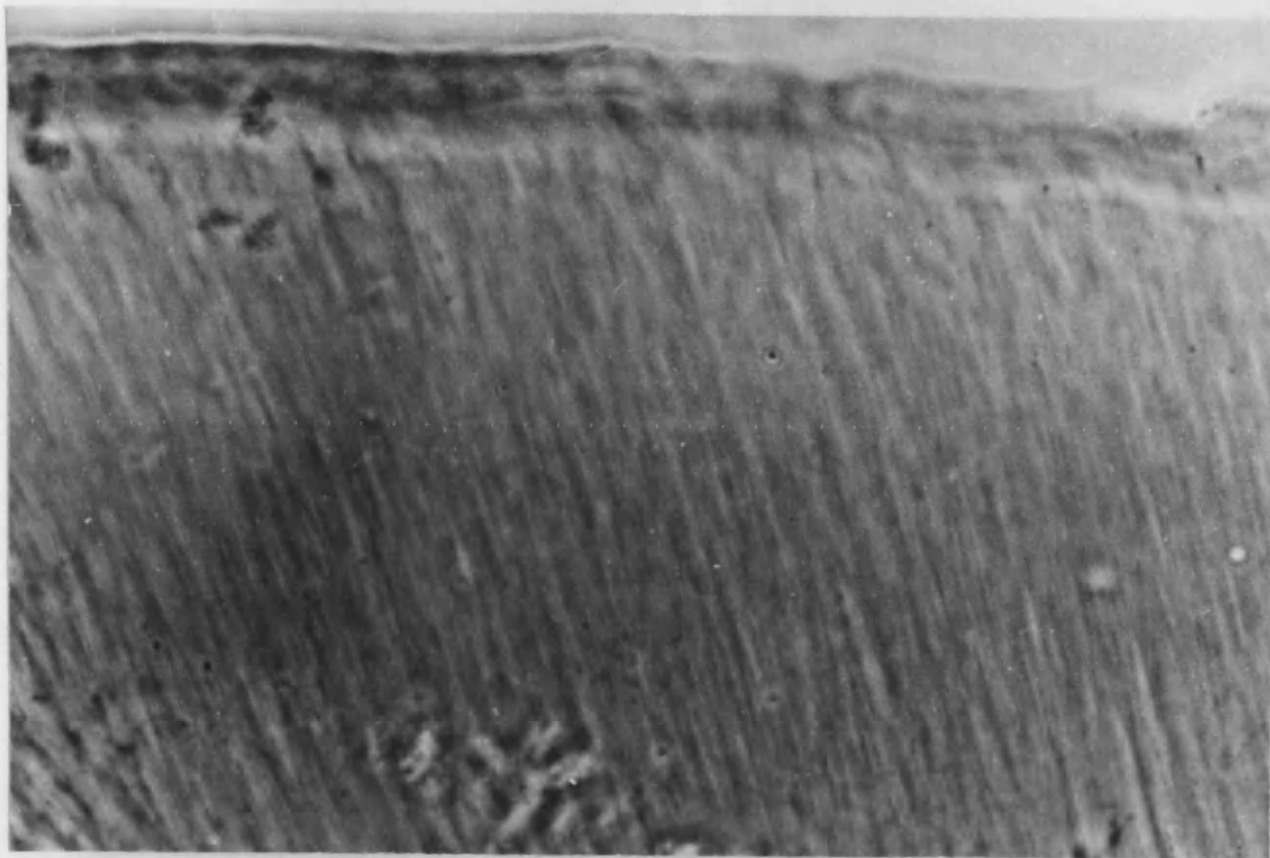
Fig. 47. Imagen de contraste de fases donde se aprecia el plano superior de fibras que forman el cuerpo de la MT y los gruesos cordones de fibras de la red superior que lo cubren. 60x.

Fig. 48. Página siguiente, imagen superior.

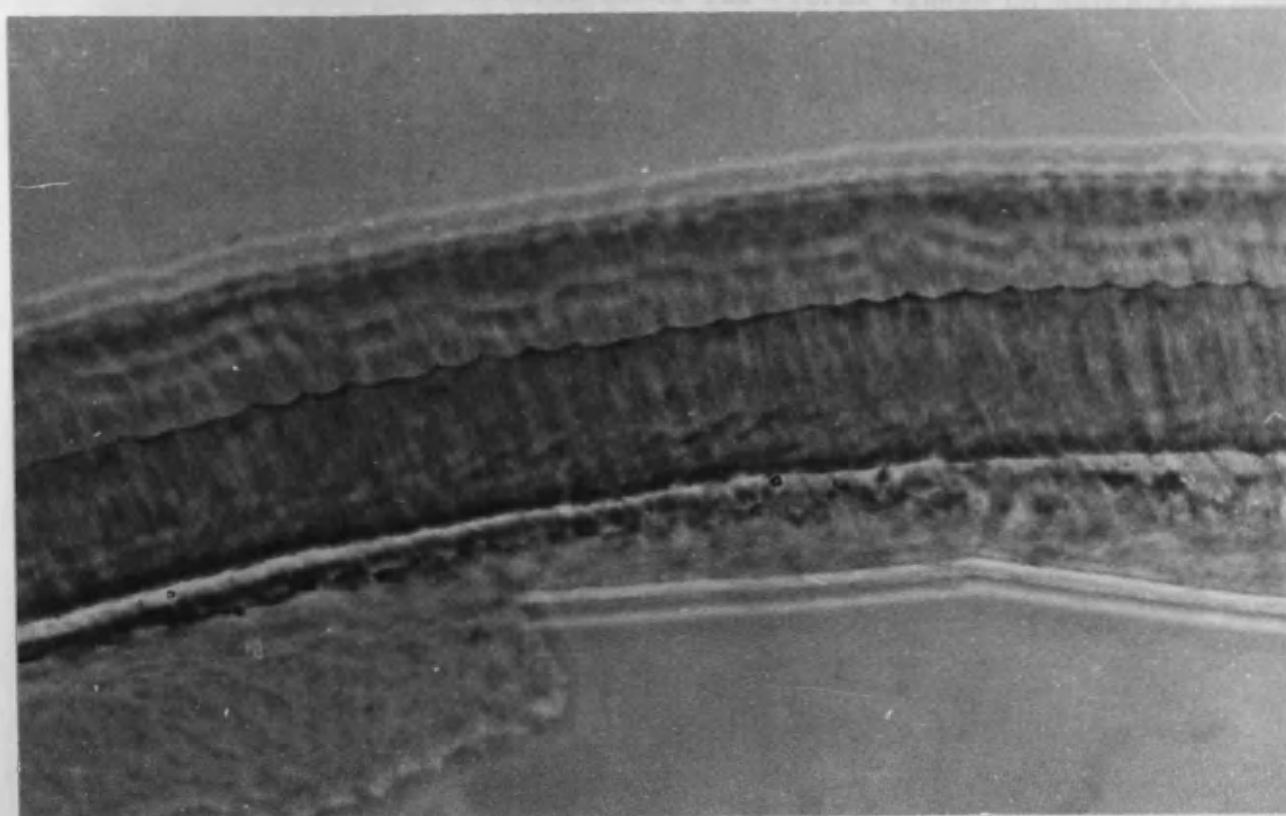
Donde se observan las fibras que forman el plano medio de la MT con sus características. 60x.

Fig. 49. Página siguiente, imagen inferior.

Donde se aprecia el plano inferior de fibras del cuerpo de la MT. Las fibras aparentemente parecen interrumpidas por el borde distal de la banda de Hensen, a ambos lados del mismo la densidad de fibras parece diferente. Imagen de microscopio de contraste de fases. 10x.



Micrograph showing a dense, fibrous structure, likely a cross-section of biological tissue.



Mediante la MEB y aprovechando una fractura en la continuidad de la superficie inferior de la MT, podemos observar su constitución interna, así se observan numerosas fibras que siguen la misma dirección que se apreciaba con la microscopia de contraste de fases, es decir son oblicuas al eje longitudinal de la MT, formando con él un ángulo de unos 60 grados.

También se aprecia con toda claridad como estas fibras no están separadas unas de otras, sino que están unidas entre sí formando una especie de red que recuerda a las raíces más finas de algunos vegetales. También se puede observar como el calibre de estas fibras aumenta conforme nos acercamos a la superficie para terminar en la propia cara inferior de la tectoria donde las fibras tienen un mayor tamaño (Fig. 50).

En otras imágenes a mayor aumento y con el MEB, podemos observar como las fibras más superficiales del cuerpo de la MT, en relación con su cara inferior, al separarlas parecen estar compuestas por otras fibras de menor calibre como lo demuestran los puentes fibrilares que quedan entre ellas. También se confirma a mayor aumento la existencia de unas fibras de menor calibre y longitud que sirven para mantener unidas a las fibras más gruesas del cuerpo (Fig. 51 y 99).

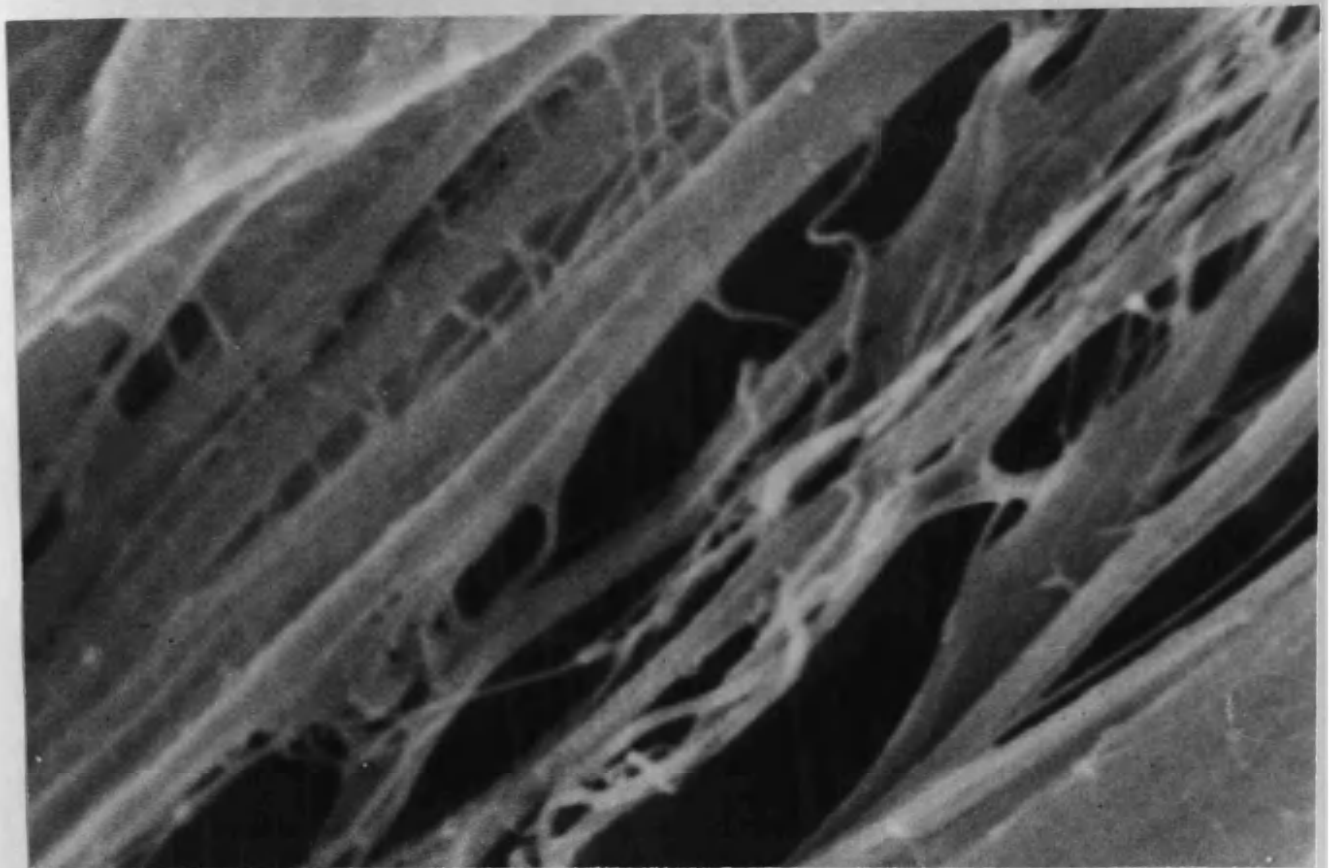
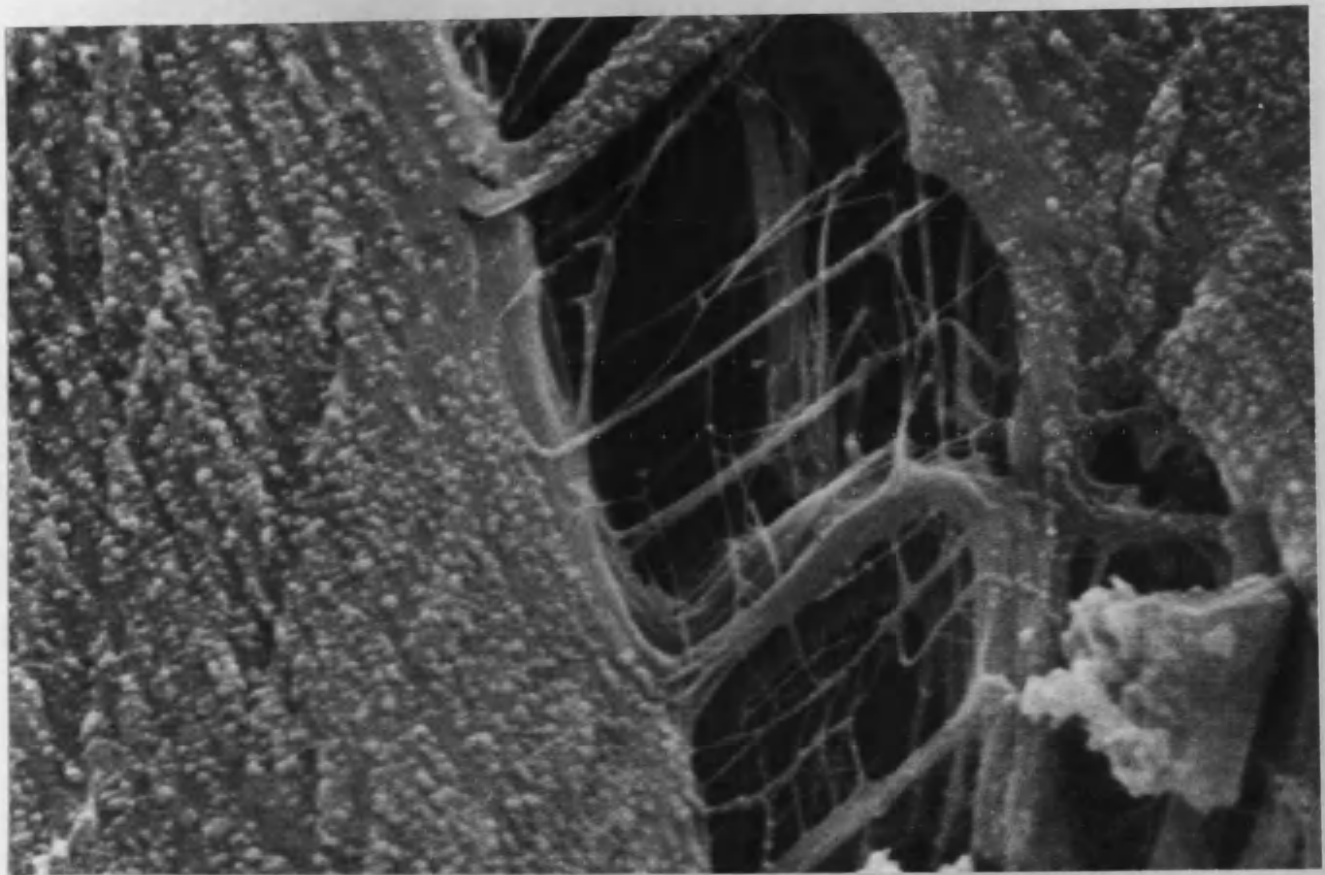
En la imagen de MEB que presentamos también aparace el borde proximal de la banda de Hensen donde se puede observar como éste se eleva sobre el nivel de la propia ban

Fig. 50. Página siguiente imagen superior.

Donde se aprecia mediante la MEB las fibras que componen el cuerpo de la MT, su dirección y la red que forman. 2.500x.

Fig. 51. Página siguiente imagen inferior.

Donde se observa al MEB el interior de la MT con los dos tipos de fibras que existen y que sirven para mantener su cohesión. 5.000x.



da, de ahí que aparezca a la microscopia de contraste de fases esa línea que divide al plano inferior del cuerpo de la MT en dos partes, esta imagen nos explica porque ocurre ésto con la microscopia de contraste de fases. También aquí se ve como aparecen las indentaciones de un modo regular (Fig. 99).

Al MET la MT está compuesta en esta región del cuerpo por fibras que parecen tener un calibre similar. Se distribuyen de forma muy regular a lo largo de la membrana siguiendo una dirección que es perpendicular al eje longitudinal del conducto coclear. Tanto en la parte más inferior como en la superior, existe una mayor concentración de fibras mientras que en la parte media del cuerpo ésta es menor.

No hemos encontrado ninguna membrana o estructura que apareciera en los cortes de MET limitando o rodeando a la MT, simplemente existe una mayor concentración de fibras a lo largo de la superficie de la MT.

Las fibras de la parte media aparecen como cortadas de través, mientras que las de las partes superior e inferior se observan en el mismo plano de corte, es decir, longitudinalmente, lo que una vez más nos lleva a pensar en la función de contención o límite de la superficie inferior y de la superior que cumplen estas fibras.

En esta región del cuerpo de la MT no existen espacios vacíos ocupados por vacuolas con un contenido granular electrodenso y con vesículas, como ocurría en la región límbica de la MT.

El calibre de las fibras es muy similar en toda esta región si bien en el borde próximo a las superficies superior e inferior existen fibras de un mayor calibre, - lo que tal vez tenga relación con la función de contención que pueden tener estas fibras (Fig. 52).



Fig. 52. Imagen de MET donde se aprecia la distribución de las fibras del cuerpo, con un plano inferior donde hay una mayor concentración de fibras y uno medio donde ésta es menor, asimismo la orientación de las fibras en cada plano es diferente. En el medio siguen el eje longitudinal de la MT y en el inferior y superior no. También se aprecian unas depresiones que KIMURA, R.S. (1966) relaciona con las huellas de los cilios de las CCE en la MT. Hay que destacar la ausencia en esta región del cuerpo de espacios vacíos. 15000x.

C) Región marginal:

La observación y estudio del borde marginal o margen externo de la MT, es complicada debido al grosor de éste y a la superposición de los planos que lo componen. Asimismo su configuración externa dependerá en gran parte de - como hayamos disecado la MT del conducto coclear ya que esto puede alterar su configuración interna al elongar las fibras, además de que la superposición de la red marginal nos dificultará su visión.

Al microscopio de contraste de fases la región marginal de la MT parece claramente diferenciado como formación que recorre el borde externo de la MT, siguiendo su eje longitudinal y con un límite muy neto que lo separa del cuerpo de la tectoria del que no es más que una continuidad. Aparece como una formación poco transparente a la luz, pero sin embargo en este estrecho pasillo oscuro existen unos puntos claros que dan la sensación de estar vacíos y que se - distribuyen de forma irregular. Esto en nuestra opinión es consecuencia de la gran densidad de planos que se cruzan en el borde de la tectoria. Así parecen intuirse unas fibras - que seguirían la dirección del eje longitudinal de la tectoria y del conducto coclear que a su vez serían perpendiculares a las fibras del cuerpo de la MT o mejor dicho casi perpendiculares. Por otro lado las zonas que para nosotros aparecían como vacías se corresponderían a los pilares o fibras más fuertes de la red marginal del complejo marginal que durante la disección habrían sido arrancadas, llevándose consigo parte de este borde marginal (Fig. 53).

En la espira basal y debido a la anchura del borde marginal de la MT y a consecuencia de la superposición de parte de su cuerpo da la impresión de que en el interior de este borde marginal existen fibras que siguen la misma dirección que las del cuerpo de la tectoria.

La anchura de este borde marginal no es constante a todo lo largo de su longitud, así es más amplio en la espira basal y la zona menos ancha se corresponde con la espira apical. Además en estos puntos la amplitud tampoco es uniforme, sino más bien irregular, esto es debido a las tracciones que sufre el borde durante su disección, por lo que también presenta unas ondulaciones propias de la tracción que ha sufrido (Fig. 54).

Hay que destacar que del borde proximal de esta región marginal nacen unas fibras que se dirigen proximalmente sobre el cuerpo de la MT, estas fibras son superficiales aunque debido a su grosor aparecen en los planos profundos de la microscopia de contraste de fases. Tienen un aspecto como de raicillas y a su vez emiten unas prolongaciones laterales que parecen contactar con las de las fibras vecinas (Fig. 53).

Al MET la región marginal de la MT difiere en muchas características de las zonas anteriormente descritas, así tanto el aspecto como el calibre o la morfología y la dirección de las fibras parece variar mucho.

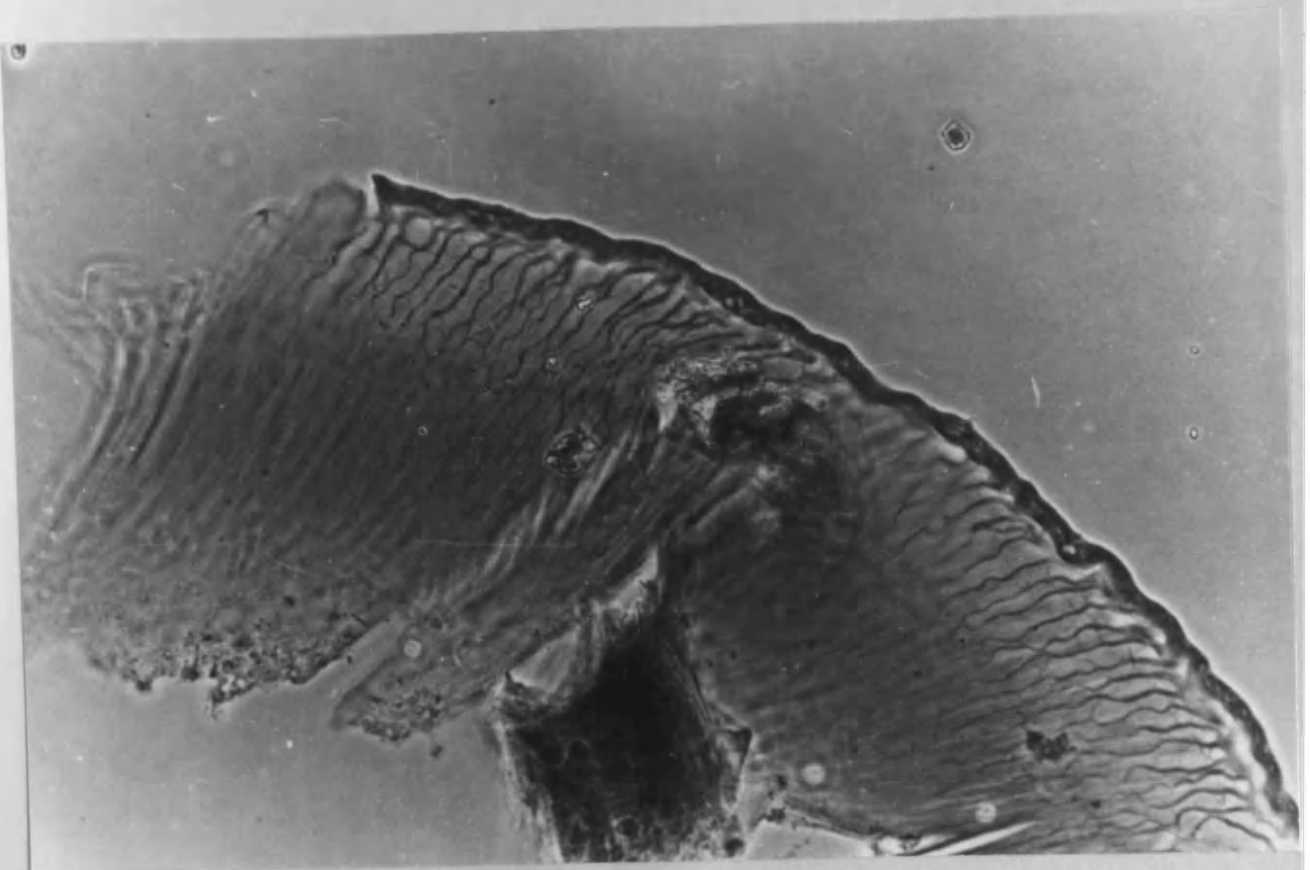
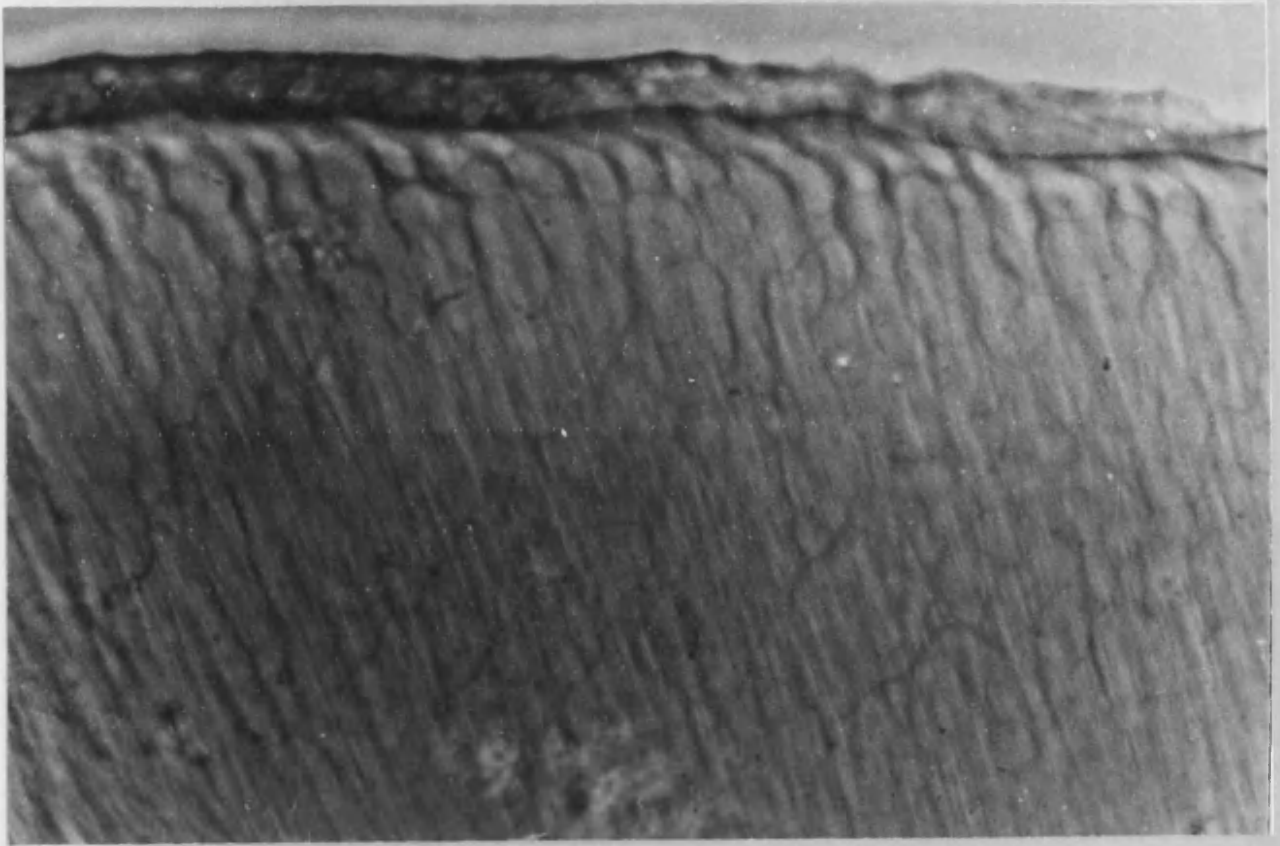
El aspecto es mucho más uniforme entre sí que en otras zonas de la MT, pudiendo apreciarse claramente dife-

Fig. 53. Página siguiente, imagen superior.

Donde se observa la región marginal de la MT por donde van unas fibras gruesas que siguen el eje longitudinal de la MT. Asimismo se aprecian los espacios lacunares vacíos que señalamos. También se observan las fibras superficiales que tienen su origen en el borde marginal. 60x.

Fig. 54. Página siguiente, imagen inferior.

Donde se pueden apreciar las irregularidades y ondulaciones de la región marginal. 40x.



renciadas y separadas por una región de fibras que también tienen un aspecto uniforme entre ellas. Tal vez la apreciación de estas zonas sea debida a la flexión superior que sufre la MT en el curso del proceso de fijación y preparación para la visualización con la MET. (Fig. 55).

Es de destacar que en el punto que parece estar el ángulo de flexión, su centro, existe una agrupación de fibras de gran densidad y claramente diferenciadas de las que les rodean (Fig. 55).

En esta región aparecen zonas vacías en blanco que pueden ser debidas a fenómenos de artefactos de la preparación, si bien hay que señalar que solo aparecen en la región más inferior y que está más en relación con el órgano de Corti (Fig. 56).

En cuanto al calibre de las fibras, aquí es más difícil de evaluar aunque éste parece ser mayor en la zona más externa o periférica del borde libre de la MT.

La dirección de las fibras es aquí diferente del resto de la MT, pareciendo que estas fibras estuvieran cortadas parcialmente de través, como si la dirección de las fibras en esta zona fuera perpendicular a la de las fibras de la superficie inferior de la MT, es decir, parcialmente paralelas al eje longitudinal del conducto coclear (Fig. 55).

En esta región parece que hay un mayor número de fibras que en las otras zonas de la MT, o sea que existe una mayor concentración, aunque hay que decir que ésta es más intensa en la parte periférica o inferior que en la --

inmediatamente más medial o superior. Sin embargo la máxima concentración de fibras parece darse en la zona más electrón densa que separa las dos regiones anteriormente mencionadas. Para nosotros estas zonas de mayor densidad, verdaderos cor dones fibrosos, que se corresponderían con los relieves cor donales que aparecen en esta región marginal tanto en la mi croscopia de contraste de fases como en la de interferencia diferencial de Nomarski. Lo que nos da pie para pensar en la especial consistencia de esta región de la MT para que pueda ser uno de los pilares fundamentales de su unión con el órgano de Corti subyacente (Fig. 56).

Una vez que hemos descrito la arquitectura inter na de la MT nos centraremos en el estudio de las caras superior e inferior de la membrana, así como de su borde mar ginal. Es decir estudiaremos la superficie de la tectoria, y para este menester tenemos a nuestra disposición dos métodos de observación que son los más idóneos para estudiar superficies, la microscopia de interferencia diferencial de Nomarski y la MEB.

A) Cara o superficie superior:

En esta cara superior que es la más homogénea de las dos, podemos distinguir tres zonas:

1) Zona límbica:

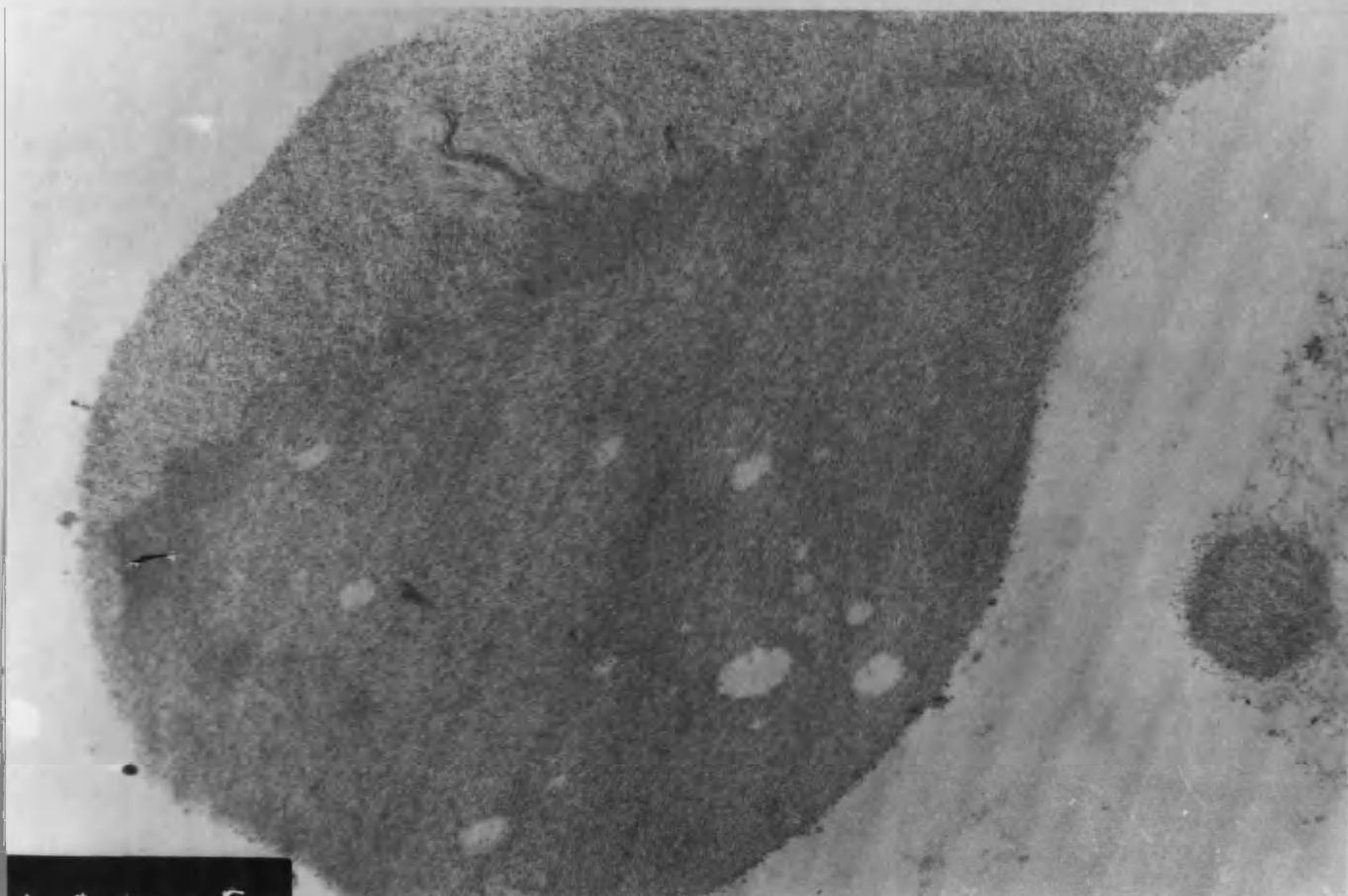
Se corresponde con la zona de la MT que reposa so bre las células interdentes del labio vestibular del lim bo. Mediante la microscopia de Nomarski observamos el re lieve de las huellas dejadas por las partes horizontales de

Fig. 55. Página siguiente, imagen superior.

Imagen de MET de la región marginal de la MT donde se observan las diferentes capas de fibras que lo componen, así como su orientación y el ángulo de flexión. También se aprecian lo que según KIMURA, R.S. (1966), serían huellas de los cilios de las CCE. 14000x.

Fig. 56. Página siguiente, imagen inferior.

Donde se observa la región marginal con los tres diferentes niveles de fibras que lo constituyen, sus diferentes densidades, así como unos espacios en blanco que podrían ser artefactos de la preparación. MET. 12000x.



las células interdentales, es la misma imagen que observábamos con la microscopia de contraste de fases. Con la técnica de Nomarski se aprecia como se trata de huellas que "excavan" la MT y dejan unos surcos a su alrededor. Debido al gran tamaño que presentan tanto en la microscopia de -- contraste de fases como en la de Nomarski tal vez no sean simplemente las huellas de las porciones horizontales de las células interdentales, sino también de las fibras y substancia amorfa de la región límbica de la MT que sirven de sujeción a ésta en el labio vestibular del limbo. Así en la microscopia de interferencia diferencial se aprecia incluso como estas huellas o señales también existían en la parte más proximal de la superficie superior que se correspondería con el cuerpo de la tectoria, en esta zona vemos como progresivamente se borran las huellas y aparecen los relieves de las propias fibras del cuerpo de la MT (Fig. 57).

2) Región del cuerpo de la MT:

La superficie del cuerpo de la MT como tal queda muy reducida, ya que está camuflada entre las huellas anteriormente descritas de la región del margen. Aquí apreciamos de forma muy evidente los relieves que forman en la superficie las fibras que recorren el cuerpo de la MT, aunque el espacio superficial que abarcan no se corresponde con el espacio descrito como cuerpo de la MT al estudiar su arqutectura interna, ya que como hemos mencionado se halla parcialmente cubierto por las huellas de las células interdentales y por las fibras que se originan en el margen externo de la MT (Fig. 58).

3) Región marginal:

Aunque esta región marginal de la MT la describiremos aparte por la complejidad que tiene, aquí la incluimos en la superficie superior de la MT, debido a que esta cara de la membrana está surcada por unas gruesas fibras-- que tienen su origen en este margen y desde este punto y de forma regular salen con dirección proximal para progresivamente ir perdiendo calibre hasta que llegamos a un punto en que no las podemos seguir más con la microscopia de Nomarski. Estas fibras no tienen una dirección recta sino que van zigzagueando por la superficie superior de la MT y fundiéndose con las fibras vecinas por lo que conformarían una verdadera red, que llegaría incluso hasta la superficie del cuerpo de la MT (Fig. 58).

El estudio de la cara superior de la MT con la MEB nos depara alguna que otra diferencia con las imágenes obtenidas mediante la microscopia de interferencia diferencial de Nomarski. Hemos de señalar que aquí no se han podido obtener imágenes de la zona límbica debido a su situación -- anatómica.

La imagen que aparece es la de una superficie totalmente cubierta por una fina red de fibras, en la que éstas apenas sobresalen, las fibras más gruesas son perpendiculares o casi perpendiculares al eje longitudinal de la MT. Entre estas gruesas fibras y uniéndolas existen unas fibrillas que ayudan a conformar esta red superficial superior, red que no llega hasta la parte más proximal del cuer



Fig. 57. Imagen de la superficie de la región límbica obtenida por medio de la técnica de microscopía de interferencia diferencial de Nomarski, donde se aprecian las huellas de las células interdientales que excavan la substancia amorfa de la MT, también se observa como estas huellas desaparecen progresivamente conforme avanzamos hacia el cuerpo de la MT.

40x2x

po de la tectoria, donde esta superficie aparece llena de depresiones y elevaciones que se alternan de forma regular. Hay que señalar la existencia de un punto entre las dos regiones descritas donde existen unas fibras que son casi -- perpendiculares a las gruesas fibras anteriormente citadas y por tanto casi paralelas al eje longitudinal de la tectoria (Fig. 59).

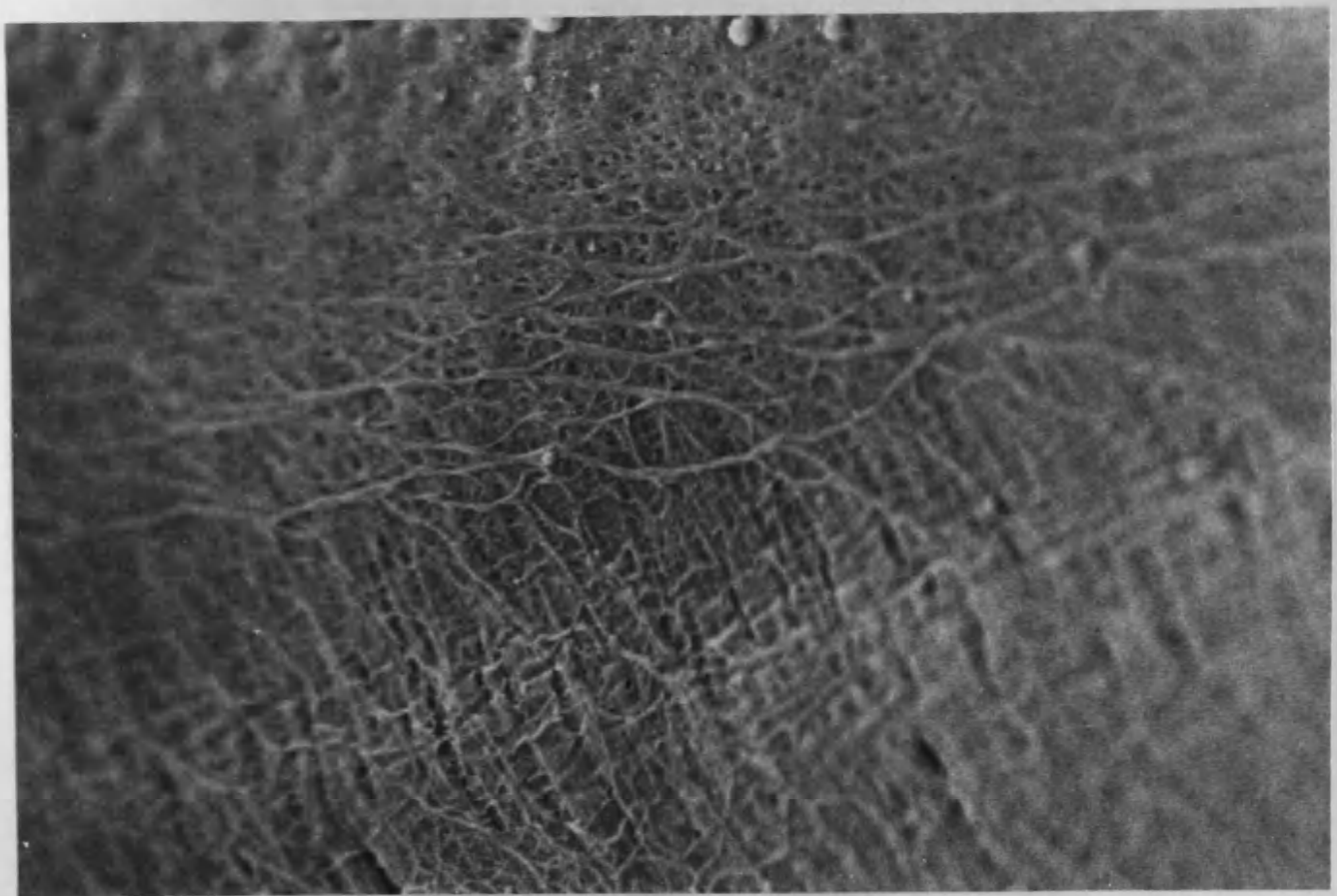
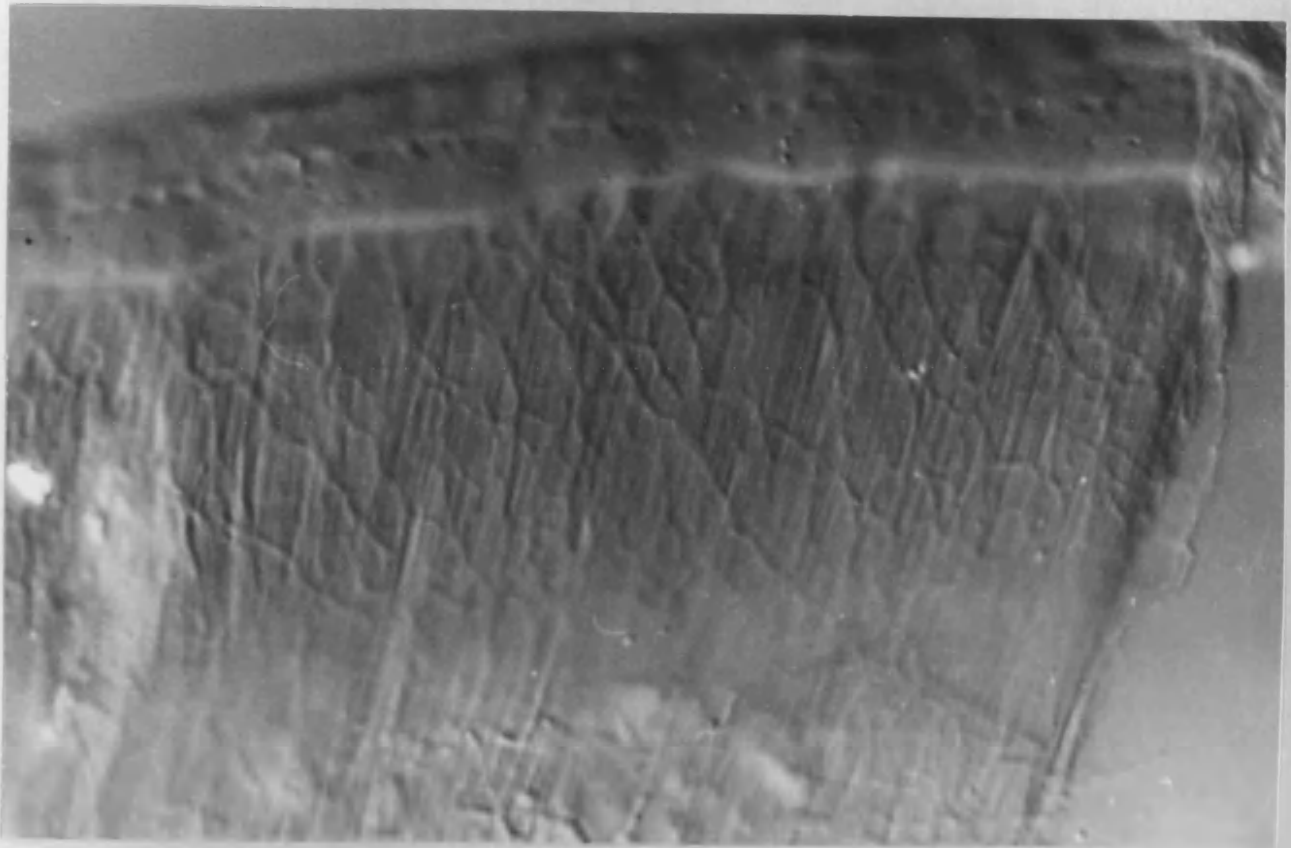
Para nosotros esta imagen obtenida mediante la MEB es sin embargo muy similar a lo observado mediante la microscopia de Nomarski, sobre todo si tenemos en cuenta las técnicas de preparación de las muestras que se utilizan en cada tipo de microscopia, pues mientras que con el método de observación de Nomarski la pieza se estudia en fresco con la MEB la muestra va a ser sometida a unos procesos de fijación, tinción, deshidratación, etc... que provocarán una mínima pero evidente retracción de la MI y por tanto de sus fibras, por lo que en nuestra opinión las imágenes obtenidas en ambos casos son totalmente correspondientes.

Fig. 58. Página siguiente imagen superior.

Obtenida con la técnica de Nomarski y correspondiente a la superficie superior del cuerpo de la MT, donde se observa como esta queda enmascarada por las gruesas fibras procedentes del margen de la MT y por las de la parte distal de la región límbica. 20x1.25x.

Fig. 59. Página siguiente imagen inferior.

De la red de superficie superior de la MT donde se aprecia la fina red de fibrillas que la cubren. -- 700x.



B) Cara o superficie inferior:

La apariencia de la superficie inferior de la tectoria cuando la estudiamos mediante la MEB es la de una estructura con un gran componente fibrilar, que es muy homogéneo y uniforme y que está atravesada toda ella por una superficie lisa que sigue de forma totalmente paralela el eje longitudinal del conducto coclear y de la MT. En esta superficie lisa observamos como por un lado desaparecen -- las fibras proximales, que parecen fundirse, y por otro lado nacen las fibras distales del cuerpo de la MT que van a terminar en su margen externo (Fig. 60). Sin embargo esta imagen puede ser totalmente distinta y aparecer ante nosotros esta superficie como un magma de redes fibrilares que se entrecruzan sin ningún tipo de orden o dirección (Fig. 61).

Estos dos diferentes aspectos de la MT se corresponden con el grado de deshidratación al que hayamos sometido a la tectoria, si ha sido lenta y no muy intensa obtendremos la segunda imagen, (Fig. 61), si ha sido rápida e intensa observaremos entonces la primera de las imágenes descritas (Fig. 60).

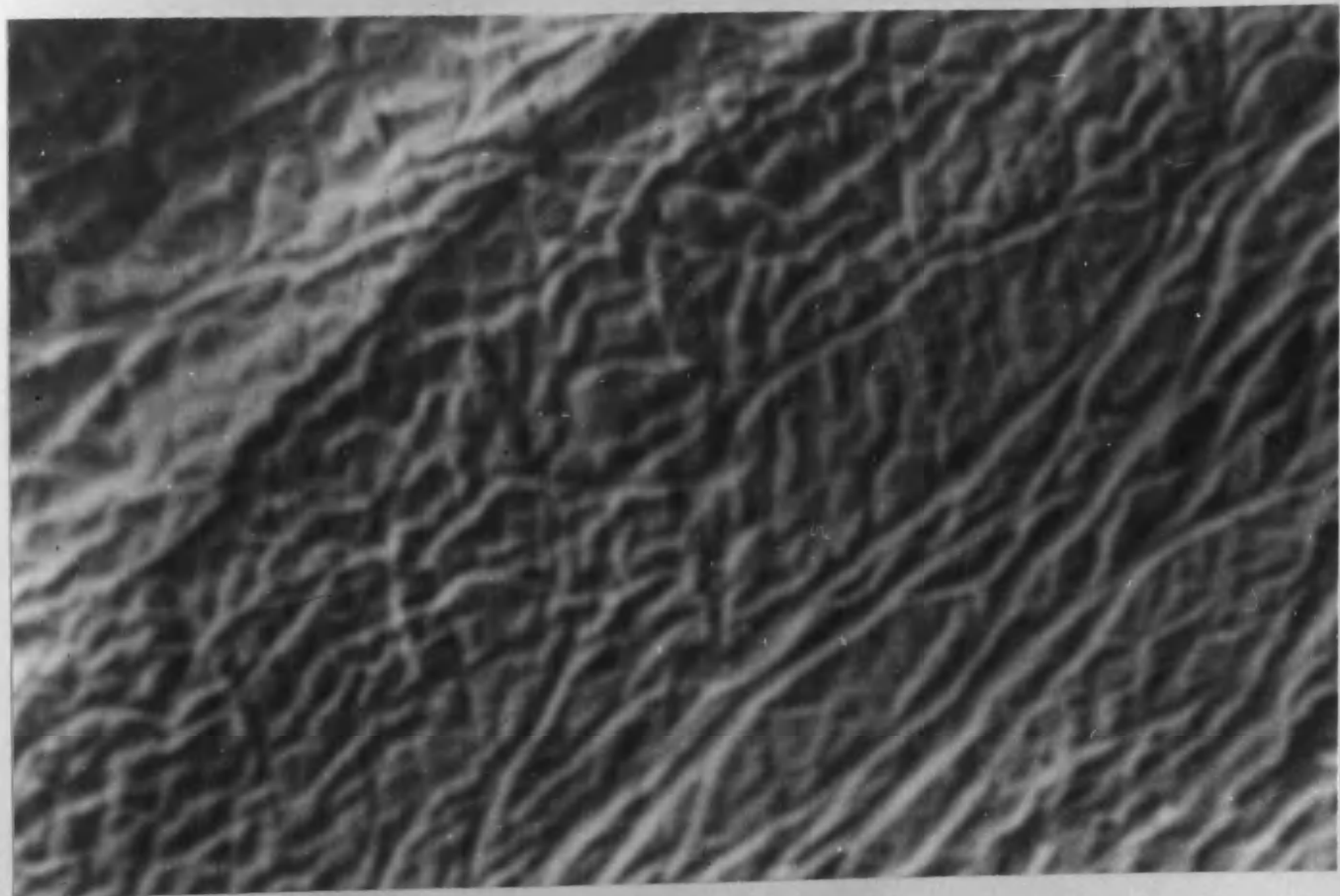
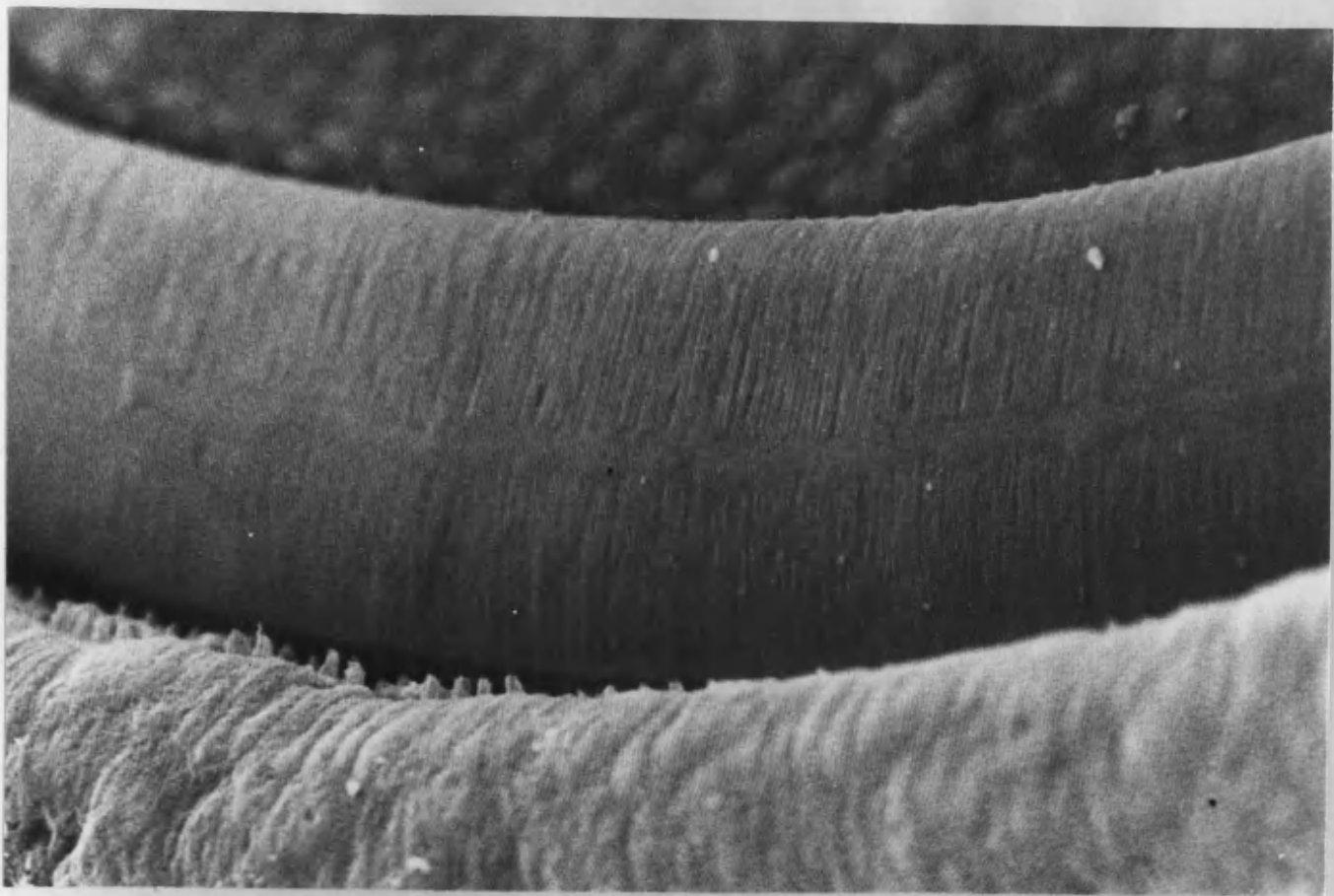
Con la microscopia de interferencia diferencial de Nomarski, al utilizar especímenes en fresco no sometidos a la deshidratación, la imagen que observaremos será siempre la misma y ésta viene representada por las fibras del cuerpo de la MT que hacen relieve en la substancia y red superficial inferior, lo que nos da una imagen muy unifor-

Fig. 60. Página siguiente imagen superior.

Donde se aprecia una visión general al MEB de la superficie inferior de la MT, observándose como es atravesada por la banda de Hensen así como que las fibras quedan interrumpidas por la banda de Hensen. 320x.

Fig. 61. Página siguiente imagen inferior.

Obtenida también mediante MEB pudiendo observarse la red de fibras que la forman. Se trata de una muestra que fué sometida a una deshidratación muy lenta. 1400x.



me, que solo se ve turbada por la existencia de la banda de Hensen que atraviesa toda la superficie inferior de la tectoria, siguiendo su eje longitudinal. Los bordes de la banda de Hensen, sobre todo el borde proximal parece que se elevan sobre la superficie inferior de la membrana. En el borde proximal de la banda aparecen de forma muy regular unas elevaciones que además terminan en una formación redondeada o globulosa, esto se observa cuando el plano que estudiamos es el superficial, en un plano ligeramente más profundo solo observamos a las fibras del cuerpo de la MT, -- aunque se aprecie también la proyección de esta banda de Hensen. Esta será más o menos evidente según la profundidad del plano que estemos estudiando con la técnica de Nomarski (Fig. 62).

Cuando estudiamos esta superficie al MEB da la impresión de tener una estructura uniforme independientemente de su grado de hidratación, excepto en la banda de Hensen que rompe siempre esta homogeneidad, por lo que esta banda nos sirve para dividir a la cara inferior de la MT en dos zonas una proximal al modiollo y otra distal.

La zona proximal se presenta siempre con unas características particulares, su zona más próxima al punto en que se despega del labio vestibular del limbo no aparece en ningún caso surcada por fibras, sino por unas depresiones y elevaciones de la superficie. Esta zona queda limitada diatalmente por unas fibras que recorren a la MT siguiendo su eje longitudinal, desde este punto y en dirección distal -- nacen las fibras o mejor dicho la red de fibras que recorren

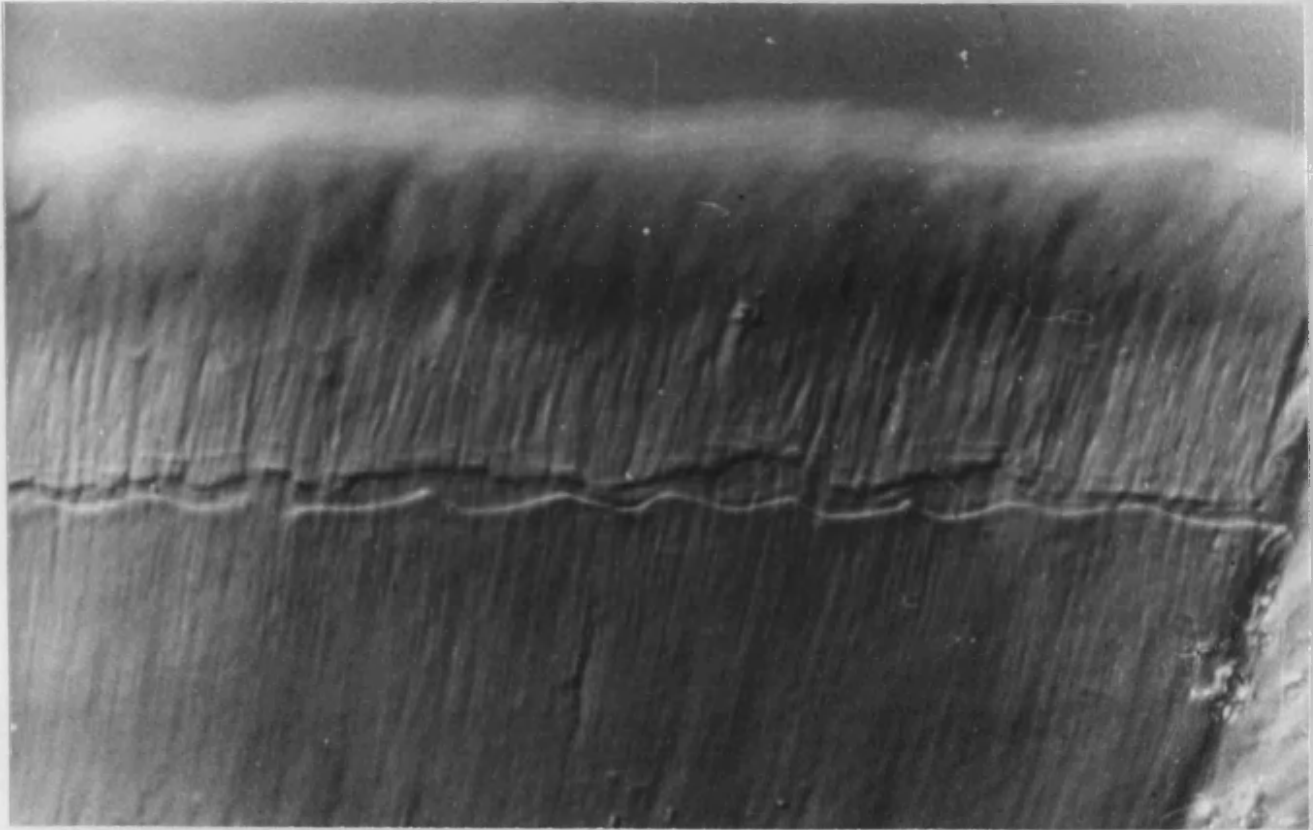


Fig. 62. Imagen obtenida mediante la técnica de Nomarski donde se observa a la banda de Hensen con sus bordes -- elevados sobre el plano de la superficie inferior de la MT. En el borde proximal al modiollo aparecen unas formaciones arqueadas regularmente distribuídas y en cuyos extremos existe una formación esférica. En profundidad se pueden apreciar las fibras del cuerpo de la MT. 20xl. 1.6x.

su cara inferior. La homogeneidad de esta zona es total y se mantiene así hasta que llega a la banda de Hensen (Fig. 63).

La zona distal a partir de la banda de Hensen tiene las mismas características que la zona proximal, hasta que llega a las proximidades del borde marginal de la tectoria, ya que sus fibras la deforman en su parte más distal.

La banda de Hensen, como ya hemos descrito, es una superficie lisa que viene a ocupar aproximadamente la parte central de esta cara inferior de la MT y tiene una dirección que sigue en su totalidad al eje longitudinal del conducto coclear.

Incrementando el número de aumentos del MEB, observamos como las fibras proximales del cuerpo de la MT desaparecen, pareciendo fundirse, al llegar al borde proximal de la banda de Hensen, mientras que por el otro borde se observa como surgen otra vez las fibras del cuerpo (Fig. 64).

La propia estructura de la banda de Hensen es diferente cuando se trata de una MT que ha sufrido una deshidratación lenta y cuando ésta ha sido rápida. Así cuando la deshidratación ha sido rápida la superficie de la banda aparece con unos surcos que siguen aproximadamente la misma dirección que las fibras del cuerpo de la MT, también aparecen en la superficie unas granulaciones que podrían ser interpretadas como artefactos producidos por la contaminación pero que aquí son observados en mayor número que en otras partes de la tectoria que también han sufrido la contamina-

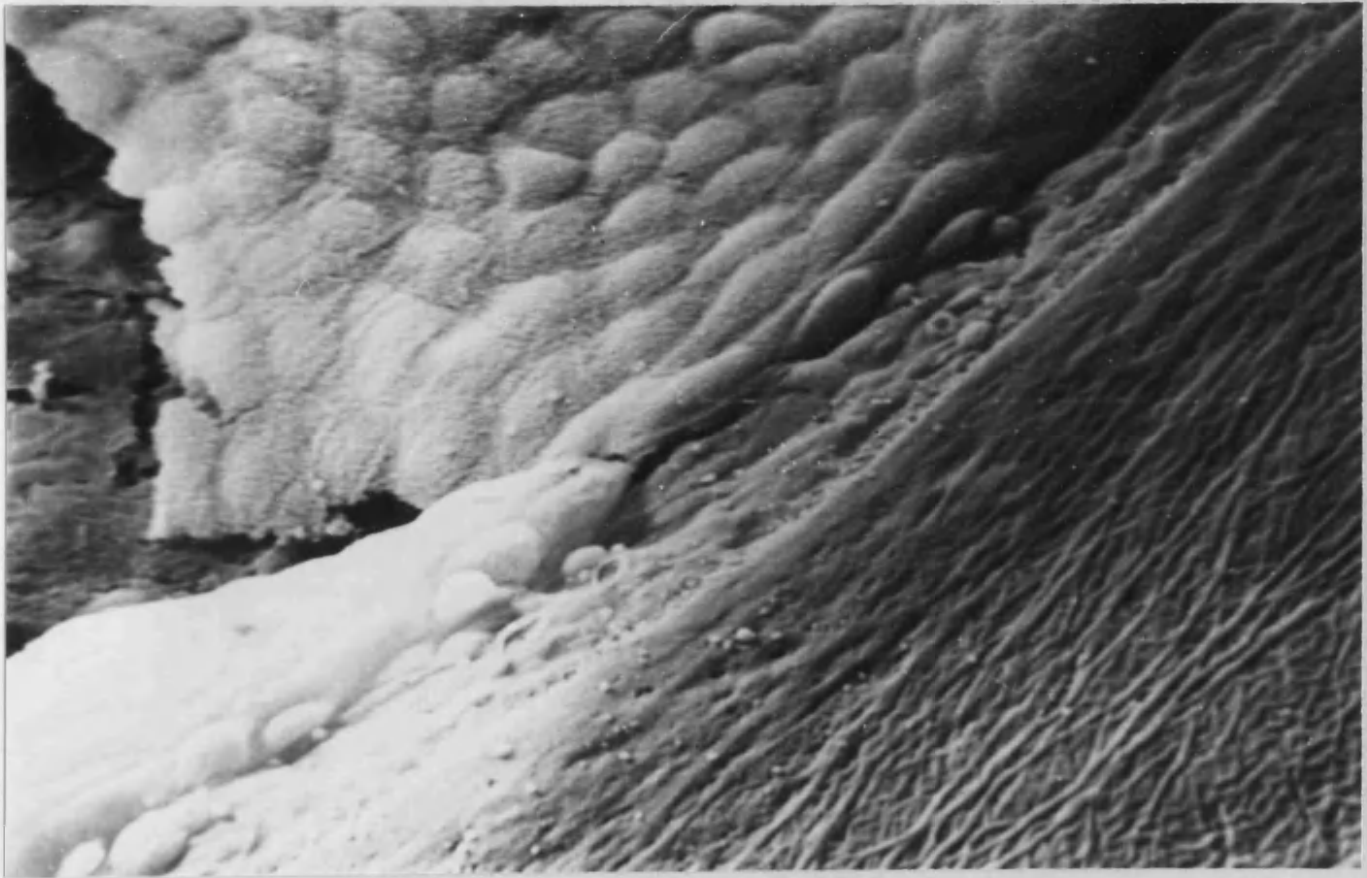


Fig. 63. Imagen de MEB de la superficie inferior de la MT - donde se observa en la región límbica, cercana al punto en que se despega del labio vestibular del limbo, una serie de depresiones y elevaciones, proximalmente al modiolus existen una serie de fibras que siguen el eje de la MT. 1000x.

ción e incluso siguen apareciendo cuando en otras zonas de la tectoria no existe contaminación (Fig. 64).

Cuando la MT ha sufrido una deshidratación lenta los bordes de la banda de Hensen aparecen elevados sobre la superficie de la tectoria y parecen estar formados por una fusión de fibras o por una sustancia amorfa. Hay que destacar que en estos casos si bien el borde distal aparece ocasionalmente interrumpido, esto no ocurre con el proximal, - además en este y de forma regular, aparecen unas formaciones más o menos redondeadas que se corresponden con las observadas en la microscopia de interferencia diferencial de Nomarski (Fig. 65).

Si utilizamos mayores aumentos para estudiar mediante la MEB, las fibras que recubren la cara inferior de la MT, observaremos como la red de fibras superficial cubre a las fibras más inferiores que forman el cuerpo de la tectoria. La dirección de esta red superficial parece ser oblicua en relación con las fibras del cuerpo con las que forma un ángulo de 60 grados (Fig. 66).

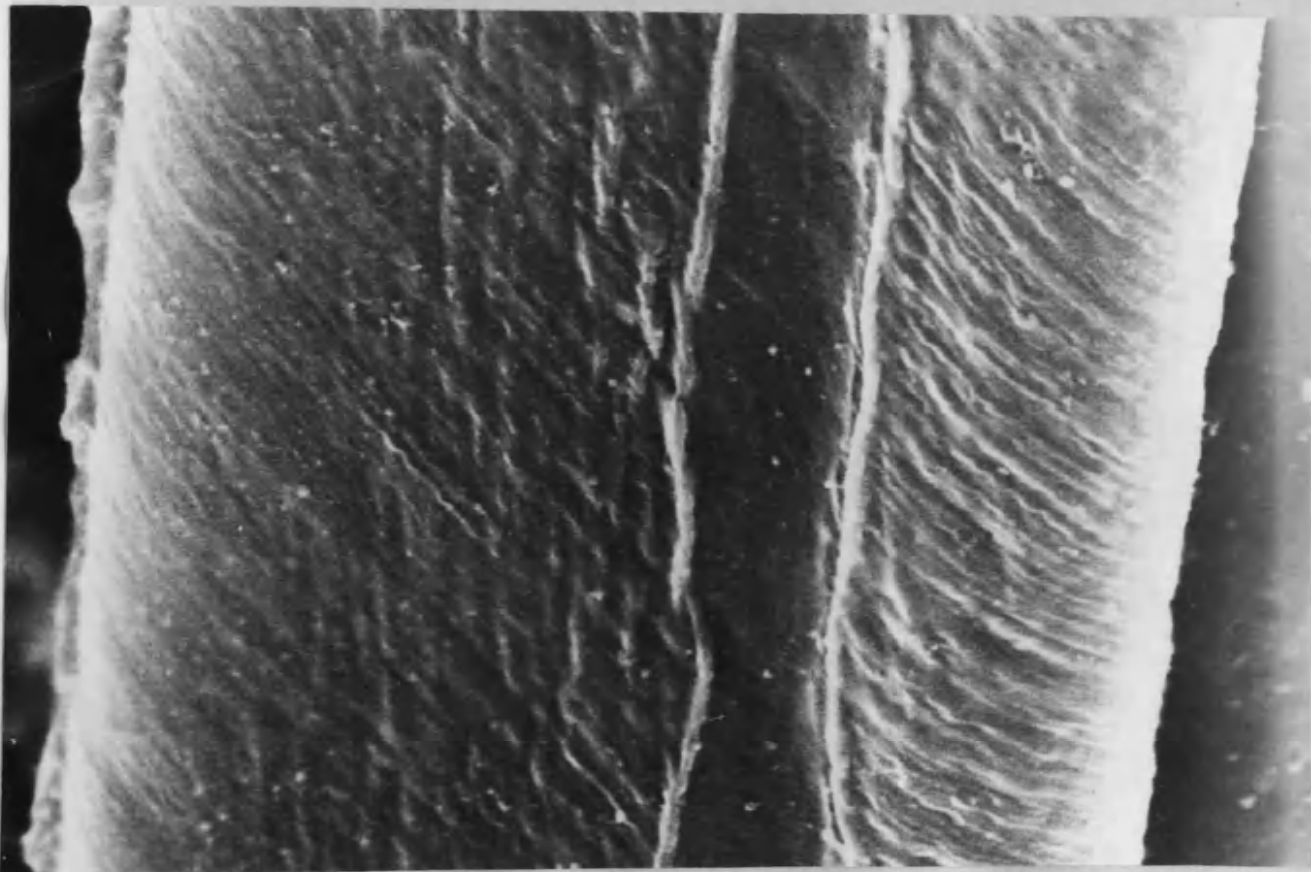
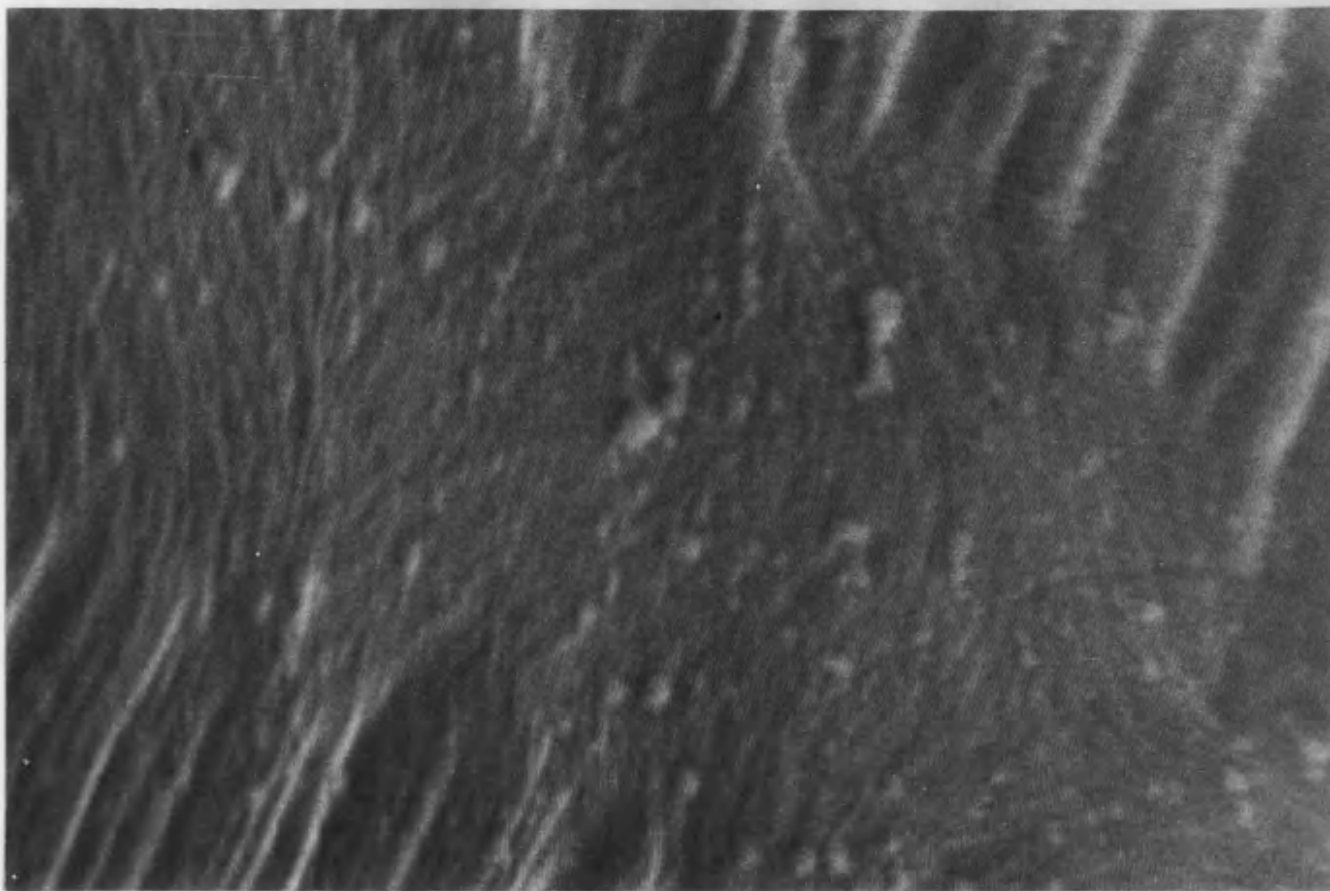
Mediante la MET no apreciamos, como ya hemos señalado, en el ultracorte transversal de la MT, la existencia de ninguna estructura ni membrana que sirva de límite o contención en ninguna de las dos caras o superficies de la MT. Solo hemos apreciado un mayor acúmulo o concentración de fibras en ambas superficies lo que serviría de contención.

Fig. 64. Página siguiente imagen superior.

Imagen de la banda de Hensen obtenida con el MEB, donde se observa como las fibras de la superficie inferior de la impresión de que desaparecen al llegar a su altura. La muestra de la cual se obtuvo esta imagen había sido sometida a una deshidratación rápida e intensa, 5000x.

Fig.65. Página siguiente, imagen inferior.

Donde se puede apreciar las características de la banda de Hensen en un caso sometido a una deshidratación lenta y poco intensa. Se puede observar la mayor altura de los bordes de la banda y la posible existencia de una sustancia amorfa en la superficie inferior de la MT. 1250x.



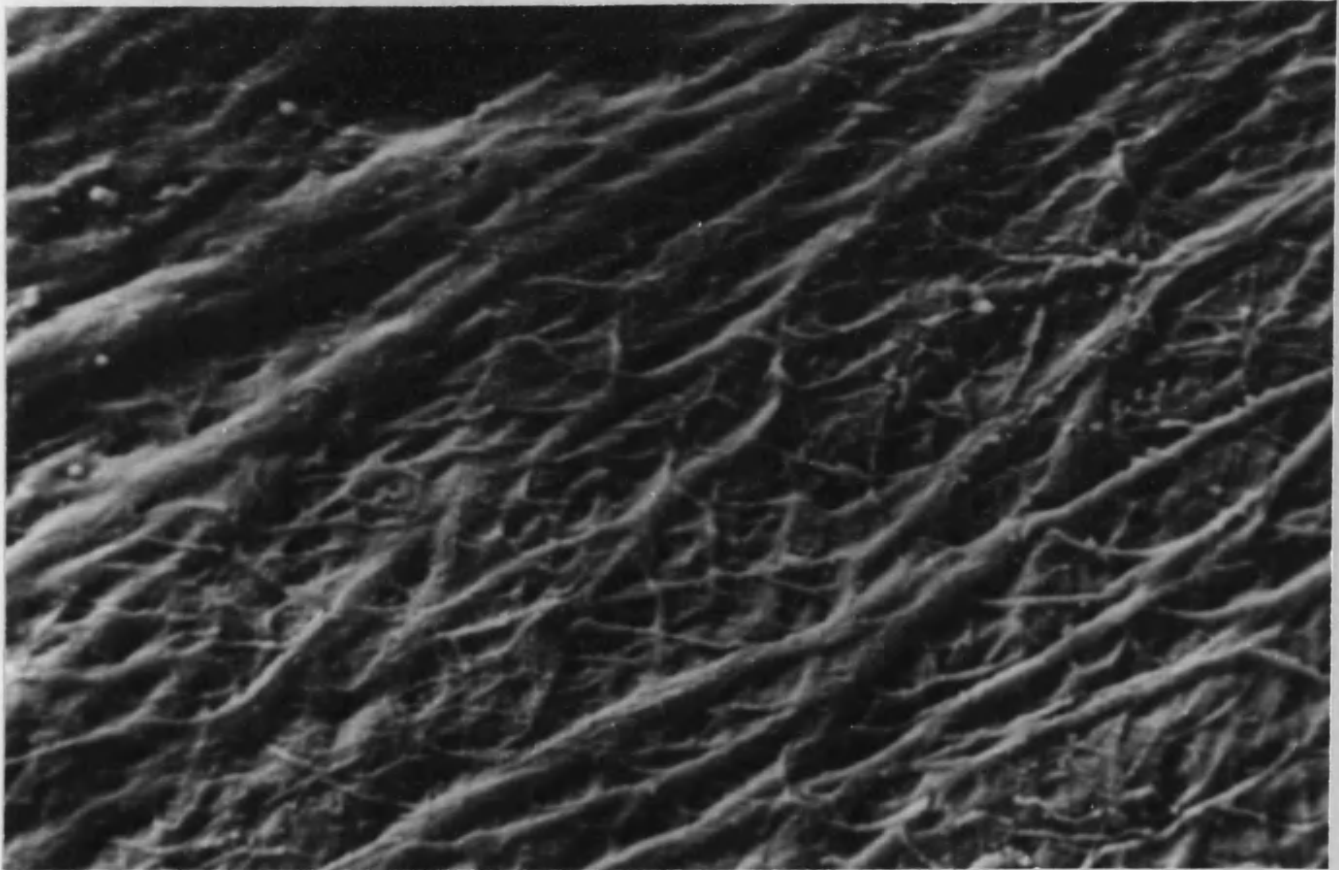


Fig. 66. Imagen de la superficie inferior de la MT se observan las fibras que componen la red de superficie inferior así como la dirección que tienen. 3000x.

C) Región marginal o borde marginal.

El estudio del borde libre de la MT es difícil ya que ninguno de los métodos de que disponemos nos ha proporcionado las imágenes más idóneas para su observación, sin embargo la MEB se ha revelado como el mejor de ellos ya que la microscopia de interferencia diferencial de Nomarski nos daba unas imágenes muy pobres y difíciles de interpretar.

Mediante la técnica de Nomarski solo hemos podido observar como las fibras del cuerpo de la MT se pierden al llegar al borde de la membrana y como sobre este borde aparecen unas depresiones. Además podemos apreciar los gruesos cordones de fibras que se originan en él y se dirigen proximalmente sobre la superficie superior de la tectoria. También hay que destacar las irregularidades que se observan en el límite más externo de este borde y que relacionamos con artefactos debidos a la tracción que sufre durante su disección (Fig. 67).

La MEB tampoco aporta muchos datos y mediante este método de observación podemos apreciar como el cuerpo de la MT se va adelgazando hasta que las superficies de las dos caras, superior e inferior, se unen formando el borde libre de la MT (Fig. 68).

La configuración de este borde va a depender de dos factores, la edad del animal del que se obtuvo la muestra y el tipo de deshidratación a que fué sometida. Si el animal es joven o mejor aún, si la muestra procede de un feto, este borde aparece en todo su desarrollo. Si es de -

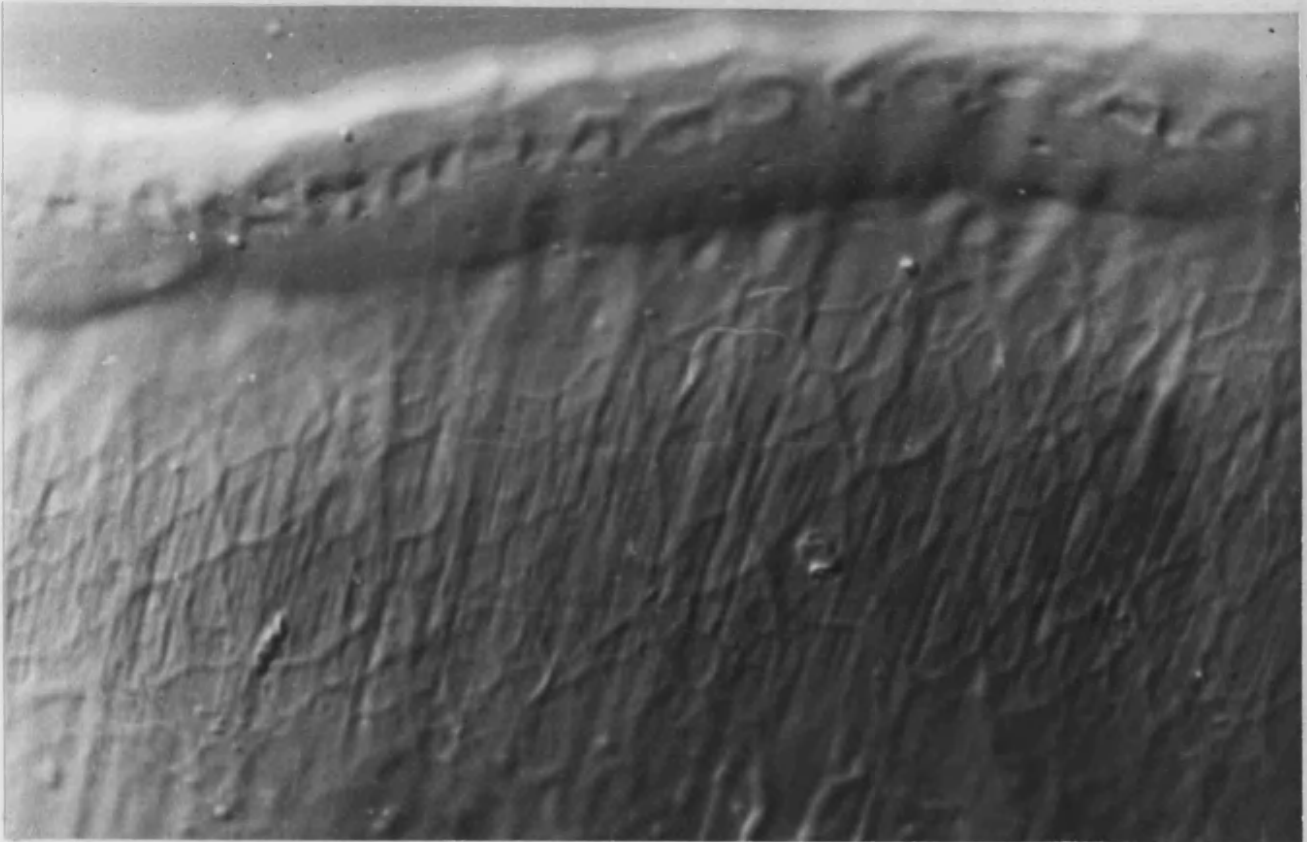


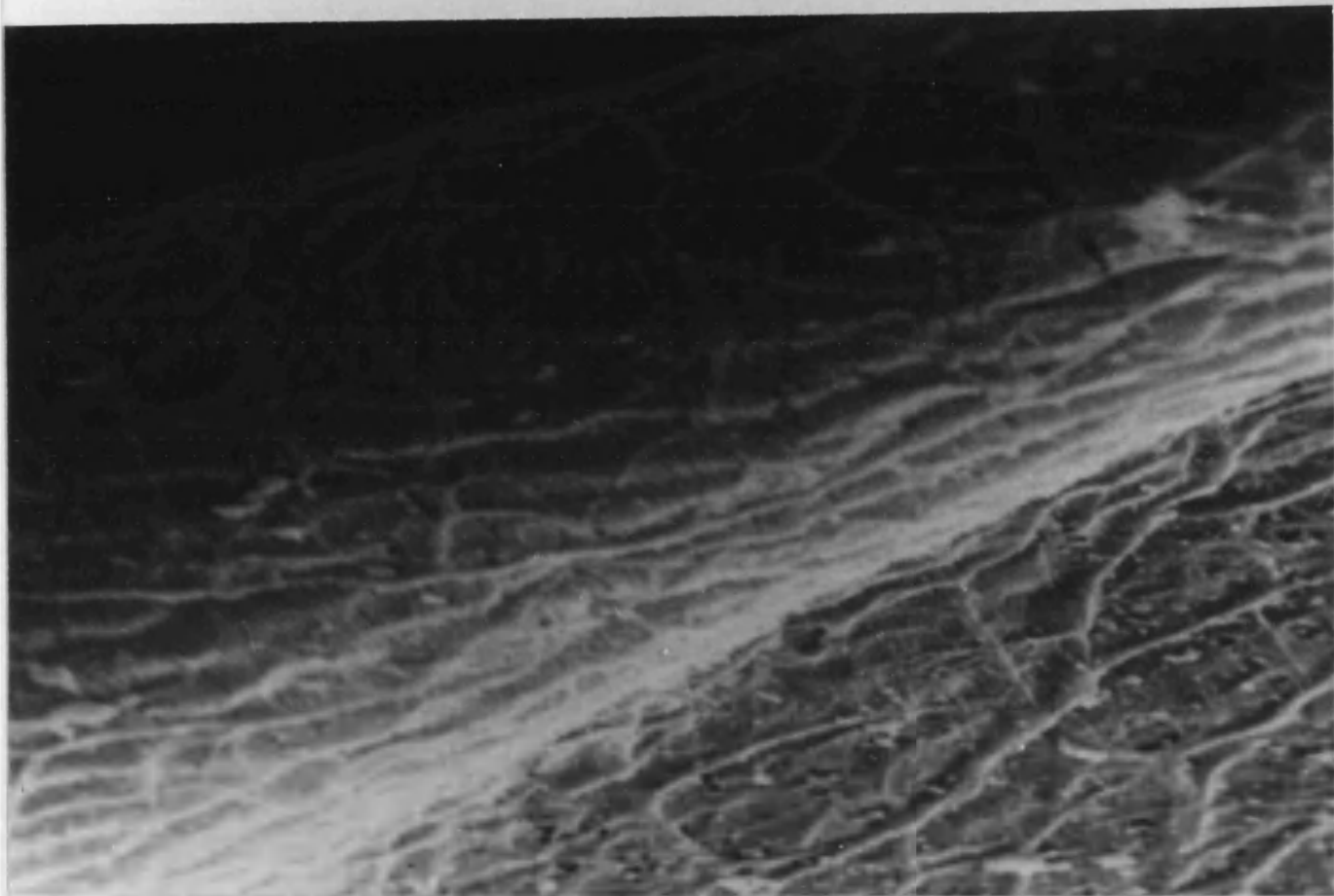
Fig. 67: Imagen del borde libre de la MT obtenida mediante la técnica de Nomarski pudiendo observarse en él una serie de elevaciones y depresiones así como - el nacimiento de los gruesos cordones de fibras - que contribuyen a formar la red de superficie superior. 20x. 2x.

Fig. 68: Página siguiente, imagen superior.

Donde se observa el borde libre o región marginal de la MT al MEB. Se puede apreciar como se unen - en este punto las superficies superior e inferior de la MT. 1200x.

Fig. 69: Página siguiente, imagen inferior.

Donde podemos observar la región marginal de la MT plegada sobre sí misma, esta muestra pertenece a un feto, por lo que es una verdadera membrana que tiene alguna perforación, posteriormente y conforme se produce la maduración coclear, estas perforaciones van aumentando hasta que la membrana queda convertida en una red que une la MT al órgano de Corti. 600x.



un animal adulto habrá desaparecido prácticamente para convertirse en un conjunto de fibras que aparecen de forma regular.

Si la deshidratación ha sido brusca este borde - se retrae mucho, siendo a duras penas reconocible; si ésta ha sido lenta podremos ver todavía las fibras que unen al borde al órgano de Corti, a las células de Deiters y a las de Hansen.

Así en la imagen que presentamos obtenida de una muestra procedente de un feto al que faltaban 20 días para terminar la gestación, se aprecia como el borde libre o futura red marginal, está plegada o retraída sobre la cara superior de la MT. En este borde aparecen unas perforaciones más o menos redondeadas y que posteriormente y conforme el feto madure, irán aumentando de tamaño hasta que practicamente solo queden unos cordones fibrosos que unan la - MT y el órgano de Corti, será la red marginal. Ya en esta imagen se observa como existen de forma relativamente regular unos salientes que son los puntos de unión mediante -- los cuales han estado en contacto el órgano de Corti y el borde (Fig. 69).

En las imágenes obtenidas de muestras de animales jóvenes observamos, dependiendo del tipo de deshidratación que haya sufrido la muestra, bien solo un borde libre en el que apenas quedan unas prominencias o salientes que son los restos de los cordones de fibras que formaban la red marginal (Fig. 70).

En otros casos se observan incluso los cordones

de fibras retraídos y que descansan sobre la superficie superior de la MT. Podemos apreciar en el borde unas depresiones que en nuestra opinión también serían puntos de unión de este borde libre al órgano de Corti y donde las fibras han quedado adheridas a las células de Deiters y Hensen -- (Fig. 71).

De este borde libre y sobre todo en dirección superior, es decir siguiendo la superficie de la cara superior, se observa como surgen unos cordones de fibras que forman una red y que progresivamente irán disminuyendo su calibre, es la zona marginal.

De lo anteriormente expuesto hay que deducir que las descripciones del borde de la MT, es decir de su unión más periférica al órgano de Corti; células de Deiters y de Hensen, está notablemente influenciada por el tipo de fijación y deshidratación que haya sufrido la pieza. Solamente en las piezas extraídas de fetos podremos tener una idea más anatómica de la realidad por las imágenes que obtengamos en la MEB.

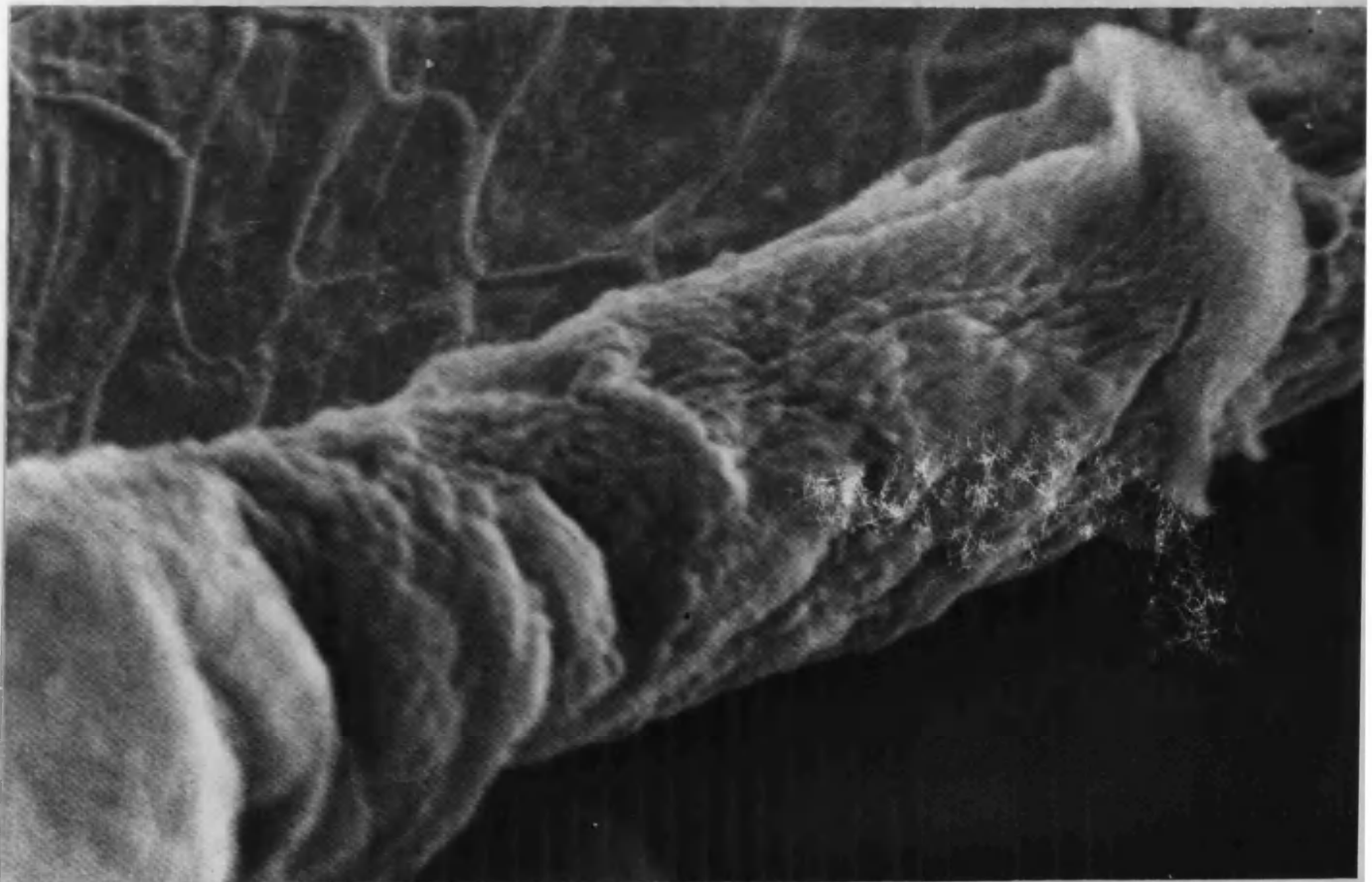
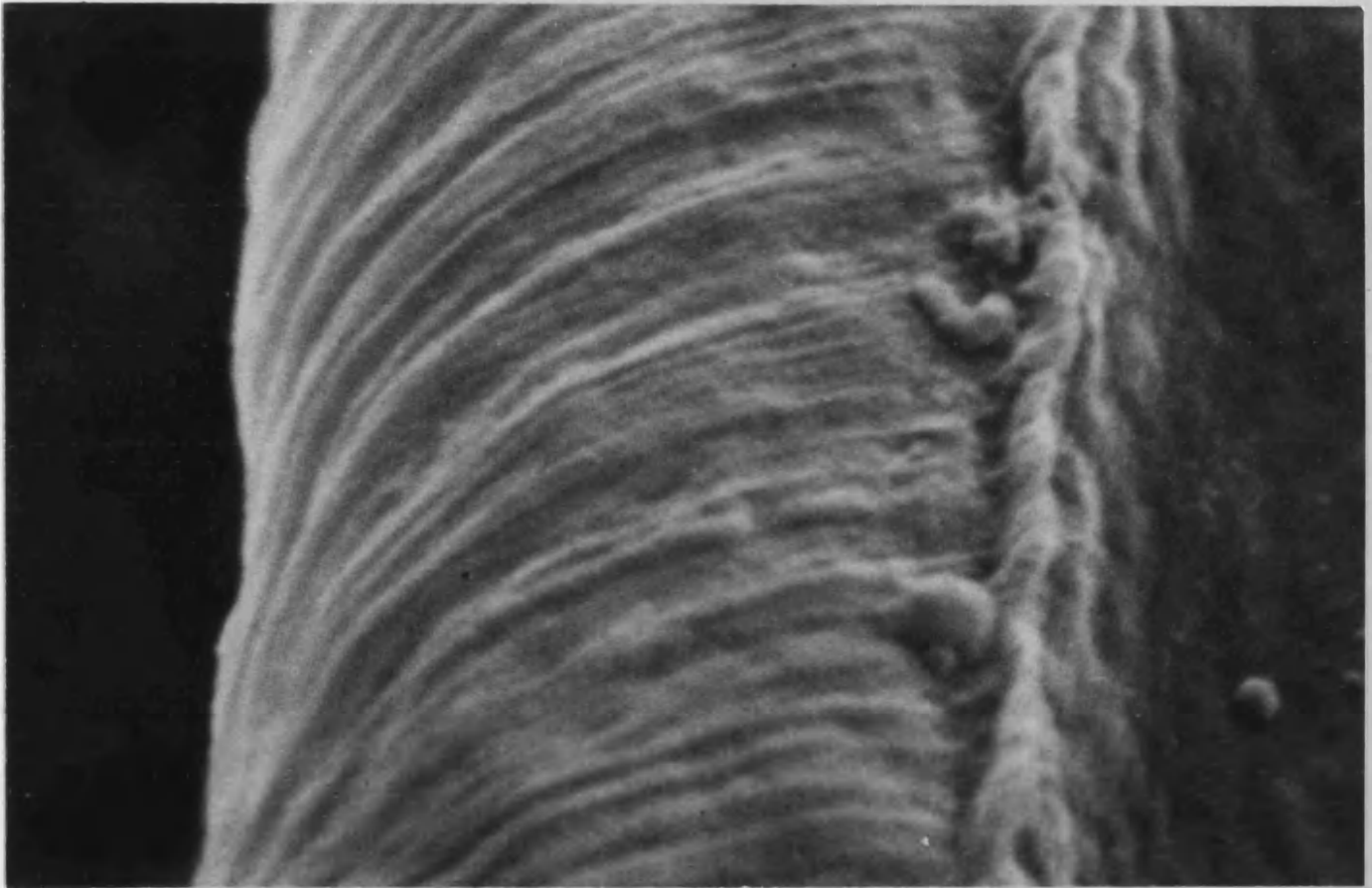
Según lo descrito la MT es una formación fundamentalmente fibrosa que nace en el labio vestibular del limbo y termina a la altura de las células de Deiters y de Hensen, sus fibras se mantienen unidas debido a la existencia de una sustancia fundamental y a unas fibrillas de menor calibre que también las mantienen en contacto como si de una red envolvente se tratase. A este patrón más o menos homogéneo de fibras hay que añadir la existencia de una sustancia adherente o cementante que une la región límbica al

Fig. 70. Página siguiente, imagen superior.

MEB del borde libre de una MT que ha sido sometido a una rápida e intensa deshidratación donde apenas se puede apreciar la red marginal. 4000x.

Fig. 71. Página siguiente, imagen inferior.

Borde libre de la MT que no ha sido sometido a una deshidratación tan rápida ni intensa, pudiendo aún apreciarse algún proceso digitiforme. 3500x.



labio vestibular del limbo.

Las fibras que conforman la arquitectura interna de la MT en su cuerpo, dan lugar a una estructura regular con una dirección uniforme proximo-distal, perpendicular o casi perpendicular al eje longitudinal de la MT, para terminar en el borde marginal. Sin embargo las fibras del limbo y las de la parte proximal del cuerpo de la MT no tienen siempre la misma dirección, sino que existen dos planos, - en el inferior las fibras siguen una dirección perpendicular al eje longitudinal de la MT y las del plano superior parecen cortadas ligeramente de través, es decir serían -- oblicuas a este eje y formarían con él un ángulo de unos 60 grados. Conforme se progresa en dirección distal el plano inferior aumenta su grosor y el superior va disminuyendo - hasta que desaparece y queda englobado en el inferior, por lo que se produce la uniformidad en la dirección de las fibras en el cuerpo de la MT. Esta homogeneidad de las fibras se pierde otra vez en el borde libre en donde encontramos de nuevo dos planos de fibras, uno inferior que sigue una dirección parecida a la del cuerpo de la tectoria anteriormente descrito y un plano superior donde las fibras aparecen cortadas de través. Entre ambos planos y coincidiendo con el ángulo de flexión, existe una concentración de fibras que es la más importante que hemos observado en la MT. En nuestra opinión esta distribución de las fibras está en relación con la función anatómica del borde libre de la MT, donde existen unos cordones de fibras que lo unen al órgano de Corti.

Además con la MET hemos comprobado la existencia de un acúmulo y mayor densidad de fibras en las partes más superficiales de la MT, tanto en la cara superior como en la inferior, que sirve de contención o límite de la estructura interna de la MT, sin que exista membrana limitante alguna.

En cuanto a la arquitectura externa de la membrana, ésta se compone en nuestra opinión de (Fig. 72 y 73):

- . Red de superficie superior.
- . Red de superficie inferior.
- . Borde marginal, que a su vez se compone de la red marginal y la zona marginal, entre ambas conforman el complejo marginal.

Para nosotros el elemento fundamental aquí, es el complejo marginal y en concreto la zona marginal de la cual van a nacer tanto la red de superficie superior como la inferior.

En las imágenes obtenidas mediante MEB y las de interferencia diferencial de Nomarski se aprecia como estas redes de superficie están sobre las fibras que siguen una dirección uniforme, dando lugar a un verdadero entramado que sirve de refuerzo a las fibras y que mantiene la consistencia y cohesión de la tectoria, substituyendo la necesidad de una membrana.

La banda de Hensen no es para nosotros más que una estructura especializada debido a la relación que mantiene con el órgano de Corti. La membrana de Hardesty no

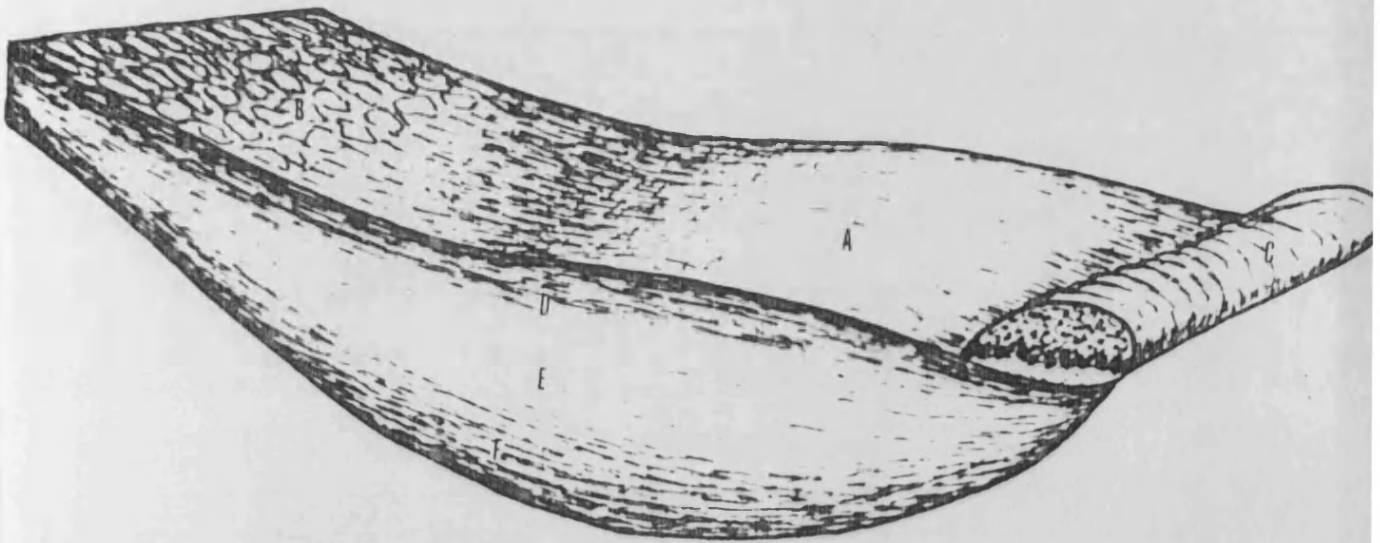


Fig. 72. Composición de la MT según nuestro criterio:

- A) Red de superficie superior sobre el cuerpo de la MT.
 B) Región límbica en donde se aprecian los relieves de la parte apical de las células interdentalas. C) Región marginal donde se aprecian los diferentes planos de fibras que lo forman, así como los gruesos cordones que se originan en su parte superior. D) Capa de fibras superiores del cuerpo de la MT. E) Fibras del cuerpo. F) Capa de fibras inferiores del cuerpo de la MT .

sería más que la banda de Hensen en las muestras que han su frido una deshidratación lenta o que provienen de animales jóvenes. Ambas estructuras estarían formadas por la red de superficie inferior (Fig. 73).

Para nosotros pues la MT está formada por: (Fig. 72 y 73)

- . Red de superficie superior.
- . Capa de fibras superiores del cuerpo de la MT.
- . Fibras del cuerpo de la MT.
- . Capa de fibras inferiores del cuerpo de la MT.
- . Red de superficie inferior con la banda de Hensen.

Mención aparte merecen la región límbica que es difícil de analizar al igual que ocurre con el borde marginal, si bien a éste lo podemos considerar constituido por el complejo marginal que a su vez estará formado por:

- . Zona marginal.
- . Red marginal.

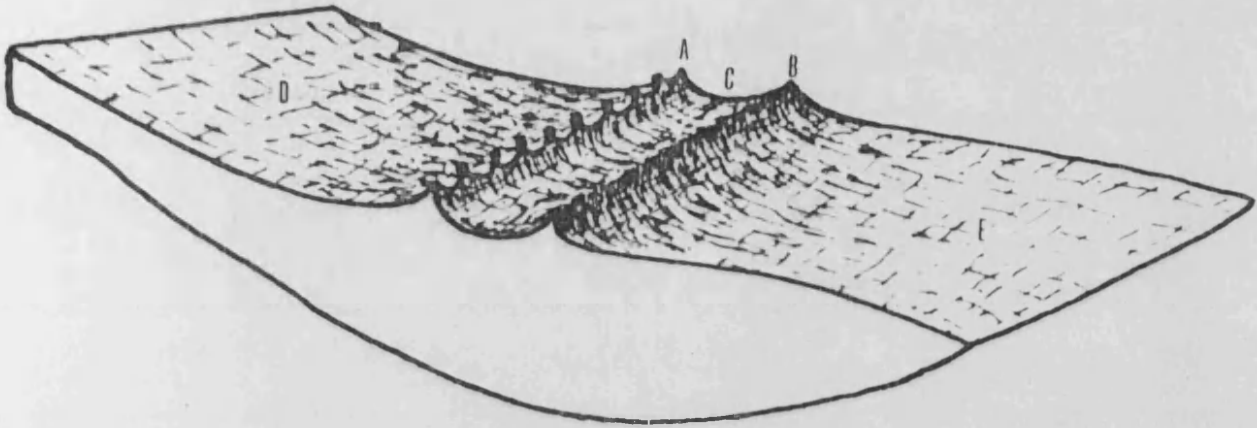


Fig. 73. Esquema de la cara inferior de la MT según nuestra opinión. Podemos apreciar: A) Borde proximal de la banda de Hensen con los arcos que terminan en unas formaciones esféricas por las que se unen a la primera fila de CCE, la más interna. B) Borde distal de la banda de Hensen. C) Depresión que constituye la banda de Hensen. D) Red de superficie inferior-proximal, también denominada capa basal homogénea o membrana de Hardesty, cuando ésta ha sido somatida a una deshidratación lenta y poco intensa. E) - Red de superficie inferior en su parte distal.

B) CELULAS CILIADAS.

Los métodos de observación que hemos utilizado para estudiar a las CCE y a las CCI han sido la microscopía óptica de campo claro, la MEB y la MET. La microscopía óptica en el estudio del órgano de Corti ha quedado relegada al estudio de determinadas patologías del oído interno, aportando escasos datos para el investigador, sin embargo hay que destacar en este punto la figura de ALPHONSE CORTI quien describió de forma muy exacta el órgano que lleva su nombre, hasta el punto de que con la microscopía electrónica siguen siendo exactas las descripciones hechas por este autor con el microscopio óptico.

La MEB va a ser de gran utilidad para estudiar la superficie de las CC, que se relacionará con la MT, así podremos observar su posición y distribución, y sobre todo la de sus cilios pudiendo analizar sus conexiones, el estado de sus extremidades libres y el número de hileras ciliares que presenta cada célula sensorial.

Con el MET podemos estudiar utilizando ultracortes la composición interna de las células sensoriales así como de los cilios y sus relaciones con las células vecinas, sensoriales y de sostén.

En la MEB hay que destacar los problemas que se presentan en la preparación de las piezas, ya que en muchas ocasiones el órgano de Corti aparece como plegado por una línea que pasaría entre las células de los pilares, no pudiendo observarse en estos casos a las CC en un mismo plano. Asimismo para poder estudiar los cilios de las CC es nece-

sario que la MT esté plegada o levantada sobre si misma, en estos casos el proceso de deshidratación tendrá que ser más rápido o mejor aún, como lo realizamos nosotros, mediante una deshidratación no tan progresiva, para así conseguir la elevación de la MT sobre su eje longitudinal en el labio -- vestibular del limbo. Esto es especialmente interesante para poder estudiar a las CCI ya que así se puede penetrar -- bien en el ángulo que forma la MT con el limbo, existiendo entonces los niveles suficientes de luz como para obtener imágenes de los cilios de las CCI. Es muy importante en este tipo de microscopia descartar los artefactos que nos pueden llevar a mantener premisas erróneas en cuanto a la relación de los cilios entre sí y en el estudio de su morfología.

En el estudio de las CC mediante la MET hay que destacar el método que se ha utilizado para extraer las piezas y que nos permite una fácil orientación de la espira -- aislada evitando además que el soporte óseo de la lámina espiral sea una dificultad a la hora de obtener los ultracortes.

A) CELULAS CILIADAS EXTERNAS.

Las CCE se disponen en el cobaya en tres filas, correspondiéndose las de cada fila, aunque en ocasiones -- nos podemos encontrar con alguna célula extra o bien existe una CCE de menos. Estos fenómenos suelen ocurrir en la tercera fila o fila más externa de CCE (Fig. 74).

Mediante la MEB observamos solamente la superficie de la CCE es decir sus cilios, la superficie celular con sus microvillis, el corpúsculo basal, las células de Deiters etc.... Esta técnica microscópica es especialmente útil para estudiar los cilios y las relaciones que éstos mantienen entre sí.

Al estudiar la superficie celular se aprecia que ésta es la primera fila de CCE o la más interna, tiene forme triangular, mientras que la superficie de la CCE de las otras dos filas más externas tienen una forma poligonal. En cualquier caso en la superficie de la CCE hay que distinguir dos zonas claramente diferenciadas: la zona donde nacen los cilios está excavada estando rodeada en la parte exterior por una elevación, esta superficie es rugosa y no presenta, aparte de los cilios, ninguna otra estructura o formación que destaque. Inmediatamente por fuera de esta zona está la superficie celular donde aparecen los microvillis, estos se diferencian claramente de los de las células de Deiters porque son menos numerosos y más pequeños, da la impresión en comparación con aquellos como si estos estuvieran en fase de desarrollo (Fig. 75).

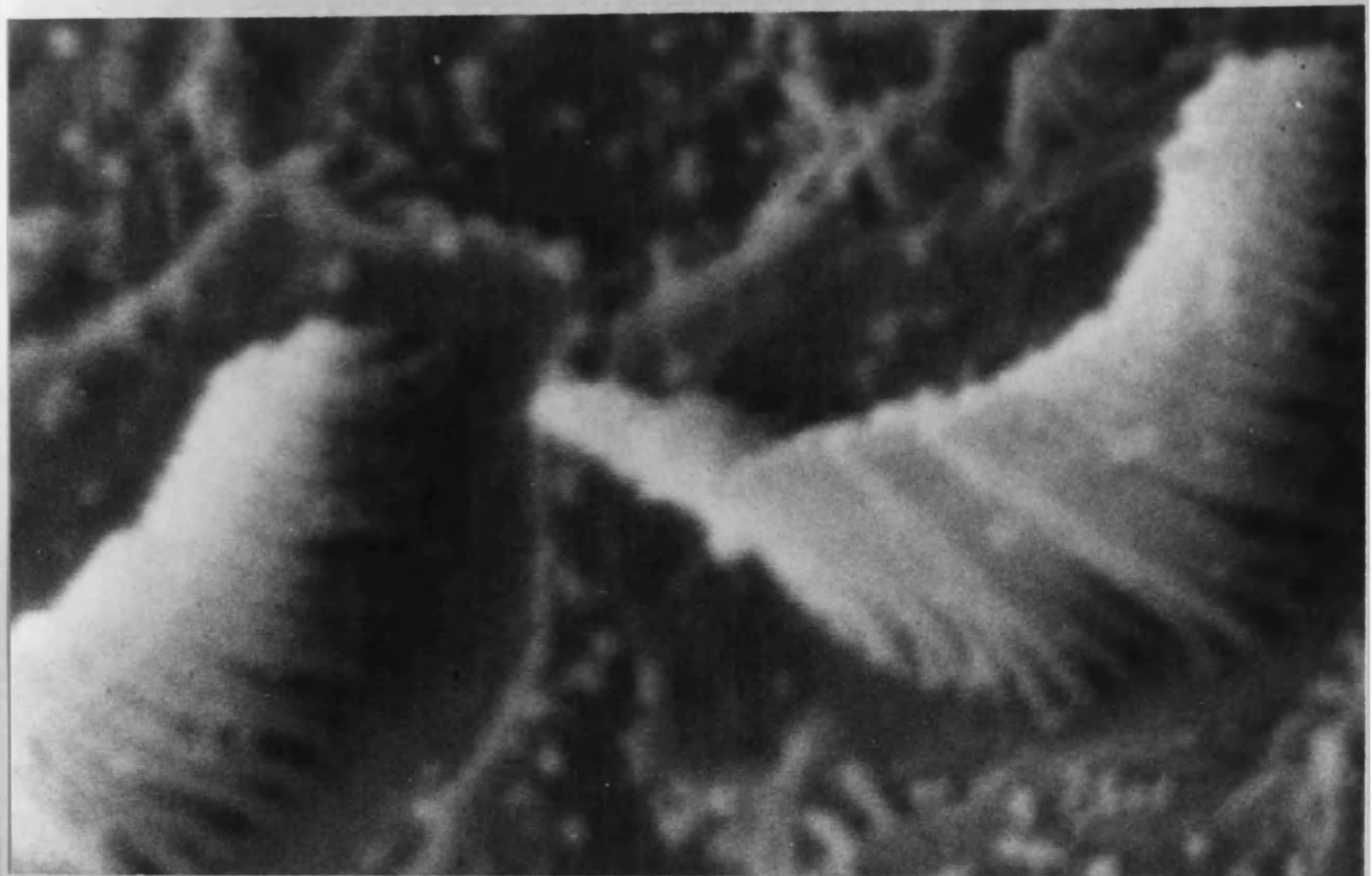
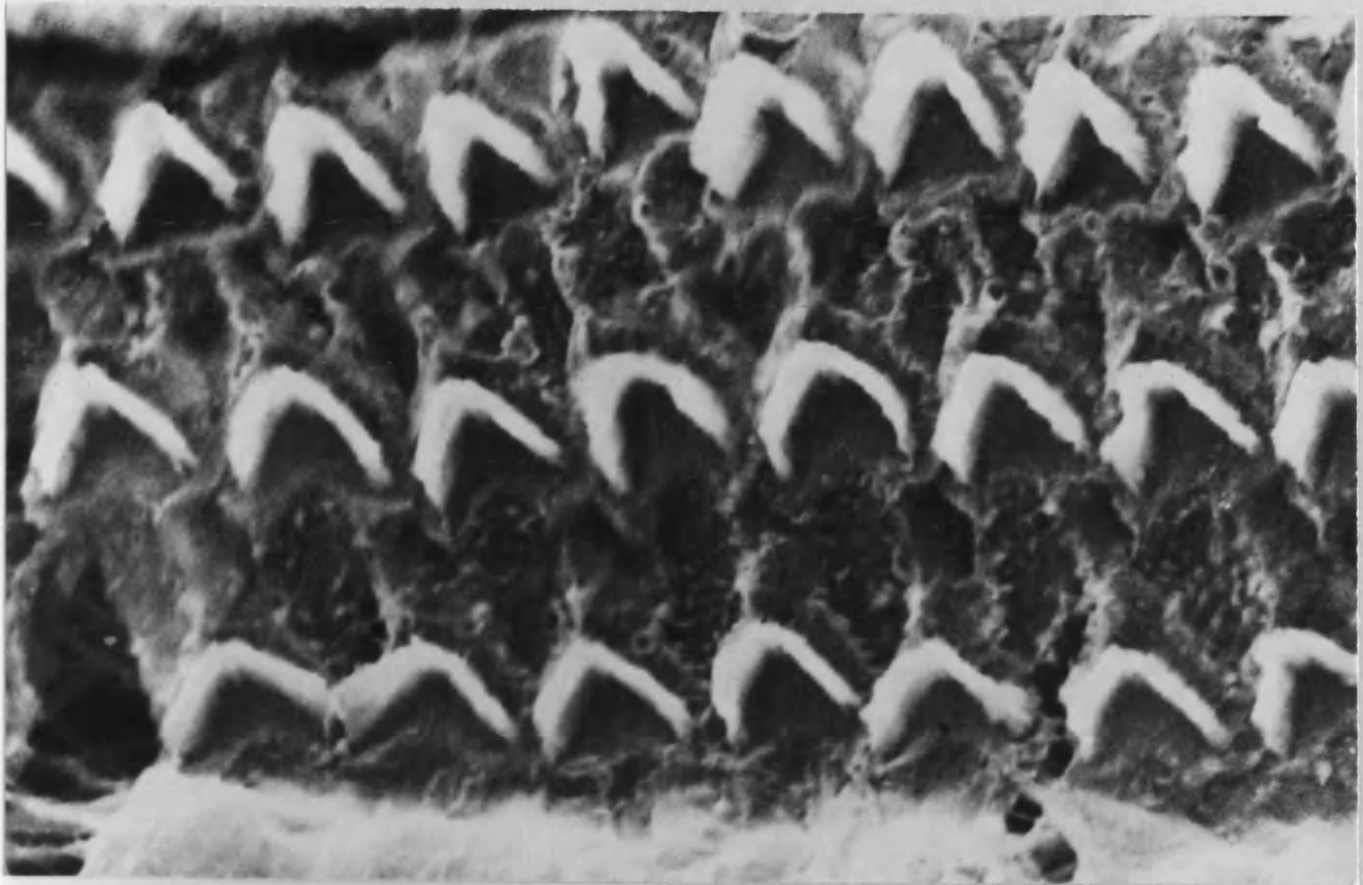
También se observa la superficie de las células-

Fig. 74. Página siguiente imagen superior.

Disposición habitual de las CCE en el cobaya. Podemos apreciar la existencia de una célula supernumeraria en la tercera fila de CCE, la más externa. -
MEB. 1250x.

Fig. 75. Página siguiente imagen inferior.

Donde podemos observar a dos CCE de la segunda fila apreciándose la disposición de sus cilios, la cutícula excavada de donde nacen los estereocilios y el resto de la superficie de las CCE y de las células de Deiters cubierto por microvillis. 10.000x.



de sostén de Deiters, la de su falange, donde apreciamos - los microvillios con las características anteriormente citadas.

Hay que destacar también la existencia del corpúsculo basal, el cual hemos observado con frecuencia en la superficie de las CCE, y con cierta predisposición a estar en las células de la fila más interna o primera fila de CCE. Este corpúsculo basal, vestigio del kinocilio, aparece como si fuera un resto de un cilio de gran tamaño, encogido y retorcido sobre sí mismo, que siempre se sitúa a la altura de la unión de los dos brazos de la "V" que forman los cilios, aunque no es extraño encontrarlo un poco lateralizado. En ningún caso lo hemos observado en su forma fetal de kinocilio.

En cuanto a los cilios de las CCE se observa como estos se sitúan en tres hileras que forman una "V". En la espira basal y debido al mayor número de cilios que hay en estas CC, en el ángulo de la "V" se acumulan los cilios, lo que puede dar la imagen de una "W". El número de cilios en la hilera más externa, que es donde tienen mayor longitud, va desde los 30 a los 40. Este número de cilios es mayor en las células de la base que en las del apex en las hileras más internas a la par que disminuye su tamaño, también lo hace el número de los cilios. El tamaño de los cilios es gradualmente menor desde la fila más externa o tercera fila hasta la más interna o primera fila, así el tamaño de los cilios de la hilera más externa de la tercera fila de CCE es el doble que el de la hilera más interna de -

la misma célula (Fig. 76).

El número de hileras, aunque en el cobaya es bastante constante, puede aumentar en la espira apical, donde podemos encontrar 4 e incluso 5 hileras, en la tercera fila de CCE (Fig. 77).

El ángulo de la "V" que forman estos cilios es más abierto en la espira basal que en la apical, en ocasiones en la espira apical, este ángulo es la mitad que el de las células de la espira basal.

La anchura del cilio es bastante uniforme en toda su longitud excepto en el momento de entrar en contacto con la superficie celular en donde se produce un estrechamiento evidente, asimismo en esta zona existe una oscuridad mayor de la superficie del cilio, al MEB, que interpretamos como un refuerzo de la superficie celular sobre el cilio.

La imagen que ofrecen estos cilios en su conjunto es de una gran uniformidad y homogeneidad. Parece que están estrechamente unidos, aunque podemos delimitar a cada uno de ellos, en cualquier fila de CCE y cualquiera que sea la hilera estudiada. La superficie ciliar aparece totalmente lisa y uniforme en la mayoría de las ocasiones, aunque a veces se observan pequeñas partículas adheridas que no son más que artefactos producidos por la contaminación de la muestra (Fig. 76).

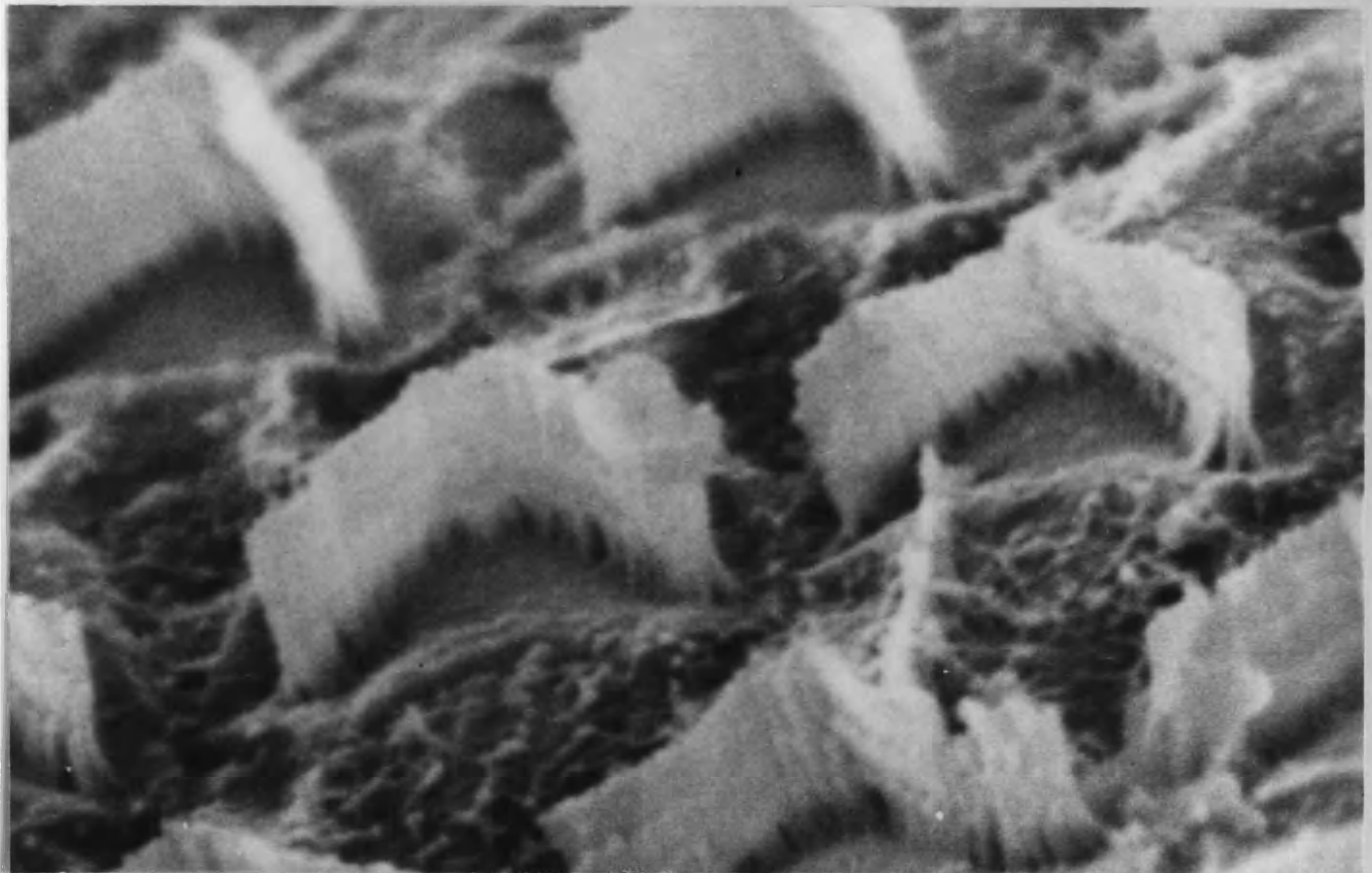
Si que nos ha llamado poderosamente la atención el hecho de haber observado en las extremidades libres de

Fig. 76. Página siguiente imagen superior.

Donde se observa la disposición de los cilios de las CCE, pudiendo apreciarse que su número en la hilera más externa es de unos 30 a 40. En esta imagen también se observa la cutícula de donde nacen, los microvillia y un posible corpúsculo basal. 9000x.

Fig. 77. Página siguiente imagen inferior.

Donde se observa como en cada CCE hay 3 o 4 hileras de cilios, desde la más interna donde son más pequeños a la más externa en donde sus medidas -- son máximas a la par que son más numerosos. También se pueden apreciar algunas irregularidades en las extremidades de los cilios de la hilera más externa, así como el ángulo que estos forman. 5.000x.



los cilios de la hilera más externa de la tercera fila de CCE irregularidades en cuanto a su altura, asimismo en -- las puntas de los cilios apreciamos unas imágenes fibrilares que nos permiten pensar en una posible conexión de los cilios con las estructuras suprayacentes, estas fibrillas son las que producen la sensación de borrosidad de la extremidad ciliar. (Fig. 77).

La CCE al MET tiene un aspecto rectangular, donde hay que destacar la existencia de unos estereocilios o pelos en la superficie celular, inmediatamente por debajo existe un material muy electrondenso, la cutícula, que sirve de anclaje a las raíces ciliares, el citoplasma es abundante estando situado el núcleo en la conjunción de las zonas media e inferior de la célula. Llama la atención una serie de estructuras tubulares que se sitúan alrededor de toda la membrana celular, excepto en su porción apical o superficial. Asimismo en el citoplasma celular hay que -- destacar la presencia de unas formaciones esféricas tubulares, los cuerpos de Hensen, estas formaciones tienen en sus proximidades abundantes mitocondrias con crestas evidentes.

También hay que destacar en el citoplasma la existencia de un aparato de Golgi bien desarrollado en sus elementos. Existen vacuolas con contenido electrondenso. En el polo inferior de la CCE existe en el citoplasma un acúmulo de un material granular más electrondenso que el resto del citoplasma. Hay que señalar que membrana celular se engrusa en los puntos con que se relaciona con la célula de sostén, también hay "tught-junctions" con las CCE vecinas con

las que se relaciona. La membrana celular no es lisa sino que tiene a lo largo de su recorrido numerosas irregularidades como pequeñas evaginaciones o invaginaciones.

Los estereocilios de las CCE se disponen en hileras en las que su tamaño aumenta conforme son más externas o periféricas. El número de hileras o filas puede ser muy variable hasta el punto de que en alguna célula encontramos hasta seis hileras, si bien el número de filas de cilios que se elevan claramente de la superficie celular es de tres, este es el número habitual que hemos observado. El cilio está rodeado por una membrana que es parte de la membrana celular y que se continua en él (Fig. 78).

El interior del cilio está ocupado por fibrillas y por un fino material granular, en la parte central del cilio los filamentos se agrupan formando a modo de un eje, en el punto en que el cilio penetra en la célula su diámetro disminuye, siendo este el punto más estrecho del calibre ciliar, desde este punto hacia arriba el diámetro ciliar aumenta, en el interior de la célula, en la cutícula, podemos seguir el trayecto del eje ciliar hasta casi llegar al citoplasma celular, perdiéndose ahí el eje ciliar (Fig.78).

Al MET no se aprecia ningún tipo de unión o relación entre los cilios por medio de membranas o fibras aunque en algún punto se puede apreciar un material finamente granular y escasamente electrodenso que se encuentra entre los estereocilios.

También en la superficie celular pero en las por

ciones de los extremos que no están en contacto directo con la cutícula, se pueden apreciar unas pequeñas evaginaciones del citoplasma celular, se trata de los microvillis de las CCE que no son muy numerosos, su contenido parece ser el mismo del citoplasma celular, sin que aparezcan fibrillas ni un eje central en su espesor.

La cutícula es un material electrodensso y granular que se situa en la superficie celular en su polo superior, inmediatamente por debajo de la membrana celular,--- aunque no abarca la superficie del polo superior, si no que deja los extremos libres, por lo que solo ocupa el centro del polo superior. Esta es precisamente la zona de anclaje del eje fibrilar central de los estereocilios. Está formada por fino material granular osmiófilo en el que cabe distinguir dos tipos de granulado, uno electrodensso y otro que no lo es tanto. Sobre este fondo homogéneo destacan en primer lugar los ejes fibrilares de los estereocilios que se introducen en la profundidad de la cutícula, no hemos observado sin embargo que estos ejes alcancen el citoplasma celular. También podemos observar al MET en la cutícula, zonas donde existen acúmulos electrodenssos y -- otras zonas donde existe escaso material granular apareciendo como espacios vacíos. Este material granular de la cutícula es muy similar al que existe alrededor del eje fibrilar en los estereocilios.

En alguna ocasión hemos observado como la cutícula queda separada del citoplasma por una región ancha -- compuesta por un material muy electrodensso y osmiófilo.

A mayor aumento y al MET el fino granulado cuticular parece ser debido a la existencia de fibrillas o filamentos que se encuentran sin orden o dirección preferente alguna.

El citoplasma de la CCE es amplio y está formado por un fino material granular escasamente electrondenso. -- Sus organelas están muy distribuidas por todo su volumen, - acumulándose en la periferia, en las proximidades de la membrana celular y en los alrededores del núcleo. En el citoplasma y sobre el fino material granular existen unas pequeñas-agrupaciones de un material más electrondenso (fig. 79).

En alguna célula hemos encontrado en la parte inferior y en contacto directo con la membrana celular una ancha banda de un material granular cuya densidad a los electrones está entre las anteriormente descritas.

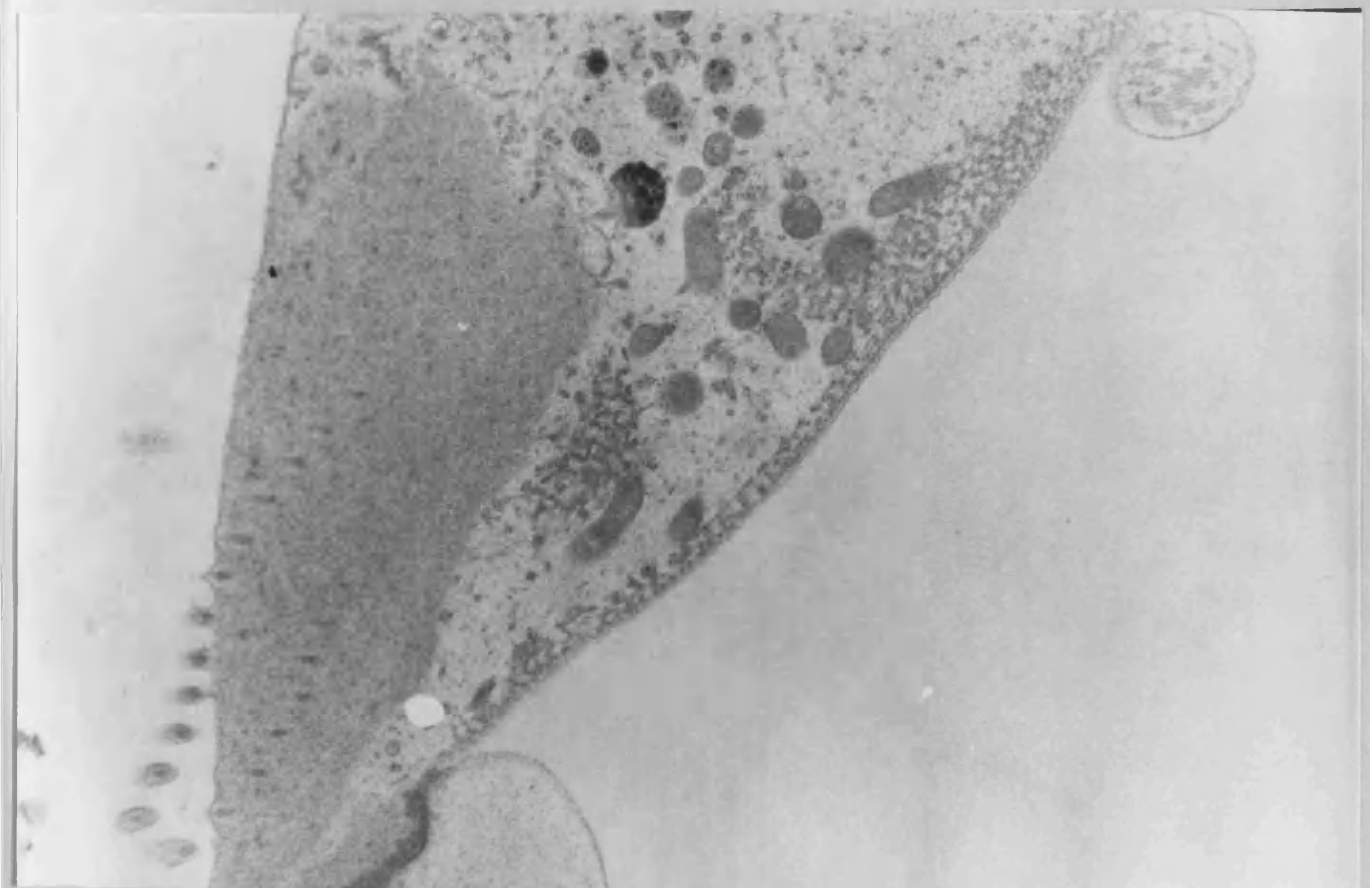
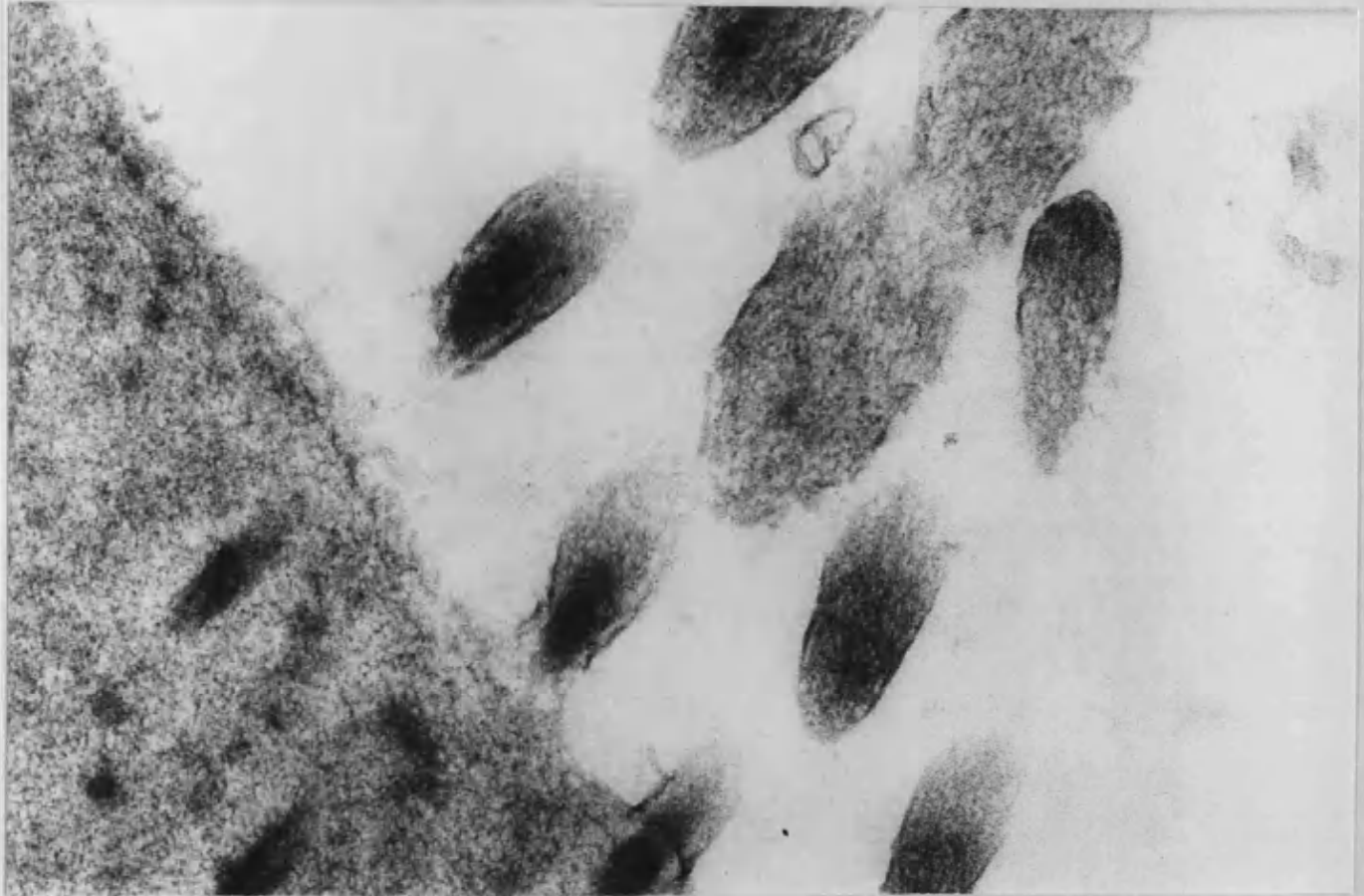
El núcleo de la CCE se sitúa en la parte inferior o bien en el punto de unión entre la parte media y la inferior, se trata siempre de un núcleo redondeado y amplio, la cromatina densa se sitúa siempre en la periferia nuclear en relación con la carioteca, aunque se pueden encontrar agrupaciones pequeñas de ésta en el nucleoplasma. El nucleolo - es bien visible y se encuentra endosado a la carioteca, asi mismo es muy electrondenso. El resto del nucleoplasma se encuentra ocupado por un material muy osmiófilo. La carioteca en su relación con el citoplasma no aparece bien delimitada, sino que existe en el límite de ambas estructuras unas pequeñas granulaciones (Fig. 80).

Fig. 78. Página siguiente imagen superior.

Donde se aprecia al MET los cilios de una CCE que están compuestos por un material fibrilar que se acumula en el centro de estos, formando un eje. El cilio está rodeado por una membrana que es continuación de la celular. El punto de menor calibre ciliar es el cuello, por donde éste penetra en la cutícula. 33000x.

Fig. 79. Página siguiente imagen inferior.

Donde se observa un corte transversal de una CCE con su cutícula que tiene dos tipos de granulación. También se aprecia como la raíz ciliar se introduce en la cutícula. En esta visión general también aparecen en el citoplasma algunas organelas celulares. 8300x.



En el espesor del citoplasma se encuentran las organelas y las estructuras típicas de las células orgánicas, pero con algunas características particulares y con la presencia de alguna de estas formaciones con un aspecto poco habitual.

1) Mitocondrias:

Se hallan distribuidas a lo largo de todo el citoplasma celular y son muy numerosas, su tamaño es grande y tienen forma cilíndrica, con un gran número de crestas - en su interior que son perpendiculares a su eje mayor. En su interior no hemos observado ningún tipo de granulación, aunque tienen la matriz muy densa (que a veces enmascara a las crestas).

Se sitúan sobre todo en la parte media en inferior de la célula, alrededor del núcleo, de los cuerpos de Hensen y de las formaciones "membranosas" paralelas a la membrana celular, así como del aparato de Golgi y en la parte superior cerca de la cutícula, aunque se encuentran debajo de ella y en las partes laterales del polo superior de la célula, donde no hay cutícula (Fig. 81).

Llama la atención la relación que existe entre las mitocondrias y las formaciones de "membrana" paralelas a la membrana celular (Fig. 82), así como con los cuerpos de Hensen, ya que esta relación es estrechísima, estando en contacto directo con estas estructuras, también hay que destacar que las mitocondrias que establecen esta relación son de un gran tamaño. En alguna ocasión hemos podido observar en el

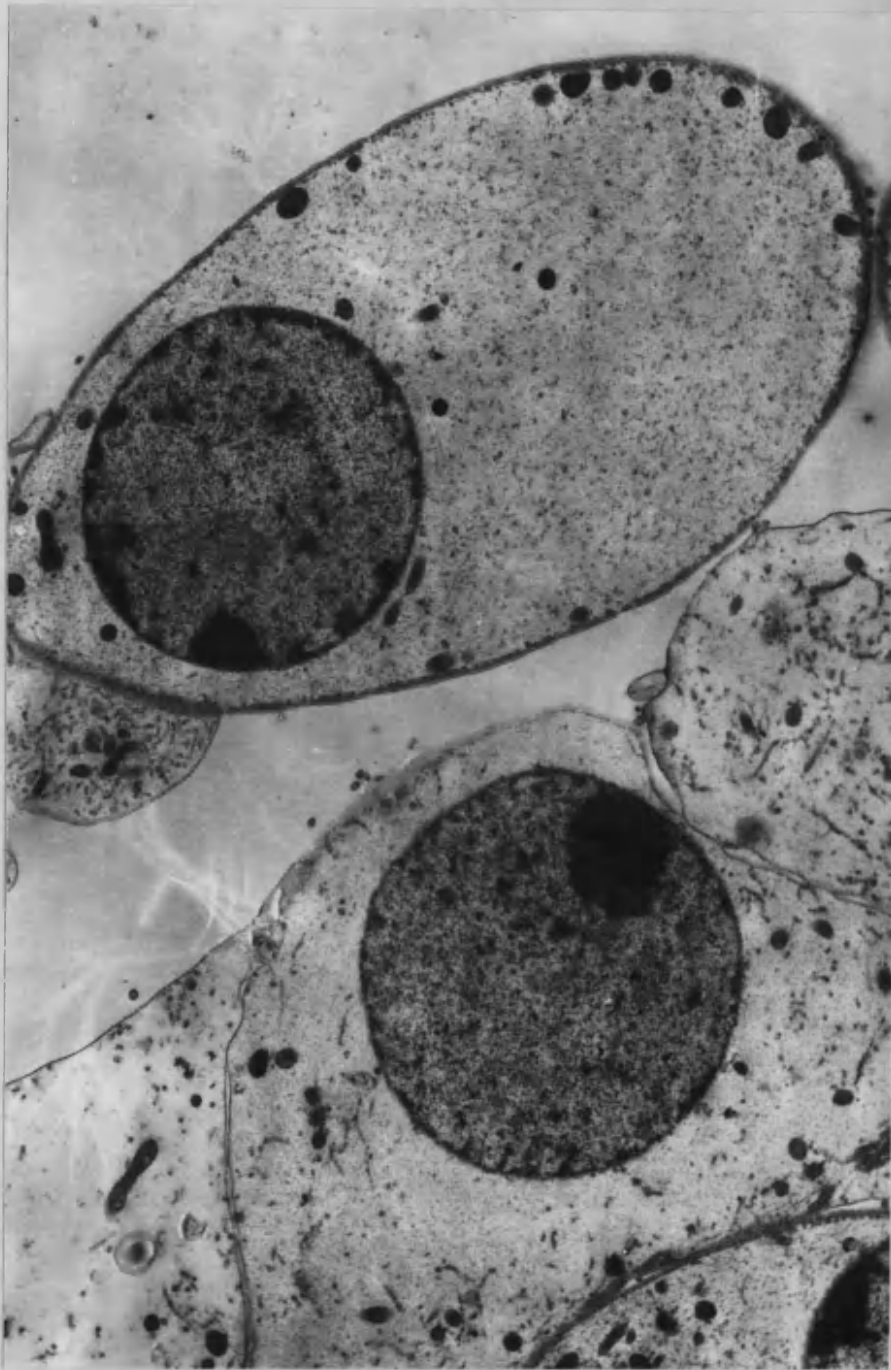


Fig. 80. Núcleo de una CCE observado mediante MET, se puede apreciar la distribución de la cromatina densa así como que el nucleolo está adosado a la carioteca. 3500x.

interior del cuerpo de Hensen una mitocondria bien desarrollada y con abundantes crestas.

2) Aparato de Golgi:

El aparato de Golgi se encuentra bastante desarrollado en la CCE, debido fundamentalmente a la presencia de los sáculos aplanados. El aparato de Golgi se sitúa en la CCE en dos zonas relativamente concretas, en la parte superior por debajo de la cutícula celular y en la parte inferior en las proximidades del núcleo y de los cuerpos de Hensen. Hay que destacar las estrechas relaciones de proximidad que mantiene con las formaciones "membranosas" del cuerpo de Hensen.

Los sáculos están poco dilatados, sobre todo los pertenecientes a los aparatos de Golgi que se sitúan en la región infracuticular, los de la región inferior tienen unos sáculos más anchos, asimismo están rodeados por unas vesículas que tienen en su interior material electrodensó. Solo en raras ocasiones hemos encontrado en las proximidades de los sáculos del aparato de Golgi alguna vesícula de mayor tamaño, aunque en estos casos siempre se trataba de los aparatos de Golgi, situados en la región inferior de la CCE (Fig. 81).

3) Retículo endoplásmico:

El retículo endoplásmico como tal, está muy distribuido a lo largo de todo el citoplasma celular en forma de túbulos muy aislados, existen dos tipos de retículo, el liso, sin ribosomas y el rugoso, con ribosomas, este último

Fig. 81. Página siguiente.

Visión general al MET de las regiones infranuclear y media de una CCE, se aprecia como en el citoplasma existen ribosomas aislados, así como mitocondrias. El retículo endoplásmico es escaso. Hay que destacar la existencia de las capas de túbulos paralelos a la membrana celular, el número de capas va aumentando conforme ascendemos desde el polo inferior, también hay que señalar, aunque en esta imagen no es muy evidente, la relación que mantienen estos túbulos con las mitocondrias. En la imagen también aparece el cuerpo de Hensen formado por capas de túbulos concéntricos y rodeado por mitocondrias en su totalidad. En relación con el cuerpo de Hensen y en la parte superior, también se observa un aparato de Golgi que tiene unos sáculos poco desarrollados y con escasas vesículas y vacuolas. 10000x.



está escasamente representado.

En nuestra opinión la presencia del retículo endoplásmico rugoso ocurre en la periferia de la CCE en las proximidades de las formaciones "membranosas" paralelas a la membrana celular y de las mitocondrias que se sitúan en la periferia celular.

4) Ribosomas:

Los ribosomas en la CCE se encuentran distribuidos de forma muy homogénea a lo largo de todo el citoplasma, sin que exista una mayor densidad de ellos en alguna zona de la célula (Fig. 81 y 82).

5) Lisosomas:

Los lisosomas son muy escasos y se encuentran muy irregularmente distribuidos por el citoplasma de la CCE.

6) Sistema de membranas:

No se trata de un sistema de membranas paralelo a la membrana celular, sino de un serie de túbulos adosados unos a otros. Podemos observar estas formaciones de la CCE en la parte interna de la membrana celular, desde el polo superior hasta el polo inferior de la célula, si bien el número de túbulos no es siempre el mismo a lo largo de toda la célula, así en el polo superior o en el inferior solo existe una capa tubular y posteriormente conforme nos vamos acercando a la parte central de la CCE se van superponiendo nuevas capas de túbulos hasta que en la región central de la célula se llega a un número de siete capas tubulares de-

doble membrana (Fig. 81). Pero estos túbulos no son contínuos, sino que hay interrupciones consiguiéndose así una comunicación entre la membrana celular y la región central del citoplasma (Fig. 82).

Estas capas tubulares no contactan entre sí, sino que dejan unos estrechos espacios lineales ocupados por una fina materia granular similar al del citoplasma (Fig. 84). Cuando obtenemos un corte transversal de estas capas tubulares de doble membrana, parece que exista una relación o comunicación entre los túbulos, con lo que estos formarían realmente una red entre la membrana celular y el citoplasma. En alguna ocasión hemos podido observar como en un determinado punto se separan las capas de túbulos para volver posteriormente a unirse, con lo que dejan entre ellos una isla de material citoplásmico conteniendo vacuolas, mitocondrias, gránulos.... (Fig. 83).

En el interior de los túbulos se aprecia la presencia de un fino material granular, ligeramente más electrodensó que al del citoplasma. El túbulo que está más cerca de la membrana celular se relaciona con una capa granular que se sitúa entre ambos (Fig. 84).

También hay que destacar la estrecha relación -- que existe entre las capas tubulares y las mitocondrias, -- éstas se sitúan con su eje mayor paralelo a las capas tubulares, esto ocurre sobre todo en la parte central e inferior de la célula. Su relación es muy estrecha pudiendo -- llegar a decirse que realmente existe un contacto entre ambas estructuras (Fig. 82 y 83).

Fig. 82. Página siguiente imagen superior.

Capas de túbulos paralelas a la membrana celular, esta imagen es de la zona media de la célula y se observan unos 7 túbulos. Las capas parecen interrumpidas en algún punto. Hay que destacar que las mitocondrias están en estrecha relación con la capa de túbulos más interna y el tamaño que éstas tienen, también se aprecian en el citoplasma ribosomas aislados. MET. 14000x.

Fig. 83. Página siguiente imagen inferior.

Aquí se observa como las capas de túbulos se separan quedando en medio una isla de material citoplásmico con diversas organelas. MET. 12000x.



También existe una relación muy directa de los túbulos con los cuerpos de Hensen, conforme se incrementa el número de aumentos del MET esta relación parece más estrecha. Utilizando los máximos aumentos se llega a la conclusión de que se trata de una continuación de las capas tubulares de doble membrana. Esta relación ocurre sobre todo en la parte inferior de la CCE. Sin embargo no hemos encontrado ninguna relación de esta estructura con el aparato de Golgi o con otra organela de la CCE (Fig. 85).

De todo lo anterior deducimos que estas capas tubulares con doble membrana no son más que formaciones tubulares del retículo endoplásmico, con una situación peculiar y con una posible función metabólica especial en la CCE.

7) Cuerpo de Hensen:

Se trata de unas formaciones redondeadas o esféricas que se sitúan en la parte inferior de la CCE. Están -- formados por capas de túbulos de doble membrana exactamente iguales a los de la estructura anteriormente descrita, -- el número de capas que los forman viene a estar entre cinco y doce, nunca es menor de cinco aunque su límite superior puede variar. Estas capas tubulares no están totalmente en contacto, sino que entre ellas dejan un espacio que es ocupado por un fino material granular similar al del citoplasma celular (Fig. 81). Estas capas no son continuas -- sino que a veces se interrumpen de forma alterna e irregular, por lo que suponemos que el interior estará en contacto con el exterior a través de esas ventanas. El interior del cuerpo de Hensen está ocupado por el mismo material --

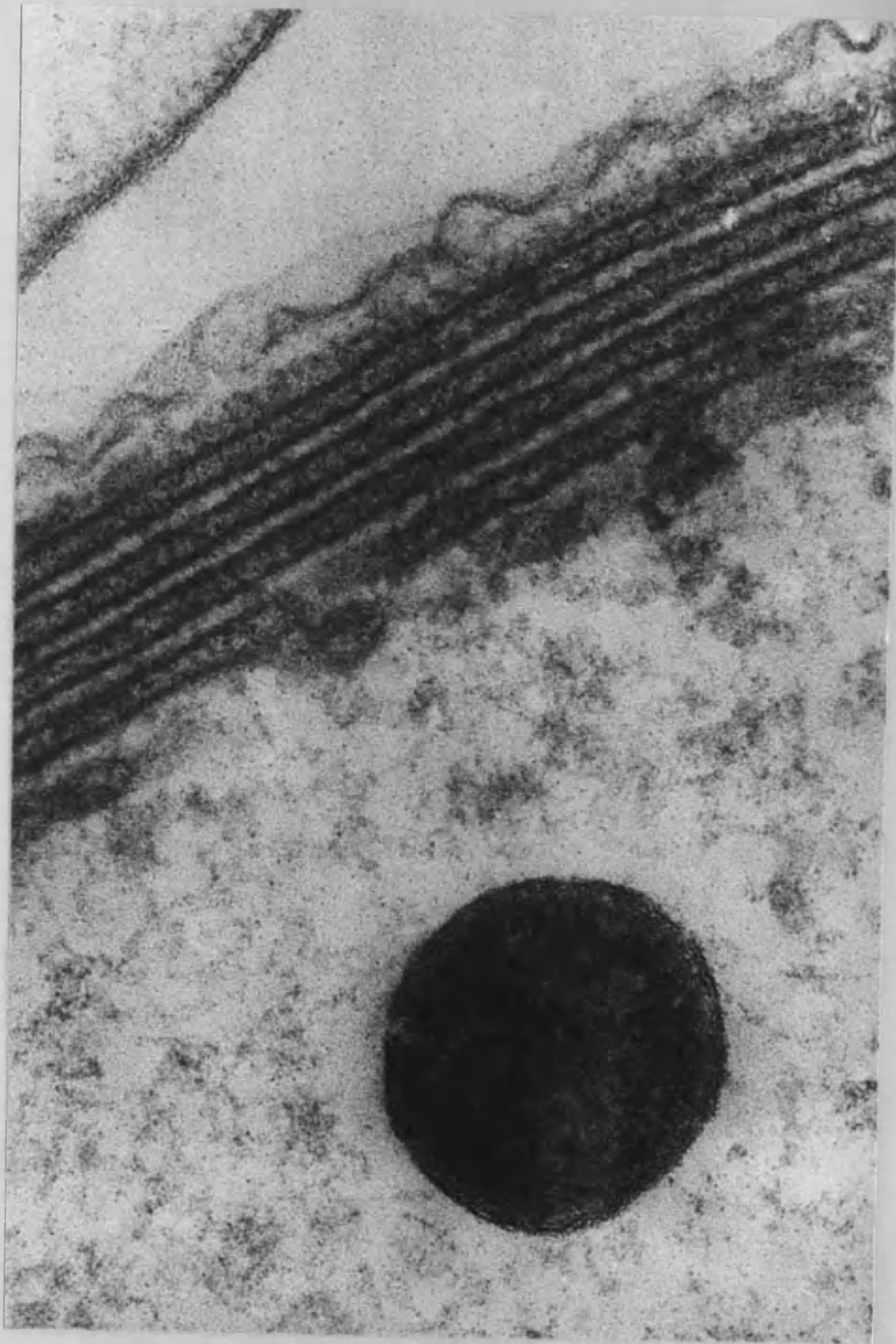


Fig. 84. Imagen de MET donde se observa como estos túbulos no contactan entre sí, sino que dejan un espacio entre ellos, ocupado por un fino material granular. También se puede apreciar el material que contienen y la relación que existe entre la membrana de la célula y el tubo más próximo a ella. 66000x.

que el citoplasma, es decir gránulos finos, vacuolas, ribosomas, y alguna mitocondria. Por otro lado hemos observado que conforme existe un mayor número de capas tubulares en el cuerpo de Hensen, el contenido de la parte interna es más denso, es decir hay una mayor concentración de elementos (Fig. 85).

Hay que destacar la estrecha y numerosa relación que existe con las mitocondrias, que materialmente rodean al cuerpo de Hensen, en alguna ocasión hemos encontrado hasta 19 mitocondrias rodeando al cuerpo de Hensen (Fig. 81).

Asimismo existe una indirecta pero evidente relación entre estas estructuras y el aparato de Golgi, ya que aunque este no es muy numeroso, siempre encontramos a los cuerpos de Hensen en la zona en que están los aparatos de Golgi (Fig. 81).

La relación con las capas de túbulos con doble membrana es muy estrecha hasta el punto de que opinamos -- que se trata de la misma formación que se separa de la zona periférica de túbulos, en nuestra opinión esto ocurriría en esas zonas donde las capas tubulares se separan dejando una isla de citoplasma, así este proceso se continuaría hasta que los extremos llegaran a estrangularse total o parcialmente de la capa tubular, ya que si en algunas -- ocasiones encontramos al cuerpo de Hensen con una estructura aislada en la parte inferior de la CCE en otras observamos como está claramente unido a las capas tubulares periféricas y se evidencia una continuidad estructural entre -

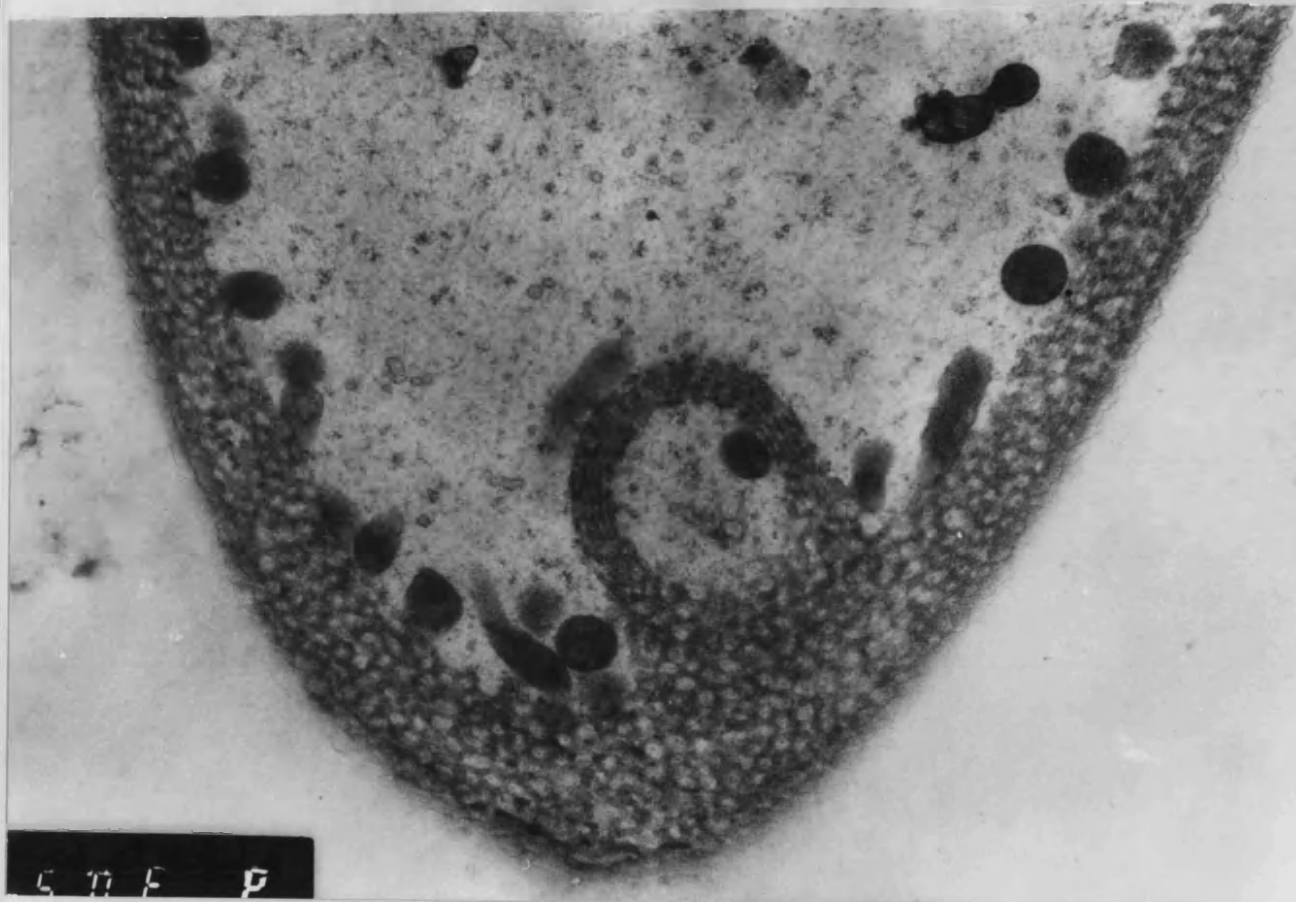


Fig. 85. Imagen de MET de un cuerpo de Hensen donde se observa la estrecha relación de esta estructura con las capas de túbulos, hasta el punto de poder asegurarse que se trata de la misma formación, ya que los túbulos de una y otra estructura parecen ser continuación unos de otros. Queremos resaltar aquí la existencia en el interior del cuerpo de Hensen de una - mitocondria. 10000x.

ambas formaciones(Fig. 85).

En nuestra opinión las capas tubulares y el cuerpo de Hensen son la misma formación, es decir retículo endoplásmico.

En la CCE solo existe un cuerpo de Hensen en la parte inferior del citoplasma.

De todo lo anteriormente expuesto sobre la CCE hay que concluir que se trata de una célula que consume y produce mucha energía. Al mismo tiempo hay que señalar que existen en la CCE unas formaciones muy características como son las capas tubulares y los cuerpos de Hensen y que consideramos que están formados por la misma estructura, el retículo endoplásmico.

La membrana que rodea a la CCE es la típica de las células del organismo, aprovecharemos este punto para describir el tipo de relaciones que mantiene la membrana de estas células con la de sus homólogas vecinas y con las células de Deiters. Se trata siempre de complejos de unión, así en la región de contacto más superior, es decir la que estaría en las proximidades de la endolinfa del conducto coclear, existen zonas de oclusión que cierran herméticamente el paso de dicha endolinfa al intersticio celular. Conforme profundizamos en la relación de las membranas de la CCE y la de sostén, hallamos zonas de adherencia y más inferiormente uniones por medio de desmosomas, en donde hay que destacar su longitud. Posteriormente y al profundizar observamos que la relación no es tan estrecha, existiendo zonas en las que

hay un intersticio entre ambas membranas celulares.

Hay que mencionar también que la unión del polo inferior de la CCE con la célula de Deiters se realiza por medio de una zona de adhesión que abarca toda la longitud de este contacto.

B) CELULAS CILIADAS INTERNAS.

Al igual que ocurría en las CCE el mejor método para estudiar la superficie de las CCI es la MEB, así observaremos además los cilios de estas células. Las CCI se presentan en una sola fila por dentro de las CCE de las -- que están separadas por las cabezas de las células de los pilares interno y externo. Las CCI quedan situadas entre -- las células de sostén internas y las células de los pila-- res internos (Fig. 86).

A diferencia de lo que ocurría en la CCE aquí existe una mayor regularidad en la alineación de las células ya que no hemos observado la existencia de células supernumerarias, ni la ausencia de alguna célula, lo que da lugar a -- esa imagen de empalizada que ofrecen las CCI con sus cilios. La superficie de estas células tiene una forma poligonal.

La imagen de los cilios tiene el aspecto de una -- barrera o empalizada, ya que los cilios están en contacto -- muy estrecho entre ellos incluso los de células vecinas.

La superficie de la CCI es muy similar a la de -- la CCE, de tal manera que hay una zona de la cual salen los cilios que es una depresión limitada en su parte distal por una elevación de menor tamaño que la existente en las CCE. Sin embargo en la parte más interna o proximal al modíolo, la superficie deprimida en que se insertan los cilios parece ser mayor aquí que en la superficie distal, e incluso -- que en la de todas las CCE. También da la impresión de que está rodeada por una elevación de la superficie que tiene -- mayor altura en esta parte proximal que en la CCE. Existen

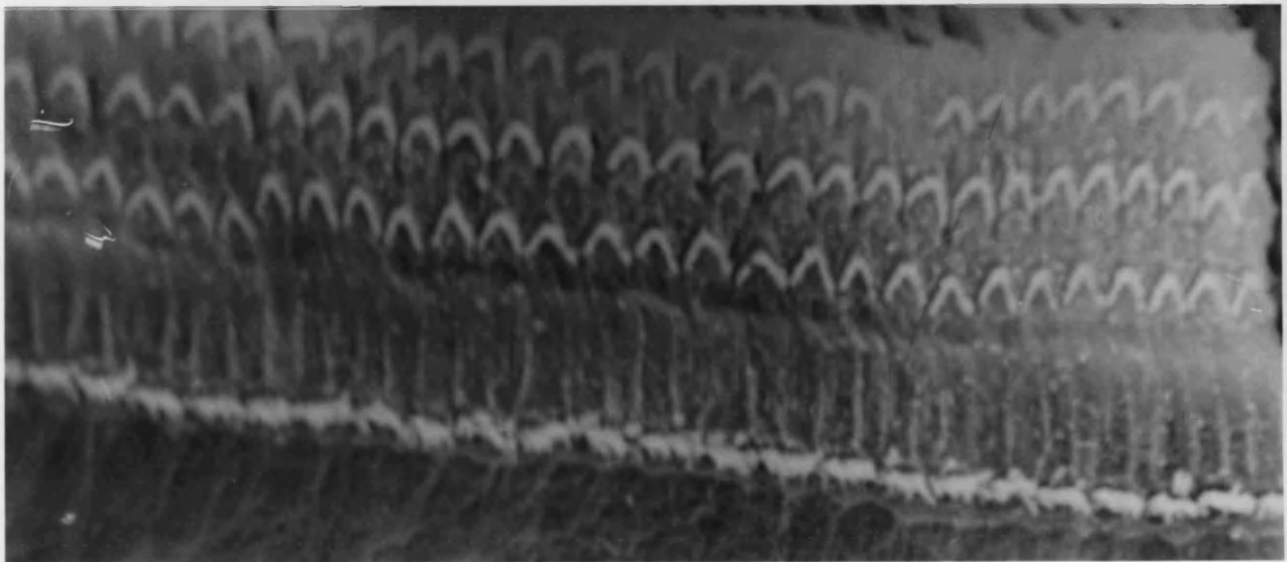


Fig. 86. Imagen de MEB donde se observa la disposición de las CCI en el órgano de Corti, en una sola fila y con sus cilios formando una empalizada. 5000x.

asimismo numerosos microvillias, por fuera de esta área rugosa, cuyas características son iguales a las de las CCE (Fig. 87).

También hemos observado la existencia del corpúsculo basal, vestigio del kinocilio, situado a la altura de la mitad de cada grupo ciliar y en la superficie cubierta de cilios.

En cuanto a los cilios parecen ser de mayor tamaño en las células de la espira apical que en la basal. En relación con las CCE estos cilios tienen un mayor calibre y altura. Su grosor es progresivamente mayor desde que sale de la superficie de la célula, mostrando esta zona de menor calibre, y al igual que ocurría en la CCE, una imagen más oscura (Fig. 88).

El número de cilios en cada hilera es menor que en las hileras de las CCE, de tal manera que aquí existen entre 15 y 20 cilios, siendo mayor este número en las CCI de la espira basal.

Hay al menos de 2 a 3 hileras de cilios en cada célula, si bien solo se observan las 3 hileras en las células del apex coclear. No hemos podido observar la existencia de cilios gigantes o el fenómeno de la fusión de algunos cilios (Fig. 89).

Entre los cilios hemos observado la existencia de una substancia o fibras que los mantienen unidos, asimismo en las extremidades libres de los cilios se puede apreciar la existencia de una substancia que parece cubrirlas. En

Fig. 87. Página siguiente imagen superior.

Donde se aprecia como los cilios de las CCI nacen - de una depresión de la cutícula, esta tiene mayores dimensiones que la de las CCE. 4500x.

Fig. 88. Página siguiente imagen inferior.

Cilios de las CCI donde se aprecian las características de éstos en cuanto a su calibre y longitud. - MEB. 5000x.

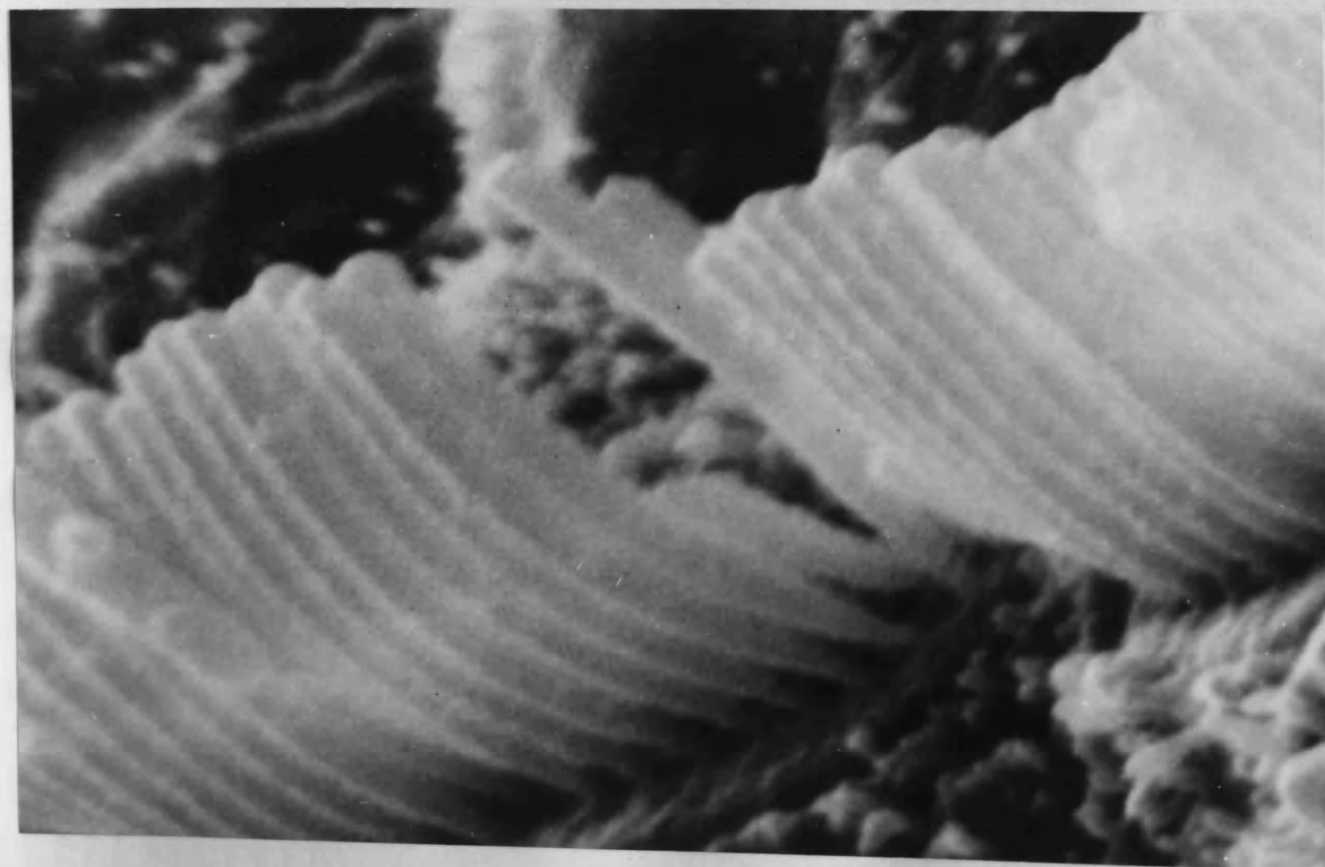
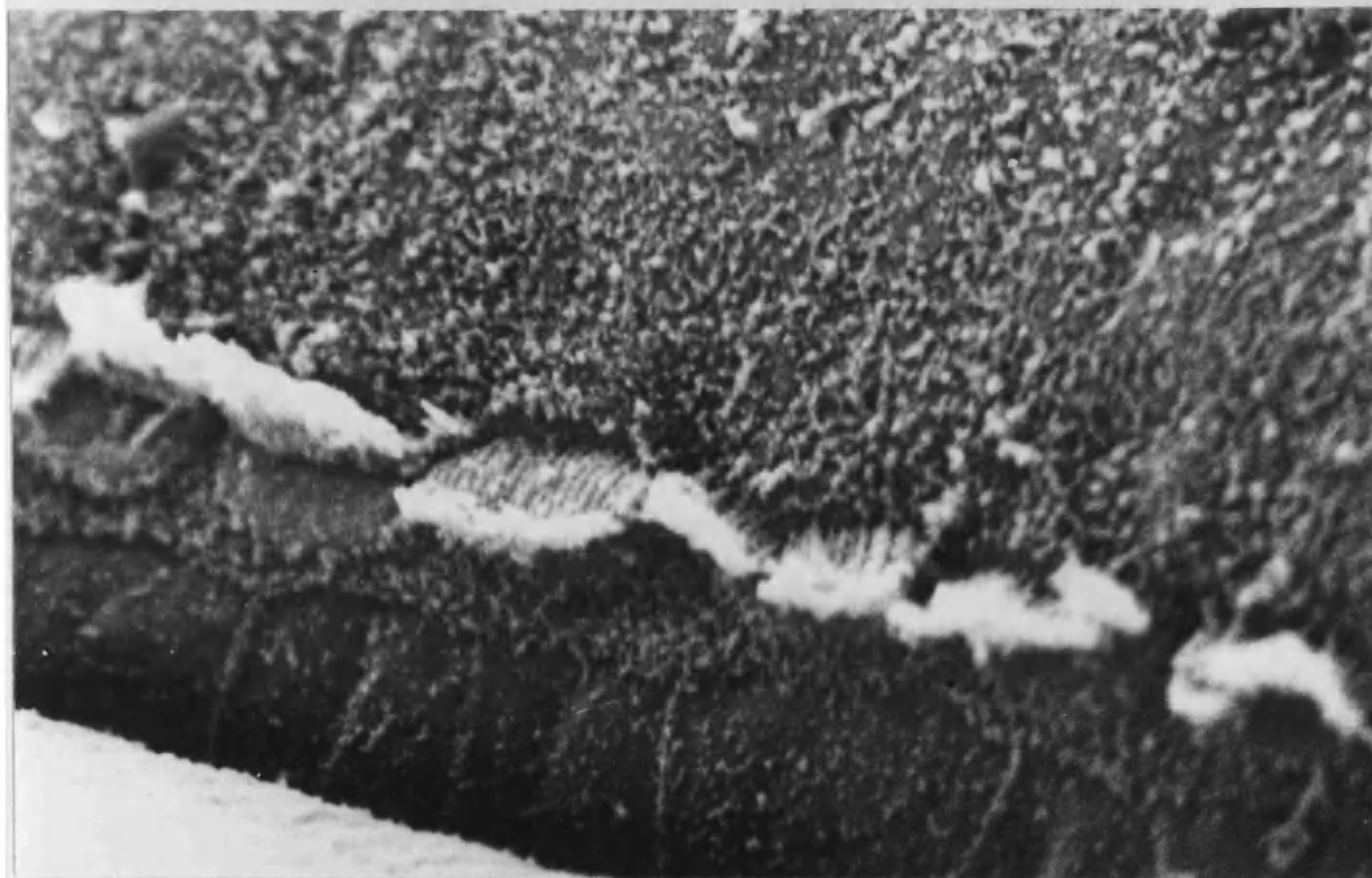
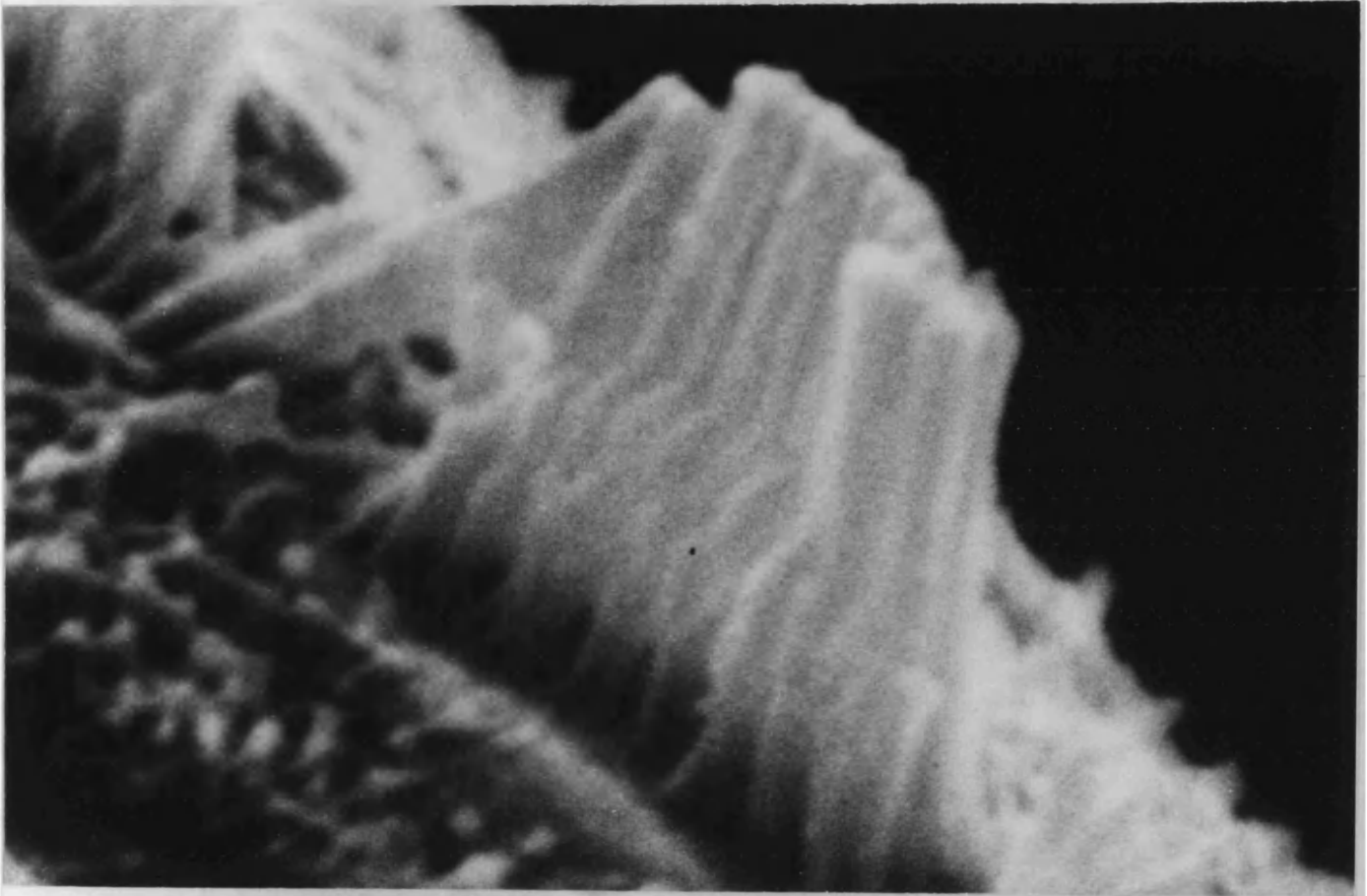


Fig. 89. Página siguiente imagen superior.

Donde se observan las hileras de cilios que forman la empalizada. MEB. 4500x.

Fig. 90. Página siguiente imagen inferior.

Se puede apreciar la existencia de una substancia o de unas fibras que mantienen unidos a los cilios. - MEB. 10000x.



ocasiones esta substancia parece que haya sido sometida a un estiramiento o tracción, y presenta además unas fibras que están orientadas hacia las formaciones suprayacentes. Esta misma substancia y las fibras, también las hemos observado uniendo los cilios de las células vecinas (Fig. 90).

En las ocasiones en que la substancia que existe sobre los cilios de las CCI estaba orientada hacia arriba también los cilios parecía que habían sufrido la misma tracción y se encuentran orientados en la misma dirección (Fig. 100).

Al corte transversal y al MET, las CCI tienen -- forma de rectángulo inclinado sobre la membrana basilar con un ángulo de unos 150 grados. En la superficie existen unos estereocilios que se sitúan en cuatro o cinco hileras en forma de empalizada, estos cilios terminan en la cutícula-celular. El citoplasma contiene un núcleo bien desarrollado y las mismas organelas que la CCE, aunque con algunas modificaciones y características particulares. La CCI se relaciona con la célula de sostén interna y con la célula -- del pilar interno.

De las cuatro o cinco hileras de cilios que tiene la CCI solo sobresalen las dos últimas o más externas ya -- que los restantes apenas se elevan de la superficie celular. Los cilios son prolongaciones celulares que tienen en su interior por unos filamentos, que conforme el cilio desciende hacia la superficie celular, ya que se reúnen en la parte -- central formando una especie de eje, que se continúa en el espesor de la cutícula. Los cilios están rodeados por la --

propia membrana celular. Por lo tanto las características de los cilios de las CCI son las mismas que los de las -- CCE (Fig. 91).

La parte superficial del citoplasma celular, inmediatamente por debajo de la membrana en el polo superior está ocupada por la cutícula, se trata de una formación -- que ocupa toda la parte central del polo superior excepto los extremos, se trata de una estructura con una elevada densidad a los electrones y en donde solo destacan los --- ejes fibrilares de los cilios que penetran en su profundidad (Fig. 91).

El citoplasma de la CCI tiene un menor volumen - que el de la CCE debido al mayor tamaño de ésta. Está ocupado por un fino material granular escasamente electródensosobre el que se sitúan las organelas de la célula. Hay que destacar el gran número de vacuolas y túbulos que materialmente cubren todo el citoplasma (Fig. 91).

Entre las formaciones que encontramos en la CCI hay que destacar (Fig. 91):

1) Mitocondrias:

Se trata de unas mitocondrias más redondeadas o - esféricas que en la CCE, con evidentes crestas perpendiculares a su eje mayor, sin que hayamos podido apreciar granos densos en su interior. Su tamaño parece ser mayor que en - las CCE, asimismo también parecen ser más numerosas .

En la CCI se sitúan en la parte superior y sobre todo en la región infracuticular. No parece que exista nin

guna relación particular con alguna de las estructuras del citoplasma, como ocurría con las de la CCE.

2) Aparato de Golgi:

El aparato de Golgi está más desarrollado en la CCI que en la CCE, aquí su número y tamaño es mayor y se sitúa en la parte superior y supranuclear de la CCI. Está formado por un número mayor de sáculos y asimismo éstos parecen ser más anchos, existen numerosas vesículas de transporte y de secreción a su alrededor. Estos aparatos de Golgi se sitúan por debajo de las mitocondrias infracuticulares.

3) Retículo endoplásmico:

El retículo endoplásmico está muy desarrollado en la CCI hasta el punto de que cubre todo el citoplasma que dejan libre otras organelas. Existe una mayoría aplastante de la variedad lisa del retículo, hasta el punto de que no hemos observado ninguna de retículo endoplásmico rugoso.

Está formado por túbulos de diverso calibre y longitud que se sitúan sobre todo en la región superior de la CCI.

4) Vacuolas:

Es el elemento más numeroso del citoplasma de la CCI después del retículo endoplásmico.

5) Lisosomas:

Están escasamente representados, al igual que ocurre en la CCE. Aquí su interior parece ser menos electrodensso.

6) Cuerpos de Hensen y capas de túbulos:

En la CCI no hemos constatado la presencia de los cuerpos de Hensen. Asimismo las capas de túbulos paralelos a la membrana celular no existen, en todo caso hemos observado una sola capa tubular alrededor de la membrana celular.

Los hallazgos anteriores contrastan con la existencia de un retículo endoplásmico tan desarrollado, ya que en nuestra opinión los cuerpos de Hensen y las capas tubulares no son más que formaciones especiales de retículo endoplásmico liso.

7) Ribosomas:

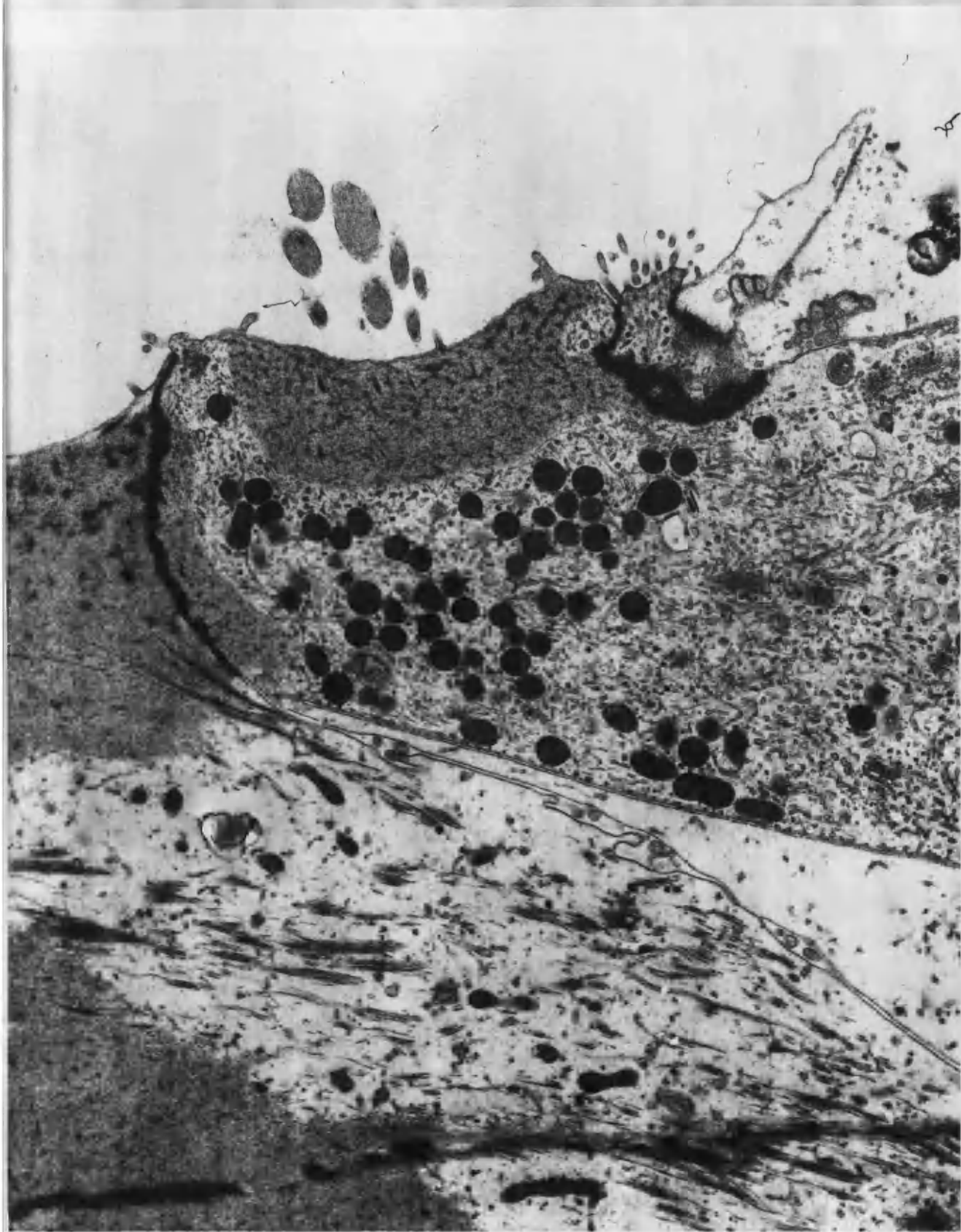
Su número es muy escaso en la CCI tanto aisladamente como unidos al retículo endoplásmico.

La membrana celular que rodea a la CCI tiene las mismas características que las de la CCE es decir con unas zonas de oclusión en la parte más apical que se relaciona con la célula de sostén, lo que aísla al intersticio celular de la endolinfa, también y en profundidad hallamos zonas de adherencia y uniones de tipo desmosómico. Estas zonas de adhesión de la CCI son de menor longitud que las de la CCE.

Por todo lo anterior descrito cabe deducir que - la CCI es una estructura menos especializada que la CCE.

Fig. 91. Página siguiente.

Imagen de MET donde se aprecia una CCI. Se pueden observar los cilios con sus características, iguales a los de las CCE, también podemos apreciar la cutícula celular. En el citoplasma hay que destacar la existencia de numerosas mitocondrias aunque tienen menor tamaño que las de las CCE, asimismo hay que destacar la presencia de un retículo endoplásmico liso muy abundante. El cuerpo de Hensen no lo hemos podido apreciar en las CCI y las capas de túbulos paralelos a la membrana celular no están muy desarrolladas. 12000.



C) RELACION DE LAS CELULAS CILIADAS CON
LA MEMBRANA TECTORIA.

El estudio de la relación entre los cilios de las CC y la superficie inferior de la MT, tiene múltiples dificultades y escollos que superar.

Dentro de la dificultad que existe para estudiar las huellas de esta relación hay que destacar la importancia del desarrollo y madurez del órgano de Corti en este estudio, así hemos evidenciado como en los animales más jóvenes, recién nacidos e incluso fetos, estas huellas de la relación entre ambas formaciones eran evidentes mientras que en los adultos resultaba difícil observar esta relación incluso de forma indirecta.

Hemos de señalar la importancia que tiene la preparación de la pieza en lo que se refiere al posterior estudio de este tema, sobre todo la fijación y aún más la deshidratación de la muestra, ya que en la mayoría de las ocasiones la existencia de estas huellas es mínima o solo están representadas de forma muy indirecta por pequeños puentes fibrilares que desaparecerían en caso de no ser muy meticolosos en la preparación. Así la deshidratación es una fase sumamente delicada, como ya hemos descrito en otros apartados, para poder observar la realidad anatómica tal cual es. Si hacemos una deshidratación rápida y relativamente brusca, buena parte de las estructuras superficiales de la MT se retraerán en demasía y luego serán imposibles de reconocer. También una brusca retracción de la MT, que en algún otro aspecto nos puede interesar, dará lugar a una pérdida de esta relación y provocará un estiramiento de las fibras o estructuras que mantengan esta unión, lo -

que posteriormente nos puede inducir a error.

Un problema que en nuestra opinión merece un comentario es el del sombreado de las piezas con oro y carbono - para hacerlas conductoras de los electrones, ya que este -- sombreado puede ser muy intenso y llegar a cubrir las hue-- llas impidiendo o dificultando su reconocimiento, por eso - hay que realizar diversas pruebas con las muestras hasta ob-- tener un sombreado mínimo pero suficiente.

Para el estudio de las relaciones entre los cilios de las CC y la MT, hemos utilizado como métodos de observación la microscopia de interferencia diferencial de Nomarski y la MEB, ambos métodos son idóneos para el estudio de - superficies, que es lo que hemos hecho en este caso, si bien el estudio de los cilios solo lo hemos realizado mediante la MEB debido a la dificultad que representa para ello la técni-- ca de Nomarski.

RELACION ENTRE LOS CILIOS DE LAS CELULAS
CILIADAS EXTERNAS Y LA MEMBRANA TECTORIA.

La relación entre los cilios de las CCE y la superficie inferior de la MT parece haber sido demostrada por numerosos autores en diversos animales, en el cobaya esta relación no es tan evidente ni resulta ser tan directa o marcada. Así en la superficie inferior de la MT no hemos podido apreciar de forma evidente estas huellas, tan solo hemos observado en el espacio existente entre la banda de Hensen y el borde marginal de la MT la existencia de unas formaciones fibrilares o de una substancia amorfa, que se disponía siguiendo el eje longitudinal de la MT. Esta formación no es continua sino que se interrumpe de forma irregular, asimismo parece que esta estructura está formada por la suma lineal de pequeñas formaciones que tienen la forma de una "V" con un ángulo extremadamente ancho que se abre al modiollo, cada brazo de esta "V", se continua o está muy próximo al de la siguiente, lo que da esa sensación de continuidad de estas huellas y se forma esta estructura que sigue el eje longitudinal de la tectoria (Fig.92).

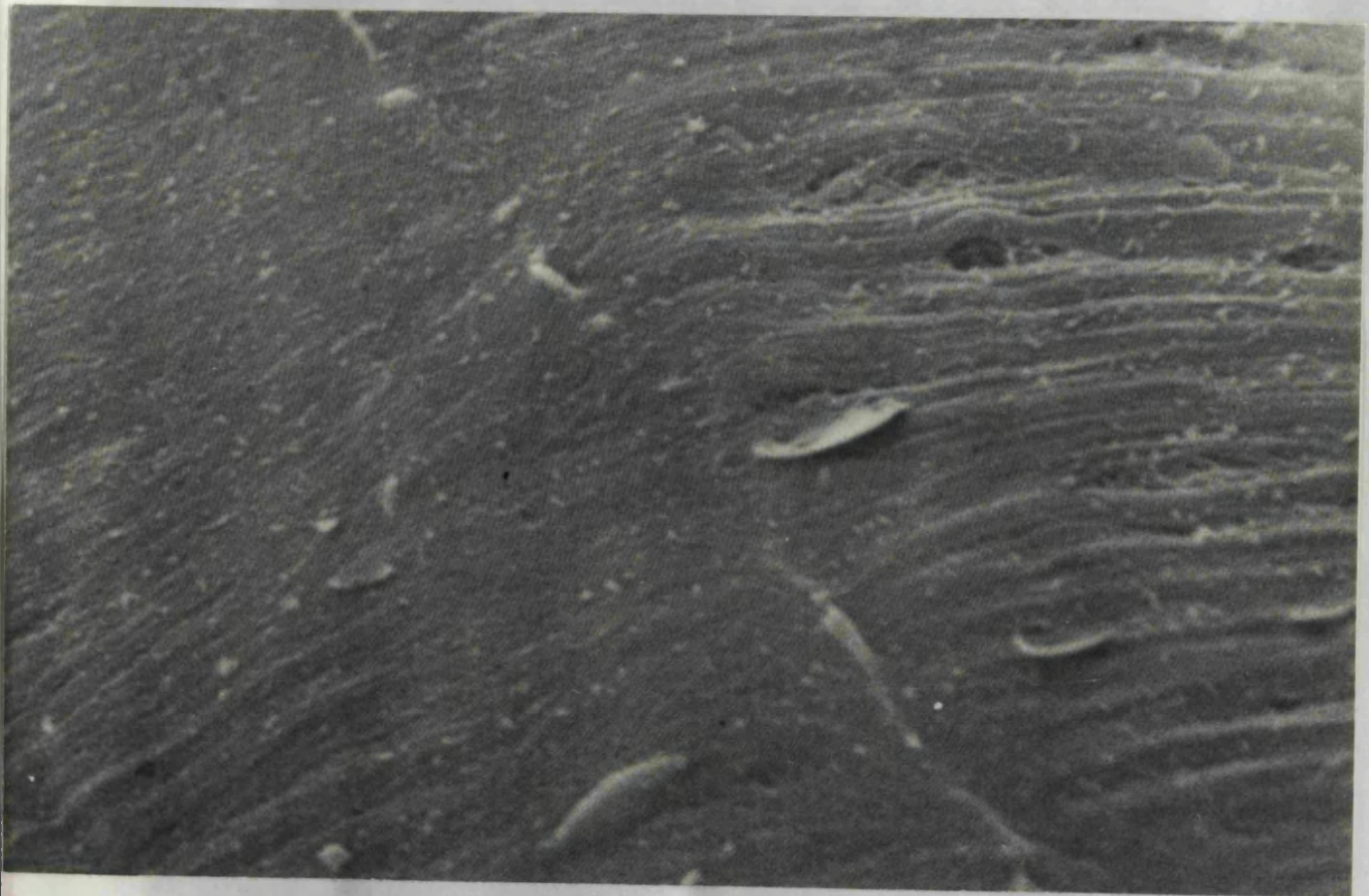
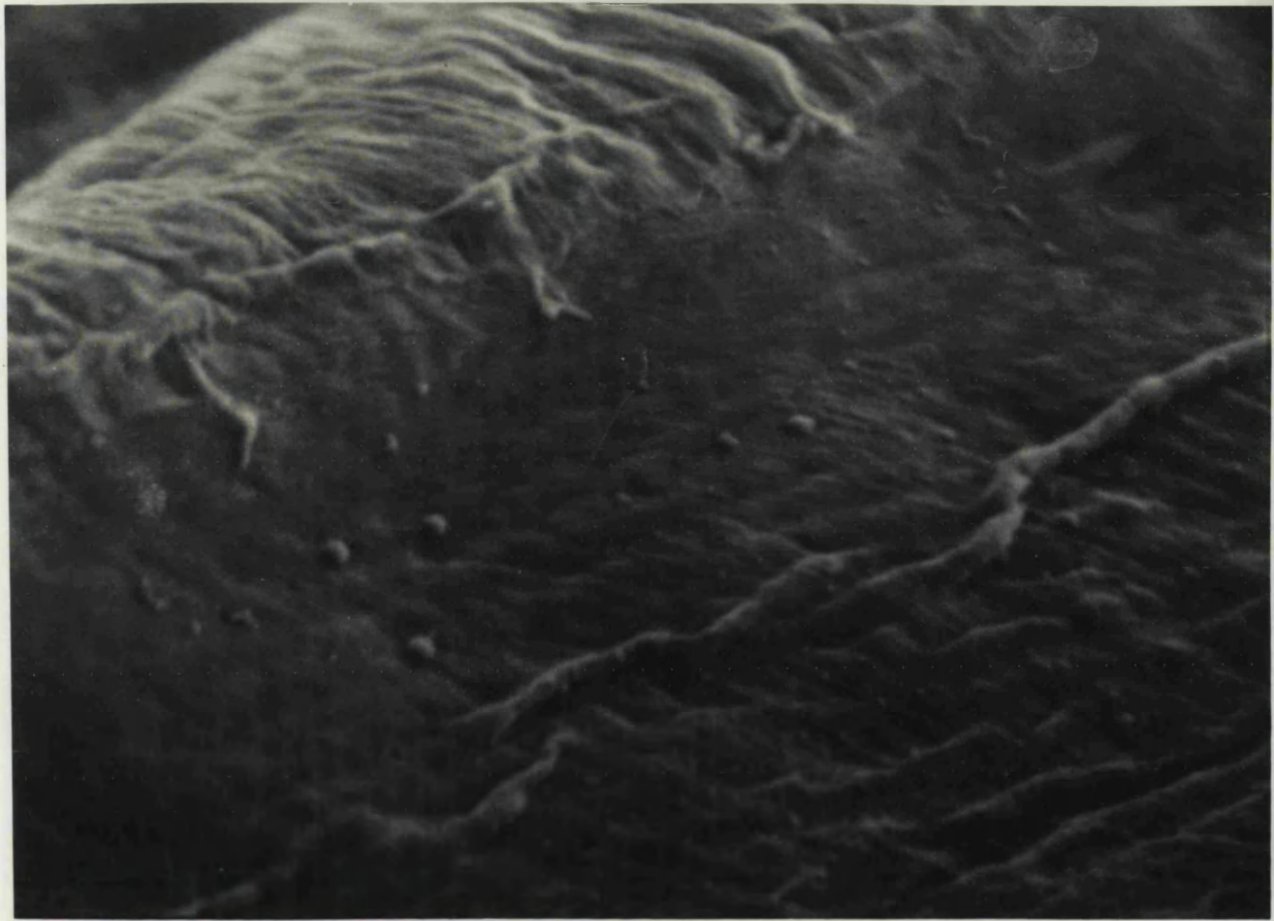
Solamente en algunas ocasiones y en piezas que - habían sido sometidas a una deshidratación sumamente lenta, con lo que la superficie inferior de la tectoria estaba muy bien conservada, pudimos observar unas huellas que aparecían cerca de la red marginal consistentes en unas depresiones - que unidas podían formar el contorno de una "V" cuyo ángulo era más estrecho que el de las anteriores y que estaba abierto hacia el modiollo. Estas huellas solo aparecían en la zona que estaba mejor conservada y donde hay una substancia amorfa (Fig. 93).

Fig. 92. Página siguiente imagen superior.

Se puede observar la superficie inferior de la MT, donde aparecen cerca del borde libre unas formaciones, sobre esta superficie, que tienen forma de "V" con un ángulo muy abierto entre sus brazos. 5000x. MEB.

Fig. 93. Página siguiente imagen inferior.

Aquí se puede observar la región marginal de la MT donde existen unas huellas en forma de "V". Se trata de una muestra que ha sido sometida a una deshidratación lenta. 5000x. MEB.



Posteriormente las siguientes huellas de la superficie inferior de la MT las observamos en el borde distal de la banda de Hensen, donde se forman al igual que las primeras una serie de formaciones en "V" con un ángulo muy abierto hacia el modíolo, sin embargo en esta zona es donde el relieve del borde es menor y estas formaciones en "V" a veces no las hemos podido encontrar, sobre todo si la muestra no había sufrido una deshidratación especialmente lenta (Fig. 94 y 95).

La tercera zona donde encontramos huellas o mejor dicho indicios de la existencia de una relación indirecta de los cilios de las CCE y la superficie inferior de la MT, es en el borde proximal de la banda de Hensen y aquí es donde más claramente se aprecian. Este borde tiene unas formaciones en "V" o arqueadas, en cuyo vértice existe una esfera de substancia amorfa que aparece de forma muy regular a lo largo de todo el borde de la banda de Hensen. En otras ocasiones no encontramos las ramas de la "V" y solo se observan estas formaciones esféricas regularmente dispuestas, las que en algún caso pierden su forma y parece que han sido sometidas a algún tipo de tracción. Estas formaciones esféricas vienen a coincidir en cuanto a su distribución con el vértice de la "V" que forman los cilios de las CCE de la primera fila o más interna (fig. 96 y 97).

El estudio de los cilios de las CCE con la MEB no nos aporta muchos datos, ya que solo hemos podido observar la existencia en los cilios de la tercera fila de CCE, la más externa y solo en la hilera más externa de los mismos,-

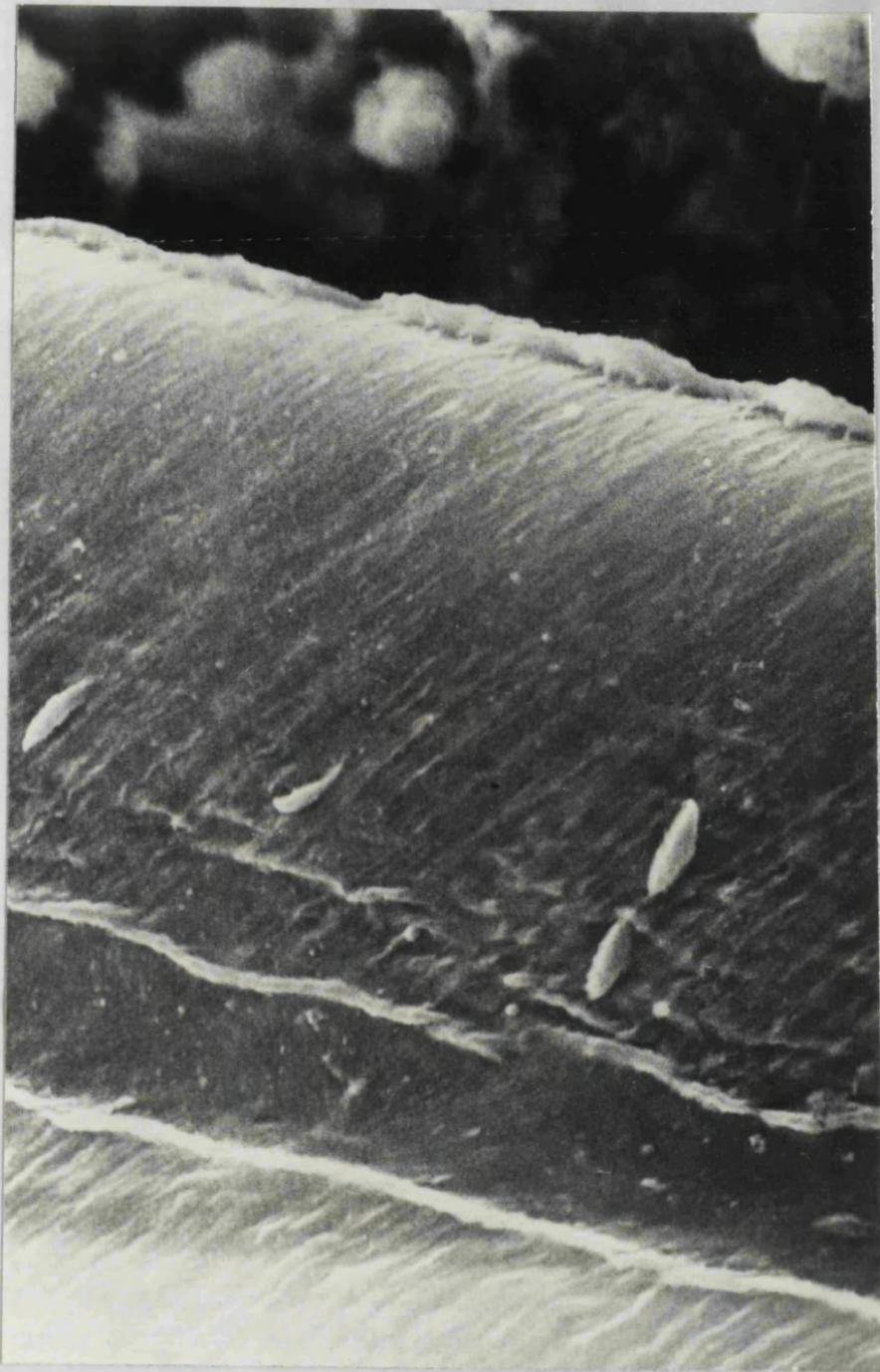


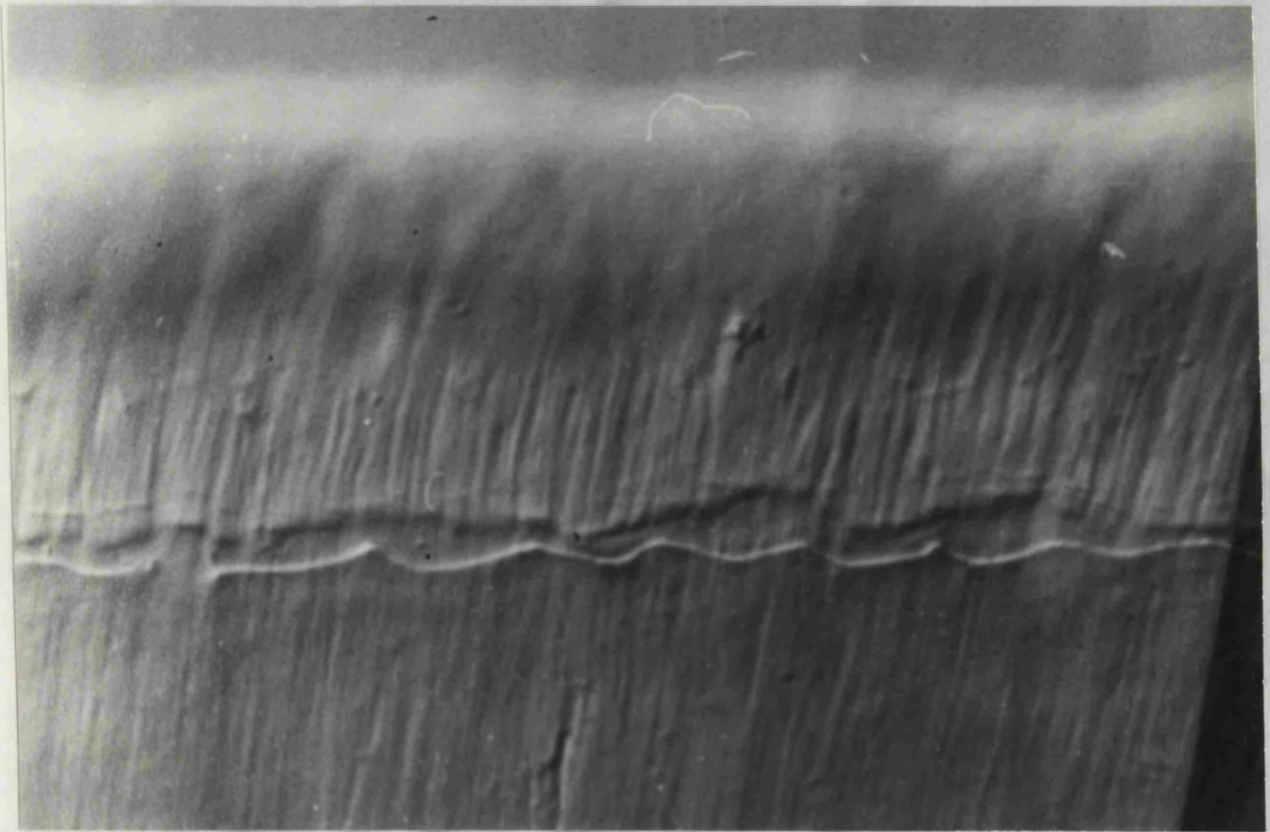
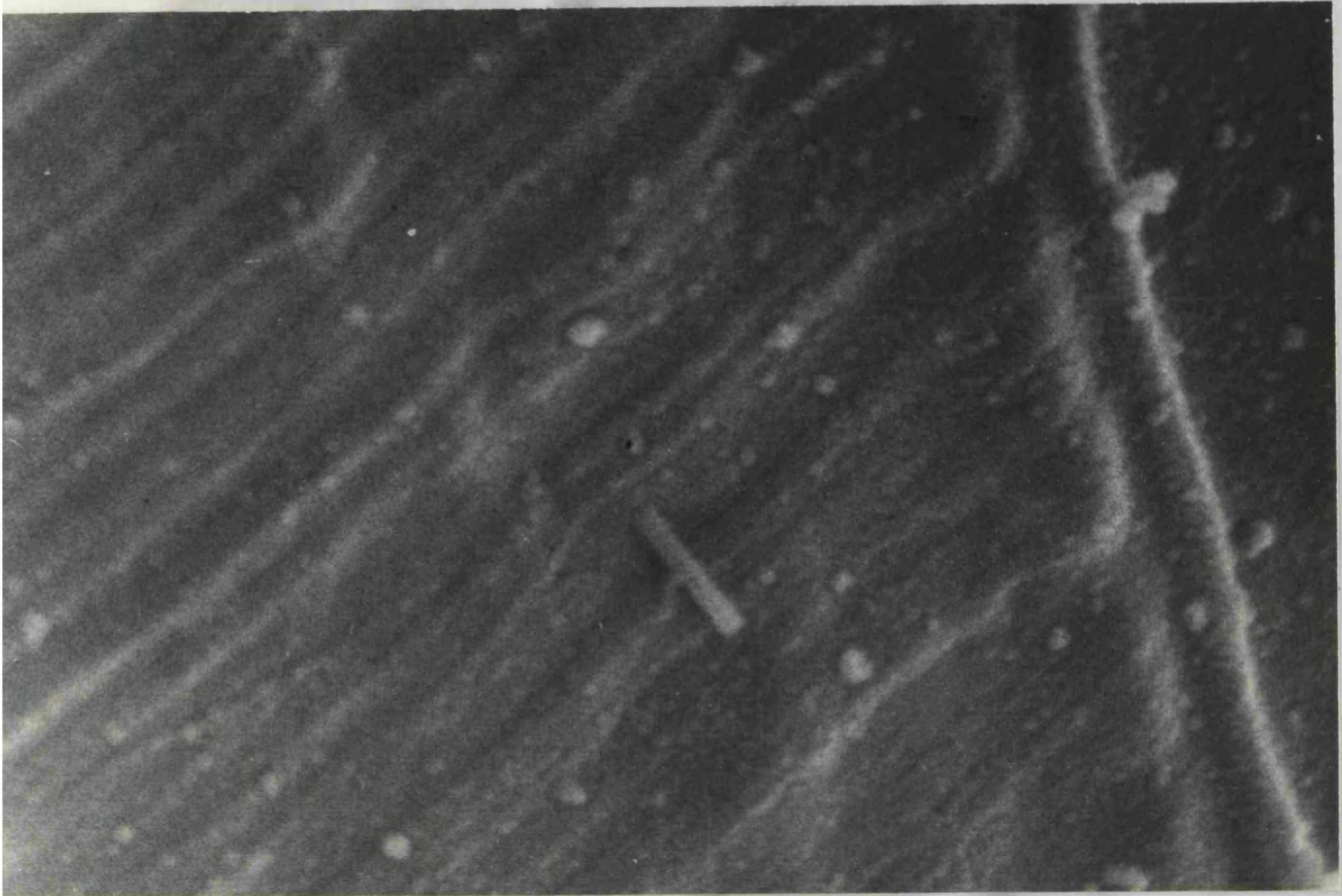
Fig. 94. Imagen obtenida mediante MEB de la segunda fila de huellas que se observan en las proximidades del bor de distal de la banda de Hensen. 1250x.

Fig. 95. Página siguiente imagen superior.

Borde proximal de la MT donde se observan las formaciones arqueadas, con una formación esférica en el punto en que se unen dos de estos arcos. MEB.-
1250x.

Fig. 96. Página siguiente imagen inferior.

Donde se observa mediante la técnica de Nomarski -
la misma imagen que en la fig. 95. 20x 2x.



de una substancia o unas fibrillas que daban la sensación como si existiera un halo borroso sobre ellos (Fig. 77).

RELACION ENTRE LOS CILIOS DE LAS CELULAS
CILIADAS INTERNAS Y LA MEMBRANA TECTORIA.

Tras la última fila de huellas pertenecientes a los cilios de las CCE de la primera fila o fila más interna y dejando un espacio mucho mayor que el que existe entre -- cualquiera de las tres filas de huellas de las CCE aparece una nueva línea de huellas. Estas se sitúan por detrás del borde proximal de la banda de Hensen dejando un amplio espacio entre ellas y el borde de la banda.

La presencia de esta línea de huellas es muy variable, así en la mayoría de las ocasiones no las hemos podido observar sobre todo si se trataba de animales adultos. En los animales más jóvenes hemos apreciado una línea de fibrillas o de substancia amorfa que aparece a la misma altura y de forma inconstante, estas huellas no tienen forma de "V" sino que más bien se trata de una línea de fibrillas más que de impresiones en la superficie inferior de la MT. (Fig. 97).

En muestras provenientes de fetos a los que les faltaban 20 días de gestación, hemos observado cilios que se encuentran fuertemente incluidos en la superficie inferior de la MT y en una zona que se corresponde con la línea de fibrillas anteriormente descritas. Estos cilios están -- perfectamente alineados con el borde proximal de la banda de Hensen y con el eje longitudinal de la MT, es decir están en el mismo plano que los cilios de las CCI que forman una empalizada. Estos cilios mantienen entre sí un mínimo contacto similar al que se observa en los de las CCI, es decir en su base, que aquí queda en la parte más elevada; los cilios se separan mientras que en el resto de la superficie ciliar

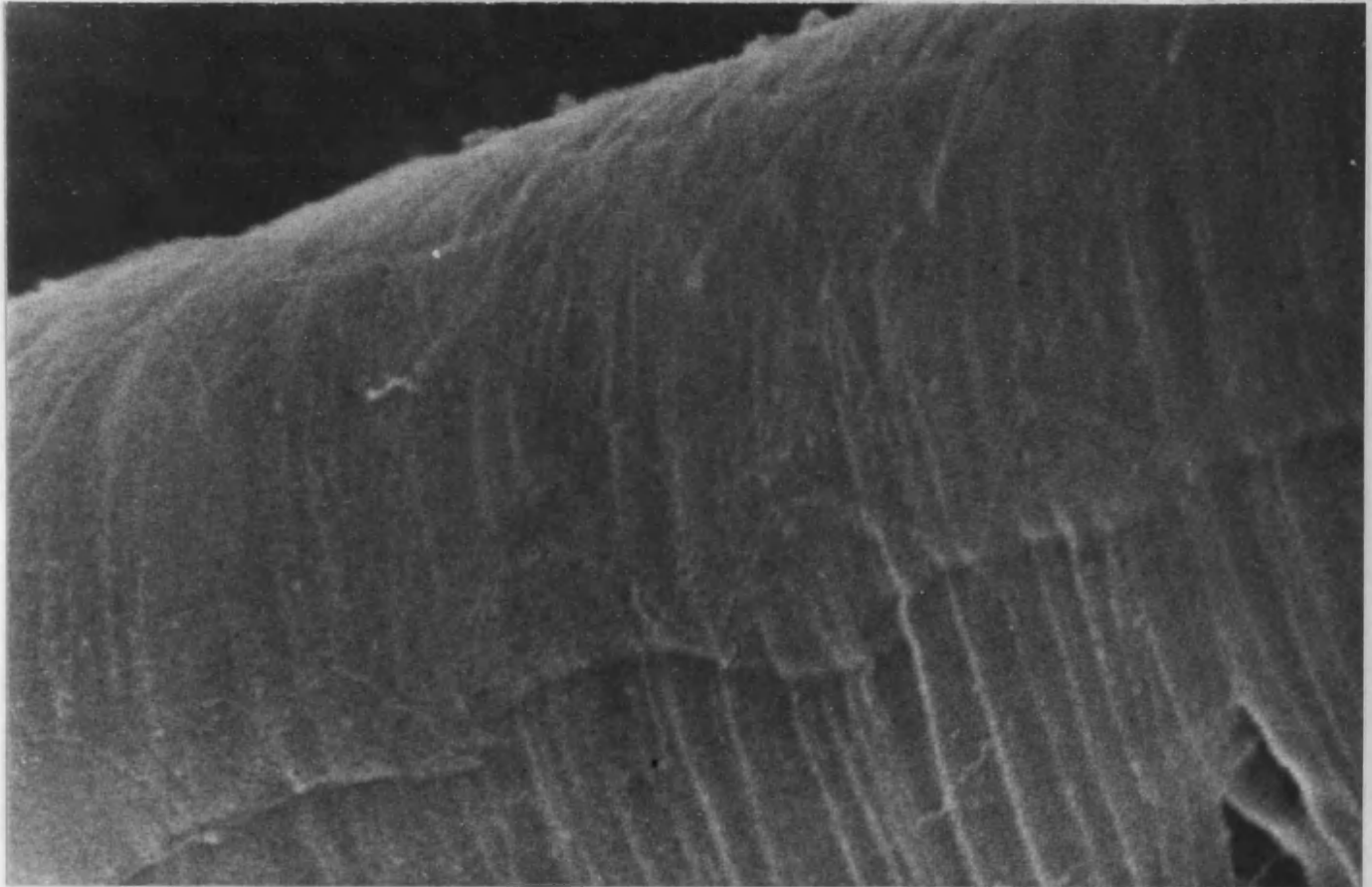


Fig. 97. Imagen de MEB donde se aprecian unas huellas por -
dentro de la banda de Hensen, se corresponderían -
con los cilios de las CCI. 2000x.

están unidos. Por todo lo anteriormente descrito parece bastante lógico pensar que estos cilios pertenecen a las CCI y que debido al proceso de retracción que ha sufrido la MT ha traccionado de ellos y han quedado unidos a la superficie inferior de la tectoria, habiéndose desprendido de la cutícula celular (Fig. 98 y 99).

En el estudio de los cilios de las CCI de los animales más jóvenes y en los de los fetos, aparecen éstos como rodeados por una red fibrilar que los mantiene unidos, - esto se aprecia cuando los cilios de dos células vecinas o incluso los cilios de una sola CCI aparecen separados, observándose en el espacio que queda entre ellos una especie de membrana formada por finas fibras o bien por una sustancia amorfa que ha sufrido un estiramiento (Fig. 89).

En la parte superior de los cilios, en sus extremidades libres, se aprecia un engrosamiento de la membrana o sustancia anteriormente descrita que forma una especie de capuchón que los cubre. Por encima de estos cilios se observan unas fibras o una sustancia que tiene su origen en las extremidades ciliares anteriormente citadas y que dan la sensación de que han sido sometidos a tracción (Fig. 100).

Todas las anteriores descripciones han sido observadas mediante la MEB ya que ni la microscopia de interferencia diferencial de Nomarski ni la MET han aportado ningún dato de interés sobre la relación entre los cilios de las CCI y la superficie inferior de la MT.

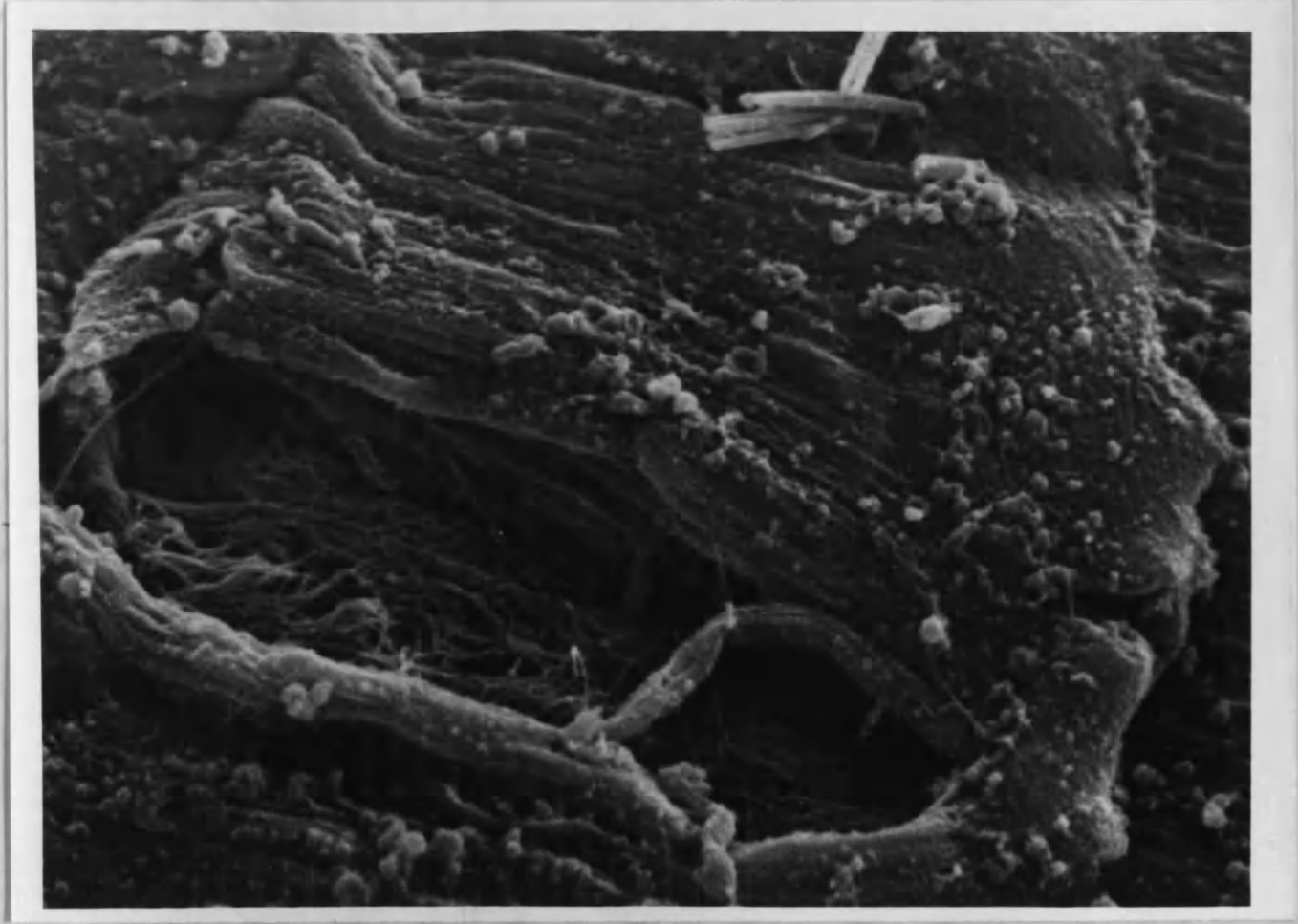
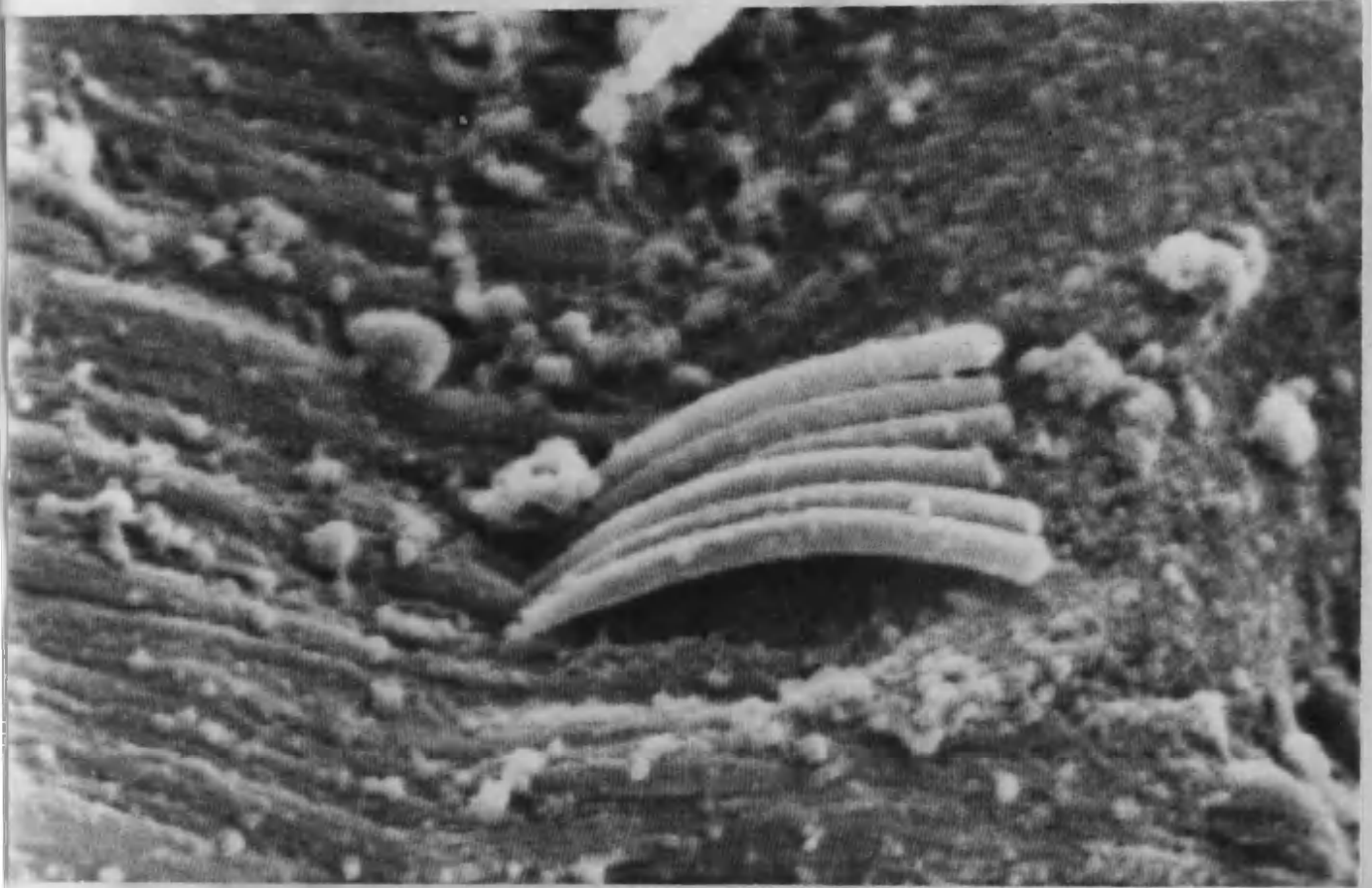
El estudio de la relación entre las CC y la MT al MET es difícil debido a la delicada estructura de que se -

Fig. 98. Página siguiente imagen superior.

Imagen de MEB donde se observan unos cilios enclavados en la superficie inferior de la MT, por dentro de la banda de Hensen y que están en el mismo lugar que las huellas descritas en la fig. 97. Por sus características parece tratarse de cilios de las CCI. 3500x.

Fig. 99. Página siguiente imagen inferior.

Imagen similar a la anterior donde se observan los cilios enclavados en la superficie inferior de la MT, estos tienen las características de los cilios de las CCI. También se puede apreciar la arquitectura interna del cuerpo de la MT y como el borde de la banda de Hensen se eleva sobre la superficie inferior de la MT. 2500x.



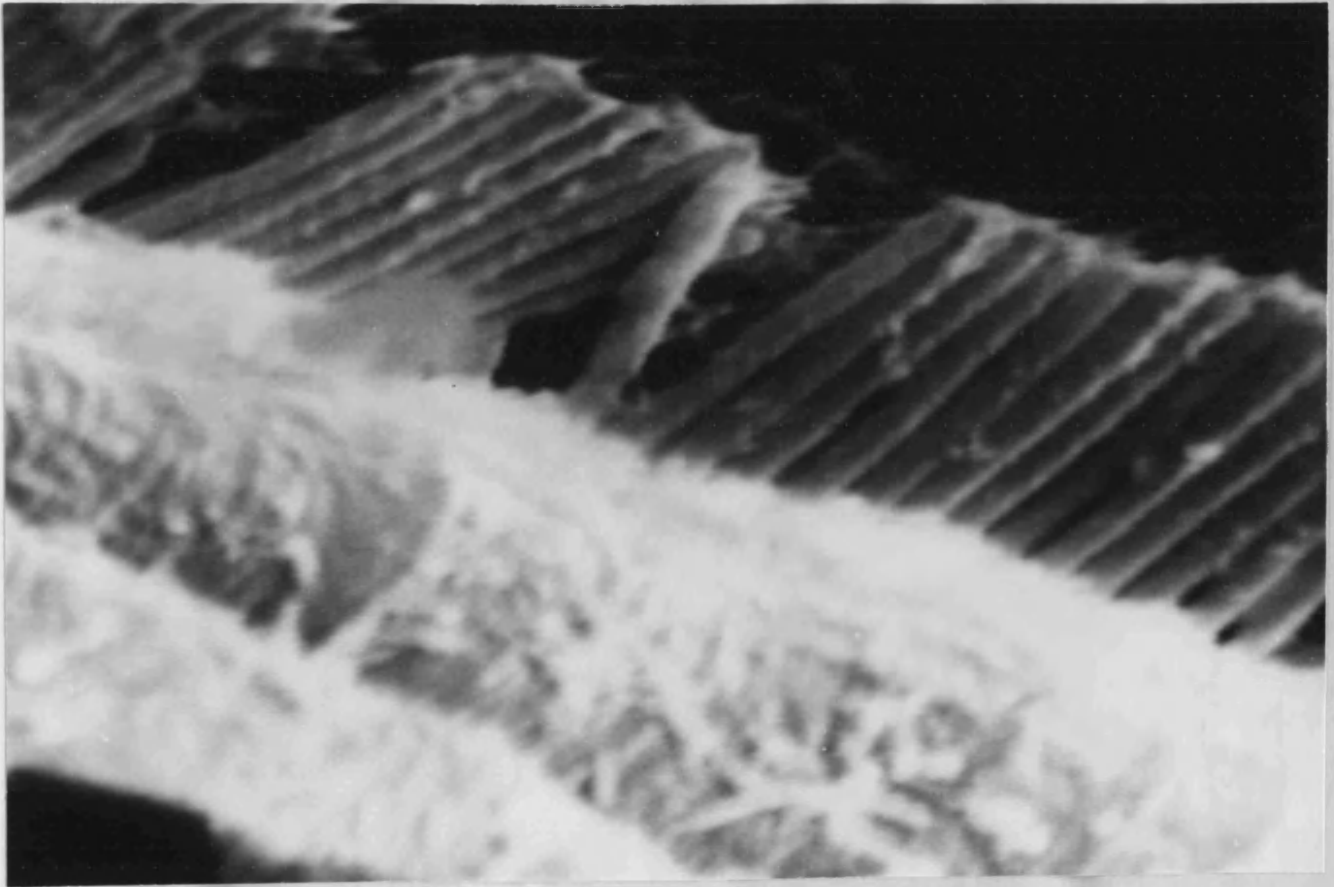


Fig. 100. Imagen donde se observa la substancia o fibras que unen a los cilios de las CCI y que parecen haber sido sometidos a tracción pues la orientación de la mencionada substancia o fibras es la misma que la de los cilios y aparece como estirada por encima de éstos. 6500x.

trata el órgano de Corti, con lo que mínimas alteraciones de su situación o morfología en su relación con las extremidades de los cilios nos impedirán corroborar la realidad de dicha situación.

La mejor forma de observar esta relación según nuestra opinión, es realizar un minucioso estudio de la -- superficie o borde inferior de la MT, para ello hemos de -- hacer cortes seriados de la MT siguiendo el eje longitudinal del conducto coclear, centrándonos en las proximidades de la banda de Hensen y en la región más externa o periférica de la MT. Así podremos observar en este borde inferior unas invaginaciones redondeadas que presumiblemente pueden ser las huellas dejadas por las extremidades de los cilios en la superficie inferior de la MT (Fig. 52). Las podemos encontrar aisladas como ocurriría con las de los cilios de las CCI o bien encontramos huellas consecutivas que son progresivamente más profundas conforme nos dirigimos hacia la región marginal de la MT.

Otra forma de estudiar la relación entre las CC y la MT al MET es observando las puntas de los cilios pues a veces en ellos, al retraerse la MT, quedan en ellas restos de la superficie inferior de la MT, sin embargo en ninguno de nuestros casos hemos podido verificar tal hecho.

XIII. DISCUSSION.

A) MEMBRANA TECTORIA.

En primer lugar, y como ya hemos descrito en otros apartados, hay que destacar que la MT debido a sus características estructurales, a su situación y composición es una formación sumamente delicada. Así en nuestra opinión va a ser el proceso de preparación de la MT, su fijación, deshidratación y sombreado lo que va a dar lugar a las diferentes morfologías y descripciones que se han hecho de la misma. - Hemos de considerar especialmente a las técnicas de deshidratación como las responsables más directas de este fenómeno, asimismo esto dará lugar alteraciones en la relación que mantiene la MT con el órgano de Corti, de ahí la confusión que existe en la literatura sobre las características morfológicas de la MT.

Otro problema que se añade a los anteriores es la dificultad en la extracción y disección de la MT, ya que durante estas acciones puede resultar dañada de forma importante.

Antes de entrar en la discusión sobre los resultados obtenidos en el estudio de la MT, queremos señalar un aspecto en nuestra opinión no extensamente tratado en la literatura, es el de las células interdentes y su importancia en el desarrollo de la MT. Así en la parte apical de estas células destaca, en el estudio al MET, la presencia de cuerpos multivesiculares y vesículas pequeñas en su citoplasma. Estas vesículas parecen proceder del aparato de Golgi y contienen en su interior un material granular muy electrondenso, existiendo en algún punto incluso contactos de estas vesículas con la membrana celular apical. También hay que --

señalar la presencia en la membrana celular que se relaciona con la MT, de evaginaciones que tienen un calibre muy diferente y que se introducen en el espesor de la MT. Estas evaginaciones contienen un fino material electrodensó similar al que tiene la célula interdental en su parte apical.- Si a lo anteriormente descrito añadimos la presencia en la región límbica de la MT de vesículas similares a las descritas hemos de concluir que existe una relación directa e importante en cuanto a su desarrollo, entre la MT y las células interdenciales, si bien THORN, L. et al. (1978) relacionan el desarrollo de la MT con las células de sostén del órgano de Corti y LIM, D.J. (1972), mantiene una tesis parecida.

MORFOLOGIA DE LA MT.

Región límbica.

Hemos dividido a la MT, esta región para su estudio, en tres zonas, una proximal al modiollo, que a su vez tiene dos subzonas y por último una zona distal, división que coincide con la de HILDING, A.C. (1952). Estas zonas van aumentando progresivamente su grosor y anchura según nos alejamos del modiollo, siendo la parte distal la más ancha y gruesa.

En esta zona hemos de destacar la estrecha relación de la MT con las células interdentes sobre las que descansa, debido a esto y a la existencia de una substancia amorfa, como señala SPOENDLIN, H. (1957), la membrana de las células interdentes hace protusión en la MT, lo que da a esta zona proximal el aspecto de estar formada por vacuolas, que no son más que las huellas dejadas por la parte apical u horizontal de las células interdentes en la substancia amorfa además a esta zona también deben de llegar algunas de las fibras que existen en la parte distal, lo que contribuye a reforzar esta inserción y a destacar más estas huellas, en la imagen que nos ofrece la microscopía de contraste de fases (Fig. 36).

En el estudio de la MT mediante la MET observamos como existen en la zona distal de la región límbica áreas que no están ocupadas por fibras, habiendo sido sustituidas éstas por cuerpos multivesiculares y vesículas que son semejantes a los que se encuentran en la región apical de las células interdentes. Estos espacios con -

vesículas disminuyen conforme nos acercamos a la zona proximal, siendo sustituidos por fibras, como señala también -- KRONESTER-FREI, A. (1978) (Fig. 42).

Nuestras observaciones nos han permitido comprobar como las fibras de la región límbica se van orientando y homogeneizando conforme nos alejamos de la zona proximal. En esta zona, además de las vesículas, encontramos dos niveles de fibras con diferente orientación (Fig. 44), que conforme nos alejamos de la zona proximal se funden en una sola capa de fibras orientadas en el mismo sentido que las del cuerpo de la MT. Esta homogeneización se produce a expensas de la capa inferior que desaparece (Fig. 45). Esta zona uniforme de fibras al MET se correspondería con la zona distal observada al microscopio de contraste de fases. Las fibras tienen una orientación oblicua en relación con el eje longitudinal de la MT y con el que forman un ángulo de unos 30 a 50 grados. Según los resultados expuestos por nosotros estas fibras serían las de más reciente formación y provenientes de las células interdenciales.

No hemos observado en ningún caso las fibras de la MT que describe HILDING, A.C. (1952) que la unían a la pared interna del surco espiral interno.

Región del cuerpo de la MT.

El cuerpo de la MT destaca por la uniformidad con que están distribuidas sus fibras. Con el microscopio de contraste de fases se aprecian tres diferentes planos de fibras; superior, medio e inferior. El plano superior tiene una elevada densidad de fibras manteniéndose ésta a lo largo de todo el cuerpo de la MT (Fig. 47). El plano medio es el que mantiene una mayor uniformidad. En estos dos planos y en su parte más distal parece perderse la homogeneidad, aunque esto es debido al grosor del cuerpo de la MT - en este punto, lo que dificulta el enfoque con el microscopio (Fig. 48).

En el plano inferior y mediante la microscopia de contraste de fases la disposición de las fibras parece ser más compleja, debido a la existencia de una línea irregular con indentaciones que separa la parte proximal de la distal. Utilizando los máximos aumentos se aprecia sin embargo una distribución uniforme de las fibras y que su densidad es igual en uno y otro lado de la línea. En nuestra opinión esta línea no es más que el borde proximal de la banda de Hensen, que debido a su altura aparece de forma más marcada en este plano inferior, a veces incluso es posible observar -- dos líneas de este tipo, que serán los dos bordes que delimitan la banda de Hensen (Fig. 49).

Al MET se pueden apreciar también estos mismos -- planos. Aquí se observa como los planos superior e inferior tienen unas características similares, existiendo en ambos

una mayor concentración de fibras que siguen la dirección del plano de corte. Esta disposición nos permite pensar en el posible papel de contención que podrían jugar estas fibras sirviendo de revestimiento y cobertura de toda la MT, y sustituyendo a una membrana o estructura de cubierta. En el plano medio las fibras pierden su uniformidad y aparecen cortadas irregularmente de través (Fig. 52).

No hemos podido observar al MET los grupos de fibras que en esta región del cuerpo de la MT ascienden oblicuamente desde la parte inferior hasta la superior como se señala KRONESTER-FREI, A. (1978). En cambio sí que apreciamos como en el plano medio del cuerpo, estas fibras parecen formar unos grupos muy irregulares y se distribuyen con una densidad muy variable.

En esta región del cuerpo de la MT no se aprecian los espacios ocupados por cuerpos multivesiculares todo el plano ocupado por fibras. No hemos podido observar en ningún caso las formaciones granulares de las fibras que llevan a IURATO, S. (1960), a suponer que se trataría de estructuras periódicas.

En la MEB se aprecia como esta región del cuerpo de la MT parece estar compuesta por dos tipos de fibras, unas más gruesas que se dirigen oblicuamente al eje longitudinal de la MT formando con él un ángulo de unos 60 grados, que tienen una orientación ascendente. Estas fibras no están separadas unas de otras, sino que se mantienen unidas mediante el segundo tipo de fibras, más delgadas y que

forman una especie de red que rodea a las más gruesas y las mantiene unidas. Esta imagen coincide según nuestra opinión con la que aparece en la MET, no pudiendo apreciarse aquí - los dos tipos de fibras debido a la densidad de estas. También mediante la MEB se confirma la existencia de este mayor acúmulo de fibras en la superficie superior e inferior de la tectoria y que harían la función de una membrana limitante (Fig. 50).

Queremos señalar que las fibras del cuerpo son -- continuidad de las que existen en la zona distal de la región límbica de la MT.

Región Marginal:

La región marginal de la MT es la parte más compleja de esta formación, y la que más fácilmente va a resultar alterada durante el proceso de preparación, sobre todo en la fase de deshidratación, aparte de que es la región que sufre mayores traumatismos durante su disección y extracción, por lo que su morfología en la mayoría de las ocasiones va a estar alterada o bien será interpretada de forma distinta por los diversos autores, lo que dará lugar a diferentes concepciones de esta región marginal o complejo marginal.

Al microscopio de contraste de fases aparece como una estructura bien diferenciada dentro de la MT, que recorre todo su borde externo siguiendo su eje longitudinal. Se trata pues de una región poco transparente a la luz pero con unos puntos claros que se distribuyen de forma irregular. Las fibras que la componen siguen el eje longitudinal de la MT y del conducto coclear. En nuestra opinión los espacios claros se corresponderían con los procesos digitiformes o fibras más fuertes de la red marginal del complejo marginal que durante la disección habrían sido arrancados llevándose consigo parte del borde marginal o zona marginal (Fig. 53).

La anchura de este borde marginal no es constante a lo largo de toda su longitud, siendo más ancho en la espira basal y más estrecho en la espira apical. A lo largo de su recorrido muestra irregularidades en forma de ondulacio

nes, que cabe relacionarlas con las tracciones que sufre durante su extracción y con el tipo de deshidratación a que haya sido sometida la pieza (Fig. 54).

En esta región marginal y mediante la microscopia de contraste de fases, se observan unas fibras que salen de la parte superior y darán lugar a la red superficial superior (Fig. 67).

En el estudio de esta región mediante la MET se comprueba que ésta es realmente la parte más compleja de la MT en cuanto a su morfología, pudiéndose aislar dos zonas claramente diferenciadas de fibras, una superior con una mayor concentración de fibras, que a su vez son más electrónicas que las del cuerpo de la MT y una inferior en la que existe una menor concentración de fibras menos densas a los electrones que las de la capa superior.

Entre ambos tipos de fibras existe una tercera y más delgada capa de fibras que es la que tiene una mayor concentración y densidad a los electrones, capa que delimita los dos niveles de fibras anteriormente mencionados (Fig.56).

La orientación es diferente en cada uno de estos niveles, las del superior parece que siguen el plano del corte, es decir serían perpendiculares al eje longitudinal de la coclea, mientras que las del nivel inferior son oblicuas a este eje y por tanto aparecen cortadas de traves. En el nivel intermedio que separa a los dos anteriores cabe considerar que existe una orientación de las fibras que está situada entre las de los niveles superior e inferior, de tal

manera que las fibras muestran una forma arrosariada, recorriendo en diagonal toda la anchura de la región marginal de la MT, lo que coincide con la descripción de IURATO, S. (1960), son fibras gruesas que recorrerían la región marginal.

No hemos apreciado pues la existencia de grupos de fibrillas con espacios libres entre ellas que señala -- KRONESTER-FREI, A. (1978), aunque sin embargo la distribución de éstas coincide con la que hace este autor.

En nuestra opinión la mayor densidad de las fibras en esta región se debe a que es el principal punto de apoyo y unión de la MT al órgano de Corti, por lo que debe tener una morfología interna resistente a los fenómenos de tracción a que será sometida la MT por la presión de la -- cortilínea.

Debido a esta estructura tan complicada, es por lo que los diferentes grados de deshidratación modificarán esta región marginal, dándole los más variados aspectos -- que se recogen en la literatura.

SUPERFICIES DE LA MT.

Cara o Superficie Superior:

Tenemos que destacar las escasas referencias que hemos encontrado en la literatura sobre la cara superior - de la MT, limitándose éstas al estudio de su superficie en la región límbica o en la del margen, LIM, D.J. (1972).

En esta cara distinguimos tres zonas diferentes- como hacíamos en el estudio de la estructura de la MT, según la microscopia de interferencia diferencial de Nomarski:

1) Región límbica:

Con la microscopia de Nomarski se observa el relieve de las huellas dejadas por las células interdetales, que tienen la misma estructura en la superficie que cuando se estudian con la microscopia de contraste de fases. Con la técnica de Nomarski se confirma que se trata de las impresiones dejadas por las células interdetales, que excavan la substancia amorfa, dejando un surco a su alrededor. Además en nuestra opinión también se suman a este sistema de fijación, las fibrillas de la parte distal de la región límbica, que en algunos casos y debido a la tracción que - han sufrido las células interdetales su membrana celular- se rompería, quedando ésta englobada en la MT, este hecho- también ha sido descrito por KRONESTER-FREI, A. (1978) --- (Fig. 57).

2) Región del cuerpo de la MT:

La superficie que denominamos región del cuerpo-

no se corresponde con la que hemos considerado en el estudio de la morfología de la MT como cuerpo de la misma y esto es debido a que la superficie que se corresponde con el cuerpo queda camuflada en su parte proximal por la zona distal de fibras de la región límbica y en la zona distal por las fibras más gruesas que tienen su nacimiento en la región marginal de la MT (Fig. 58).

3) Región marginal:

A la discusión sobre la región marginal de la MT, debido a su complejidad e importancia, le dedicaremos un apartado independiente del estudio de las superficies de la MT.

Al estudiar la superficie superior de la MT mediante la MEB se comprueba la existencia de una verdadera red de superficie superior, que es un tejido complejísimo formado por el entrecruzamiento de numerosas fibras, a las que podemos dividir según su calibre en gruesas y delgadas, las gruesas tienen una dirección perpendicular al eje longitudinal de la MT, mientras que las más finas parece ser que tienen la misión de cubrir a aquellas otras con lo que se consigue una mayor cohesión de esta red de superficie superior (Fig. 59). Esto se observa en toda la cara superior excepto en el límite con la región límbica donde se pierde esta formación en red y aparece una sustancia amorfa.

Hemos de señalar que la red de superficie superior no se afecta de una forma tan intensa por el tipo de deshidratación a que es sometida la muestra. Si comparamos las -

dos superficies de una MT que ha sido sometida a una deshidratación brusca e intensa, se observa como en la superficie superior las fibras se conservan mejor que en la superficie inferior en donde prácticamente desaparece la red de superficie inferior, dejando al descubierto las fibras del cuerpo de la MT.

Cara o Superficie Inferior:

La cara interior de la MT, está formada por una red exactamente igual a la de la cara superior, aunque --- aquí parece existir un predominio de las fibras gruesas, - que siguen una dirección perpendicular al eje longitudinal de la MT, y son más numerosas que en la cara superior. Las fibras más delgadas parecen tener menor calibre que sus ho-
mólogas de la superficie superior (Fig. 61).

Esta estructura de la red inferior se mantiene a lo largo de toda la cara inferior, excepto en el punto de unión de la MT con la región límbica, donde se despega del labio vestibular del limbo, teniendo las mismas caracterís-
ticas que en la cara superior. También encontramos en la - banda de Hensen una formación que recorre toda la MT desde la espira basal hasta la apical, siguiendo el eje longitu-
dinal del conducto coclear.

La banda de Hensen está formada por una depresión situada por bajo de la cara inferior, estando limitada por dos bordes que se elevan sobre el nivel de esta cara. A la altura de la banda de Hensen por ambos bordes se interrum-
pe esta red de superficie inferior (Fig. 64).

La red de superficie inferior desaparece al lle-
gar a las proximidades de la región marginal de la MT.

En esta cara inferior es en donde más importan-
cia tiene el grado de deshidratación a que son sometidas - las fibras tras el procesamiento de las muestras. Debido a

ello y según el grado de deshidratación han sido descritas en esta cara inferior estructuras como la membrana de Hardesty o la capa basal homogénea. Cuando las fibras están muy hidratadas o mejor dicho hayan mantenido la misma morfología y aspecto que tienen en el animal vivo, es cuando se habla de la existencia de la membrana de Hardesty y en caso contrario de la presencia de una capa basal homogénea que tendrá un desarrollo muy variable como señala LIM, D.J. (1972).

Este mismo fenómeno es aplicable a los bordes de la banda de Hensen, cuya altura y grosor depende también del grado de hidratación de sus fibras, opinión que compartimos con LIM, D.J. (1972) (Fig. 65).

Según HILDING, A.C. (1952), estas tres formaciones tienen la misma estructura; membrana de Hardesty, capa basal homogénea y bordes de la banda de Hensen, lo que viene a reforzar nuestra opinión de que se trata de una única formación que ha sido estudiada con diferentes grados de hidratación, lo que le proporciona diversos aspectos.

La importancia del grado de hidratación de las fibras, se debe precisamente a su composición, como indica KRONESTER-FREI, A. (1978), ya que las fibrillas están fuertemente influenciadas por los cambios iónicos del medio, así el sodio provoca una intensa retracción irreversible en las fibras, como hemos podido comprobar en nuestro trabajo.

Todas las anteriores observaciones se refieren a

la MEB. Al MET se aprecia como la superficie de la MT, está formada por fibras que se concentran en los límites de ésta y sirven de estructura de contención (Fig. 50).

Superficie de la Región Marginal de la MT:

La región marginal de la MT es una estructura -- compleja cuya morfología depende de dos factores principalmente, la edad del animal y la preparación de la pieza.

En los animales más jóvenes y en los fetos, esta región marginal es casi una membrana que está unida a las células de Deiters más externas y a las de Hensen. Esta -- membrana tiene unas perforaciones más o menos redondeadas -- que conforme se produce la maduración de la coclea, irán -- aumentando de tamaño hasta que la membrana queda transfor -- mada en una red que une la MT a las mencionadas células me -- diante unos procesos digitiformes; A este respecto nuestras observaciones e interpretaciones de los mismos, coincidien do con las de LIM, D.J. (1972) (Fig. 69).

Cuando estudiamos la MT de forma aislada y mediante la técnica de Nomarski, se aprecia como estos procesos -- digitiformes, han sufrido una tracción o bien encontramos -- espacios que parecen vacíos en la superficie de esta región marginal, lo que nos indica que efectivamente existe una relación directa de unión entre la MT y las células de sostén del órgano de Corti (Fig. 67).

Sin lugar a dudas la región de la MT que sufre -- con mayor intensidad el proceso de deshidratación de la pieza es la del margen, así cuando ésta es intensa y debido a las fibras que contiene como señala KRONESTER-FREI, A. --- (1979), se produce una retracción muy intensa tanto de la -- red como de la zona marginal de la MT hasta el punto de que

ésta apenas es reconocible.

En la parte superior de la zona marginal, a nivel de la cara superior de la MT nacen unas fibras muy gruesas, tal vez cordones de fibras que se van adelgazando progresivamente y que llegan a unirse con las fibras de la red de superficie superior (Fig. 67).

De esta forma según nuestra opinión la MT en su superficie se compone de (Fig. 72 y 73):

- Red de superficie superior.
- Red de superficie inferior.
- Borde marginal, que se descompone en una zona marginal de la que nace una red marginal, entre ambas estructuras se conforma el complejo marginal.

Para nosotros el elemento más importante de la superficie de la MT es la zona marginal, de la que nacen la red de superficie superior, la inferior y la red marginal.

La cara superficial inferior está formada por la red de superficie inferior que según el grado de hidratación que presentan sus fibras ha sido denominada como membrana de Hardesty, y como capa basal homogénea. El único accidente que se observa de forma constante en la cara inferior es la banda de Hensen cuyos bordes tendrán un diferente tamaño según el grado de hidratación de sus fibras (Fig. 73).

En cuanto a la morfología interna de la MT, la concebimos de la siguiente forma (Fig. 72 y 73):

- Capa de fibras superiores.
- Fibras del cuerpo.
- Capa de fibras inferiores.

B) CELULAS CILIADAS.

CCE:

Las CCE se disponen en el órgano de Corti en tres filas que se denominan primera fila o más interna, segunda o media y tercera o más externa. Las CCE se apoyan sobre las células de Deiters (Fig. 74).

Al MEB en primer lugar destacan sobre la superficie de las CCE tres tipos de formaciones: los estereocilios, el corpúsculo basal y los microvilli.

Los estereocilios se disponen en hileras que dibujan una "V" con un ángulo más amplio en la espira basal y menor aproximadamente la mitad, en la apical. Este ángulo está abierto en dirección al modíolo y ligeramente orientado hacia el apex de la coclea. El número de hileras de cilios que existe en cada CCE es de tres a cinco, según KIMURA, R.S. (1966). Nosotros solamente hemos observado tres hileras sin poder apreciar la protusión que hacen en la membrana celular las otras supuestas hileras, de estas la que tiene mayor altura es la más externa. El número de cilios en la hilera más externa va desde los 30 a los 40, disminuyendo este número en las hileras más internas, según nuestras observaciones lo que coincide con lo señalado por KIMURA, R.S., SCHUKNECHT, H.F. y SANDO, I. (1964) (Fig. 76 y 77).

La imagen de los cilios es la de una estructura homogénea y uniforme estando estrechamente unidos aunque se pueden individualizar cada uno de ellos. En las extremidades libres de la hilera más externa, sobre todo en la ter-

cera fila se aprecian irregularidades en cuanto a su altura observándose unas fibrillas que dan lugar a una imagen poco neta de la extremidad ciliar.

Los estereocilios tienen una parte extracelular, como hemos descrito, y una intracelular. Al MET el cilio -- aparecen constituido por fibrillas y por un fino material granular. Las fibras se unen en el centro del cilio formando una especie de eje, el cual puede ser seguido en la cutícula, formando entonces la raíz, sin que hayamos podido observar que ésta atraviese la cutícula y llegue al citoplasma como indican ENGSTROM, H. y WERSALL, J. (1953) y ENGSTROM H. y ENGSTROM, B. (1980), tampoco hemos podido comprobar -- que exista conexión alguna entre la raíz ciliar y el retículo endoplásmico del citoplasma, como señalan ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973) (Fig. 78 y 79).

El cilio está recubierto por una membrana que es continuidad de la membrana celular, pudiendo observarse ocasionales extrusiones del contenido ciliar, en forma de evaginación. El diámetro ciliar, tiene su punto más estrecho -- en la zona en que pasa a ser intracelular, es el cuello, a -- partir de aquí su diámetro aumenta ligeramente para ser --- constante a lo largo de toda la región extracelular, de -- acuerdo con lo expuesto por ENGSTROM, H. y ENGSTROM, B. --- (1980).

Otra estructura que encontramos en la superficie -- de las CCE y sobre todo en la primera fila, la más interna, -- es el corpúsculo basal, ya precisado por KOSAKA, N., TANAKA,

T, y TAKIGUCHI, T. (1971). Siempre lo hemos hallado como una estructura vestigial, retraído y retorcido sobre si mismo. Se sitúa a la altura de la unión de los brazos de la "V" ciliar, aunque a veces esté algo lateralizado. En ningún caso, ni en las piezas provenientes de fetos hemos encontrado este corpúsculo basal en la forma primitiva de kinocilio.

También en la superficie de las CCE hemos observado la presencia de microvillis como señalan ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973). Estos se diferencian de los de las células de Deiters, porque son menos numerosos y más pequeños (Fig. 75).

De todas estas formaciones solo los cilios tienen su origen en la superficie cuticular de las CCE.

En la superficie de la CCE destaca la existencia de numerosas irregularidades como evaginaciones e invaginaciones, VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. (1964). En la parte apical que las une a las células de Deiters existen uniones adherentes que en nuestra opinión mantienen aisladas a los espacios intercelulares del posible contacto con la cortilinf, es decir impermeabiliza estos espacios de acuerdo con lo expuesto por HIROKAWA, N. (1980). Sin embargo no es difícil encontrar que entre la CCE y la de Deiters existen espacios que sí podrían estar ocupados por cortilinf, interpretación ya sugerida por VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L. K. (1964).

En la parte apical de las CCE encontramos la cu-

tícula que ocupa la parte más central y superficial de la célula dejando los extremos libres. Esta formación se extiende en la profundidad del citoplasma hasta una micra, como ya precisó ENGSTROM, H. (1967). Está constituida por un material granular electrodensó en el que se distinguen dos tipos de granos que difieren en el grado de densidad a los electrones. Este material granular se distribuye en una forma irregular, existiendo zonas donde hay acúmulos y otras en donde su concentración es escasa. Utilizando mayores aumentos en la MET, cabe considerar que este fino granulado cuticular, puede ser debido a la existencia de fibrillas o filamentos que se encuentran distribuidos sin ningún orden o dirección preferente. Este hecho no ha sido destacado sin embargo por ninguno de los autores que hemos revisado en la bibliografía (Fig. 79).

También queremos resaltar la gran semejanza que existe entre este material granular de la cutícula y el que rodea al eje fibrilar de los cilios.

Todos los anteriores hallazgos inducen a pensar en una posible relación entre el material granular de la cutícula y el de los cilios, de tal manera que cabe considerar que el material de la cutícula intervendría en la constitución del cilio o bien en el mantenimiento de la estructura fibrilar de los mismos aportando su propio material a éstos.

En la cutícula demás del material granular también observamos las raíces ciliares de los estereocilios, continuación del eje ciliar, merced al cual la cutícula sirve -

de zona de anclaje a estos cilios. En ningún caso hemos -- comprobado que la raíz ciliar penetre en el citoplasma celular acompañada de material cuticular como indican ENGS-- TROM, H. y WERSALL, J. (1953) (Fig. 79).

Otro dato interesante que no hemos visto refleja do en la literatura referente a las CCE, es la separación- que existe entre la cutícula y el citoplasma celular por - medio de un material electrodensó y osmiófilo (Fig.79).

En nuestra opinión esta formación, la cutícula,- diferente al resto de la CCE y a otras organelas celulares, puede relacionarse con la formación de los cilios y con la función de transducción de la energía mecánica en energía- eléctrica que tienen los cilios.

En cuanto al núcleo de la CCE y como datos más - interesantes, hemos observado que la cromatina densa además de encontrarse en la periferia nuclear en contacto con la- carioteca, existe también a lo largo del nucleoplasma en - forma de pequeños grumos. Queremos destacar también la existencia de unas granulaciones alrededor de la carioteca, pero por fuera y en contacto con el citoplasma celular (Fig. 80).

Pero en el citoplasma también podemos observar - la presencia de otras organelas:

1) Mitocondrias:

Hay que señalar en primer lugar el gran tamaño - que adquieren las mitocondrias en la CCE como ya ha sido -

observado por JAHNKE, V., LUNDQUIST, P.G. y WERSALL, J. -- (1969), habiendo podido nosotros medir algunas que tienen hasta una micra de longitud (Fig. 80).

En segundo lugar llama nuestra atención la grandiosidad de la matriz mitocondrial que llega incluso a enmascarar la visión de las crestas, si bien en ningún caso hemos observado la presencia de los corpúsculo granulares descritos por VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. (1964).

Sin embargo el hecho que consideramos de mayor interés en cuanto a la función de las CCE, es la distribución de estas mitocondrias, situadas alrededor de unas formaciones muy concretas como son el aparato de Golgi, los cuerpos de Hensen y las estructuras de membrana paralelas a la membrana celular, fenómeno ya señalado por ENGSTROM, H. (1966) y ENGSTROM, H. (1969), aunque creemos que esta relación tiene más importancia de la que se le ha dado en la literatura, puesto que observamos como las mitocondrias se distribuyen en estrecha asociación con las formaciones de membrana y alrededor de los cuerpos de Hensen, rodeándolos totalmente e incluso situándose en el interior de la esfera que delimitan sus túbulos, estas mitocondrias son además las que tienen un mayor tamaño y densidad de matriz (Fig. 80).

Todos los hechos anteriormente expuestos indican la existencia de una interdependencia entre estas formaciones y las mitocondrias y la gran necesidad de energía que tienen éstas y por supuesto la CCE.

2) Aparato de Golgi:

En esta organela llama la atención el desarrollo de los sáculos que la componen y la escasa presencia de vesículas y vacuolas en contra de lo expuesto por KAHKE, V. LUNDQUIST, P.G. y WERSALL, J. (1969). También encontramos al aparato de Golgi además de en la región infranuclear, - en la infracuticular, situación en la que no es descrito - por los autores anteriormente mencionados, asimismo hallamos que los sáculos del aparato de Golgi están más dilatados en la región infranuclear, que en la infracuticular. - Igualmente hemos podido observar como los aparatos de Golgi de la región infranuclear se sitúan en las proximidades del cuerpo de Hensen (Fig. 80).

3) Retículo endoplásmico:

El retículo endoplásmico como tal, está representado en su mayor parte por la modalidad lisa, es decir sin ribosomas, en nuestra opinión predomina en las proximidades de las formaciones membranosas, en contra de la opinión de IURATO, S. (1960), lo que nos puede ayudar a comprender el origen de las organelas que describimos a continuación.

4) Formaciones de membrana:

Para IURATO, S. (1961), constituyen un sistema de membranas continuas. Según ENGSTROM, H. (1966), son unas membranas laminares dispuestas en varias capas que se sitúan en la parte interna de la membrana celular, mientras que ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973), consideran se trata de un sistema de túbulos que recorren la membrana plasmática.

Sin embargo y en nuestra opinión, se trata de un sistema - de túbulos de retículo endoplásmico que recorren la parte-interna de la membrana celular de forma paralela a ella.

El número de túbulos aumenta a partir del apex - y desde la base celular, conforme nos acercamos al centro-de la célula. Estos túbulos son continuos pero se ramifi--can, comunicándose y anastomosándose unos con otros, for--mando una estructura túbulo reticular que se dispone en un plano paralelo a la superficie celular, por ello al corte-no parecen continuos sino interrumpidos (Fig. 82).

Al MET y al corte longitudinal da la impresión - de que entre los túbulos hay unos espacios libres ocupados por un fino material granular similar al del citoplasma de la célula, sin embargo al corte transversal estos túbulos-aparecen como adosados unos a otros, con lo que ofrecen una imagen en panal formando entonces una red entre la membra-na celular y el citoplasma (Fig. 84 y 101).

También queremos señalar la existencia de una capa de material granular electrondenso entre la membrana celular y el primer túbulo. En el interior del tubulo existe también un material ligeramente más denso a los electrones que el del citoplasma celular (Fig. 84).

Asimismo hemos observado un hecho que no hemos - encontrado descrito en la literatura, en ocasiones este -- sistema de túbulos se separa, quedando un espacio de mate-rial granular con tres o cuatro túbulos a cada lado, poste-riormente se unen los túbulos. A veces en esta zona aislada

de material citoplásmico, encontramos diversas organelas ce lulares (Fig. 83).

Existe también una relación estrecha y directa - entre estos túbulos y los cuerpos de Hensen, hasta el punto de que en las imágenes obtenidas se demuestra la relación entre ambas estructuras, dando la impresión de que se trata de una misma formación, este hecho ocurre sobre todo en la región inferior de la CCE. Existe también una íntima re lación entre estos túbulos y las mitocondrias, que son de gran tamaño (Fig. 85).

Para nosotros y tras observar las imágenes obtenidas, este sistema de túbulos con doble membrana no es -- más que el retículo endoplásmico liso, modificado y con -- una situación peculiar que debe poseer una función metabólica o estructural especial en la CCE.

5) Cuerpo de Hensen:

El cuerpo de Hensen es una estructura que está - formada por túbulos que poseen una membrana unitaria típica de forma similar a los túbulos paralelos a la membrana celular, pero que aquí se sitúan en regiones interiores del citoplasma y adoptan una disposición circular y concéntrica. El número de túbulos que lo componen es variable, pero no menor de 5 (Fig. 81).

Para KAWANA (1922), constituyen un acúmulo de mi tocondrias, o de un aparato de Golgi modificado, según KIMURA, R.S., SCHUKNECHT, H.F. y SANDO, I. (1964), se trata de retículo endoplásmico, opinión con la que nosotros coi n

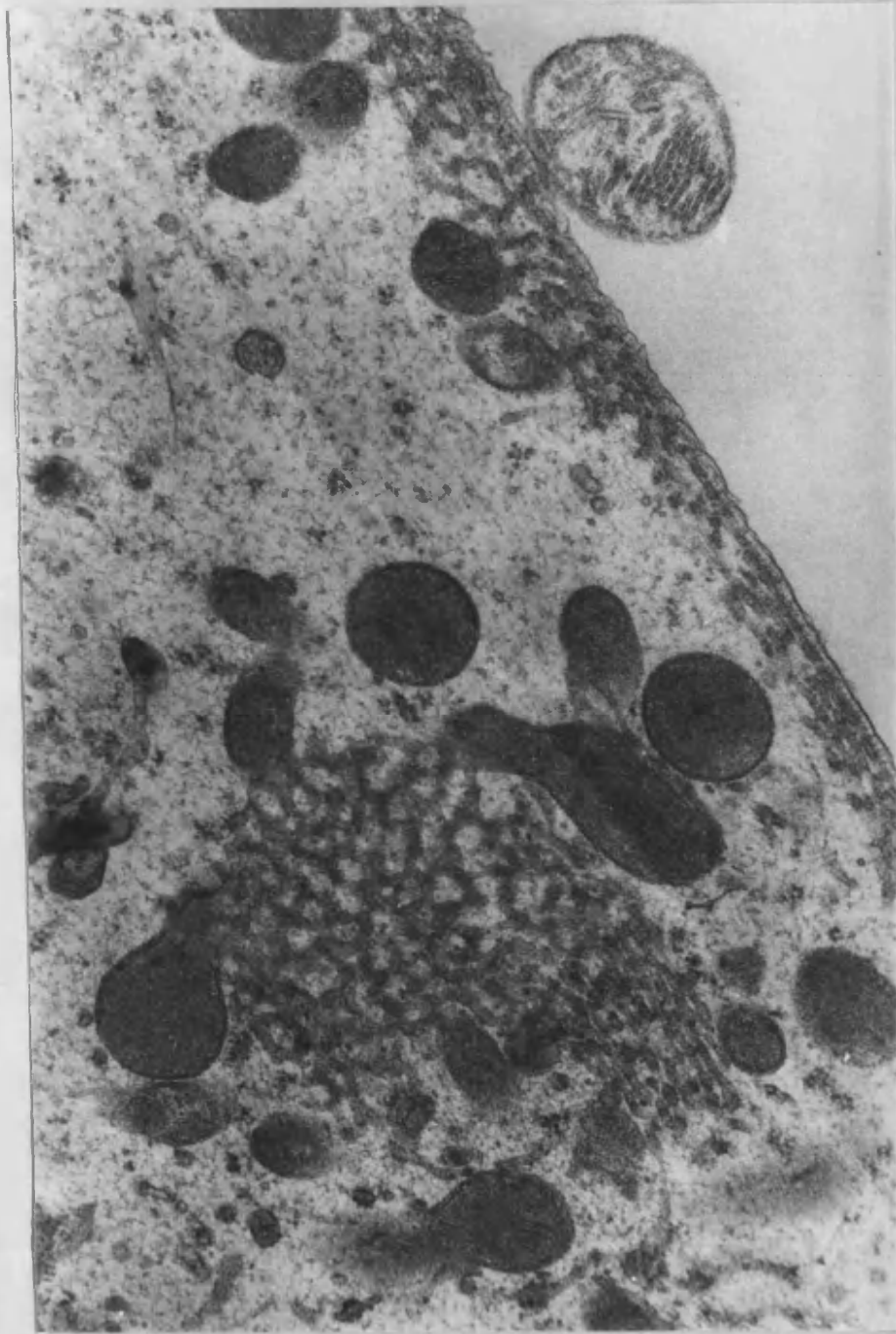


Fig. 101. Imagen de MET de las capas de túbulos paralelos a la membrana celular en un corte transversal donde se aprecia como estos están adosados unos a otros dando la imagen de que forman un panal. 17000x.

cidimos.

Queremos señalar la evidente relación que existe entre la densidad del citoplasma del interior del cuerpo de Hensen y el número de túbulos que lo componen, siendo más denso cuanto más capas de túbulos lo forman.

En las imágenes obtenidas se observa como el cuerpo de Hensen se encuentra siempre en la región infranuclear, de la célula, y nunca hemos constatado su presencia en las regiones supranuclear o central de la CCE aunque ENGSTROM, H. (1969) si lo ha observado (Fig. 81 y 85).

ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973), describen que debe haber una relación entre el sistema de túbulos antes descritos y este cuerpo de Hensen, en nuestra opinión y por las imágenes obtenidas, parece demostrarse claramente la continuidad entre ambas estructuras. Según nuestro criterio hay que considerarlas como formaciones diferenciadas de retículo endoplásmico liso, del que difieren por su forma general y por su localización. El cuerpo de Hensen sería una proyección hacia el interior de las redes de túbulos periféricos y en esta situación girarían circularmente en torno a un hipotético punto, dando como resultado las formaciones esféricas más o menos extensas.

Llama poderosamente la atención la relación que mantiene el cuerpo de Hensen con las mitocondrias, ya que está materialmente rodeado por ellas, teniendo estas un tamaño considerable y una gran densidad en su matriz, también hay que señalar que el cuerpo de Hensen suele estar en relación

con el aparato de Golgi (Fig. 81).

En ningún caso hemos encontrado más de un cuerpo de Hensen en cada CCE. De todo lo anteriormente expuesto - es posible concluir que esta formación de la CCE debe de - tener un importante papel funcional y energético en su metabolismo.

CCI:

Las CCI se disponen en una sola fila por dentro de las células del pilar interno y por fuera del surco espiral interno. En contraposición con las CCE, llama la atención su regularidad, sin que hayamos encontrado en nuestras observaciones, células supernumerarias o ausencia de alguna de ellas (Fig. 86).

En la superficie de la CCI y al MEB, al igual que ocurría con las CCE, destaca en primer lugar la presencia de los cilios, que se disponen en empalizada, formando una verdadera barrera, pues su unión es muy estrecha. El número máximo de hileras en que se disponen los cilios, es de tres en la espira apical. La hilera más externa es en la que los cilios son más altos y de mayor grosos, su calibre y tamaño es el doble del de los cilios de las CCE. Solo en la hilera más externa apreciamos una regularidad en su tamaño, coincidiendo en ello con KOSAKA, N., TANAKA, T. y TAKIGUCHI, T. (1971) (Fig. 88 y 89).

El número de cilios en cada hilera es de unos 15 a 20, y ligeramente mayor al descrito por VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. (1964), en las CCI del gato.

A pesar de lo señalado por ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973), no hemos podido observar en ningún caso la existencia de cilios gigantes en las CCI.

Un hecho que ha llamado nuestra atención es la presencia de una substancia, o tal vez fibras que forman una red o pseudomembrana que mantiene unidos a estos cilios

o al menos a la hilera más externa, tanto los cuerpos de los cilios como a sus extremidades libres, pero esta red no solo une los cilios de una misma CCI, sino también a los cilios de las células vecinas (Fig. 90).

Al MET se observa como su arquitectura interna es la misma que la de los cilios de las CCE, es decir un material granular y fibrilar que se acumula en su parte central aunque esto no ocurre en las proximidades de la extremidad libre, formando un eje que se continua en la cutícula celular donde se le llama raiz, en este punto termina, sin que hayamos observado las prolongaciones citoplásmicas que señalan ENGSTROM, H. y ENGSTROM, B. (1980), también nos ha dado la impresión de que este eje fibrilar tiene un mayor calibre que el de las CCE. (Fig. 91).

Al MEB también se observa en la superficie de las CCI el corpúsculo basal que se sitúa por detrás de la parte media de la hilera más externa de los cilios, aquí es menos frecuente su presencia que en las CCE y parece encontrarse en un estado más vestigial, asimismo y en la superficie celular se aprecian los microvillis que tienen las mismas características que los de las CCE.

El origen de los cilios de las CCI al igual que ocurría en los de las CCE, está situado en el área cuticular que es una depresión más profunda y de mayor tamaño que la existente en las CCE, debiendo destacar que este mayor tamaño y profundidad se producen a expensas de la parte medial de la depresión, es decir la que se encuentra por den

tro de los cilios, ya que la externa tiene las mismas características que las existentes en la superficie de la CCE, este hecho sin embargo no lo hemos encontrado descrito en la literatura del tema (Fig. 87).

La membrana que rodea a la CCI tiene en nuestra opinión, las mismas características que la de la CCE, no habiendo podido constatar la existencia de la capa de vesícula que existiría en la región apical ni una mayor osmofilia de esta zona como señala IURATO, S. (1961). Si que hemos observado al MET, la existencia de zonas de oclusión en la parte apical de la CCI y en su relación con la célula de sostén, y observándose más en profundidad zonas de adherencia con la célula de sostén. Estas zonas de adhesión entre la CCI y su célula de sostén, tienen una menor longitud que las de las CCE y la célula de Deiters correspondiente. También más inferiormente existen uniones de tipo desmosómico.

En la parte apical de la CCI encontramos la cutícula que tiene exactamente las mismas características que en la CCE, es decir se trata de un material granular con dos tipos de densidad a los electrones, en ella se insertan filamentos radicales de los cilios de las CCI, que en ningún caso van más allá de la cutícula. Sin embargo ENGSTROM, H. y ENGSTROM, B. (1980), señalan lo contrario. Tampoco hemos encontrado en la cutícula la presencia de pequeñas vacuolas semejantes al retículo endoplásmico como señalan VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K. (1964). Si que queremos destacar que en nuestra opinión el volumen que ocupa la cu

tícula de la CCI es menor que el de la CCE, asimismo su -- anchura también es menor (Fig. 91).

En el citoplasma de la CCI y en relación con el de la CCE, observamos significativas diferencias, no solo en cuanto a su distribución, sino en cuanto a su presencia (Fig. 91):

1) Mitocondrias:

Las mitocondrias de la CCI son más redondeadas o esféricas que en la CCE, su eje longitudinal es menor que en aquellas, por lo tanto su tamaño será menor, aunque su número es mayor. Las hemos encontrado por debajo de la región cuticular y no como indican ENGSTROM, H., ADES, H. y ANDERSSON, A. (1966), infranuclearmente. Tampoco hemos podido observar ninguna relación particular de estas mitocondrias con otras organelas de la CCI como ocurría en la CCE, ni la existencia de granos osmiofílicos en su interior.

2) Retículo endoplásmico:

Está mucho más desarrollado en la CCI que en la CCE y sus túbulos cubren todo el citoplasma celular, existe un predominio absoluto de la variedad lisa y en nuestra -- opinión se concentra sobre todo en la región supranuclear, coincidiendo en ello con ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973), - aunque SPOENDLIN, H. (1961) lo describe en su forma rugosa y situado en la región infranuclear.

3) Aparato de Golgi:

Aquí y coincidiendo con VINNIKOV, Y.A. y TITOVA,

L.K. (1964) y ENGSTROM, H. (1967), nos encontramos ante un aparato de Golgi más desarrollado que el de la CCE, situándose sobre todo en la región infracuticular. Todos sus componentes están presentes y además son más numerosos.

4) Capas de túbulos:

Lo que hemos denominado en la CCE como sistema de túbulos paralelos a la membrana celular está escasamente desarrollado en la CCI, hasta el punto de que podemos admitir con ENGSTROM, H. y ADES, H. (1973), que no existe ya -- que solo se observa un túbulo que recorre la parte interna de la membrana celular. Tampoco se observa en la CCI la -- presencia de cuerpo de Hensen.

El ~~escaso~~ desarrollo del sistema de túbulos y la ausencia de cuerpo de Hensen en la CCI, contrasta con la -- existencia de un retículo endoplásmico liso muy importante y bien desarrollado que una vez más nos induce a pensar que estas estructuras no son más que retículo endoplásmico modificado en aras de una función metabólica o estructural de la CCE que en este caso la CCI no tiene.

En nuestra opinión y a la vista de lo descrito la CCE es una estructura mucho más especializada funcionalmente que la CCI, por lo que precisa de la existencia de unos componentes de tipo estructural y fisiológico mejor desarrollados que los de la CCI.

	<u>CCE</u>	<u>CCI</u>
Nº y Situa ción.	Tres filas.	Una fila.
Cilios:		
.Disposición.	En "V".	En empalizada.
.Nº Hileras.	4-5	2-3
.Nº cilios por hilera:	30-40	15-20
.Tamaño ciliar:	1 a 6 micras de lon- gitud y 0,1 micra de diámetro.	5 a 15 micras de lon- gitud y 0,5 micras de diámetro.
Cutícula:	Mayor volumen.	Menor volumen.
Mitocondrias:	Más desarrolladas y - en relación con otras organelas. Se sitúan infranuclearmente.	Más numerosas. No tie- nen relación con otras organelas.
Reticulo endo- plásmico:		Más desarrollado.
Aparato de -- Golgi:		Más desarrollado en - general y en cada com- ponente.
Capas de túbu- los:	Muy desarrolladas, hasta 8 capas.	Solo existe una capa.
Cuerpo de Hen- sen:	Presente.	Ausente.
Membrana celu- lar:	Las zonas de adhesión tienen una mayor lon- gitud.	Hay más uniones del - tipo desmosómico.

Fig. 102. Diferencias entre las CCE y las CCI del cobaya.

C) RELACION ENTRE LAS CELULAS CILIADAS
Y LA MEMBRANA TECTORIA.

Relación entre las CCE y la MT:

En la superficie inferior de la MT se observan -
diversas huellas, señales o accidentes que pueden ser in--
terpretados como impresiones de los cilios de las CCE sobre
la MT, sin embargo sólo algunas de estas huellas tienen --
una presencia constante.

A pesar de que la mayoría de los autores descri-
ben la existencia de impresiones de las extremidades ciliares
de los cilios de las CCE en la MT, como LIM, D.J. (1972)
y otros, nosotros no hemos podido observar estas impresio-
nes. Sin embargo sí que hemos comprobado la existencia de
un material fibrilar o substancia amorfa en la superficie-
inferior de la MT que se situaba casi siempre en los mis--
mos lugares en las diferentes piezas estudiadas.

Estas formaciones siempre tenían forma de "V" con
los brazos muy abiertos, cuyo ángulo en todos los casos --
siempre se dirigía hacia el modiollo y era más amplio en la
espira apical que en la basal.

La primera fila de huellas con estas caracterís-
ticas se encontraba cerca de las proximidades de la región
marginal, aunque nunca la hemos observado en la red margi-
nal como hace LIM, D.J. (1972), solamente en alguna ocasión
y en piezas que habían sido sometidas a una deshidratación
sumamente lenta, pudimos observar estas huellas en las proxi
midades de la red marginal consistentes en unas depresiones
que unidas podrían conformar una "V" y cuyo ángulo de
unión de los brazos era más estrecho que los anteriormente

descritos (Fig. 103). Estas huellas en forma de "V" siguen el eje longitudinal de la MT y los brazos de cada huella - no contactan con los de la vecina, a veces incluso no existe esta relación de proximidad. En ningún caso hemos observado impresiones de los cilios en forma de "W" en las espiras basal y media, y de "V" en la apical como describen -- SAITO, G., KOGAKU, K. y KIYOSHI, H. (1979). Estas huellas -- según nuestra opinión se corresponderían con las extremidades de los cilios de la tercera fila de CCE es decir, la - más externa.

La siguiente zona donde encontramos huellas es - en el borde distal de la banda de Hensen o bien en sus proximidades, se trata siempre de formaciones en "V" con un - ángulo muy abierto y de características similares a las anteriormente descritas. No encontramos tampoco en esta zona las formaciones en "W" que HOSHINO, T. (1977) describe en la espira basal. Estas huellas son las más difíciles de observar ya que son las menos constantes y además el relieve de la substancia que las forma es muy pequeño. Estas se corresponderían con las extremidades de los cilios de la segunda fila de CCE la del medio.

La tercera zona donde encontramos las huellas es en el borde proximal de la banda de Hensen, en esta localización es donde aparecen de forma más constante y donde más claramente las podemos observar. Cabe considerar que este - borde proximal está formado por una substancia que tiene - unas depresiones y en los puntos en donde se unen dos de--presiones vecinas aparecen unas formaciones esféricas. ---

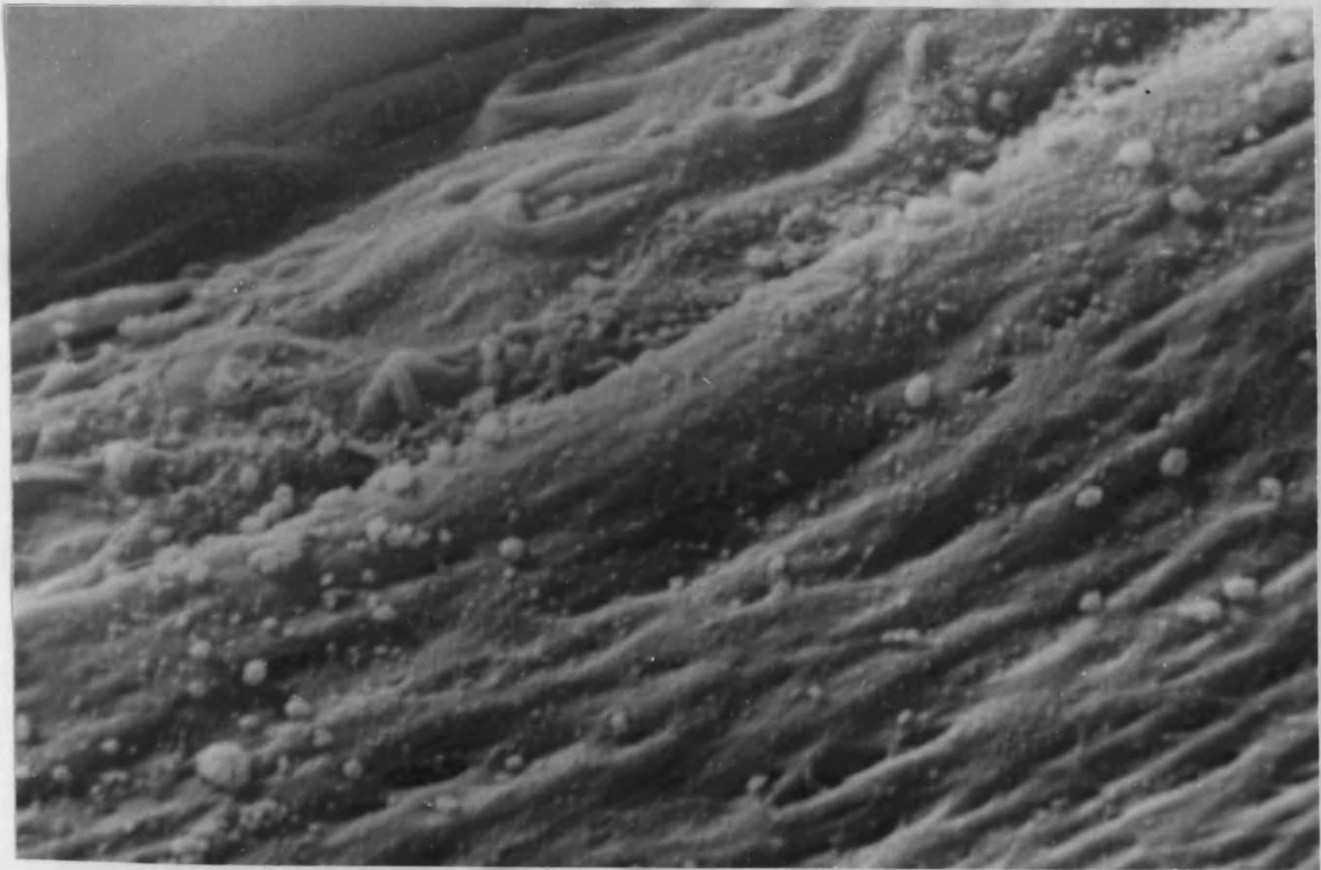


Fig. 103. Imagen del borde marginal de la MT donde se aprecian unas depresiones que en algunos casos forman una "V". MEB. 2000x.

Este dibujo o diseño es muy regular a lo largo de toda la banda de Hensen, en algún caso estas formaciones esféricas pierden su forma redondeada y parece que han sido sometidas a tracción. Según nuestro parecer se trata de formaciones en "V" con un ángulo extremadamente abierto y en cuyo vértice está la formación esférica anteriormente citada, para nosotros estas huellas se corresponderían con las extremidades de los cilios de la primera fila de CCE, la más interna. Hemos comprobado además que la formación esférica se corresponde con el vértice de la "V" que forman los cilios de las CCE.

Estas huellas en nuestra opinión pueden ser una sustancia amorfa o un material fibrilar que se encargaría de conectar la superficie inferior de la MT con las extremidades de los cilios de las CCE o como señalan KAWABATA, I. y NOMURA, Y. (1981), serían elevaciones de la capa basal homogénea que aparecerían en forma de arco o semiluna, en ningún caso creemos que la MT emita digitaciones hacia las extremidades de los cilios de las CCE como opina KIMURA, R. S. (1966).

De cualquier forma y en nuestra opinión debido a los resultados obtenidos mediante la técnica de Nomarski o la MEB tenemos que pensar que en el cobaya o al menos en las piezas estudiadas por nosotros, la relación entre las CCE y la MT es de tipo indirecto estableciéndose por medio de esta sustancia amorfa o fibrilar.

En el estudio de los cilios de las CCE mediante-

la MEB y la MET se aprecia en la fila más externa de CCE y en su hilera más externa la existencia de una substancia o de unas fibrillas que rodean a las extremidades ciliares, lo que les da un aspecto borroso, como ya describieron --- ENGSTROM, H. y WERSALL, J. (1953). También se comprueba mediante la MET, la existencia de un material granular entre los cilios, que los cohesionaría y los haría actuar como un todo funcional.

Al MET se aprecian en ocasiones y en la cara inferior de la MT, indentaciones o muescas similares a las descritas por KIMURA, R.S. (1965) y que este autor interpreta como impresiones de los cilios más altos de las CCE, sin embargo la presencia de estas huellas no es siempre constante y el lugar de presentación varía a lo largo de la MT en las piezas que hemos estudiado.

En resumen los estudios mediante la técnica de Nomarski, la MEB y la MET, aportan datos en el sentido de que la relación entre los cilios de las CCE y la superficie inferior de la MT es de tipo indirecto y a través de la substancia amorfa o fibrilar antes mencionada. En ningún caso hemos encontrado continuidad estructural de los cilios y las fibras de la MT como señala KIMURA, R.S.(1965).

Para terminar este capítulo queremos señalar que estas huellas eran mucho más evidentes en las piezas provenientes de animales jóvenes o fetos, y en muestras que habían sido sometidas a una deshidratación especialmente lenta.

Relación entre las CCI y la MT:

Al MEB se observa como tras la última fila de -- huellas correspondientes a la primera fila de CCE, la más interna, aparecen en alguna ocasión y de forma muy poco -- constante, unas huellas o mejor dicho unas estrías fibro--sas sin una distribución regular y de gran longitud que si--guen el eje de la MT, este hecho ya fué descrito por HOSHI--NO, T. (1976), aunque también señala la existencia de unas formaciones esféricas, este autor sin embargo las localiza en la banda de Hensen en su parte central, LIM, D.J. y LA--NE, W.C. (1969), también describen estas huellas en la ban--da de Hensen y HAWKINS, J.E. y JOHANSSON, L.G. (1981) en el borde distal de esta misma formación, por lo que según nues--tra opinión difícilmente se corresponderían con las huellas de los cilios de las CCI; sino más bien con las de los ci--lios de la primera o la segunda fila de CCE.

Nosotros encontramos dichas huellas en la cara in--ferior de la MT, por dentro del borde proximal de la banda de Hensen, entre impresiones y las de la primera fila de - CCE hay una distancia mucho mayor que entre las de cada fi--la de huellas pertenecientes a los cilios de las CCE. Esta mayor distancia se correspondería a las células de los pi--lares internos que separan las CCE de las CCI.

Como ya hemos descrito anteriormente se trata de estrías que a veces tienen forma de arco y en las que no se puede localizar ninguna impresión individual de cilios, -- aunque LIM, D.J. (1972) dice haber observado este hecho. En

ningún caso hemos observado las formaciones arqueadas y sobresalientes que en esta zona de la superficie de la MT se describen en Melan HOSHINO, T. (1976) y KAWABATA, I. y NOMURA, Y. (1981).

Coincidiendo con KIMURA, R.S. (1965) y LINDEMAN, H. et al. (1971), consideramos que estas huellas se ven con mayor frecuencia en las espiras basales pero no en las apicales del cobaya.

Solamente en las muestras provenientes de fetos a los que les faltaban 20 días para terminar su gestación, hemos observado en la misma zona en que se encuentran estas formaciones estriadas unos cilios que por sus características, pertenecen a una CCI enclavados en la superficie inferior de la MT, sin embargo este fenómeno no lo hemos vuelto a observar en las piezas procedentes de animales con una mayor maduración.

También son muy significativas ciertas características encontradas por nosotros en los cilios de las CCI, y que apenas han sido descritos en la numerosa literatura que hemos revisado, excepto por BORGUESAN, E. (1952), SOUJIN, E.R. (1971), y ROSS, M.D. (1972). En el estudio por nosotros realizado hemos podido observar como la sustancia amorfa o fibrilar que sirve para unir a la hilera más externa de cilios de las CCI y también a sus extremidades aparece en ocasiones estirada como si hubiera estado sometida a una tracción, la dirección que toma entonces esta sustancia es la misma que la de los cilios, lo que indica que han estado sometidos a una misma tracción. Estos signos inequív

vocos de tracción siempre los hemos observado en las muestras procedentes de los animales más jóvenes o de fetos.

Por todo lo anteriormente expuesto cabe admitir que la unión de los cilios de las CCI y la MT parece estar directamente relacionada con la edad de los cobayas, pudiéndose apreciar de forma evidente como en los fetos existe una relación muy estrecha entre los cilios de las CCI y la superficie inferior de la MT para posteriormente y con la maduración de la coclea ir disminuyendo el contacto hasta que queda una unión indirecta por medio de fibrillas e incluso ésta se pierde totalmente en la espira apical.

Esta evolución de la relación entre los cilios de la CCI y la MT también es aplicable a los de las CCE como hemos podido comprobar a lo largo de las muestras que hemos examinado.

Como ha quedado demostrado en este estudio el tipo de deshidratación a que son sometidas las muestras tiene una gran importancia en cuanto a las relaciones entre las CC y la MT, ya que una deshidratación rápida dará lugar a una retracción brusca que desplazará a la MT hacia arriba, perdiéndose la relación con los cilios y asimismo se alterará la red de la superficie inferior de la MT y la banda de Hensen con lo que las huellas quedarían alteradas pudiendo esto inducir a un error en la explicación de la relación entre los cilios y la MT.

La red marginal de la MT que une a ésta con el órgano de Corti, a nivel de las células de Deiters más exter

nas y a las de Hensen, también participa de los mismos fenómenos en relación con la edad del animal y la deshidratación de la muestra, de tal manera que en los fetos esta red aparece como una membrana con alguna perforación y a medida que la maduración coclear se completa, éstas se van ampliando y queda convertida en una red con lo que sus uniones al órgano de Corti disminuyen. Igualmente se ve muy afectada por el tipo de deshidratación, como ya hemos expuesto.

XIV. CONCLUSIONES.

1.- La microdissección aplicada a la técnica de los especímenes de superficie es el método ideal para la obtención de porciones aisladas de la MT y de las espiras cocleares, así como para preparar la coclea cuando se realizan otras técnicas.

2.- La microdissección de la MT se realiza previa extirpación de la lámina de los contornos, el ligamento espiral externo y la estria vascular, así como la membrana de Reissner. En los animales con pelaje oscuro es más fácil de identificar la MT ya que ésta toma entonces un tinte oscuro. Consideramos importante para facilitar la disección de la MT, la realización de un paso previo de la pieza por alcohol de 60 ó 70 grados, lo que dará lugar a una retracción y separación de esta membrana de sus uniones con el órgano de Corti. Siempre tendremos en cuenta que hay que deshechar el extremo de la MT que hemos manipulado durante la disección.

3.- La microdissección de las espiras cocleares - la consideramos un paso importante para su posterior estudio al MET. Así mediante una fina punta de microcirugía otológica separamos la muestra de espira que queremos aislar, rompiendo la membrana basilar y la lámina espiral perpendicularmente al eje del conducto coclear, posteriormente separaremos este trozo de espira por una línea paralela al eje del conducto coclear que siga el labio vestibular del limbo con lo que conseguiremos un amplio fragmento de espira que apenas tendrá tejido óseo de la lámina espiral lo que facilitará la realización de los ultracortes.

4.- La deshidratación de las piezas como preparación para el estudio de microscopía óptica es, en nuestra opinión, un paso fundamental. El tiempo empleado en este proceso así como el grado de la misma, van a dar lugar a diferentes aspectos de la MT y de sus relaciones con el órgano de Corti y los cilios de las CC, lo que en muchos casos es origen de confusiones y descripciones contradictorias de la MT.

5.- Consideramos importante la decalcificación de la coclea con EDTA al 2% en tampón fosfato de Sorensen, con cambios de la solución para evitar su saturación, así como el uso de agitación constante para decalcificar más rápidamente y el control de ésta mediante Rx. Así se consigue una decalcificación más rápida con un mínimo de alteraciones en la coclea.

6.- Hemos utilizado el glicol metacrilato como medio de inclusión de la coclea para la realización del estudio con microscopía óptica, ya que con este medio se obtiene una mayor información de la pieza al no reaccionar con ésta y bloquear así alguno de los componentes de la tinción. Consideramos que el glicol metacrilato es un medio de inclusión que tiene un gran porvenir al menos en este proceso y sobre todo cuando se puedan realizar con este mismo material los ultracortes para MET.

7.- La microscopía de contraste de fases es un método muy útil para observar la MT ya que nos permite realizar cortes ópticos de todo su espesor pudiendo manipularla al mismo tiempo.

8.- La microscopia de interferencia diferencial- de Nomarski nos ha permitido realizar un estudio de las su perfcies de la MT que completa en mucho al de la MEB. Es- especialmente valorable este método de observación cuando- se estudian las regiones límbica y marginal de la MT, lo - que nos ha permitido comprender mejor la estructura de es- tas zonas cuando habían sido observadas al MEB. También y con esta técnica de Nomarski hemos podido apreciar en la - superficie inferior de la MT, las posibles huellas que de- jan las extremidades ciliares.

9.- La MEB es en nuestra opinión el método ópti- mo para estudiar una superficie como la MT y las huellas - de los cilios en ella. Contrastando este método de observa- ción con los de Nomarski y de contraste de fases hemos po- dido apreciar la importancia del tipo de deshidratación a- que es sometida la pieza.

10.- El método utilizado para la preparación de- los bloques que serán observados mediante MET lo considera- mos muy práctico y útil en el estudio del órgano de Corti; así con la obtención de fragmentos de espiras mediante mi- crodisección lo que ahorra tiempo y material en relación - con la técnica de los bloques múltiples utilizada por otros autores. También la inclusión de la espira en el molde que utilizamos permite una mejor y más fácil orientación de -- aquella, así como la obtención de un mayor número de ultra- cortes. Asimismo con la técnica de la microdisección apli- cada a la MET, nos evitamos la presencia de tejido óseo en el bloque, lo que en otros casos da lugar a alteraciones -

de los cortes con aparición de rayas y fragmentaciones de éstos.

11.- La MT mantiene unas estrechísimas relaciones con las células interdentes del labio vestibular del limbo. La membrana de estas células emite una serie de evaginaciones que se introducen en la propia MT, también y en el espesor de la región límbica de la MT, encontramos unos espacios vacíos de fibras, ocupados por vesículas y cuerpos multivesiculares, que en su interior tiene un fino material granular. Tanto este material como las vesículas, son idénticos a los que existen en la parte apical de la célula interdental por lo que no es difícil imaginar una relación entre ambas estructuras en el sentido de que las células interdentales son las precursoras del material de la MT, o bien son las encargadas de mantener y renovar este material.

12.- La MT está unida al limbo mediante una substancia amorfa en la que hacen protusión las membranas de las células interdentes. También existen unas fibras en esta zona, en su parte más inferior que coadyuvan a mantener este anclaje. Esta región límbica queda dividida en dos zonas, una proximal en donde hacen relieve las células interdentales y una zona distal en donde hay mayor concentración de fibras que sirven de anclaje.

13.- La MT se compone en su totalidad de fibras, sin embargo estas no tienen siempre la misma disposición.- Así en la región límbica existen dos niveles de fibras, uno superior donde estas siguen un plano paralelo al eje longi

tudinal de la MT y uno inferior en donde siguen un plano perpendicular a ese eje. Conforme nos aproximamos a la región del cuerpo de la MT el plano inferior va desapareciendo a expensas del superior. Siendo esta zona la única de la MT que no es uniforme pues existen espacios vacíos de fibras ocupados por vacuolas. Sin embargo y conforme nos acercamos al punto en que la MT se despega del labio vestibular, estos espacios desaparecen y la MT queda constituida como una estructura uniforme y homogénea.

En el cuerpo las fibras siguen una dirección perpendicular al eje longitudinal de la MT, pero podemos apreciar tres niveles y capas, así tanto en el margen superior como en el inferior, existe una mayor concentración de fibras siendo las más gruesas las que están más cerca de la superficie. Entre estas dos capas existe una amplia zona media en donde la concentración de las fibras es menor y aunque siguen el mismo plano no lo hacen de una forma tan unánime.

En la región marginal sin embargo, estas características desaparecen y las fibras se disponen de forma muy diferente, de tal manera que parece existir una mayor concentración de fibras y estas se disponen en tres niveles. La mayor concentración se da en el plano medio, que separa a los otros dos con una dirección diagonal, este plano tiene una forma arrosariada. Las fibras de esta región marginal siguen un eje paralelo al eje longitudinal de la MT.

Al MEB se confirma esta disposición de las fibras

y parecen existir dos tipos, unas más gruesas y otras más finas que sirven para mantener la cohesión de las anteriores.

En conclusión de todo lo anteriormente expuesto se deduce que la región límbica de la MT es una zona de anclaje. Que las fibras del cuerpo en sus márgenes superficiales parecen tener una misión de contención de la MT. En el margen la disposición de las fibras permite suponer que se trata de una formación con especial consistencia y que sea uno de los pilares fundamentales de su unión con el órgano de Corti.

14.- La superficie superior de la MT, está formada por una red de fibras, red de superficie superior, en la que existen dos tipos de fibras, unas con un calibre mayor y otras en que este es menor y que sirven para mantener unidas a aquellas, excepto en la región límbica en donde existen relieves de las zonas más superficiales de las células interdenciales.

15.- La superficie inferior de la MT es la zona más importante de esta formación, ya que es la que contacta con los cilios de las CC. Está formada por una red fibrilar similar a la de la cara superior, es la red superficial inferior. Está atravesada en toda su longitud por la banda de Hensen que no es más que una depresión en la superficie inferior limitada por unos bordes netos. Sin embargo la morfología de esta superficie inferior, depende en gran manera del grado de hidratación de la tectoria, de

tal suerte que ésta ha sido sometida a una deshidratación-rápida e importante, la superficie inferior aparece formada por la red superficial inferior y una banda de Hensen - poco sobresaliente. Si la deshidratación es lenta y poco - intensa esta superficie aparece cubierta por una substancia amorfa que es denominada capa basal homogénea o membrana - de Hardesty, en este caso los bordes de la banda de Hensen aparecen elevados y engrosados, existiendo entre ellos una depresión evidente.

16.- La morfología de la región marginal de la - MT, depende según nuestro criterio de dos factores, en primer lugar de la edad del animal, así en los más jóvenes y - en los fetos esta aparece como una verdadera membrana. Conforme se produce la maduración la membrana se va perforando hasta quedar unos procesos digitiformes que unen la MT, al órgano de Corti. Por otro lado esta es la estructura de la MT que más se afecta por el proceso de deshidratación,- de tal manera que si esta es muy intensa, el complejo marginal queda reducido a la zona marginal, desapareciendo -- los procesos digitiformes de la red marginal, en otro caso si la deshidratación éstos permanecen.

En nuestra opinión esta región marginal es la zona donde nacen tanto la red de superficie superior como la inferior, esto se demuestra de forma evidente en los cordones fibrosos que tienen su origen en la región marginal y - posteriormente contribuyen a formar la red de la superficie superior de la MT.

17.- Por todo lo anteriormente expuesto y según nuestro parecer, la MT puede ser dividida en una región -- límbica, un cuerpo y una región marginal. La MT está formada de arriba a bajo por la red de superficie superior, capa superior de fibras del cuerpo de la MT, fibras del cuerpo, capa inferior de fibras del cuerpo de la MT y red de superficie inferior recorrida por la banda de Hensen y que según el grado de hidratación también es denominada capa basal, homogénea y membrana de Hardesty.

La región marginal está formada por la zona marginal y la red marginal.

18.- Los cilios de las CCE se disponen en forma de "V" en tres hileras, el número de cilios en la hilera más externa, es de 30 a 40 y disminuye en las hileras más internas. En ningún momento hemos observado la existencia de fibras o de algún otro material que se sitúe entre ellos y sirva para unirlos entre sí. En las extremidades de los cilios de la hilera más externa de la tercera fila de CCE, se aprecian unas fibrillas que dan lugar a una imagen poco neta. En ningún caso hemos observado que la raíz ciliar se prolongue más allá de la cutícula, ni exista relación entre ésta y el retículo endoplásmico celular.

19.- En el citoplasma de la CCE y paralelamente a la membrana celular se disponen unas capas de túbulos. Su número aumenta conforme nos aproximamos desde los polos de la célula a su parte central, existiendo en este punto unos ocho o nueve. Estas capas de túbulos tienen unas comu

nicaciones entre sí, por lo que realmente se trata de un re
tículo. En nuestra opinión se trata de una formación parti-
cular de retículo endoplásmico.

20.- En la CCE siempre hemos observado la exis-
tencia de un único cuerpo de Hensen, formación que está --
constituida por túbulos que se disponen de forma concéntri-
ca en un número que va de dos a cinco y se situa infranu-
clearmente. Estos túbulos están comunicados entre sí. En -
el interior del cuerpo de Hensen hemos encontrado las orga-
nelas propias de la CCE. Asimismo hemos de destacar la evi-
dente relación directa que existe entre la densidad del ci
toplasma del interior del cuerpo de Hensen y el número de-
túbulos que lo forman, para nosotros también se trata de -
retículo endoplásmico.

21.- Existe una estrecha relación entre las capas
de túbulos y el cuerpo de Hensen, hasta el punto de poder-
afirmar que se trata de la misma formación, teniendo el --
cuerpo de Hensen tu origen en las capas de túbulos de las-
que progresivamente se separa. En nuestra opinión el origen
del cuerpo de Hensen tiene lugar cuando se separan las ca-
pas de túbulos, dejando entre ellas material citoplásmico-
hasta que se aíslan y se disponen circularmente. Por las -
características de estos túbulos, podemos afirmar que se -
trata de retículo endoplásmico.

22.- Las mitocondrias de las CCE destacan por su
tamaño, así como su especial disposición en torno a las ca
pas de túbulos y el cuerpo de Hensen, a los que práctica--

mente rodea, estando casi en contacto con ellos. Esta relación permite suponer un importante papel funcional y estructural a estas formaciones de retículo endoplásmico.

23.- Por lo anteriormente expuesto, cabe deducir que la CCE con respecto a la CCI es una formación más especializada y más necesitada de energía como lo demuestra la existencia de formas particulares de retículo endoplásmico y su relación con las mitocondrias, además de el número y tamaño de éstas.

24.- Los cilios de las CCI se disponen formando una barrera o empalizada, estos cilios se sitúan en tres hileras, siendo la más externa la de mayor tamaño, que a su vez es casi el doble de la de los cilios mayores de las CCE. Entre estos cilios existe una formación membranosa -- evidente, que los une, a diferencia de lo que ocurría con los de las CCE.

25.- Queremos destacar la presencia en el citoplasma de las CCI de un retículo endoplásmico extraordinariamente desarrollado, lo mismo ocurre con el aparato de Golgi, aunque con menor intensidad. Las mitocondrias son más numerosas que en la CCE aunque no tan desarrolladas y sin que presenten ninguna relación especial con organelas celulares como ocurría en la CCE.

26.- No hemos observado en ningún caso en las CCI la existencia de cuerpo de Hensen. En cuanto a las capas de túbulos de retículo endoplásmico, están escasamente desarrolladas y su número no es mayor de dos o tres. Estos -

hechos contrastan con la existencia en el citoplasma de la CCI de un retículo endoplásmico y un aparato de Golgi bien desarrollados. Por todo lo anterior, la CCI parece ser una estructura menos especializada y necesitada de energía que la CCE.

27.- En cuanto a la relación de los cilios de las CC y la superficie inferior de la MT, existen dos factores que tienen una gran importancia, para enjuiciar dicha relación, en primer lugar el grado de deshidratación y la rapidez con que ésta se realiza. La deshidratación intensa y rápida dará lugar a una retracción de la MT, lo que distorsiona la realidad de esta relación. El otro factor determinante es el grado de desarrollo de la coclea, así en los fetos y animales más jóvenes, es evidente la existencia de una relación más íntima entre las extremidades de los cilios y la MT.

28.- La unión entre las extremidades de los cilios de las CCE y la superficie inferior de la MT, está constituida por una formación membranosa o fibrilar que se sitúa entre los cilios y la MT, esta formación dibuja una "V" por cada CCE. Estas huellas se sitúan en la proximidad de la zona marginal y se correspondería con la tercera fila de CCE la más externa. La segunda fila de huellas está constituida por un material similar al de la anterior y se sitúa en la proximidad del borde distal de la banda de Hensen, se trata de huellas más inconstantes y se corresponderían con los cilios de la segunda fila de CCE. La tercera fila de huellas, la más interna, se sitúa en el borde proximal de

la banda de Hensen y consiste en unas formaciones arqueadas que en sus extremos se unen, mediante una estructura esférica por la que se realizaría la unión con el vértice de los cilios de la primera fila de CCE, la más interna.

En las extremidades de los cilios de la hilera más externa de CCE, se aprecian unas fibras que nos indicarían la existencia de una unión de estos cilios con la superficie inferior de la MT.

Por lo tanto cabe considerar que en los animales adultos esta relación sería de tipo indirecto, si bien que remos señalar que en los animales más jóvenes estas huellas eran más evidentes, lo que coincide con la hipótesis de una relación entre CCE y MT, dependiente del grado de madurez de la coclea.

29.- La relación de los cilios de las CCI y la superficie inferior de la MT, depende aún más si cabe, del grado de desarrollo de la coclea, de tal manera que hemos podido observar dos tipos de imágenes en fetos de cobaya, habiendo comprobado la existencia de cilios enclavados en la superficie inferior de la MT, por el contrario en los animales adultos esta relación es apenas demostrable, ya que si bien existen huellas en la superficie inferior de la MT, por dentro del borde proximal de la banda de Hensen estas no son constantes. Dichas huellas están constituidas por un material igual al de las huellas de las CCE, aunque aquí se dispone en línea recta, siguiendo el eje longitudinal de la MT.

Es sin embargo en los cilios de las CCI en donde podemos encontrar más datos sobre esta relación, así en numerosas ocasiones en piezas procedentes de fetos, animales jóvenes e incluso adultos, hemos podido observar como existe un material fibrilar que une las extremidades ciliares de la hilera más externa de las CCI, que da la impresión de haber sido sometido a tracción en los casos en que he--mos separado la MT del órgano de Corti por medio de una deshidratación controlada.

Por lo tanto cabe considerar que la relación de los cilios de las CCE y la superficie inferior de la MT, - depende del grado de maduración del órgano de Corti, sien--do más íntima durante la vida fetal y de tipo indirecto en los animales adultos cuando el desarrollo coclear es com--pleto.

XV. BIBLIOGRAFIA.

- ADES, H. y ENGSTROM, H.: Anatomy of the inner ear, pp. ---
125-158. En: Handbook of Sensory Physiology; Auditory Sys-
tem. Ed. Keidel W.D. y Neff W.D.. Springer-Verlag. Berlin,
New York. 1974.
- ANNIKO, M. y LUNDQUIST, P.G.: The influence of different --
fixatives and osmolality on the ultrastructure of the co-
chlear neuroepithelium. Arch.Oto-Rhino.-Laryng. 218 (1-2):
67-68. 1977.
- ANNIKO, M. y WROBLESKI, R.: Elemental composition of the -
mature inner ear. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 90 (5-6): --
425-430. 1980.
- ARENBERG, I.K.: Sem in otorhinolaryngologic research. ----
Arch.Otolaryngol. 95: 477-483. 1972.
- ASARCH, R., ABRAMSON, M. y LITTON, W.B.: Surgical anatomy-
of the guinea pig ear. Ann.Otol. (St.Louis). 84 (2) (1): --
250-255. 1975.
- AYERS, H. 1982. Cit. por ROSS, M.D. (1974).
- BAGGER-SJOBACK, D. y WERSALL, J.: The sensory hairs and --
tectorial membrane of the basilar papilla in the lizard --
"Calotes Versicolor". J.Neurocitol. 2: 329-350. 1973.
- BAIRD, I.L.: Some aspects of the comparative anatomy and -
evolution in submalian vertebrates. Brain Behav.Evol. 10
(1-3): 11-36. 1974.
- BENNETT, H.S. et al.: Science and art in preparingx tissues
embedded in plastic for light microscopy with special refe

- rence to glycol methacrylate, glass knives and simple --- stains. Stain Technology. 51 (2): 71-91. 1981.
- BOETTCHER, A. 1859. Cit. por ROSS, M.D. (1974).
 - BORGHESAN, E.: Tectorial membrana and organ of Corti considered as a unique anatomic and functional entity. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 42: 473-486. 1952.
 - BORGHESAN, E.: Les recepteurs cochleaires et les theories modernes de l'audition. J. Franc. ORL. 3: 213-256. 1954.
 - BORGHESAN, E.: Fixation effects on the relation between the tectorial membrane and the cilia of the hair cells. - Pract. Oto. Rhino. Laryng. 33: 297-303. 1971.
 - BREDBERG, G.: The human cochlea during development and -- ageing. J. Laryng. Otol. 31 (7): 739-758. 1967.
 - BREDBERG, G., LINDEMANN, H. y ADES, H.: SEM of the organ of Corti. Science 170: 861-863. 1970.
 - BREDBERG, G., ADES, H. y ENGSTROM, H.: SEM of the normal and pathologically altered organ of Corti. Acta Otolaryngol. (Stockh.) Suppl. 301. 1972.
 - CARRAT, R.: Cochlear mechanics, new experimental data. Ann. Oto. Laryng. (Paris) 96 (1-2): 23-47. 1979.
 - CIGES, M., QUESADA, P. y ARANA, C.: Técnica de los especímenes de superficie en investigaciones sobre el laberinto. Acta Otorrinolaring. Esp. I. 1970.
 - COHEN, G.M. y FERMIN, C.D.: The development of hairs cells in the embrionic chicken's basilar papilla. Acta Otolaryng-

- gol. (Stockh.) 86: 342-358. 1978.
- COLE, H. y SYKES, W. 1976. Cit. por BENETT, H.S. et al.-- (1981).
 - COPE, J. 1968. Cit. por BENETT, H.S. et al. (1981).
 - COMIS, S.D., HAYWARD, T.L. y STOPP, P.E.: A new histological method wich facilitates histochemical studies of the cochlea. J. Physiol. (Lond.) 241 (2): 63-65. 1974.
 - CORTI, A.: Recherches sur l'organe de l'ouie des mamiferes. Wiss. Zool. Z. 3: 109-169. 1851.
 - COYNE, P. y CANNIEU, A. 1859. Cit. por ROSS, M.D. (1974).
 - CZINNER, H.I. 1897. Cit. por ROSS, M.D. (1974).
 - DALLOS, P.: The Auditory Periphery. Academic Press Inc. - New York, London. 1973.
 - DALLOS, P. y BREDBERG, G. 1968. Cit. por DALLOS, P. (1973).
 - DALLOS, P. et al.: Cochlear inner and outer hair cells, - functional differences. Science. 177: 356-385. 1972.
 - DAVIS, H.: Biophysics and phisiology of the inner ear. -- Physiol. Rev. 37: 1-49. 1957.
 - DAVIS, H.: Transmission and transduction in the cochlea.- Laryngoscope 68: 359-382. 1958.
 - DAVIS, H.: A mechano-electrical theory of cochlear action. Ann.Otol. (St.Louis) 67: 789-801. 1958.
 - DAVIS, H.: Principles of electric response audiometry. -- Ann.Otol. (St. Louis) Suppl. 28. 1976.

- DAVIS, H. et al.: Modification of coclear potentials. Laryngoscope 68: 596-632. 1958.
- DOHLMAN, G.F.: The attachment of the cupulael otholith -- and tectorial membraneto the tensory cell areas. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 71: 89-105. 1971.
- ENGSTROM, H.: La cellule sensoriale de l'organe de Corti. Acta Otolaryngol. (Stockh.) Apendix al Vol. 63 (2-3): --- 5-18. 1967.
- ENGSTROM, H.: The ultraestructure of the sensory cells of the cochlea. J. Laryngol. Otol. 31 (7): 687-715. 1967.
- ENGSTROM, H. y ADES, H.: The ultraestructure of the organ of Corti. En: The ultraestructure of sensory organs. Ed.- J. Friedmann. North Holland Publishing Co. Amsterdam.1973.
- ENGSTROM, H. y ENGSTROM, B.: Structure of the hairs on co chlear sensory cells. Hear. Res. 1 (1): 49-66. 1978.
- ENGSTROM, H. y WERSALL, J.: Structure of the organ of Cor ti I: outer hair cells. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 43 (1): 1-10. 1953.
- ENGSTROM, H. y WERSALL, J.: Structure of the organ of Cor ti II: supporting structures and their relations to senso ry cells and nerve endings. Acta Otolaryngol. (Stockh.) - 43: 323-334. 1953.
- ENGSTROM, H., ADES, H. y ANDERSSON, A.: Structural pattern of the organ of Corti. Ed. Almquist & Wikell. Stockholm. - 1966.
- ENGSTROM, H., ADES, H., y HAWKINS, J.E.: Structure and --

- function of the sensory hairs of the inner ear. J. Acoust. Soc. Amer. 34: 1356-1363. 1962.
- ERLANDSSON, B. et al.: Hair cell damage in the guinea pig due to different kinds of noise. Acta Otolaryngol. (Stockh.) Suppl. 367. 1980.
 - EYRIES, C., PERLES, B. y PINEAU, H.: Developpement de l'oreille interne humaine du 26 au 70 jour de la vie embryonnaire. Etude anatomique et biometrique. Ann.Oto.Laryng. (Paris). 77: 877-919. 1960.
 - FEDER, J.A. y O'BRIEN, H. 1968. Cit. por BENETT, H.S. et al. (1981).
 - FLOCK, A.: Mechanisms of excitation and inhibition in type II hair cells. Brain Behav. Evol. 10 (1-3): 119-120. 1974.
 - FLOCK, A., FLOCK, B. y MURRAY, E.: Studies on the sensory hairs of receptor cells in the inner ear. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 83 (1-2): 85-91. 1977.
 - FRIEDMANN, I.: The ultrastructural organization of sensory epithelium in the developing fowl embryo otocyst. J.-Laryng. Otol. 73: 779-789. 1959.
 - FRIEDMANN, I.: Pathology of the ear. Ed. Blackwell Scientific Publications. Oxford. 1974.
 - FROMMER, G.H.: Fluid motion in the mammalian organ of Corti. A possible source of second filter. Acta Otolaryngol. (Stockh.) Suppl. 363. 1979.
 - GENIS, J.: Embriología del oído interno. En: Biología molecular del desarrollo. Ed. Espax. 1970.

- GYO, K. y YANAGIHARA, N.: Electrically and acoustically - evoked BRS responses in guinea pig. Acta Otolaringol. --- (Stockh.) 90 (1-2): 25-31. 1980.
- HAMMERSCHLAG, V. 1897. Cit. por ROSS, M.D. (1974).
- HARDESTY, I. 1908. Cit. por ROSS, M.D. (1974).
- HAWKINS, J.E. y JOHNSON, L.G.: Light microscopic observations of the inner ear in man and monkey. Ann. Otol. (St. Louis). 77: 108-115. 1968.
- HELD, H. 1902. Cit. por ROSS, M.D. (1974).
- HELD, H.: Die Cochlea der Säuger und der Vögel, ihre Entwicklung und ihr Bau. En: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie. Vol. II. Springer-Verlag. Berlin, New York. 1926.
- HENLE, J. 1880. Cit. por ROSS, M.D. (1974).
- HEYWOOD, P. y RESNICK, S.: Application of the thio-carbohidrazide-osmium coating technique to SEM of the inner ear. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 91: 183-187. 1981.
- HILDING, A.C.: A theory on the stimulation of the organ - of Corti by sound vibration. Ann. Otol. (St. Louis) 61: - 371-389. 1952.
- HILDING, A.C.: Studies on the otic labyrinth I; on the -- irigin and insertation of the tectorial membrana. Ann. Otol. (St. Louis) 61: 354-370. 1952.
- HILDING, A.C.: The tectorial membrane in the theory of -- hearing. Ann. Otol. (St. Louis) 62: 757-769. 1953.

- HILDING, A.C.: Studies on the otic labyrinth V; the possible relation of the insertation of the tectorial membrane to acoustic trauma, nerve deafness and tinnitus. Ann. Otol. (St. Louis) 62: 470-492. 1953.
- HILDING, D.A.: SEM of the developing hearing organ. Laryngoscope 70: 1691-1704. 1969.
- HIROKAWA, H.: A freeze fracture study of intercellular junctions between various kinds of epithelial cells surrounding common endolymphatic space in the hearing organ of the chick. Anat.Rec. 196 (2): 129-143. 1980.
- HONRUBIA, V., STRELIOFF, D. y SITKO, S.T.: Physiological basis of cochlear transduction and sensitivity. Ann. Otol. (St. Louis) 85 (6): 697-710. 1976.
- HOSHINO, T.: Attachment of the inner sensory hair cells to the tectorial membrane. A SEM study. ORL 38: (1): 11-18. 1976.
- HOSHINO, T.: Contact between the tectorial membrane and the cochlear sensory hairs in the human and the monkey. Arch. Oto.Rhino.Laryng. 217 (1): 53-60. 1977.
- HOSHINO, T. et al.: Sudden deafness in relapsing polychondritis. A SEM study. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 86: (56): 418-427. 1978.
- HUNTER-DUVAR, I.M.: A technique for preparation of large cochlear specimens for assessment with the TEM. Acta Otolaryngol. (Stockh.) Suppl. 351. 1978.
- IGARASHI, M. y ALFORD, B.R.: Cupula, cupular zone of oto-

- litic membrane and tectorial membrane in the squirrel monkey. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 68: 420-426. 1969.
- IURATO, S.: Submicroscopic structure of the membranous labyrinth I; the tectorial membrane. Z. Zellforsch. 52: 105-128. 1960.
 - IURATO, S.: Submicroscopic structure of the membranous labyrinth II, the epithelium of Corti's Organ. Z. Zellforsch 53: 259-265. 1961.
 - IURATO, S.: Submicroscopic structure of the membranous labyrinth III, the supporting structure of the Corti's organ (basilar membrane, limbus spiralis and spiral ligament). Z. Zellforsch. 56: 40-96. 1962.
 - IURATO, S.: TEM of the auditive labyrinth. En: Handbook of auditory and vestibular research methods. Ed. Smith C. A. y Vernon J.A. Springfield USA. 1975.
 - JAHNKE, V., LUNDQUIST, P.G. y WERSALL, J.: Some morphological aspects of sound perception in birds. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 67: 583-601. 1969.
 - JENSEN, C.E., KOEFOED, J. y VILSTRUP, T.: Flow potential in hyaluronate solutions. Nature 194: 1101-1102. 1954.
 - JOHNSTONE, B.M., TAYLOR, K.J. y BOYLE, A.J.: Mechanics of the guinea pig cochlea. J. Acoust. Soc. Amer. 47 (2): 504-509. 1970.
 - KAWABATA, I. y NOMURA, Y.: The imprints of the human tectorial membrane. A SEM study. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 91: 29-35. 1981.

- KEITH, A. 1918. Cit. por ROSS, M.D. (1974).
- KIKUCHI, K. y HILDING, D.A.: The development of the organ of Corti in the mouse. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 60: -- 207-215. 1965.
- KIMURA, R.S.: Hairs of the cochlear sensory cells and --- their attachments to the tectorial membrane. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 61: 55-72. 1966.
- KIMURA, R.S., SCHUKNECHT, H.F. y SANDO, I.: Fine morphology of the sensory cells in the organ of Corti in man. - Acta Otolaryngol. (Stockh.) 58: 390-401. 1964.
- KNOLL, K. 1938. Cit. por ROSS, M.D. (1974)
- KOLLICKER, A. 1854. Cit. por ROSS, M.D. (1974)
- KOSAKA, N., TANAKA, T. y TAKIGUCHI, T.: Observation of -- the organ of Corti with SEM. Acta Otolaryngol. (Stockh.)- 72: 377-384. 1971.
- KRONESTER-FREI, A.: Postnatal development of the tecto--- rial membrane's marginal net of the rabbit. Correlation - with the typical marginal structures of the adult squirrel monkey. Laryn. Rhinol. (Stuttg.) 55 (8): 687-700. 1976.
- KRONESTER-FREI, A.: Ultraestructure of the different zo--- nes of the tectorial membrane. Cell. Tissue Res. 193 (1): 6-11. 1978.
- KRONESTER-FREI, A.: Localization of the marginal zone of- the tectorial membrane in situ, unfixed, and with in vivo like ionic milieu. Arch. Otorhinolaryngol. 224 (1-2): 3-9 1979.

- KRONESTER-FREI, A.: The effects of changes in endolymphatic ion concentrations on the tectorial membrane. Hear.-Res. 1 (2): 81-94. 1979.
- LABELLA, T.: Ultraestructura del laberinto anterior. Acta Otorrinolaring.Esp. nº Extraordinario. 1976.
- LAWRENCE, M.: Electric polarization of the tectorial membrane. Ann. Otol. (St. Louis) 76: 287-312. 1967.
- LAWRENCE, M. y BURGIO, P.A.: Attachment of the tectorial-membrane revealed by SEM. Ann.Otol. (St.Louis) 89 (4): -- 325-338. 1980.
- LEDUC, A. y BERNHARD, D.F. 1967. Cit. por BENETT, H.S. -- et al. (1981).
- LEGENT, F., PERLEMUTER, L.y VANDENBROUCK, C.: Cahiers d'anatomie ORL. Vol. 1. Ed. Masson et Cie. Paris. 1968.
- LIM, D.J.: Three dimensional observations of the inner -- ear with SEM. Acta Otolaryngol. (Stockh.) Suppl. 255. 1969.
- LIM, D.J.: Fine morphology of the tectorial membrane. Its relations hip with the organ of Corti. Arch. Otolaryng.96 (3): 199-211. 1972.
- LIM, D.J. y LANE, W.C.. Cochlear sensory epithelium, a - SEM observation. Ann. Otol. (St. Louis) 78: 827-841. 1969.
- LINDEMAN, H. et al.: The sensory hairs and the tectorial-membrane in the development of the cat's organ of Corti.- Acta Otolaryngol. (Stockh.) 72: 229-242. 1971.
- LOWENBERG, B. 1864. Cit. por ROSS, M.D. (1974).

- LUCIANO, L. et al.: Freeze fracture study of the cell --- junctions in the utricule and sacule. Acta Otolaryngol. - (Stockh.) 83 (1-2): 79-84. 1977.
- LUFT, J.H.: Improvements in epoxy resin embedding methods. J. Biophys. Biochem. Cytol. 9: 409-415. 1961.
- MANLEY, G.A.: Cochlear frequency sharpening. A new syntesis. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 85: 167-176. 1978.
- MARCO, J., SANCHEZ-FERNANDEZ, J.M. y RIVERA, J.M.: Ultraestructure of the otoliths and otolithic membrane of the macula utriculi in the guinea pig. Acta Otolaryngol. ---- (Stockh.) 71: 1-8. 1971.
- MARCO, J. et al.: Estudio del microfónico coclear. An. ORL Iber-Amer. VIII (2): 109-130. 1981.
- MAROVITZ, W.F.: Studies in the otic embryogenesis. Ann. -- Otol. (St.Louis) 85 (5) Suppl. 32. 1977.
- MAROWITZ, W.Z., ARENBERG, I.K. y THALMANN, R.: Evaluation of preparative technique for the SEM. Laryngoscope 80: -- 1680-1700. 1970.
- MAROWITZ, W.F., KHAN, K.M. y SCHULTE, T.: Ultraestructural development of the early rat otocyst. Ann. Otol. (St.Louis) 86, Suppl. 35. 1977.
- McMANUS, J.F.A. y MOWRY, R.N.: Técnica Histológica. Ed. - Atica SA. Madrid. 1968.
- MEYER, B.: Embryologic de l'oreille interne. Encycl. Med. Chir. ORL. 20005 A 40, 4-4-12. París. Ed. Techniques. 1979.

- MOATTI, L.: The embriology of the internal ear. J. Genet. Hum. 24 Suppl.: 165-177. 1976.
- MORALES, J.: Estudio histoquímico del glucógeno del órgano de Corti, en reposo y tras estimulación sonora. An. ORL Iber-Amer. 2 (5): 34-55. 1975.
- MORERA, C.: Contribución de la microscopia de interferencia diferencial al estudio de la morfología del laberinto. An. ORL Iber-Amer. 3 (5): 510-518. 1976.
- MORERA, C.: Aportaciones técnicas al estudio morfológico del laberinto posterior. Tesis Doctoral. Fac. Med. Valencia. 1976.
- MORERA, C.: Nuevo método para el estudio histológico del laberinto. An. ORL. Iber-Amer. 5 (2): 157-165. 1978.
- MORERA, C. y MARCO, J.: Estudio tridimensional del laberinto anterior. Rev. Oto. Neuro. Oftalm. 35 (203): 9-15. 1977.
- MYGIND, S.H. 1952. Cit. por ROSS, M.D. (1974).
- NAFTALAIN, L., HARRISON, M.S. y STEPHENS, A.: The character of the tectorial membrane. J. Laryng. Otol. 78: 1061-1078. 1964.
- NAKAI, Y.: An electron microscope study of the human fetus coclea. Pract. Oto. Rhino. Laryngol. 32: 257-267. 1970.
- NAKAI, Y. y HILDING, D.A.: Cochlear development. Acta Otolaryng. (Stockh.) 66: 369-385. 1968.
- NOMARSKI, G.: Du contrast de phase au contrast par interférences. Revue Hematol. 12: 439-456. 1957.

- PRENTISS, C.W. 1913. Cit. por ROSS, M.D. (1974).
- REISSNER, E.: The cochlea in the auditory organ of mammals and man. Arch. Anat. Physiol. 6: 420-427. 1854.
- RETZIUS, G. 1884. Cit. por ROSS, M.D.(1974).
- RHODE, W.S. y ROBLES, L.: Evidence from Mössbauer experiment for nonlinear vibration in the cochlea. J. Acoust. Soc. Amer. 55: 588-596. 1974.
- ROSS, M.D.: The tectorial membrane of the rat. Am. J. Anat. 139: 449-482. 1974.
- RUBEN, R.J.: Development of the inner ear of the mouse, a radioautographic study of terminal mitoses. Acta Otolaryngol. (Stockh.) Suppl. 220. 1967.
- SAITO, H., KOGAKU, R. y KIYOSHI, H.: SEM observations of the under surface of the tectorial membrane. J. Electron. Microscop. 28 (1): 36-42. 1979.
- SANCHEZ-FERNANDEZ, J.M. y RIVERA, J.M.: Consideraciones sobre la ultraestructura de la membrana basilar y de sus relaciones con la cortilínfa. Rev. Fac. Med. Sevilla 1 (1): 77-93. 1969.
- SANTOS-SACCHI, J.: Differential effects of primary fixation with glutaraldehyde and osmium upon the membranous systems of the strial and external sulcus cells. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 86 (1-2): 56-63. 1978.
- SHAMBAUGH, G. 1907. Cit. por ROSS, M.D. (1974).
- SIMS, G. 1974. Cit. por BENETT, H.S. et al. (1981).

- SLEPEKY, N., HAMERNIK, R. y HENDERSON, D.: The consistent occurrence of a striated organelle (Friedmann body) in the inner hair cells of the normal chinchilla. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 91: 189-198. 1981.
- SOUDJIN, E.R.: SEM study of the organ of Corti in normal and sound damaged guinea pigs. Ann. Otol. (St.Louis) 85. Suppl. 29. 1976.
- SOUDJIN, E.R., OOSTERBAAN, J.A. y MOLENAAR, I.: A new preparation method for the study of the organ of Corti in toto in guinea pigs with SEM. J. Microsc. 20 (3): 299-302. 1974.
- SPOENDLIN, H.H.: Ultrastructural features of the organ of Corti in normal and acoustically stimulated animals. - Ann.Otol. (St. Louis) 70: 657-677. 1961.
- SPOENDLIN, H.H. y BRUN, J.P.: The block surface technique for evaluation of cochlear pathology. Arch. Oto. Rhino.-Laryngol. 208 (2): 137-145. 1974.
- STEEL, K.: The proteins of normal and abnormal tectorial membrane. Acta Otolaryng. (Stockh.) 89 (1-2): 27-32. 1980.
- TACHIBANA, M., SAITO, H. y MACHINO, M.: Sulfated acid mucopolysaccharides in the tectorial membrane. Acta Otolaryng. (Stockh.) 76: 37-46. 1973.
- TAKASAKA, T. y SMITH, C.A.: The structure and innervation of the pigeons basilar papilla. J. Ultrastruct. Res. 35: 20-65. 1971.
- TANAKA, K., SAKAI, N., y TERAYAMA, Y.: Organ of Corti in the human fetus SEM and TEM studies. Ann.Otol. (St.Louis) 88: 749-758. 1979.

- TANAKA, K. et al.: Structure of the avian tectorial membrane. Ann. Otol. (St. Louis) 84 (3): 287-296. 1975.
- TASAKI, I., DAVIS, H. y ELDREDGED, D.H.: Exploration of cochlear potentials in the guinea pig with a microelectrode. J. Acoust. Soc. Amer. 26: 765-773. 1954.
- THALMANN, R., THALMANN, I. y COMEGYS, T.H.: Dissection and chemical analysis of the substructures of the organ of Corti. Laryngoscope 80: 1619-1645. 1970.
- THORN, L. et al.: Light and electron microscope studies of the greater epithelial ridge and it's relationship to the developing tectorial membrane in the cochlear duct of the guinea pig. Arch. Oto-Rhino.Laryng. 221 (2): 123-133. 1978.
- TONDORFF, J., DUVALL, A.J. y RENEAU, J.P.: Permeability of intracochlear membranes to various vital stains. Ann.Otol. (St. Louis) 71: 801-841. 1962.
- VAN DE WATER, T.R.: Effect of removal of the statoacoustic cell ganglion complex upon the growing otocyst. Ann.Otol. (St.Louis) 85 (6): Suppl. 33. 1976.
- VINNIKOV, Y.A. y TITOVA, L.K.: The organ of Corti, it's histophysiology and histochemistry. Consultants Bureau. -- New York. 1964.
- VON BEKESY, G.: Description of some mechanical properties of the organ of Corti. J.Acoust. Soc. Amer. 25: 775-785.- 1953.
- VON BEKESY, G.: The pattern of vibrations in the cochlea

- En: Experiments in hearing. Ed. G. Weber. Mec. Graw-Hill. New York. 1960.
- WALDEYER, W. 1873. Cit. por ROSS, M.D. (1974).
 - WATSON, R.T. y McLEOD, K.: Inhalation anesthesia with methoxyfluorane for guinea pigs ear surgery. Arch Otolaryngol. 104: 179-180. 1978.
 - WATSON, R.T., LESLIE, W.G. y JENNINGS, E.H.: Operating -- table for guinea pig ear surgery. Arch. Otolaryngol. 104 (3): 177-178. 1978.
 - WEIDAVER, H.: Histochemical changes in the inner ear of - the guinea pigs after exposure to carbon disulfure. Arch. Oto.Rhino.Laryngol. 207. (2): 462-463. 1974.
 - WEBER, E.G.: The tectorial membrane of the lizard ear. Species variations. J.Morph. 123: 355-372. 1967.
 - WISLOCKI, G.B. 1955. Cit. por ROSS, M.D. (1974).
 - WITTMACK, K. 1936. Cit. por ROSS, M.D. (1974).
 - ZWISLOCKI, J.J.: Tectorial membrane; a possible sharppe-- ning effect of the frequency analysis on the cochlea. Ac- ta Otolaryngol. (Stockh.) 87 (3-4): 381-387. 1979.
 - ZWISLOCKI, J.J.: Theory of cochlear mechanics. Hear.Res.- 2 (3-4): 171-182. 1980.
 - ZWISLOCKI, J.J. y KLETSKY, E.S.: Tectorial membrane; a po ssible effect of frequency analysis in the cochlea. Scien- ce 204. (4393): 639-641. 1979.