



**CENTRO DE NEUROCIENCIAS DE CUBA
GRUPO DE NEURO-ESTIMULACIÓN**

**PROCESAMIENTO TEMPORAL AUDITIVO: MADURACIÓN Y
DEPENDENCIA DE LA INTEGRIDAD DEL GANGLIO ESPIRAL
ANALIZADAS MEDIANTE POTENCIALES EVOCADOS EN
MODELOS ANIMALES**

**Tesis presentada en opción al grado científico de
Doctor en Ciencias de la Salud**

Pavel Prado Gutiérrez

La Habana

2013



**CENTRO DE NEUROCIENCIAS DE CUBA
GRUPO DE NEURO-ESTIMULACIÓN**

**PROCESAMIENTO TEMPORAL AUDITIVO: MADURACIÓN Y
DEPENDENCIA DE LA INTEGRIDAD DEL GANGLIO ESPIRAL
ANALIZADAS MEDIANTE POTENCIALES EVOCADOS EN
MODELOS ANIMALES**

**Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en
Ciencias de la Salud**

Autor: MSc.Pavel Prado Gutiérrez

**Tutores: Dr.C. Valia Rodríguez Rodríguez
Dr.C. Martha Pérez Alvarez**

**La Habana
2013**

A la memoria de Carmen y Gilberto. A Cuco, Vladimir, Cecilia y muy especialmente a Octavio. A quienes tengo la dicha de que me acompañen: mis padres Maritza y Andrés, mi hermano Yuri, mi esposa Mónica y Kayla, esa personita que ha cambiado completamente mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A Eduardo Martínez, quien ha contribuido de manera especial en la confección de este documento y a la publicación de los resultados, de quien he recibido todo el apoyo de la manera más desinteresada.

Al resto de los co-autores de los trabajos publicados: Alejandro Torres, Eleina Mijares, Guillermo Savio, John Heasman; Leonie Fewster y Mayelín Borrego. Muy especialmente a Colette McKay y Robert Shepherd por haberme dado la oportunidad de trabajar en uno de sus proyectos.

A Teresa Díez, mi mano derecha en el laboratorio y quien tuvo la responsabilidad del control de la natalidad de los animales en los experimentos de maduración. Al resto de mi equipo de trabajo: Daymara Mercerón y Lisbet Morgado. A María Cecilia Pérez, por brindarme el equipamiento de su laboratorio. A Anne Coco, Anthony Williams, Charles Miller, Elisa Borg, Frank Nielsen; Jennifer Hardman, María Clarke, Peter Seligman, Rodney Millard, Sheila Fidler, Stephanie Epp, Sue Peirce y Terry Ann Hinds, por sus consejos y contribuciones al estudio.

A los oponentes de la pre-defensa; William Almaguer y Emanuel Mora, quienes hicieron una labor encomiable, al punto de convertirse en una especie de tutores. A Emanuel, por el esfuerzo que conllevó la revisión estando en una etapa de trabajo realmente complicada. A William, por tener siempre un valioso consejo a mano, más allá de su papel como oponente. A los miembros del tribunal de la pre-defensa: Eduardo Aubert, Héctor Pérez Saad, Lourdes Díaz Comas, Nibaldo Hernández, Vivian Martín y Vivian Reigosa. Al resto de los miembros del consejo científico del Centro de Neurociencias de Cuba que, con sus señalamientos y consejos, ayudaron a mejorar la confección del documento: Chrislayne Rodríguez, David Higginson, Mitchell Valdés y Ramón González.

A mis tutoras Valia Rodríguez y Martha Pérez. A Valia por abrirme las puertas de su laboratorio y darme la libertad de trabajar en temas que me interesaban. Porque ha sido la persona que más ha luchado por mi superación. A Martha, por ser mi profesora en aspectos que van mucho más allá de las ciencias. Por darme la oportunidad de trabajar a su lado, siendo una de las mujeres a quien más respeto y admiro.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Las abreviaturas se encuentran organizadas por orden alfabético. No se incluyen aquellas que representen magnitudes en el sistema internacional de medidas.

DF: duración de la fase

DPN: días posteriores al nacimiento

EEG: electroencefalograma

Estímulo SAM: estímulo modulado sinusoidalmente en amplitud

FMO: frecuencia de modulación óptima

FTMT: función de transferencia de la modulación temporal

NC: nivel de corriente

NGE: neuronas del ganglio espiral

PAC-e: potencial de acción compuesto del nervio auditivo generado por estimulación eléctrica

PEAEE: potencial evocado auditivo de estado estable

PEATC: potencial evocado auditivo de tallo cerebral generado por estimulación acústica

PEATC-e: potencial evocado auditivo de tallo cerebral generado por estimulación eléctrica

pps: pulsos por segundo

RBA: ruido de banda ancha

RSM: respuesta de seguimiento de la modulación

SNC: sistema nervioso central

TEE: tiempo entre estímulos

TEF: tiempo entre fases

TRN: telemetría de respuesta neuronal

SÍNTESIS

La codificación que realiza el sistema auditivo de las modulaciones de amplitud de las señales acústicas es uno de los procesos fisiológicos fundamentales en el reconocimiento del lenguaje hablado. Aunque se ha sugerido que este tipo de procesamiento depende en gran medida del estado funcional de la vía sensorial, la maduración de la codificación de los aspectos temporales de los estímulos acústicos no ha sido descrita en profundidad. De igual manera, la relación existente entre la degeneración del sistema producida por la sordera sensorineural y la respuesta electrofisiológica generada por estímulos eléctricos intracocleares no ha sido descrita. El estudio de estos fenómenos, empleando potenciales evocados, permite caracterizar la respuesta del sistema auditivo de manera integral y la vez investigar posibles marcadores electrofisiológicos de patologías auditivas que afectan la comprensión del habla. Este tipo de estudios, además, contribuye al desarrollo de herramientas que aumentan la eficacia de los métodos que actualmente se utilizan en el ajuste de ayudas auditivas e implantes cocleares. Basado en estos antecedentes, la hipótesis del trabajo fue la siguiente: El efecto de los parámetros temporales de estimulación sobre las características de los potenciales evocados auditivos varía según el estadio de maduración de la vía auditiva y depende de la integridad del ganglio espiral. Empleando ratas como modelo experimental, se demuestra que el efecto de la profundidad de modulación de estímulos acústicos modulados en amplitud sobre la amplitud del potencial evocado auditivo de estado estable depende del estadio de maduración del sistema auditivo. Los cambios relacionados con la edad en el procesamiento de esta variable de estimulación ocurrieron de manera simultánea a la maduración de la codificación de la frecuencia de modulación de amplitud de los estímulos acústicos. Este último fenómeno fue evidente al analizar la frecuencia de modulación óptima y la amplitud de la respuesta de seguimiento de la modulación en la especie. Por último, en el trabajo se describe el efecto de las variables temporales de estímulos eléctricos intracocleares sobre la amplitud del potencial evocado auditivo de tallo cerebral y el potencial de acción compuesto del nervio auditivo en curieles sordos. Se demuestra que la capacidad para procesar los parámetros temporales de estimulación eléctrica intracoclear se reduce al disminuir la densidad neuronal del ganglio espiral. Se demuestra, además, que la respuesta de potenciales evocados en sujetos sordos, más que indicar procesos de codificación a nivel neuronal, reflejan el estado funcional de la vía auditiva. Basado en los supuestos teóricos para la obtención de potenciales evocados, se exponen los posibles mecanismos neuronales que sustentan estos resultados. Se discuten, además, las posibles implicaciones clínicas de los hallazgos descritos.

TABLA DE CONTENIDOS

	Pág.
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	4
SÍNTESIS	5
1. INTRODUCCIÓN	9
1.1. Hipótesis	12
1.2. Objetivos generales	12
1.3. Objetivos específicos	12
1.4. Tareas a cumplir según los objetivos específicos	13
1.5. Aportes científicos de la tesis	14
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	16
2.1. Aspectos morfológicos y funcionales del sistema auditivo de mamíferos	16
2.2. Codificación de la modulación en amplitud de los estímulos acústicos	19
2.3. Respuestas auditivas generadas por estimulación acústica y su uso en la práctica médica	23
2.4. Estudios de maduración del sistema auditivo mediante potenciales evocados	29
2.5. Principales cambios morfológicos inducidos por la sordera sensorineural	30
2.6. Implantes cocleares	31
2.7. Potenciales evocados auditivos generados por estímulos eléctricos intracocleares	34
2.8. Efecto de las variables de la estimulación eléctrica intracoclear sobre la percepción auditiva	36
2.9. Relación entre el estado funcional de la vía auditiva, la respuesta electrofisiológica y la respuesta psicofísica de individuos sordos	37
3. MATERIALES Y MÉTODOS	41
3.1. Maduración del Procesamiento Temporal Auditivo	41
3.1.1. <i>Sujetos experimentales</i>	41
3.1.2. <i>Estimulación acústica para la generación de PEAAE</i>	42
3.1.3. <i>Registro del PEAAE</i>	45
3.1.4. <i>Procesamiento y análisis estadístico del PEAAE</i>	45
3.1.5. <i>Estimulación acústica para la generación de la RSM</i>	47
3.1.6. <i>Registro de la RSM</i>	48
3.1.7. <i>Procesamiento y análisis estadístico de la RSM</i>	49
3.2. Procesamiento temporal auditivo en animales sordos	51

3.2.1. <i>Sujetos experimentales y modelo de sordera</i>	51
3.2.2. <i>Cirugía</i>	52
3.2.3. <i>Estimulación eléctrica empleada para generar PEATC-e</i>	53
3.2.4. <i>Registro de PEATC-e</i>	57
3.2.5. <i>Estimulación eléctrica empleada para generar PAC-e</i>	57
3.2.6. <i>Registro de PAC-e</i>	59
3.2.7. <i>Procesamiento y análisis estadístico del PEATC-e y el PAC-e</i>	60
3.2.8. <i>Histología</i>	62
4. RESULTADOS	64
4.1. PEAEE en animales adultos	64
4.2. Umrales de PEAEE en animales con diferentes estadios de maduración	68
4.3. PEAEE generados por estímulos supra-umrales en animales con diferentes estadios de maduración	73
4.4. RSM en animales adultos	78
4.5. Maduración de la RSM	81
4.6. Efecto de la duración de la fase sobre el PEATC-e de curieles sordos	85
4.7. Efecto del tiempo entre fases sobre el PEATC-e y el PAC-e de curieles sordos	89
4.8. Efecto del tiempo entre estímulos sobre el PEATC-e y el PAC-e de curieles sordos	94
4.9. Histología coclear	107
4.10. Relación entre la respuesta auditiva y la integridad del ganglio espiral	112
5. DISCUSIÓN	117
5.1. Maduración de la codificación de la profundidad de modulación de amplitud de estímulos acústicos	117
5.2. Maduración de la respuesta de seguimiento de la modulación en ratas	119
5.3. Efecto de los parámetros temporales de estímulos eléctricos intracocleares sobre la respuesta auditiva de curieles sordos	123
5.4. Relación entre la degeneración del ganglio espiral y la respuesta auditiva	127
5.5. Maduración del procesamiento temporal auditivo y su deterioro por la sordera, ¿eventos independientes?	133
6. CONCLUSIONES	136
7. RECOMENDACIONES	138
8. AUTOBIBLIOGRAFÍA	140
9. BIBLIOGRAFÍA	142
10. ANEXOS	161

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La mayoría de los sonidos en la naturaleza incluyen variaciones temporales de amplitud que modulan el contenido espectral de la señal. Las principales características de estas variaciones son la profundidad de modulación, la cual indica en cuanto cambia la amplitud de la señal modulada en relación a su amplitud no modulada, y la frecuencia de modulación. El procesamiento de dichos parámetros es fundamental para el reconocimiento del habla en humanos y de las vocalizaciones intra-específicas en otros grupos animales (Chandrasekaran *et al.* 2010; Christiansen y Greenberg 2007; Füllgrabe *et al.* 2009; Rosen *et al.* 2010; Singh y Theunissen 2003; Steinschneider *et al.* 2003; Young 2008), al ser parte de los mecanismos de discriminación y categorización de las señales que componen la comunicación oral (DiMattina y Wang 2006; Fishman y Steinschneider 2010; Miller y Hauser 2004; Shannon *et al.* 1995).

El análisis de la codificación de modulaciones de amplitud permite detectar y caracterizar deficiencias en el procesamiento temporal auditivo que potencialmente influyen en el desarrollo del lenguaje hablado (Benasich y Tallal 2002). Tradicionalmente, estos estudios han sido realizados con el empleo de pruebas psicofísicas (O'Connor *et al.* 2000, 2011), cuyos resultados son tomados como criterio de verdad en la audiología clínica. Sin embargo, determinados grupos poblacionales, como niños pequeños o pacientes con discapacidades cognitivas, no responden de manera precisa en los exámenes conductuales. En ellos, la utilización de mediciones objetivas de la respuesta auditiva a través de potenciales evocados es determinante en el estudio del procesamiento temporal.

Los potenciales evocados auditivos de estado estable (PEAEE) son respuestas eléctricas generadas por estímulos acústicos modulados sinusoidalmente en amplitud (estímulos SAM, del inglés *sinusoidally amplitude modulated*). Mediante su medición, pueden obtenerse funciones electrofisiológicas que brindan información relevante sobre el procesamiento temporal auditivo, específicamente sobre la codificación de la profundidad y la frecuencia de las modulaciones de amplitud (Riquelme *et al.* 2006; Sapsford *et al.* 1996). Además, el procesamiento de la frecuencia de modulación de estímulos acústicos puede estudiarse analizando las características de la respuesta de seguimiento de la modulación (RSM), un tipo de potencial evocado no estacionario que se genera por estímulos que presentan un barrido continuo de frecuencias de modulación (Artieda *et al.* 2004; Purcell *et al.* 2004).

Hasta la actualidad, la percepción de las modulaciones de amplitud ha sido estudiada principalmente en individuos adultos. Profundizar en el análisis de la maduración de los mecanismos neuronales en los cuales se basa este fenómeno permitiría obtener nuevos conocimientos acerca del desarrollo ontogénico de procesos fisiológicos determinantes en la comprensión del lenguaje hablado. Los resultados de estos

estudios tienen además implicaciones en la práctica médica, al ser la base de investigaciones enfocadas a determinar posibles marcadores electrofisiológicos de patologías relacionadas con la comprensión del habla que, como la dislexia, han sido asociadas con el deterioro del procesamiento temporal auditivo (Benasich y Tallal 2002; Walker *et al.* 2011). Por otra parte, se debe tener en cuenta que la mayoría de las variables en el ajuste de prótesis de ayuda auditiva, como la percepción del habla, pueden determinarse solamente de manera subjetiva. En este sentido, los estudios propuestos permitirían contar con mediciones objetivas de la capacidad de la vía sensorial para discriminar variaciones en los parámetros temporales de estimulación. Esto posibilitaría ajustar y monitorear el funcionamiento de las ayudas auditivas con mayor eficiencia, sobre todo en pacientes en los que las pruebas conductuales no proporcionan resultados completamente confiables.

El procesamiento temporal auditivo, además del estadio de maduración del sistema, depende del estado funcional de la vía sensorial. La sensibilidad a las modulaciones de amplitud disminuye durante el envejecimiento (He *et al.* 2008; Parthasarathy y Bartlett 2011; Schatteman *et al.* 2008). Además, la capacidad para procesar modulaciones de amplitud se encuentra deteriorada en pacientes con neuropatías, esclerosis múltiple y sordera sensorineural (Buss *et al.* 2004; Grose *et al.* 2001; Hopkins *et al.* 2008; Lorenzi *et al.* 2006; Papakonstantinou *et al.* 2011; Strelcyk y Dau 2009; Zeng *et al.* 2001).

La sordera sensorineural se produce por la muerte de las células ciliadas de la cóclea. En pacientes con este tipo de pérdida auditiva, la recuperación parcial de la audición se logra con el uso de implantes cocleares. Estos dispositivos sustituyen los procesos de transducción del oído y estimulan directamente el nervio auditivo con trenes de pulsos eléctricos que contienen información sobre la intensidad, composición espectral y estructura temporal de los estímulos acústicos.

En pacientes implantados, la capacidad para procesar la información espectral de los sonidos se encuentra muy reducida debido a que la estimulación eléctrica se realiza sobre un número muy limitado de regiones cocleares (Seligman y Shepherd 2004). En ellos, la comprensión del habla depende casi exclusivamente del procesamiento temporal auditivo, específicamente de la codificación que realiza el sistema de las características temporales de los estímulos eléctricos bifásicos empleados en este tipo de dispositivo: duración de las fases (DF), tiempo entre fases (TEF) y el tiempo entre estímulos (Colletti y Shannon 2005; Fu 2002).

La capacidad para procesar el patrón temporal de estimulación eléctrica intracoclear tiende a disminuir con la duración de la sordera. Esta afirmación se basa en el comportamiento de la respuesta psicofísica y de potenciales evocados en pacientes implantados, frente a pulsos de corriente con diferentes DF y TEF

(McKay y McDermott 1999; Miller *et al.* 1995). Se apoya, además, en hallazgos que demuestran que la influencia de la respuesta auditiva generada por un determinado estímulo eléctrico sobre el potencial evocado producido por un estímulo subsiguiente, disminuye a medida que aumenta la duración de la pérdida sensorial (Botros y Psarros 2010).

El deterioro del procesamiento temporal pudiese deberse, al menos en parte, a los cambios degenerativos que tienen lugar en el sistema auditivo periférico como consecuencia de la sordera. Ellos incluyen la pérdida de los procesos dendríticos, la desmielinización y finalmente la muerte de las neuronas del ganglio espiral (NGE), población neuronal cuyos axones forman el nervio auditivo (Hardie y Shepherd 1999; McFadden *et al.* 2002, 2004; Shepherd y Javel 1997). De hecho, generalmente se asume que la integridad del ganglio espiral juega un papel crítico en el reconocimiento del lenguaje hablado (Khan *et al.* 2005). Sin embargo, hasta el momento no existen evidencias claras de que el grado de degeneración del ganglio pueda ser utilizado para predecir el procesamiento temporal auditivo, y por tanto el reconocimiento del habla de sujetos implantados (Fayad y Linthicum 2006; Khan *et al.* 2005).

El análisis de la relación existente entre la densidad de NGE y el efecto de los parámetros temporales de los estímulos eléctricos sobre los potenciales evocados auditivos permite profundizar en los mecanismos fisiológicos involucrados en la codificación del patrón de estimulación eléctrica intracoclear, específicamente aquellos relacionados con el tamaño de la población neuronal que se encuentra respondiendo. Los resultados de estos estudios pudiesen ser la base para desarrollar técnicas no invasivas que permitan estimar la degeneración del ganglio en pacientes implantados y, en consecuencia, aplicar estrategias de estimulación que posibiliten obtener un mayor beneficio del implante. Además, permitiría incluir mediciones objetivas del procesamiento temporal auditivo en los métodos de ajuste que se emplean en la actualidad, disminuyendo los errores que se cometen durante este procedimiento en pacientes que no responden consistentemente en pruebas conductuales.

Finalmente, es necesario mencionar que la maduración del sistema auditivo y la degeneración de esta vía sensorial por la aparición de sordera, aunque pueden coexistir e inter-relacionarse, básicamente son fenómenos independientes. Debido a que son dos de los procesos fisiológicos con mayor influencia sobre el funcionamiento del sistema auditivo, pueden emplearse como condiciones experimentales diferentes para estudiar el procesamiento temporal de esta vía sensorial. Al realizar este tipo de trabajo con potenciales evocados se obtiene información valiosa sobre la dependencia que tiene el procesamiento temporal auditivo del grado de maduración y del tamaño de la población neuronal involucrada en la respuesta. Estos aspectos son de gran importancia para la comprensión del funcionamiento básico del

sistema y completan estudios realizados por otros autores en diferentes etapas del ciclo de vida, como la adultez y el envejecimiento (He *et al.* 2008; Parthasarathy y Bartlett 2011; Schatteman *et al.* 2008). Basados en estos antecedentes, se propuso la siguiente hipótesis:

1.1. Hipótesis

El efecto de los parámetros temporales de estimulación sobre las características de los potenciales evocados auditivos varía según el estadio de maduración de la vía auditiva y depende de la integridad del ganglio espiral.

1.2. Objetivos generales

1. Describir, con el empleo de potenciales evocados auditivos, la maduración de la codificación de los parámetros temporales de estímulos acústicos de amplitud modulada, en ratas con audición normal.
2. Caracterizar la relación existente entre el efecto de las variables temporales de estímulos eléctricos intracocleares sobre los potenciales evocados auditivos de curieles sordos y la integridad del ganglio espiral.

1.3. Objetivos específicos

1. Describir el efecto de la profundidad de modulación de estímulos acústicos modulados sinusoidalmente en amplitud (estímulos SAM) sobre la amplitud del potencial evocado auditivo de estado estable (PEAEE) en ratas, desde el momento de aparición de la audición hasta la adultez.
2. Describir la respuesta de seguimiento de la modulación (RSM) en ratas, desde el momento de aparición de la audición hasta la adultez, empleando estímulos modulados en amplitud en la gama de frecuencias de modulación de 90 Hz a 190 Hz.
3. Caracterizar el efecto de las variables temporales de estímulos eléctricos intracocleares sobre la amplitud del potencial evocado auditivo de tallo cerebral generado por estimulación eléctrica (PEATC-e) y el potencial de acción compuesto del nervio auditivo generado por estimulación eléctrica (PAC-e), en curieles sordos con diferentes duraciones de sordera.
4. Analizar si el efecto de las variables temporales de estímulos eléctricos intracocleares sobre la amplitud del PEATC-e y el PEAC-e de curieles sordos está correlacionado con la degeneración del ganglio espiral.

1.4. Tareas a cumplir según los objetivos específicos

Asociadas al objetivo 1

1. Determinar la relación entre la profundidad de modulación de estímulos SAM y el umbral del PEAAE en ratas con diferentes estadios de maduración.
2. Determinar la relación entre la profundidad de modulación de estímulos SAM de diferentes intensidades o diferentes frecuencias y la amplitud del PEAAE en ratas con diferentes estadios de maduración.

Asociadas al objetivo 2

1. Caracterizar el efecto de la composición espectral de estímulos acústicos modulados en amplitud sobre la amplitud y la fase de la RSM, en ratas adultas con audición normal.
2. Describir la relación existente entre la intensidad de estímulos acústicos modulados en amplitud y la amplitud de la RSM en ratas adultas con audición normal.
3. Caracterizar la RSM en ratas con diferentes estadios de maduración.

Asociadas al objetivo 3

1. Describir la función intensidad/respuesta del PEATC-e en curieles sordos, cuando los potenciales evocados son generados por estímulos eléctricos intracocleares de diferente duración.
2. Caracterizar la función intensidad/respuesta del PEATC-e y del PAC-e en curieles sordos, cuando los potenciales evocados son generados por estímulos eléctricos intracocleares de diferente tiempo entre fases.
3. Caracterizar la relación entre el tiempo entre estímulos y la amplitud del PEATC-e y del PEAC-e en curieles sordos, cuando las respuestas auditivas son generadas por estímulos eléctricos intracocleares de diferente intensidad.

Asociadas al objetivo 4

1. Describir el curso temporal de la degeneración del ganglio espiral de curieles como consecuencia de la sordera sensorineural.
2. Determinar si el efecto de la duración de las fases de pulsos de corriente bifásicos intracocleares sobre la amplitud del PEATC-e de curieles sordos está correlacionado con la degeneración del ganglio espiral.
3. Determinar si el efecto del tiempo entre fases y el tiempo entre estímulos de pulsos de corriente bifásicos intracocleares sobre la amplitud del PEATC-e y el PEAC-e de curieles sordos está correlacionado con la degeneración del ganglio espiral.

Aportes científicos de la tesis

Los temas abordados en este documento, la maduración de la respuesta auditiva y la relación entre la respuesta electrofisiológica y el estado funcional de este sistema sensorial, son aspectos de gran interés en la audiolología experimental y, en general, en las neurociencias. Con anterioridad a la publicación de estos resultados, los estudios acerca de la maduración de los potenciales evocados auditivos se habían enfocado casi exclusivamente en la codificación de las características espectrales del estímulo. En el documento se describe, por primera vez, el curso temporal de la maduración de la codificación de la profundidad de modulación de estímulos SAM, utilizando PEAAE. Además, se describe el efecto de la intensidad y la composición espectral del estímulo sobre la RSM, relaciones que no habían sido analizadas con anterioridad. En el trabajo se caracteriza el curso temporal de la maduración de la amplitud de la RSM y se plantean los posibles mecanismos neuronales involucrados en este proceso fisiológico, aspectos que no aparecían en la literatura. Por otra parte, en el documento se describe el efecto de los parámetros temporales de estímulos eléctricos intracocleares sobre la amplitud del PEATC-e y el PAC-e en individuos sordos, temas que no habían sido abordados previamente por la comunidad científica. Los resultados descritos en la tesis demuestran que la capacidad para procesar las características temporales de la estimulación eléctrica intracoclear disminuye con la degeneración del ganglio espiral, resultado nuevo para la ciencia. En el documento, además, se proponen los posibles mecanismos neuronales que sustentan los hallazgos encontrados. Los resultados descritos constituyen la base de investigaciones enfocadas a determinar posibles marcadores electrofisiológicos de patologías relacionadas con el procesamiento temporal auditivo. Son, además, el sustento teórico para desarrollar técnicas no invasivas que permitan estimar la degeneración del ganglio espiral en pacientes sordos y aplicar estrategias de estimulación intracoclear que posibiliten obtener un mayor beneficio del implante coclear. Por último, los resultados descritos demuestran la necesidad de incluir mediciones objetivas del procesamiento temporal auditivo en los métodos de ajuste de ayudas auditivas e implantes cocleares, beneficiando a grupos poblacionales que no responden de manera confiable en las pruebas conductuales implementadas en la actualidad. El contenido de la tesis ha sido publicado, o está en proceso de publicación, en revistas de alto impacto (*Int J Audiol*, *Hear Res* y *JARO*). Uno de los trabajos de la serie ha sido citado 35 veces en los últimos cinco años. Las citas aparecen en revistas de la *IEEE*, *JARO*, *Hear Res*, *Brain Res*, *Audiol Neurotol*, *J Neurophysiol*, *J Acoust Soc Am*, *Ear Hear*, *Exp Neurol*, entre otras publicaciones, lo cual demuestra la repercusión los resultados obtenidos.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Aspectos morfológicos y funcionales del sistema auditivo de mamíferos

El órgano receptor auditivo de mamíferos está formado por tres regiones fundamentales: externa, media e interna. El oído externo está compuesto por el pabellón auricular y el canal auditivo. Sus funciones primarias son transmitir de manera eficiente los estímulos acústicos hacia el oído medio y la protección de esta región del órgano receptor. Por su parte, las principales estructuras del oído medio involucradas en la transducción de las señales acústicas son la membrana timpánica y un sistema de tres huesecillos localizados en el interior de una cavidad ósea en el hueso temporal. Este sistema de huesos acopla las vibraciones de la membrana timpánica con las del líquido que llena la cavidad del oído interno, de manera que disminuye la pérdida de energía dada por el paso de la onda mecánica desde el aire a un medio acuoso, como la linfa del oído interno (Shepherd 2004).

El oído interno se encuentra formado por el laberinto vestibular, uno de los órganos involucrados en el control del equilibrio, y la cóclea, que tiene función auditiva (Fig. 1 A). La cóclea es una estructura con forma de espiral que se localiza en el interior del hueso temporal. Se divide anatómicamente en tres compartimentos: las escalas timpánica, media y vestibular, las cuales se encuentran separados por estructuras membranosas (Fig. 1 B). Las escalas vestibular y timpánica se encuentran llenos de un fluido con composición electrolítica similar a la del líquido cefalorraquídeo, denominado perilinfa. La escala media contiene endolinfa, un fluido con alta concentración de potasio y baja concentración de sodio (Kandell *et al.* 2000).

Las células transductoras de la cóclea son las células ciliadas. Ellas se localizan en el Órgano de Corti, una estructura compleja que se sitúa sobre la membrana basilar (Figura 1 C). Existen dos tipos de células ciliadas: externas e internas. El primero de estos grupos, de alrededor de 12 000 unidades en el humano, se encuentra formando por tres, y en ocasiones cuatro, hileras de células. Las células ciliadas internas forman una única hilera de 3 500 células aproximadamente.

Las células ciliadas internas son excitadas por las oscilaciones de la membrana basilar inducidas por el movimiento del fluido de las cavidades del oído interno. Su actividad provoca la generación de potenciales de acción en las neuronas del ganglio espiral (descritas en los párrafos siguientes), teniendo un papel decisivo en la transducción y procesamiento de la información contenida en el estímulo acústico. Por su parte, los cambios de potencial de membrana de las células ciliadas externas pueden producirse tanto por las oscilaciones de la

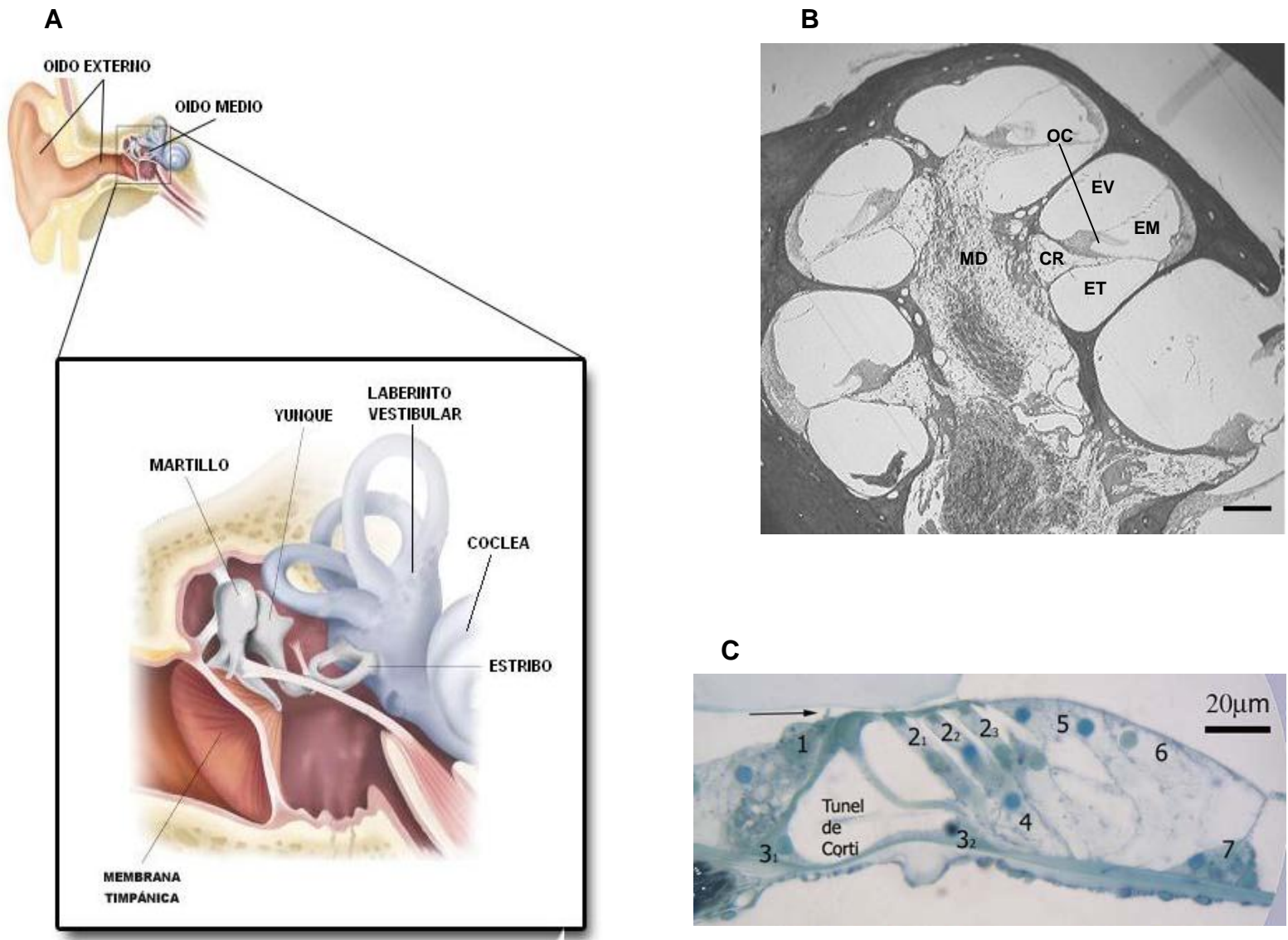


Fig. 1: Características morfológicas del órgano receptor auditivo de mamíferos.

- A) Representación gráfica de las diferentes regiones del órgano. Se señalan algunas de sus principales estructuras (modificado de Shepherd 2004, con permiso del autor).
- B) Fotografía tomada al microscopio óptico de un corte longitudinal de una cóclea de ratas. La barra en la foto representa una distancia de 200 μm . EV- escala vestibular, EM- escala media, ET- escala timpánica, OC- órgano de Corti, CR- canal de Rosenthal, MD- modiolus (tomado de Rodríguez *et al.* 2008, con permiso del autor)
- C) Fotografía tomada al microscopio óptico del órgano de Corti de ratas. Se representan las células ciliadas internas (1) y externas (2). Los sub-índices en estas últimas indican el número de las filas de células. Los estereocilios de la célula ciliada interna se señala con una flecha. Se representan, además, otros grupos celulares: células pilares (3₁ y 3₂), célula de Dieter (4), células de Hensen (5), células de Claudius (6) y células de Boetcher (7) (tomado de Rodríguez *et al.* 2008, con permiso del autor).

membrana basilar como por la actividad de sistemas neuronales eferentes. Ambos procesos provocan variaciones en la longitud de la célula, aumentando la sensibilidad y la selectividad a frecuencias de las diferentes regiones cocleares (Shepherd 2004).

A lo largo de la cóclea existe un gradiente de selectividad a frecuencias, de manera que la región basal del Órgano de Corti responde a los estímulos de mayor frecuencia en la gama de audición, mientras la región apical lo hace frente a los de menor frecuencia. Esta selectividad se basa en las características mecánicas de la membrana basilar y en las diferencias en las propiedades eléctricas de las células ciliadas a lo largo de la cóclea (Kandell *et al.* 2000).

La gama de frecuencias audibles varía entre las diferentes especies de mamíferos. En humanos, esta gama se extiende desde 20 Hz a 20 kHz, siendo la región más sensible la comprendida entre 500 Hz y 5 kHz. En roedores, las curvas de sensibilidad espectral se encuentran desplazadas hacia las altas frecuencias en relación al humano. La gama de audibilidad, en las especies utilizadas en este trabajo, va de 200 Hz a 76 kHz, en el caso de ratas, y de 54 Hz a 50 kHz en curieles. Los picos de sensibilidad se localizan en 8 kHz y 32 kHz en ratas. En curieles, existe solamente un pico de sensibilidad, localizado aproximadamente en 10 kHz (Heffner *et al.* 1994).

En la cóclea humana existen alrededor de 30 000 neuronas que inervan el órgano de Corti. El soma de estas neuronas se localiza en el canal de Rosenthal, formando el ganglio espiral (Fig. 1 B). Presentan procesos dendríticos que se proyectan hacia el Órgano de Corti y axones que hacen sinapsis en el sistema nervioso central (SNC) (Nadol 1997).

El crecimiento dendrítico de las NGE y la formación de los correspondientes tractos radiales ocurre con anterioridad a la completa diferenciación de la cóclea. Durante el desarrollo embrionario, y antes de la diferenciación de las células ciliadas, el órgano de Corti en formación secreta factores neurotróficos que inducen el crecimiento ordenado de las terminaciones dendríticas (Pan *et al.* 2011; Tessarollo *et al.* 2004; Yang *et al.* 2011). Esta inervación cambia en el tiempo, de manera que en estadios post-natales existen dos tipos de NGE (Nayagam *et al.* 2011). El más abundante, denominado tipo I, incluye del 85 al 95 % del total de unidades del ganglio. Presentan cuerpos celulares grandes, con núcleo redondo y nucleolo prominente. Poseen un patrón de inervación divergente, donde cada una hace sinapsis con una sola célula ciliada interna, mientras que la información transducida por cada célula ciliada es llevada al SNC por 10 NGE tipo I, aproximadamente. Por su parte, las NGE tipo II hacen sinapsis con las células ciliadas externas. Presentan núcleo de forma lobulada y con nucleolo muy pequeño. Sus axones carecen de mielina.

Además, poseen un patrón de inervación complejo que incluye la presencia de sinapsis recíprocas con las células ciliadas externas (Thiers *et al.* 2008; Weisz *et al.* 2009).

Las NGE tipo I llevan la información sensorial hasta el núcleo coclear, estructura localizada en el bulbo raquídeo y que constituye la primera estación de relevo de la vía auditiva. Sobre la base de su arquitectura celular, este núcleo se divide en tres regiones con alto grado de organización tonotópica: anteroventral, posteroventral y dorsal (Ryugo 2008). De cada una de ellas parten tractos que inervan al colículo inferior, el lemnisco lateral y el complejo olivar superior contralaterales, así como al complejo olivar superior ipsilateral. Esta última estructura es la primera en procesar información binaural, importante para la localización de la fuente del sonido. Muchas de sus neuronas ascienden por el lemnisco lateral hasta inervar el colículo inferior ipsilateral (Saldañas y Merchán 1998; Smith *et al.* 2005).

El colículo inferior es la principal fuente de proyecciones ascendentes al tálamo auditivo. Su región central exhibe una clara organización tonotópica a lo largo del eje dorso-ventral, en la cual las neuronas localizadas hacia la región dorsal son selectivas a estímulos de baja frecuencia en la gama de sensibilidad espectral. Mientras, las altas frecuencias son codificadas en las capas neuronales ventrales. Aunque en este documento no se profundizará en el resto de las estructuras de la vía auditiva, es necesario señalar que a partir del colículo inferior el procesamiento auditivo continúa en el núcleo geniculado medial y la corteza auditiva, la cual se encuentra localizada en la superficie dorsal del lóbulo temporal (Hudspeth 2000).

2.2. Codificación de la modulación en amplitud de los estímulos acústicos

La codificación de las características temporales de los estímulos acústicos se denomina procesamiento temporal auditivo (Frisina 2001). En las últimas décadas han sido numerosos los estudios realizados sobre este tema (por ejemplo: Brugge *et al.* 2009; Joris *et al.* 2004; Zheng y Escabi 2008). El presente epígrafe solo aborda una pequeña parte de esos trabajos, específicamente aquellos relacionados con la codificación de las modulaciones de amplitud que se realiza en estructuras subcorticales.

Los parámetros principales que describen las variaciones de amplitud de las señales acústicas son la frecuencia de modulación y la profundidad de modulación. El primero de ellos representa el número de ciclos de modulación que tienen lugar en un segundo. Matemáticamente se expresa como el inverso del tiempo que media entre dos máximos locales de amplitud consecutivos (Fig. 2 A). Por su parte, la profundidad de modulación indica en cuanto varía la amplitud de la señal

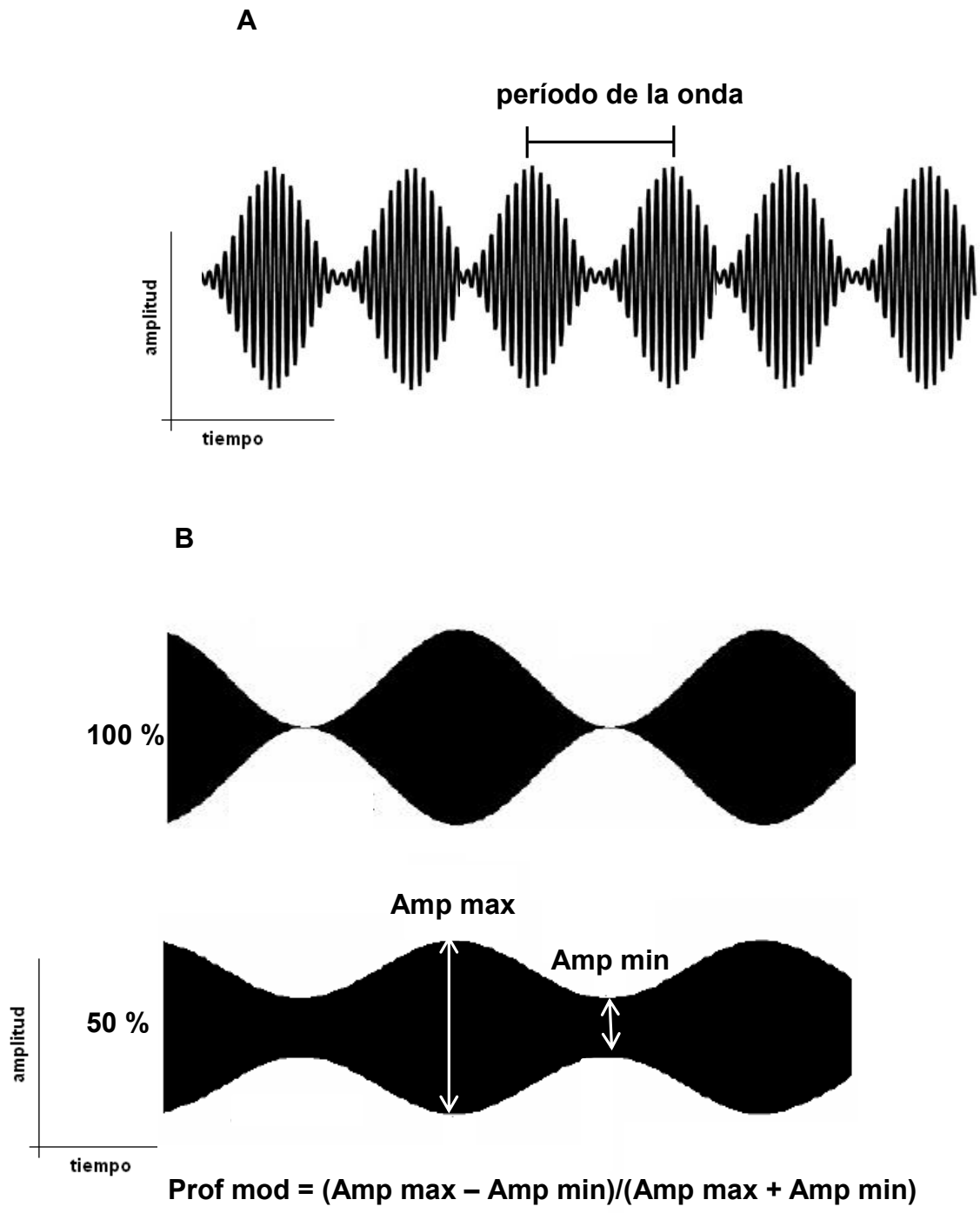


Fig. 2: Estímulos acústicos modulados en amplitud.

- A) Onda acústica de frecuencia arbitraria en la que se muestra el periodo de la modulación de amplitud del estímulo, correspondiente al inverso de la frecuencia de modulación.
- B) Ejemplos de estímulos con diferente profundidad de modulación de amplitud. En ambos casos el estímulo modulado es ruido blanco. En el estímulo con 50 % de modulación se representan las amplitudes máxima y mínima de la onda.

a lo largo de un ciclo de modulación. Se expresa como el porcentaje de la diferencia entre las amplitudes máxima y mínima del estímulo acústico respecto a la suma de dichas amplitudes (Picton *et al.* 2003) (Fig. 2 B).

La codificación de modulaciones de amplitud de las señales acústicas se ha estudiado a nivel electrofisiológico y psicofísico. Conductualmente se analiza la mínima profundidad de modulación que el sujeto es capaz de detectar cuando el estímulo se modula a diferentes frecuencias (O'Connor *et al.* 2000, 2011). A nivel electrofisiológico, se estudia tanto el umbral de detección de modulaciones como la amplitud de la respuesta a una determinada frecuencia de modulación. A la relación existente entre la respuesta del individuo, ya sea electrofisiológica o conductual, y la frecuencia de modulación de amplitud del sonido se le denomina función de transferencia de la modulación temporal (FTMT).

Aunque la sensibilidad a las modulaciones de amplitud varía entre las diferentes especies de mamíferos, la FTMT psicofísica tiene el mismo comportamiento general (Fig. 3). Es decir, independientemente de la especie, el umbral de detección de modulaciones aumenta exponencialmente al incrementarse la frecuencia de modulación del estímulo (Kelly *et al.* 2006).

La codificación de la modulación de amplitud varía a lo largo de la vía auditiva. En el nervio auditivo, este procesamiento está representado en el grado de sincronía de la respuesta neuronal a las oscilaciones de amplitud del estímulo acústico, sin que esto signifique que las variaciones en las modulaciones de amplitud produzcan cambios en la frecuencia de descarga de potenciales de acción (Frisina 2001; Joris *et al.* 2004).

En el núcleo coclear, la codificación de modulaciones de amplitud es similar a la del nervio auditivo. La FTMT tiene generalmente características pasa-bajo. Sin embargo, en algunos tipos de neuronas, la sensibilidad a la modulación es mayor en una determinada gama de frecuencias y disminuye por encima y por debajo de esta (Joris *et al.* 2004). Igual comportamiento pasa-banda ha sido encontrado en neuronas del núcleo ventral del lemnisco lateral (Batra 2006). La frecuencia de modulación de amplitud que produce la respuesta neuronal de mayor magnitud se denomina frecuencia de modulación óptima (FMO) (Frisina 2001).

Las características pasa-banda de la FTMT están mucho mejor establecidas en el colículo inferior, especialmente en su región central. En esta estructura, la generación de potenciales de acción no se sincroniza con la frecuencia de modulación del estímulo. La codificación de modulaciones se basa entonces en cambios en la frecuencia de descarga en dependencia de las características

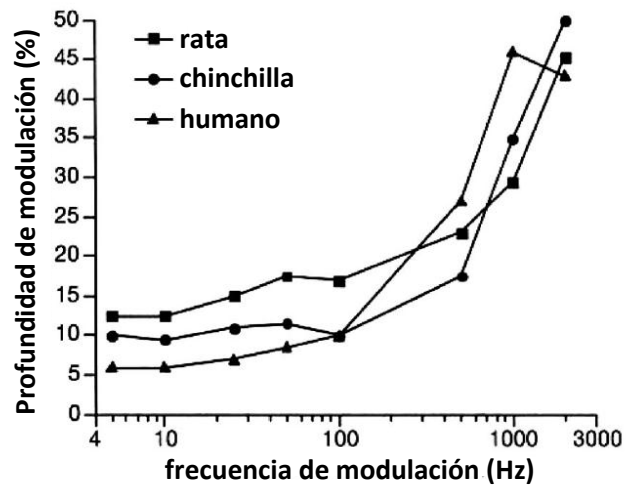


Fig. 3: Funciones de transferencia de la modulación temporal obtenidas en diferentes especies de mamíferos. En todos los casos, los individuos fueron estimulados con ruido blanco modulado en amplitud a diferentes frecuencias (modificado de Kelly *et al.* 2006).

de las variaciones de amplitud de la estimulación (Frisina 2001; Joris *et al.* 2004).

Típicamente, las neuronas coliculares presentan solamente una FMO (Krisnha y Semple 2000; Langner y Shreiner 1988; Rees y Langner 2005). Sin embargo, en algunos casos la FTMT también puede estar compuesta por varias bandas de frecuencias de modulación a las cuales se incrementa la generación de potenciales de acción (áreas de potenciación). Estas se encuentran separadas por una región de frecuencias a la cual la respuesta neuronal disminuye por debajo de los niveles basales de actividad (áreas de inhibición) (Krebs *et al.* 2008; Krisnha y Semple 2000; Zhang y Kelly 2003). La existencia de estas áreas se debe a las características de las entradas excitatorias e inhibitorias de cada grupo celular, las cuales varían en amplitud y aspectos temporales (Geis y Borst 2009; Tan *et al.* 2007; Xie *et al.* 2007).

Además, en el núcleo central del colículo inferior, la codificación de modulaciones de amplitud está organizada topográficamente (Rodríguez *et al.* 2010; Schreiner y Langner 1988). En cada lámina horizontal selectiva a una frecuencia de estimulación determinada, existen grupos de neuronas formando anillos irregulares concéntricos, sintonizados a distintas FMO. Las unidades con FMO más altas se encuentran agrupadas hacia la región medial de la lámina. Mientras, las neuronas que presentan menores FMO se localizan en la periferia (Schreiner y Langner 1988).

La mayoría de los sonidos en la naturaleza se encuentran modulados en amplitud solo de manera parcial. Esta modulación disminuye además si las señales son emitidas en ambientes ruidosos. Sin embargo, la mayoría de los estudios electrofisiológicos han empleado estímulos con 100 % de profundidad de modulación (Joris *et al.* 2004), enfocándose más en la codificación de la frecuencia a la cual se modula el sonido que en la propia modulación.

Además, teniendo en cuenta que la sincronía y la frecuencia de descarga de potenciales de acción son características no necesariamente complementarias y que pueden dar mapas de selectividad a modulaciones completamente diferentes (Zheng y Escabi 2008), los resultados electrofisiológicos con que se cuenta no han ofrecido información concluyente acerca del procesamiento de la profundidad de modulación de amplitud. En algunas de las investigaciones se ha observado que el incremento de la profundidad de modulación aumenta la sincronía de la respuesta de las neuronas auditivas pero no la frecuencia de descarga de potenciales de acción (Bieser y Müller-Preuss 1996; Müller-Preuss *et al.* 1994). En otros casos, se han obtenido incrementos de ambas variables de respuesta (Malone *et al.* 2010; Middlebrooks 2008). En el núcleo coclear y el núcleo ventral del lemnisco lateral, la frecuencia de potenciales de acción

generalmente aumenta de forma monótona al incrementarse la profundidad de modulación de amplitud (Batra 2006; Krishna y Semple 2000; Zhang y Kelly 2006). Este comportamiento también ha sido observado en el núcleo central del colículo inferior, aunque en esta estructura la frecuencia de descarga en las áreas de potenciación varía de forma contraria a la actividad de las regiones inhibitorias (Krishna y Semple 2000; Nelson y Carney 2007).

La gama de frecuencias de modulación de amplitud a la cual las neuronas son sensibles es otra de las características que varía a medida que se asciende en la vía. Las neuronas del nervio auditivo discriminan frecuencias de modulación de hasta 500-800 Hz. A partir de este valor, la sincronía de su respuesta disminuye significativamente. La gama de frecuencias de modulación a la cual las neuronas son sensibles disminuye, de manera continua, en el núcleo coclear y en el complejo olivar superior. Las FMO de la primera de estas estructuras oscilan entre 350 Hz y 450 Hz. Mientras, la máxima FMO de las neuronas del núcleo ventral del lemnisco lateral es de 283 Hz (Batra 2006). En el colículo inferior, este rango de FMO varía entre 30 Hz y 100 Hz (Hernández *et al.* 2005; Krishna y Semple 2000; Langer y Schreiner 1988).

2.3. Respuestas auditivas generadas por estimulación acústica y su uso en la práctica médica

Las pruebas audiológicas más extendidas determinan la audición umbral y la gama dinámica de la respuesta auditiva de manera conductual. Sin embargo, en niños pequeños, personas con déficit cognitivo y pacientes con pérdidas sensoriales, las pruebas audiométricas tradicionales no brindan información confiable (Dimitrijevic *et al.* 2002, Swanepoel *et al.* 2004). En ellos, el estado funcional de la vía auditiva se analiza de forma objetiva, mediante la obtención de potenciales evocados. Las formas de onda de estos registros electrofisiológicos, más que la generación de potenciales de acción, representan la suma de la actividad post-sináptica de los grupos neuronales que responden a la estimulación. (Nunez 1995; van den Broek *et al.* 1998). A continuación se describirán las características generales de algunos de los potenciales evocados auditivos con mayor importancia en la práctica médica.

El potencial evocado auditivo de tallo cerebral (PEATC) fue descrito estudiando la respuesta de humanos a chasquidos (estímulos acústicos de muy corta duración con un contenido espectral amplio, generalmente entre 20 Hz y 20 kHz) (Jewett 1970). Este tipo de estímulo garantiza la activación de una población relativamente grande de neuronas. Además, su corta duración (100 μ s aproximadamente) y pequeño tiempo de ascenso hasta la intensidad máxima hace que la sincronía de la respuesta neuronal sea elevada. Debido a esto, el PEATC generado por chasquidos

constituye en la actualidad la principal prueba electrofisiológica utilizada en la audiología médica. Su uso más frecuente es la obtención de los umbrales de audición del sujeto para, a partir de ellos, estimar los umbrales psicofísicos. El hecho de estimular simultáneamente regiones cocleares con diferente selectividad a frecuencias constituye la principal desventaja de este tipo de registro. Como alternativa, el PEATC puede ser generado por tonos breves o trenes de tonos de corta duración (Picton *et al.* 1994).

El PEATC se encuentra formado por una serie de picos, cuyo número y latencia varían en dependencia de la especie. Un ejemplo de este tipo de respuesta, obtenido en ratas, se representa en la figura 4 A. La aparición de cada uno de los picos del PEATC se debe a la actividad eléctrica de estructuras auditivas específicas (Lev y Sohmer 1972). Experimentos realizados en gatos indican que el primero de ellos se debe a la actividad del nervio auditivo que inerva el oído estimulado, el pico II a la del núcleo coclear ipsilateral y el III a la de los núcleos olivares ipsilateral y contralateral al oído estimulado. El pico IV se produce por la respuesta de neuronas que se cruzan en el cuerpo trapezoidal pero que no hacen sinapsis en la oliva superior, sino en el núcleo ventral del lemnisco lateral. Mientras, el pico V se debe a la generación de potenciales post-sinápticos en las neuronas del colículo inferior (Buchwald 1983).

Otra de las respuestas evocadas con importancia clínica es el potencial evocado auditivo de estado estable (PEAEE). Este tipo respuesta se origina por la estimulación repetitiva del sistema auditivo, produciendo variaciones oscilatorias de la actividad eléctrica cerebral (Stapells *et al.* 1984). Sus principales variables son la amplitud y la fase de la oscilación, las cuales se mantienen constantes durante el periodo de estimulación (Regan 1989).

El PEAEE fue inicialmente descrito en respuesta a trenes de chasquidos (Galambos *et al.* 1981). Posteriormente fue estudiado frente a tonos continuos modulados sinusoidalmente en amplitud (Picton *et al.* 1987). Este tipo de estímulo es el más utilizado en la actualidad para su generación. Tradicionalmente, se ha planteado que el PEAEE se origina por la superposición de las diferentes ondas del PEATC (Galambos *et al.* 1981, John y Picton 2000; Lins *et al.* 1995). Su naturaleza periódica se debe a que la respuesta neuronal se sincroniza con la frecuencia de modulación de los estímulos (Picton *et al.* 1987). Para su análisis, el PEAEE es generalmente transformado al dominio de la frecuencia mediante la transformada rápida de Fourier, observándose en el espectro como picos de amplitud en la frecuencia a la que la amplitud del estímulo fue modulada y en sus correspondientes armónicos (John y Picton 2000; Picton *et al.* 2002) (Fig. 4 B).

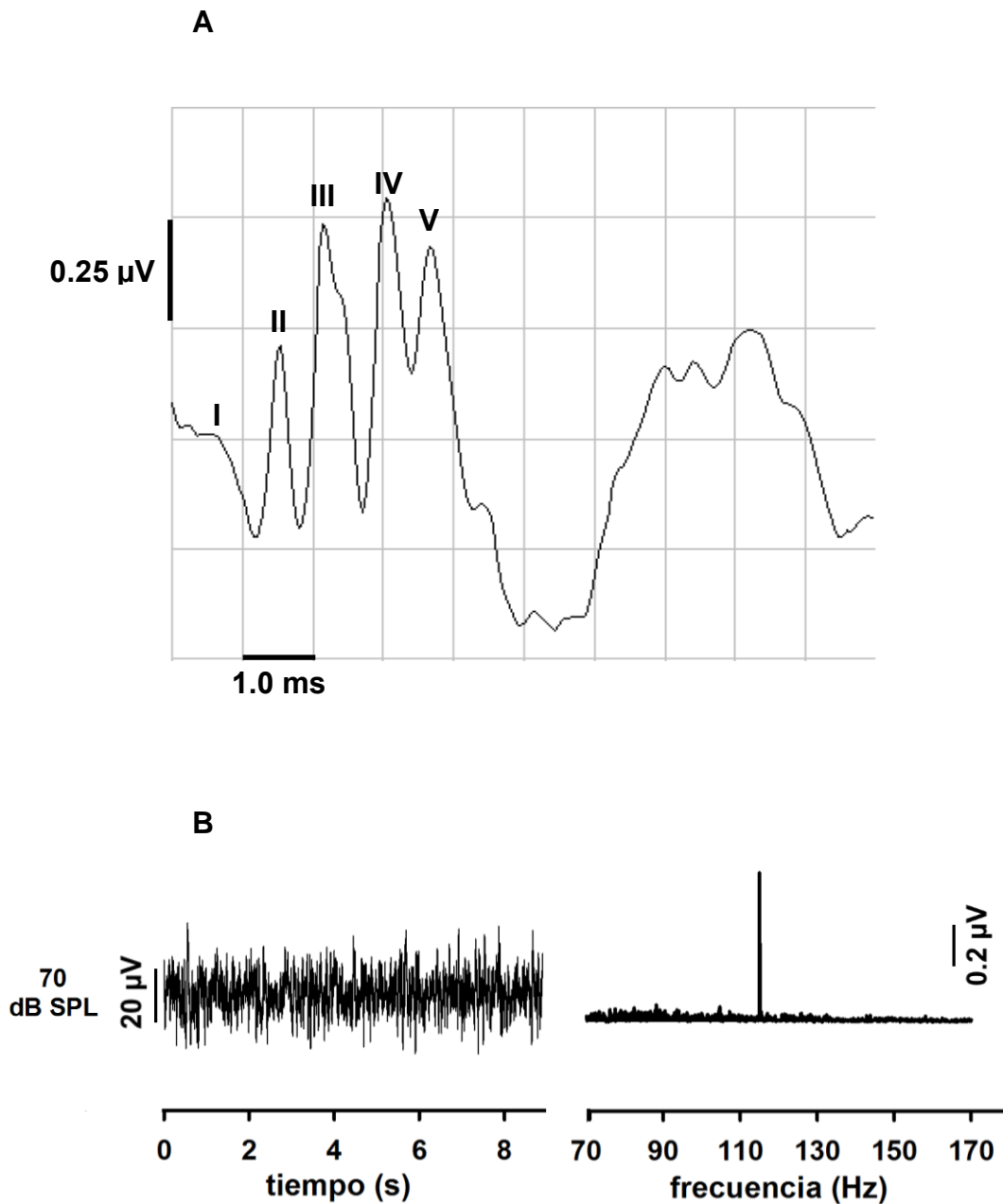


Fig. 4: Potenciales evocados auditivos generados por estímulos acústicos en ratas.

- A) Oscilogramas de un potencial evocado auditivo de tallo cerebral (PEATC) generado por chasquidos. Los números señalan los picos visibles en la respuesta.
- B) Potencial evocado auditivo de estado estable generado por un tono continuo modulado en amplitud a una frecuencia de 115 Hz. En el panel izquierdo se muestra el oscilograma de la respuesta y se señala la intensidad del estímulo. El derecho muestra la respuesta transformada al dominio de la frecuencia.

En dependencia de la frecuencia de modulación de amplitud del estímulo, el PEAAE ha sido clasificado en dos grandes grupos: el PEAAE de 40 Hz y el PEAAE de 80 Hz. El primero de ellos incluye las respuestas generadas por estímulos con baja frecuencia de modulación (entre 25 Hz y 55 Hz) (Galambos *et al.* 1981; Stapells *et al.* 1984). Su magnitud depende del estado de vigilia del individuo, disminuyendo durante el sueño y la sedación (Stapells *et al.* 2004; Van Maanen y Stapells 2005). Este hecho, unido a que su latencia es de alrededor de 30 ms, sugieren que el PEAAE de 40 Hz es principalmente generado por conexiones auditivas tálamo-corticales y la corteza auditiva primaria (Bohorquez y Ozdamar 2008; John y Picton 2000; Picton *et al.* 2003).

Dentro de los PEAAE corticales, existe un sub-grupo que es producido con frecuencias de modulación menores que 25 Hz. Aunque estas respuestas no han sido estudiadas con profundidad, se ha propuesto que se deben principalmente a la actividad oscilatoria de las cortezas auditiva primaria y secundaria (Alaerts *et al.* 2009).

Por su parte, el PEAAE de 80 Hz es generado por estímulos modulados en amplitud entre 80 Hz y 400 Hz. Su amplitud no depende del estado de vigilia (Cohen *et al.* 1991; John *et al.* 2000) y su latencia es inferior a 10 ms, lo cual sugiere que es principalmente producido en estructuras del tallo cerebral (Cohen *et al.* 1991; Herdman *et al.* 2002).

El PEAAE ha ido progresivamente ganando importancia como técnica objetiva para la obtención de umbrales de audición (Luts *et al.* 2008; Savio *et al.* 2001; Van Maanen y Stapells 2009). Esto se debe a que el análisis en el dominio de la frecuencia permite su detección automática mediante pruebas estadísticas que comparan la amplitud espectral de la respuesta con la del ruido de fondo del registro electrofisiológico (John y Picton 2000; Valdés *et al.* 1997; Victor y Mast 1991). Se debe, además, a que los estímulos empleados para su obtención tienen un contenido espectral de mayor especificidad que los utilizados en la generación del PEATC (Luts *et al.* 2004). Es también consecuencia del desarrollo de metodologías de registro que permiten evaluar simultáneamente la respuesta a diferentes frecuencias manteniendo la confiabilidad de la medición (Bahmer y Baumann 2010a; Cone y Dimitrijevic 2009; Perez *et al.* 2001; Picton *et al.* 2009; Stapells 2011; van Dun *et al.* 2008). Sin embargo, cuestiones técnicas como la falta de protocolos estándar de registro, y en consecuencia de datos electrofisiológicos normativos, ha imposibilitado el uso a gran escala del PAEE en la práctica clínica (Rance y Cone-Wesson 2008; Rance *et al.* 2005; Van Maanen y Stapells 2009, 2010).

Además de su empleo para la detección de pérdidas sensoriales, las respuestas evocadas oscilatorias pudiesen ser de gran utilidad en la detección de patologías auditivas relacionadas con el procesamiento temporal. El caso más típico es la dislexia, definida como la disminución de la capacidad para adquirir habilidades de lectura y pronunciación del lenguaje en individuos con niveles normales de inteligencia y educación, y que han realizado un esfuerzo intenso para mejorar su discapacidad comunicacional (Vellutino *et al.* 2004). Se ha hipotetizado que los problemas de lectura y pronunciación en la dislexia se deben, al menos en parte, a déficits en el procesamiento auditivo de las variaciones dinámicas de amplitud que forman las señales del habla (Benasich y Tallal 2002).

Para la obtención de la FTMT del PEAAE se deben realizar tantos registros electrofisiológicos como frecuencias de modulación sean necesarias analizar (Pauli-Magnus *et al.* 2007; Riquelme *et al.* 2006). Una forma más eficiente de abordar este problema es utilizar estímulos que cambien su frecuencia de modulación de manera continua, provocando cambios sistemáticos en la amplitud y la fase del potencial evocado (Artieda *et al.* 2004; Perez-Alcazar *et al.* 2008; Purcell *et al.* 2004; Purcell y John 2010).

La respuesta evocada con un barrido de frecuencias de modulación de amplitud se denomina respuesta de seguimiento de la modulación (RSM) (Artieda *et al.* 2004; Purcell *et al.* 2004). Su transformación al dominio de la frecuencia debe realizarse mediante métodos que permitan el estudio de oscilaciones no-estacionarias (Artieda *et al.* 2004; Dajani *et al.* 2005; Gurtubay *et al.* 2001; Purcell *et al.* 2004). Uno de estos métodos es el analizador de Fourier, el cual relaciona la forma de onda de la señal de interés con una oscilación de referencia que no necesita ser estacionaria (Regan 1989). Si la señal que se analiza se sincroniza con las variaciones de frecuencia de la oscilación de referencia, es posible medir la amplitud de la respuesta sin que su estimación se vea afectada por los cambios en la frecuencia de modulación.

Las características de la RSM están correlacionadas con la FTMT obtenida conductualmente. (Picton *et al.* 1987; Purcell *et al.* 2004; Roß *et al.* 2000). Además, están correlacionadas con el reconocimiento del habla en adultos sanos (Alaerts *et al.* 2009). En pacientes disléxicos, la amplitud de la RSM generada con frecuencias entre 10 Hz y 160 Hz es menor que la individuos de la misma edad con habilidades de lectura normales (McAnally y Stein 1997; Menell *et al.* 1999). Recientemente, se ha demostrado que el procesamiento de modulaciones de amplitud en el tallo cerebral no varía entre pacientes disléxicos e individuos controles. En corteza, las

diferencias entre grupos están presentes al analizar las frecuencias de modulación correspondientes a la presentación de fonemas pero no a la presentación de sílabas, fenómeno que ocurre principalmente en ambientes ruidosos (Poelmans *et al.* 2012).

Por último, en niños disléxicos, existe una pérdida de la dominancia del hemisferio temporal derecho en el procesamiento de las frecuencias de modulación correspondientes a la cadencia de emisión de sílabas (Abrams *et al.* 2009). Estos autores demostraron que el procesamiento de las modulaciones de amplitud predice hasta el 41 % de la variabilidad de las capacidades de lectura y hasta el 50 % del reconocimiento fonológico.

2.4. Estudios de maduración del sistema auditivo mediante potenciales evocados

La edad a la que aparecen las primeras sensaciones auditivas y el tiempo a partir del cual las respuestas de este sistema sensorial pueden detectarse a nivel electrofisiológico varían entre las diferentes especies de mamíferos. Por ejemplo, en humanos y curieles, la presencia de sensaciones auditivas es evidente al momento del nacimiento (Dum 1984; Wilkinson y Jiang 2006). De hecho, las estructuras subcorticales auditivas en humanos se encuentran anatómicamente formadas a las 26 semanas de edad gestacional, de manera que los PEATC pueden registrarse dos semanas después (Wilkinson y Jiang 2006).

Otros grupos taxonómicos son altrícios en relación a la audición. Es decir, en ellos las primeras sensaciones auditivas se tienen días después del nacimiento. En jerbos y ratas, las primeras respuestas electrofisiológicas son detectadas a los 15 días posteriores al nacimiento (DPN), aproximadamente (Blatchley *et al.* 1987; McFadden *et al.* 1996). En hurones, las primeras respuestas aparecen a los 27 DPN (Moore y Hine 1992), mientras que en gatos el comienzo de la audición tiene lugar siete días después del nacimiento (Walsh *et al.* 1986).

La maduración del PEATC se caracteriza por la disminución del umbral de respuesta (Blatchley *et al.* 1987; Picton *et al.* 1994). Esta variable disminuye alrededor de 15 dB durante el primer año de vida, cuando el potencial evocado es obtenido en humanos (Picton *et al.* 1994). En ratas, el umbral del PEATC disminuye a razón de 12 dB/día (Blatchley *et al.* 1987).

La disminución del umbral del PEATC en ratas está dada por la maduración de los elementos conductivos del oído (Geal-Dor *et al.* 1993). Además, se debe a la maduración de la cóclea, específicamente a la formación del órgano de Koelliker, proceso que se está acompañado por cambios estructurales de la membrana tectorial, a la formación del túnel de Corti y de las

conexiones sinápticas entre las células ciliadas y las NGE (Roth y Bruns 1992). En ello interviene también el aumento del potencial endo-coclear en la escala media (Rybak *et al.* 1992).

Asimismo, la maduración del PEATC se caracteriza por el aumento de la amplitud de cada uno de sus picos (Blatchley *et al.* 1987; Picton *et al.* 1994). Esto se debe, principalmente, a la mielinización de los núcleos subcorticales de la vía, al aumento del diámetro de los tractos nerviosos, así como a la formación y aumento de la eficiencia de las conexiones sinápticas (Blatchley *et al.* 1987; Wilkinson y Jiang 2006).

En humanos, la detección de modulaciones de amplitud a nivel psicofísico madura durante los primeros 15 años de edad (Banai *et al.* 2011). Mientras, la maduración del PEAE varía en dependencia de sus generadores neuronales. El PEAE de 40 Hz no puede obtenerse consistentemente en niños pequeños (Levi *et al.* 1995; Maurizi *et al.* 1990), lo cual sugiere que la corteza auditiva no ha finalizado su maduración en el primer periodo de la infancia. A lo largo de la niñez, la amplitud del PEAE se incrementa y es completamente maduro a los catorce años de edad (Pethe *et al.* 2004).

Por su parte, el PEAE de 80 Hz puede ser registrado incluso en neonatos. En los primeros estadios de maduración, los umbrales de respuesta son relativamente elevados y tienen una variabilidad inter-individual de hasta 30 dB (Lins *et al.* 1995; Luts *et al.* 2006; Rance *et al.* 2005; Savio *et al.* 2001). Además, la amplitud obtenida con estímulos supra-umbrales es menor y más variable que la observada en individuos adultos (John *et al.* 2004; Luts *et al.* 2006). A la vez, es más influenciado por la presentación simultánea de otros estímulos (Hatton y Stapells 2011).

La mayor parte de los cambios en el PEAE de 80 Hz, cuando la respuesta se registra en humanos, ocurren durante las primeras seis semanas posteriores al nacimiento (John *et al.* 2004; Luts *et al.* 2004, 2006; Rance *et al.* 2005; Rance y Tomlin 2006; Savio *et al.* 2001). Las respuestas generadas por tonos a los cuales la sensibilidad espectral es relativamente baja, presentan menores amplitudes y periodos de maduración más prolongados que las producidas por estímulos a los cuales la sensibilidad del sistema es mayor (Hatton y Stapells 2011; John *et al.* 2004; Savio *et al.* 2001). La maduración de otras respuestas auditivas oscilatorias, como la RSM, no ha sido descrita hasta el momento.

2.5. Principales cambios morfológicos inducidos por la sordera sensorineural

Como fue expuesto en epígrafes anteriores, las células ciliadas de la cóclea tienen un papel fundamental en la audición. Estas células son vulnerables a la acción de gran cantidad de agentes

que provocan su muerte. Entre ellos se encuentran fármacos como los aminoglucósidos, la exposición prolongada a ruidos intensos y las infecciones bacterianas y virales. La pérdida del epitelio sensorial auditivo también puede estar dada por factores genéticos o ser resultado del envejecimiento.

A diferencia de lo que ocurre en otros grupos de vertebrados como las aves, las células ciliadas de los mamíferos no se regeneran. Por tanto, su muerte produce la pérdida permanente de la función auditiva, fenómeno denominado sordera sensorineural. Este tipo de sordera provoca el desarrollo de procesos atróficos y degenerativos en diferentes estructuras de la vía auditiva, disminuyendo la capacidad para procesar las características espectrales y temporales de los estímulos acústicos (Shepherd *et al.* 1999, 2004; Vollmer *et al.* 1999).

El cambio morfológico más significativo que tiene lugar en el sistema nervioso periférico es la degeneración anterógrada del nervio auditivo. Este comienza con la pérdida relativamente rápida de las dendritas de las NGE, proceso seguido por la desmielinización gradual del soma y del axón de estas células. Posteriormente, se produce la muerte neuronal (Hardie y Shepherd 1999; McFadden *et al.* 2002; Nadol *et al.* 1989; Shepherd y Hardie 2001; Shepherd y Javel 1999; Rodríguez *et al.* 2007; Wise *et al.* 2011).

La degeneración del ganglio espiral parece iniciarse por la ausencia de factores neurotróficos que son secretados en el órgano de Corti, ya sea por las células ciliadas o por células de soporte (Stankovic *et al.* 2004). Estos incluyen el factor de crecimiento nervioso, las neutrofinas 3 y 4/5 y el factor neurotrófico derivado de células gliales (Agterberg *et al.* 2008, 2009; Gillespie *et al.* 2003, 2004; Glueckert *et al.* 2008; McGuinness y Shepherd 2005; Pettingill *et al.* 2007; Richardson *et al.* 2005; Shepherd *et al.* 2005; Wise *et al.* 2005; Yamagata *et al.* 2004). Como consecuencia de la sordera, la densidad de NGE puede disminuir en más del 50 % (Vollmer *et al.* 2000, 2007). La extensión y velocidad de esta degeneración varía en dependencia de la duración de la pérdida sensorial, su severidad y etiología (Forge y Schacht 2000; Hinojosa *et al.* 2001; McFadden *et al.* 2004; Mercerón-Martínez *et al.* 2012).

2.6. Implantes cocleares

Los implantes cocleares son dispositivos que permiten la recuperación de la audición en individuos que padecen sordera sensorineural. Este tipo de prótesis sustituye los procesos de transducción que tienen lugar en el oído interno al codificar la intensidad, la composición

espectral y la estructura temporal del estímulo acústico y estimular regiones cocleares específicas con trenes de pulsos eléctricos.

El hecho de estimular directamente a las neuronas del ganglio espiral hace que este grupo celular sea relevante para el funcionamiento del sistema auditivo de individuos sordos implantados con prótesis cocleares (Dillier *et al.* 2002; Nadol *et al.* 1989). Las NGE que no mueren como consecuencia de la sordera son capaces de generar y propagar potenciales de acción (Hartmann *et al.* 1984; Javel y Shepherd 2000; Shepherd y Javel 1997). De hecho, sus axones poseen cierto grado de mielinización, incluso en individuos con sordera profunda de larga duración. Sin embargo, la desmielinización que tienen lugar en ellas incrementa su capacitancia de membrana, disminuyendo la eficiencia de la respuesta neuronal e incrementando la probabilidad de que se bloquee la propagación de los potenciales de acción (Shepherd y Javel 1997).

Por otra parte, la pérdida de los procesos dendríticos de las NGE altera la impedancia eléctrica en varias regiones cocleares, variando la distribución espacial de los campos eléctricos producidos por la estimulación (Suesserman y Spelman 1993). Además, la pérdida de las dendritas hace que el sitio de generación de potenciales de acción se desplace hacia el soma neuronal, e incluso hacia el axón (Javel y Shepherd 2000; Shepherd *et al.* 2001; Van den Honert y Stypulkowski 1984), produciendo, entre otras modificaciones, el aumento del umbral de la respuesta neuronal (Shepherd *et al.* 2005; Shinohara *et al.* 2002; Yamagata *et al.* 2004).

Los implantes cocleares producidos en la actualidad están compuestos por cuatro elementos principales: un micrófono, un procesador de voz o procesador externo, un receptor-estimulador o procesador interno y un arreglo de electrodos. De ellos, los dos últimos son los elementos implantables de la prótesis (Seligman y Shepherd 2004).

El estímulo captado por el micrófono es enviado al procesador de voz. Este lo amplifica y descompone en bandas de frecuencias, las cuales son conducidas y procesadas por vías diferenciales, denominadas canales de estimulación. El procesador externo cuenta, además, con una bobina cuya función es transmitir hacia el receptor-estimulador los datos sobre los estímulos acústicos y la energía necesaria para el trabajo del procesador interno. Por su parte, el receptor-estimulador decodifica los datos enviados y genera el patrón de pulsos eléctricos con el que se estimula la cóclea (Clark *et al.* 1983).

El arreglo de electrodos consiste en un determinado número de contactos de platino o de aleación platino/iridio. Generalmente, poseen entre 6 y 22 contactos, siendo su número igual a la cantidad

de canales de estimulación del implante. Los electrodos se distribuyen a lo largo de un soporte flexible de silicona que se inserta en el interior de la escala timpánica de la cóclea, de manera que estimule diferentes poblaciones de NGE (Clark *et al.* 1983; Lilly *et al.* 1955).

Aunque la forma de onda de los pulsos eléctricos implementados en la actualidad puede variar (Bahmer *et al.* 2010; Eddington *et al.* 2004), el estímulo más usado en los implantes cocleares consiste en trenes de pulsos de corriente bifásicos (Seligman y Shepherd 2004). Ambas fases del pulso tienen igual carga, por lo que la carga neta del estímulo es cero (Lilly *et al.* 1955). La importancia de estimular con pulsos bifásicos balanceados en carga radica en disminuir las cantidades de gases, iones cloratos y productos de la corrosión del platino que se originan a partir de las reacciones electroquímicas que median la entrega de carga del electrodo. Estos compuestos producen cambios en el pH del medio y provocan la generación de corrientes directas, produciendo la muerte de las NGE y el aumento de los umbrales de audición (Huang *et al.* 2001; Robblee y Rose 1990; Shepherd *et al.* 2006).

Otro aspecto importante relacionado con la estimulación eléctrica de la cóclea es la configuración de electrodos que se utilice. Las configuraciones más usadas actualmente son la monopolar y la bipolar, aunque también se han realizado investigaciones con configuraciones tripolares y tetrapolares. En la configuración bipolar, la corriente eléctrica es aplicada entre dos electrodos localizados en el interior de la cóclea. Esto permite la estimulación de regiones restringidas del nervio auditivo, posibilitando una mejor discriminación de la frecuencia del estímulo acústico (Bierer y Middlebrooks 2004; Boëx *et al.* 2003). Sin embargo, tiene como desventaja que si el electrodo se sitúa relativamente lejos de su blanco, aumenta el umbral sensorial. En la estimulación monopolar, el electrodo de referencia se localiza en un área alejada de la superficie de estimulación, generalmente en el músculo temporal o en el receptor/estimulador. Esto posibilita reducir los umbrales sensoriales, aunque se pierde parte de la especificidad en frecuencia de la estimulación (Snyder *et al.* 2004, 2008).

Las principales características temporales de los pulsos eléctricos bifásicos son la duración de las fases del pulso (DF), el tiempo entre fases (TEF) y el tiempo entre estímulos (TEE), siendo esta última equivalente a la frecuencia de repetición. La DF puede variar entre 20 μ s y 200 μ s, aunque la mayoría de los implantes modernos utilizan duraciones de pulsos pequeñas, inferiores a los 100 μ s. (Seligman y Shepherd 2004; Wieringen *et al.* 2008). Por su parte, el TEF se define como el tiempo que media entre el final de la fase positiva del pulso eléctrico y el comienzo de su fase

negativa. Puede tener valores entre 0 μ s y 100 μ s. A partir de este valor la presencia de la segunda fase deja de ser funcional, siendo la respuesta neuronal similar a la generada por estímulos monofásicos (Shepherd y Javel 1999).

Las gama de frecuencias de repetición de los implantes cocleares modernos es de 250-2 400 pulsos por segundo (pps) por cada canal de estimulación. Teniendo en cuenta todos los electrodos, la frecuencia de repetición varía entre 1 500 pps y 18 000 pps. Por tanto, la estimulación del nervio auditivo se realiza con TEE inferiores al periodo refractario de las NGE (Friesen *et al.* 2005; Heffer *et al.* 2010). El uso de estas elevadas frecuencias de repetición mejora el reconocimiento del habla, al producir un patrón de respuesta neuronal más cercano al que tendría lugar frente a estímulos acústicos (Pfungst *et al.* 2007; Zeng *et al.* 2002).

2.7. Potenciales evocados auditivos generados por estímulos eléctricos intracocleares

La respuesta del sistema auditivo a estímulos eléctricos intracocleares ha sido estudiada, entre otras técnicas, mediante registros uni-neuronales, registros multi-neuronales y potenciales evocados. De estos últimos, los más utilizados han sido el potencial evocado auditivo de tallo cerebral generado por estimulación eléctrica (PEATC-e) y el potencial de acción compuesto del nervio auditivo generado por estimulación eléctrica (PAC-e).

La morfología del PEATC-e es similar a la del potencial de tallo evocado por estímulos acústicos (Fig. 5 A). Sin embargo, la latencia del PEATC-e es aproximadamente 1 ms menor que la del PEATC. Esto se debe a que la velocidad de transmisión de la señal eléctrica desde el micrófono del implante hasta los electrodos de estimulación es mucho mayor que la de la transmisión de la información de la onda sonora (Guiraud *et al.* 2007). Otra causa es la mayor sincronía de la respuesta de las neuronas del nervio auditivo a estímulos eléctricos, respecto a estímulos acústicos (Hartmann *et al.* 1984; Van den Honert y Stypulkowski 1984). Esta mayor sincronía hace además que disminuya la gama dinámica del potencial evocado (Shepherd y Javel 1997).

En la actualidad, el registro electrofisiológico más empleado en la clínica de los implantes cocleares es el PAC-e (Abbas *et al.* 1999; Dillier *et al.* 2002; Patrick *et al.* 2006). Este tipo de respuesta se obtiene empleando los mismos electrodos de estimulación del implante y transmitiendo la señal electrofisiológica desde el procesador interno a los equipos de medición mediante ondas de radio (Dillier y Lai 1995; Gordon *et al.* 2004). Su principal aplicación ha sido la obtención de umbrales de audición para confirmar la correcta inserción de los electrodos de estimulación coclear, monitorear el funcionamiento del implante y ajustar las intensidades de

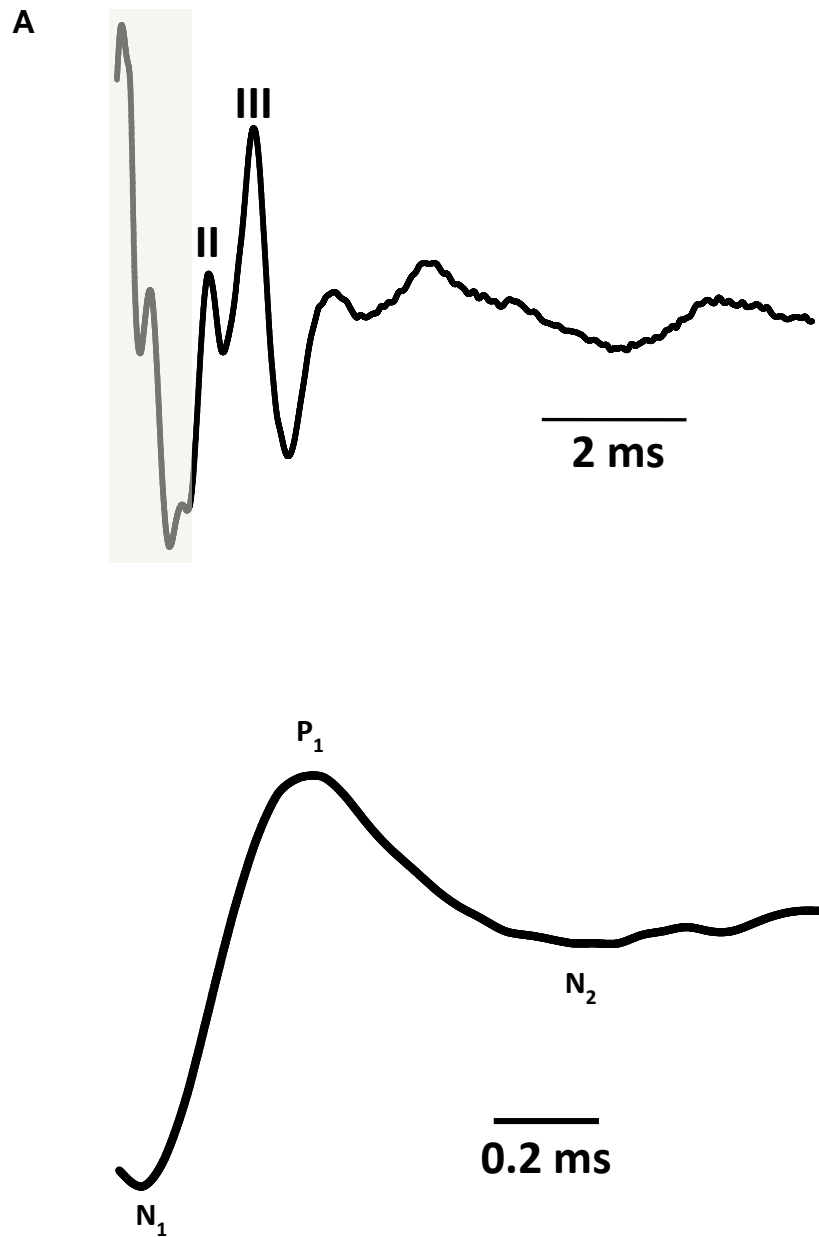


Fig. 5: Oscilogramas de potenciales evocados auditivos generados por estímulos eléctricos en curieles. En ambos casos la amplitud de respuesta se muestra en unidades arbitrarias.

A) Potencial evocado auditivo de tallo cerebral. Los números señalan los picos visibles en la respuesta. Los picos II y III de este potencial equivalen, respectivamente, a los pico IV y V del PEATC-e obtenido en humanos. El área sombreada corresponde al artefacto de registro provocado por el estímulo eléctrico.

B) Potencial de acción compuesto del nervio auditivo. Se señalan las ondas de potencial visibles del registro.

estimulación (Brown *et al.* 2000; Cafarelli *et al.* 2005; Eisen y Franck 2004; Miller *et al.* 2008; Potts *et al.* 2007; Thai-Van *et al.* 2004).

El PEAC-e se encuentra formada por un pico negativo (N_1), que se genera entre 0.2 ms y 0.4 ms después del comienzo de la estimulación (Miller *et al.* 2004). La onda N_1 es seguida de un pico positivo (P_1), el cual posee una latencia que varía entre 0.6 ms y 0.8 ms (Fig. 5 B). Generalmente, la amplitud de la respuesta es de varios cientos de microvoltios (Cullington 2000). La onda P_1 puede estar seguida por otro pico negativo (N_2), aunque este no siempre está presente.

2.8. Efecto de las variables temporales de la estimulación eléctrica intracoclear sobre la percepción auditiva

En las respuestas producidas por estímulos eléctricos, la carga del pulso es la principal variable de la cual que depende la sonoridad o intensidad perceptual, siendo esta definida como la intensidad de estimulación obtenida a partir de la respuesta psicofísica del sujeto. En una simplificación de los mecanismos neuronales involucrados en la intensidad perceptual, se asume que su magnitud es proporcional a la actividad de las neuronas auditivas que responden a la estimulación. Por tanto, depende de dos mecanismos básicos: la cantidad de neuronas que responden y su frecuencia de potenciales de acción. Un aumento equivalente de la intensidad perceptual puede ser logrado al incrementarse la frecuencia de descarga de las neuronas que responden, sin que se sumen otras unidades sensoriales, o aumentando la cantidad de neuronas que se encuentran respondiendo mediante el proceso de reclutamiento (Botros y Psarros 2010).

Pese a que los umbrales psicofísicos absolutos pueden variar entre diferentes sujetos, la relación que existe entre este parámetro conductual y la DF es relativamente constante. Al aumentar la DF, se produce la disminución progresiva del umbral psicofísico (Moon *et al.* 1993; Pflugst *et al.* 1991; Smith y Finley 1997). Similar comportamiento ha sido encontrado estudiando el efecto de dicha variable de estimulación sobre la respuesta auditiva registrada al nivel del VIII nervio craneal (van den Honert y Stypulkowski 1984; Parkins 1989; Shepherd y Javel 1999).

Otra propiedad de la respuesta psicofísica influenciada por la duración de la fase del estímulo, es la relación que existe entre la intensidad de estimulación y la magnitud de la respuesta. A medida que aumenta la DF, aumenta la gama dinámica de la respuesta auditiva (Zeng *et al.* 1998). A la vez, disminuye la pendiente de la curva intensidad/respuesta (Ferguson *et al.* 2003).

La respuesta conductual de los pacientes implantados con prótesis cocleares puede además modificarse al variar el tiempo entre las fases positiva y negativa del pulso eléctrico. La

disminución de esta variable produce un incremento exponencial de la intensidad de la corriente necesaria para generar respuestas con la misma intensidad perceptual. Este efecto del TEF sobre la respuesta psicofísica depende de la intensidad de estimulación, siendo mayor al utilizar intensidades cercanas al umbral (McKay y Henshall 2003).

2.9. Relación entre el estado funcional de la vía auditiva, la respuesta electrofisiológica y la respuesta psicofísica de individuos sordos

Como se mencionó anteriormente, la principal aplicación médica de los potenciales evocados auditivos en pacientes con implantes cocleares ha sido la obtención de umbrales electrofisiológicos. Sin embargo, los coeficientes de correlación existentes entre estos umbrales y los obtenidos conductualmente, aunque estadísticamente significativos, son relativamente bajos. Esta correlación, además, disminuye a medida que aumenta la frecuencia de repetición de los pulsos eléctricos, lo cual sugiere que la respuesta auditiva, en pacientes implantados, depende de la integración temporal de los estímulos eléctricos y de las propiedades refractarias de las neuronas auditivas (McKay *et al.* 2005; Potts *et al.* 2007).

Se ha demostrado que el aumento del tiempo de privación sensorial incrementa el umbral y disminuye la amplitud del PEATC-e en gatos, principalmente de los picos I y II del potencial evocado (Shepherd *et al.* 1999; Shepherd y Javel 1997). Como se mencionó anteriormente, estos picos son generados, respectivamente, al nivel del VIII nervio craneal y de los núcleos cocleares ipsilaterales al oído estimulado. En animales con sordera de larga duración, pueden incluso desaparecer debido a la disminución del número de NGE (Shepherd y Javel 1997).

Otros experimentos realizados en modelos animales han demostrado que la amplitud máxima y la pendiente de la función intensidad/respuesta de los potenciales evocados auditivos generados por estímulos eléctricos están correlacionadas con la densidad de NGE (Hall 1990; Miller *et al.* 1995; Smith y Simmons 1983). A nivel psicofísico, existen evidencias de que el umbral y la gama dinámica de la respuesta auditiva de primates no humanos dependen de la supervivencia del nervio auditivo (Pfungst *et al.* 1981).

El umbral del PAC-e puede predecir el umbral de la respuesta psicofísica y el nivel de estimulación confortable (máxima intensidad de estimulación que no provoca molestias auditivas, o que no genera el reflejo estapedial) (Brown *et al.* 2000; Cafarelli *et al.* 2005; Lai 2004; Smoorenburg *et al.* 2002). Además, la pendiente de la función intensidad/respuesta del PAC-e se correlaciona positivamente con el reconocimiento del habla de pacientes implantados (Kim *et al.* 2010). Pese

a estos hallazgos prometedores, otros intentos por correlacionar la amplitud de la respuesta electrofisiológica con la respuesta conductual, específicamente con la comprensión del habla de pacientes implantados, no han dado resultados positivos (Abbas y Brown 1991; Battmer *et al.* 2005; Brown *et al.* 1995, 1999; Turner *et al.* 2002).

Existen otras características de la respuesta electrofisiológica y conductual que pudiesen estar correlacionadas entre sí y a su vez depender de la degeneración de la vía auditiva. Los cambios de corriente necesarios para que las respuestas producidas por pulsos eléctricos intracocleares de diferente DF tengan una misma intensidad perceptual, varía entre 2 dB y 6 dB cuando se duplica la duración del pulso. Esta diferencia de corriente se encuentra relacionada con la duración de la sordera, resultado que sugiere que el efecto de la DF sobre la respuesta auditiva depende del grado de degeneración de la vía auditiva (MacKay y McDermott 1999; Miller *et al.* 1999). Esta idea se apoya además en el hecho de que la diferencia entre los umbrales del PEATC-e generados por estímulos con diferente TEF disminuye con la duración de sordera (Miller *et al.* 1995).

Otro aspecto a analizar son las propiedades refractarias de la respuesta auditiva generada por estímulos eléctricos en individuos sordos. A nivel de neuronas individuales, estas características han sido estudiadas mediante modelos computacionales de neuronas del ganglio espiral (Mino y Rubinstein 2006; Negm y Bruce 2008) y experimentos *in situ* (Cartee *et al.* 2000; Hartmann *et al.* 1984; Shepherd *et al.* 2004). Los resultados encontrados demuestran que el periodo refractario absoluto de este grupo neuronal se prolonga a medida que aumenta la duración de la sordera.

A nivel de potencial evocado, las características refractarias de la respuesta se analizan a través de la función de recuperación. Esta función representa la amplitud de la respuesta a un determinado estímulo (considerado estímulo de interés, estímulo blanco o estímulo prueba) en relación al tiempo que media entre él y un estímulo precedente (considerado este como estímulo máscara) (Botros y Psarros 2010; Brown *et al.* 1990; Miller *et al.* 2000; Morsnowski *et al.* 2006).

Al emplear potenciales evocados, se ha propuesto que la diferencia entre la amplitud máxima de la función de recuperación del PAC-e y la amplitud obtenida con un TEE de 2 ms pudiese utilizarse como criterio de clasificación de las propiedades refractarias del nervio auditivo de pacientes implantados (Goffi-Gomez *et al.* 2010). Sin embargo, estos autores no obtuvieron evidencias de que la diferencia de amplitud antes señalada estuviese relacionada con la duración de la sordera. Resultados equivalentes han sido encontrados analizando la función de recuperación del PEATC-e de ratones con déficit de mielina en el sistema nervioso periférico (Zhou *et al.* 1995). En estos

animales, la diferencia de amplitud entre la respuesta máxima y la obtenida con un TEE de 0.7 ms estuvo disminuida respecto a individuos controles pero no tuvo relación con la supervivencia del ganglio espiral.

Otros parámetros de la función de recuperación, como la constante de tiempo (τ), han sido propuestos como predictores de la respuesta psicofísica en pacientes implantados. La constante de tiempo se define como el TEE al que cual la amplitud de respuesta varía 0.63 veces en relación a una amplitud de referencia (generalmente la amplitud máxima o mínima de la función). Esta variable, cuando la respuesta auditiva es analizada mediante PAC-e, pudiese indicar la frecuencia de repetición de pulsos preferida por el sujeto (Abbas *et al.* 2004; Brown *et al.* 1990; Kiefer *et al.* 2001; Shpak *et al.* 2004).

La τ de la función de recuperación del PAC-e se encuentra correlacionada negativamente con la diferencia entre la intensidad umbral del PAC-e y la intensidad umbral de la respuesta psicofísica (Müller-Deile *et al.* 2003). Además, resultados obtenidos recientemente sugieren que la τ del PAC-e disminuye al prolongarse la duración de la sordera (Botros y Psarros 2010). Estos autores, estudiando modelos matemáticos de la respuesta del nervio auditivo, observaron que las funciones de recuperación más lentas (con mayores τ) están asociadas con poblaciones neuronales de mayor tamaño. Este resultado, unido al hecho de que el efecto del TEF de los estímulos eléctricos intracocleares es mayor cuando la intensidad de estimulación es cercana al umbral (McKay y Henshall 2003; Shepherd y Javel 1999), sugiere que las variaciones de la respuesta auditiva provocadas por cambios en el patrón temporal de estimulación son mayores en sujetos con un sistema auditivo relativamente conservado. Estas variaciones de amplitud pudieran reflejar un mayor grado de reclutamiento neuronal y una mayor capacidad de codificación de las características temporales de los estímulos eléctricos, existentes en sujetos con sordera de corta duración (McKay y McDermott 1998).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos fueron realizados en el Centro de Neurociencias de Cuba, La Habana, Cuba (estudios de maduración del procesamiento temporal auditivo) y la Universidad de Melbourne, Australia (estudios con estímulos eléctricos intracocleares en animales sordos). Los diseños de investigación fueron aprobados por los comités de ética correspondientes (Comité de Ética del Centro de Neurociencias de Cuba y Comité de Ética de Experimentación Animal del Hospital Victoriano para Visión y Audición). Estos fueron desarrollados según las normas regulatorias para el manejo y cuidado de animales de laboratorio existentes en cada país: Directivas 13 y 14 del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) acerca del cuidado y uso de animales de laboratorio y Normas para la experimentación animal del Departamento Nacional de Salud e Investigación Médica de Australia.

3.1. Maduración del Procesamiento Temporal Auditivo

3.1.2. *Sujetos experimentales*

La muestra del estudio estuvo conformada por 56 ratas Wistar (*Rattus norvegicus*). La selección de este modelo experimental se debió a que, a diferencia de otros grupos taxonómicos como gatos o curieles, las ratas son animales altricios respecto a la audición. Es decir, en esta especie las primeras sensaciones auditivas tienen lugar después del nacimiento, lo cual permite estudiar la maduración de la respuesta electrofisiológica desde el momento en que la audición es adquirida hasta que el animal es adulto.

En dependencia de la edad, los animales fueron distribuidos en los siguientes grupos experimentales: 12, 14, 15, 20, 25, 35 y 70 días posteriores al nacimiento (DPN). Cada grupo estuvo compuesto por ocho individuos. Animales con edades inferiores a 12 DPN no fueron incluidos en el estudio debido a que el pequeño tamaño de sus oídos externos imposibilita la realización de los protocolos experimentales. Específicamente no permite colocar el audífono de inserción empleado en la estimulación. Los grupos etarios seleccionados coinciden con los de estudios previos acerca de la maduración del sistema auditivo en ratas (Blatchley *et al.* 1987; Freeman *et al.* 1996). El DPN cero fue definido como el día del nacimiento. Animales con 70 DPN fueron considerados adultos en relación a la audición (Blatchley *et al.* 1987).

Los individuos fueron mantenidos en cajas estándar para animales de laboratorio, bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y temperaturas entre 22-24 °C. En todo momento, tuvieron libre acceso a comida y agua. Para la realización de los registros electrofisiológicos, cada animal fue

anestesiado con una inyección intraperitoneal (ip) de Ketamina (75.0 mg/kg) y Diazepam (5.0 mg/kg). Dosis suplementarias de estos fármacos, típicamente un tercio de la dosis inicial, fueron administradas sistemáticamente para mantener al individuo en un estado en el que no mostrara reflejos motores. El nivel de narcosis fue monitoreado a través del programa de registro de potenciales evocados utilizado en el estudio. Además, les fue administrado Sulfato de Atropina (0.06 mg/kg, ip) para disminuir las secreciones mucosas. La temperatura corporal fue mantenida a 37.0 ± 0.1 ° C, empleando un termómetro (colocado en el recto del animal) y un sistema de calentamiento corporal diseñado en el laboratorio. Todos los registros fueron realizados de día y la duración de las sesiones experimentales varió entre 2 y 4 horas.

3.1.2. Estimulación acústica para la generación de PEAE

El diagrama en bloque de los dispositivos utilizados para la estimulación acústica y la obtención de la respuesta electrofisiológica es mostrado en la figura 6. Los estímulos fueron generados digitalmente y convertidos a forma analógica, utilizando el sistema de estimulación y registro de potenciales evocados auditivos AUDIX (Neuronic S.A., Habana, Cuba). La señal acústica fue presentada monoauralmente en el oído derecho del animal a través de audífonos de inserción ER 3A Etymotic Research.

Inicialmente, los animales fueron estimulados con tonos de 4 kHz, 6 kHz u 8 kHz modulados sinusoidalmente en amplitud a 115 Hz, con una profundidad de modulación de 95 %. Pese a que estos estímulos pertenecen a la gama de baja frecuencias del espectro audible de ratas, su utilización es válida debido a la existencia de un pico de sensibilidad de la especie en 8 kHz (Heffner *et al.* 1994; Hernández *et al.* 2005; Kelly y Masterton 1977). Tonos menores que 8 kHz han sido utilizados en otros estudios de potenciales evocados en ratas y otras especies de roedores con similar sensibilidad espectral (Kuwada *et al.* 2002; Perez-Alcazar *et al.* 2008). Por otra parte, la frecuencia de modulación empleada (115 Hz) permite estudiar el PEAE generado principalmente en estructuras del tallo cerebral (Kuwada *et al.* 2002; Szalda y Burkard 2005), región que es también responsable del resto de las respuestas electrofisiológicas analizadas en el trabajo.

La intensidad de estimulación fue variada en pasos descendentes de 10 dB, desde 80 dB SPL (1 dB SPL \sim 20 μ P) hasta una intensidad sub-umbral. Posteriormente, el nivel del tono fue incrementado 5 dB y la intensidad umbral fue determinada. Esta fue definida como la mínima intensidad de estimulación a la cual la amplitud obtenida a 115 Hz era estadísticamente

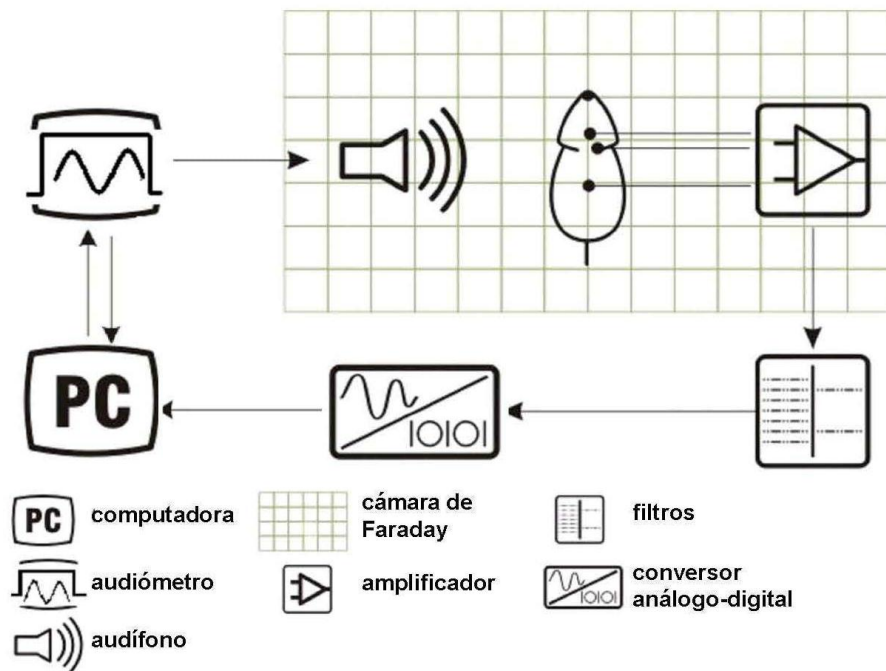


Fig. 6: Diagrama en bloque de los equipos y pasos de procesamiento de señales utilizados para la obtención del potencial evocado auditivo de estado estable y la respuesta de seguimiento de la modulación. En el animal se encuentran representadas las posiciones de los diferentes electrodos de registro. La amplificación, filtraje y digitalización de la señal electrofisiológica no representan equipos independientes sino pasos necesarios para la obtención del registro.

diferente del nivel de ruido del registro. El programa de estimulación del sistema AUDIX muestra las intensidades de estimulación en dB HL (del inglés *hearing level*). La unidad de dB HL se define como la menor intensidad media de sonido (calculada en una población de humanos jóvenes) que produce sensación auditiva. Debido a ello, fue necesario emplear una tabla de conversión entre este tipo de escala y la intensidad del estímulo expresada en dB SPL. Esta tabla se muestra en el ANEXO 1.

Una vez obtenido el umbral del PEAE a estímulos con 95 % de profundidad de modulación, los individuos adultos fueron estimulados con cada uno de los tonos incluidos en el estudio (4 kHz, 6 kHz y 8 kHz), presentados a 30 dB SPL, 50 dB SPL y 65 dB SPL. En todos los casos se utilizaron varios niveles de profundidad de modulación (95%, 70%, 50%, 20%, 10% y 5 %). Este parámetro fue variado de manera aleatoria entre 95 % y un valor al cual no se obtuviese respuesta. Para cada profundidad de modulación, el umbral del PEAE fue determinado según la metodología descrita previamente en este epígrafe.

Posteriormente, los animales fueron estimulados con tonos de 8 kHz, presentados 30 dB por encima del umbral de respuesta obtenido cuando la profundidad de modulación fue 95 %. Esta escala de intensidad es equivalente a la de dB SL (del inglés *sensation level*) empleada en humanos. El dB SL se define como la intensidad de un sonido en relación a la mínima intensidad que provoca sensación auditiva en un individuo. La tabla de intensidades (en dB SPL) correspondiente a +30 dB respecto al umbral del PAEE de los sujetos experimentales es mostrada en el ANEXO 2.

Los animales del resto de los grupos etarios fueron estimulados con tonos de 8 kHz y 30 dB SPL, 50 dB SPL y 65 dB SPL de intensidad. Para cada intensidad, los estímulos tuvieron diferentes profundidades de modulación (95%, 70%, 50%, 20%, 10% y 5 %), las cuales fueron presentadas de manera aleatoria. El umbral del PEAE fue determinado con cada profundidad de modulación, según la metodología descrita en párrafos anteriores. A continuación, los animales fueron estimulados con tonos de 8 kHz, presentados a 30 dB por encima del umbral obtenido cuando la profundidad de modulación fue 95%.

Las intensidades incluidas en este experimento (30 dB SPL, 50 dB SPL y 65 dB SPL) corresponden a diferentes regiones de la curva de codificación de intensidad obtenida en ratas adultas registrando potenciales evocados auditivos de tallo cerebral (intensidades cercanas al umbral, aproximadamente en el centro de la gama dinámica y cercanas a la saturación, respectivamente)

(Blatchley *et al.* 1987). El máximo nivel utilizado (65 dB SPL) es comparable al empleado en otros estudios de maduración del sistema auditivo (Blatchley *et al.* 1987; Savio *et al.* 2001). Es también equivalente al empleado en investigaciones previas de potenciales evocados auditivos en diferentes modelos animales (Dolphin *et al.* 1994; Pauli-Magnus *et al.* 2007; Perez-Alcazar *et al.* 2008). Todos los valores de intensidades están referidos a un oído artificial Brüel & Kjær (modelo 4152). La calibración del sistema de estimulación fue realizado con un sonómetro Brüel & Kjær (modelo 2250), un micrófono Brüel & Kjær (modelo 4144) y un acoplador de 2 cc Brüel & Kjær (modelo DB-0138).

3.1.3. Registro del PEAE

La respuesta auditiva fue obtenida empleando el sistema de estimulación y registro de potenciales evocados auditivos AUDIX. La actividad eléctrica fue registrada diferencialmente con electrodos subcutáneos situados en el vértice de la cabeza del animal (electrodo positivo), en el cuello (electrodo negativo) y en el abdomen (electrodo a tierra). La impedancia de los electrodos fue mantenida por debajo de 10 k Ω . La respuesta electrofisiológica fue amplificada con una ganancia de 1.2×10^3 , filtrada entre 10 Hz y 300 Hz y digitalizada con una frecuencia de muestreo de 920 Hz y 16 bits de resolución.

Cada registro estuvo compuesto por 16 segmentos sincronizados con la frecuencia de modulación del estímulo. Cada uno estuvo formado a su vez por 16 secciones de 512 puntos. Variaciones de potencial superiores a 50 μ V fueron consideradas artefactos eléctricos. Todas las secciones con presencia de artefactos fueron rechazadas de manera automática durante el registro de la señal. El registro electrofisiológico fue finalizado una vez completados 12 segmentos libres de artefactos.

3.1.4. Procesamiento y análisis estadístico del PEAE

Los segmentos de cada registro fueron promediados y transformados al dominio de la frecuencia a través de la Transformada Rápida de Fourier. Para la detección del PEAE, fue utilizada la prueba T2 de Hotelling (Valdes *et al.* 1997). Esta prueba evalúa la diferencia estadística entre dos medias estimadas (señal y ruido en este caso). En nuestros experimentos, el PEAE (señal) correspondió con la amplitud espectral obtenida a 115 Hz (frecuencia de modulación del estímulo) (Fig. 7 A). Mientras, la media y la variabilidad del ruido fueron estimadas a partir de los 60 componentes de frecuencias localizados a cada lado de la señal.

Una de las variables de respuesta analizadas fue la intensidad umbral del PEAE obtenida

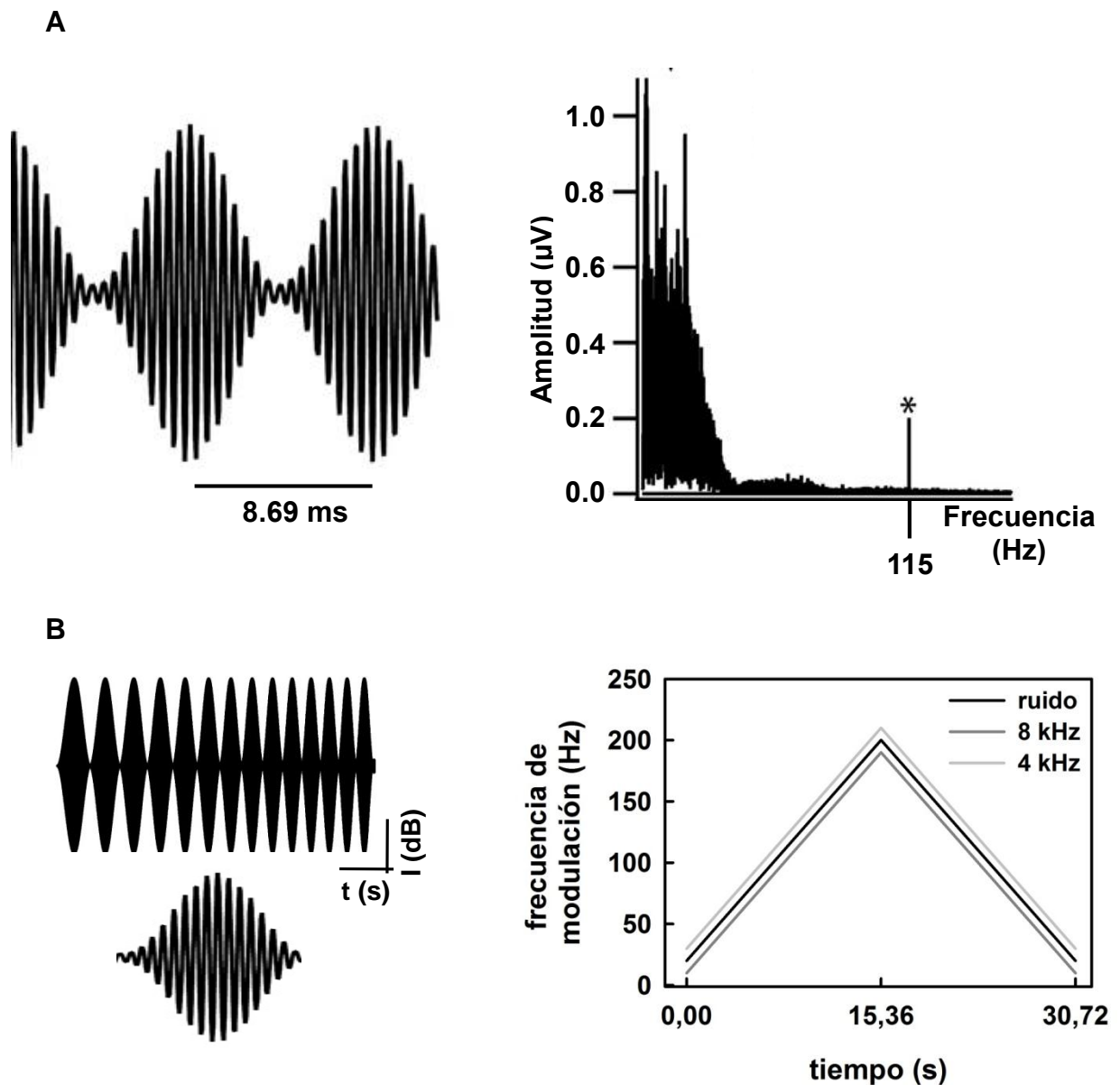


Fig. 7: Representación esquemática de estímulos acústicos utilizados para la obtención de potenciales evocados auditivos.

- A) Tono continuo de amplitud modulada empleado para generar potenciales evocados auditivos de estado estable. El panel izquierdo muestra el oscilograma de un estímulo modulado en amplitud a 115 Hz mientras que el panel derecho muestra el espectro de potencia de un registro electrofisiológico obtenido en respuesta al estímulo. El pico en 115 Hz (señalado con un asterisco) corresponde a la respuesta auditiva.
- B) Fragmento de un estímulo empleado para generar la respuesta de seguimiento de la modulación. Nótese en el panel izquierdo las variaciones en la frecuencia de modulación de amplitud. En la sección inferior se representan las oscilaciones del estímulo durante un ciclo de modulación. En el panel derecho se representa el barrido lineal de frecuencias de modulación para los estímulos empleados en los experimentos.

al modular la amplitud de cada tono con cada uno de los valores de profundidad de modulación mencionados en esta sección del documento. Además, fue analizada la amplitud de la respuesta a cada una de las profundidades de modulación, cuando los animales fueron estimulados con tonos de intensidad supra-umbral. Para ello, fueron construidas curvas de intensidad umbral y de amplitud del PEAE contra la profundidad de modulación. En el caso de las respuestas umbrales, las curvas fueron ajustadas a la siguiente función exponencial ($r^2 > 0.85$, $p < 0.05$): $Iu = Iu_0 e^{-(\%mod - \%mod_0)/\tau}$, donde Iu representa la intensidad umbral obtenida a una determinada profundidad de modulación ($\%mod$), Iu_0 la intensidad umbral máxima (obtenida a la profundidad de modulación $\%mod_0$) y τ la constante de tiempo de la función, definida como el $\%mod$ al cual Iu varió 0.63 veces Iu_0 . La disminución del umbral del PEAE en función de la profundidad de modulación fue tomada como la diferencia entre el umbral de respuesta máximo y el obtenido a la profundidad de modulación correspondiente a tres veces la τ de la función exponencial (valor equivalente a una disminución de la intensidad umbral del 95 %).

Los datos fueron sometidos a la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnoff. Como estadígrafos de posición y dispersión fueron utilizados la media, la desviación estándar y el error estándar de la media. Los promedios de intensidad umbral de los animales adultos fueron comparados mediante un ANOVA bi-factorial, utilizando como factores la frecuencia del tono y la profundidad de modulación. Esta prueba estadística fue también utilizada para estudiar el efecto de la intensidad y la profundidad de modulación sobre la amplitud del PEAE producido por cada uno de los estímulos incluidos en el estudio. Igualmente fue empleada para comparar los umbrales de PEAE de los diferentes grupos etarios, obtenidos para cada tono al variar la profundidad de modulación. El efecto de la edad sobre la disminución del umbral en función de la profundidad de modulación fue analizado mediante un ANOVA de clasificación simple. Las amplitudes de PEAE de los diferentes grupos etarios, obtenidas frente a tonos de 8 kHz de igual intensidad pero con diferentes profundidades de modulación, fueron analizadas con un ANOVA bi-factorial. Esta misma prueba fue usada para comparar las amplitudes de respuesta de los distintos grupos, cuando los estímulos tuvieron +30 dB de intensidad en relación al umbral y diferentes profundidades de modulación. En los casos en que existieron diferencias significativas entre las medias, fue utilizada la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($p < 0.05$).

3.1.5. Estimulación acústica para la generación de la RSM

Los estímulos acústicos fueron generados mediante el sistema de estimulación y adquisición de potenciales evocados auditivos MASTER (John y Picton 2000; www.mastersystem.ca), a través

del programa SWEEP_V1, desarrollado para la obtención y procesamiento de la respuesta de seguimiento de la modulación (RSM). El diagrama en bloque del equipamiento y los pasos utilizados se corresponden con lo mostrado en la figura 6.

La intensidad de estimulación fue controlada mediante un audiómetro Madsen Orbiter 922-2 y los estímulos fueron presentados monoauralmente en el oído derecho del animal a través de audífonos de inserción ER 3A Etymotic Research. La señal de estimulación consistió en tonos de 4 kHz u 8 kHz modulados en amplitud y ruido de banda ancha (RBA) modulado en amplitud. El pico de intensidad para el RBA fue obtenido a 3.4 kHz con una atenuación de 3 dB a 2.1 y 4.2 kHz, y de 7 dB a 1.2 y 5.3 kHz.

La profundidad de modulación de amplitud de todos los estímulos fue 100 %. Esta profundidad de modulación es equivalente a la empleada en estudios de la maduración del PEAE de humanos (Savio *et al.* 2001) y en otros que describen la RSM (Artieda *et al.* 2004; Perez-Alcazar *et al.* 2008; Purcell *et al.* 2004). La frecuencia de modulación de amplitud fue variada linealmente a lo largo de la estimulación (Fig. 7 B). Para el caso del RBA, el barrido de frecuencias de modulación fue realizado entre 20-200 Hz, mientras que la amplitud de los tonos de 4 kHz y 8 kHz fue modulada a frecuencias entre 10-190 Hz y 30-210 Hz, respectivamente. La frecuencia de modulación fue incrementada en la primera mitad de cada barrido desde su valor mínimo hasta el máximo. En la segunda mitad, fue disminuida en simetría con la primera. Cada barrido de frecuencias tuvo una duración de 30.72 s (Fig. 7 B, panel derecho). En total, para cada tipo de estímulo fueron presentados 30 barridos de forma continua.

Para los animales adultos, diferentes intensidades de estimulación fueron presentadas en orden ascendente, con pasos de 10 dB entre 30 dB SPL y 70 dB SPL y pasos de 5 dB entre 70 dB SPL y 80 dB SPL. Para el resto de los grupos, la intensidad fue fijada en 80 dB SPL. Todos los valores de intensidades están referidos a una oído artificial Brüel & Kjær (modelo 4152). La calibración del sistema de estimulación fue realizada con un sonómetro Brüel & Kjær (modelo 2250), un micrófono Brüel & Kjær (modelo 4144) y un acoplador de 2 cc Brüel & Kjær (modelo DB-0138).

3.1.6. Registro de la RSM

La actividad eléctrica cerebral fue obtenida con el sistema MASTER. La respuesta auditiva fue registrada diferencialmente con electrodos subcutáneos situados en el vértice de la cabeza del animal (electrodo positivo), en el cuello (electrodo negativo) y en el abdomen (electrodo a tierra). Los registros fueron amplificados con una ganancia de 10^3 y filtrados entre 10 Hz y 300 Hz

mediante un amplificador Grass P55C. La tarjeta de adquisición utilizada (National Instruments) aplicó una ganancia adicional de cinco. Posteriormente, la señal fue digitalizada con una resolución de 16 bit y 2 kHz de frecuencia de muestreo.

3.1.7. Procesamiento y análisis estadístico de la RSM

El análisis de las respuestas fue realizado fuera de línea. El fragmento de registro correspondiente a cada barrido de frecuencias de modulación fue a su vez dividido en segmentos de 1.024 s. La media y la desviación estándar del ruido fueron estimadas para cada barrido y también para cada segmento de 1.024 s, en una banda de frecuencias que incluía la respuesta electrofisiológica (10-210 Hz). Fueron rechazados aquellos segmentos con nivel medio de ruido superior en 1.5 desviaciones estándar a la media de ruido del barrido. Como consecuencia, el número de segmentos podía variar entre los diferentes registros. De igual manera, podía variar la posición en el registro de estos segmentos eliminados. De forma general, menos del 4 % de los segmentos fueron eliminados y estos estuvieron aleatoriamente distribuidos a lo largo del registro.

Los registros obtenidos en respuesta a los 30 barridos de frecuencia de modulación fueron promediados de manera sincrónica en el dominio del tiempo. Para la extracción de la RSM fue utilizado un analizador de Fourier con sinusoides de referencia ortogonal, ajustadas a la frecuencia instantánea de modulación del estímulo. Este método relaciona la respuesta registrada con una oscilación de referencia que no necesita ser estacionaria (Regan 1989). En él, la estimación de la amplitud y la fase de la respuesta dependen de la alineación que exista entre las oscilaciones del registro y las de referencia (estímulo en este caso). A mayor sincronismo entre ellas, mayor confiabilidad en la estimación. Debido al período de latencia, la oscilación de la respuesta presenta un retardo en relación a la del estímulo. La corrección de este retardo es necesaria en dependencia de la velocidad del barrido de frecuencias de modulación, la resolución espectral del analizador de Fourier y la latencia de la respuesta. En nuestro caso, el barrido de frecuencias de se realizó a 11.7 Hz/s y la ventana de análisis fue de 1.024 s (representa una resolución espectral de 0.98 Hz). El empleo de la ventana de análisis y de la velocidad de barrido mencionados, unido a que la latencia de los potenciales evocados auditivos de tallo cerebral de ratas es inferior a 10 ms (Blatchley *et al.* 1987), permiten realizar una correcta estimación de la amplitud y la fase de la respuesta sin necesidad de ajustar el desfase existente entre la respuesta auditiva y la oscilación de referencia del analizador de Fourier (Aiken y Picton 2006).

Las señales obtenidas con el analizador de Fourier fueron filtradas mediante filtros simples de vagón (del inglés *boxcar*) de 1.024 s. Debido a la simetría entre las dos mitades del barrido de frecuencias de modulación, la señal producida por la segunda mitad fue invertida y promediada con la obtenida en respuesta a la primera. Este procedimiento hizo posible mejorar la relación señal ruido del registro.

La RSM fue analizada en la banda de frecuencias de 90-190 Hz. En esta gama, la función de transferencia de la modulación temporal, obtenida en ratas a nivel psicofísico, tiene las mismas características que la de otras especies de mamíferos, incluyendo el humano (ver Fig. 3, pág. 22) (Kelly *et al.* 2006). La respuesta a bajas frecuencias de modulación fue excluida debido a que la ketamina incrementa la amplitud de la RSM a esas frecuencias (Kuwada *et al.* 2002; Plourde *et al.* 1997). Las amplitudes obtenidas con frecuencias inferiores a 70 Hz fueron altamente variables y no reproducibles.

Los valores de cada una de las variables de respuesta mostraron distribución normal y homogeneidad de varianza. Fueron utilizados, como estadígrafos de posición y dispersión, la media, la desviación estándar y el error estándar de la media.

Para los animales de 70 DPN, fue realizado un ANOVA de clasificación simple para comparar los valores medios de frecuencia de modulación óptima (FMO, frecuencia a la cual la amplitud de la respuesta alcanzó su máximo valor) obtenidos cuando los diferentes estímulos tuvieron una intensidad de 80 dB SPL. Esta prueba fue igualmente empleada para comparar las FMO de las respuestas evocadas por diferentes intensidades de un mismo estímulo.

Además, fue comparada la amplitud de la respuesta generada por cada estímulo, a cada una de las frecuencias de modulación. Para ello, los datos (amplitud contra frecuencia de modulación entre 90 y 190 Hz) fueron ajustados y suavizados con funciones *spline* cúbicas ($r^2 > 0.99$, $p < 0.001$). Las medias de las funciones suavizadas fueron comparadas por pares mediante pruebas de permutación (1000 permutaciones, $p < 0.05$) (Lage-Castellanos *et al.* 2010).

El analizador de Fourier, además de estimar la amplitud de la respuesta electrofisiológica, también proporciona información acerca de la fase de la oscilación. Esta última puede ser utilizada para estimar el retardo neural (latencia) de la RSM (Kuwada *et al.*, 2002; Pauli-Magnus *et al.* 2007). El retardo neural (Δt) fue calculado para los diferentes tipos de estímulos a intensidad fija de 80 dB SPL, en los animales de 70 DPN. Debido a la relación lineal existente entre la fase de la respuesta y la frecuencia de modulación del estímulo, Δt fue calculado a partir de la

pendiente (m) de la recta teórica de regresión entre estos dos parámetros mediante la ecuación $\Delta t = |m/360^\circ|$. Como criterio de linealidad fue tomado $r^2 > 0.98$, $p < 0.05$.

Las siguientes variables electrofisiológicas fueron también estudiadas en el resto de los grupos experimentales: amplitud máxima de la RSM, FMO de la respuesta y pendiente de la recta de regresión entre la amplitud y la frecuencia de modulación del estímulo (para frecuencias de modulación superiores a la FMO). Para este último objetivo, los datos fueron ajustados a funciones lineales ($r^2 > 0.95$, $p < 0.05$). El efecto de la edad y de la composición espectral del estímulo sobre la FMO fue analizado mediante un ANOVA bi-factorial. Esta misma prueba fue empleada para estudiar el efecto de la edad y del tipo de estímulo sobre la amplitud de la respuesta a la FMO y sobre la pendiente de caída de amplitud en función de la frecuencia de modulación. En los casos que existieron diferencias significativas entre las medias, fue realizada una prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($p < 0.05$).

3.2. Procesamiento temporal auditivo en animales sordos

3.2.1. Sujetos experimentales y modelo de sordera

Esta etapa del trabajo fue realizada utilizando curieles (*Cavia porcellus*) como modelo experimental. Los potenciales cocleares en esta especie pueden registrarse incluso en estadios embrionarios de desarrollo. Estos animales tienen sensaciones auditivas desde el momento del nacimiento y además presentan una velocidad de maduración muy superior a la de las ratas (Pujol y Hilding 1973; Tokui *et al.* 2005). Como consecuencia, no constituyen el modelo experimental adecuado para realizar estudios de maduración. Sin embargo, es una especie ampliamente utilizada en estudios acerca de la respuesta auditiva provocada por estímulos eléctricos intracocleares en individuos sordos. Esto se debe a que, a diferencia de ratas, la cóclea de *C. porcellus* tiene un tamaño relativamente grande, lo cual permite la implantación del arreglo de electrodos intracoclear.

A cada uno de los 18 animales de la muestra experimental le fue realizado un examen otoscópico de la membrana timpánica y una prueba de audición mediante potenciales evocados auditivos de tallo cerebral (PEATC). Ninguno de los especímenes presentó daños en la membrana timpánica.

Para el registro de los PEATC, los animales fueron anestesiados con una inyección intramuscular de Ketamina (60 mg/kg) y Xilacina (3.8 mg/kg). Posteriormente fueron colocados en una cámara de silencio para animales de experimentación. Antes de cada sesión experimental, el nivel de ruido en el interior de la cámara fue medido con un sonómetro Brüel & Kjær (modelo 2250) y un

micrófono Brüel & Kjær (modelo 4189). La máxima intensidad de ruido obtenido fue típicamente inferior a 18 dB SPL, para frecuencias entre 50 Hz y 10 kHz, e inferior a 7 dB, para frecuencias entre 10.5 kHz y 18 kHz.

Los individuos fueron estimulados con chasquidos de 100 μ s de duración, presentados a una frecuencia de repetición de 33 Hz. Los chasquidos fueron generados empleando un procesador multifunciones RX6-A2 (Tucker-Davis Technologies). Las intensidades de estimulación fueron presentadas en pasos descendentes de 10 dB desde 70 dB SPL hasta intensidades sub-umbrales. Como transductor fue utilizada una bocina Richard Allen DT-20 situada en posición lateral al eje longitudinal del animal, a 10 cm de distancia del pabellón auricular del oído en estudio. La entrada auditiva del oído no estimulado fue bloqueada con un compuesto moldeador (Otoform®). La emisión de chasquidos del sistema fue calibrada con un sonómetro Brüel & Kjær (modelo 2250) y un micrófono Brüel & Kjær (modelo 4189), de manera que la máxima intensidad detectable a 10 cm de la bocina fuese 98 dB SPL.

El registro de la señal electrofisiológica fue realizado con una estación de neurofisiología RZ2 (Tucker-Davis Technologies). Fueron utilizados los mismos parámetros de registro que los descritos en próximas secciones para la adquisición del potencial evocado auditivo de tallo cerebral generado por estimulación eléctrica (PEATC-e). Como intensidad umbral fue definida la mínima intensidad de estimulación requerida para generar PEATC con un pico III (pico localizado en una ventana temporal de 2.25 a 3.25 ms a continuación del comienzo de la respuesta), de amplitud mayor que 0.25 μ V. Todos los individuos estudiados tuvieron umbrales auditivos normales, inferiores a 38 dB SPL.

Posteriormente, a cada uno de los animales le fue inducida una sordera bilateral con la administración subcutánea de Kanamicina (300 mg/kg) e intravenosa de Furosemida (150 mg/kg). La presencia y severidad del daño auditivo fueron evaluadas mediante la repetición del estudio una semana después del tratamiento ototóxico. Los animales con umbrales superiores a 90 dB SPL fueron considerados individuos con sordera bilateral profunda. Fueron conformados tres grupos experimentales: animales con sordera de una semana, animales con sordera de cuatro semanas y animales sordos durante 12 semanas.

3.2.2. Cirugía

Cada individuo fue implantado con un arreglo de electrodos de ocho contactos (Cochlear Ltd.). El implante fue colocado el mismo día de la realización del experimento. Para ello, los animales

fueron colocados en un marco esterotáxico para roedores pequeños con adaptadores para curieles (David Kopf). La anestesia inicial fue inducida por la administración intramuscular de Ketamina (60 mg/kg) y Xilacina (3.8 mg/kg). Además, les fue administrado sulfato de atropina para disminuir las secreciones mucosas. Durante toda la cirugía fueron administradas sistemáticamente dosis suplementarias de anestesia para mantener al individuo en un estado en el que no mostrara reflejos motores. De manera general, estas fueron un tercio de la dosis inicial. Durante todo el procedimiento, la temperatura corporal fue mantenida a 37.0 ± 0.1 °C empleando un sistema de calentamiento con retroalimentación electrónica diseñado en el laboratorio. El nivel de narcosis fue monitoreado durante el experimento a través de un osciloscopio y el programa de registro de potenciales evocados.

La *bulla* derecha de cada animal fue expuesta y perforada, visualizándose el caracol auditivo. Fue realizada una incisión en la membrana de la ventana redonda y el arreglo de electrodos fue insertado en la escala timpánica, de manera que al menos 6 electrodos se posicionaran en el interior de la cóclea. La ventana redonda fue cubierta con una capa de músculo. Finalmente, el arreglo de electrodos fue conectado a un receptor-estimulador Nucleus® CI24RE (Cochlear Ltd.) para la posterior estimulación eléctrica de la cóclea y para la obtención de registros electrofisiológicos. Todas las sesiones experimentales comenzaron en la mañana y su duración varió entre 12 y 15 horas.

3.2.3. Estimulación eléctrica empleada para generar PEATC-e

El diagrama en bloque de los pasos de adquisición del PEATC-e es mostrado en la figura 8 A. Los estímulos fueron generados con un procesador de voz Laura™ MAX (Cochlear Ltd.), acoplado a un receptor-estimulador Nucleus® CI24RE, utilizando un sistema de transmisión de datos mediante radio-frecuencias. Los estímulos fueron pulsos de corriente bifásicos balanceados en carga. Fue utilizado un patrón de estimulación bipolar, aplicado a través del par apical de electrodos del arreglo. El electrodo apical del par fue utilizado como cátodo en la primera fase del pulso eléctrico.

Fue estudiado el efecto de las características temporales de los estímulos eléctricos intracocleares sobre la amplitud del potencial evocado. Para ello, fueron empleados estímulos que se diferenciaron en la duración de las fases (DF), el tiempo entre fases (TEF) y el tiempo entre estímulos (TEE). El efecto de la DF fue estudiado con pulsos de 104 μ s/fase y 208 μ s/fase, repetidos a 33 Hz. En ambos casos se utilizó un TEF de 8 μ s (Fig. 9 A). La selección de los valores de DF estuvo basada en la relación que existe entre esta variable y el umbral de la respuesta

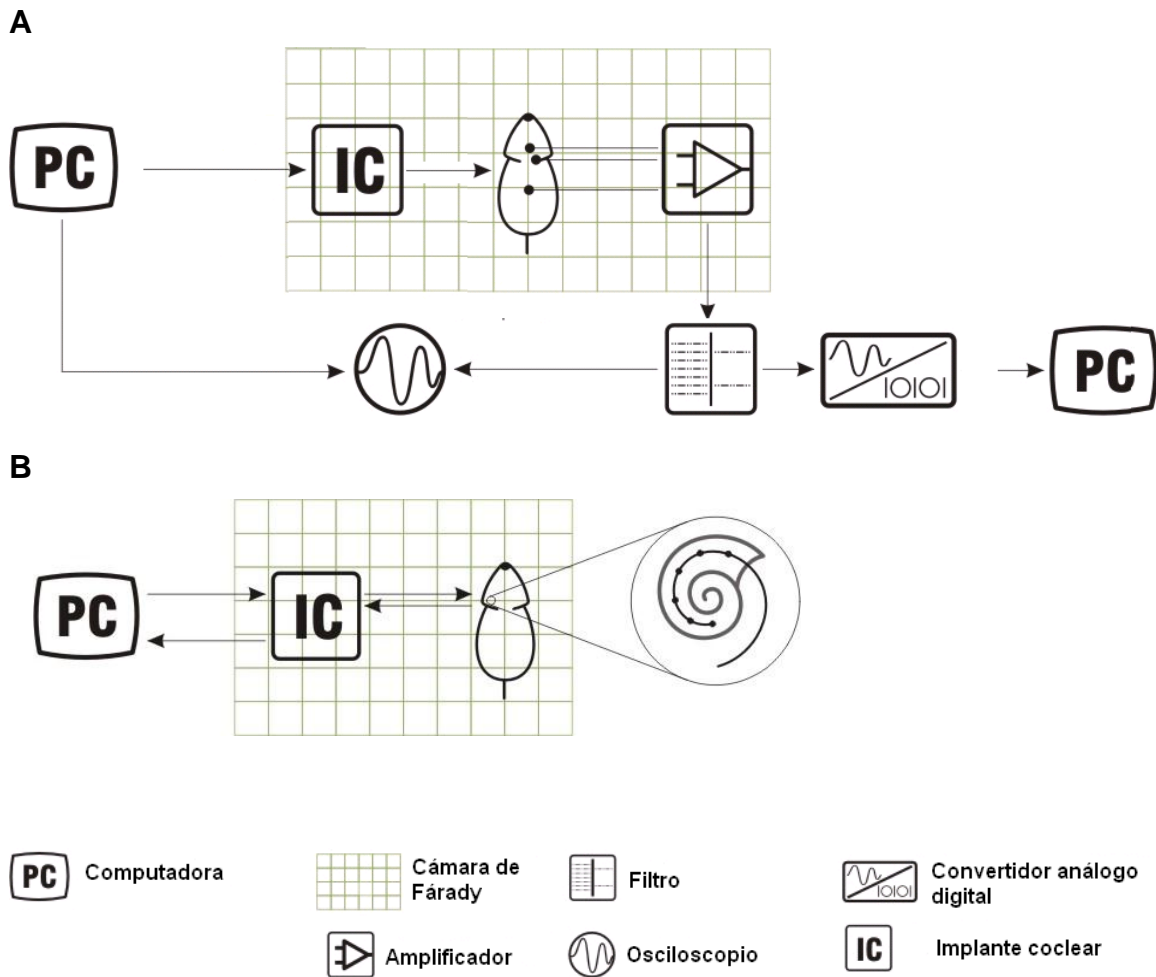


Fig. 8: Diagrama en bloques de los equipos utilizados para la obtención de diferentes tipos de potenciales evocados generados por estímulos eléctricos intracocleares.

- A) Equipamiento empleado para la obtención de potenciales evocados auditivos de tallo cerebral generados por estimulación eléctrica.
- B) Equipos empleados para la obtención de potenciales de acción compuestos del nervio auditivo generados por estimulación eléctrica.

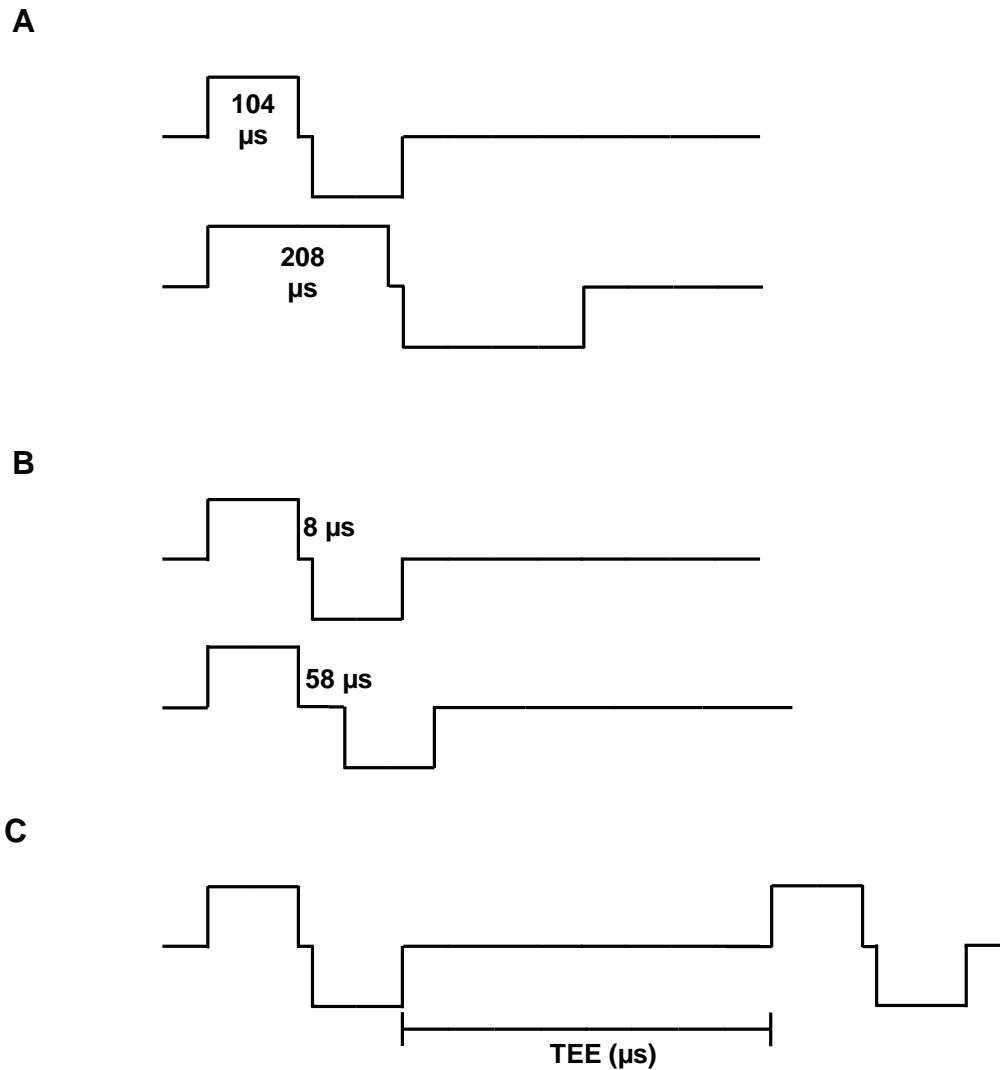


Fig. 9: Esquema de los estímulos utilizados para analizar el efecto de los parámetros temporales de la estimulación intracoclear sobre la amplitud de los potenciales evocados auditivos de curieles sordos.

- A) Pulsos eléctricos utilizados para estudiar el efecto de la duración del estímulo sobre la amplitud del PEATC-e. Se representan las duraciones de fase empleadas.
- B) Estímulos eléctricos utilizados para estudiar el efecto del tiempo entre fases sobre la amplitud del PEATC-e y el PAC-e. Se muestran los valores de TEF utilizados.
- C) Representación de un par de pulsos de corriente. Se señala el tiempo entre estímulos, variable empleada para estudiar la función de recuperación del PEATC-e y el PAC-e.

auditiva. Debido a que la gama de DF utilizada por los implantes cocleares es de 20 $\mu\text{s}/\text{fase}$ a 200 $\mu\text{s}/\text{fase}$ aproximadamente, 104 $\mu\text{s}/\text{fase}$ y 208 $\mu\text{s}/\text{fase}$ representan estímulos de media y larga duración, respectivamente. Esto hacía posible lograr la respuesta del sistema auditivo con intensidades de estimulación relativamente bajas.

Con el objetivo de analizar el efecto del TEF sobre la respuesta auditiva, los animales fueron estimulados con series de pulsos con un tiempo entre fases de 8 μs y 58 μs . En ambos tipos de series, la duración del pulso fue de 104 $\mu\text{s}/\text{fase}$ (Fig. 9 B). La frecuencia de repetición fue de 33 Hz. Los TEF fueron seleccionados sobre la base de la relación que existe entre esta variable y la probabilidad de que el estímulo eléctrico genere corrientes directas entre diferentes regiones cocleares. Debido a esta relación, el TEF máximo que puede utilizarse es de 100 μs . Por tanto, 8 μs y 58 μs representan TEF de corta y mediana duración. Como consecuencia, son estímulos que tienen baja probabilidad de generar corrientes directas y en los cuales la fase negativa tiene un papel importante en la respuesta auditiva.

Para cada tipo de pulso, la intensidad de estimulación fue variada desde 255 niveles de corriente (NC) hasta un valor sub-umbral. En el implante utilizado, la dependencia entre la intensidad de estimulación expresada en μA y la expresada en NC está dada por la ecuación $I(\mu\text{A}) = 17.5 \times 100^{NC/255}$, donde I representa la intensidad de corriente según el sistema internacional de medidas y NC representa la intensidad expresada en niveles de corriente. Cada paso de corriente (1 NC) corresponde con un cambio de intensidad de estimulación de 0.16 dB. Las series de estímulos fueron presentadas en orden decreciente en pasos de 5 NC desde 255 NC hasta 200 NC, y de 10 NC desde 200 NC hasta un valor de intensidad en el que no se encontrase respuesta. Posteriormente eran presentadas series en orden ascendente de intensidad, en pasos de 1 NC hasta la intensidad umbral.

Con el objetivo de estudiar las propiedades refractarias del PEATC-e, los animales fueron estimulados con pares de pulsos eléctricos (estímulo máscara y estímulo de interés o de prueba) de 104 $\mu\text{s}/\text{fase}$ y 8 μs de tiempo entre fases, con una frecuencia de repetición de 33 Hz. La intensidad de estimulación fue fijada a 6 dB, 12 dB o 18 dB por encima del umbral del PEATC-e. La tabla con las intensidades empleadas, expresadas en NC, es mostrada en el ANEXO 3. Fueron utilizados los siguientes tiempos entre estímulos (TEE): 5 ms, 4 ms, 3 ms, 2 ms, 1.5 ms, 1 ms, 0.8 ms, 0.7 ms, 0.5 ms, 0.4 ms y 0.3 ms. Una vez concluida la estimulación con pares de pulsos a un

determinado TEE, los animales fueron estimulados con series formadas solamente por el estímulo máscara repetido a 33 Hz.

3.2.4. Registro de PEATC-e

La actividad eléctrica fue registrada diferencialmente con electrodos subcutáneos, situados en el vértice de la cabeza del animal (electrodo positivo), en el cuello (electrodo negativo) y en el abdomen (electrodo a tierra). Las señales fueron amplificadas con una ganancia de 10^5 , filtradas entre 150 Hz y 3 kHz y digitalizadas a 20 kHz, con una resolución de 10 bits. El tiempo de registro fue de 12.5 ms a partir de la presentación del estímulo. De manera simultánea a la digitalización, tanto el estímulo eléctrico como los registros fueron monitoreados en la pantalla de un osciloscopio. Estos últimos fueron obtenidos a partir de la promediación de las respuestas a los primeros 500 estímulos. La intensidad umbral de este tipo de respuesta corresponde con la definición dada para el umbral del PEATC.

3.2.5 Estimulación eléctrica empleada para generar PAC-e

Los potenciales de acción compuestos del nervio auditivo (PAC-e) fueron obtenidos utilizando el sistema de telemetría de respuesta neuronal (NRT[®] por sus siglas en inglés) del programa Nucleus[®] NPE (Cochlear Ltd.). Tanto para la generación de los pulsos de estimulación como para el registro de la respuesta del nervio fue utilizado un implante coclear Nucleus[®] 24RE. A su vez, el implante fue conectado a una computadora para la visualización y procesamiento de los registros electrofisiológicos (Fig. 8 B).

Los PAC-e fueron generados con estimulación eléctrica bipolar, aplicada a través del par de electrodos apical del implante. El electrodo apical del par funcionaba como cátodo en la primera fase del estímulo. Debido a que los PAC-e fueron registrados con dos de los anillos del arreglo de electrodos y a que su amplitud es aproximadamente tres órdenes de magnitud menor que el campo eléctrico asociado a la estimulación, fue necesario emplear métodos de reducción de artefactos (Alvarez *et al.* 2007; Bahmer y Baumann 2010b; Klop *et al.* 2004; Miller *et al.* 2001). El PAC-e fue discriminado mediante el algoritmo de enmascaramiento que se muestra en la figura 10 (Brown *et al.* 1990; Dillier *et al.* 2002).

El método de enmascaramiento se basa en obtener la diferencia entre el potencial evocado que se registra cuando las neuronas se encuentran en un estado no refractario y el potencial registrado cuando sí lo están (Bear *et al.* 1997). En un primer paso, la cóclea es estimulada con el pulso de interés, o estímulo prueba (secuencia A₁ en la figura 10). En una segunda secuencia, el

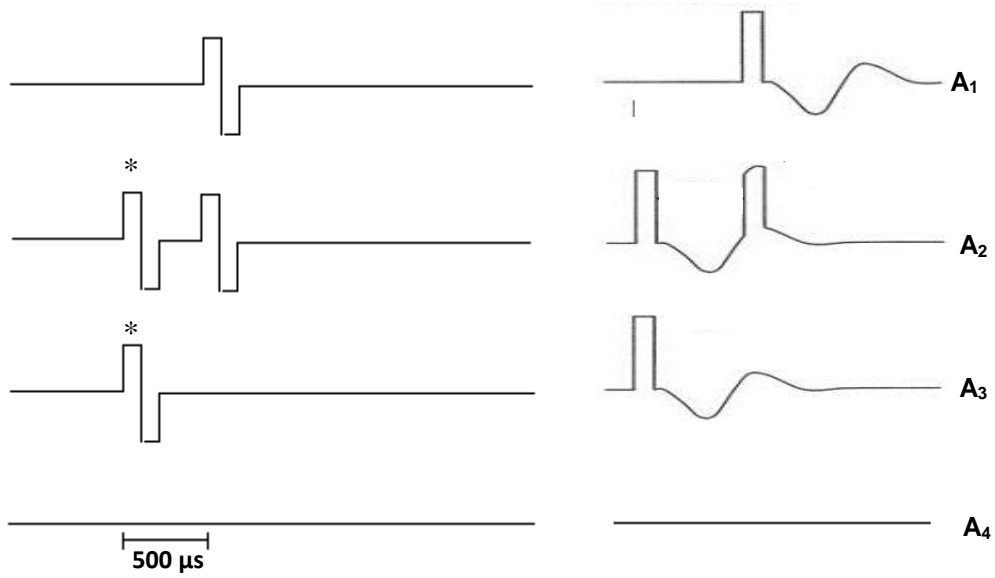


Fig. 10: Esquema de los estímulos utilizados para la obtención de PAC-e mediante el sistema de telemetría de respuesta neuronal. En el panel derecho se muestran representaciones de los registros obtenidos.

A₁) Secuencia donde el individuo solo es estimulado con el estímulo de interés.

A₂) Serie que contiene tanto el estímulo prueba como el estímulo máscara (señalado con un asterisco). Nótese que ambos pulsos de corriente tienen la misma intensidad.

A₃) Serie que sólo contiene el estímulo máscara.

A₄) Secuencia sin estimulación.

estímulo prueba es antecedido por otro pulso de corriente, denominado estímulo máscara (secuencia A_2 en la figura 10). El tiempo entre ambos pulsos debe ser lo suficientemente pequeño como para garantizar que las neuronas del nervio se encuentren en periodo refractario en el momento en que el segundo estímulo es presentado. Sin embargo, este registro todavía se encuentra contaminado por el artefacto de estimulación de la máscara, por lo que es necesario realizar otras dos secuencias de estimulación. En la primera, la cóclea es estimulada solamente con el pulso de enmascaramiento y en la otra, es realizado un registro sin estimulación (secuencias A_3 y A_4 en la figura 10). Finalmente, el PAC-e es obtenido a partir de la ecuación $A = A_1 - [A_2 - (A_3 - A_4)]$; donde A representa el registro resultante, mientras A_1 , A_2 , A_3 y A_4 representan los registros obtenidos en cada secuencia de estimulación.

Para analizar el efecto del TEF sobre la amplitud del potencial evocado, fueron utilizados pulsos de corriente con las mismas características temporales que los empleados para analizar el efecto de este parámetro de estimulación sobre el PEATC-e. La intensidad de la corriente fue la misma tanto para el estímulo de interés como para el estímulo máscara. El tiempo entre estímulos (TEE) fue de 500 μ s. Fueron realizadas series de estimulación desde 255 NC hasta la intensidad umbral, presentadas en el mismo orden descrito anteriormente para obtener la función intensidad/respuesta del PEATC-e. En cada serie fueron realizadas 100 presentaciones de las secuencias de estimulación, a una frecuencia de repetición de 33 Hz.

Para estudiar la función de recuperación, fueron utilizados pares de pulsos eléctricos de 104 μ s/fase y 8 μ s de TEF, repetidos a una frecuencia de 33 Hz. Las intensidades de estimulación y los TEE fueron los mismos que los descritos previamente para el PEATC-e.

3.2.6. Registro de PAC-e

La respuesta neuronal fue registrada diferencialmente utilizando un par de electrodos consecutivos del arreglo, lo más lejano posible del sitio de estimulación. Como electrodo positivo fue utilizado el anillo apical del par seleccionado. Antes de la realización de cada serie experimental, la ganancia de la amplificación y la sincronía entre el estímulo y el registro fueron variadas para obtener señales en las que los picos P_1 y N_2 fuesen claramente definibles. Típicamente, la ganancia de la amplificación tuvo valores entre 40 dB y 70 dB. Mientras, el retardo del registro varió entre 48 μ s y 101 μ s. Una vez obtenidos los valores adecuados de estos parámetros, fueron mantenidos durante todo el experimento.

Al igual que la respuesta de tallo cerebral, el PAC-e fue obtenido con intensidades de estimulación desde 255 NC hasta niveles sub-umbrales. La intensidad umbral fue definida como el menor nivel de corriente requerido para generar un PAC-e donde la parte descendente de la onda P₁ del potencial tuviese una amplitud mayor que 0.2 μ V.

3.2.7. *Procesamiento y análisis estadístico del PEATC-e y del PAC-e*

A partir de las respuestas a cada una de las intensidades de estimulación, fueron construidas las funciones intensidad/respuesta de cada potencial evocado. Para eliminar las diferencias inter-individuales, los valores de amplitud fueron normalizados teniendo como referencia la mayor amplitud de potencial de la serie, al cual le fue asignado el valor 1.0. En todos los casos, el conjunto de datos fue ajustado a una función sigmoidea ($r^2 > 0.95$, $p < 0.05$).

Fue calculada la diferencia de corriente necesaria para que pulsos bifásicos con igual TEF, pero DF diferentes, generasen PEATC-e de igual amplitud. Además, fue calculada la diferencia de intensidad requerida para que pulsos de igual DF pero diferente TEF, generasen PEATC-e y PAC-e de igual amplitud. La media para cada animal fue obtenida a partir de las diferencias existentes entre los valores normalizados de amplitud localizados entre 0.2 y 0.8 en las respectivas funciones intensidad/respuesta.

Con el objetivo de estudiar la función de recuperación del PEATC-e, la respuesta al estímulo máscara fue sustraída del registro obtenido frente a pares de estímulos utilizando la siguiente ecuación: $Amp_t(REI) = Amp_t(RPE) - Amp_t(REM)$;

donde Amp_t representa la amplitud para cualquier instante de tiempo t del registro electrofisiológico, REI el registro formado solamente por la respuesta al estímulo de interés, RPE el registro obtenido en respuesta al par de estímulos y REM el registro obtenido en respuesta solamente a estímulos máscara. En todos los casos, el conjunto de datos fue ajustado a la siguiente función exponencial ($r^2 > 0.95$, $p < 0.05$): $A = A_0 [1 - e^{-(TEE - TEE_0)/\tau}]$ (1),

donde A representa la amplitud de la respuesta al estímulo de interés obtenida con un determinado TEE , A_0 la máxima amplitud de la respuesta al estímulo de interés, mientras TEE_0 representa el TEE al cual la amplitud del PEATC-e es A_0 . Por último, τ representa la constante de tiempo de la función de recuperación.

La función de recuperación del PEAC-e fue tomada como la amplitud del potencial evocado en función del TEE. Debido al método de enmascaramiento utilizado en la extracción de este potencial evocado, un incremento en su amplitud debe entenderse como un aumento del efecto

del estímulo máscara sobre la respuesta auditiva. Por tanto, la ecuación (1) fue modificada para modelar la función de recuperación del PEAC-e: $A = A_0 e^{-(TEE-TEE_0)/\tau}$.

Las variables analizadas en la función de recuperación del PEATC-e fueron la amplitud y latencia de la respuesta generada por el estímulo máscara, la latencia del PEATC-e generado por el estímulo de interés cuando el TEE fue 5 ms, la latencia de la respuesta de menor amplitud en la función de recuperación, el TEE al cual se obtuvo la mínima amplitud de respuesta al estímulo de interés y la τ de la función de recuperación. Este parámetro fue considerado el principal indicador de las propiedades refractarias del potencial evocado. En el caso del PEAC-e, fueron analizadas la latencia de la respuesta cuando el TEE fue 5 ms y la del potencial de mayor amplitud en la función de recuperación, el TEE al cual se obtuvo el PAC-e máximo y la τ de la función de recuperación.

Los datos de PEATC-e fueron sometidos a la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnoff. Como estadígrafos de posición y dispersión fueron utilizados la media, la desviación estándar y el error estándar de la media. Fue realizado un ANOVA de clasificación simple para analizar el efecto de la duración de la sordera sobre el umbral de respuesta. Esta prueba estadística también fue empleada para estudiar el efecto de la duración de la sordera sobre la diferencia de umbral del PEATC-e y la diferencia de corriente necesaria para generar potenciales evocados de igual amplitud, cuando los estímulos tuvieron diferente DF o diferente TEF. De igual manera, fue empleada para analizar el efecto de la intensidad de estimulación sobre cada uno de las características de la función de recuperación del PEATC-e en animales con sordera de una semana y para estudiar el efecto de la duración de la sordera sobre las diferentes variables de la función de recuperación. Debido al pequeño número de sujetos en los que el PAC-e fue obtenido (nueve individuos, tres animales por grupo experimental), los valores medios de los diferentes grupos no fueron comparados estadísticamente.

La diferencia media de corriente necesaria para generar PEATC-e de igual amplitud, cuando las respuestas fueron producidas por estímulos con diferentes DF y diferentes TEF, fueron correlacionadas con la densidad de neuronas del ganglio espiral empleando la prueba de correlación de Pearson ($p < 0.05$). Esta misma prueba fue empleada para correlacionar la diferencia media de corriente necesaria para generar PEAC-e de igual amplitud, cuando las respuestas fueron provocadas por estímulos con diferentes TEF, y la densidad de NGE. Además, fue utilizada para correlacionar las constantes de tiempo de las funciones de recuperación del PEATC-e y PAC-e, obtenidas a cada una de las intensidades estudiadas, con la densidad de NGE.

3.2.8. Histología

Después de finalizados los registros electrofisiológicos, cada animal fue sacrificado con una sobredosis de Lethabarb® (pentobarbital sódico, 150 mg/kg). Posteriormente, fue realizada una perfusión transcardiaca de lavado con solución de heparina tamponada con fosfato (pH=7.35) seguida de otra perfusión con solución de paraformaldehído tamponada con fosfato (pH=7.35). Los huesos temporales fueron removidos y descalcificados en una solución al 4 % de EDTA/paraformaldehído. Una vez colectadas las cócleas, estas fueron deshidratadas e incluidas en resina. A la cóclea derecha de cada animal le fueron realizados cortes seriados de 2 µm espesor. Las secciones obtenidas cada 126 µm fueron teñidas con hematoxilina y eosina.

La densidad de neuronas del ganglio espiral fue calculada para tres de las cuatro espiras del caracol auditivo. Para cada animal, este procedimiento fue realizado en cinco cortes de la región media del modiolo seleccionadas al azar. Para ello, fueron identificadas las diferentes espiras de la cóclea y fue calculada, en cada una de ellas, el área de sección transversal del canal de Rosenthal utilizando el programa de procesamiento de imágenes NIH Image (<http://rsb.info.nih.gov/nih-image/>). En cada canal, fueron contadas todas las neuronas con núcleo definido. La densidad neuronal fue determinada como la cantidad de neuronas del ganglio espiral localizadas en 1 mm² del canal. La densidad neuronal media de la cóclea fue calculada a partir de los valores de densidad obtenidos en cada uno de los canales de Rosenthal de cada corte.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. PEAAE en animales adultos

Uno de los objetivos del presente trabajo fue estudiar la maduración de la codificación de modulaciones de amplitud de estímulos acústicos en ratas a través de potenciales evocados auditivos de estado estable (PEAAE). Un primer paso fue analizar el efecto de la profundidad de modulación de amplitud de tonos con diferentes frecuencias e intensidad sobre el umbral y la amplitud de este tipo de respuesta en individuos adultos.

La figura 11 muestra oscilogramas de PEAAE en ratas adultas, generados por estímulos SAM con 95 % de profundidad de modulación. Como era de esperar, mayores amplitudes de respuesta fueron obtenidas a medida que se incrementó la intensidad del tono. Por otra parte, el incremento de la frecuencia del estímulo produjo la disminución del umbral del PEAAE y el aumento de la amplitud de la respuesta generada por tonos de igual intensidad. Al comparar las respuestas evocadas por tonos con igual frecuencia e intensidad, la amplitud del PEAAE aumentó a medida que los estímulos tuvieron mayor profundidad de modulación (Fig. 12).

Independientemente de la frecuencia de tono, la menor profundidad de modulación que produjo respuesta en individuos adultos fue 5% (Fig. 13). El umbral del PEAAE generado por cada tipo de estímulo disminuyó exponencialmente a medida que aumentó la profundidad de modulación. La mayor disminución del umbral (42.3 dB) se obtuvo frente a tonos de 8 kHz. En el caso de los PEAAE evocados por señales de 6 kHz, la caída del umbral fue 26.7 dB. Mientras, la menor disminución fue 16.3 dB, valor alcanzado frente a estímulos de 4 kHz.

Al realizar el análisis estadístico de los datos, se obtuvo que tanto el porcentaje de modulación como la frecuencia del tono tuvieron efectos significativos sobre el umbral del PEAAE ($F_{5, 113}=35.13$, $p<0.001$ y $F_{2, 113}=150.80$, $p<0.001$ para el efecto de la profundidad de modulación y la frecuencia del estímulo, respectivamente). La interacción entre estas dos variables no tuvo un efecto estadístico sobre el umbral del potencial evocado ($F_{10, 113}=1.02$, $p=0.43$). Cuando las señales acústicas fueron moduladas 5% y 10 %, la mínima intensidad de estimulación que generó respuesta auditiva no varió estadísticamente al incrementarse la frecuencia del tono. Al aumentar la profundidad de modulación, los umbrales obtenidos con estímulos de 4 kHz fueron significativamente mayores que los de las respuestas generadas por tonos de mayor frecuencia. De igual manera, los umbrales obtenidos con estímulos de 6 kHz fueron superiores estadísticamente a los del PEAAE generado por tonos de 8 kHz.

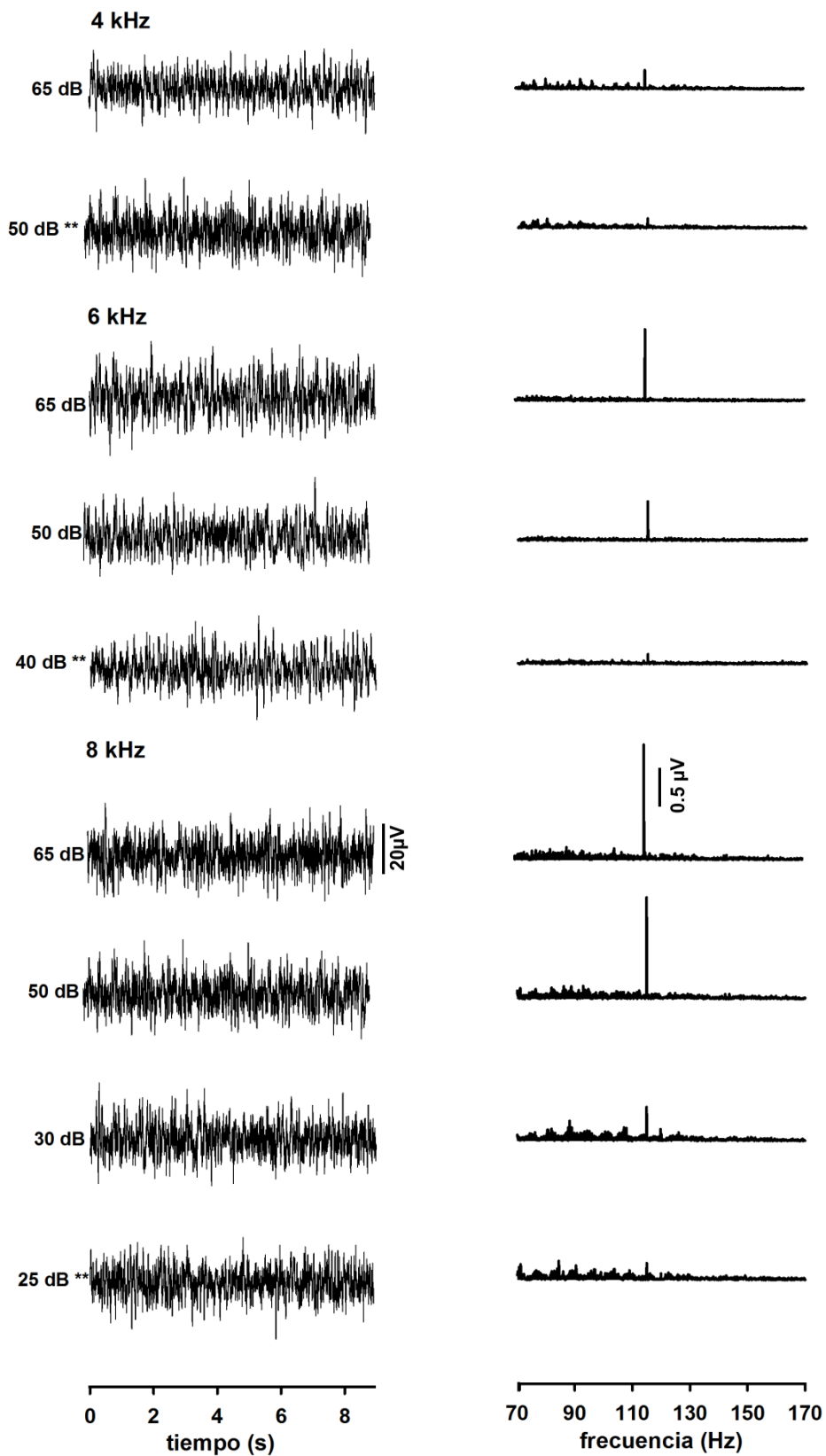


Fig. 11: Potenciales evocados auditivos de estado estable, obtenidos en ratas adultas en respuesta a tonos de diferentes frecuencias. En todos los casos, la profundidad de modulación fue 95 %. Para cada registro se señala la intensidad de estimulación empleada (en dB SPL). Los valores con asteriscos representan la intensidad umbral. Paneles izquierdos: oscilogramas de las respuestas. Paneles derechos: espectros de amplitud de las respuestas.

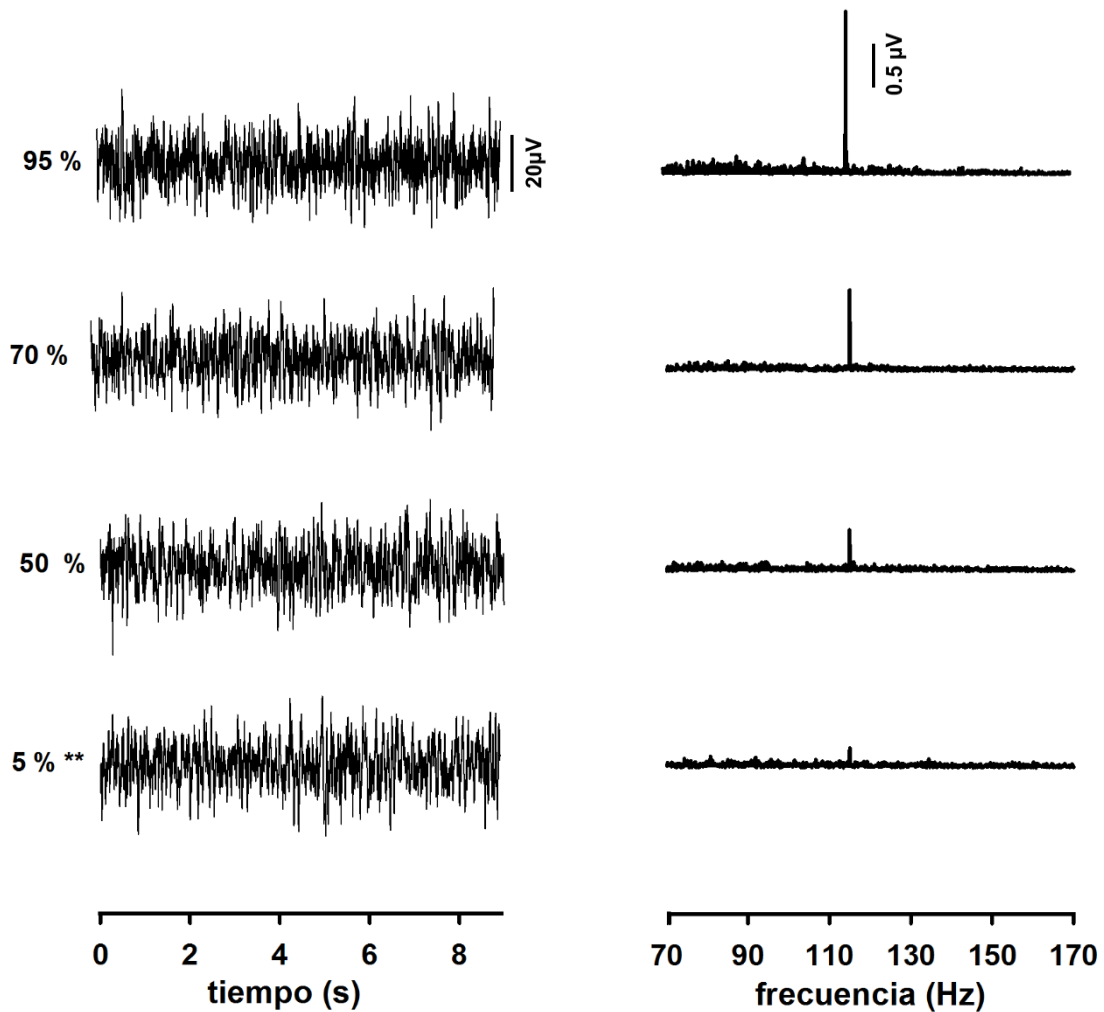


Fig. 12. Potenciales evocados auditivos de estado estable, generados en ratas adultas en respuesta a tonos de 8 kHz y 70 dB SPL. A la izquierda de cada registro se señala la profundidad de modulación del estímulo. El valor con asteriscos representa el umbral de detección de modulación de intensidad. Paneles izquierdos: oscilogramas de respuesta. Paneles derechos: espectros de amplitud de la respuesta.

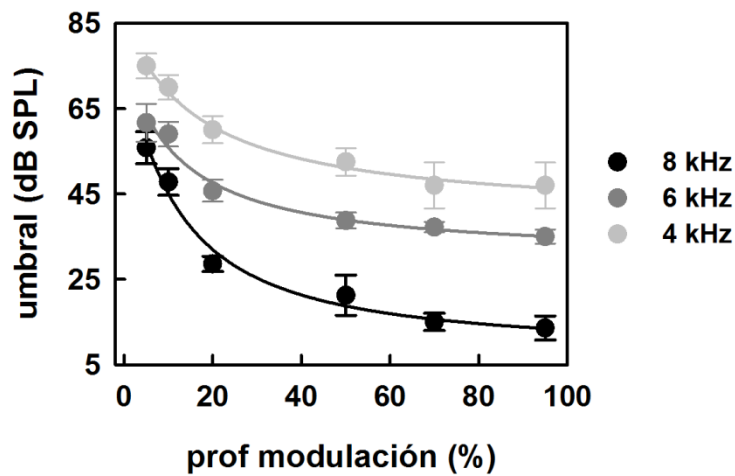


Figura 13. Relación entre la profundidad de modulación de amplitud de tonos con diferentes frecuencias y el umbral del potencial evocado auditivo de estado estable, en ratas adultas. En cada curva se representa el valor medio y el error estándar de la media obtenidos a las diferentes profundidades de modulación (N=8). Las líneas continuas representan la relación funcional existente entre las variables de estimulación y de respuesta estudiadas, obtenidas a partir de los análisis de regresión (en todos los casos: $r^2 > 0.5$, $p < 0.05$).

Excepto cuando los tonos de 4 kHz y 6 kHz tuvieron una intensidad de 30 dB SPL, todos los estímulos supra-umbrales provocaron respuestas auditivas en animales adultos (Fig. 13). Frente a estímulos de igual frecuencia, la mínima profundidad de modulación a la cual se obtuvo PEAAE tendió a disminuir al incrementarse la intensidad (Fig. 14). Además, de manera general, la amplitud de la respuesta evocada por estímulos de igual intensidad tendió a aumentar a medida que se incrementó la profundidad de modulación. Igualmente, la magnitud del potencial evocado obtenido a una determinada frecuencia y profundidad de modulación fue típicamente mayor cuando los animales se estimularon con tonos de mayor intensidad.

La amplitud del PEAAE generado por estímulos supra-umbrales dependió de la intensidad del estímulo ($F_{1,8}=11.62$, $p<0.001$; $F_{1,44}=28.68$, $p<0.001$ y $F_{2,62}=26.53$, $p<0.001$ para las respuestas producidas por tonos de 4 kHz, 6 kHz y 8 kHz, respectivamente). Además, aunque frente a señales acústicas de 4 kHz la magnitud del potencial evocado no varió significativamente con la profundidad de modulación ($F_{1,8}=0.03$, $p>0.05$), esta característica del estímulo sí tuvo un efecto significativo sobre las respuestas producidas por tonos de mayor frecuencia ($F_{3,44}=24.16$, $p<0.001$ y $F_{3,62}=10.71$, $p<0.001$ para el PEAAE generado por estímulos de 6 kHz y 8 kHz, respectivamente). Por su parte, la interacción intensidad-profundidad de modulación no tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre la amplitud del PEAAE cuando los animales fueron estimulados con tonos de 4 kHz ($F_{1,8}=0.01$, $p>0.05$) y 8 kHz ($F_{6,44}=0.82$, $p>0.05$), mientras que sí lo tuvo cuando fueron empleados tonos de 6 kHz ($F_{4,62}=3.78$, $p<0.05$). Los resultados de las pruebas de Tukey correspondientes son mostrados en las tablas 1 a la 3.

4.2. Umbrales de PEAAE en animales con diferentes estadios de maduración

Se estudiaron entonces los cambios producidos en la codificación de la profundidad de modulación durante la maduración. Las variaciones que tuvieron lugar en el umbral del PAEE fueron analizadas solamente cuando el potencial evocado fue generado por tonos de 8 kHz. Frente a este tipo de señales, ninguno de los animales del grupo estudiado a los 12 días posteriores al nacimiento (DPN) presentó respuesta auditiva, incluso cuando la intensidad del tono fue de 80 dB SPL (máximo nivel de estimulación empleado). Con esta intensidad, el potencial evocado pudo ser registrado en solo tres de los ocho individuos de 14 DPN. Por tal motivo, estos grupos etarios no fueron incluidos en los análisis.

Al comparar las respuestas obtenidas en los diferentes grupos de edades en los cuales sí se obtuvo respuesta auditiva, se observó que la mínima profundidad de modulación que generó PEAAE fue 10% en individuos con 15 DPN, (Figs. 15 panel superior y 16 A). En el resto de los animales, el nivel mínimo de modulación al cual se obtuvo respuesta fue 5 % (Fig. 15, paneles medio e inferior).

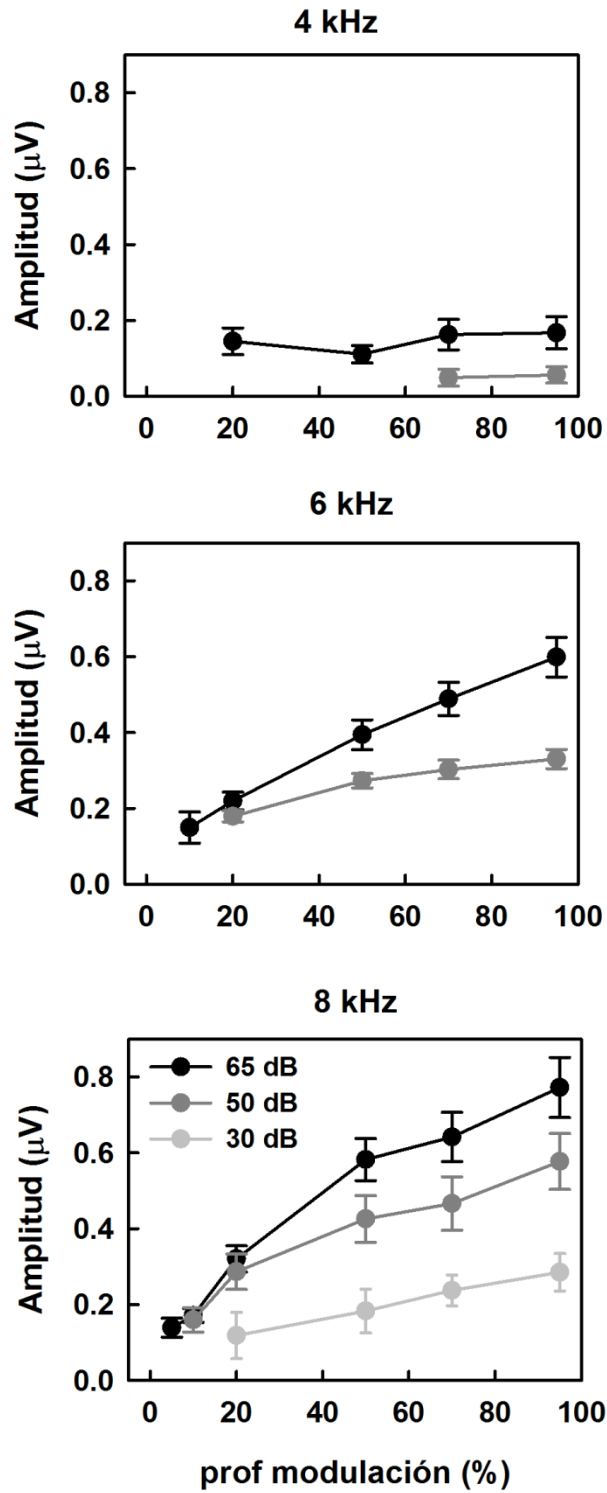


Fig. 14: Relación entre la profundidad de modulación de amplitud de estímulos acústicos y la amplitud de potenciales evocados auditivos de estado estable en ratas adultas. Las respuestas fueron generadas por tonos de diferentes frecuencias. En cada curva se representan el valor medio y el error estándar de la media obtenidos con las diferentes profundidades de modulación (N=8).

Tabla 1: Probabilidades obtenidas en la prueba de comparaciones múltiples de Tukey al analizar el efecto de la profundidad de modulación sobre la amplitud del PEAE de ratas generado por estímulos de 4 kHz y diferentes intensidades.

int.	prof. mod.	50_70	50_95	65_70
50	70			
50	95	0.880		
60	70	0.041	0.052	
65	95	0.035	0.044	0.923

Tabla 2: Probabilidades obtenidas en la prueba de comparaciones múltiples de Tukey al analizar el efecto de la profundidad de modulación sobre la amplitud del PEAE de ratas generado por estímulos de 6 kHz y diferentes intensidades.

int	prof. mod.	50_20	50_50	50_70	50_95	65_20	65_50	65_70
50	20							
50	50	0.681						
50	70	0.302	1.000					
50	95	0.093	0.970	1.000				
65	20	0.999	0.986	0.813	0.454			
65	50	0.002	0.027	0.666	0.945	0.028		
65	70	0.000	0.001	0.007	0.038	0.000	0.584	
65	95	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.328

Tabla 3: Probabilidades obtenidas en las prueba de comparaciones múltiples de Tukey al analizar el efecto de la profundidad de modulación sobre la amplitud del PEAE de ratas generado por estímulos de 8 kHz y diferentes intensidades.

int.	prof. mod.	30_20	30_50	30_70	30_95	50_20	50_50	50_70	50_95	65_20	65_50	65_70
30	20											
30	50	1.000										
30	70	0.753	0.758									
30	95	0.745	0.292	0.574								
50	20	0.021										
50	50		0.005			0.107						
50	70			0.002		0.039	0.622					
50	95				0.004	0.001	0.072	0.185				
65	20	0.022				0.843						
65	50		0.004				0.001			0.018		
65	70			0.005				0.002		0.004	0.622	
65	95				0.002				0.011	0.001	0.039	0.185

Leyenda: int.: intensidad, prof. mod: profundidad de modulación. Los títulos de las columnas de probabilidad muestran la intensidad seguido de la profundidad de modulación del estímulo.

En todas las tablas presentadas en el documento, los valores en rojo señalan diferencias estadísticamente significativas. Además, las comparaciones que no eran de interés para el estudio fueron omitidas para exponer los resultados con mayor claridad.

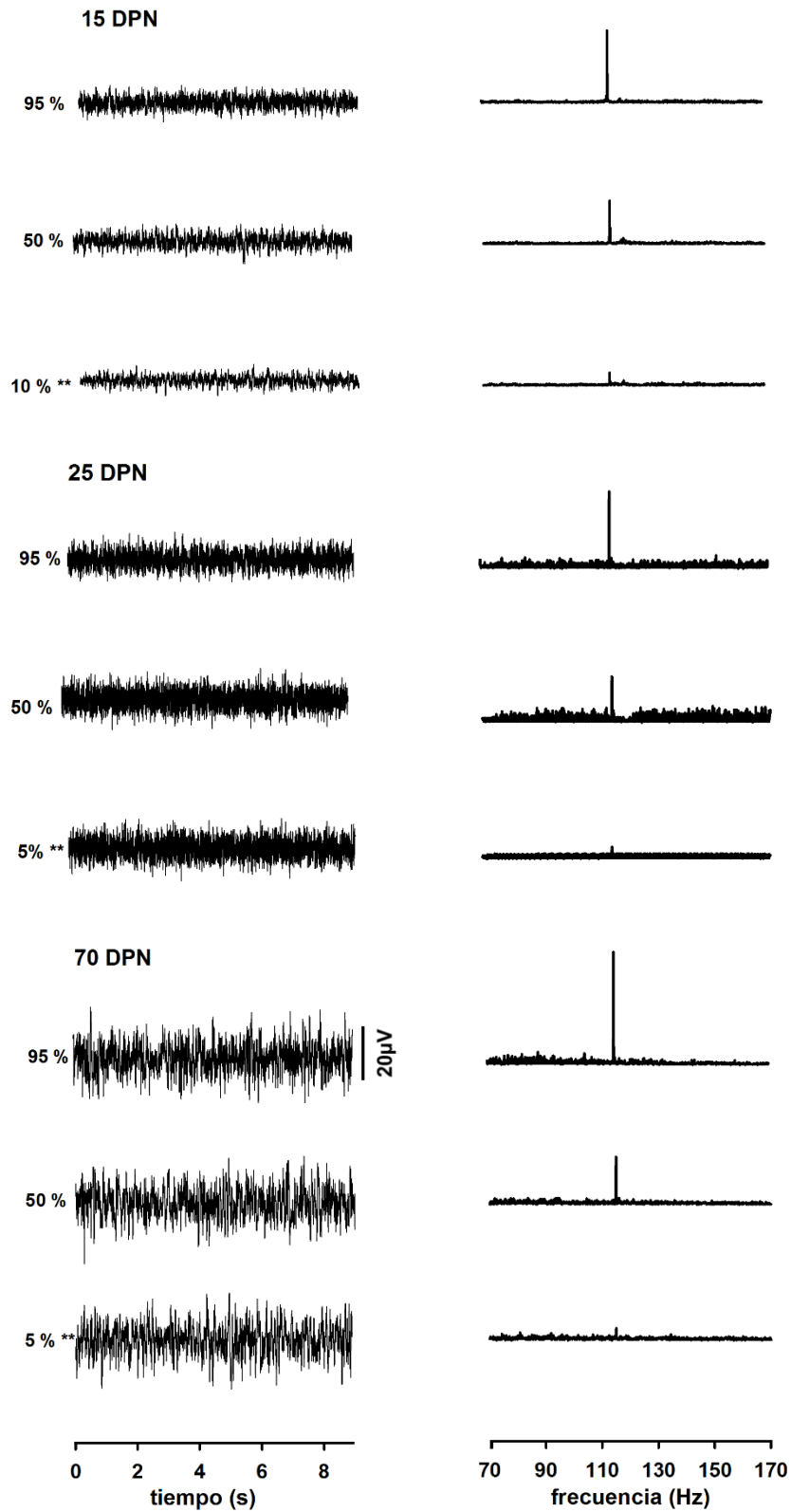


Fig. 15: Potenciales evocados auditivos de estado estable en ratas con diferentes edades. Las respuestas fueron generadas por tonos de 8 kHz y 65 dB SPL, con diferentes profundidades de modulación. Para cada registro se señala la profundidad de modulación. Los valores con asteriscos representan el mínimo por ciento de modulación al cual fue obtenida respuesta. De izquierda a derecha se muestran los oscilogramas de las respuestas y sus respectivos espectros de amplitud.

La disminución exponencial del umbral del PEAEЕ provocada por el incremento de la profundidad de modulación del estímulo acústico fue uno de los procesos observados en animales adultos que también estuvo presente en el resto de los grupos etarios (Fig. 16 A). Como era de esperar, la profundidad de modulación tuvo un efecto significativo sobre el umbral del PEAEЕ ($F_{4, 104}=70.70$, $p<0.001$). Esta variable de respuesta también dependió de la edad del animal ($F_{4, 104}=41.08$, $p<0.001$). No existió un efecto estadísticamente significativo de la interacción entre la profundidad de modulación y la edad ($F_{16, 104}=1.45$, $p>0.05$). El análisis realizado demostró que las mayores disminuciones del umbral del PEAEЕ, para un determinado grupo etario, ocurrieron principalmente cuando los estímulos tuvieron profundidades de modulación relativamente pequeñas (inferiores a 50 %). Las principales diferencias entre grupos fueron obtenidas cuando la modulación de los tonos fue igual o superior a 50 %.

Se estudió entonces si la magnitud de la disminución del umbral del PEAEЕ obtenido al incrementarse la profundidad de modulación del estímulo dependió de la edad del animal (Fig. 16 B). Los resultados de las pruebas estadísticas (ANOVA: $F_{4, 20}=7.89$, $p<0.05$) demostraron que este parámetro de respuesta no varió entre los 15 DPN y los 25 DPN. Los valores medios de disminución obtenidos en individuos con 35 DPN y 70 DPN fueron similares entre sí y a la vez superiores a los del resto de los grupos etarios.

4.3. PEAEЕ generados por estímulos supra-umbrales en animales con diferentes estadios de maduración

La relación entre la profundidad de modulación de amplitud de estímulos SAM y la amplitud del PEAEЕ generado por tonos de 8 kHz e intensidades supra-umbrales fue también analizada en el resto de los grupos etarios. Al igual que en animales adultos, la amplitud del potencial evocado tendió a aumentar en individuos de menor edad al incrementarse la profundidad de modulación (Fig. 15). Además, la magnitud de la respuesta generada con estímulos de igual intensidad y profundidad de modulación tendió a aumentar a medida que los animales maduraron.

Para los individuos con 15 DPN y 20 DPN, 30 dB SPL representó una intensidad sub-umbral independientemente de la profundidad de modulación del tono (Fig. 16 A). Para el resto de los grupos, la profundidad de modulación necesaria para que estímulos de 30 dB SPL generasen PEAEЕ disminuyó progresivamente desde 70 %, en los animales con 25 DPN, hasta 20 % en animales adultos. Frente a tonos de mayor intensidad, la mínima profundidad de modulación que provocó PEAEЕ disminuyó entre 15 DPN y 35 DPN, edad a partir de la cual se mantuvo constante (Figs. 16 A y 17, paneles medio e inferior).

La amplitud media de PEAEЕ de cada uno de los grupos etarios, frente a tonos de 8 kHz y 30 dB SPL, tendió a aumentar al incrementarse la profundidad de modulación del estímulo (Fig. 17, panel superior). De igual manera, la amplitud de la respuesta generada con una profundidad de modulación determinada tendió a

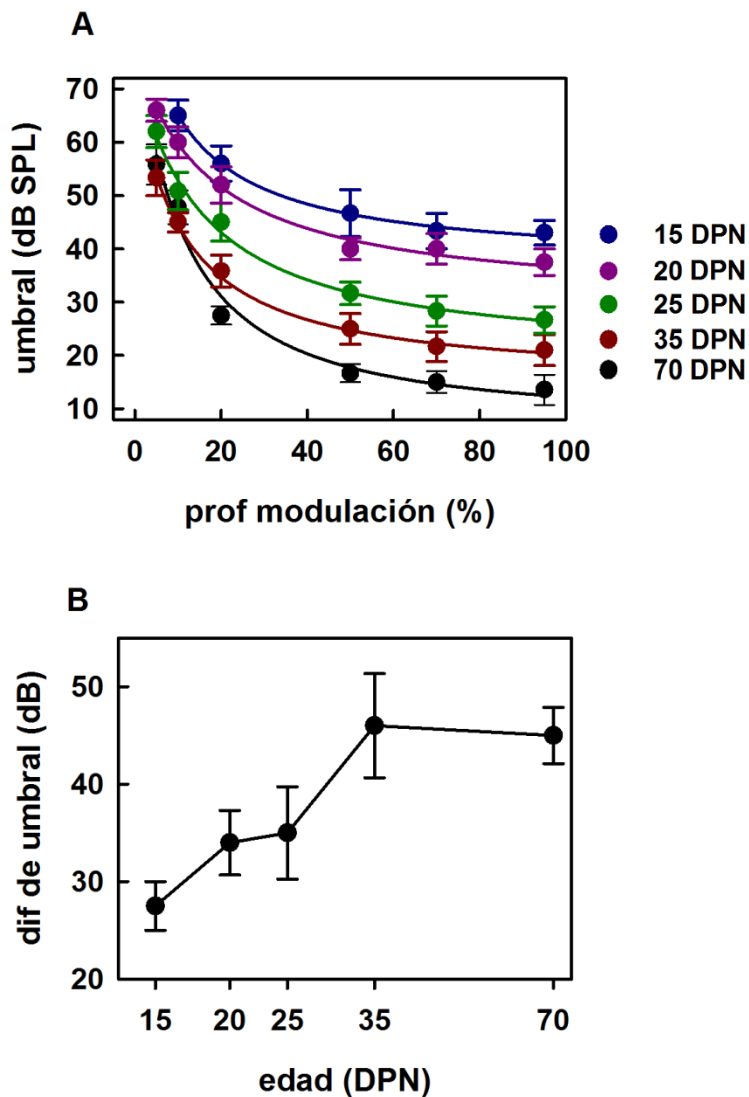


Fig. 16: Intensidad umbral del potencial evocado auditivo de estado estable de ratas en función de la profundidad de modulación de amplitud de estímulos SAM.

A) Relación entre el umbral del PEAAE y la profundidad de modulación de amplitud obtenida en animales con diferentes estadios de maduración.

B) Efecto de la edad sobre la disminución del umbral de respuesta provocado por el incremento de la profundidad de modulación.

Todos los PEAAE fueron provocados por tonos de 8 kHz. En cada curva se representan el valor medio y el error estándar de la media obtenidos a partir de ocho individuos. DPN: días posteriores al nacimiento.

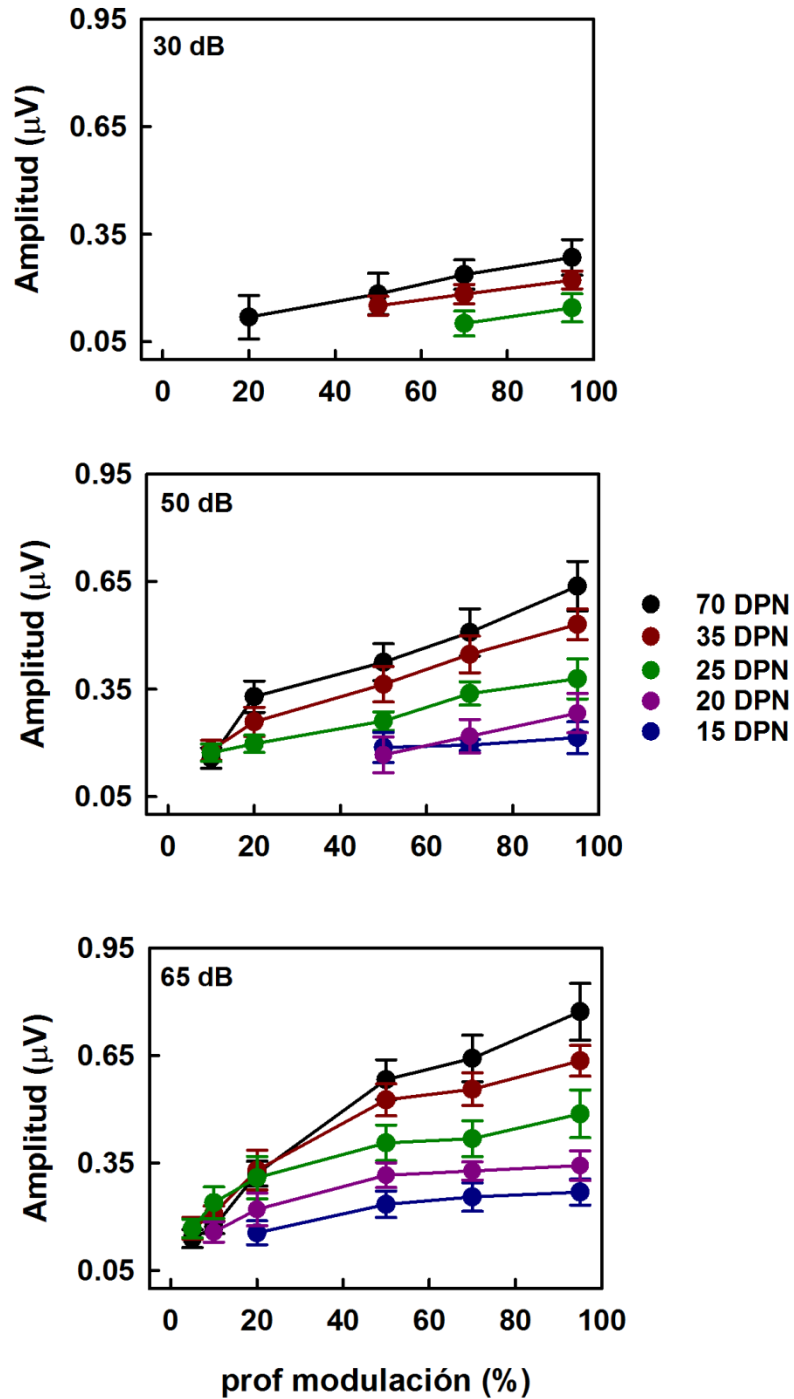


Fig. 17: Relaci3n entre la profundidad de modulaci3n de amplitud de tonos de 8 kHz y la amplitud del potencial evocado auditivo de estado estable, en ratas con diferentes estadios de maduraci3n. En cada gr1fico se representa la intensidad del est1mulo (expresada en dB SPL). En cada curva se representan el valor medio y el error est1ndar de la media (N=8). DPN: d1as posteriores al nacimiento.

aumentar a medida que los animales maduraron. Sin embargo, ninguna de estas variaciones fue estadísticamente significativa ($F_{1,54}=0.60$, $p=0.44$ y $F_{3,54}=1.57$, $p=0.22$; para el efecto de la profundidad de modulación y la edad, respectivamente). Tampoco la interacción entre estas dos variables influyó significativamente sobre la amplitud de la respuesta auditiva ($F_{3,54}=1.04$, $p=0.39$).

La amplitud de las respuestas evocadas por estímulos de 50 dB SPL y 65 dB SPL sí dependió de la profundidad de modulación de amplitud de la señal acústica y de la edad del individuo (Fig. 17, paneles medio e inferior) (ANOVA de los datos obtenidos a 50 dB SPL: $F_{4,113}=15.28$, $p<0.001$, $F_{4,113}=21.49$, $p<0.001$ para el efecto de la profundidad de modulación, respectivamente; ANOVA de los datos obtenidos a 65 dB SPL: $F_{5,110}=79.49$, $p<0.001$ y $F_{4,110}=34.08$, $p<0.001$ para el efecto de la modulación de intensidad y la edad, respectivamente). La interacción entre la profundidad de modulación y la edad no tuvo un efecto significativo sobre la amplitud de la respuesta ($F_{16,113}=0.27$, $p>0.05$ y $F_{20,110}=1.25$, $p>0.05$ para los PEAAE generados con tonos de 50 dB SPL y 65 dB SPL, respectivamente). Basado en los resultados de la prueba de comparaciones múltiple de Tukey, los mayores incrementos de amplitud producidos por el aumento de la profundidad de modulación fueron observados en los individuos más maduros (35 DPN y 70 DPN). Además, las mayores diferencias entre grupos estuvieron presentes cuando el porcentaje de modulación fue igual o superior a 50 %.

Los hallazgos descritos hasta el momento evidencian que la relación entre la profundidad de modulación y la amplitud del PEAAE, a una determinada intensidad supra-umbral, depende del estadio de maduración del individuo. Sin embargo, es necesario señalar que la sensibilidad del sistema auditivo aumentó a medida que los animales maduraron (Fig. 16 A). Además, tal como fue demostrado al analizar la respuesta de animales adultos, la relación entre la amplitud del PEAAE y la profundidad de modulación varía en dependencia de la intensidad de estimulación (Fig. 14). Por tanto, los cambios relacionados con la edad en la amplitud del potencial evocado, cuando las respuestas son obtenidas con el mismo nivel de estimulación, pudiesen deberse al aumento de sensibilidad que se produce durante la maduración de la vía y no representar necesariamente la maduración del procesamiento temporal auditivo. Con el objetivo de eliminar el posible efecto producido por las diferencias de sensibilidad, se caracterizó la respuesta de obtenida con estímulos 30 dB superiores al umbral del PEAAE.

La figura 18 muestra oscilogramas del PEAAE de individuos con diferentes edades, producidos por tonos de 8 kHz e igual intensidad en relación al umbral del potencial evocado. Frente a estos estímulos, de forma similar a lo observado con tonos de intensidad fija, la mínima profundidad de modulación que generó PEAAE tendió a disminuir durante la maduración (Fig. 19). De igual manera, la amplitud de la respuesta de

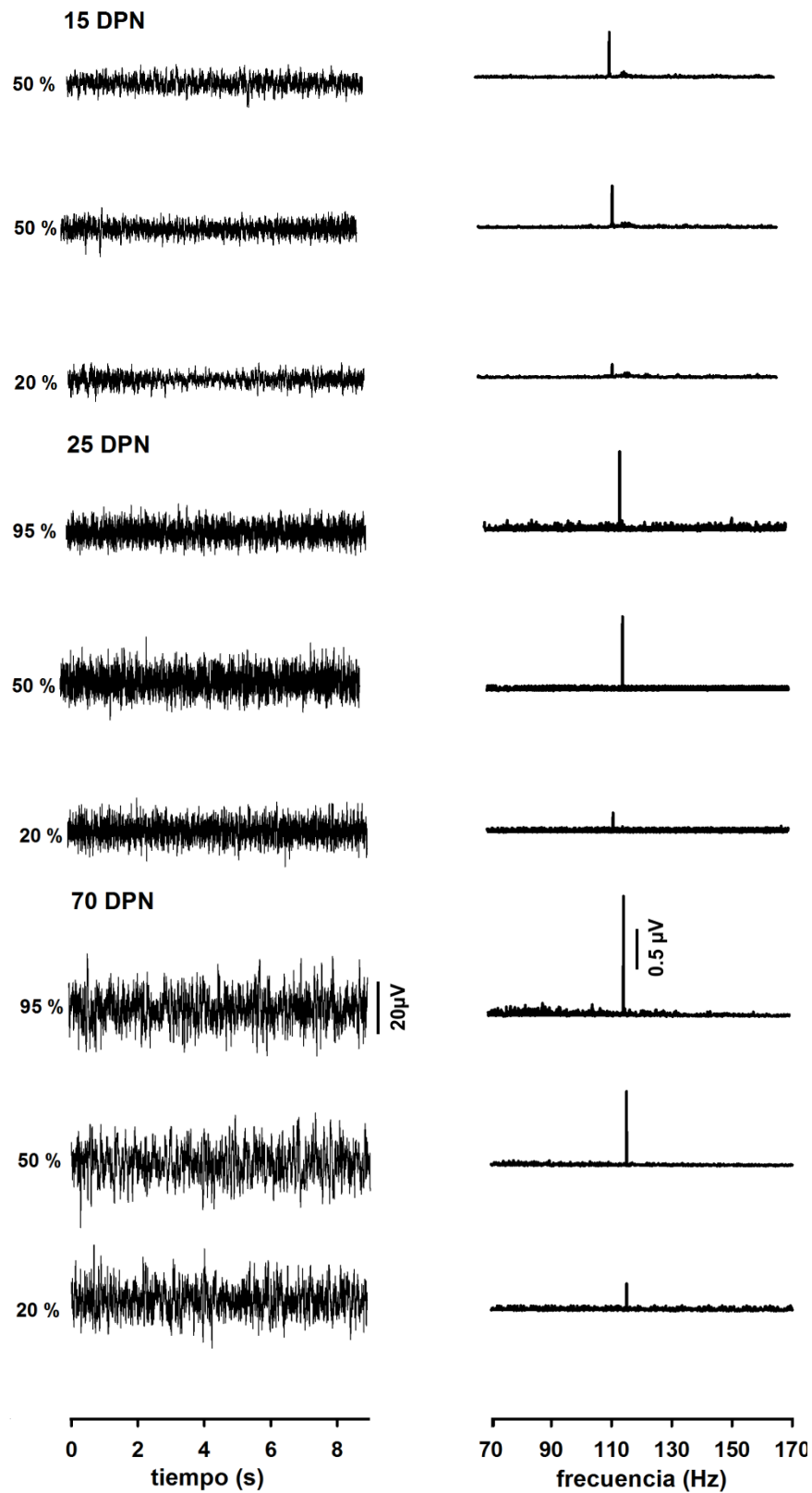


Fig. 18: PEAAE generados por tonos de 8 kHz en ratas con diferentes edades. La profundidad de modulación de los estímulos fue 95%. La intensidad se fijó 30 dB por encima del umbral del PEAAE. Para cada registro se señala la profundidad de modulación. Los paneles izquierdo y derecho muestran, respectivamente, los oscilogramas de las respuestas y los correspondientes espectros de amplitud.

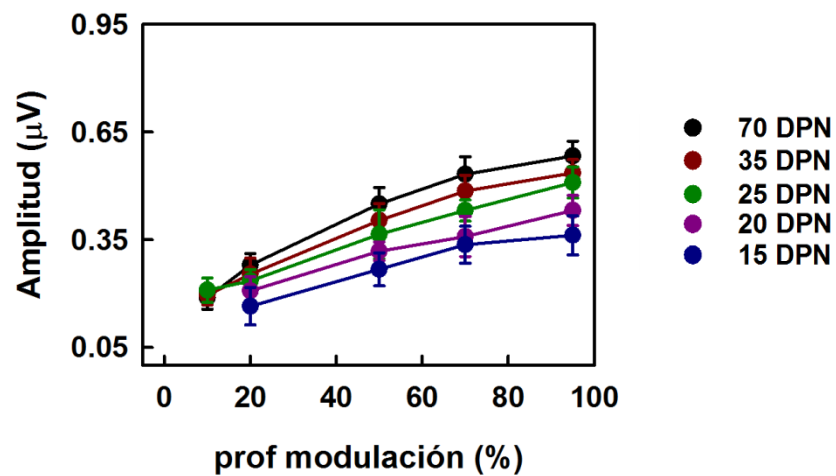


Fig. 19: Relación entre la amplitud del potencial evocado auditivo de estado estable y la profundidad de modulación de amplitud de tonos de 8 kHz con intensidad 30 dB superior al umbral de respuesta, en ratas con diferentes estadios de maduración.

El umbral fue determinado cuando la profundidad de modulación fue 95 %. En cada curva se representan el valor medio y el error estándar de la media, obtenidos en ocho individuos. DPN: días posteriores al nacimiento. La escala del eje de las ordenadas es igual al de la figura 17 para facilitar la comparación de los resultados.

un determinado grupo etario tendió a aumentar con el incremento de la profundidad de modulación. En los grupos de mayor edad, este aumento de amplitud pareció saturarse cuando la modulación fue de 50 % o 70 %. A la vez, la magnitud del PEAAE obtenido con una determinada profundidad de modulación tendió a aumentar durante la maduración. Estas tendencias fueron confirmadas por el análisis estadístico de los datos, el cual demostró que la amplitud del PEAAE dependió significativamente de la profundidad de modulación ($F_{4, 98}=37.71$, $p<0.001$) y de la edad del animal ($F_{4, 98}=9.47$, $p<0.001$). No existió un efecto significativo de la interacción entre estas dos variables ($F_{16, 98}=0.21$, $p>0.05$).

4.4. RSM en animales adultos

El efecto de la frecuencia de modulación de amplitud de estímulos acústicos sobre la respuesta auditiva fue estudiado a través de la respuesta de seguimiento de la modulación (RSM). Ejemplos de este potencial evocado, obtenidos en un animal adulto, son mostrados en la figura 20.

Al analizar la RSM generada por cada uno de los tres estímulos incluidos en el estudio, se observó que la amplitud de la respuesta varió de forma no-monotónica cuando la frecuencia de modulación de amplitud se incrementó entre 90 Hz y 190 Hz. La amplitud de la RSM aumentó hasta alcanzar su valor máximo a 122.11 ± 3.8 Hz. A partir de esta frecuencia de modulación, disminuyó de manera continua.

En el grupo de animales adultos, la frecuencia de modulación a la cual se obtuvo la máxima amplitud (frecuencia de modulación óptima, FMO) no dependió de las características espectrales del estímulo (Fig. 20 B). El ANOVA realizado para comparar los valores obtenidos en respuesta a cada tipo de estímulo demostró que no existieron diferencias significativas entre las medias ($F_{2, 6}=0.10$, $p>0.05$).

Contrario a lo descrito para la FMO, la amplitud del potencial evocado producido por ruido de banda ancha (RBA) fue significativamente mayor que la obtenida en respuesta a tonos de 8 kHz, cuando la amplitud del estímulo fue modulada a frecuencias por encima de 93 Hz (prueba de permutaciones, $p<0.05$). Además, la magnitud de la respuesta a RBA fue estadísticamente superior a la de la RSM obtenida con tonos de 4 kHz, en toda la gama de frecuencias evaluada. Por último, el potencial evocado generado por estímulos de 8 kHz tuvo amplitudes significativamente mayores que las observadas cuando la frecuencia del tono fue 4 kHz, en la banda de frecuencia de modulación entre 112.3 Hz y 147.8 Hz.

Independientemente del estímulo utilizado, la fase de la RSM disminuyó de manera continua y lineal a lo largo de la gama de frecuencias de modulación (Fig. 21). El retardo neural, calculado a partir de las pendientes de las funciones de regresión lineal entre la fase y la frecuencia de modulación, fue de 5.51 ms, 5.39 ms y 5.42 ms para el potencial evocado obtenido cuando los animales fueron estimulados con RBA, tonos de 8 kHz y tonos de 4 kHz, respectivamente.

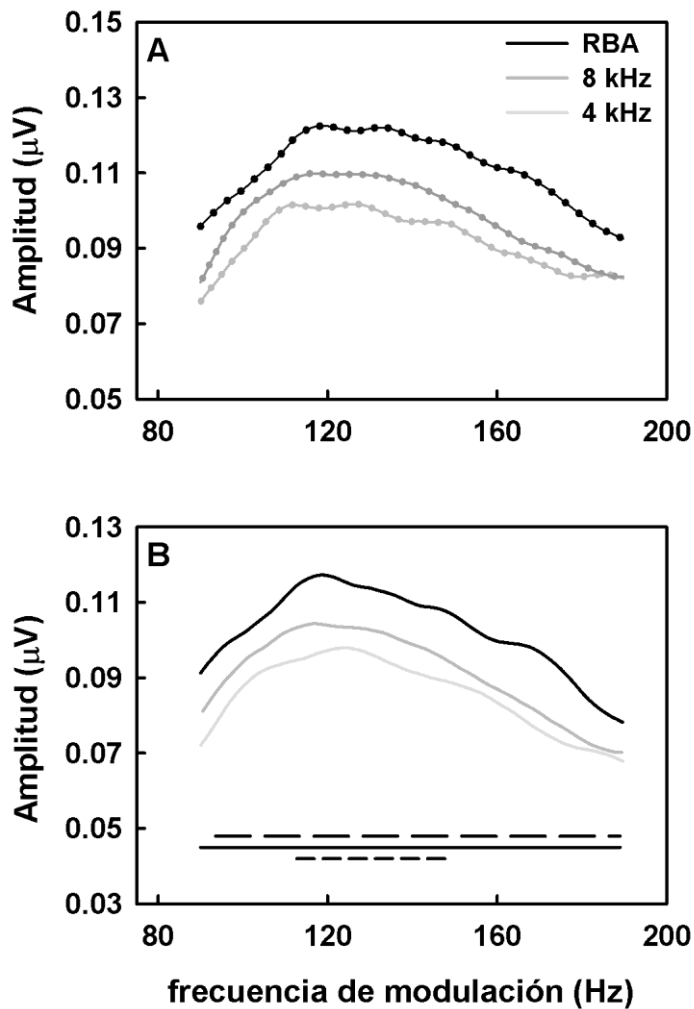


Fig. 20: Respuesta de seguimiento de la modulación (RSM) en ratas adultas (70 DPN).

- A) RSM de un individuo representativo, generadas por diferentes estímulos de 80 dB SPL de intensidad y diferentes características temporales. Se representan tanto las amplitudes originales (líneas de puntos) como las funciones “spline” cúbicas (líneas continuas) obtenidas a partir de los análisis de regresión (en todos los casos: $r^2 > 0.99$, $p < 0.05$)
- B) Amplitudes promedios del grupo de animales adultos (N=8). Las líneas horizontales representan la banda de frecuencias para la cual las funciones “spline” cúbicas presentaron diferencias estadísticamente significativas. Las comparaciones fueron realizadas entre las respuestas generadas por ruido de banda ancha (RBA) y tonos de 8 kHz (línea discontinua de segmentos largos), RBA y tonos de 4 kHz (línea discontinua de segmentos cortos), y entre tonos de 4 kHz y 8 kHz (línea discontinua de segmentos cortos).

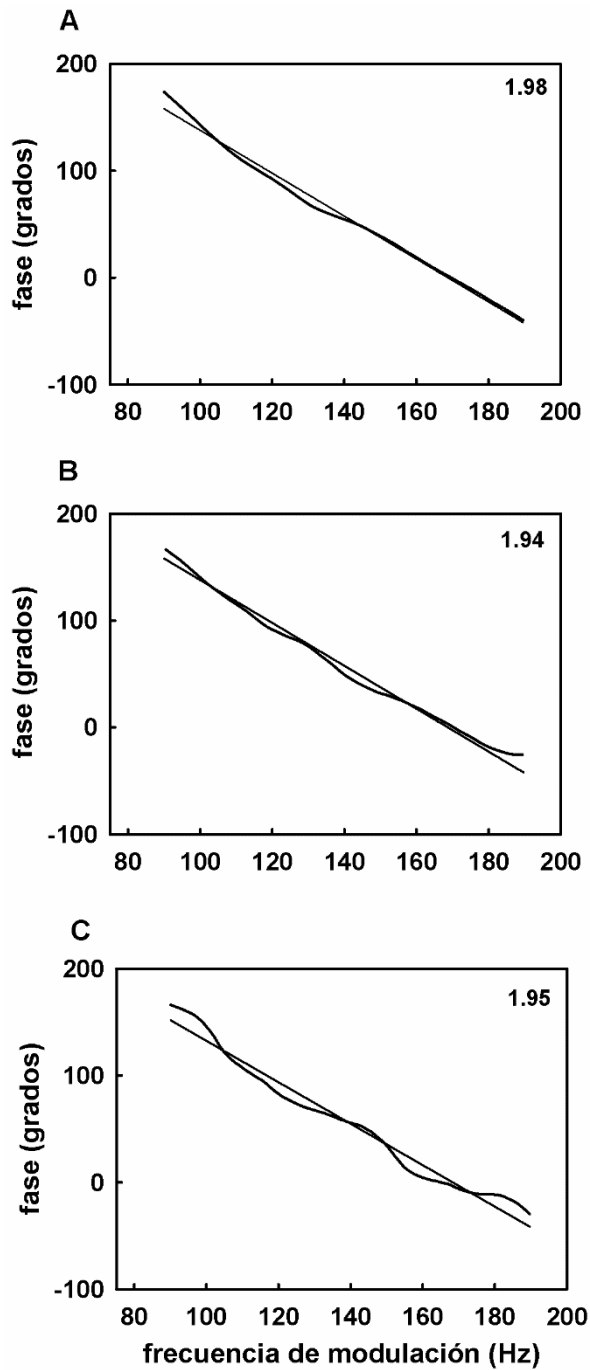


Fig. 21: Fases de la respuesta de seguimiento de la modulación (RSM) en ratas adultas (N=8) obtenidas con estímulos de 80 dB SPL de intensidad y diferente composición espectral.

- A) Respuesta generada por ruido de banda ancha.
- B) RSM evocada por tonos de 8 kHz.
- C) Respuesta generada cuando los animales fueron estimulados con tonos de 4 kHz.

La línea recta de cada gráfico representa los valores de fase teóricos obtenidos a partir de análisis de regresión lineal. En el extremo superior derecho se señalan los valores de pendiente de la recta teórica de regresión.

Se analizó entonces el efecto de la intensidad de estimulación sobre las principales características de la RSM (amplitud y FMO). Como era de esperar, la amplitud de la respuesta aumentó al incrementarse la intensidad del estímulo (Fig. 22). Además, a intensidades relativamente pequeñas (entre 30 dB SPL y 50 dB SPL), la amplitud de la RSM fue relativamente constante a lo largo de la gama de frecuencias de modulación. A medida que aumentó la magnitud del estímulo, se hizo evidente la presencia de un máximo de respuesta. Este pico de amplitud fue notable a intensidades cercanas a 60 dB SPL, cuando los animales fueron estimulados con RBA y tonos de 8 kHz. La existencia de una FMO en las respuestas producidas por tonos de 4 kHz fue evidente con estímulos de 70 dB SPL y de mayor intensidad. La FMO media no varió significativamente con el incremento de la intensidad del estímulo ($F_{2,9}=0.39$, $p>0.05$; $F_{2,9}=0.11$, $p>0.05$ y $F_{2,9}=0.43$, $p>0.05$ para las respuestas obtenidas con RBA, tonos de 8 kHz y 4 kHz, respectivamente). Sus valores promedios fueron 120.25 ± 1.7 , 119.35 ± 2.2 y 121.02 ± 2.0 , cuando los animales fueron estimulados con RBA, tonos de 8 kHz y estímulos de 4 kHz, respectivamente.

4.5. Maduración de la RSM

En las etapas tempranas del desarrollo auditivo, la forma de la RSM presentó el mismo comportamiento no-monotónico descrito previamente en la fase adulta. Sin embargo, sus características dependieron de la edad del animal. Uno de los cambios más evidentes fue el aumento de la FMO que tuvo lugar a medida que los animales se acercaron a la adultez. Este fenómeno dependió de las características espectrales del estímulo ($F_{2,42}=11.18$, $p<0.05$) y de la edad ($F_{4,42}=10.71$, $p<0.05$). En adición, la interacción de estos parámetros también tuvo un efecto significativo sobre la FMO ($F_{8,42}=9.31$, $p<0.05$).

En animales con 15 DPN, las respuestas generadas por cada uno de los tipos de estímulos tuvieron picos de amplitud a diferentes frecuencias de modulación. La menor de estas FMO fue obtenida cuando los animales se estimularon con tonos de 4 kHz, mientras que la mayor fue observada cuando la RSM fue generada por RBA (Fig. 23 A y B, paneles superiores).

La FMO de las respuestas evocadas por RBA no varió con la edad. Por su parte, la de las producidas por estímulos tonales se incrementó a medida que los animales se acercaron a la adultez. (Fig. 23 A y B, paneles medio e inferior). Además, el curso temporal de maduración de la FMO varió ligeramente para tonos con diferentes frecuencias (Fig. 24 A). Mientras la FMO obtenida con estimulación de 8 kHz alcanzó valores medios similares a los de la RSM generada por RBA a los 35 DPN, la del potencial evocado producido por tonos de 4 kHz se igualó a la de la respuesta evocada por RBA a los 70 DPN.

Durante la maduración, también se hizo evidente el incremento de amplitud de la RSM (Fig. 23 A). En todos los grupos de edades, la estimulación con RBA tendió a generar RSM de mayor amplitud que las

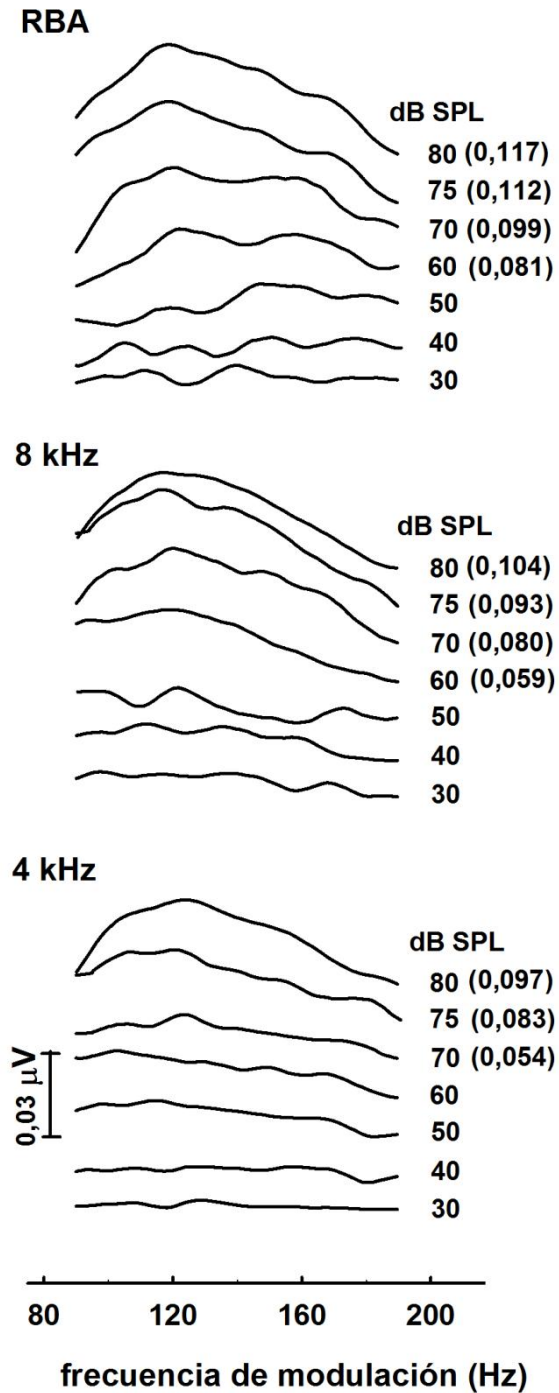


Fig. 22: Respuestas de seguimiento de la modulación obtenidas en animales adultos frente a estímulos con diferente contenido espectral y diferentes intensidades. A la derecha de cada registro se representa la intensidad de estimulación. Los valores entre paréntesis señalan la amplitud (en μV) del potencial evocado obtenido a la frecuencia de modulación óptima.

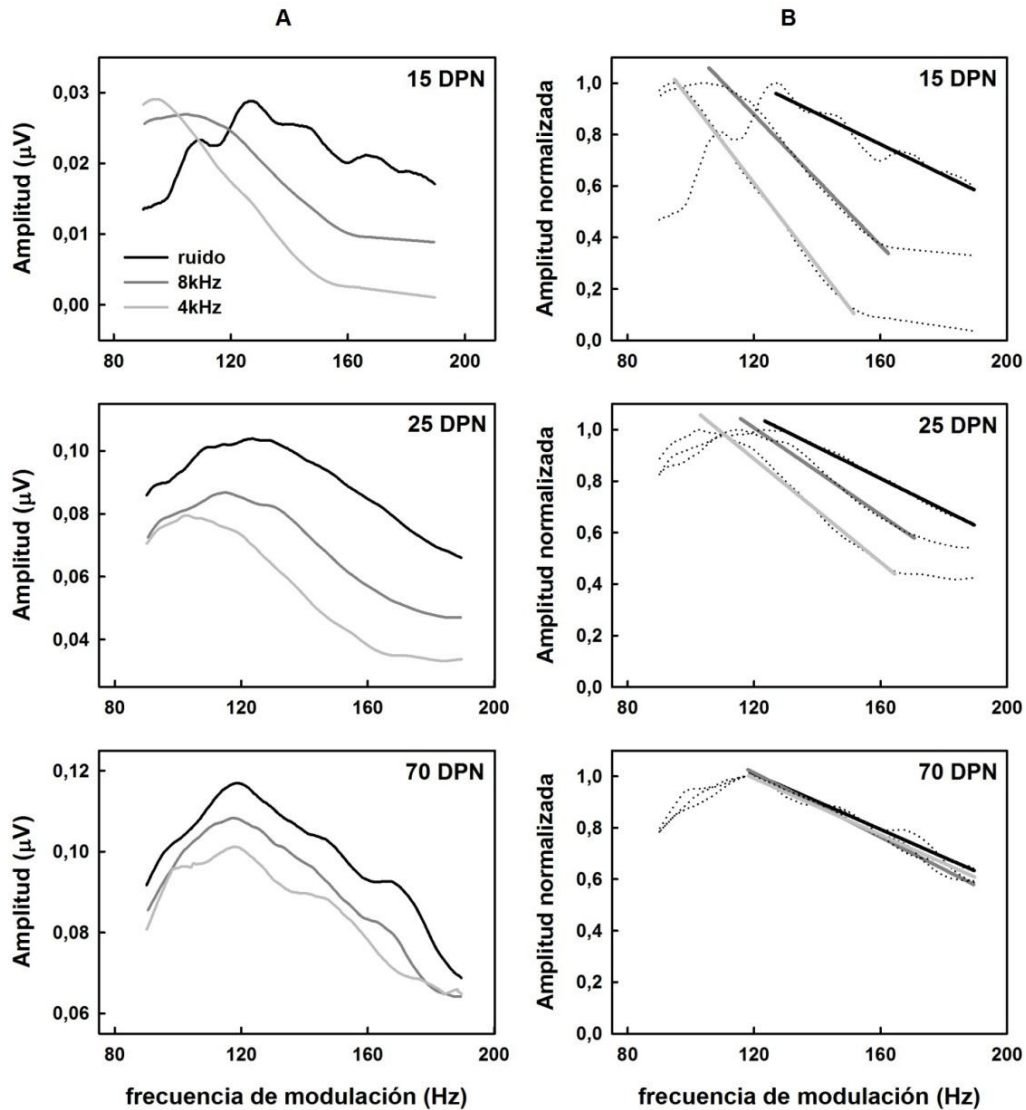


Fig. 23: Respuesta de seguimiento de la modulación (RSM) obtenida con estímulo de 80 dB SPL de intensidad en ratas con diferentes estadios de maduración del sistema auditivo.

A) Valores originales de amplitud de la RSM.

B) Amplitud normalizada de la RSM y recta teórica de regresión entre la amplitud de la respuesta y las frecuencias de modulación superiores a la FMO.

La edad del individuo está representada en el extremo superior derecho de cada gráfico.

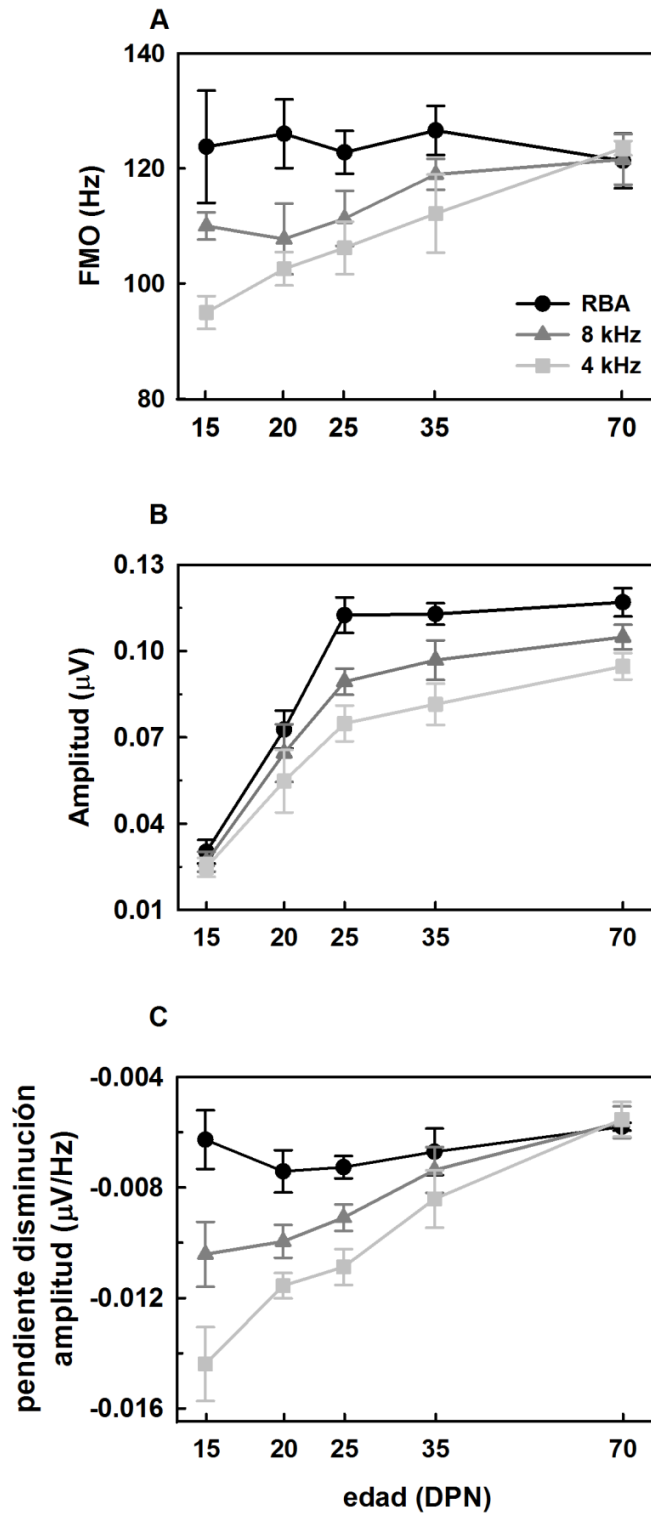


Fig. 24: Maduración de la respuesta de seguimiento de la modulación en ratas.

A) Curso temporal de la maduración de la frecuencia de modulación óptima (FMO).

B) Maduración de la amplitud de la respuesta.

C) Cambios con la edad en la disminución de respuesta a frecuencias de modulación superiores a la FMO.

En cada curva se representan la media y el error estándar de cada grupo etario, calculados a partir de los valores obtenidos en cada uno de los individuos del grupo (N=8).

producidas por tonos. A su vez, los estímulos de 8 kHz tendieron a evocar respuestas más robustas que los tonos de 4 kHz. La magnitud de la RSM a la FMO dependió de la composición espectral del estímulo ($F_{2,42}=12.04$, $p<0.001$) y de la edad del animal ($F_{4,42}=62.29$, $p<0.001$). La interacción entre estas variables no tuvo un influyó significativamente sobre la amplitud del potencial evocado ($F_{8,42}=0.91$, $p>0.05$). El análisis de los datos demostró que las diferencias de amplitud de las respuestas evocadas por diferentes estímulos no fueron estadísticamente significativas en los individuos con 15 DPN y 20 DPN, mientras sí lo fueron en el resto de los grupos etarios (Fig. 24 B). Al estudiar el curso temporal de maduración, se obtuvo que la amplitud de la RSM producida por cada uno de los tipos de estímulos aumentó significativamente entre los 15 DPN y los 25 DPN. A partir de esta edad, la magnitud de la respuesta se mantuvo constante.

Por otra parte, la magnitud de la respuesta, en los animales estudiados 15 DPN, disminuyó con frecuencias de modulación superiores a la FMO (Fig. 23 B, panel superior). Esta disminución fue más pronunciada cuando la RSM fue generada por tonos de 4 kHz. Mientras, la caída de menor pendiente fue obtenida en respuesta a RBA. Menores disminuciones de amplitud fueron observadas a medida que los animales maduraron (Fig. 23 B, paneles medio e inferior).

Para comparar la caída de la respuesta entre los diferentes grupos, los valores de amplitud obtenidos para frecuencias de modulación superiores a la FMO se ajustaron a funciones lineales. Las pendientes de dichas funciones fueron calculadas para cada tipo de estímulo. Los análisis estadísticos demostraron un efecto significativo de las características espectrales del estímulo ($F_{2,42}=22.69$, $p<0.001$) y de la edad ($F_{4,42}=14.93$, $p<0.001$) sobre la disminución de la respuesta. La interacción entre estos dos parámetros también tuvo un efecto significativo sobre la pendiente de caída ($F_{8,42}=4.90$, $p<0.05$).

La pendiente media de disminución de la amplitud de la RSM generada por RBA no varió significativamente entre los diferentes grupos experimentales. Sin embargo, al analizar las respuestas evocadas por estímulos tonales, se obtuvo que la pendiente de disminución se hizo menos negativa a medida que los animales maduraron (Fig. 24 C). La pendiente media de decrecimiento de las respuestas evocadas por estímulos de 8 kHz alcanzó valores similares a los de la RSM producida con RBA cuando los animales alcanzaron los 35 DPN. A la de edad de 70 DPN, se obtuvieron similares magnitudes de disminución de amplitud frente a los tres tipos de estímulos.

4.6. Efecto de la duración de la fase sobre el PEATC-e de curieles sordos

La sordera sensorineural es la pérdida auditiva con mayor incidencia a nivel mundial. La codificación de las características temporales de los estímulos acústicos en personas con este tipo de padecimiento y que han sido implantados con prótesis cocleares, depende del procesamiento del patrón de estimulación

eléctrico intracoclear. Por tal motivo, se analizó el efecto de las diferentes variables temporales de pulsos eléctricos sobre los potenciales evocados auditivos, en animales con diferentes duraciones de sordera.

En la figura 25 se ilustran oscilogramas de potenciales evocados auditivos de tallo cerebral generados por estímulos eléctricos (PEATC-e) de curieles con sordera de diferentes duraciones. Estas respuestas fueron evocadas por pulsos de corriente de 104 $\mu\text{s}/\text{fase}$ y 208 $\mu\text{s}/\text{fase}$. En cada uno de los animales mostrados, la amplitud del pico III del PEATC-e generado por ambos tipos de estímulos aumentó al incrementarse la intensidad de la corriente hasta cierto valor a partir del cual la amplitud de la respuesta pareció saturarse.

Tanto la intensidad umbral como la amplitud del PEATC-e generado por estímulos supra-umbrales parecieron depender de la duración de la fase (DF) del pulso eléctrico (Fig. 25 panel superior). El umbral del potencial evocado fue menor cuando la cóclea se estimuló con pulsos de 208 $\mu\text{s}/\text{fase}$, respecto a cuando se utilizaron pulsos de 104 $\mu\text{s}/\text{fase}$. Además, para las intensidades comprendidas en la gama dinámica del PEATC-e, la amplitud de la respuesta generada por estímulos de igual intensidad fue mayor cuando los pulsos tuvieron 208 $\mu\text{s}/\text{fase}$. Las respuestas auditivas de los individuos con 4 y 12 semanas de sordera, pese a que tuvieron mayores umbrales y menores amplitudes a intensidades supra-umbrales, presentaron variaciones similares a las descritas anteriormente (Fig. 25 paneles medio e inferior).

Se estudió entonces si la intensidad umbral del PEATC-e dependía de la duración de la sordera. Los ANOVA realizados demostraron que, para ambas DF, existieron diferencias significativas entre las medias ($F_{2,13}=4.834$, $p<0.05$ para las respuestas generadas con estímulos de 104 $\mu\text{s}/\text{fase}$ y $F_{2,13}=6.418$, $p<0.05$ para las evocadas con pulsos de 208 $\mu\text{s}/\text{fase}$). Ante estímulos de 104 $\mu\text{s}/\text{fase}$, los umbrales sensoriales de los grupos con sordera de 1 y 4 semanas no difirieron estadísticamente. Los individuos con sordera de larga duración presentaron umbrales similares a los del grupo con sordera de 4 semanas y significativamente superiores a los obtenidos en individuos con menor tiempo de privación sensorial (Fig. 26 panel superior). Frente a pulsos de 208 $\mu\text{s}/\text{fase}$, el umbral de respuesta tampoco difirió entre los animales con sordera de 1 y 4 semanas. Los valores medios de ambos grupos fueron estadísticamente inferiores al de los individuos estudiados 12 semanas después de inducido el daño ototóxico (Fig. 26 panel medio).

La diferencia de umbral de las respuestas generadas por pulsos con diferentes DF, independientemente de la duración de la sordera, fue inferior a 8 NC (Fig. 26 panel inferior). Este hecho, unido a la gran variabilidad presente en cada uno de los grupos, hizo que no existieran diferencias significativas entre sus medias ($F_{2,13}=1.878$, $p>0.05$).

Concluido el estudio de las respuestas umbrales, se examinó el efecto de la duración de la fase sobre la amplitud del PEATC-e generado por estímulos supra-umbrales. Con este objetivo, se analizaron las

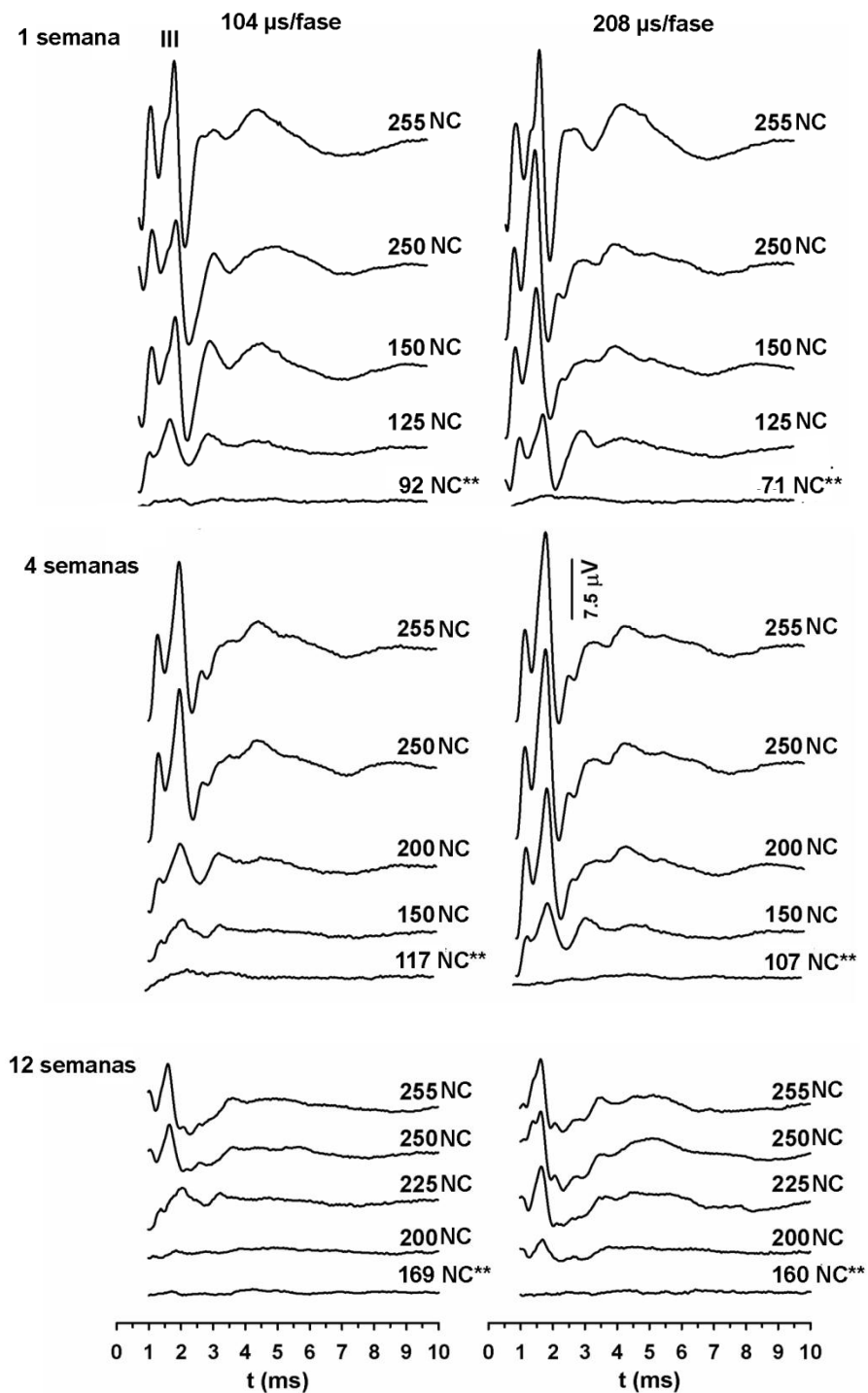


Fig. 25: Oscilogramas de PEATC-e generados por estímulos eléctricos intracocleares con diferentes duraciones de fase en curieles con sordera de diferentes duraciones. En el trazo superior izquierdo se señala el pico III del potencial evocado. Para cada registro se representa la intensidad de estimulación. Los asteriscos señalan la intensidad umbral. Los artefactos de registros originados por la estimulación eléctrica fueron omitidos para facilitar la comprensión de la figura.

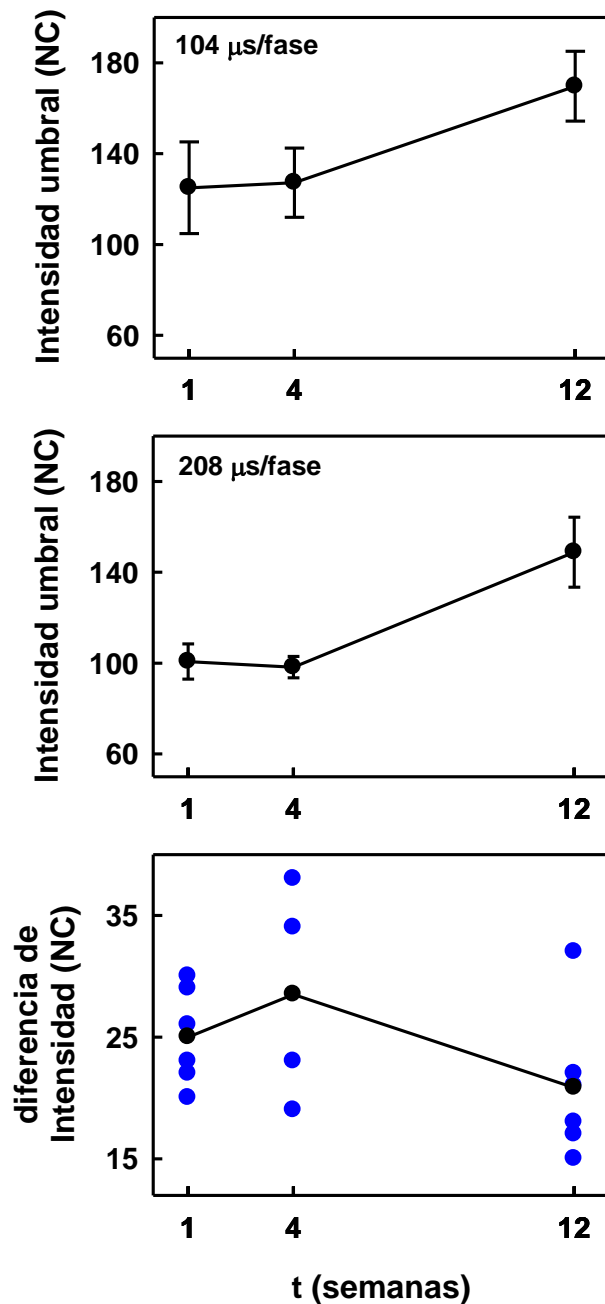


Fig. 26: Relación entre la intensidad umbral del PEATC-e generado por estímulos eléctricos con diferentes duraciones de fase y la duración de sordera en curieles. En los paneles superior y medio se muestran los valores obtenidos con pulsos bifásicos de 104 $\mu\text{s}/\text{fase}$ y 208 $\mu\text{s}/\text{fase}$, respectivamente. En el panel inferior se muestra las diferencias entre las intensidades umbrales de PEATC-e generados con pulsos de 104 $\mu\text{s}/\text{fase}$ y 208 $\mu\text{s}/\text{fase}$.

Para los valores absolutos de umbral se representan la media y el error estándar de cada grupo experimental (N=6, N=4 y N=6 para los animales con 1, 4 y 12 semanas de sordera, respectivamente). En las diferencias de umbral se representan la media (círculos negros) y los valores individuales obtenidos en cada grupo (círculos azules).

funciones intensidad/respuesta obtenidas para ambas DF. La principal característica de estas funciones fue la relación sigmoidea existente la amplitud del pico III del PEATC-e y la intensidad de estimulación (Fig. 27 A). Esta relación fue obtenida en todos los animales, independientemente de la duración de sordera.

Al incrementarse la DF, se produjo un desplazamiento hacia la izquierda de la función intensidad/respuesta (Fig. 27 A). En otras palabras, la intensidad de corriente requerida para generar PEATC-e de determinada amplitud con estímulos de 208 μ s/fase fue menor que la necesaria cuando los animales se estimularon con pulsos de 104 μ s/fase. Aunque la magnitud del desplazamiento tendió a disminuir con la duración de sordera (Fig. 27 B), no existieron diferencias significativas entre las medias de los diferentes grupos experimentales ($F_{2,13}=3.36$, $p>0.05$).

4.7. Efecto del tiempo entre fases sobre el PEATC-e y el PAC-e de curieles sordos

La relación entre la intensidad de corriente y la magnitud de la respuesta auditiva, cuando los estímulos presentaron diferentes tiempos entre fases (TEF), fue similar a la observada analizando la amplitud del PEATC-e frente a pulsos con diferentes duraciones. Es decir, el umbral de respuesta generadas por pulsos con TEF de 58 μ s, tanto del PEATC-e como del PAC-e, fue menor que el obtenido con estímulos de 8 μ s de TEF (Figs. 28 y 29). A la vez, la amplitud de la respuesta generada por estímulos de igual intensidad fue mayor frente a estímulos con TEF de 58 μ s. Al igual que el PEATC-e, la amplitud de respuesta del nervio auditivo disminuyó a medida que se prolongó la pérdida auditiva (Fig. 29).

Se estudió entonces si la duración de la sordera sensorineural tenía algún efecto sobre los umbrales de las respuestas auditivas generadas por pulsos eléctricos que diferían en el TEF. En el caso del PEATC-e, en este epígrafe sólo se describirán los resultados obtenidos cuando el TEF fue de 58 μ s. El comportamiento frente a pulsos eléctricos con TEF de 8 μ s fue expuesto en el epígrafe anterior (Fig. 26 A).

El umbral de generación del PEATC-e no varió significativamente entre individuos con sordera de 1 y 4 semanas de duración cuando el TEE de los pulsos eléctricos fue 58 μ s (Fig. 30, panel superior). El valor promedio de los individuos con el mayor tiempo de deprivación sensorial fue estadísticamente superior al del resto de los grupos ($F_{2,13}=6.418$, $p<0.05$).

Tanto para los estímulos con TEF de 8 μ s como para aquellos con TEF de 58 μ s, el umbral del PAC-e aumentó entre la primera y la cuarta semana de sordera. A su vez, los umbrales de los animales con pérdida auditiva de larga duración parecieron ser similares a los del grupo de individuos estudiados cuatro semanas después del tratamiento ototóxico (Fig. 30, paneles medio e inferior). Sin embargo, dado el pequeño número de individuos en los que se obtuvo este tipo de respuesta, los valores promedios de los diferentes grupos experimentales no fueron comparados estadísticamente. Por igual razón, el resto de

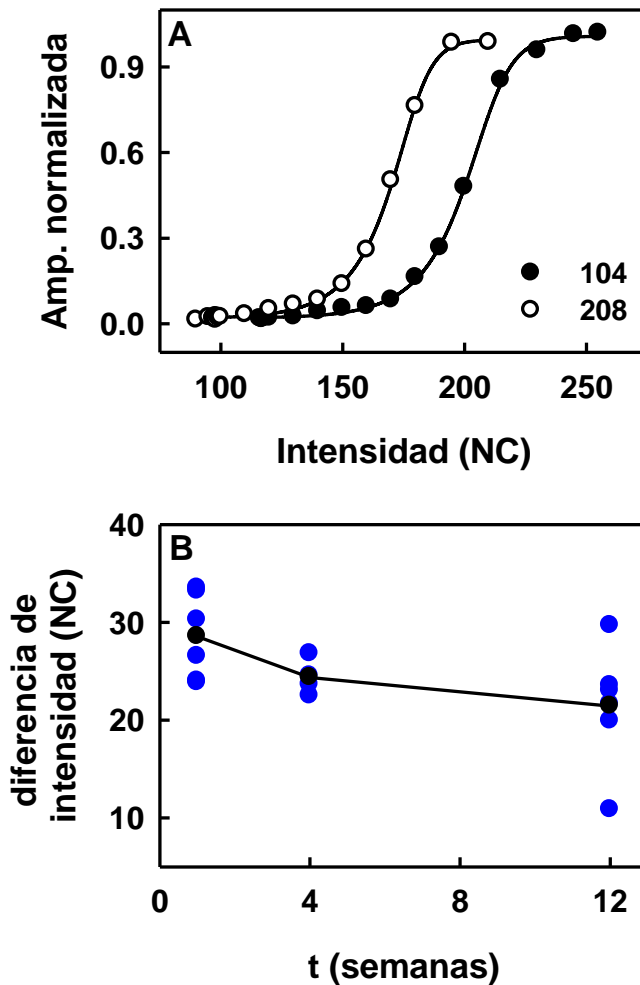


Fig. 27: Relación entre la amplitud del pico III del PEATC-e de curieles y la duración de la fase de pulsos eléctricos intracocleares.

A) Curvas intensidad/respuesta de un individuo con sordera de una semana. Las duraciones de fase se señalan en la esquina inferior derecha del gráfico. Cada punto representa el valor medio de amplitud de las respuestas a los primeros 500 estímulos. Las líneas representan las curvas teóricas obtenidas a partir de análisis de regresión (para ambos casos: $r^2=0.99$, $p<0.001$).

B) Relación entre la duración de sordera y la diferencia de intensidad necesaria para que pulsos de 104 μs /fase y 208 μs /fase generen PEATC-e de igual amplitud. Para cada grupo, se representan la diferencia media de corriente (puntos negros) y los valores obtenidos en cada individuo (puntos azules). (N=6, N=4 y N=6 para los animales con sorderas de 1, 4 y 12 semanas de duración, respectivamente).

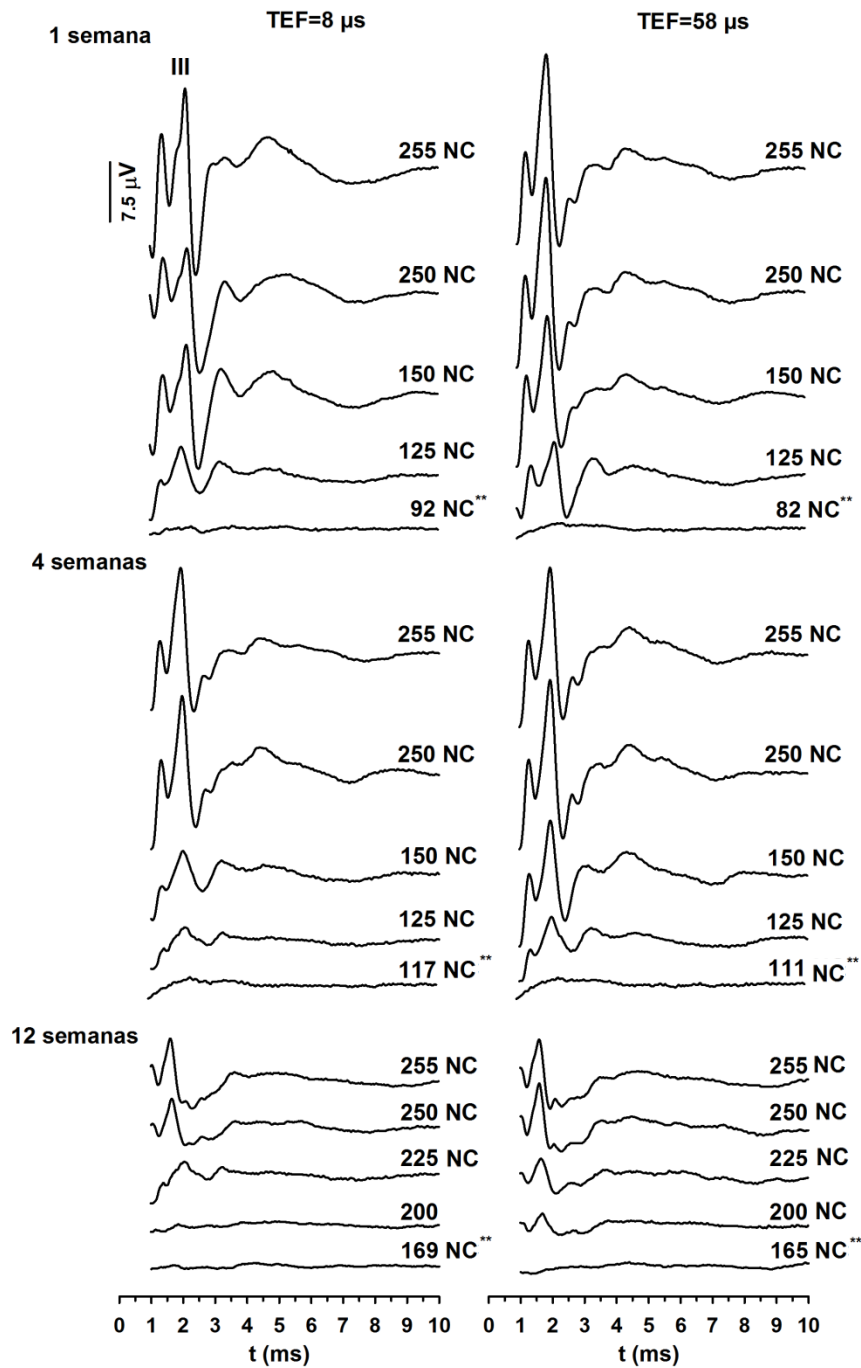


Fig. 28: Oscilogramas de PEATC-e generados por estímulos eléctricos intracocleares con diferentes tiempos entre fases en curieles con sordera de diferentes duraciones. En el trazo superior izquierdo se señala el pico III del potencial evocado. Para cada registro se representa la intensidad de estimulación. Los asteriscos señalan la intensidad umbral. Los artefactos de registros originados por la estimulación eléctrica fueron omitidos para facilitar la comprensión de la figura.

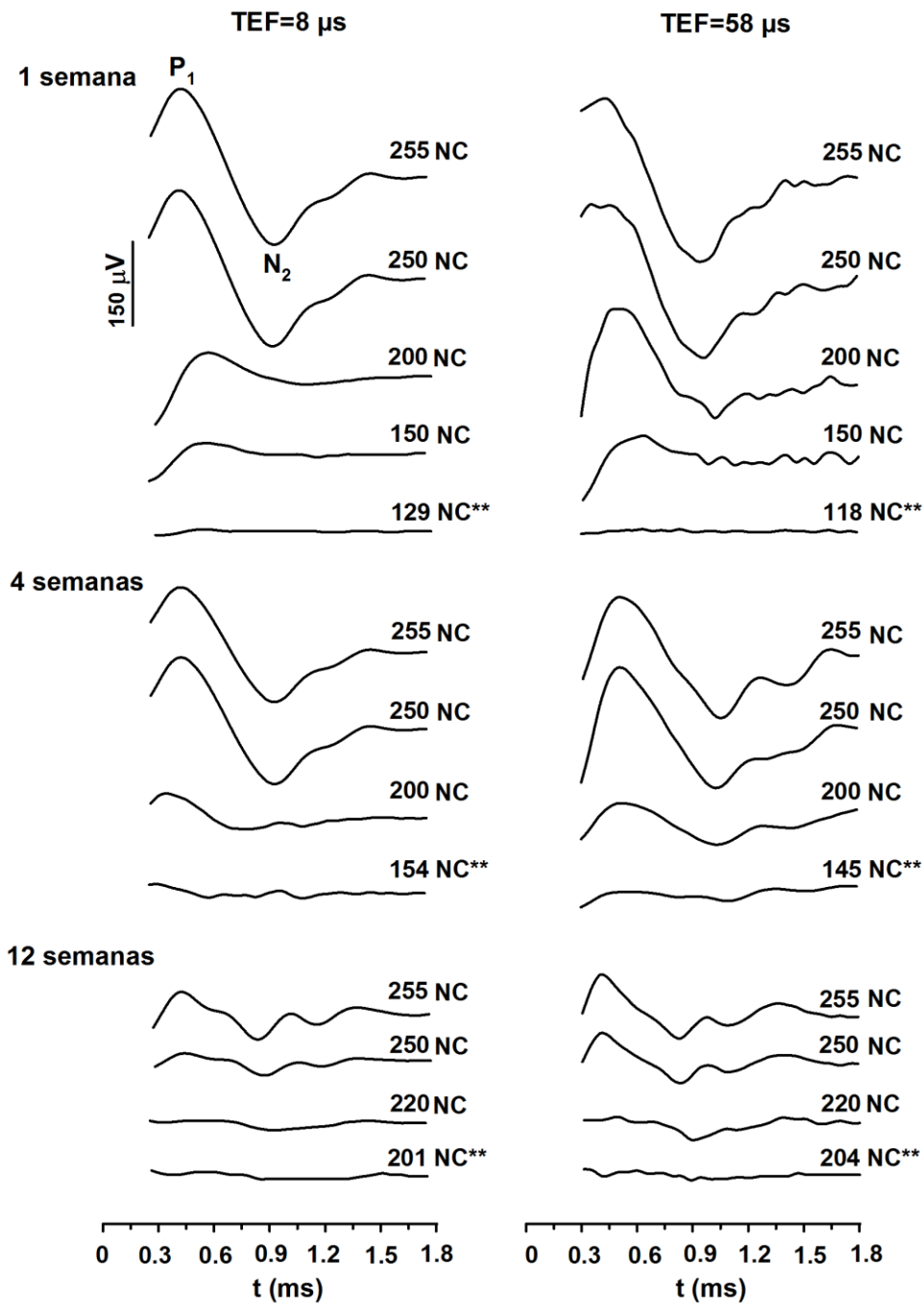


Fig. 29: Oscilogramas de PAC-e generados por estímulos eléctricos intracocleares con diferentes tiempos entre fases en curieles con sordera de diferentes duraciones. En el trazo superior izquierdo se señalan los picos P_1 y N_2 del potencial evocado. En cada registro se representa la intensidad de estimulación. Los asteriscos señalan la intensidad umbral.

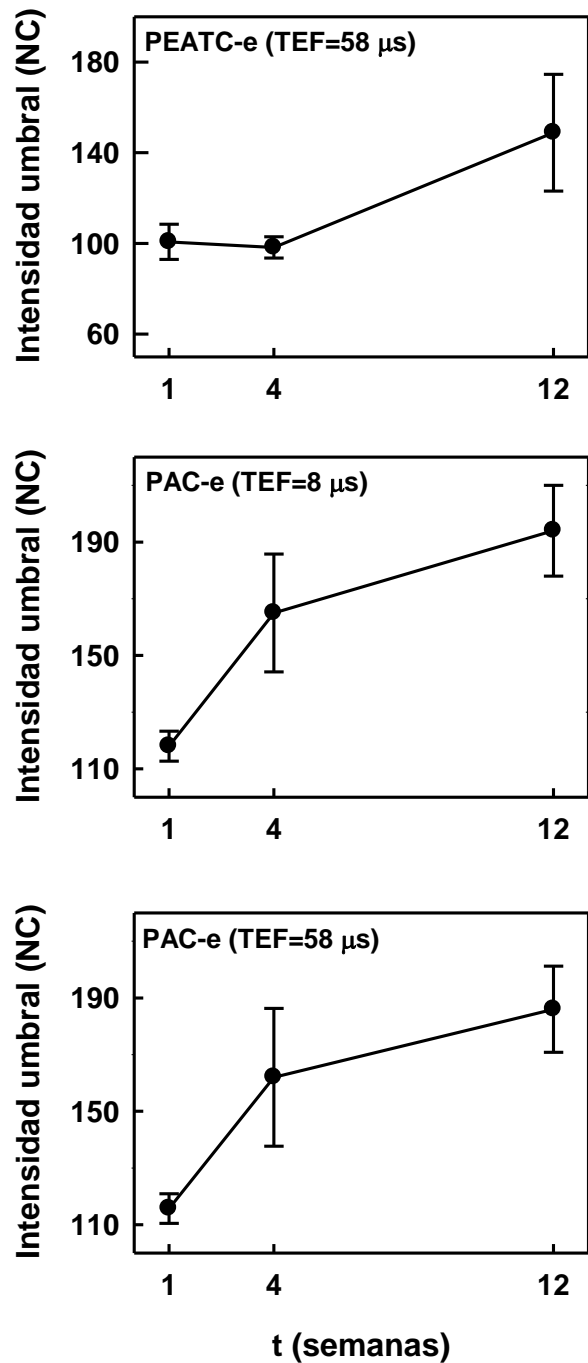


Fig. 30: Relación entre la duración de la sordera y la intensidad umbral de potenciales evocados auditivos de curieles generados por estímulos eléctricos intracocleares con diferentes tiempos entre fases. En cada gráfico se representan la media y el error estándar de los valores obtenidos en cada grupo experimental. Para los registros de tallo cerebral, N=6, N=4 y N=6 para los grupos de animales con 1, 4 y 12 semanas de sordera, respectivamente. En el caso de los registros del nervio auditivo, N=3 para cada uno de los grupos.

los resultados sobre el PAC-e expuestos en el presente capítulo, excepto los análisis de correlación, tampoco estarán acompañados de su respectivo análisis estadístico.

La diferencia de corriente necesaria para que estímulos eléctricos intracocleares con diferente TEF generen PEATC-e umbrales no varió con la duración de sordera ($F_{2, 13}=0.27$; $p>0.05$) (Fig. 31, panel superior). Al estudiar el PAC-e, la diferencia media de corriente tendió a aumentar con el tiempo de privación sensorial (Fig. 31 panel inferior). No obstante, este resultado no es concluyente debido a la pequeña cantidad de muestras y la gran variabilidad de los datos.

El aumento del TEF, al igual que el incremento de la DF, produjo el desplazamiento hacia la izquierda de las funciones intensidad/respuesta de ambos tipos de potencial evocado (Fig. 32 A y B). El valor medio del corrimiento de la curva del PEATC no varió significativamente con la duración de la sordera ($F_{2, 13}=2.22$, $p>0.05$) (Fig. 32 C). En el caso del PAC-e, las diferencia entre los valores medios de desplazamiento fue de solo 2.20 NC, al comparar los individuos con sordera de una y cuatro semanas de duración, y 1.15 NC al comparar este último grupo y los animales con sordera de 12 semanas (Fig. 32 D). Teniendo en cuenta la dispersión de los datos, puede afirmarse que las diferencias observadas fueron consecuencia de la variabilidad de los resultados electrofisiológicos y no del efecto de la duración de la pérdida sensorial.

4.8. Efecto del tiempo entre estímulos sobre el PEATC-e y el PAC-e de curieles sordos

La figura 33 (paneles de la izquierda) ilustra PEATC-e generados por pares de pulsos eléctricos intracocleares, representativos de un animal estudiado una semana después de inducido el daño ototóxico. Con tiempos entre estímulos (TEE) relativamente largos (5.0 ms), la amplitud del potencial evocado producido por el segundo estímulo del par fue aproximadamente igual a la del generado por el primer pulso eléctrico. La amplitud de la segunda respuesta disminuyó gradualmente a medida que se acortó el TEE. No obstante, el PEATC-e producido por el estímulo prueba (o estímulo de interés) nunca fue completamente abolido por la máscara. Es decir, independientemente del TEE, el estímulo de interés siempre produjo respuesta auditiva. En algunos casos, una vez alcanzado el mínimo valor de amplitud, disminuciones adicionales del TEE produjeron pequeños incrementos en la magnitud del potencial evocado (Fig. 33, paneles izquierdos medio e inferior).

Este patrón de respuesta fue opuesto al observado analizando la influencia del estímulo máscara sobre la generación del PAC-e (Fig. 33, paneles derechos). La amplitud de este tipo de potencial evocado aumentó a medida que disminuyó el TEE. En algunos casos, una vez alcanzado el valor máximo de amplitud, disminuciones posteriores del TEE provocaron el decrecimiento de la respuesta (Fig. 33, paneles derechos medio e inferior). Es necesario recordar que el aumento de la amplitud del PAC-e representa un mayor

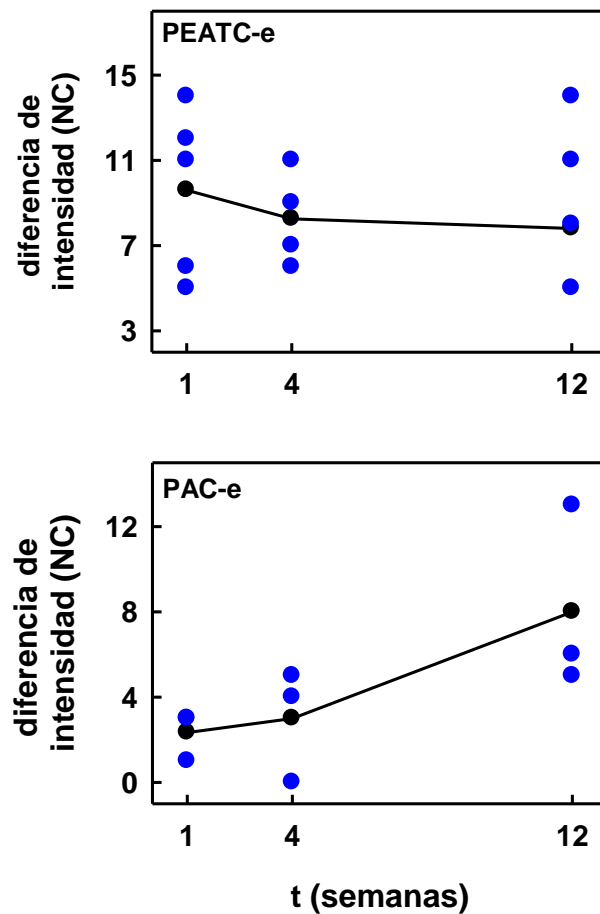


Fig. 31: Relación entre el la duración de la sordera y la diferencia de intensidad umbral de respuestas auditivas generadas por pulsos de corriente bifásicos con TEF de $8\mu\text{s}$ ó $58\mu\text{s}$.

En cada gráfico se representan el promedio de la diferencia de intensidad obtenido en cada grupo (círculos negros) así como los valores de cada uno de los sujetos experimentales (círculos azules). Para los potenciales evocados de tallo cerebral, N=5 para los grupos de individuos con sordera de una y doce semanas, N=4 para los animales con sordera de 4 semanas. Para los registros del nervio auditivo, N=3 para cada uno de los grupos.

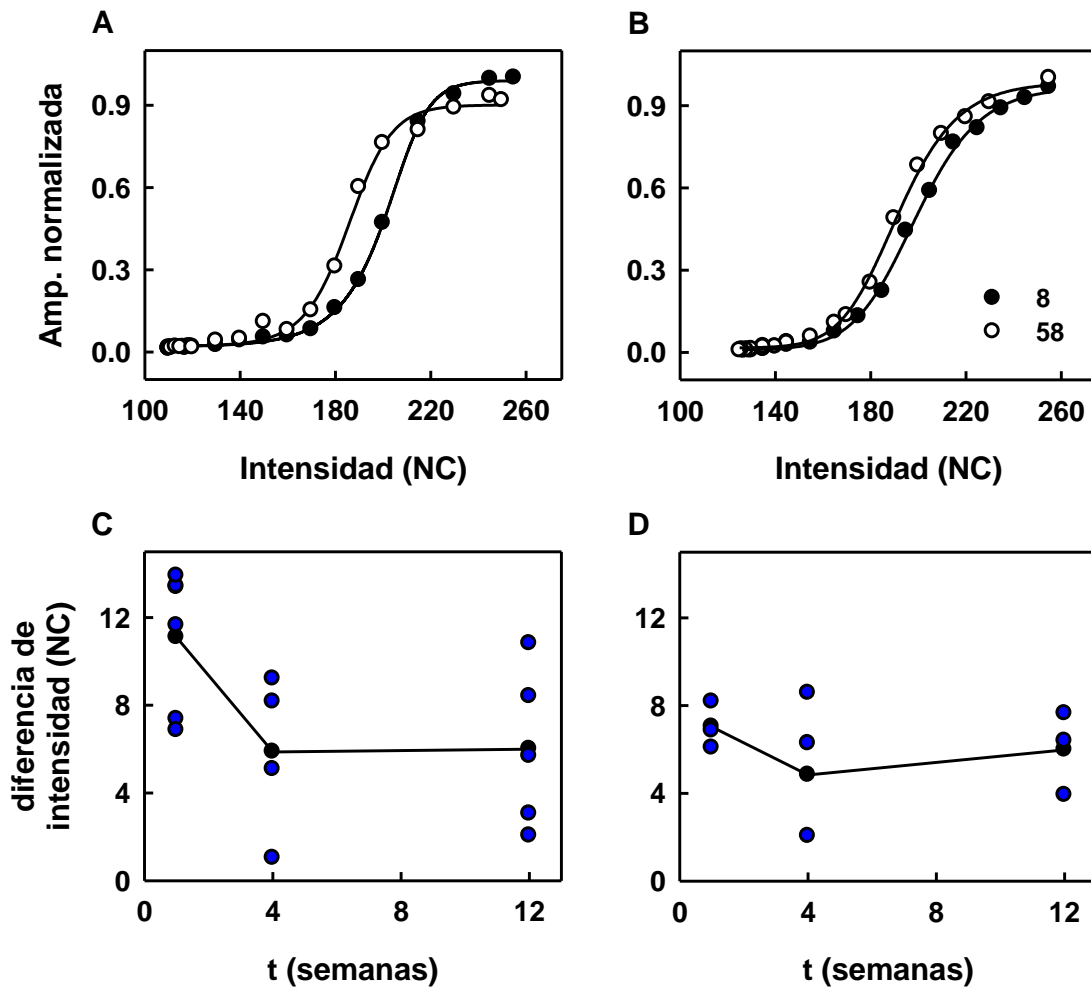


Fig. 32: Relación entre el TEF de pulsos eléctricos intracocleares de intensidad supra-umbral y la amplitud de potenciales evocados auditivos de curieles sordos.

A y B) Curvas intensidad/respuesta obtenidas para cada TEF en un individuo con sordera de una semana. Cada punto representa el valor medio de amplitud de las primeras 500 respuestas a los estímulos. Las líneas representan las curvas teóricas obtenidas a partir de los análisis de regresión (para ambos casos: $r^2=0.99$, $p<0.001$)

C y D) Relación entre la duración de la sordera y la diferencia de intensidad necesaria para que estímulos con diferentes TEF generen potenciales evocados de la misma amplitud. Se representan las diferencias medias de intensidad de cada grupo (puntos negros) y los valores de cada individuo (puntos azules) (N=5, N=4 y N=5 para el PEATC-e de los animales con sordera de 1, 4 y 12 semanas de duración, respectivamente; N=3 para la respuesta del nervio).

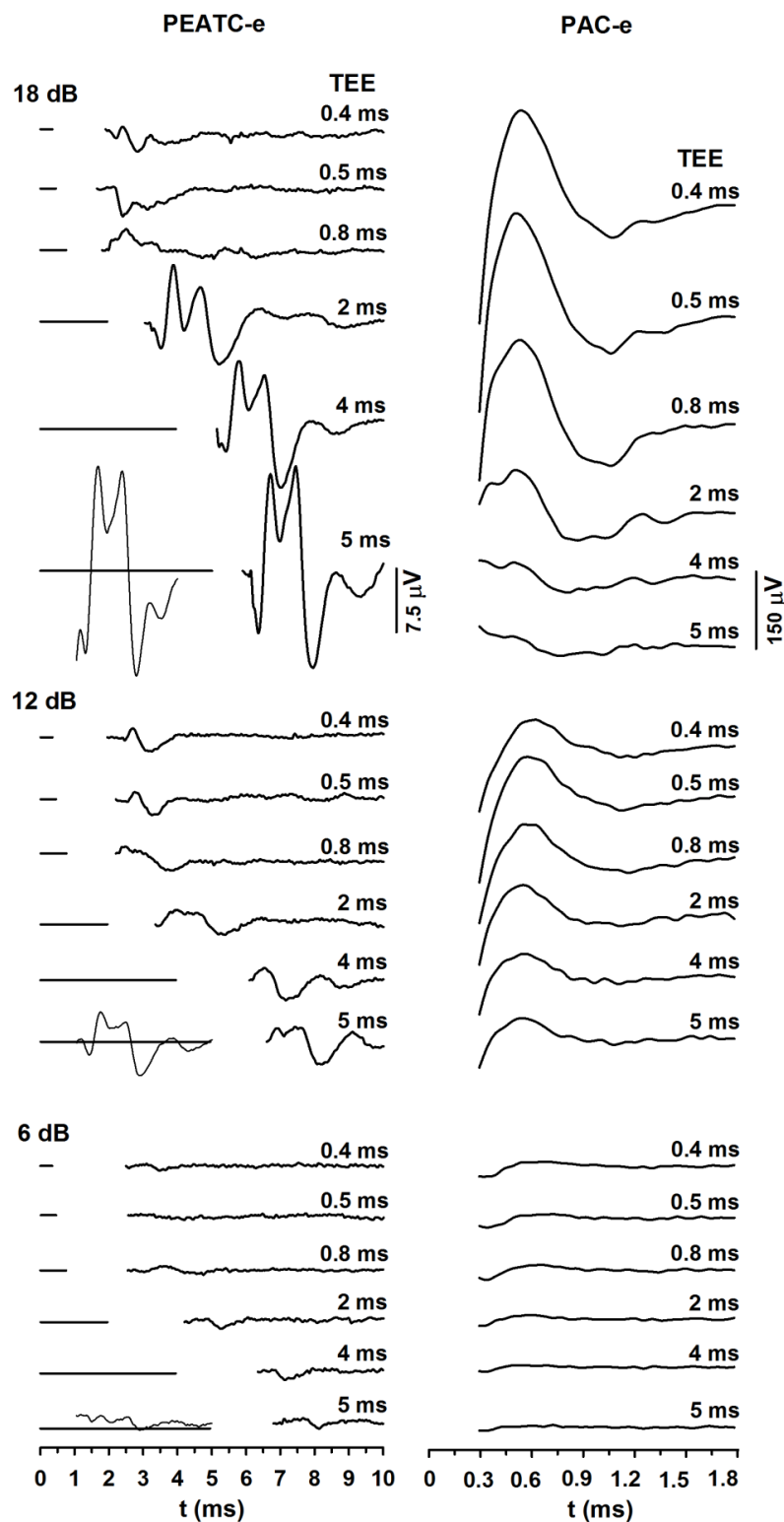


Fig. 33: Oscilogramas de potenciales evocados auditivos obtenidos en curieles con sordera de una semana de duración en respuesta a estímulos eléctricos intracocleares. Se muestra el efecto del TEE sobre la amplitud de los potenciales evocados. Para cada serie de respuestas se representa la intensidad de estimulación. En los oscilogramas de PEATC-e, sólo se muestra la respuesta al segundo estímulo del par de pulsos eléctricos, excepto cuando el TEE fue de 5 ms. Los artefactos de registros originados por la estimulación fueron omitidos para facilitar la comprensión de la figura.

efecto del estímulo máscara sobre la respuesta al estímulo de interés. Por tanto, el incremento de amplitud descrito para el PAC-e y su disminución a TEE muy pequeños son consecuencias de los mismos procesos fisiológicos involucrados en la disminución y posterior incremento de amplitud del PEATC-e.

El efecto de la intensidad de estimulación sobre las propiedades refractarias de los potenciales evocados auditivos generados por estímulos eléctricos fue analizado en animales con sordera de una semana de duración. La figura 34 muestra ejemplos de las funciones de recuperación obtenidas en uno de los individuos de este grupo.

A medida que aumentó la intensidad de corriente, se incrementó la diferencia entre las amplitudes máxima y mínima de la función de recuperación de los dos tipos de potencial evocado (Fig. 34). Es decir, aunque a todas las intensidades la disminución del TEE produjo el decrecimiento de la amplitud del PEATC-e y el incremento de la magnitud del PAC-e en respuesta al estímulo prueba, estas variaciones se hicieron mayores a medida que los pulsos eléctricos fueron más intensos. A la vez, los cambios en la amplitud de ambos tipos de potencial evocado obtenidos a muy pequeños TEE se redujeron al incrementarse la intensidad de estimulación.

Se analizaron entonces los valores de latencia del PEATC-e en función de la intensidad de estimulación y del TEE. Específicamente, se analizó la latencia de la respuesta al estímulo máscara, de la respuesta al estímulo de interés cuando el TEE fue 5 ms y del PEATC-e de menor amplitud en la función de recuperación (latencia de la respuesta más influenciada por el estímulo máscara).

De manera general, la latencia del PEATC-e tendió a disminuir al incrementarse la corriente del pulso eléctrico (Fig. 35 A). La magnitud media de este decrecimiento, obtenida al estudiar las respuestas de menor amplitud en la función de recuperación (0.11 ms), fue mayor en relación a la producida cuando los animales fueron estimulados con pares de pulsos con TEE de 5 ms (0.07 ms) y solamente con el estímulo máscara (0.04 ms). Sin embargo, pese a la tendencia observada, la intensidad del estímulo no tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre la latencia del potencial evocado ($F_{2, 37}=0.42$ $p>0.05$).

A diferencia del nivel de corriente, el TEE sí tuvo un efecto significativo sobre la latencia del PEATC-e ($F_{2, 37}=11.91$, $p<0.001$). Para pulsos de con igual intensidad, la latencia media de la respuesta de menor amplitud en la función de recuperación fue significativamente mayor que la de la evocada por el estímulo de interés cuando el TEE fue 5 ms (Fig. 35 A). Igualmente, fue estadísticamente superior a la del potencial evocado producido por el estímulo máscara. Independientemente de la intensidad, la latencia de la respuesta al estímulo máscara fue estadísticamente similar a la del PEATC-e generado por el estímulo prueba cuando el TEE fue 5 ms.

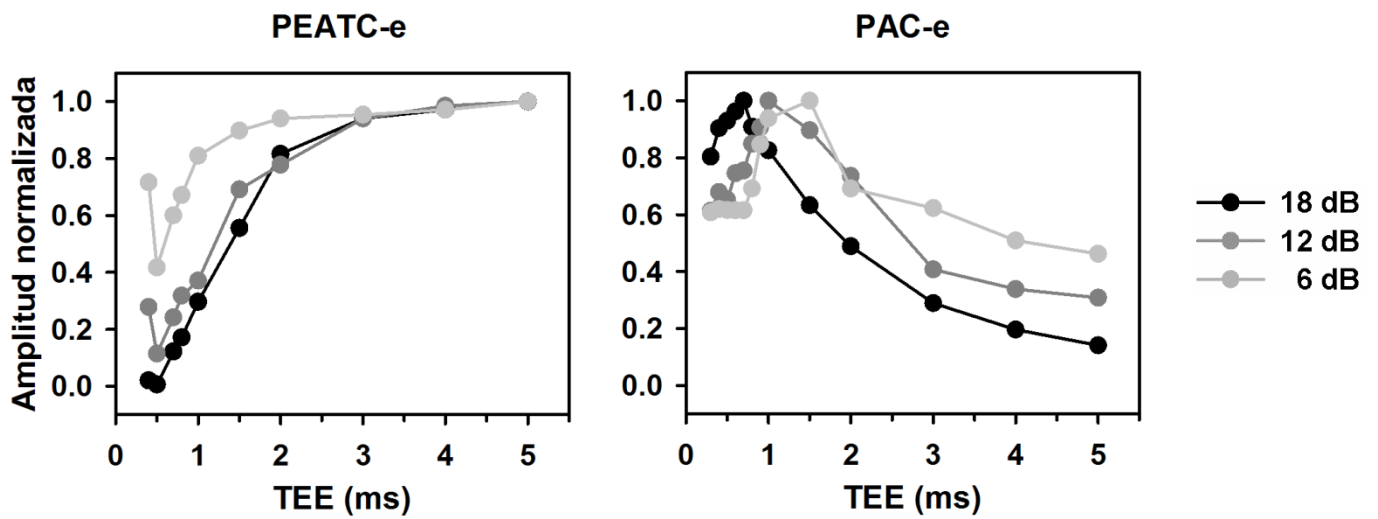


Fig. 34: Ejemplos de funciones de recuperación de potenciales evocados auditivos de curieles sordos, obtenidas en un animal estudiado una semana después de inducirse el daño ototóxico.

Las intensidades de estimulación representadas son relativas al umbral de respuesta del potencial evocado. En todos los casos, los valores de amplitud fueron normalizados en relación a la mayor respuesta de la función de recuperación.

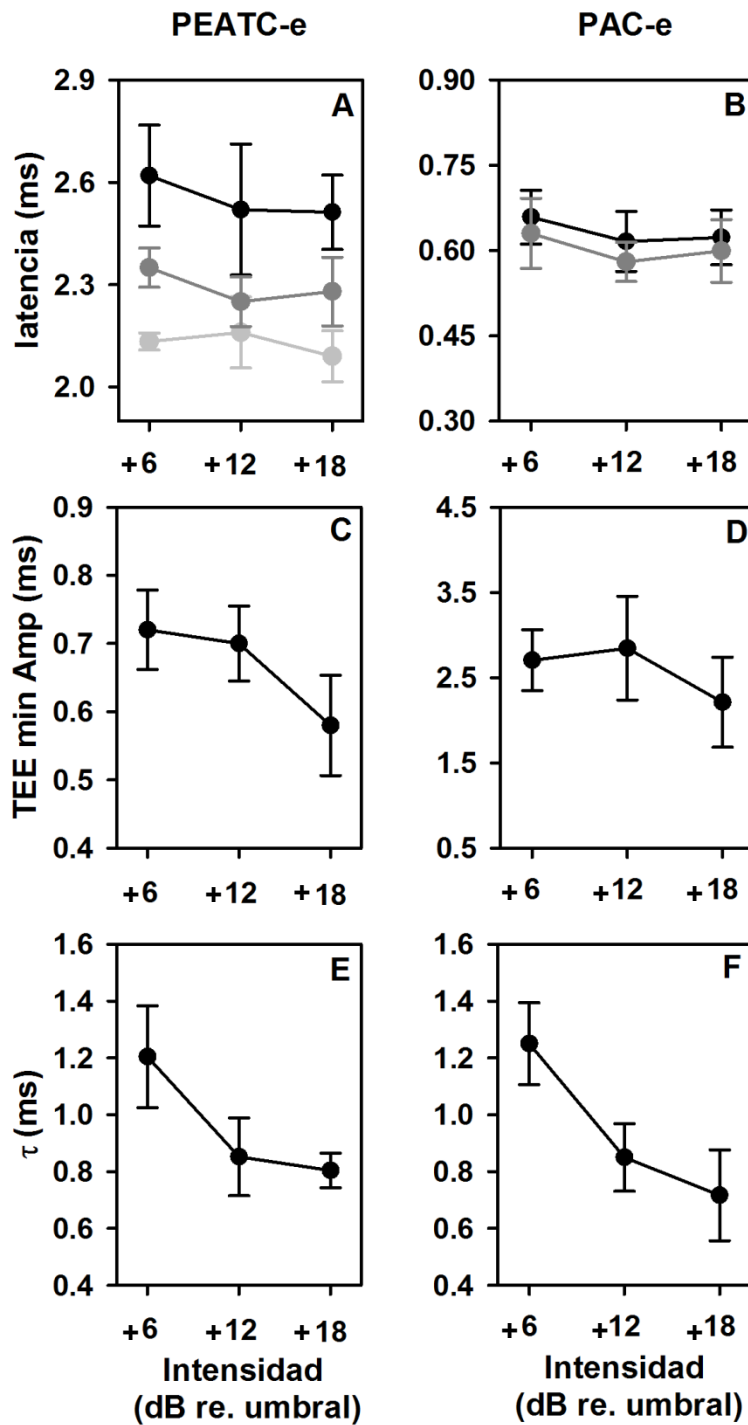


Fig. 35: Relación entre la intensidad de estimulación y las propiedades refractarias de la respuesta auditiva en curieles con sordera de una semana de duración.

A y B) Latencia de la respuesta. ● : potencial evocado por el estímulo máscara, ● : respuesta al estímulo de interés cuando el TEE fue de 5 ms, ● : respuesta al estímulo de interés cuando el TEE utilizado generó la menor amplitud de respuesta de la función de recuperación.

C y D) TEE con mayor influencia sobre la amplitud de la respuesta auditiva.

E y F) Constante de tiempo de la función de recuperación.

Para los potenciales evocados de tallo cerebral: N=5 para los grupos de individuos con una y doce semanas de sordera, N=4 para los animales con sordera de 4 semanas. Para los registros del nervio auditivo: N=3 para cada uno de los grupos.

No existió un efecto significativo de la interacción entre la intensidad y el TEE sobre la latencia del PEATC-e ($F_{4,37}=0.42$ $p>0.05$). Las diferencias medias entre la latencia de la respuesta al estímulo máscara y la del potencial evocado de menor amplitud en la función de recuperación fueron 0.48 ms, 0.39 ms y 0.42 ms para las respuestas producidas con pulsos de 6 dB, 12 dB y 18 dB de intensidad superiores al umbral de respuesta, respectivamente (Fig. 35 A).

El protocolo utilizado para la extracción del PAC-e no permite obtener la respuesta a estímulos independientes. Con pulsos pareados, la latencia del PAC-e tendió a disminuir al incrementarse la intensidad de estimulación (Fig. 35 B). Frente a estímulos de igual intensidad, la latencia del PAC-e de menor amplitud en la función de recuperación fue ligeramente superior a la observada cuando el TEE fue de 5 ms. La diferencia entre los tiempos de aparición de la respuesta en estas dos condiciones fue marcadamente inferior a la observada al estudiar el efecto del TEE sobre la amplitud del PEATC-e.

Contrario a lo descrito para la latencia de la respuesta auditiva, el TEE que produjo la mínima amplitud en la función de recuperación del PEATC-e dependió de la intensidad de corriente ($F_{2,13}=4.46$, $p<0.05$). El valor medio de esta variable de respuesta, al emplear estímulos de 6 dB de intensidad por encima del umbral, no difirió estadísticamente del observado cuando el nivel de estimulación fue 12 dB superior al umbral del potencial evocado (Fig. 35 C). A la vez, fue significativamente mayor que el obtenido con estímulos de +18 dB en relación al umbral. Mientras, las medias calculadas con estímulos de +12 dB y +18 dB en relación al umbral no difirieron estadísticamente. Por su parte, El TEE que generó la menor amplitud del PAC-e tuvo valores muy similares cuando la intensidad del estímulo fue 6 dB y 12 dB superior al umbral de respuesta y disminuyó con pulsos de corriente 18 dB por encima del umbral (Fig. 35 D).

Un comportamiento ligeramente diferente fue encontrado al estudiar la constante de tiempo de las funciones de recuperación (τ) del PEATC-e (Fig. 35 E). Esta variable de respuesta disminuyó significativamente cuando la intensidad del pulso aumentó de 6 dB a 12 dB por encima del umbral ($F_{2,13}=4.06$, $p<0.05$). Mientras, los valores medios obtenidos con estímulos 12 dB y 18 dB superiores al umbral no difirieron estadísticamente entre sí.

La τ de la función de recuperación del PAC-e también tendió a disminuir al incrementarse la intensidad del pulso eléctrico (Fig. 35 F). Para este tipo de potencial evocado, el decrecimiento medio de τ , obtenido al incrementar la intensidad de 6 dB a 12 dB por encima del umbral de respuesta, fue mayor que el observado cuando la intensidad del pulso varió de +12 dB a +18 dB en relación al umbral.

De forma general, la relación entre la amplitud del potencial evocado y el TEE, en curieles con sordera de cuatro y doce semanas, fue similar a la descrita previamente para individuos con pérdida auditiva de corta

duración (Fig. 36). Es decir, la amplitud del PEATC-e generado por el segundo estímulo del par de pulsos eléctricos disminuyó a medida que se acortó el TEE. Una vez alcanzado el mínimo valor de amplitud, disminuciones adicionales del TEE produjeron ligeros incrementos en la magnitud del potencial evocado. Lo contrario fue observado al estudiar el PAC-e. De igual manera, la disminución de la amplitud de la respuesta auditiva obtenida al prolongarse la duración de la sordera, proceso descrito en epígrafes anteriores, también se puso de manifiesto al estudiar las características refractarias de ambos tipos de potenciales evocados.

Ejemplos de funciones de recuperación de animales representativos de cada uno de los grupos experimentales son mostrados en la figura 37. Típicamente, la diferencia entre las amplitudes máxima y mínima de la función de recuperación del PEATC-e disminuyó durante el periodo de evolución de la sordera (Fig. 37, panel izquierdo). Al mismo tiempo, el aumento de amplitud obtenido con TEE muy cortos fue mayor en los animales estudiados 12 semanas después de la inducción del daño ototóxico.

Mientras, la diferencia entre el mayor y el menor valor de amplitud de la función de recuperación del PEAC-e se incrementó al aumentar la duración de la pérdida sensorial (Fig. 37, panel derecho). Para este tipo de potencial evocado, las disminuciones de amplitud características de TEE pequeños fueron de mayor magnitud en el grupo experimental con pérdida auditiva de una semana.

El efecto de la duración de la sordera sobre la latencia del PEATC-e obtenido con diferentes intensidades de estimulación y diferentes TEE es mostrado en la figura 38 (A-C). Como era de esperar teniendo en cuenta lo observado en individuos con pérdida auditiva de una semana (Fig. 35), el TEE también tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre la latencia cuando todos los individuos del estudio fueron incluidos en el análisis ($F_{2, 29}=12.51$, $p<0.001$; $F_{2, 29}=5.09$, $p<0.05$ y $F_{2, 29}=9.12$, $p<0.001$ para las respuestas obtenidas a 6 dB, 12 dB y 18 dB por encima del umbral de generación del potencial evocado, respectivamente). Más importante, la latencia del PEATC-e disminuyó significativamente al incrementarse la duración de la sordera ($F_{2, 29}=7.25$, $p<0.05$; $F_{2, 29}=4.24$, $p<0.05$ y $F_{2, 29}=4.95$, para los PEATC-e obtenidos a +6 dB, +12 dB y +18 dB en relación al umbral, respectivamente). Por su parte, la interacción entre la duración de la sordera y el TEE no tuvo un efecto significativo sobre la latencia de la respuesta ($F_{2, 29}=0.45$, $p>0.05$; $F_{2, 29}=0.22$, $p>0.05$ y $F_{2, 29}=0.33$, $p>0.05$ para las respuestas evocadas cuando el nivel de corriente fue 6 dB, 12 dB y 18 dB superior al umbral, respectivamente). Los resúmenes de los resultados de las pruebas de comparaciones múltiples de Tukey son mostrados en las tablas 4, 5 y 6.

La latencia del PEAC-e también tendió a disminuir al incrementarse el tiempo de privación sensorial (Fig. 38 D-F). Este resultado fue evidente tanto para los potenciales evocados generados por estimulación

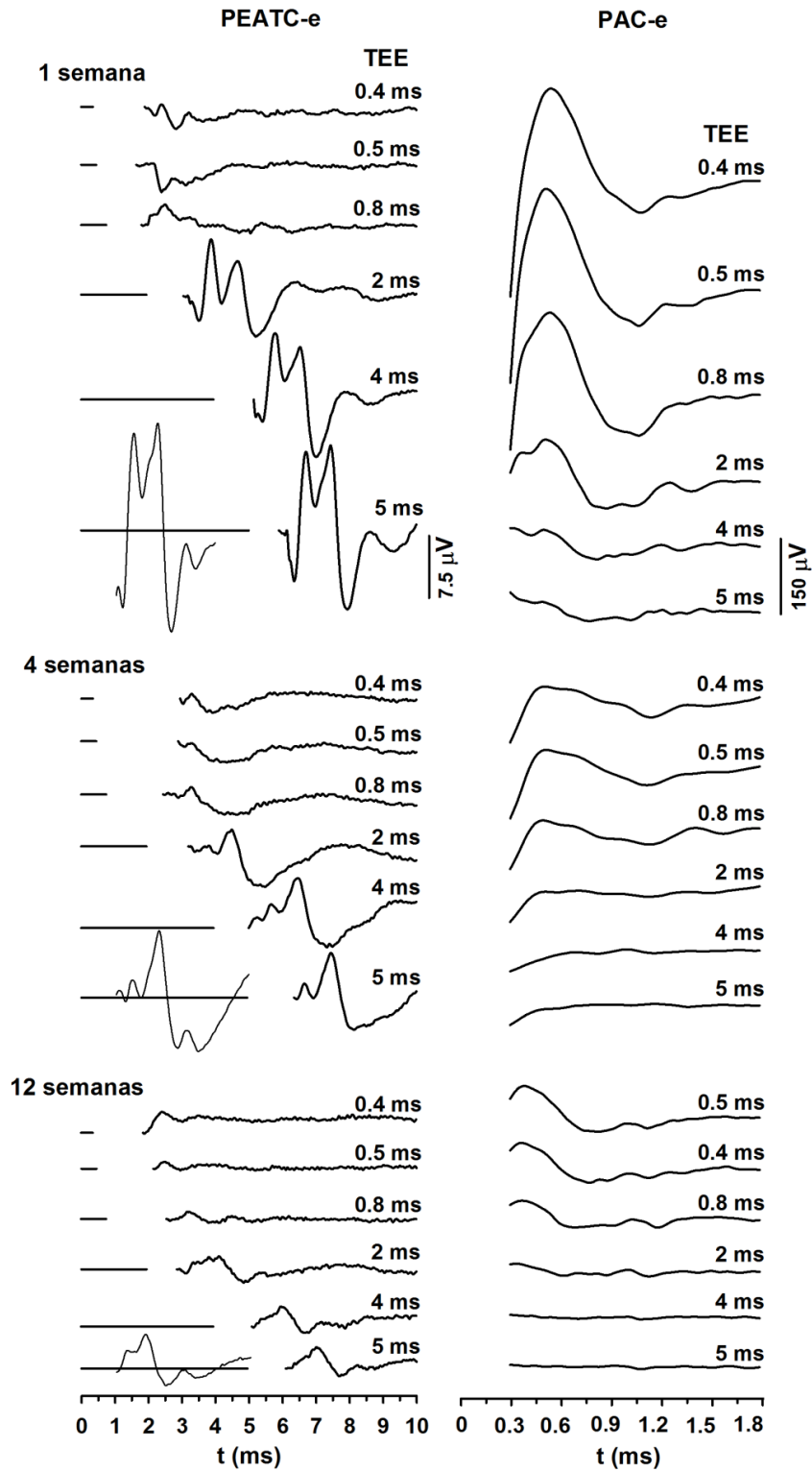


Fig. 36: Oscilogramas de potenciales evocados auditivos generados por estímulos eléctricos intracocleares en curieles con sordera de diferentes duraciones. Las respuestas fueron generadas por pulsos con diferentes TEE y 18 dB de intensidad por encima del umbral del potencial evocado. Los oscilogramas de PEATC-e sólo muestran la respuesta al segundo estímulo del par de pulsos eléctricos, excepto cuando el TEE fue 5 ms. Los artefactos de registros originados por la estimulación fueron omitidos para facilitar la comprensión de la figura.

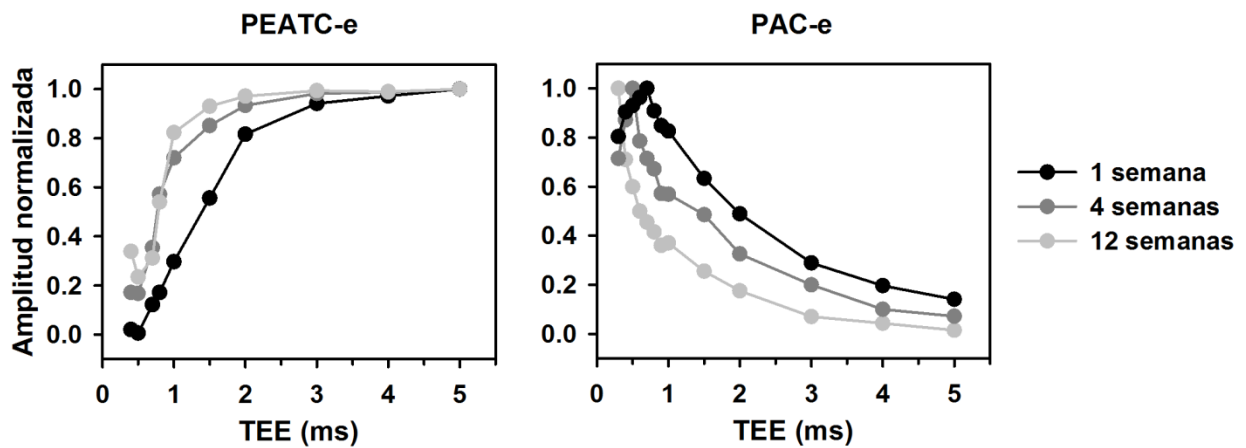


Fig. 37: Ejemplos de funciones de recuperación de potenciales evocados auditivos, obtenidos en curieles sordos con diferentes duraciones de sordera.

Todas las respuestas fueron generadas con pulsos eléctricos de 18 dB de intensidad en relación al umbral del potencial evocado. Los valores de amplitud fueron normalizados respecto a la respuesta de mayor amplitud de cada función de recuperación.

Tabla 4: Probabilidades obtenidas en la prueba de comparaciones múltiples de Tukey al analizar el efecto de la duración de la sordera y el tiempo entre estímulos eléctricos intracocleares sobre la latencia del PEATC-e de curieles, frente a estímulos de +6 dB en relación al umbral.

dur. sord.	est.	1_max. refract.	1_TEE 5	1_ind.	4_max. refract.	4_TEE 5	4_ind.	12_max. refract.	12_TEE 5
1	max. refract.								
1	TEE 5	0.027							
1	ind.	0.000	0.040						
4	max. refract.	0.372	0.430	0.037					
4	TEE 5	0.137	0.874	0.133	0.605				
4	ind.	0.003	0.186	0.807	0.048	0.242			
12	max. refract.	0.046	0.807	0.075	0.603	0.962	0.176		
12	TEE 5	0.000	0.007	0.296	0.007	0.030	0.271	0.123	
12	ind.	0.000	0.001	0.026	0.002	0.008	0.088	0.003	0.261

Tabla 5: Probabilidades obtenidas en la prueba de comparaciones múltiples de Tukey al analizar el efecto de la duración de la sordera y el tiempo entre estímulos eléctricos intracocleares sobre la latencia del PEATC-e de curieles generado por estímulos de +12 dB en relación al umbral.

dur. sord.	est.	1_max. refract.	1_TEE 5	1_ind.	4_max. refract.	4_TEE 5	4_ind.	12_max. refract.	12_TEE 5
1	max. refract.								
1	TEE 5	0.119							
1	ind.	0.041	0.596						
4	max. refract.	0.519	0.578	0.341					
4	TEE 5	0.095	0.906	0.680	0.519				
4	ind.	0.025	0.407	0.739	0.042	0.472			
12	max. refract.	0.273	0.785	0.466	0.770	0.708	0.325		
12	TEE 5	0.007	0.017	0.377	0.114	0.021	0.599	0.046	
12	ind.	0.000	0.021	0.037	0.023	0.027	0.016	0.024	0.038

Tabla 6: Probabilidades obtenidas en la prueba de comparaciones múltiples de Tukey al analizar el efecto de la duración de la sordera y el tiempo entre estímulos eléctricos intracocleares sobre la latencia del PEATC-e de curieles generado por estímulos de +12 dB en relación al umbral.

dur. sord.	est.	1_max. refract.	1_TEE 5	1_ind.	4_max. refract.	4_TEE 5	4_ind.	12_max. refract.	12_TEE 5
1	max. refract.								
1	TEE 5	0.042							
1	ind.	0.005	0.018						
4	max. refract.	0.092	0.940	0.180					
4	TEE 5	0.029	0.456	0.545	0.499				
4	ind.	0.002	0.077	0.643	0.039	0.314			
12	max. refract.	0.112	0.861	0.289	0.913	0.624	0.160		
12	TEE 5	0.002	0.020	0.486	0.068	0.235	0.794	0.021	
12	ind.	0.000	0.005	0.014	0.006	0.031	0.198	0.015	0.032

Leyenda: dur. sord.: duración de la sordera, est.: tipo de estímulo, max. refract.: TEE al cual se obtuvo la mínima amplitud de respuesta en la función de recuperación. TEE 5: tiempo entre estímulos igual a 5 ms, ind.: estímulos individuales (máscara). En los títulos de las columnas se representan la duración de la sordera seguido por el tipo de estímulo.

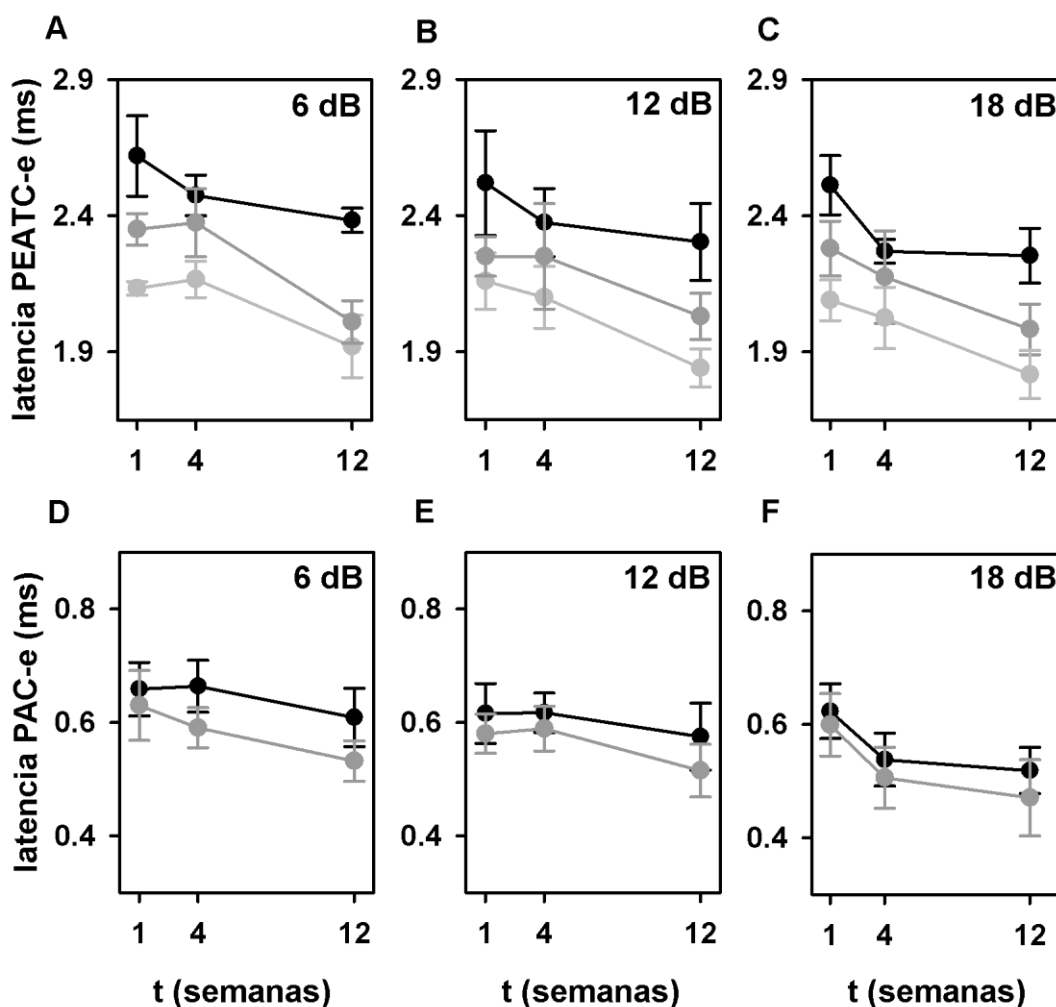


Fig. 38: Efecto de la duración de la sordera sobre las características refractarias de la respuesta auditiva de curieles.

A, B y C) Latencia del PEATC-e generado por el estímulo máscara (●), por el segundo pulso de pares de estímulos eléctricos con TEE de 5 ms (●) y por el segundo pulso de pares de estímulos eléctricos con el TEE que genera la respuesta de menor amplitud en la función de recuperación del potencial evocado (●).

D, E y F) Latencia del PAC-e generado por pares de estímulos eléctricos con TEE de 5 ms (●) y por pares de estímulos eléctricos con el TEE que produce la respuesta de mayor amplitud en la función de recuperación del potencial evocado (●).

En cada gráfico se señala la intensidad de estimulación. Cada punto representa la media y la desviación estándar, calculados a partir de los valores obtenidos en cada grupo experimental. Para los potenciales evocados de tallo cerebral, N=5 para los grupos de individuos con 1 y 12 semanas de sordera, N=4 para los animales con sordera de 4 semanas de duración. Para los registros del nervio auditivo, N=3 para cada uno de los grupos.

pareada con TEE de 5 ms como para las respuestas de menor amplitud en la función de recuperación. Frente a estímulos con TEE de 5 ms, las latencias de los individuos con sordera de larga duración fueron 0.05 ms, 0.04 ms y 0.10 ms inferiores a las de los curieles con sordera de una semana, cuando la intensidad de estimulación fue 6 dB, 12 dB y 18 dB superior al umbral, respectivamente. Estas disminuciones fueron similares a las observadas al analizar las respuestas de menor amplitud en la función de recuperación.

A cada una de las intensidades de estimulación, el TEE que provocó la menor amplitud del PEATC-e no varió entre la primera y la cuarta semana posteriores al tratamiento ototóxico (Fig. 39 A-C). Sin embargo, disminuyó significativamente en los individuos con sordera de larga duración ($F_{2, 13}=5.37$, $p<0.05$; $F_{2, 13}=5.79$, $p<0.05$ y $F_{2, 13}=5.28$, $p<0.05$ para pulsos de 6 dB, 12 dB y 18 dB por encima del umbral, respectivamente). Al emplear estímulos de +6 dB y +12 dB respecto al umbral, el TEE que provocó la mayor amplitud del PAC-e fue similar en los animales con sordera de 1 y 4 semanas. Estos valores fueron superiores a los observados en el grupo con sordera de larga duración (Fig. 39 D y E). La media obtenida con pulsos de 18 dB por encima del umbral no varió al prolongarse la pérdida sensorial (Fig. 39 F).

La τ de la función de recuperación del PEATC fue otra de las características que dependió del tiempo de evolución de la sordera (Fig. 40 A-C). El valor medio de τ , cuando los estímulo fueron 6 dB y 12 dB superiores al umbral, no difirió entre la primera y la cuarta semana posteriores al tratamiento ototóxico y disminuyó significativamente en el grupo con sordera de 12 semanas ($F_{2, 10}=5.23$, $p<0.05$ y $F_{2, 10}=6.86$, $p<0.05$, para estímulos de +6 dB y +12 dB en relación al umbral, respectivamente). Mientras, la media obtenida con estímulos de +18 dB respecto al umbral no varió entre los grupos con sordera de 1 y 4 semanas de duración. A esta intensidad, la media de los individuos con sordera de 12 semanas fue estadísticamente inferior al de los animales con sordera de corta duración y similar al del grupo con pérdida auditiva de cuatro semanas ($F_{2, 10}=4.27$, $p<0.05$). A todas las intensidades de estimulación, la τ media de la función de recuperación del PEAC-e tendió a disminuir entre la primera y la cuarta semana de sordera. Esta variable de respuesta fue similar entre los grupos con pérdida sensorial de 4 y 12 semanas de duración (Fig. 40 D-F).

4.9. Histología coclear

De manera general, la presencia del epitelio auditivo no pudo ser determinada en ninguna de las cócleas estudiadas (Fig. 41). Esta degeneración del órgano de Corti estuvo acompañada por la disminución del número de neuronas del ganglio espiral (NGE), resultado se encuentra mejor ejemplificado en las imágenes de mayor magnificación mostradas en la figura 42.

La densidad de NGE dependió de la duración de sordera ($F_{2, 10}=5.123$, $p<0.05$; $F_{2, 10}=4.462$, $p<0.05$;

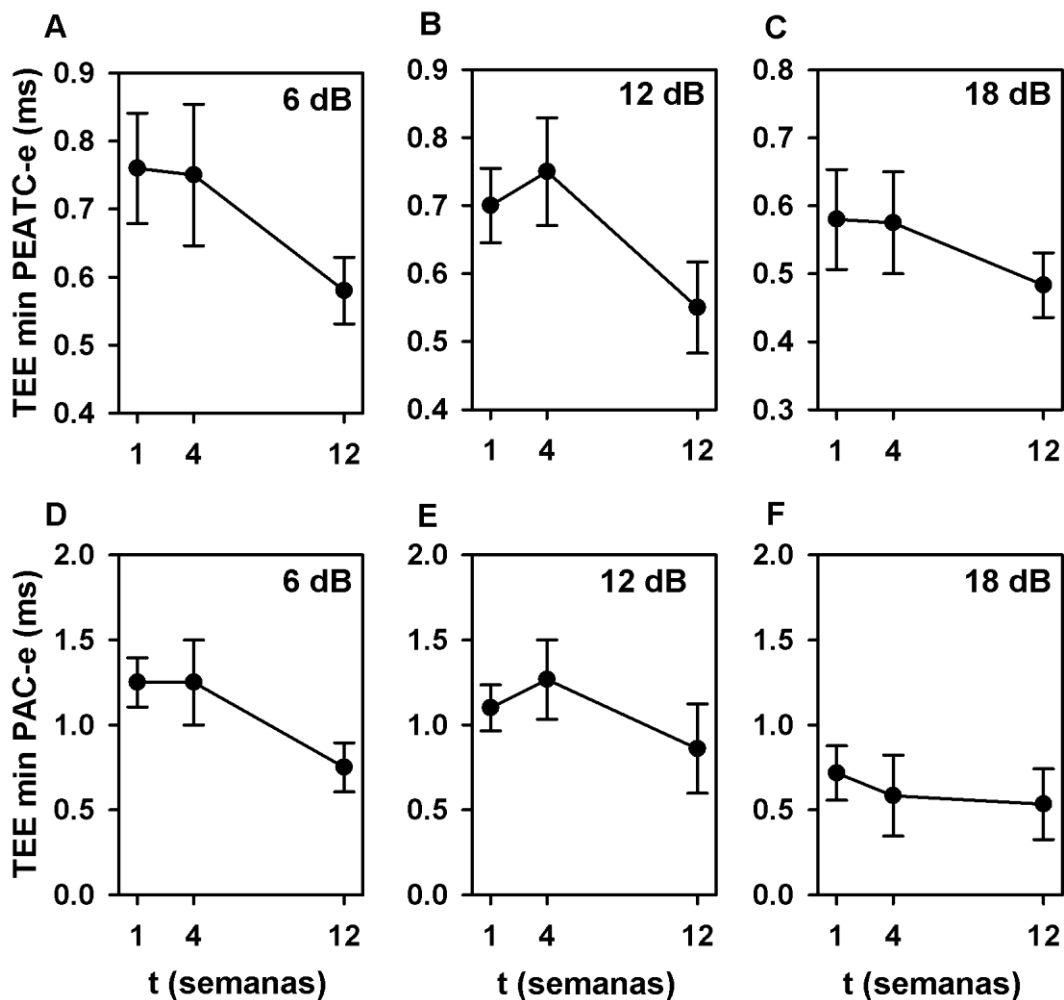


Fig. 39: Relación entre la duración de la sordera y el tiempo entre estímulos eléctricos intracocleares con mayor influencia sobre la amplitud de la respuesta auditiva de curieles con sordera de diferentes duraciones.

A, B y C) TEE al cual se obtiene la mínima amplitud de respuesta en la función de recuperación del PEATC-e.

D, E y F) TEE que al cual se obtienen PAC-e de amplitud máxima.

En cada gráfico se señala la intensidad de estimulación. Cada punto representa la media y la desviación estándar, calculados a partir de los valores obtenidos en cada grupo experimental. Para los potenciales evocados de tallo cerebral, N=5 para los grupos de individuos con 1 y 12 semanas de sordera, N=4 para los animales con sordera de 4 semanas de duración. Para los registros del nervio auditivo, N=3 para cada uno de los grupos.

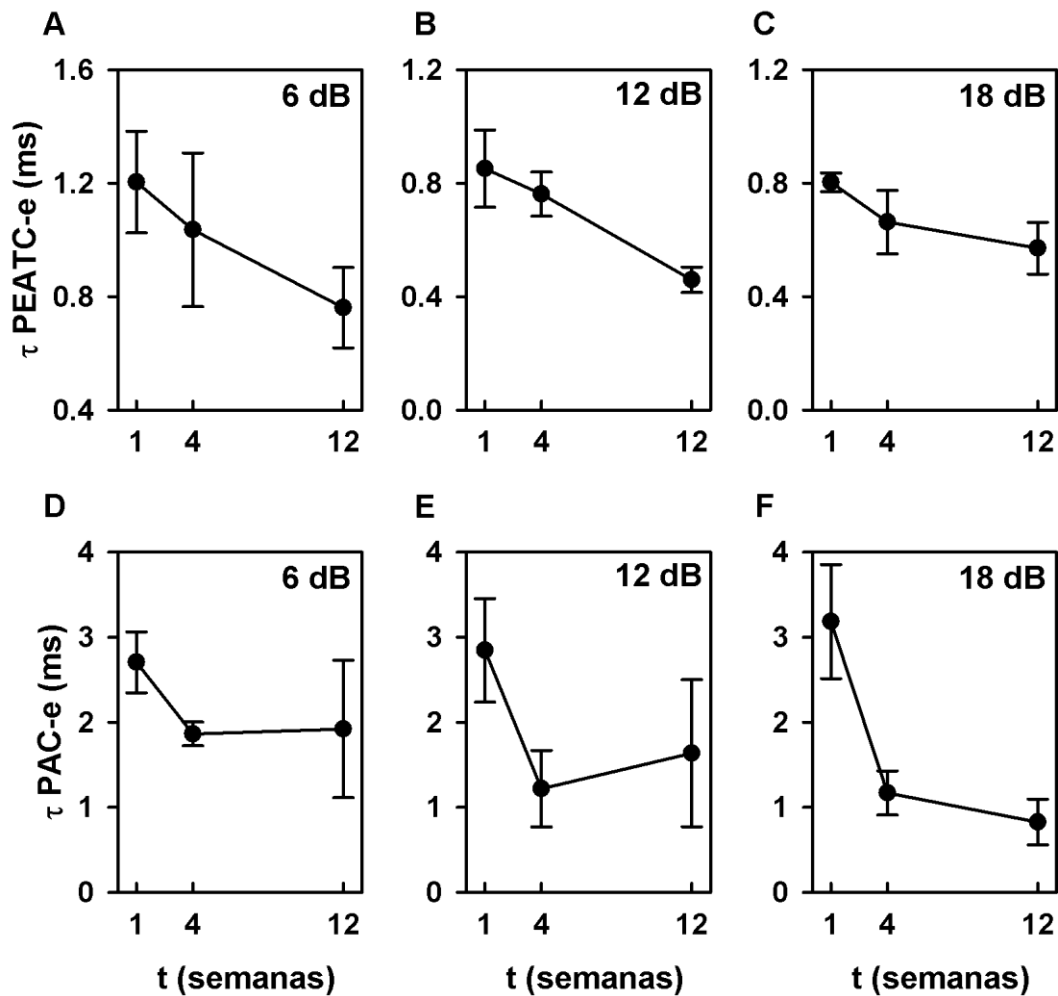


Fig. 40: Relación entre la duración de la sordera y la constante de tiempo (τ) de la función de recuperación de potenciales evocados auditivos, obtenidos en curieles con diferentes duraciones de sordera.

A, B y C) Efecto del tiempo de privación sensorial sobre la τ del PEATC-e.

D, E y F) Efecto del tiempo de derivación sensorial sobre la τ del PAC-e.

En cada gráfico se señala la intensidad de estimulación. Cada punto representa la media y la desviación estándar, calculados a partir de los valores obtenidos en cada grupo experimental. Para los potenciales evocados de tallo cerebral, N=5 para los grupos de individuos con 1 y 12 semanas de sordera, N=4 para los animales con sordera de cuatro semanas. Para los registros del nervio auditivo, N=3 para cada uno de los grupos.

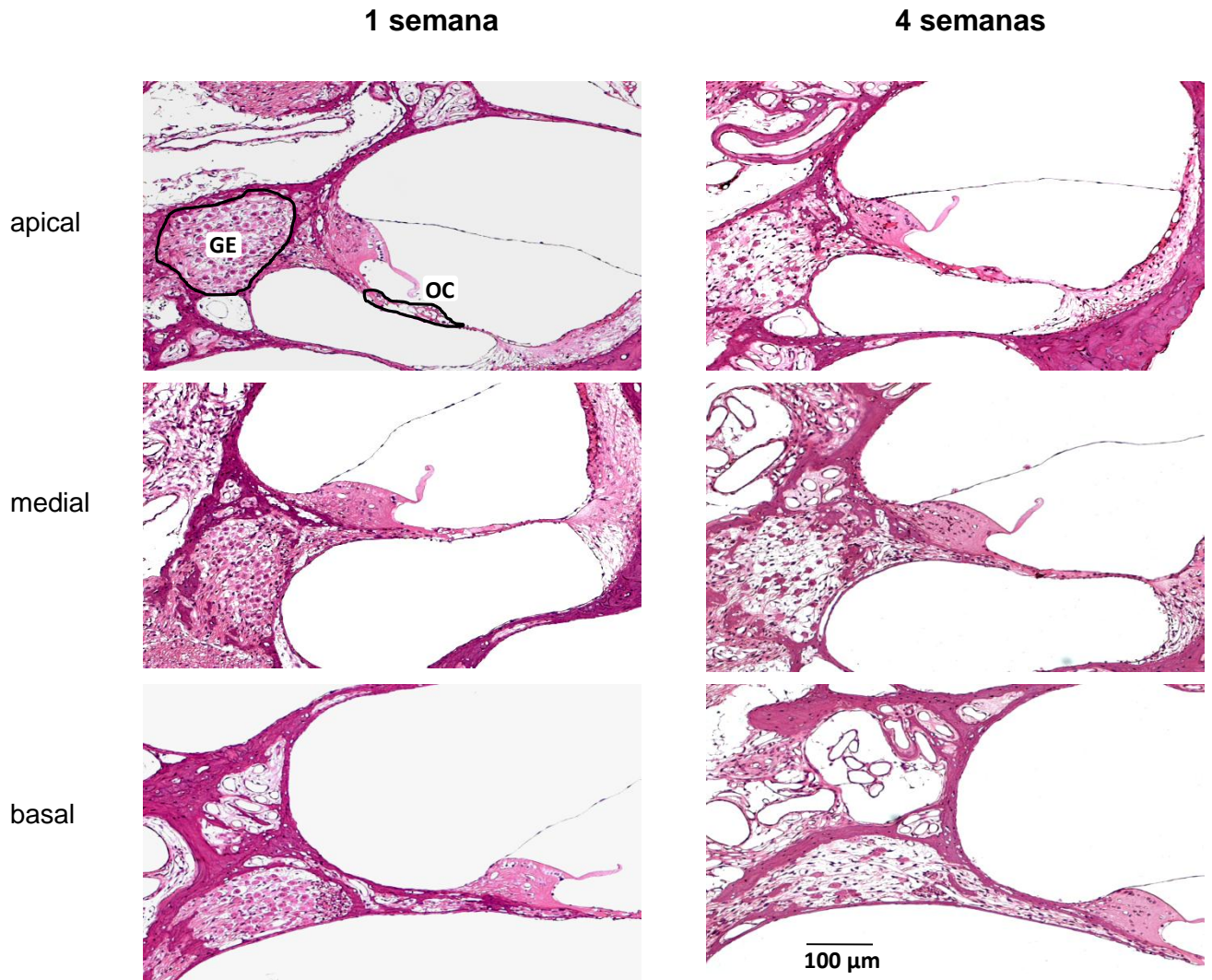


Fig. 41: Fotografías obtenidas al microscopio óptico de cortes histológicos representativos de diferentes regiones de la cóclea de curieles con sordera de diferentes duraciones. El ganglio espiral (GE) y la región correspondiente al Órgano de Corti (OC) se señalan en el panel superior izquierdo. Todas las fotografías fueron tomadas con la misma magnificación.

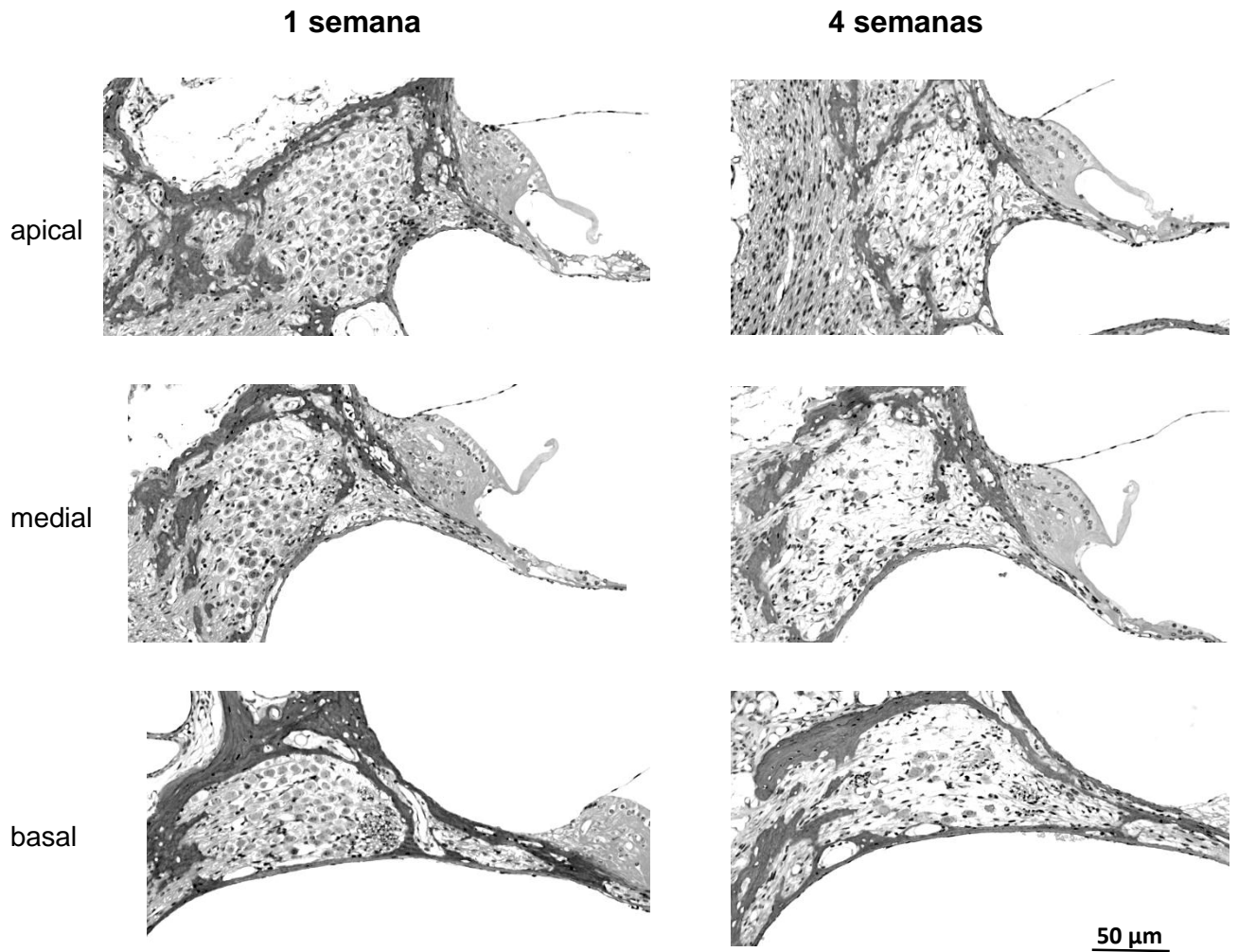


Fig. 42: Fotografías obtenidas al microscopio óptico de cortes histológicos del ganglio espiral en curieles con sordera de diferente duración. Para cada caso se señala la región coclear y la duración de la sordera. Todas las fotografías fueron tomadas con la misma magnificación.

$F_{2,10}=10.170$, $p<0.001$; para las regiones basal, media y apical, respectivamente; $F_{2,0.05}=19.235$, $p<0.001$ para la media de toda la cóclea). La densidad de NGE de las espiras basal media disminuyó significativamente entre la primera y la cuarta semana de sordera (Fig. 43). Mientras, no varió entre las semanas de 4 y 12 posteriores al tratamiento ototóxico. La supervivencia media de las NGE en la espira apical no varió significativamente entre la primera y la cuarta semana de sordera y disminuyó 12 semanas después de inducida la pérdida sensorial. El análisis de los valores medios de toda la cóclea demostró que los individuos con sordera de cuatro semanas presentaron densidades neuronales inferiores a las de los estudiados una semana después del tratamiento ototóxico. Demostró, además, que el valor medio del grupo con sordera de 12 semanas de fue inferior al del resto de los animales.

4.10. Relación entre la respuesta auditiva y la integridad del ganglio espiral

El último aspecto del estudio consistió en analizar si el efecto de las variables temporales de estimulación sobre la amplitud de los potenciales evocados auditivos estaba correlacionado con el grado de supervivencia del ganglio espiral. En la figura 44 se muestra la relación que existe entre la supervivencia neuronal del ganglio espiral y el efecto de la DF y el TEF sobre la amplitud de respuesta auditiva. Los análisis estadísticos demostraron que la diferencia de intensidad necesaria para generar PEATC-e de igual amplitud, cuando la DF se incrementó de 104 μ s a 208 μ s, estuvo correlacionada positivamente con la densidad neuronal del ganglio espiral ($r=0.66$ $p<0.05$) (Fig. 44 A). De igual manera, la diferencia de intensidad necesaria para que estímulos con TEF de 8 μ s y 58 μ s generasen PEATC-e y PAC-e de igual amplitud, también estuvo correlacionada positivamente con el grado de supervivencia del ganglio ($r=0.72$, $p<0.05$ para los potenciales evocados de tallo cerebral y $r=0.83$, $p<0.05$ para las respuestas evocadas del nervio auditivo) (Fig. 44 B y C).

Al igual que la DF y el TEE, la τ de la función de recuperación del PEATC-e también estuvo correlacionada positivamente con la densidad de NGE ($r=0.64$, $p<0.05$; $r=0.62$, $p<0.05$ y $r=0.72$, $p<0.05$ para las funciones obtenidas con estímulos 6 dB, 12 dB y 18 dB superiores al umbral de respuesta, respectivamente) (Fig. 45). En el caso del PEAC-e producido por estímulos de +6 dB en relación al umbral, aunque la τ de la función de recuperación de los animales con mayor supervivencia neuronal tendió a ser mayor que las observadas en individuos con menor densidad de NGE, la correlación entre estas dos variables no fue estadísticamente significativa ($r=0.49$, $p>0.05$). Correlaciones positivas y estadísticamente significativas fueron obtenidas analizando la relación entre la supervivencia del nervio auditivo y la τ de la función de recuperación del PAC-e cuando los animales fueron estimulados con pulsos de corriente 12 dB ($r=0.78$, $p<0.05$) y 18 dB superiores al umbral de generación del potencial evocado ($r=0.77$, $p<0.05$).

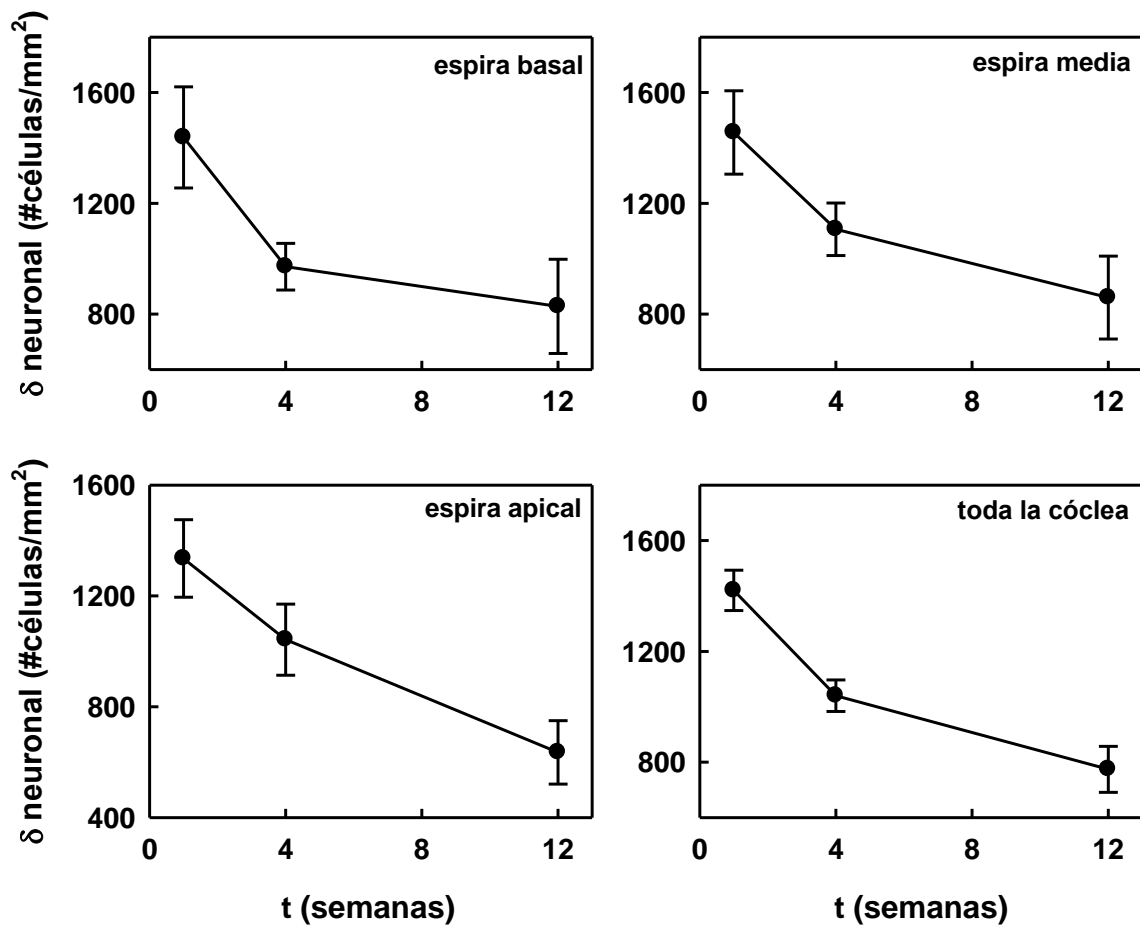


Fig. 43: Curso temporal de la degeneración neuronal del ganglio espiral de curieles provocada por la sordera sensorineural. Se muestran la densidad media de neuronas del ganglio espiral en cada una de las espiras cocleares y el valor medio de densidad analizando toda la cóclea.

Para cada uno de los grupos se representa la media con su error estándar. Para las gráficas de densidad de las espiras individuales, N=5, N=4 y N=6 para el grupo de individuos con 1, 4 y 12 semanas de duración, respectivamente. Para los valores medios de densidad, N=15, N=12 y N=18 para los animales con 1, 4 y 12 semanas de sordera, respectivamente. Cada valor individual fue el promedio de densidad de 5 cortes diferentes.

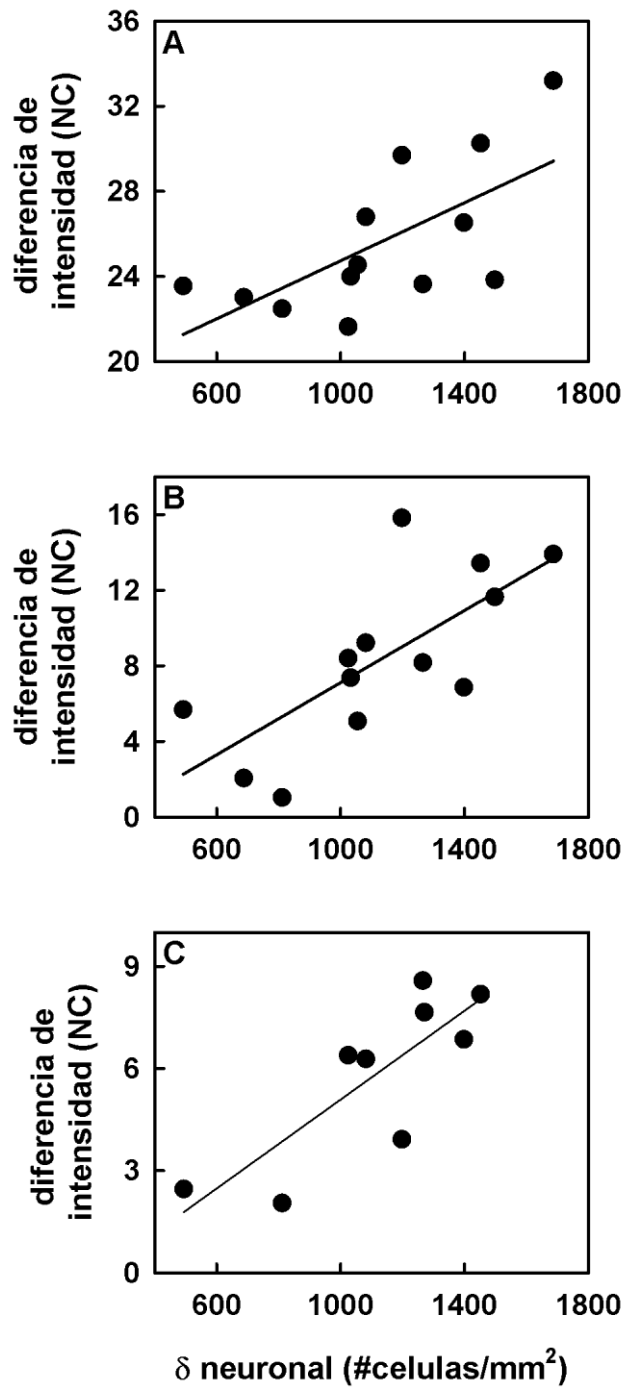


Fig. 44: Relación entre la supervivencia neuronal del ganglio espiral y la diferencia de intensidad necesaria para que estímulos eléctricos intracocleares con diferentes características temporales generen respuestas auditivas de igual amplitud.

- A) Relación entre la densidad neuronal del ganglio y el efecto de la duración de la fase sobre la amplitud del PEATC-e (N=13).
- B) Relación entre la integridad del ganglio y el efecto del tiempo entre fases sobre la amplitud del PEATC-e (N=13).
- C) Relación entre la supervivencia de NGE y el efecto del tiempo entre fases sobre la amplitud del PAC-e (N=9).

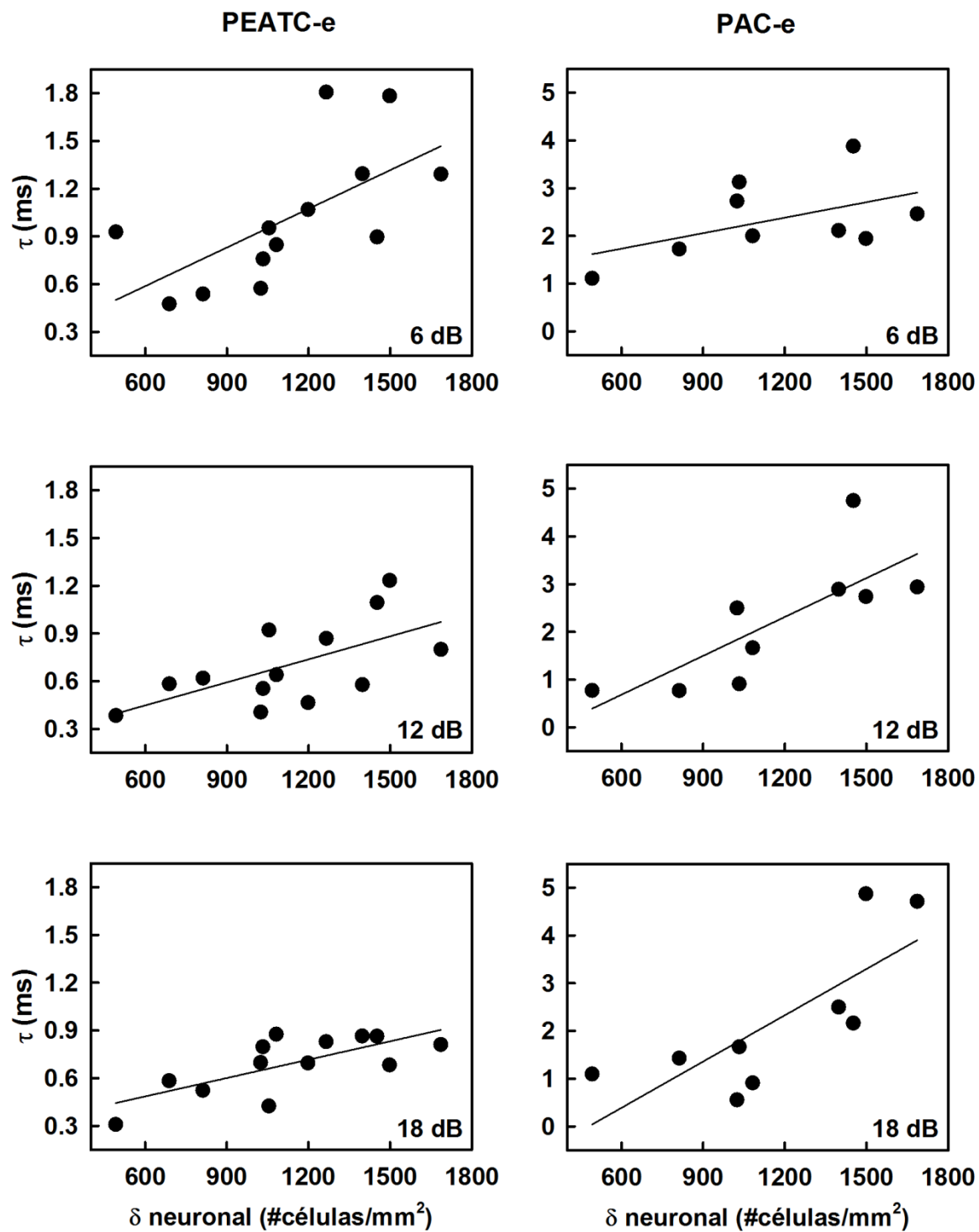


Fig. 45: Relación entre la supervivencia neuronal del ganglio espiral y la constante de tiempo de la función de recuperación del PEATC-e (paneles izquierdos) y del PAC-e (paneles derechos) de curieles.

En cada gráfico se muestra la intensidad de estimulación (dB superiores al umbral de respuesta). Las líneas rectas representan la relación teórica entre las variables, obtenida a partir del análisis de regresión ($p < 0.05$). $N=13$ y $N=9$ para los datos de PEATC-e y PAC-e, respectivamente.

5. DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

5.1. Maduración de la codificación de la profundidad de modulación de amplitud de estímulos acústicos

La codificación de la profundidad de modulación de amplitud de estímulos acústicos ha sido analizada registrando la actividad de neuronas individuales en diferentes estructuras de la vía auditiva (Krishna y Semple 2000; Nelson y Carney 2007; Rosen *et al.* 2010; Schatteman *et al.* 2008) y estudiando la respuesta psicofísica, tanto en humanos como en modelos animales (He *et al.* 2008; Kelly *et al.* 2006; Rosen *et al.* 2010; Viemeister y Plack 1993). Los potenciales evocados pueden constituir un enlace ideal entre los niveles celular y conductual al describir la respuesta electrofisiológica de poblaciones neuronales en el tallo cerebral y la corteza auditiva. Aunque el PEAE ha sido previamente estudiado en diferentes especies (Dolphin *et al.* 1994; Makela *et al.* 1990; Perez *et al.* 2001; Picton *et al.* 2003), pocos trabajos han abordado la codificación de la profundidad de modulación utilizando esta técnica de registro (John *et al.* 2004; Lins *et al.* 1995; Parthasarathy y Bartlett 2011). De ellos, que sea de nuestro conocimiento, sólo uno ha sido realizado en ratas (Parthasarathy y Bartlett 2011).

Los resultados expuestos en este documento demuestran que, frente a estímulos de igual profundidad de modulación, el umbral del PEAE de ratas aumenta cuando la frecuencia del tono se incrementa gradualmente de 4 kHz a 8 kHz (Fig. 11). Como consecuencia, se produce el aumento de la amplitud del PEAE generado por estímulos supra-umbrales. Estos hallazgos pueden ser explicados por el hecho de que la sensibilidad espectral de la especie es máxima frente a estímulos de 8 kHz y decrece progresivamente con tonos de 6 kHz y 4 kHz (Heffner *et al.* 1994; Hernández *et al.* 2005; Kelly y Masterton 1977). Por otra parte, las mayores amplitudes obtenidas al aumentar la intensidad de los tonos de 6 kHz y 8 kHz (Fig. 11), se deben al reclutamiento neuronal y al incremento de la sincronía de la respuesta causado por el aumento del nivel de estimulación (Shepherd 2004).

En relación al procesamiento temporal auditivo, uno de los principales hallazgos fue la disminución exponencial del umbral del PEAE provocada por el incremento de la profundidad de modulación del estímulo acústico (Fig. 13). En consecuencia, cuando los tonos fueron de igual frecuencia e igual intensidad supra-umbral, el aumento de la profundidad de modulación produjo el incremento monótono de la amplitud del PEAE (Fig. 14). Esta tendencia coincide con la observada en la respuesta de estado estable en otras especies de mamíferos, entre las que se incluyen jerbos, ratas y humanos (Boettcher *et al.* 2001; Dolphin y Mountain 1992; Parthasarathy y Bartlett 2011; Picton *et al.* 1987). Además, es congruente con la actividad neuronal en el núcleo coclear y el colículo inferior en roedores

(Krishna y Semple 2000; Nelson y Carney 2007; Schatteman *et al.* 2008) y con la respuesta psicofísica en ratas y humanos (Kelly *et al.* 2006; He *et al.* 2008; Viemeister y Plack 1993).

El efecto de la profundidad de modulación sobre la amplitud del PEAE puede explicarse por los cambios que se producen en la actividad eléctrica a nivel celular. Se ha demostrado que en neuronas del núcleo coclear y del colículo inferior, cuando la intensidad del estímulo es cercana al umbral de generación de potenciales de acción, la probabilidad de descarga se ve aumentada solamente durante el pico de amplitud del ciclo de modulación de la señal acústica (Krishna y Semple 2000; Nelson y Carney 2007; Schatteman *et al.* 2008). Al incrementarse la profundidad de modulación, la presencia del pico se acentúa y la sincronía de la respuesta neuronal aumenta. Al reflejar la amplitud del potencial evocado la cantidad de neuronas que responden de manera sincrónica a la estimulación, este aumento en la sincronía se traduce en la disminución del umbral del potencial evocado y en el correspondiente incremento de amplitud frente a estímulos supra-umbrales.

Como será analizado detalladamente en epígrafes posteriores, cuando la amplitud de la señal acústica es modulada a 115 Hz, el PEAE se genera en núcleos del tallo cerebral, principalmente en el colículo inferior. En esta estructura, la codificación de la frecuencia de modulación está topográficamente organizada y la mayoría de las neuronas que la forman presentan FTMT pasa-banda (Frisina 2001; Langner y Schreiner 1988; Rees y Langner 2005). Es importante tomar en cuenta que la sincronización de la descarga de una población neuronal depende de factores como la intensidad del estímulo y la selectividad de las neuronas a las diferentes variables de estimulación. Puede hipotetizarse entonces que la amplitud del PEAE obtenido a una determinada frecuencia de modulación es proporcional al número de neuronas sintonizadas a esa frecuencia de modulación. Esta idea es respaldada por resultados obtenidos en jerbos (Heil *et al.* 1995) y ratones (Walton *et al.* 2002) que demuestran que frecuencias de modulaciones óptimas diferentes no están representadas equitativamente en una determinada región de la vía. Es decir, la cantidad de neuronas sintonizadas a una determinada frecuencia de modulación difiere a lo largo de la gama a la cual las neuronas de esa población son sensibles. En base a estos aspectos, el comportamiento de PEAE descrito en este trabajo representa principalmente cambios en la sincronía de la respuesta de neuronas del tallo cerebral selectivas a la frecuencia de modulación del tono, específicamente de la población de neuronas que responden de manera máxima cuando la amplitud del estímulo se modula a 115 Hz.

El efecto de la edad sobre la respuesta auditiva se manifestó como una mayor disminución del umbral del PEAE en función de la profundidad de modulación de amplitud del estímulo acústico (Fig. 16).

Igualmente se puso de manifiesto en la disminución de la profundidad de modulación mínima requerida para generar el potencial evocado (Fig. 17). Este último hallazgo concuerda con los obtenidos en experimentos conductuales realizados en otras especies de roedores (Sarro y Sanes 2010). Sin embargo, la profundidad de modulación umbral para el PEAE (5% en animales adultos) es menor que la observada en neuronas coliculares en jerbos y conejos (generalmente superior a 20 %) (Krishna y Semple 2000; Nelson y Carney 2007). La magnitud del incremento de amplitud del potencial evocado que tuvo lugar al aumentar la profundidad de modulación de estímulos supra-umbrales, fue mayor a medida que los animales se acercaron a la adultez. No fueron encontrados referencias sobre los cambios producidos en la codificación de la profundidad de modulación durante la maduración con los cuales se pudiesen comparar nuestros resultados.

Los procesos de maduración descritos anteriormente son consecuencia de cambios morfo-funcionales de la vía auditiva relacionados con la edad, los cuales conducen al incremento de la cantidad de neuronas capaces de procesar variaciones rápidas en la amplitud del estímulo y al aumento en la sincronía de la respuesta. Estos incluyen cambios en la expresión de factores tróficos necesarios para la supervivencia neuronal, la disminución progresiva de la resistencia de membrana, la constante de tiempo neuronal y el patrón de inervación de las diferentes estructuras auditivas (Długaiczek *et al.* 2008; Ryugo *et al.* 2006; Scott *et al.* 2005; Sugawara *et al.* 2007).

Por otra parte, se conoce que la combinación de la actividad de entradas excitatorias e inhibitorias determina la sintonía de las neuronas del núcleo coclear y del colículo inferior a las modulaciones de amplitud del estímulo acústico. El aumento de la actividad inhibitoria en dichas estructuras podría ser necesario para codificar de manera precisa los cambios que se producen en las variables de estimulación (Backoff *et al.* 1999; Zhang y Kelly 2003). Por tanto, los resultados presentados en este documento pudiesen deberse también a la maduración de los mecanismos sinápticos involucrados en la respuesta, específicamente al incremento de la eficiencia de sinapsis inhibitorias mediadas por GABA y glicina en los diferentes núcleos de la vía auditiva (Kandler *et al.* 2009; Sanes *et al.* 2009). Podrían también estar dados por los cambios producidos en la naturaleza de esta actividad inhibitoria (de ser principalmente mediada por GABA a serlo por glicina), los cuales aumentan la capacidad neuronal para procesar variaciones rápidas de la actividad pre-sináptica (Nabekura *et al.* 2004).

5.2. Maduración de la respuesta de seguimiento de la modulación en ratas

En el presente trabajo se describen las características de la RSM en ratas adultas y se proporcionan evidencias cuantitativas de la maduración de este tipo de potencial evocado. Los cambios en la RSM

durante la maduración se manifestaron al analizar la amplitud máxima de la respuesta, la frecuencia de modulación a la que este pico de amplitud fue obtenido (FMO) y la pendiente de disminución de la respuesta a frecuencias de modulación superiores a la FMO.

Pese a que el PEAE había sido previamente obtenido en diferentes modelos animales (Makela *et al.* 1990; Dolphin *et al.* 1994), el efecto de la frecuencia de modulación sobre la respuesta auditiva ha sido principalmente descrita en humanos (*e.g.* Artieda *et al.* 2004; Purcell *et al.* 2004; Riquelme *et al.* 2006). Pocos estudios en animales han abordado este tema (Kuwada *et al.* 2002; Szalda y Burkard 2005; Pauli-Magnus *et al.* 2007) y sólo uno ha sido realizado en ratas (Perez-Alcazar *et al.* 2008).

En animales adultos, la RSM alcanzó su máxima amplitud cuando la frecuencia de modulación del estímulo fue 122 Hz aproximadamente. La magnitud del potencial evocado disminuyó para frecuencias de modulación superiores (Fig. 20). Este patrón no-monotónico de respuesta difiere del de la RSM generada en la corteza auditiva, caracterizado por la disminución progresiva de amplitud, desde 15 Hz hasta el límite superior de la prueba (250 Hz) (Perez-Alcazar *et al.* 2008).

La diferencia antes señalada pudiese ser consecuencia del uso de anestesia en el presente experimento (una combinación de ketamina y diazepam). Sin embargo, es necesario destacar que Perez-Alcazar y su grupo de trabajo estudiaron la RSM tanto en animales despiertos como anestesiados, empleando como anestesia una combinación de ketamina y xilazina. Aunque el uso de los fármacos provocó pequeñas variaciones en la sincronía de la respuesta en diferentes bandas de frecuencias de modulación, no cambió el decrecimiento monótono de amplitud observado en animales despiertos. Además, ambos trabajos emplearon ketamina como principal inductor de anestesia. Mientras, tanto la xilacina como el diazepam tienen un efecto depresor sobre la respuesta cortical (Haenggi *et al.* 2006; Perez-Alcazar *et al.* 2008). Estos resultados ponen de manifiesto que el patrón de respuesta no-monotónico de la RSM obtenido en el presente estudio no representa el efecto de la anestesia sobre la disminución continua de amplitud caracterizada en estudios anteriores.

En otro orden de cosas, el hecho de que exista una relación lineal entre la fase de la RSM y la frecuencia de modulación (Fig. 21), indica que este tipo de respuesta, en la gama de 90-190 Hz, es consecuencia de la actividad de un sólo generador neuronal. El retardo neural obtenido para los diferentes estímulos (~ 5 ms) sugiere que el origen de esta actividad es principalmente sub-cortical. De hecho, los valores de retardo coinciden con la latencia de picos del PEATC generados en las estructuras localizadas en la porción superior del mesencéfalo y el tálamo de ratas (Blatchley *et al.* 1987).

La idea de que la RSM, en la gama de frecuencias de modulación de 90-190 Hz, es originada principalmente en estructuras subcorticales, se apoya además en resultados de otros estudios. En roedores, la FMO del PEAE registrada directamente en las estructuras auditivas disminuye de 250 Hz en el complejo olivar superior a 90 Hz en el colículo inferior a 20 Hz en la corteza (Kuwada *et al.* 2002). Estos autores demostraron que, aunque las neuronas corticales pueden codificar frecuencias de modulación de hasta 200 Hz, en su mayoría tienen FMO cercanas a 15 Hz. Por tanto, incluso cuando la actividad cortical está presente en el PEAE con oscilaciones relativamente rápidas (superiores a 80 Hz), su magnitud a estas frecuencias de modulación se encuentra considerablemente disminuida (Perez-Alcazar *et al.* 2008). Esto sugiere que aunque la RSM obtenida a una determinada frecuencia de modulación puede reflejar la actividad de múltiples generadores, la respuesta a bajas frecuencias está asociada principalmente con la actividad cortical mientras que la respuesta a oscilaciones rápidas posee una fuerte contribución de estructuras subcorticales (Kuwada *et al.* 2002; Szalda y Burkard 2005).

Típicamente, la presencia de picos y valles de amplitud en la RSM ha sido atribuida a la interacción entre diferentes generadores del potencial evocado (Kuwada *et al.* 2002, Purcell *et al.* 2004). Sin embargo, la no-monotonía de la respuesta puede deberse también a procesos fisiológicos que ocurren dentro de un mismo generador. Estudios anteriores han demostrado que las neuronas del nervio auditivo y del núcleo coclear actúan como filtros pasa-bajo para la frecuencia de modulación, con el límite superior de discriminación de frecuencias entre 500 Hz y 800 Hz. En ellas, el patrón de descarga de potenciales de acción se sincroniza con las variaciones de amplitud de las señales acústicas (Frisina 2001). A medida que la información asciende en la vía hacia el tálamo y la corteza, este patrón temporal basado en la sincronía de respuesta se transforma en un código de frecuencia (Frisina 2001; Joris *et al.* 2004). Como se mencionó anteriormente, la mayoría de las neuronas en el colículo inferior presentan FTMT pasa-banda (Frisina 2001; Rees y Langner 2005). Además, es necesario recalcar que FMO diferentes no están representadas equitativamente en la población neuronal, sino que la cantidad de neuronas sintonizadas a una determinada frecuencia de modulación difiere a lo largo de la gama de frecuencias (Heil *et al.* 1995; Walton *et al.* 2002). Por tanto, el hecho de que la amplitud de la RSM esté relacionada con el número de neuronas que responden de manera sincrónica a la estimulación y que esta sincronización dependa de la selectividad de las neuronas al estímulo, sugiere que la morfología de la RSM (en la gama de frecuencias de modulación analizada en el trabajo) es consecuencia del número diferente de neuronas sintonizadas a cada frecuencia de modulación en el tallo cerebral auditivo. Esta hipótesis es también respaldada por resultados que demuestran que la FMO más representada en una

estructura auditiva y la frecuencia de modulación para la cual se obtiene la máxima sincronía de respuesta se corresponden con la FMO de los PEAE registradas localmente (Kuwada *et al.* 2002).

En el estudio de la maduración de la RSM, la intensidad de estimulación utilizada no fue establecida en relación al umbral de generación del potencial evocado sino que fue fijada a 80 dB SPL. Sin embargo, como ha sido expuesto en este documento, el umbral de la respuesta auditiva disminuye a medida que los animales se hacen adultos. Este hecho podría ser la causa del aumento de la FMO que tiene lugar con la edad (Fig. 24 A) Sin embargo, si la FMO dependiese del nivel de estimulación, las RSM generadas por estímulos de 4 kHz y 8 kHz en animales adultos tuviesen diferentes FMO (debido a las diferencias de sensibilidad para esas frecuencias). Además, se esperaría encontrar un aumento de la FMO a medida que aumenta la intensidad de estimulación. Sin embargo, la FMO no dependió del tipo de estímulo (Fig. 20) y tampoco varió con la intensidad. (Fig. 22). En su conjunto, estos hallazgos sugieren que el aumento de la FMO observado a medida que los animales se hicieron adultos es un reflejo real de la maduración del procesamiento temporal auditivo.

Como se ha mencionado con anterioridad, el diferente número de neuronas sintonizadas a cada frecuencia de modulación en el tallo cerebral auditivo pudiera ser la causa del comportamiento no-monotónico de la amplitud de la RSM, fenómeno responsable de la existencia de una FMO. Continuando con este razonamiento, el aumento de la FMO durante la maduración (Fig. 24 A) podría deberse a cambios en la proporción de neuronas sintonizadas a cada frecuencia de modulación. Esta idea es apoyada por el hecho de que la gama de FMO en el colículo inferior de jerbos se extiende hacia valores más altos durante la maduración. A la vez, aumenta la FMO más representada en la población neuronal. En otras palabras, la frecuencia de modulación a la cual la mayor cantidad de neuronas se encuentra sintonizada aumenta a medida que los animales se hacen adultos (Heil *et al.* 1995). El resultado opuesto ha sido observado en ratones durante el envejecimiento (Walton *et al.* 2002).

A diferencia de la FMO, el incremento de amplitud de la RSM que tiene lugar durante las dos semanas siguientes al comienzo de la audición (Fig. 24 B) es consecuencia de la mayor sensibilidad espectral del sistema auditivo en animales más maduros. El curso temporal de maduración de la RSM es de mayor duración que el de las respuestas auditivas periféricas de la especie, como por ejemplo el potencial endococlear (Rybak *et al.* 1992), las emisiones otoacústicas (Freeman *et al.* 1996) y el potencial de acción compuesto del nervio auditivo (Rybak *et al.* 1992). Más importante, se asemeja al de la maduración de la amplitud del PEATC a estímulos supra-umbrales (Blatchley *et al.* 1987). No fue encontrada literatura sobre la maduración del PEAE en ratas con la cual comparar nuestros resultados.

La mayor amplitud de la RSM de animales en estadios de maduración tardíos puede explicarse por los procesos de maduración que tienen lugar en la cóclea y a todo lo largo de la vía auditiva. Como fue mencionado con anterioridad, estos incluyen la mielinización axonal y la maduración de los mecanismos sinápticos involucrados en la respuesta (Ryugo *et al.* 2006; Scott *et al.* 2005). Al incrementarse el número de neuronas capaces de procesar estímulos con altas frecuencias de modulación, estos fenómenos podrían además ser responsables de la menor caída de amplitud del potencial evocado a frecuencias de modulación superiores a la FMO, presente en los animales más maduros (Fig. 24 C).

La amplitud de la RSM obtenida con tonos de 8 kHz alcanzó los valores adultos en etapas de maduración más tempranas que la respuesta generada con estímulos de 4 kHz. Un comportamiento similar fue observado al analizar la pendiente de decrecimiento de la amplitud del potencial evocado para frecuencias de modulación superiores a la FMO (Fig. 24 B y C). Estos hallazgos apoyan la existencia de un gradiente espectral de maduración, donde el PEAE a estímulos de alta frecuencia tiene una tasa de maduración más rápida que el obtenido con tonos de baja frecuencia (Savio *et al.* 2001). La hipótesis propuesta se basa en el gradiente espacio-temporal de diferenciación, inervación y desarrollo de la cóclea (Adamson *et al.* 2002; Rubel y Fritzsche 2002; Sugawara *et al.* 2007; Tonnaer *et al.* 2010). Sin embargo, tanto el presente trabajo como Savio *et al.* (2001) solo analizaron una región del espectro de audición de la especie (frecuencias menores de 8 kHz). Por tanto, como alternativa al gradiente de maduración propuesto, podría existir un comportamiento más complejo en el cual las respuestas que primero maduran serían aquellas provocadas por los estímulos a los cuales la especie es más sensible.

En general, los procesos de maduración de la RSM (el aumento de la FMO y de la amplitud de la respuesta así como la menor caída de su amplitud a frecuencias de modulación superiores a la FMO) conducen al incremento de la máxima frecuencia de modulación a la cual este tipo de respuesta puede ser detectada. Esta frecuencia de modulación está correlacionada con los umbrales psicofísicos de detección de intervalos de silencio y de profundidades de modulación de estímulos acústicos (Purcell *et al.* 2004). Los resultados mostrados en este trabajo pudiesen entonces contribuir al desarrollo de pruebas objetivas que permitan estimar la maduración de la resolución temporal auditiva de recién nacidos y sujetos que no cooperan activamente en la realización de los estudios conductuales.

5.3. Efecto de los parámetros temporales de estímulos eléctricos intracocleares sobre la respuesta auditiva de curieles sordos

Hasta este momento, se han discutido aspectos fundamentales de la maduración del procesamiento temporal auditivo relacionados con la codificación de modulaciones en la amplitud de las señales

acústicas. Este tipo de procesamiento pudiese afectarse con la aparición de sordera sensorineural (Grose *et al.* 2001; Hopkins *et al.* 2008; Lorenzi *et al.* 2006; Strelcyk y Dau 2009) y depender del tamaño de la población neuronal que responde al patrón de estimulación eléctrica intra-coclear.

En los experimentos descritos, el análisis de la codificación del patrón temporal de estimulación eléctrico sobre la respuesta auditiva, sin tener en cuenta el efecto de la duración de la sordera, fue realizado en animales con pérdida auditiva de una semana. Esto se debe a que la densidad neuronal media del ganglio espiral en estos individuos es similar a la de curieles con audición normal (Shepherd, comunicación personal). Es también semejante a la de animales de otras especies sin pérdida auditiva (Prado-Gutierrez *et al.* 2006; Rodríguez *et al.* 2005, 2006, 2008).

El incremento de la DF de los pulsos eléctricos intracocleares disminuye el umbral del PEATC-e y desplaza hacia la izquierda la función intensidad/respuesta de este potencial evocado (Figs. 25 y 27 A). Igual comportamiento puede observarse al estudiar la actividad eléctrica de neuronas individuales del nervio auditivo en diferentes especies de mamíferos (Parkins 1989; Shepherd y Javel 1999; van den Honert y Stypulkowski 1984). Los hallazgos descritos coinciden además con resultados conductuales en animales de experimentación y pacientes implantados (McKay y McDermott 1998, 1999; Miller *et al.* 1999; Pflugst *et al.* 1991; Smith y Finley 1997). En su conjunto, estos estudios demuestran que los pulsos bifásicos de larga duración necesitan menor intensidad para generar respuestas auditivas de determinada magnitud que los pulsos de menor duración. Dicho fenómeno se debe a la mayor carga eléctrica, y como consecuencia, mayor energía que a una misma intensidad posee el primero de los dos tipos de estímulos. Este hecho apoya el planteamiento realizado por Adams (1971), acerca de que la respuesta de un receptor, y como consecuencia la respuesta del sistema a la estimulación, está determinada por la energía total del estímulo y no por alguna de sus características individuales.

Si la membrana citoplasmática de las neuronas del ganglio espiral se comportase como un integrador ideal de carga, la diferencia de intensidad necesaria para que estímulos con 104 μ s/fase y 208 μ s/fase generasen respuestas de igual amplitud, hubiese sido de 6 dB (la diferencia ideal calculada cuando se dobla la duración de la fase). Sin embargo, en individuos con sordera de una semana, la disminución máxima del umbral fue 30 NC (4.7 dB) y el corrimiento máximo de la curva intensidad/respuesta fue 33 NC (5.2 dB). Estos resultados son consistentes con los obtenidos en estudios previos, en los cuales la respuesta auditiva fue analizada mediante PEATC-e y registros electrofisiológicos de neuronas individuales del nervio auditivo (Abbas y Brown 1991; Miller *et al.* 1995; Shepherd *et al.* 2001; van den Honert y Stypulkowski 1984). En su conjunto, estos trabajos demuestran que debido a las características

reales de integración de carga, la membrana neuronal se comporta como un integrador con fuga, lo cual hace que los pulsos de corriente de larga duración sean menos eficientes para producir respuestas de igual magnitud que pulsos más cortos que contengan la misma carga (Parkins y Colombo 1987).

El tiempo entre las fases positiva y negativa de los estímulos eléctricos intracocleares también influye sobre el umbral y la amplitud del PEATC-e y del PAC-e (Figs. 28, 29 y 32 A y B). Comportamientos similares a los descritos en este trabajo son observados al estudiar la actividad eléctrica individual de las neuronas auditivas periféricas (Shepherd y Javel 1999) o la respuesta conductual de pacientes implantados (Carlyon *et al.* 2005).

Pese a que la adición de la fase negativa de los pulsos eléctricos incrementa el umbral sensorial, su presencia es de gran importancia para el funcionamiento de los implantes cocleares. El voltaje impuesto por la fase negativa hace que la repolarización del potencial de membrana de las NGE ocurra en un tiempo mucho menor que el que tendría lugar si solo dependiera de las propiedades de cable de la membrana. Por tanto, la presencia de esta fase del pulso eléctrico permite el uso eficiente de altas frecuencias de repetición en la estimulación de la cóclea. Además, al tener ambas fases del estímulo la misma carga eléctrica, la etapa negativa evita la acumulación de productos electroquímicos que producen corrientes directas que afectan el funcionamiento del implante y que, incluso, pueden provocar la muerte neuronal (Huang *et al.* 2001; Robblee y Rose 1990).

El desplazamiento de las funciones intensidad/respuesta de los potenciales evocados, cuando el TEF se incrementó de 8 us a 58 us, fue de 2 NC a 16 NC. Similares diferencias de intensidad se requieren para que pulsos con diferentes TEF provoquen respuestas auditivas con la misma intensidad perceptual en pacientes implantados. Por ejemplo, McKay y Fewster (2004), utilizando estímulos de 58 us/fase y tiempo entre fases de 8.4 μ s y 45 μ s, observaron que la diferencia de corriente necesaria para generar iguales sensaciones auditivas varió entre 3.7 NC y 12.3 NC.

Los cambios producidos en la función intensidad/respuesta de los potenciales evocados auditivos debido al aumento del TEF pueden explicarse de la siguiente manera. Cuando la carga eléctrica total entregada por la primera fase del pulso se encuentra cercana al umbral, la latencia del potencial de acción de las NGE es mayor que la DF del estímulo. La presencia de la etapa hiperpolarizante (segunda fase del pulso de corriente) podría entonces llevar el potencial de membrana a un valor sub-umbral para la generación de potenciales de acción, evitando que estos se generasen (van den Honert y Mortimer 1979). El aumento del TEF retarda el comienzo de la hiperpolarización e incrementa la probabilidad de la descarga neuronal, aumentando así el tamaño de la población neuronal que responde a la estimulación.

El hecho de que el aumento de la DF provoque un corrimiento mayor de la curva intensidad/respuesta de los potenciales evocados que el observado al aumentar el TEF (ver el desplazamiento de la curva en la Fig. 27 en relación al mostrado en la Fig. 32 A), sugiere que la DF es el principal parámetro de estimulación del que depende la amplitud de la respuesta auditiva. Dicha afirmación se encuentra apoyada por resultados que demuestran que la influencia de la DF sobre el umbral de respuesta de las neuronas del nervio auditivo es mayor que la ejercida por la frecuencia de repetición (Parkins y Colombo 1987). Sin embargo, hay que tener en cuenta que los estímulos de igual duración pero que difieren en el TEF, pese a tener la misma carga neta, generan respuestas auditivas diferentes. Este resultado, unido al hecho de que el aumento del TEF produzca una disminución mayor del umbral auditivo cuando los estímulos tienen menores DF (Shepherd y Javel 1999), sugiere que las características temporales de los estímulos eléctricos intracocleares deben ser analizadas integralmente y no de manera separada.

En relación a las propiedades refractarias de la respuesta auditiva, el presente trabajo describe la función de recuperación de potenciales evocados auditivos en curieles sordos. Hasta el momento, la gran mayoría de los estudios acerca de las propiedades refractarias del PEATC-e se habían enfocado en el efecto del TEE sobre la latencia y la amplitud del pico I de este potencial evocado (pico de amplitud que se genera principalmente en el nervio auditivo y que es equivalente al PAC-e). Que sea de nuestro conocimiento, no existen publicaciones previas que describan cuantitativamente las características refractarias del pico III del PEATC.

Las variaciones de amplitud de la respuesta auditiva en función del TEE descritas en este documento (Figs. 34 y 40) son similares a las del pico I del PEATC-e o del PAC-e, tanto en humanos como en modelos experimentales (Brown *et al.* 1990; Shannon 1990; van den Honert y Stypulkowski 1984). En general, las características refractarias de los potenciales evocados se ponen de manifiesto cuando el intervalo entre dos estímulos consecutivos (máscara y estímulo de interés) es menor que el tiempo requerido por la población neuronal para retornar al estado basal una vez que respondió a la máscara. A medida que disminuye el TEE, aumenta la cantidad de neuronas refractarias al estímulo de interés. En estas condiciones disminuye la amplitud y aumenta la latencia de los potenciales de acción neuronal (Miller *et al.* 2001; Shepherd *et al.* 2004). En consecuencia, disminuye la amplitud del potencial evocado. El aumento relativo de amplitud que se produce con disminuciones adicionales del TEE puede explicarse por los procesos de sumación temporal que ocurren en neuronas con alto umbral que se encuentran bajo la influencia del campo eléctrico y en neuronas que se encuentran relativamente alejadas de los electrodos de estimulación (van den Honert y Stypulkowski 1984; Cohen 2009a). De hecho, el efecto

facilitatorio del segundo estímulo del par de pulsos, aunque no es el proceso predominante, también está presente a TEE relativamente grandes (Cohen 2009b).

Al aumentar la intensidad de corriente, se incrementa el número de neuronas con respuesta supra-umbral al estímulo máscara. Como consecuencia, también aumenta la cantidad de unidades sensoriales que estarán en estado refractario cuando es presentado el estímulo de interés y se reduce el efecto facilitatorio del estímulo máscara sobre la respuesta de neuronas con alto umbral. Estos procesos hacen que, al aumentar el nivel de estimulación, el efecto máximo de la máscara se logre con menores TEE y que el incremento de amplitud que ocurre a TEE muy pequeños tiende a desaparecer.

Por otra parte, la disminución de la τ de la función de recuperación de los potenciales evocados, producida por el incremento de la intensidad de corriente (Fig. 35), coincide con los obtenidos por otros autores estudiando las características refractarias de poblaciones de neuronas auditivas (Battmer *et al.* 2004; Miller *et al.* 2001; Morswosky *et al.* 2006; Stypulkowski y van den Honert 1984). Es importante señalar que la amplitud de la respuesta al estímulo blanco, cuando el efecto del TEE sobre el potencial evocado auditivo es máximo, no cambia al incrementarse la intensidad del pulso eléctrico. Entonces, la obtención de funciones de recuperación más rápidas (con menores τ) a medida que aumenta la intensidad se debe a que la amplitud máxima del PEATC-e (o la amplitud mínima del PAC-e) se alcanza a TEE menores. Esto puede ser explicado en base a que el efecto del estímulo máscara sobre la respuesta producida por el estímulo de interés es mayor cuando la intensidad del pulso eléctrico es superior, pero cercana, al umbral de generación del potencial de acción (Botros y Psarros 2010). En estas condiciones, aumenta la probabilidad de que la máscara incremente el umbral de respuesta a un posible segundo estímulo, pasando la neurona de un estado activo a uno refractario relativo. Al aumentar la intensidad de estimulación, se incrementa la probabilidad de que la neurona responda al estímulo de interés en presencia de la máscara. Por tanto, para un determinado TEE, la población de neuronas que responden al estímulo de interés aumenta a medida que el nivel de corriente se incrementa.

5.4. Relación entre la degeneración del ganglio espiral y la respuesta auditiva

El análisis de las respuestas auditivas en curieles con diferentes duraciones de sordera demostró que la amplitud, tanto del PEATC-e como del PAC-e, disminuyó a medida que se prolongó el periodo de privación sensorial (Figs. 25, 28, 29 y 36). Este comportamiento es similar al de otros tipos de respuestas generadas por estímulos eléctricos intracocleares, como por ejemplo el potencial evocado auditivo de mediana latencia (PEAML-e), el potencial cortical auditivo (PCA-e) y la respuesta de disparidad (MMN-e, del inglés *electrically evoked mismatch negativity*) (Shepherd 2004).

Unido a la disminución de amplitud, la latencia de la respuesta auditiva también decreció al prolongarse el periodo de evolución de la sordera (Fig. 38). Dependiendo de la intensidad y del TEE de la estimulación, la latencia del PEATC-e de animales con sordera de larga duración fue entre 0.2 ms y 0.3 ms menor que la de curieles estudiados una semana después de inducirse el daño ototóxico. Para el PAC-e, la disminución de latencia fue entre 0.05 ms y 0.1 ms.

En principio, la obtención de menores latencias de respuestas en animales con mayores duraciones de sordera resulta contradictorio. Se ha demostrado que la disminución de la densidad de NGE que tiene lugar en individuos sordos está acompañada por la desmielinización de las neuronas sobrevivientes (Hartmann *et al.* 1984; Shepherd y Javel 1997). La consecuencia directa de la desmielinización es el incremento de la capacitancia de membrana y, por tanto, de la constante de tiempo de la neurona (Koles y Rasminsky 1972). Este último parámetro expresa el tiempo requerido para que el potencial de membrana neuronal se despolarice hasta el umbral de generación del potencial de acción. Teniendo en cuenta solamente este proceso, la latencia de la respuesta auditiva debiese aumentar con el tiempo de privación sensorial. Sin embargo, la sordera sensorineural también provoca la degeneración de los procesos dendríticos de las NGE remanentes. Esto implica que el sitio de generación de potenciales de acción se desplace hacia el soma e incluso hacia el axón de la célula (Hartmann *et al.* 1984; Shepherd y Javel 1997).

La velocidad de generación de potenciales de acción varía entre las diferentes partes de las NGE. Dicha afirmación se basa en estudios en los cuales el nervio auditivo de gatos con audición normal se estimuló con pulsos eléctricos de diferente intensidad. En estos individuos, a intensidades cercanas al umbral, la latencia de la respuesta neuronal varía entre 0.5 ms y 0.8 ms y posee una baja sincronía a la estimulación. Cuando la intensidad del pulso se incrementa, tienen lugar un aumento significativo de la sincronía y una disminución en la latencia (entre 0.2 ms y 0.3 ms) de la respuesta. Los valores encontrados coinciden con los obtenidos en preparaciones en las cuales la estimulación es aplicada directamente sobre el axón de las neuronas. De igual manera, los resultados del presente estudio muestran que la latencia, tanto del PEATC-e como del PAC-e, tiende a disminuir al incrementarse la intensidad de corriente (Fig. 35 A y B); hallazgo que es congruente con lo observado por otros grupos de trabajo (Briaire y Frijns 2005; Westen *et al.* 2011).

La disminución de latencia de la respuesta auditiva generada por estímulos eléctricos ha sido explicada por el corrimiento del sitio de iniciación de potenciales de acción desde los procesos dendríticos hacia el axón (van den Honert y Stypulkowski 1984; Westen *et al.* 2011). Esto se debe a la mayor velocidad de

despolarización (menor constante de tiempo) de las regiones centrales de las NGE en relación a las dendríticas, lo cual hace que disminuya el tiempo necesario para la generación de potenciales de acción (Javel y Shepherd 2000; Shepherd y Javel 1999).

A diferencia de los animales con audición normal, la respuesta de las neuronas del nervio auditivo de individuos con sordera de corta duración presenta una distribución bimodal de latencia. En ellos, una de las sub-poblaciones de NGE muestra la misma gama de valores obtenidos en el grupo sin pérdida auditiva, mientras la otra exhibe latencias inferiores. En individuos sordos por más de 45 meses (que carecen de procesos dendríticos), esta distribución bimodal se transforma en una nueva distribución unimodal, formada solamente por respuestas de corta latencia (Javel y Shepherd 2000).

Como se deduce de los resultados expuestos, el desplazamiento del sitio de iniciación de potenciales de acción hacia las partes centrales de las NGE (regiones con menor constante de tiempo respecto a los procesos dendríticos), parece tener mayor influencia sobre la velocidad de generación de potenciales de acción que el incremento que se produce en la constante de tiempo debido a la desmielinización. De forma neta, esto se traduce en la disminución de la latencia de la respuesta auditiva a medida que la duración de la pérdida auditiva se prolonga.

Sobre la base de la respuesta electrofisiológica de neuronas individuales, el TEE con mayor efecto sobre la amplitud de los potenciales evocados auditivos debiese aumentar con la duración de la pérdida auditiva. Dicha afirmación se sustenta en el hecho de que el periodo refractario absoluto de las NGE se incrementa al prolongarse la duración de la sordera (Shepherd *et al.* 2004). Esta característica de respuesta se correlaciona con el periodo refractario relativo (Botros y Psarros 2010).

Sin embargo, cuando los estímulos tienen igual intensidad en relación al umbral de respuesta, el TEE al cual se obtienen la mínima amplitud del PEATC-e y la máxima amplitud del PAC-e, en animales con sordera de larga duración, es menor que el observado en individuos con periodos de privación más cortos (Fig. 39). Este fenómeno tiene su origen en las diferencias de densidad de NGE existentes entre los grupos experimentales (Figs. 42 y 43). Debido a la desmielinización y al desplazamiento del sitio de generación de potenciales de acción que tiene lugar en las NGE de animales con sordera de larga duración, se incrementa el umbral de respuesta de este grupo neuronal (Shepherd *et al.* 2005; Shinohara *et al.* 2002; Vollmer *et al.* 2007; Yamagata *et al.* 2004). Cuando la cóclea se estimula con pulsos de corriente de determinada intensidad supra-umbral, la probabilidad de generación de potenciales de acción de las NGE es mayor a medida que aumenta la duración de la sordera y disminuye la densidad neuronal. Como consecuencia, también es mayor la proporción de neuronas que responden

al estímulo máscara. Por tanto, el efecto facilitatorio de este pulso eléctrico sobre la respuesta al estímulo de interés tiene lugar, proporcionalmente, en un menor número de neuronas. Esto conduce a que disminuya el TEE con mayor efecto sobre la amplitud del potencial evocado.

Contrario a lo esperado, la diferencia de intensidad necesaria para que pulsos con diferente DF o diferente TEF generasen potenciales evocados de igual intensidad, no tuvo relación con la duración de sordera (Fig. 27 B y 32 C y D). Este resultado, sin embargo, no debe tomarse como definitivo debido a la pequeña cantidad de sujetos incluidos en cada grupo experimental (5 individuos como máximo). Referente a estos parámetros de estimulación, mucho más concluyentes resultan las relaciones descritas entre el procesamiento de las características temporales de los estímulos eléctricos intracocleares y la degeneración neuronal del nervio auditivo (Fig. 44).

Además, teniendo en cuenta el incremento del periodo refractario absoluto que se produce a medida que aumenta la duración de la sordera, debiese esperarse que la constante de tiempo de la función de recuperación también se incrementase con la evolución de la pérdida sensorial. Sin embargo, las funciones de recuperación con mayor τ se obtuvieron en animales con ganglios espirales más preservados (Fig. 45). Este resultado, aunque también aparentemente paradójico, apoya los obtenidos en otros estudios acerca de las propiedades refractarias de los potenciales evocados auditivos generados por estimulación eléctrica intracoclear (Botros y Psarros 2010; Muller-Deile *et al.* 2003).

El presente estudio demuestra que el efecto de la DF y del TEF de los estímulos eléctricos intracocleares sobre la amplitud de la respuesta auditiva está correlacionado con la supervivencia de las neuronas del ganglio espiral. Es decir, la diferencia de intensidad que se requiere para que estímulos con diferentes DF o diferentes TEF generen respuestas auditivas de igual amplitud disminuye a medida que decrece la densidad de NGE (Fig. 44). De igual manera, la τ de la función de recuperación del PEATC-e y el PAC-e disminuye significativamente en individuos con ganglios espirales poco conservados (Fig. 45).

En una simplificación del proceso de percepción auditiva, la sonoridad o intensidad perceptual (intensidad de estimulación obtenida a partir de la respuesta conductual del sujeto) puede considerarse proporcional al número de neuronas que responden de manera sincrónica a la estimulación (Cohen 2009b; Botros y Psarros 2010). Por tanto, la amplitud de la respuesta de una población neuronal puede asumirse como el correlato electrofisiológico de la intensidad perceptual (Cohen 2009b).

La obtención de potenciales evocados de igual amplitud en individuos con diferente grado de degeneración del sistema auditivo sólo es posible con estímulos que difieren en su carga eléctrica. Específicamente, la población neuronal de mayor tamaño generará respuestas de una determinada

amplitud con estímulos de menor intensidad que los requeridos por el sistema neuronal más degenerado. En estas condiciones, el nivel de actividad de las NGE de los animales con menor degeneración del sistema auditivo se encuentra más cercano a sus umbrales individuales. Esto hace que la población relativa de neuronas que responden a un estímulo eléctrico, respecto al total de neuronas del ganglio, es mayor a medida que esta estructura degenera. Como consecuencia, la capacidad de discriminar diferencias de energía o variaciones en las variables temporales de estimulación, como por ejemplo la DF o el TEF, disminuirá con la degeneración del ganglio.

En el caso de las funciones de recuperación, las correlaciones con la degeneración del ganglio espiral fueron establecidas cuando las respuestas fueron producidas con estímulos de igual intensidad en relación al umbral sensorial. Este aspecto, y no la obtención de respuestas de igual amplitud, fue el criterio considerado para asumir que las funciones de recuperaciones eran obtenidas con estímulos de igual sonoridad. Como fue analizado anteriormente, en comparación con individuos en los cuales el sistema auditivo se encuentra muy degenerado, la actividad de las NGE de una población de mayor tamaño se encuentra más cercana a sus umbrales de descarga de potenciales de acción cuando los estímulos tienen igual intensidad perceptual. Por tanto, las poblaciones neuronales más preservadas serán más susceptibles a la acción del estímulo máscara (Botros y Psarros 2010). Esto se debe al incremento del umbral y la disminución de la probabilidad de descarga neuronal que se produce después de haber respondido a un estímulo. Como consecuencia, en poblaciones neuronales de mayor tamaño, el efecto de la máscara sobre la respuesta al estímulo de interés se observa a TEE mayores. Esto explica que la τ de las funciones de recuperación de los potenciales evocados auditivos sea mayor en animales con mayor supervivencia de NGE.

En conjunto, los resultados discutidos en este capítulo indican que, a nivel de poblacional, el efecto de las variables temporales de estímulos eléctricos intracocleares se encuentra mucho más relacionado con el número de neuronas que responden al pulso eléctrico que con la codificación del estímulo que tiene lugar en cada una de ellas de manera individual. Es decir, el efecto de los parámetros temporales de estimulación sobre los potenciales evocados auditivos, más que todo, reflejan el estado funcional de la vía sensorial, especialmente el del nervio auditivo.

Los hallazgos descritos, además, tienen implicaciones para el ajuste de los implantes cocleares. Un aspecto interesante a discutir es si el efecto de cambiar la DF y el TEF de los estímulos eléctricos intracocleares sobre la intensidad perceptual de la respuesta auditiva podría predecirse a partir de los resultados electrofisiológicos. Investigaciones en las cuales se compararon los umbrales conductuales de

monos macacos y humanos con los de la respuesta del nervio auditivo de monos ardillas y gatos, demostraron que los umbrales neuronales no tienen relación con los conductuales (Pfungst 1988). Sin embargo, los umbrales psicofísicos son similares a los umbrales mínimos de neuronas coliculares y corticales cuando estos son obtenidos en el mismo animal (Beitel *et al.* 2000a y b). Esto sugiere que la respuesta conductual provocada por estímulos eléctricos intracocleares se encuentra más relacionada con la actividad neuronal del tallo y de la corteza cerebral que con la actividad nerviosa periférica. De hecho, McKay y Fewster (2004) demostraron que la diferencia de corriente requerida para que pulsos eléctricos de diferente duración produzcan respuestas con la misma intensidad perceptual, se encuentra correlacionada con la diferencia de corriente que se requiere para que estos estímulos generen PEATC-e de igual amplitud. Además, utilizando una cantidad de sujetos pequeña, estos autores observaron que existía cierta relación entre la diferencia de corriente que se requiere para ecualizar la intensidad perceptual, y la que se necesita para generar PAC-e de igual amplitud (para el análisis de correlación, $p=0.08$). McKay y Fewster también demostraron que los ajustes de corrientes que se necesitan para igualar la intensidad perceptual cuando los pulsos eléctricos tienen diferente duración, están correlacionados con los que se requieren cuando los pulsos tienen diferente TEF. Pese a estos resultados, la corriente necesaria para ecualizar PAC-e, a diferencia de la pendiente de crecimiento de la función intensidad/respuesta de este potencial evocado, no se encuentra significativamente correlacionada con el reconocimiento de palabras en pacientes implantados (Kim *et al.* 2010).

Existe un conjunto de evidencias que sugieren que la constante de tiempo de la función de recuperación de los potenciales evocados auditivos generados por estímulos eléctricos intracocleares pudiese emplearse como un indicador electrofisiológico del rendimiento auditivo. Esta variable de respuesta se encuentra correlacionada positivamente con el reconocimiento de palabras en sujetos implantados (Brown *et al.* 1990; Kiefer *et al.* 2001) y pudiese indicar la frecuencia de repetición adecuada en las estrategias de estimulación empleadas en la actualidad (Shpak *et al.* 2004). La gran variabilidad evidente en el rendimiento de pacientes implantados pudiese estar dada por las diferencias existentes en el grado de supervivencia de las NGE (Holden *et al.* 2013; Skinner *et al.* 2002).

Los resultados descritos en este documento son la base para el desarrollo de técnicas no invasivas que permitan estimar la degeneración del ganglio espiral en humanos. Conocer el grado de integridad del nervio auditivo pudiese entonces ser útil para escoger la geometría óptima del arreglo de electrodos y la estrategia de procesamiento del implante. Posibilitaría, además, aplicar estrategias de rehabilitación del

habla que permitan obtener un mayor beneficio del implante coclear, sobre todo en grupos poblacionales que no responden de manera consistente en las pruebas conductuales.

5.5. Maduración del procesamiento temporal auditivo y su deterioro por la sordera, ¿eventos independientes?

A lo largo de la tesis, la maduración del procesamiento temporal auditivo y su deterioro debido a la aparición de sordera han sido tratados de manera independiente. Esto implicó excluir del análisis la relación que puede existir entre la maduración y los efectos de la sordera en individuos en los que la pérdida sensorial aparece antes de la etapa adulta.

Hasta la actualidad, la inmensa mayoría de los estudios enfocados en el procesamiento temporal auditivo han sido realizados en individuos adultos con audición normal. La novedad de los resultados descritos en este documento radica en demostrar que el procesamiento temporal auditivo varía durante la maduración de la vía sensorial y depende del tamaño de las poblaciones neuronales involucradas en la respuesta. Desde el punto de vista metodológico, el empleo de la maduración y la sordera sensorineural como condiciones experimentales independientes es entonces un primer paso indispensable para analizar el procesamiento temporal auditivo en situaciones en las que ambos procesos coexisten. El estudio de esta última condición, por la complejidad del diseño experimental, debe ser parte de trabajos posteriores.

Los hallazgos reportados no deben ser extrapolados a una situación en la que la aparición de sordera tiene lugar durante la maduración. Intuitivamente pudiese pensarse que si la pérdida sensorial ocurre en un sistema menos desarrollado, el deterioro del procesamiento temporal sería mayor, disminuyendo el aprovechamiento que el individuo pueda hacer del implante coclear. De hecho, experimentos realizados tanto en modelos *in vitro* como en animales han demostrado que la severidad de la degeneración del ganglio espiral es considerablemente mayor cuando la pérdida sensorial es congénita o neonatal (Shepherd *et al.* 2006; Sun y Salvi 2009).

Sin embargo, es necesario tener en cuenta que, aunque los cambios degenerativos que ocurren en la periferia han sido hasta el momento el foco de atención de las investigaciones sobre la percepción del habla en pacientes implantados, el reconocimiento de este tipo de lenguaje también depende de los procesos plásticos asociados con la estimulación eléctrica que tienen lugar a nivel cortical (Green *et al.* 2005; McKay 2005; Shinn-Cunningham y Best 2008; Wilson y Dorman 2008). El hecho de que los niños pequeños, de manera general, obtengan mayor beneficio del implante coclear que niños con mayor edad, sugiere que el aprovechamiento del implante se incrementa si la prótesis es colocada antes de la

etapa de mayor plasticidad auditiva durante la maduración, equivalente a los dos primeros años de edad en humanos (Kral *et al.* 2006).

Por otra parte, el protocolo de sordera por agentes químicos empleado en este trabajo produce la muerte abrupta de toda la población de células ciliadas. Es necesario entonces estudiar el procesamiento temporal auditivo con modelos de sordera que provoquen un curso temporal de degeneración coclear más cercano a la realidad. Esto incluye hacer experimentos en individuos con pérdidas auditivas severas a medias y bajas frecuencias pero que poseen audición residual en la región apical de la cóclea. La colocación de un implante en estas condiciones ha sido tópico de interés en la audiología clínica en los últimos años (Turner *et al.* 2008). Desde el punto de vista experimental, permite analizar la respuesta auditiva provocada por la combinación de estímulos eléctricos (en las regiones basal y media de la cóclea) y acústicos (en la zona apical del caracol auditivo) (Kiefer *et al.* 2005; Simpson *et al.* 2009; Turner *et al.* 2008).

Se requiere entonces de un análisis mucho más integral de todos los procesos involucrados en el procesamiento temporal auditivo durante la maduración y la sordera sensorineural. Los resultados de esta tesis son solamente en primer paso. El campo para futuras investigaciones está garantizado.

6. CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1. El estadio de maduración del sistema auditivo determina la magnitud de la disminución exponencial del umbral y del aumento de amplitud del potencial evocado auditivo de estado estable en ratas, procesos que tienen lugar al incrementarse la profundidad de modulación de amplitud de estímulos acústicos.
2. La maduración de la de la respuesta de seguimiento de la modulación en ratas se evidencia como el aumento de la frecuencia de modulación óptima (FMO) y la amplitud de la respuesta, así como en caídas de amplitud menos pronunciadas a frecuencias de modulación superiores a la FMO.
3. El aumento de la duración de las fases (DF) y del tiempo entre fases (TEF) de pulsos de corriente intracocleares provoca la disminución de la intensidad de corriente necesaria para generar potenciales evocados de igual amplitud en curieles sordos.
4. Las características refractarias de potenciales evocados auditivos generados por estimulación eléctrica en curieles, dependen de la intensidad de estimulación. El efecto de este parámetro de estimulación se ponen de manifiesto como la disminución del tiempo entre estímulos (TEE) con mayor influencia sobre la amplitud de la respuesta y en el decrecimiento de la constante de tiempo de la función de recuperación.
5. La capacidad para procesar variaciones en los parámetros temporales de estímulos eléctricos intracocleares depende de la integridad del ganglio espiral, en curieles sordos. En esta especie, el efecto de la DF, del TEF y del TEE sobre la amplitud de potenciales evocados auditivos generados por estimulación eléctrica está correlacionado con la densidad de neuronas del ganglio.

7.RECOMENDACIONES

7. RECOMENDACIONES

1. Describir la codificación de estímulos SAM durante el envejecimiento, a través de PEAE y de la RSM, de manera que se caracterice este fenómeno a lo largo del ciclo de vida del individuo.
2. Caracterizar los mecanismos neuronales que sustentan el efecto de variables temporales de las señales acústicas y de estímulos eléctricos intracocleares sobre los potenciales evocados auditivos. Describir los cambios del procesamiento temporal auditivo relacionados con la edad y determinar las variaciones que este fenómeno sufre durante el transcurso de la sordera.
3. Caracterizar el efecto de la duración de la sordera sobre el procesamiento temporal auditivo en animales con diferentes estadios de maduración.
4. Determinar si las variables de respuesta de la RSM pueden ser aceptados como marcadores electrofisiológicos del procesamiento temporal auditivo a nivel conductual. Determinar la relación que existe entre el efecto de la DF, el TEF y el TEE sobre el PEATC-e y el PAC-e de individuos sordos y el rendimiento auditivo, con el objetivo de identificar posibles marcadores electrofisiológicos del procesamiento temporal auditivo en pacientes implantados.

8. AUTOBIBLIOGRAFÍA

8. AUTOBIBLIOGRAFÍA

Artículos principales de la tesis:

Prado-Gutierrez P, Fewster LM, Heasman JM, McKay CM, Shepherd RK (2006): Effect of interphase-gap and pulse-duration on electrically evoked potentials is correlated with auditory nerve survival in deafened guinea pigs *Hear Res.* 215(1-2):47-55

Prado-Gutierrez P, Mijares E, Savio G, Borrego M, Martínez-Montes E, Torres A (2012) Maturational time course of the Envelope Following Response to amplitude-modulated acoustic signals in rats. *International Journal of Audiology* 51(4): 309-316

Otros artículos relacionados con el tema de tesis:

González FA, González FM, **Prado-Gutiérrez P**, Alvaré A, Araujo JA (2005) Diseño de un neuro-estimulador de un solo canal. *CENIC Ciencias Biológicas*, Vol. 36, edición especial en línea

Mercerón-Martínez D, Rodríguez-Salgueiro S, Coro-Antich RM, **Prado-Gutiérrez P**, Rodríguez-Rodríguez V, Galan-García L, Harvey-Pedroso Y, Valdés-Prieto T (2012) Morphological changes induced by three aminoglycosides on the cochlear stria vascularis. *Rev. Ecuatoriana de Neurología* 21(1-2): 1-4

Prado-Gutierrez P, Alvaré-Jaramillo A, Rodríguez-Rodríguez V (2006) Efecto de la sordera sensorineural sobre el ganglio espiral de ratas adultas. *CENIC Ciencias Biológicas*: 35(3): 1-4

Rodríguez S, Ancheta O, Coro RM, Valdés T, Harvey Y, Alvaré A, **Prado P**, Rodríguez V (2008) Pathological changes induced by ototoxicity on spiral ganglion neurons and its peripheral processes. *Rev. Ecuatoriana de Neurología* 17 (1-3): 15-18

Rodríguez S, Ancheta O, Coro RM, Valdés T, Harvey Y, Alvaré A, **Prado P**, Rodríguez V (2007) Efecto de un tratamiento ototóxico en la ultraestructura coclear. *CENIC Ciencias Biológicas*, 38 (3), 214-219

Rodríguez S, Ancheta O, Coro RM, Valdés T, Harvey Y, Alvaré A, Rodríguez V, **Prado P** (2005) Cambios histológicos inducidos por ototoxicidad en ratas. Citoarquitectura del órgano de Corti y del ganglio espiral. *Rev. Ecuatoriana de Neurología* 14 (1-3): 13-18

Rodríguez S, Valdés T, Harvey Y, Ancheta O, Rodríguez V, Alvaré A, Coro RM, **Prado P**, Gutiérrez F, Valmaña C, Feston M (2006) Preparación histológica de cócleas de ratas y su aplicación a estudios de sordera. *CENIC Ciencias Biológicas* 37 (4): 385-388

Otros artículos de la producción científica del autor:

Arteaga-Pérez ME, Maceira M, Casacó A, Hernández-Sosa O, Bada-Barro A.M, León-Goñí A, Orpheé-Suárez R, Cuevas-Fiallo A, Moreno-Díaz D, **Prado-Gutiérrez P**, Baro-González F, Rodríguez-Rodríguez V, Charoo-Ruiz L, Vázquez-Castro F, Ballester-Labrada A, Cedeño M (2004) Multiple dose toxicity study of the humanized anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody h-R3 intravenously administered to *Cercopithecus aethiops* monkeys. *Human & Experimental Toxicology* 23 (5): 219-227

Casaco A, Beausoleil I, Gonzalez B, Luaces P, Leon A, Arteaga ME, **Prado-Gutierrez P**, Rodriguez V, Perez A, Guevara G, Bada AM, Ledon L, Fuentes D, Gonzalez C, Hernandez O, Orphee R, Blanco D, Garcia-Osuma M, Ballester-Labrada A (2010) Hematological, biochemical, respiratory, cardiovascular and electroneurophysiological parameters in African green monkeys (*Cercopithecus aethiops sabaeus*). Its use in nonclinical toxicological studies. *Journal of Medical Primatology* 39(3): 177-186

Castro-Fariñas A, **Prado-Gutierrez P**, Martinez-Montes E (2012) Curso temporal de la habituación del PEAE en ratas. *CENIC Ciencias Biológicas* (en prensa)

Ferro-Pérez MB, **Prado-Gutierrez P**, Garcés-Cruz LI, Quintero-Hernández I, Gutierrez-Boza O (2012) Conducta social y patron de actividad diaria de *Macaca arctoides* en cautiverio. *REDVET Revista Electrónica de Veterinaria* 13(7): 1-15

9. BIBLIOGRAFÍA

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Abbas PJ, Brown CJ (1991) Electrically evoked auditory brainstem response: refractory properties and strength-duration functions. *Hear Res* 51: 139–148
2. Abbas PJ, Brown CJ, Shallop JK, Firszt JB, Hughes ML, Hong SH, Staller SJ (1999) Summary of results using the Nucleus CI24M implant to record the electrically evoked compound action potential. *Ear Hear* 20: 45–59
3. Abbas PJ, Hughes ML, Brown CJ, Miller CA, South H (2004) Channel interaction in cochlear implant users evaluated using the electrically evoked compound action potential. *Audiol Neurootol* 9: 203–213.
4. Abrams DA, Nicol T, Zecker S, Kraus N. (2009) Abnormal cortical processing of the syllable rate of speech in poor readers. *J Neurosci* 29: 7686–7693
5. Adams WB (1971) Intensity characteristic of the noctuid acoustic receptor. *J Gen Physiol* 58: 562–579
6. Adamson CL, Reid MA, Davis RL (2002) Opposite actions of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 on firing features and ion channel composition of murine spiral ganglion neurons. *J Neurosci* 22:1385–1396
7. Agterberg MJ, Versnel H, de Groot JC, Smoorenburg GF, Albers FW, Klis SF (2008) Morphological changes in spiral ganglion cells after intracochlear application of brain-derived neurotrophic factor in deafened guinea pigs. *Hear Res* 244: 25–34
8. Agterberg MJ, Versnel H, van Dijk LM, de Groot JC, Klis SF (2009) Enhanced survival of spiral ganglion cells after cessation of treatment with brain-derived neurotrophic factor in deafened guinea pigs. *JARO* 10: 355–367
9. Aiken SJ, Picton TW (2006) Envelope following responses to natural vowels. *Audiol Neurootol* 11: 213–232
10. Alaerts J, Luts H, Hofmann M, Wouters J (2009). Cortical auditory steady-state responses to low modulation rates. *Int J Audiol* 48(8): 582–593
11. Alvarez I, Torre A, Sainz M, Roldan C, Schoesser H, Spitzer P (2007) Generalized alternating stimulation: a novel method to reduce stimulus artifact in electrically evoked compound action potentials. *J Neurosci Meth* 165: 95–103
12. Artieda J, Valencia M, Alegre M, Olaziregi O, Urrestarazu E, Iriarte J (2004) Potentials evoked by chirp-modulated tones: a new technique to evaluate oscillatory activity in the auditory pathway. *Clin Neurophysiol* 115: 699–709
13. Backoff PM, Palombi PS, Caspary DM (1999) Gamma-aminobutyric acidergic and glycinergic inputs shape coding of amplitude modulation in the chinchilla cochlear nucleus. *Hear Res* 134:77–88
14. Bahmer A, Baumann U (2010a) Recording and online analysis of auditory steady state responses (ASSR) in Matlab. *J Neurosc Meth* 187: 105–113
15. Bahmer A, Baumann U (2010b) Recording and analysis of electrically evoked compound action potentials (ECAPs) with MED-EL cochlear implants and different artifact reduction strategies in Matlab. *J Neurosc Meth* 191: 66–74

16. Bahmer A, Polak M, Baumann U (2010) Recording of electrically evoked auditory brainstem responses after electrical stimulation with biphasic, triphasic and precision triphasic pulses. *Hear Res* 259: 75–85
17. Banai K, Sabin AT, Wright BA (2011) Separable developmental trajectories for the abilities to detect auditory amplitude and frequency modulation. *Hear Res* 280: 219-227
18. Batra R (2006) Responses of Neurons in the Ventral Nucleus of the Lateral Lemniscus to Sinusoidally Amplitude Modulated Tones. *J Neurophysiol* 96: 2388-2398
19. Battmer RD, Dillier N, Lai WK (2004). Evaluation of the Neural Response Telemetry (NRT) capabilities of the Nucleus Research Platform 8: Initial results from the NRT trial. *Int J Audiol* 43(1): 10–15
20. Battmer RD, Lai WK, Dillier N (2005) Correlation of NRT recovery function parameters and speech perception results for different stimulation rates. In: T. Lenarz & R.-D. Battmer (Eds)
21. Bear MF, Connors BW, Paradiso MA (1997) *Neurosciences, à la découverte du cerveau*. Edition Pradel
22. Beitel RE, Snyder RL, Schreiner CE, Raggio MW, Leake PA (2000a) Electrical cochlear stimulation in the deaf cat: comparisons between psychophysical and central auditory neuronal thresholds. *J Neurophysiol* 83: 2145-2162
23. Beitel RE, Vollmer M, Snyder RL, Schreiner CE, Leake PA (2000b) Behavioral and neurophysiological thresholds for electrical cochlear stimulation in the deaf cat. *Audiol Neurootol* 5: 31-38
24. Benasich AA, Tallal P (2002): Infant discrimination of rapid auditory cues predicts later language impairment. *Behav Brain Res* 136: 31-49
25. Bierer JA, Middlebrooks JC (2004) Cortical responses to cochlear implant stimulation: channel interactions. *J Assoc Res Otolaryngol* 5: 32–48
26. Bieser A, Müller-Preuss P (1996) Auditory responsive cortex in the squirrel monkey: neural responses to amplitude-modulated sounds. *Exp Brain Res* 108: 273–284
27. Blatchley BJ, Cooper WA, Coleman JR (1987) Development of auditory brainstem response to tone pip stimuli in the rat. *Dev Brain Res* 32: 75-84
28. Boettcher FA, Poth EA, Mills JH, Dubno JR (2001) The amplitude-modulation following response in young and aged human subjects. *Hear Res* 153: 32-42
29. Boëx C, de Balthasar C, Kos MI, Pelizzone M (2003) Electrical field interactions in different cochlear implant systems. *J Acoust Soc Am* 114: 2049–2057
30. Bohorquez J, Ozdamar O (2008) Generation of the 40-Hz auditory steady-state response (ASSR) explained using convolution. *Clin Neurophysiol*, 119: 2598–2607
31. Botros A, Psarros C (2010) Neural Response Telemetry Reconsidered : II . The Influence of Neural Population on the ECAP Recovery Function and Refractoriness. *Ear Hear* 31(3): 380-391
32. Briaire JJ, Frijns JH (2005) Unraveling the electrically evoked compound action potential. *Hear Res* 205: 143-156
33. Brown CJ, Abbas PJ, Bertschy M (1995) Longitudinal assessment of physiological and psychophysical measures in cochlear implant users. *Ear Hear* 16:439-449
34. Brown CJ, Abbas PJ, Gantz BJ (1990) Electrically evoked whole-nerve action potentials: data from human cochlear implant users. *J Acoust Soc Am* 88: 1385-1391

35. Brown CJ, Abbas PJ, Hughes M, Tyler R, Parkinson A (1999) Crosselectrode differences in EAP growth and recovery functions measured using the Nucleus NRT software: correlation with speech performance. Presented at the Conference on Implantable Auditory Prostheses, Ailoma, CA
36. Brown CJ, Hughes ML, Luk B (2000) The relationship between EAP and EABR thresholds and levels used to program the Nucleus 24 speech processor: Data from adults. *Ear Hear* 21: 151–163
37. Brugge JF, Nourski KV, Oya H, Reale RA, Kawasaki H, Steinschneider M, Howard MA 3rd (2009) Coding of repetitive transients by auditory cortex on Heschl's gyrus. *J Neurophysiol* 102: 2358–2374
38. Buchwald JS (1983) Generator. En: Moore EJ (ed): *Bases of Brainstem Auditory Evoked Potentials*. Grune y Stratton, New York pp:157-195
39. Buss E, Hall JW, Grose JH (2004) Temporal fine-structure cues to speech and pure tone modulation in observers with sensorineural hearing loss. *Ear Hear* 25:242–250
40. Cafarelli DD, Dillier N, Lai WK, von Wallenberg E, van Dijk B, Akdas F, Aksit M, Batman C, Beynon A, Burdo S, Chanal JM, Collet L, Conway M, Coudert C, Craddock L, Cullington H, Deggouj N, Fraysse B, Grabel S, Kiefer J, Kiss JG, Lenarz T, Mair A, Maune S, Muller-Deile J, Piron JP, Razza S, Tasche C, Thai-Van H, Toth F, Truy E, Uziel A, Smoorenburg GF (2005). Normative findings of electrically evoked compound action potential measurements using the neural response telemetry of the nucleus CI24M cochlear implant system. *Audiol Neurootol* 10: 105-116
41. Carlyon RP, van Wieringen A, Deeks JM, Long CJ, Lyzenga J, Wouters J (2005) Effect of inter-phase gap on the sensitivity of cochlear implant users to electrical stimulation. *Hear Res* 205: 210–224
42. Cartee LA, Van Den Honert CC, Finley CC, Miller RL (2000) Evaluation of a model of the cochlear neural membrane. I. Physiological measurement of membrane characteristics in response to intra meatal electrical stimulation. *Hear Res* 146:143–152
43. Chandrasekaran C, Turesson HK, Brown CH, Ghazanfar AA (2010) The influence of natural scene dynamics on auditory cortical activity. *J Neurosci* 30: 13919–13931
44. Christiansen T-U, Greenberg S (2007). Spectro-temporal processing of speech e an information-theoretic framework. In: Kollmeier, B., Klump, G., Hohmann, V., Langemann, U., Mauermann, M., Uppenkamp, S., Verhey, J. (Eds.), *Hearing e From Sensory Processing to Perception*. Springer Verlag, Berlin, pp. 515-523
45. Clark GM, Shepherd RK, Patrick JF, Black RC, Tong YC (1983) Design and fabrication of the banded electrode array. *Ann N Y Acad Sci* 405: 191-201
46. Cohen L, Rickards F, Clark G (1991) A comparison of steady-state evoked potentials to modulated tones in awake and sleeping humans. *JASA* 90: 2467-2479
47. Cohen LT (2009a) Practical model description of peripheral neural excitation in cochlear implant recipients: 1. Growth of loudness and ECAP amplitude with current. *Hear Res* 247 (2):87-99
48. Cohen LT (2009b) Practical model description of peripheral neural excitation in cochlear implant recipients: 5. Refractory recovery and facilitation. *Hear Res* 248: 1-14
49. Colletti V, Shannon RV (2005) Open set speech perception with auditory brainstem implant? *Laryngoscope* 115: 1974–1978

50. Cone B, Dimitrijevic A (2009) The auditory steady-state response. In J. Katz, L. Medwetsky, R. Burkard, et al. (Eds). *Handbook of Clinical Audiology* (6th ed., pp. 322–350). Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins
51. Cullington H (2000) Preliminary neural response telemetry results. *British J Audiol* 34: 131-140
52. Dajani H, Purcell D, Wong W, Kunov H, Picton TW (2005) Recording human evoked potentials that follow the pitch contour of a natural vowel. *IEEE Trans Biomed Eng* 52: 1614–1618
53. Dillier N, Lai WK (1995) Wyttenbach M. *NRT cookbook*
54. Dillier N, Lai WK, Almqvist B, Frohne C, Muller-Deile J, Stecker M, Wallenberg E (2002) Measurement of the electrically evoked compound action potential via a neural response telemetry system. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 111: 407–14
55. DiMattina C, Wang X (2006) Virtual vocalization stimuli for investigating neural representations of species-specific vocalizations. *J Neurophysiol* 95: 1244– 1262
56. Dimitrijevic A, John MS, Van Roon P, Purcell DW, Adamonis J, Ostroff J, Nedzelski JM, Picton TW (2002) Estimating the audiogram using multiple auditory steady-state responses. *J Am Acad Audiol* 13(4): 205-224
57. Dlugaiczyk J, Singer W, Schick B, Iro H, Becker K, Becker CM, Zimmermann U, Rohbock K, Knipper M (2008) Expression of glycine receptors and gephyrin in the rat cochlea. *Histochem Cell Biol* 129:513–523
58. Dolphin WF, Chertoff ME, Burkard R (1994) Comparison of the envelope following response in the Mongolian gerbil using two-tone and sinusoidally amplitude-modulated tones. *J Acoust Soc Am* 96: 2225–2234
59. Dolphin WF, Mountain DC (1992) The envelope following response—scalp potentials elicited in the Mongolian gerbil using sinusoidally AM acoustic-signals. *Hear Res* 58:70–78
60. Dum N (1984) Post-natal development of the auditory evoked brainstem potentials in the guinea pig. *Acta Otolaryngol (Stockh.)* 97: 63-68
61. Eddington DK, Tierney J, Noel V, Hermann B, Whearty M, Finley CC (2004) Speech processors for auditory prostheses. In: *Ninth Quarterly Progress Report*. NIH Contract N01-DC-2-1001
62. Eisen MD, Franck KH (2004) Electrically evoked compound action potential amplitude growth functions and HiResolution programming levels in pediatric CII implant subjects. *Ear Hear* 25: 528-538
63. Fayad JN, Linthicum FH Jr (2006) Multichannel cochlear implants: relation of histopathology to performance. *Laryngoscope* 116: 1310–1320
64. Ferguson WD, Collins LM, Smith DW (2003) Psychophysical threshold variability in cochlear implant subjects *Hear Res* 180: 101-113
65. Fishman YI, Steinschneider M (2010) Neural correlates of auditory scene analysis based on inharmonicity in monkey primary auditory cortex. *J Neurosci* 30: 12480–12494
66. Forge A, Schacht J (2000) Aminoglycoside antibiotics. *Audiol Neurootol* 5: 3–22 *Fourth International Symposium and Workshops on Objective Measures in Cochlear Implants* (p 21)
67. Freeman S, Cherny L, Sohmer H (1996) Thyroxine affects physiological and morphological development of the ear. *Hear Res* 97(1-2): 19-29

68. Friesen LM, Shannon RV, Cruz RJ (2005) Effects of stimulation rate on speech recognition with cochlear implants. *Audiol Neuro-Otol* 10(3): 169-184
69. Frisina RD (2001) Subcortical neural coding mechanisms for auditory temporal processing. *Hear Res* 158: 1-27
70. Fu QJ (2002) Temporal processing and speech recognition in cochlear implant users. *Neuroreport* 13: 1635–1639
71. Füllgrabe C, Stone MA, Moore BC (2009) Contribution of very low amplitude modulation rates to intelligibility in a competing-speech task (L). *J Acoust Soc Am* 125: 1277–1280
72. Galambos R, Makeig S, Talmachoff PJ (1981) A 40-Hz auditory potential recorded from the human scalp. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 2643–26437
73. Geal-Dor M, Freeman S, Li G, Sohmer H (1993) Development of hearing in neonatal rats: Air and bone conducted ABR thresholds. *Hear Res* 69: 236-242
74. Geis H-R, Borst JGG (2009) Intracellular Responses of Neurons in the Mouse Inferior Colliculus to Sinusoidal Amplitude-Modulated Tones. *J Neurophysiol* 101: 2002–2016
75. Gillespie LN, Clark GM, Bartlett PF, Marzella PL (2003) BDNF-induced survival of auditory neurons in vivo: cessation of treatment leads to accelerated loss of survival effects. *J Neurosci Res* 71: 785-790
76. Gillespie LN, Clark GM, Marzella PL (2004) Delayed neurotrophin treatment supports auditory neuron survival in deaf guinea pigs. *Neuroreport* 15: 1121-1125
77. Glueckert R, Bitsche M, Miller JM, Zhu Y, Prieskorn DM, Altschuler RA, Schrott-Fischer A (2008) Deafferentation-associated changes in afferent and efferent processes in the guinea pig cochlea and afferent regeneration with chronic intrascalar brain-derived neurotrophic factor and acidic fibroblast growth factor. *J Comp Neurol* 507: 1602-1621
78. Goffi-Gomez M, Abdala C, Gomes C (2010) Neural response telemetry in patients with the double-array cochlear implant. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 267: 515-522
79. Gordon KA, Papsin BC, Harrison RV (2004) Toward a battery of behavioral and objective measures to achieve optimal cochlear implant stimulation levels in children. *Ear Hear* 25: 447-463
80. Green KM, Julyan PJ, Hastings DL, Ramsden RT (2005) Auditory cortical activation and speech perception in cochlear implant users: effects of implant experience and duration of deafness. *Hear Res* 205:184–192
81. Grose JH, Hall III JW, Buss E (2001) Gap duration discrimination in listeners with cochlear hearing loss: effects of gap and marker duration, frequency separation, and mode of presentation. *J Assoc Res Otolaryngol* 2: 388–398
82. Guiraud J, Gallego S, Arnold L, Boyle P, Truy E, Collet L (2007) Effects of auditory pathway anatomy and deafness characteristics? (1): on electrically evoked auditory brainstem responses. *Hear Res* 223: 48–60
83. Gurtubay IG, Alegre M, Labarga A, Malanda A, Iriarte J, Artieda J (2001) Gamma band activity in an auditory oddball paradigm studied with the wavelet transform. *Clin Neurophysiol* 112: 1219–1228
84. Haenggi M, Ypparila H, Hauser K, Caviezel C, Korhonen I (2006) The effects of dexmedetomidine/remifentanil and midazolam/remifentanil on auditory-evoked potentials and

- electroencephalogram at light-to-moderate sedation levels in healthy subjects. *Anesth Analg* 103(5): 1163-1169
85. Hall RD (1990) Estimation of surviving spiral ganglion cells in the deaf rat using the electrically evoked auditory brainstem response. *Hear Res* 49(1-3): 155-68
 86. Hardie NA, Shepherd RK (1999) Sensorineural hearing loss during development: morphological and physiological response of the cochlea and auditory brainstem. *Hear Res* 128: 147-165
 87. Hartmann R, Topp G, Klinke R (1984) Discharge patterns of cat primary auditory fibers with electrical stimulation of the cochlea. *Hear Res* 13: 47-62
 88. Hatton J, Stapells DR (2011) The Efficiency of the Single- Versus Multiple-Stimulus Auditory Steady State Responses in Infants. *Ear Hear* 32: 349–357
 89. He NJ, Mills JH, Ahlstrom JB, Dubno JR (2008) Age-related differences in the temporal modulation transfer function with pure-tone carriers. *J Acoust Soc Am* 124:3841–3849
 90. Heffer LF, Sly DJ, Fallon JB, White MW, Shepherd RK, O'Leary SJ (2010) Examining the auditory nerve fiber response to high rate cochlear implant stimulation: chronic sensorineural hearing loss and facilitation. *J Neurophysiol* 2010 104(6): 3124-35
 91. Heffner HE, Heffner RS, Contos C, Ott T (1994) Audiogram of the hooded Norway rat. *Hear Res* 73: 244–247
 92. Heil P, Schulze H, Langner G (1995) Ontogenetic development of periodicity coding in the inferior colliculus of the Mongolian gerbil. *Audit Neurosci* 1: 363-383
 93. Herdman AT, Lins O, Van Roon P, Stapells DR, Scherg M, Picton TW (2002) Intracerebral sources of human auditory steady-state responses. *Brain Topography*, 15, pp. 69-86
 94. Hernández O, Espinosa N, Pérez-González D, Malmierca MS (2005) The inferior colliculus of the rat: a quantitative analysis of monaural frequency response areas. *Neuroscience* 132:203–217
 95. Hinojosa R, Nelson EG, Lerner SA, Redleaf MI, Schramm DR (2001) Aminoglycoside ototoxicity: a human temporal bone study. *Laryngoscope* 111: 1797–805
 96. Holden LK, Finley CC, Firszt JB, Holden TA, Brenner C, Potts LG, Gotter BD, Vanderhood SS, Mispagel K, Heyderbrand G, Skinner MV (2013) Factors affecting open-set world recognition in adults with cochlear implants, *Ear Hear*, en prensa
 97. Hopkins K, Moore B-C-J, Stone M-A (2008) Effects of moderate cochlear hearing loss on the ability to benefit from temporal fine structure information in speech. *J Acoust Soc Am* 123: 1140-1153
 98. Huang CQ, Carter PM, Shepherd RK (2001) Stimulus induced pH changes in cochlear implants: An in vitro and in vivo study. *Ann Biomed Eng* 29: 791-802
 99. Hudspeth AJ (2000): Hearing. En: E. R. Kandel, J. H. Schwartz y T. M. Jessell (eds.), *Principles of Neural Science*. 4ta ed. pp. 591-614. McGraw-Hill, New York.
 100. Javel E, Shepherd R (2000) Electrical stimulation of the auditory nerve. III Response initiation sites and temporal fine structure. *Hear Res* 140: 45-76
 101. Jewett DL (1970) Volume-conducted potentials in response to auditory stimuli as detected by averaging in the cat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 28: 609-618

102. John MS, Brown DK, Muir PJ, Picton TW (2004). Recording steady-state responses in young infants. *Ear Hear* 25: 539-553
103. John MS, Picton TW (2000) Human auditory steady-state response to amplitude modulated tones: Phase and latency measurements. *Hear Res* 141: 57-79
104. Joris PX, Schreiner CE, Rees A (2004) Neural processing of amplitude modulated sounds. *Physiol Rev* 84: 541-577
105. Kandell ER, Schwartz JH, Jessell TM (2000) Principles of Neural Science. McGraw-Hill, pp. 590-614
106. Kandler K, Clause A, Noh J (2009) Tonotopic reorganization of developing auditory brainstem circuits. *Nat Neurosci* 12:711-717
107. Kelly JB, Cooke JE, Gilbride PC, Mitchell C, Zhang HM (2006) Behavioral limits of auditory temporal resolution in the rat: amplitude modulation and duration discrimination. *J Comp Psychol* 120: 98-105
108. Kelly JB, Masterton B (1977) Auditory sensitivity of the albino rat. *J Comp Physiol Psychol* 91: 930-936
109. Khan AM, Handzel O, Burgess BJ, Damian D, Eddington DK, Nadol JB Jr (2005) Is word recognition correlated with the number of surviving spiral ganglion cells and electrode insertion depth in human subjects with cochlear implants? *Laryngoscope* 115: 672-677
110. Kiefer J, Hohl S, Stürzebecher E (2001). Comparison of speech recognition with different speech coding strategies (SPEAK, CIS, and ACE) and their relationship to telemetric measures of compound action potentials in the Nucleus CI24M cochlear implant system. *Audiol* 40: 32-42
111. Kiefer J, Pok M, Adunka O, Sturzebecher E, Baumgartner W, Schmidt M, Tillein J, Ye Q, Gstoettner W (2005) Combined electric and acoustic stimulation of the auditory system: results of a clinical study. *Audiology and Neuro-Otology* 10:134-144
112. Kim J-R, Abbas PJ, Brown CJ, CP Etler, O'Brien S, Kim L-S (2010) The Relationship Between Electrically Evoked Compound Action Potential and Speech Perception: A Study in Cochlear Implant Users With Short Electrode Array. *Otol Neurotol* 31:1041-1048
113. Klop W, Hartlooper A, Briare JJ, Frijns JH (2004) A new method for dealing with the stimulus artefact in electrically evoked compound action potential measurements. *Acta Oto-Laryngol* 124: 137-43
114. Koles ZJ, Rasminsky M (1972) A computer simulation of conduction in demyelinated nerve fibres. *J Physiol* 227: 351-364
115. Kral A, Tillein J, Heid S, Klinke R, Hartmann R (2006) Cochlear implants: cortical plasticity in congenital deprivation. *Prog Brain Res* 157:283-313
116. Krebs B, Lesica NA, Grothe B (2008) The representation of amplitude modulations in the mammalian auditory midbrain. *J Neurophysiol* 100: 1602-1609
117. Krishna BS, Semple MN (2000) Auditory Temporal Processing: Responses to Sinusoidally Amplitude-Modulated Tones in the Inferior Colliculus *J Neurophysiol* 84: 255-273
118. Kuwada S, Anderson JS, Batra R, Fitzpatrick DC, Teissier N (2002) Sources of the scalp-recorded amplitude-modulation following response. *J Am Acad Audiol* 13: 188-204
119. Lage-Castellanos A, Martínez-Montes E, Hernández-Cabrera JA, Galán L (2010) False Discovery Rate and Permutation Test: An evaluation in ERP data analysis. *Stat Med* 29(1): 63-74

120. Lai WK (2004) *An NRT Cookbook*. for Version 3.1 edn, second ed. Cochlear AG, Basel.
121. Langner G, Schreiner CE (1988): Periodicity coding in the inferior colliculus of the cat. I. Neural mechanisms. *J Neurophysiol* 60: 1799-1822
122. Lev A, Sohmer H (1972) Sources of averaged neural responses recorded in animal and human subjects during cochlear audiometry (electrocochleogram). *Arch Klin Exp Ohr* 201: 79-90
123. Levi EC, Folsom RC, Dobie RA (1995) Coherence analysis of envelope-following responses (EFRs) and frequency-following responses (FFRs) in infants and adults. *Hear Res* 89: 21-27
124. Lilly JC, Hughes JR, Alvord ECJ, Galkin TW (1955) Brief, non-injurious waveforms for stimulation of the brain. *Science* 121: 468-469
125. Lins OG, Picton PE, Picton TW, Champagne SC, Durieux-Smith A (1995) Auditory steady-state responses to tones amplitude-modulated at 80 Hz to 110 Hz. *J Acoust Soc Am* 97: 3051-3063
126. Lorenzi C, Gilbert G, Carn H, Garnier S, Moore B-C-J (2006) Speech perception problems of the hearing impaired reflect inability to use temporal fine structure. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 18866-18869
127. Luts H, Desloovere C, Kumar A, Vandermeersch E, Wouters J (2004) Objective assessment of frequency-specific hearing thresholds in babies, *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 68: 915-926
128. Luts H, Desloovere C, Wouters J (2006) Clinical application of dichotic multiple-stimulus auditory steady-state responses in high-risk newborns and young children. *Audiol Neurotol* 11: 24-37
129. Luts H, Van Dun B, Alaerts J, Wouters J (2008) The influence of the detection paradigm in recording auditory steady-state responses. *Ear Hear* 29:638-650
130. Makela JP, Karmos G, Molnar M, Csepe V, Winkler I (1990) Steady-state responses from the cat auditory cortex. *Hear Res* 45: 41-50
131. Malone BJ, Scott BH, Semple MN (2010) Temporal codes for amplitude contrast in auditory cortex. *J Neurosci* 30: 767-784
132. Maurizi M, Almadori G, Paludetti G, Ottaviani F, Rosignoli M, Luciano R (1990). 40-Hz steady-state in newborns and in children. *Audiology* 29: 322-328
133. McAnally KI, Hansen PC, Cornelissen PL (1997) Effect of time and frequency manipulation on syllable perception in developmental dyslexics. *J Speech Lang Hear Res* 40: 912-924
134. McFadden SL, Ding D, Jiang H, Salvi RJ (2004) Time course of efferent fiber and spiral ganglion cell degeneration following complete hair cell loss in the chinchilla. *Brain Res* 997: 40-51
135. McFadden SL, Ding D, Jiang H, Woo JM, Salvi RJ (2002) Chinchilla models of selective cochlear hair cell loss. *Hear Res* 174:230-238
136. McFadden SL, Walsh EJ, McGee J (1996) Onset and development of auditory brainstem responses in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Hear Res* 100: 68-79
137. McGuinness SL, Shepherd RK (2005) Exogenous BDNF rescues rat spiral ganglion neurons in vivo. *Otol Neurotol* 26: 1064-1072
138. McKay CM (2005) Spectral processing in cochlear implants. *Int Rev Neurobiol* 70: 473-509.

139. McKay CM, Fewster LM (2004) Effect of interphase-gap and pulse-duration on evoked-potential amplitudes and loudness. In: International Congress Series, Special Issue: Cochlear Implants. Proceedings of the VIII International Cochlear Implant Conference (Miyamoto RT, ed), pp 60-63: Elsevier
140. McKay CM, Fewster L, Dawson P (2005) A different approach to using neural response telemetry for automated cochlear implant processor programming. *Ear Hear* 26 (Suppl): 38S–44S
141. McKay CM, Henshall KR (2003) The perceptual effects of interphase gap duration in cochlear implant stimulation. *Hear Res* 181: 94-99
142. McKay CM, McDermott HJ (1999) The perceptual effects of current pulse duration in electrical stimulation of the auditory nerve. *J Acoust Soc Am* 106: 998-1009
143. McKay M, McDermott HJ (1998) Loudness perception with pulsatile electrical stimulation: The effect of interpulse intervals *J Acoust Soc Am* 104(2): 1061-1075
144. Menell P, McAnally KI, Stein JF (1999) Psychophysical sensitivity and physiological response to amplitude modulation in adult dyslexic listeners. *J Speech Lang Hear Res* 42: 797–803
145. Middlebrooks JC (2008) Auditory cortex phase locking to amplitude-modulated cochlear implant pulse trains. *J Neurophysiol* 100: 76–91
146. Miller AL, Smith DW, Pfungst BE (1999) Across-species comparisons of psychophysical detection thresholds for electrical stimulation of the cochlea: II. Strength-duration functions for single, biphasic pulses. *Hear Res* 135: 47-55
147. Miller C A, Abbas PJ, Brown CJ (2000). An improved method of reducing stimulus artifact in the electrically evoked whole-nerve potential. *Ear Hear* 21: 280–290
148. Miller CA, Abbas PJ, Hay-McCutcheon MJ, Robinson BK, Nourski KV, Jeng FC (2004) Intracochlear and extracochlear ECAPs suggest antidromic action potentials. *Hear Res* 198: 75-86
149. Miller CA, Abbas PJ, Robinson BK (2001) Response Properties of the Refractory Auditory Nerve Fiber. *JARO* 02: 216-232
150. Miller CA, Brown CJ, Abbas PJ, Chi SL (2008) The clinical application of potentials evoked from the peripheral auditory system. *Hear Res* 242: 184–97
151. Miller CA, Faulkner MJ, Pfungst BE (1995) Functional responses from guinea pigs with cochlear implants. II. Changes in electrophysiological and psychophysical measures over time. *Hear Res* 92: 100-111
152. Miller CT, Hauser MD (2004) Multiple acoustic features underlie vocal signal recognition in tamarins: antiphonal calling experiments. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 190:7–19
153. Mino H, Rubinstein JT (2006) Effects of neural refractoriness on spatio-temporal variability in spike initiations with Electrical stimulation. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng* 14(3): 273-80
154. Moon AK, Zwolan TA, Pfungst BE (1993) Effects of phase duration on detection of electrical stimulation of the human cochlea. *Hear Res* 67: 166–178
155. Moore DR, Hine JE (1992) Rapid development of the auditory brainstem response threshold in individual ferrets. *Dev Brain Res* 66: 229-235

156. Morsnowski A, Charasse B, Collet L, Killian M, Müller-Deile J (2006) Measuring the refractoriness of the electrically stimulated auditory nerve. *Audiol Neurootol* 11: 389–402
157. Müller-Deile J, Thai-Van H, Morsnowski A (2003) Correlations of auditory nerve refractoriness and the offset between auditory nerve response thresholds and psychophysical thresholds in Nucleus cochlear implant recipients. In: R. K. Shepherd & M.A. Svirsky (Eds). *Abstracts of the 2003 Conference on Implantable Auditory Prostheses* (p 178).
158. Müller-Preuss P, Flachskamm C, Bieser A (1994) Neural encoding of amplitude modulation within the auditory midbrain of squirrel monkeys. *Hear Res* 80: 197–208
159. Nabekura J, Katsurabayashi S, Kakazu Y, Shibata S, Matsubara A, Jinno S, Mizoguchi Y, Sasaki A, Ishibashi H (2004) Developmental switch from GABA to glycine release in single central synaptic terminals. *Nat Neurosci* 7:17–23
160. Nadol JB (1997) Patterns of neural degeneration in the human cochlea and auditory nerve: Implications for cochlear implantation. *Otolaryngol Head Neck Surg* 117: 220-228
161. Nadol JB, Young YS, Glynn RJ (1989) Survival of spiral ganglion cells in profound sensorineural hearing loss: Implications for cochlear implantation. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 98: 411-416
162. Nayagam BA, Muniak MA, Ryugo DK (2011) The spiral ganglion: Connecting the peripheral and central auditory systems. *Hearing Research* 278: 2-20
163. Negm MH, Bruce IC (2008) Effects of I(h) and I(KLT) on the response of the auditory nerve to electrical stimulation in a stochastic Hodgkin-Huxley model. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2008: 5539-42
164. Nelson PC, Carney LH (2007) Neural rate and timing cues for detection and discrimination of amplitude-modulated tones in the awake rabbit inferior colliculus. *J Neurophysiol* 97:522–539
165. Nunez P (1995) *Neocortical dynamics and human EEG rhythms*. Oxford: New York.
166. O'Connor KN, Barruel P, Sutter ML (2000) Global processing of spectrally complex sounds in macaques (*Macaca mulatta*) and humans. *J Comp Physiol A* 186: 903–912
167. O'Connor KN, Johnson JS, Niwa MN, Noriega NC, Marshall EA, Sutter ML (2011) Amplitude modulation detection as a function of modulation frequency and stimulus duration: comparisons between macaques and humans. *Hear Res* 277: 37–43
168. Pan N, Jahan I, Kersigo J, Kopecky B, Santi P, Johnson S, Schmitz H, Fritzsche B (2011) Conditional deletion of *Atoh1* using *Pax2-Cre* results in viable mice without differentiated cochlear hair cells that have lost most of the organ of Corti. *Hear Res* 275: 66-80
169. Papakonstantinou A, Strelcyk O, Dau T (2011) Relations between perceptual measures of temporal processing, auditory-evoked brainstem responses and speech intelligibility in noise. *Hear Res* 280: 30-37
170. Parkins CW (1989) Temporal response patterns of auditory nerve fibers to electrical stimulation in deafened squirrel monkeys *Hearing Res* 41: 137–168
171. Parkins CW, Colombo J (1987) Auditory-nerve single-neuron thresholds to electrical stimulation from scala tympani electrodes. *Hear Res* 31: 267-285
172. Parthasarathy A, Bartlett EL (2011) Age-related auditory deficits in temporal processing in F-344 rats. *Neuroscience* 192:619-30

173. Patrick JF, Busby PA, Gibson PJ (2006) The development of the Nucleus Freedom cochlear implant system. *Trends Amplif* 10: 175–200
174. Pauli-Magnus D, Hoch G, Strenzke N, Anderson S, Jentsch TJ (2007) Detection and differentiation of sensorineural hearing loss in mice using auditory steady-state responses and transient auditory brainstem responses. *Neuroscience* 149: 673–684
175. Perez MC, Savío G, Torres A, Martín V, Rodríguez E, Galán L (2001) An optimized method to test frequency specific thresholds in hearing impaired children and normal subjects. *Ear Hear* 22: 200-211
176. Perez-Alcazar M, Nicolas MJ, Valencia M, Alegre M, Iriarte J, Artieda J (2008) Chirp-evoked potentials in the awake and anesthetized rat. A procedure to assess changes in cortical oscillatory activity. *Exp Neurol* 210: 144–153
177. Pethe J, Muhler R, Siewert K, von Specht H (2004) Near-threshold recordings of amplitude modulation following responses (AMFR) in children of all ages. *Int J Audiol* 43: 339-345
178. Pettingill LN, Richardson RT, Wise AK, O’Leary SJ, Shepherd RK (2007) Neurotrophic factors and neural prostheses: potential clinical applications based upon findings in the auditory system. *IEEE Trans Biomed Eng* 54: 1138-1148
179. Pfingst BE (1988) Comparisons of psychophysical and neurophysiological studies of cochlear implants. *Hear Res* 34: 243-251
180. Pfingst BE, DeHaan DR, Holloway LA (1991) Stimulus features affecting psychophysical detection thresholds for electrical stimulation of the cochlea. I: Phase duration and stimulus duration. *J Acoust Soc Am* 90: 1857-66
181. Pfingst BE, Sutton D, Miller JM, Bohne BA (1981) Relation of psychophysical data to histopathology in monkeys with cochlear implants. *Acta Otolaryngol* 92: 1-13
182. Pfingst BE, Xu L, Thompson CS (2007) Effects of carrier pulse rate and stimulation site on modulation detection by subjects with cochlear implants. *J Acoust Soc Am* 121: 2236–2246
183. Picton TW, Dimitrijevic A, John MS (2002) Multiple auditory steady-state responses. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 189: 16-21
184. Picton TW, Durieux-Smith A, Moran LM (1994) Recording auditory brainstem responses from infants. *Int J Ped Otorhinolaryngol* 28: 93-110
185. Picton TW, John MS, Dimitrijevic A, Purcell D (2003) Human auditory steady-state responses. *Int J Audiol* 42: 177-219
186. Picton TW, Skinner CR, Champagne SC, Kellett AJ, Maiste AC (1987) Potentials evoked by the sinusoidal modulation of the amplitude or frequency of a tone. *J Acoust Soc Am* 82: 165–78
187. Picton TW, van Roon P, John MS (2009) Multiple auditory steady state responses (80–101 Hz): Effects of ear, gender, handedness, intensity and modulation rate. *Ear Hear* 30: 100–109
188. Plourde G, Baribeau J, Bonhomme V (1997) Ketamine increases the amplitude of the 40 Hz auditory steady-state response in humans. *Br J Anaesth* 78: 524-529
189. Poelmans H, Luts H, Vandermosten M, Boets B, Ghesquire P, Wouters J (2012) Auditory Steady State Cortical Responses Indicate Deviant Phonemic-Rate Processing in Adults With Dyslexia. *Ear Hear* 33: 134–143

190. Potts LG, Skinner MW, Gotter BD (2007) Relation between neural response telemetry thresholds, T- and C-levels, and loudness judgments in 12 adult Nucleus 24 cochlear implant recipients. *Ear Hear* 28: 495–511
191. Pujol R, Hilding D (1973) Anatomy and physiology of the onset of auditory function. *Acta Otolaryngol* 76: 1-11
192. Purcell DW, John MS (2010) Evaluating the modulation transfer function of auditory steady state responses in the 65 Hz to 120 Hz range. *Ear Hear* 31:667-678
193. Purcell DW, John MS, Schneider BA, Picton TW (2004) Human temporal auditory acuity as assessed by envelope following responses. *J Acoust Soc Am* 116(6): 3581–3593
194. Rance G, Cone-Wesson B (2008) Clinical application of auditory steady-state responses. In G. Rance (Ed). *The Auditory Steady-State Response. Generation, Recording, and Clinical Application* (pp. 119–124). San Diego, CA: Plural Publishing Inc.
195. Rance G, Roper R, Symonds L, Moody LJ, Poulis C, Dourlay M, Kelly T (2005) Hearing threshold estimation in infants using auditory steady state responses. *J Am Acad Audiol* 16: 293-302
196. Rance G, Tomlin D. (2006) Maturation of auditory steady-state responses in normal babies. *Ear Hear* 27: 20–29
197. Rees A, Langner G (2005) Temporal coding in the auditory midbrain. In: *The Inferior Colliculus*, edited by Winer J, Schreiner C. New York: Springer, 346–376
198. Regan D (1989) *Human Brain Electrophysiology: Evoked Potentials and Evoked Magnetic Fields in Science and Medicine*, Elsevier, Amsterdam, 1989, p. 35
199. Richardson RT, O’Leary S, Wise A, Hardman J, Clark G (2005) A single dose of neurotrophin-3 to the cochlea surrounds spiral ganglion neurons and provides trophic support. *Hear Res* 204: 37-47
200. Riquelme R, Kuwada S, Filipovic B, Hartung K, Leonard G (2006) Optimizing the stimuli to evoke the amplitude modulation following response (AMFR) in neonates. *Ear Hear* 27:104-119
201. Robblee LS, Rose TL (1990) Electrochemical guidelines for selection of protocols and electrode materials for neural stimulation. In: Agnew W, McCreery D, eds. *Neural prostheses: fundamental studies*. New Jersey: Prentice-Hall: 25–66
202. Rodríguez FA, Read HL, Escabí MA (2010) Spectral and Temporal Modulation Tradeoff in the Inferior Colliculus. *J Neurophysiol* 103: 887–903
203. Rosen MJ, Semple MN, Sanes DH (2010) Exploiting Development to Evaluate Auditory Encoding of Amplitude Modulation *J Neurosci* 30(46):15509 –15520
204. Roth B, Bruns V (1992) Postnatal development of the rat organ of Corti. I. General morphology, basilar membrane, tectorial membrane and border cells. *Anat Embryol* 185: 559-569
205. Roß B, Borgmann C, Draganova R, Roberts LE, Pantev C (2000) A high-precision magnetoencephalographic study of human auditory steady-state responses to amplitude-modulated tones. *J Acoust Soc Am* 108: 579-691
206. Rubel EW, Fritzsche B (2002) Auditory system development: primary auditory neurons and their targets. *Ann Rev Neurosci* 25: 51-101

207. Rybak LP, Whitworth C, Scott V (1992) Development of the endochlear potential and compound action potential in the rat. *Hear Res* 59: 189-194
208. Ryugo DK (2008) Projections of low spontaneous rate, high threshold auditory nerve fibers to the small cell cap of the cochlear nucleus in cats. *Neuroscience* 154: 114-126
209. Ryugo DK, Montey KL, Wright AL, Bennett ML, Pongstaporn T (2006) Postnatal development of a large auditory nerve terminal. The endbulb of Held in cats. *Hear Res* 216–217: 100–115
210. Saldañas E, Merchán MA (1998) Sistema auditivo. En: J. M. Delgado, A. Ferrús, F. Mora y F. J. Rubia (eds.), *Manual de Neurociencia*. pp. 507-538. Síntesis, Madrid
211. Sanes DH, Sarro EC, Takesian AE, Aoki C, Kotak VC (2009) Regulation of inhibitory synapse function in the developing auditory CNS. In: Pallas SL, editor. *Developmental Plasticity of Inhibitory Circuitry*. New York: Springer-Verlag
212. Sapsford DJ, Pickworth AJ, Jones JG (1996) A method for producing the coherent frequency: A steady-state auditory evoked response in the electroencephalogram. *Anesth Analg Baltimore* 83: 1273–1278
213. Sarro EC, Sanes DH (2010) Prolonged maturation of auditory perception and learning in gerbils. *Dev Neurobiol* 70:636–648
214. Savio G, Cardenas J, Perez-Abalo M, Gonzalez A, Valdes J (2001). The low and high frequency auditory steady-state responses mature at different rates. *Audiol Neuro-otol* 6: 279-287
215. Schatteman TA, Hughes LF, Caspary DM (2008) Aged-related loss of temporal processing: altered responses to amplitude modulated tones in rat dorsal cochlear nucleus. *Neuroscience* 154:329–337
216. Schreiner CE, Langner G (1988) Periodicity coding in the inferior colliculus of the cat. II. Topographical organization. *J Neurophysiol* 60: 1823-1840
217. Scott LL, Mathews PJ, Golding NL (2005) Posthearing Developmental Refinement of Temporal Processing in Principal Neurons of the Medial Superior Olive. *J Neurosci* 25(35):7887–7895
218. Seligman PM, Shepherd RK (2004) *Neuroprosthetics: Theory and Practice*, K. Horch & G. Dhillon (Eds) World Scientific Publishing
219. Shannon RV (1990) Forward masking in patients with cochlear implants. *J Acoust Soc Am* 88: 741-744.
220. Shannon RV, Zeng FG, Kamath V, Wygonski J, Ekelid M (1995) Speech recognition with primarily temporal cues. *Science* 270: 303–304
221. Shepherd RK (2004): The auditory system. En: K. Horch y G. Dhillon (eds.), *Neuroprosthetics: theory and practice*. World Scientific, London
222. Shepherd RK, Baxi JH, Hardie NA (2001) Electrical stimulation of the auditory nerve: single neuron strength-duration functions in deafened animals. *Ann Biomed Eng* 29: 195-201
223. Shepherd RK, Coco A, Epp SB, Crook JM (2005) Chronic depolarization enhances the trophic effects of brain-derived neurotrophic factor in rescuing auditory neurons following a sensorineural hearing loss. *J Comp Neurol* 486: 145-158.
224. Shepherd RK, Hardie NA (2001) Deafness induced changes in the auditory pathway: Implications for cochlear implants. *Audiol NeuroOtol* 6: 305-318

225. Shepherd RK, Javel E (1997) Electrical stimulation of the auditory nerve: I Correlation of physiological responses with cochlear status. *Hear Res* 108: 112-144
226. Shepherd RK, Javel E (1999) Electrical stimulation of the auditory nerve: II. Effect of stimulus waveshape on single fibre response properties. *Hear Res* 130: 171-88
227. Shepherd RK, Linahan N, Xu J, Clark GM, Araki S (1999) Chronic electrical stimulation of the auditory nerve using non-charge balanced stimuli. *Acta Otolaryngol* 119: 674-684
228. Shepherd RK, Meltzer NE, Fallon JB, Ryugo DK (2006) Consequences of deafness and electrical stimulation on the peripheral and central auditory system. Waltzman SB, Roland TJ, editors. *Cochlear Implants*. 2. New York: Thieme Medical Publishers, Inc; 2006. pp. 25-39
229. Shepherd RK, Roberts LA, Paolini AG (2004) Long-term sensorineural hearing loss induces functional changes in the rat auditory nerve. *Eur J Neurosci* (11): 3131-3140
230. Shinn-Cunningham B, Best V (2008) Selective attention in normal and impaired hearing. *Trends Amplif* 12: 283-299
231. Shinohara T, Bredberg G, Ulfendahl M, Pyykko I, Olivius NP, Kaksonen R, Lindstrom B, Altschuler R, Miller JM (2002) Neurotrophic factor intervention restores auditory function in deafened animals. *Proc Natl Acad Sci* 99: 1657-1660
232. Shpak T, Berlin M, Luntz M (2004). Objective measurements of auditory nerve recovery function in Nucleus CI24 implantees in relation to subjective preference of stimulation rate. *Acta Otolaryngol* 124: 679-683
233. Simpson A, McDermott HJ, Dowell RC, Sucher C, Briggs RJ (2009) Comparison of two frequency-to-electrode maps for acoustic-electric stimulation. *Int J Audiol* 48:63-73
234. Singh NC, Theunissen FE (2003) Modulation spectra of natural sounds and ethological theories of auditory processing. *J Acoust Soc Am* 114: 3394-3411
235. Skinner MW, Ketten DR, Holden LK, Harding GW, Smith PG, Gates GA, Neely JG, Kletzker GR, Brunnsden B, Blocker B (2002) CT-derived estimation of cochlear morphology and electrode array position in relation to word recognition in Nucleus-22 recipients. *J Assoc Res Otolaryngol* 3:332-350
236. Smith DW, Finley CC (1997) Effects of electrode configuration on psychophysical strength-duration functions for single biphasic electrical stimuli in cats. *J Acoust Soc Am* 102: 2228-37
237. Smith L, Simmons FB (1983) Estimating eighth nerve survival by electrical stimulation. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 92: 19-23
238. Smith PH, Massie A, Joris PX (2005) Acoustic stria: anatomy of physiologically characterized cells and their axonal projection patterns. *J Comp Neurol* 482: 349-371
239. Smoorenburg GF, Willeboer C, van Dijk JE (2002) Speech perception in nucleus CI24M cochlear implant users with processor settings based on electrically evoked compound action potential thresholds. *Audiology and Neuro-Otology* 7(6): 335-347
240. Snyder RL, Bierer JA, Middlebrooks JC (2004) Topographic spread of inferior colliculus activation in response to acoustic and intracochlear electrical stimulation. *J Assoc Res Otolaryngol* 5: 305-322
241. Snyder RL, Middlebrooks JC, Bonham BH (2008) Cochlear implant electrode configuration effects on activation threshold and tonotopic selectivity. *Hear Res* 235: 23-38

242. Stankovic K, Rio C, Xia A, Sugawara M, Adams JC, Liberman MC, Corfas G (2004) Survival of adult spiral ganglion neurons requires erbB receptor signaling in the inner ear. *J Neurosci* 24: 8651-8661
243. Stapells D, Herdman A, Small S, Dimitrijevic A, Hatton J (2004) Current status of auditory steady-state responses for estimating an infants audiogram. In Seewald ,R. & bamford, J. (Eds.) *A Sound Foundation Through Early Amplification*, 2004, Basel: Phonak pp. 43-59.
244. Stapells DR (2011) Frequency-specific threshold assessment in young infants using the transient ABR and the brainstem ASSR. In R. C. Seewald & A. M. Tharpe (Eds.). *Comprehensive Handbook of Pediatric Audiology* (pp. 409–448). San Diego, CA: Plural Publishing.
245. Stapells DR, Linden D, Suffield JB, Hamel G, Picton TW (1984) Human auditory steady state potentials. *Ear Hear* 5: 105-113
246. Steinschneider M, Fishman YI, Arezzo JC (2003) Representation of the voice onset time (VOT) speech parameter in population responses within primary auditory cortex of the awake monkey. *J Acoust Soc Am* 114: 307–321
247. Strelcyk O, Dau T (2009) Relations between frequency selectivity, temporal fine structure processing, and speech reception in impaired hearing. *J Acoust Soc Am* 125: 3328-3345
248. Suesserman MF, Spelman FA (1993) Lumped-parameter model for in vivo cochlear stimulation. *IEEE Trans Biomed Eng.* 40(3): 237-45
249. Sugawara M, Murtie JC, Stankovic KM, Liberman MC, Corfas G (2007) Dynamic patterns of neurotrophin 3 expression in the postnatal mouse inner ear. *J Comp Neurol* 501:30–37
250. Sun W, Salvi RJ (2009) BDNF and NT-3 Modulate Neurotransmitter Receptor Expressions on Developing Spiral Ganglion Neurons *Neuroscience* 164(4): 1854–1866
251. Swanepoel D, Hugo R, Roode R (2004) Auditory steady-state responses for children with severe to profound hearing loss. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 130(5): 531-535
252. Szalda K, Burkard R (2005) The effects of nembutal anesthesia on the auditory steady-state response (ASSR) from the inferior colliculus and auditory cortex of the chinchilla. *Hear Res* 203: 32–44
253. Tan ML, Theeuwes HP, Feenstra L, Borst JGG (2007) Membrane properties and firing patterns of inferior colliculus neurons: an in vivo patch-clamp study in rodents. *J Neurophysiol* 98: 443–453
254. Tessarollo L, Coppola V, Fritzscht B (2004) NT-3 replacement with brain-derived neurotrophic factor redirects vestibular nerve fibers to the cochlea. *J Neurosci* 24: 2575-2584
255. Thai-Van H, Truy E, Charasse B (2004) Modeling the relationship between psychophysical perception and electrically evoked compound action potential threshold in young cochlear implant recipients: Clinical implications for implant fitting. *Clin Neurophysiol* 115: 2811–2824
256. Thiers FA, Nadol Jr JB, Liberman MC (2008) Reciprocal synapses between outer hair cells and their afferent terminals: evidence for a local neural network in the mammalian cochlea. *J Assoc Res Otolaryngol* 9: 477-489
257. Tokui N, Suzuki H, Udaka T, Hiraki N, Fujimura T, Fujimura K, Makishima K (2005) Delayed-onset temporary auditory threshold shift following head blow in guinea pigs. *Hear Res* 199(1-2): 111-116
258. Tonnaer EL, Peters TA, Curfs JH (2010) Neurofilament localization and phosphorylation in the developing inner ear of the rat. *Hear Res* 267: 27-35
259. Turner C, Mehr M, Hughes M (2002) Within-subject predictors of speech recognition in cochlear implants: A null result. *Acoust Res Lett Online* 3:95–100

260. Turner CW, Reiss LA, Gantz BJ (2008) Combined acoustic and electric hearing: preserving residual acoustic hearing. *Hear Res* 242:164–171
261. Valdes JL, Perez-Abalo MC, Martin V, Savio G, Sierra C, Rodriguez E, Lins O (1997) Comparison of statistical indicators for the automatic detection of 80 Hz auditory steady-state response. *Ear Hear* 18: 420-429
262. van den Broek S, Reinders F, Donderwinkel M, Peters M (1998) Volume conduction effects in EEG and MEG. *EEG Clin Neurophysiol* 106(6): 522-534
263. van den Honert C, Mortimer JT (1979) The response of the myelinated nerve fiber to short duration biphasic stimulating currents. *Ann Biomed Eng* 7: 117-125
264. van den Honert C, Stypulkowski PH (1984) Physiological properties of the electrically stimulated auditory nerve. II. Single fiber recordings *Hear Res* 14(3): 225-43
265. van Dun B, Verstraeten S, Alaerts J, Luts H, Moonen M, Wouters J (2008) A flexible research platform for multi-channel auditory steady-state response measurements. *J Neurosci Met* 169: 239–48
266. Van Maanen A, Stapells DR (2005) Comparison of multiple auditory steady-state responses (80 versus 40 Hz) and slow cortical potentials for threshold estimation in hearing-impaired adults. *Int J Audiol* 44: 613–624
267. Van Maanen A, Stapells DR (2009) Normal multiple auditory steady-state response thresholds to air-conducted stimuli in infants. *J Am Acad Audiol* 20:196–207
268. Van Maanen A, Stapells DR (2010) Multiple ASSR thresholds in infants and young children with hearing loss. *J Am Acad Audiol* 21: 535–545
269. Vellutino FR, Fletcher JM, Snowling MJ (2004) Specific reading disability (dyslexia): What have we learned in the past four decades? *J Child Psychol Psychiatr* 45:2–40
270. Victor JD, Mast J (1991) A new statistic for steady-state evoked potentials. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 78: 378-388
271. Viemeister NF, Plack CJ (1993) Time analysis; in Yost WA, Popper AN, Fay RR (eds): *Human Psychophysics*. Springer, pp 116–154
272. Vollmer M, Beitel RE, Snyder RL, Leake PA (2007) Spatial Selectivity to Intracochlear Electrical Stimulation in the Inferior Colliculus is Degraded After Long-Term Deafness in Cats. *J Neurophysiol* 98: 2588–2603
273. Vollmer M, Leake PA, Beitel RE, Rebscher SJ, Snyder RL (2005) Degradation of temporal resolution in the auditory midbrain after prolonged deafness is reversed by electrical stimulation of the cochlea. *J Neurophysiol* 93: 3339–3355
274. Vollmer M, Snyder L, Leake A, Beitel E, Moore M, Rebscher J (1999) Temporal properties of chronic electrical stimulation determine temporal resolution of neurons in cat inferior colliculus. *J Neurophysiol* 82: 2883-2902
275. Vollmer M, Snyder RL, Beitel RE, Moore CM, Rebscher SJ, Leake PA (2000) Effects of congenital deafness on central auditory processing. In: *Proceedings of the 4th European Congress of Oto-Rhino-Laryngology*, Berlin, edited by Jahnke K, Fischer M. Bologna: Monduzzi pp: 181–186

276. Walker KMM, Brown DK, Scarff C, Watson C, Muir P, Phillips D (2011) Temporal Processing Performance, Reading Performance, and Auditory Processing Disorder in Learning-Impaired Children and Controls. *Can J Speech-Lang Pathol Audiol* 35(1): 6-12
277. Walsh EJ, McGee JA, Javel E (1986) Development of auditory evoked potentials in the cat: I. Onset of response and development of sensitivity. *J Acoust Soc Am* 79: 712-724
278. Walton JP, Simon H, Frisina RD (2002): Age-related alterations in the neural coding of envelope periodicities. *J Neurophysiol* 88(2): 565-578
279. Weisz C, Glowatzki E, Fuchs P (2009) The postsynaptic function of type II cochlear afferents. *Nature* 461: 1126-1129
280. Westen AA, Dekker DMT, Briaire JJ, Frijns JHM (2011) Stimulus level effects on neural excitation and eCAP amplitude. *Hear Res* 280: 166-176
281. Wieringen A, Macherey O, Carlyon RP, Deeks JM, Wouters J (2008) Alternative pulse shapes in electrical hearing. *Hear Res* 242: 154-163
282. Wilkinson AR, Jiang ZD (2006) Brainstem auditory evoked response in neonatal neurology. *Semin Fetal Neonatal Med* 11(6): 444-51
283. Wilson BS, Dorman MF (2008) Cochlear implants: a remarkable past and a brilliant future. *Hear Res* 242:3-21
284. Wise AK, Richardson R, Hardman J, Clark G, O'Leary S (2005) Resprouting and survival of guinea pig cochlear neurons in response to the administration of the neurotrophins brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3. *J Comp Neurol* 487: 147-165
285. Wise AK, Tu T, Atkinson PJ, Flynn BO, Sgro BE, Humec C, O'Leary SJ, Shepherd RK, Richardson RT (2011) The effect of deafness duration on neurotrophin gene therapy for spiral ganglion neuron protection *Hearing Research* 278: 69-76
286. Xie R, Gittelman JX, Pollak GD (2007) Rethinking tuning: in vivo whole-cell recordings of the inferior colliculus in awake bats. *J Neurosci* 27: 9469-948
287. Yamagata T, Miller JM, Ulfendahl M, Olivius NP, Altschuler RA, Pyykko I, Bredberg G (2004) Delayed neurotrophic treatment preserves nerve survival and electrophysiological responsiveness in neomycin-deafened guinea pigs. *J Neurosci Res* 78: 75-86
288. Yang T, Kersigo J, Jahan I, Pan N, Fritsch B (2011) The molecular basis of making spiral ganglion neurons and connecting them to hair cells of the organ of Corti. *Hear Res* 278: 21-33
289. Young ED (2008) Neural representation of spectral and temporal information in speech. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 363: 923-945
290. Zeng FG, Galvin JJ, 3rd Zhang C (1998) Encoding loudness by electric stimulation of the auditory nerve. *Neuroreport* 9: 1845-1848
291. Zeng FG, Grant G, Niparko J, Galvin J, Shannon R, Opie J, Segel P (2002) Speech dynamic range and its effect on cochlear implant performance. *J Acoust Soc Am* 111(1): 377-386
292. Zeng FG, Oba S, Garde S, Sininger Y, Starr A (2001) Psychoacoustics and speech perception in auditory neuropathy, in *Auditory Neuropathy*, edited by Y. Sininger and A. Starr Singular Thomson Learning, San Diego, pp. 141-164

293. Zhang H, Kelly JB (2003) Glutamatergic and GABAergic regulation of neural responses in inferior colliculus to amplitude-modulated sounds. *J Neurophysiol* 90: 477–490
294. Zhang H, Kelly JB (2006) Responses of Neurons in the Rat's Ventral Nucleus of the Lateral Lemniscus to Amplitude-Modulated Tones. *J Neurophysiol* 96: 2905-2914
295. Zheng Y, Escabi MA (2008) Distinct roles for onset and sustained activity in the neuronal code for temporal periodicity and acoustic envelope shape. *J Neurosci* 28: 14230–14244
296. Zhou R, Abbas PJ, Assouline JG (1995) Electrically evoked auditory brainstem response in peripherally myelin-deficient mice. *Hear Res* 88: 98-106

10. ANEXOS

ANEXO 1

Tabla de compensación para la intensidad de estímulos acústicos expresada en dB SPL y dB HL.

Frecuencia (Hz)	Intensidad (dB SPL*)
125	45.0
250	27.0
500	11.5
750	10.5
1000	7.0
1500	6.5
2000	9.0
3000	10.0
4000	9.5
6000	15.5
8000	13.0
Chasquido	30.0
Ruido blanco	22.0

* El valor de intensidad mostrado para cada frecuencia (en dB SPL) representan el equivalente a 0 dB HL.

ANEXO 2

Resumen de los grupos experimentales y de las intensidades de estimulación correspondientes a 30 dB por encima del umbral del PEAE cuando la profundidad de modulación fue 95 %

Experimento	grupo	intensidad umbral (dB SPL)	intensidad umbral + 30 dB
15P01	15 DPN	50	80
15P02	15 DPN	45	75
15P03	15 DPN	35	65
15P04	15 DPN	45	75
15P05	15 DPN	40	70
15P06	15 DPN	50	80
15P07	15 DPN	45	75
15P08	15 DPN	45	75
20P01	20 DPN	40	70
20P02	20 DPN	45	75
20P03	20 DPN	40	70
20P04	20 DPN	35	65
20P05	20 DPN	35	75
20P06	20 DPN	40	70
20P07	20 DPN	35	65
20P08	20 DPN	40	75
25P01	25 DPN	30	60
25P02	25 DPN	25	55
25P03	25 DPN	30	60
25P04	25 DPN	35	65
25P05	25 DPN	20	50
25P06	25 DPN	20	50
25P07	25 DPN	25	55
25P08	25 DPN	25	55
35P01	35 DPN	25	55
35P02	35 DPN	20	50
35P03	35 DPN	30	60
35P04	35 DPN	15	45
35P05	35 DPN	15	45
35P06	35 DPN	15	45
35P07	35 DPN	25	55
35P08	35 DPN	20	50
70P01	70 DPN	15	45
70P02	70 DPN	15	45
70P03	70 DPN	25	55
70P04	70 DPN	20	50
70P05	70 DPN	5	35
70P06	70 DPN	5	35
70P07	70 DPN	10	40
70P08	70 DPN	10	40

DPN: días posteriores al nacimiento

ANEXO 3

Resumen de los grupos experimentales y de las intensidades utilizadas para estudiar la función de recuperación de los potenciales evocados auditivos.

Experimento	duración de la sordera	Intensidad de estimulación (dB por encima del umbral del PEATC-e*)		
		6dB	12 dB	18 dB
Gp-092	una semana	173	207	241
Gp-109	una semana	188	222	255
Gp-114	una semana	149	183	217
Gp-117	una semana	146	180	214
GP-123	una semana	156	190	224
Gp-113	cuatro semanas	147	181	215
Gp-120	cuatro semanas	168	200	236
Gp-137	cuatro semanas	169	203	237
Gp-138	cuatro semanas	170	204	238
Gp-072	doce semanas	202	236	255**
Gp-082	doce semanas	198	232	255**
Gp-084	doce semanas	182	216	251
Gp-091	doce semanas	147	181	216

* la intensidad de estimulación es expresada en niveles de corriente (NC), magnitud de estimulación del implante coclear utilizado en los experimentos (1 NC~ 0.16 dB).

** en estos sujetos 18 dB por encima del umbral represent una intensidad de estimulación superior al máximo nivel de corriente que el implante era capaz de presentar (255 CL, 1.750 mV).