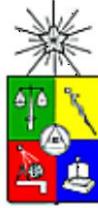


**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE POSTGRADO**



“Dilucidando el origen del ruido eléctrico timpánico en humanos”

Javiera Soledad Pardo Jadue

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGISTER EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
MENCIÓN NEUROCIENCIA**

Director de Tesis: Profesor Dr. Paul H. Délano.

2015

Índice

❖ Portada.....	1
❖ Dedicatoria.....	3
❖ Agradecimientos.....	4
❖ Índice de Materias.....	2
❖ Índice de Figuras.....	5
❖ Abreviaturas.....	7
❖ Resumen.....	8
❖ Abstract.....	9
❖ Introducción.....	10
○ Ruido eléctrico de ventana redonda (RWN): caracterización, origen y modulación	
❖ Hipótesis.....	16
❖ Objetivos.....	16
❖ Material y Método.....	17
❖ Resultados.....	29
❖ Discusión.....	55
❖ Conclusiones.....	71
❖ Bibliografía.....	72

Dedicatoria

*a mi familia, por su inmenso cariño
a Felipe, por creer en mí y apoyarme siempre
a mi mente inquieta, que me permitió terminar lo encomendado..*

Agradecimientos

Primero que nada, quiero agradecer a mi tutor de tesis, Paul Délano, por creer en mí, en el proyecto y poner su entusiasmo, paciente y comedido en cada idea. Por guiar con pausada sabiduría cada etapa de esta tesis, apoyar en los momentos difíciles y dar consejos asertivos y francos.

Quiero agradecer también a Constantino, mi brazo derecho en este proyecto, y muchas veces, el artífice principal de cada idea, de cada experimento. Que con su mente inquieta, dispersa y genial aportó de mil maneras a llevar a cabo este desafío. Por su infinita paciencia y disposición...por su mensaje directo... por cada tarde de registro...muchas gracias Tino.

Finalmente quiero agradecer, a mis compañeros de laboratorio, los que participaron activamente con ideas, aportando en lo cotidiano y también como sujetos de experimentación, gracias por su tiempo e infinita paciencia, por los momentos compartidos juntos, dentro y fuera del laboratorio....los voy a extrañar.

Agradecimientos especiales al financiamiento del Concurso de Investigación Anual de la Sociedad Chilena de Otorrinolaringología (SOCHIORL), a la Fundación Guillermo Puelma y al Proyecto U-Moderniza (U-Mod 11).

Índice de Figuras

Figura	Título	Página
Figura 1	Ruido eléctrico de ventana redonda.	12
Figura 2	Electrodo timpánico Lilly TM-Wick electrode.	18
Figura 3	Montaje de electrodos.	19
Figura 4	Fonos utilizados para la estimulación auditiva.	22
Figura 5	Diapasones de 2048, 1024 y 512 Hz.	23
Figura 6	Equipo para la realización de prueba calórica.	25
Figura 7	Lentes de Frenzel.	26
Figura 8	Limpieza del ruido eléctrico de la señal.	28
Figura 9	Espectrograma de 22 sujetos normo-oyentes registrados.	31
Figura 10	Correlación entre impedancia del registro y amplitud de la señal.	32
Figura 11	Espectrograma de tiempo/ frecuencia.	33
Figura 12	Registro timpánico vs registro de muñeca, tipo derivación D2 de electrocardiograma.	35
Figura 13	Influencia de la actividad muscular en el análisis espectral del ruido eléctrico timpánico (RET).	36
Figura 14	Influencia del movimiento ocular y parpadeo en el análisis espectral del ruido eléctrico timpánico.	37
Figura 15	Estimulación del nervio cuerda del tímpano, rama sensorial del VII par.	38
Figura 16	Influencia de la estimulación táctil del tercio superior de la cara (nervio trigémino, V par)	39

Figura 17	Estimulación auditiva con ruido blanco: ejemplo de un caso.	41
Figura 18	Resumen general de estimulación con ruido blanco.	42
Figura 19	Estimulación auditiva con ruido blanco: ejemplo de supresión	43-44
Figura 20	Estimulación auditiva con tonos.	45
Figura 21	Potencial microfónico coclear.	46
Figura 22	Potencial de acción compuesto del nervio auditivo.	47
Figura 23	Prueba calórica, estímulo a alta temperatura (49°C).	49
Figura 24	Prueba calórica, estímulo a baja temperatura (26°C).	50
Figura 25	Cambios en la amplitud del ruido eléctrico timpánico en 8 voluntarios durante la estimulación del canal auditivo con aire a diferentes temperaturas.	51
Figura 26	Promedio de la estimulación calórica a 26°C y 49°C (n=8).	53
Figura 27	Diferencia espectral entre la estimulación acústica y calórica.	54
Figura 28	Esquema de la teoría del origen del RET en humanos.	68

ABREVIATURAS

RWN: Round window noise

RET: Ruido eléctrico timpánico

PAC: Potencial de acción compuesto

EMG: Electromiografía

RESUMEN

Estudios en animales muestran que al posicionar un electrodo en el nicho de la ventana redonda es posible registrar actividad eléctrica, la que tiene un *peak* espectral centrado en 800-1000 Hz. El origen propuesto para este potencial es la actividad espontánea de las fibras del nervio auditivo en ausencia de estimulación acústica.

Mediante una técnica no invasiva, a través de un electrodo timpánico registramos por primera vez el ruido eléctrico timpánico en humanos. Se registraron 31 voluntarios (45 oídos) con electrodo timpánico en condiciones de silencio y en respuesta a diferentes modalidades de estímulos, incluyendo auditivo, vestibular, somatosensorial y actividad motora. Se registraron potenciales electrococleográficos habituales como microfónicas cocleares y potencial de acción compuesto del nervio auditivo.

Todos los sujetos mostraron la actividad espontánea con un *peak* espectral en 1000 Hz. Se observó aumento de la magnitud de la señal con estímulos auditivos, tanto ruido blanco y tonos, así como con estímulos vestibulares con aire a 49° y 24°C. No se observó respuesta a otros estímulos como parpadeo, movimientos oculares ni estímulos somatosensoriales (nervio trigémino y cuerda del tímpano).

Estos resultados permiten plantear como probable origen del ruido eléctrico timpánico una fuente biológica, probablemente de origen mixto desde vías centrales de tronco encefálico, como a nivel periférico desde el nervio cócleo-vestibular. Los resultados obtenidos en esta tesis abren la posibilidad de futuras aplicaciones clínicas para el estudio funcional del nervio auditivo.

ABSTRACT

In animal studies, the spectral analysis of the spontaneous activity recorded with an electrode positioned in the round window shows an energy peak centered around 800 to 1000 Hz. The proposed origin of this component is the spontaneous activity of auditory-nerve fibers without acoustic stimuli.

Here, we used a non-invasive method to record -for the first time in humans- the tympanic neural noise by means of a wick electrode. We recorded a total of 31 volunteers (45 ears). Recordings were performed under silent conditions or in response to stimuli of different modalities, including auditory, vestibular, somatosensory and motor activity. Electrocochleographic potentials like cochlear microphonics and compound action potential of the auditory nerve were also recorded.

Although all subjects showed a peak of spontaneous activity at 1000 Hz, the most reliable responses were obtained with auditory stimuli as broad band noise and tones as well as vestibular stimulation by either high (air flow at 49°C) or low (24°C) temperature, which produced an increase in the magnitude of the energy peak at 1000 Hz. No response was observed to other stimuli such as blinking, eye movements or somatosensory stimuli (trigeminal nerve and chorda tympani).

These results demonstrate that the electric noise of the tympanic membrane is originated from a biological source, suggesting that the 1000 Hz component has a mixed origin, probably including brainstem networks, and the cochleo-vestibular nerve. This thesis opens up the possibility of future clinical applications for the functional study of the auditory nerve.

INTRODUCCIÓN

Desde el primer registro de potenciales cocleares realizado en gatos por Wever y Bray en 1930, ha existido un importante desarrollo de la técnica de electrococleografía hasta como la conocemos hoy en día (Wever y cols., 1930). Posteriormente en 1973, Peter Dallos demostró que la actividad sincrónica evocada por sonido de las neuronas cocleares del nervio auditivo corresponde al potencial de acción compuesto (PAC) del nervio auditivo que se registra a través de un electrodo colocado en la ventana redonda (Dallos, 1973; Patuzzi y cols., 2004).

Actualmente se sabe que la electrococleografía es una técnica mediante la cual se registran los potenciales cocleares provenientes de la cóclea o del nervio auditivo, incluyendo al potencial microfónico coclear, que se origina principalmente en las células ciliadas de la cóclea, el PAC del nervio auditivo, y el potencial de suma- ción (PS), descrito por primera vez por Tasaki en 1954, y que se genera en respuesta a la corriente directa (DC) en las células ciliadas que se mueven en conjunto con la membrana basilar, siendo un potencial relacionado a estímulo (Tasaki y cols., 1954). Estos potenciales pueden ser medidos con electrodos colocados en distintas posi- ciones, como por ejemplo a nivel de la piel del conducto auditivo externo, en la mem- brana timpánica (técnica extra-timpánica o no invasiva), o también a través de regis- tros invasivos o trans-timpánicos a nivel de promontorio o ventana redonda. Los re- gistros invasivos son de mayor amplitud (mVolts versus μ Volts) y con mejor relación señal- ruido, que los no invasivos (Ferraro y cols., 1994).

El potencial microfónico coclear, el PAC del nervio auditivo y el potencial de suma- ción son obtenidos en respuesta a estímulos acústicos promediando las res- puestas bioeléctricas sincronizadas con estímulos auditivos como clics y tonos puros.

Estos potenciales han sido utilizados en investigación básica y clínica, por ejemplo la presencia del potencial microfónico coclear en ausencia de respuestas neurales se ha utilizado como un elemento indicador de neuropatía auditiva (Starr y cols., 2008), mientras que un incremento entre la relación de la amplitud del potencial de suma-ción y el PAC del nervio auditivo se ha propuesto como un indicador de hidrops endo-linfático (Brendan y cols., 2000). Por otra parte la disociación de amplitud de los po-tenciales cocleares (incremento del potencial microfónico coclear con reducción del PAC del nervio auditivo) ha sido utilizada como una medida del funcionamiento del sistema eferente auditivo (Elgueda y cols., 2011; León y cols., 2012)

Ruido eléctrico de ventana redonda (RWN): caracterización, origen y modula-ción

En 1990 el Profesor David Dolan y colaboradores de la Universidad de Michi-gan, publicaron evidencia de que al colocar un electrodo en el nicho de la ventana redonda en cobayos, y en ausencia de estimulación acústica, se obtiene actividad eléctrica aparentemente aleatoria y no desencadenada por estímulo (Dolan y cols., 1990). Esta actividad corresponde a una señal biológica, que se pierde al registrar animales muertos y que se originaría de la actividad espontánea de las fibras del nervio auditivo, las cuales, de forma independiente, descargan potenciales de acción en ausencia de estimulación acústica (Searchfield y cols., 2004) (Figura 1). Cabe destacar que, en cobayos, las descargas espontáneas de los distintos tipos de fibras del nervio auditivo ocurren a una tasa promedio entre 20 y 150 Hz (Manley y cols., 1976), los que sumado a la gran cantidad de fibras provoca un gran número de des-cargas unitarias por segundo.

Para medir el *peak* espectral del RWN se realiza un análisis de los componentes frecuenciales del ruido eléctrico registrado en la ventana redonda en condiciones de silencio. Según trabajos realizados en cobayos la actividad espontánea del nervio auditivo presenta un *peak* entre las frecuencias de 800-1000 Hz (Figura 1) (Dolan y cols., 1990), similar al *peak* espectral de las descargas de las neuronas auditivas individuales (Kiang y cols., 1976) que se consideran como la fuente de origen del ruido eléctrico obtenido de la ventana redonda.

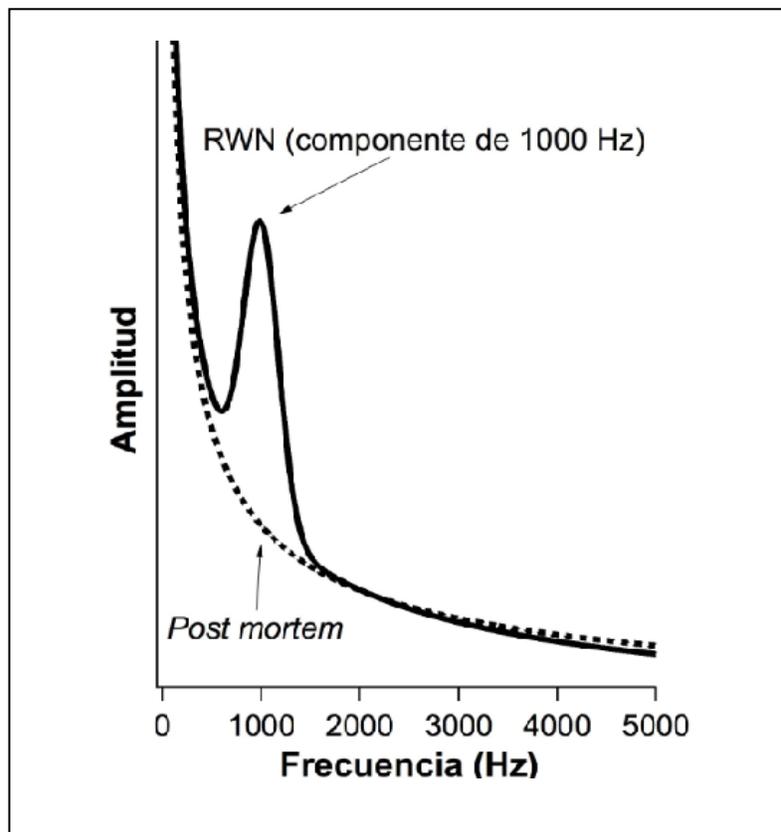


Figura 1. Ruido eléctrico de la ventana redonda. Se observa componente espectral de 1000 Hz de frecuencia y como desaparece en los animales post-mortem. Modificado de Searchfield G.D., Muñoz D.J.B., Thorne P.R. (2004). *Ensemble spontaneous activity in the guinea-pig cochlear nerve*. Hearing Research 192: 23-35.

Respecto a la amplitud del RWN, ésta se correlaciona con una buena sensibilidad auditiva en la zona de la cóclea de cobayos en torno a los 30 kHz. Así, al estimular con tonos puros constantes de 12-22 kHz se reduce la amplitud del RWN en frecuencia e intensidad, por lo que se considera que el RWN es generado o dominado principalmente por neuronas de la región basal de la cóclea. Existe además, una fuerte correlación entre la amplitud del RWN y las respuestas del potencial de acción compuesto del nervio auditivo. En una cóclea con un umbral auditivo elevado (evidenciado por una disminución de la sensibilidad medida por CAPs) se produce un cambio en el patrón del RWN; disminuye su amplitud y el *peak* espectral pierde definición (Searchfield y cols., 2004).

Para descartar la influencia de los sonidos externos en la generación del RWN, Searchfield y colaboradores realizaron un experimento en el que dislocó la cadena osicular de huesecillos del oído medio, como una forma de aislar la cóclea de los ruidos externos. En estos experimentos no se observó alteración significativa del RWN, lo que sugiere que esta señal, efectivamente, no es resultado de sonido exterior (Searchfield y cols., 2004).

Por otra parte, se ha observado que los tonos puros pueden suprimir o aumentar los componentes espectrales en torno a 800-1000 Hz dependiendo de la frecuencia y la intensidad (Dolan y cols., 1990). Estos cambios son complejos, así a bajas frecuencias (5- 20 kHz) se produce supresión que se satura a altas intensidades. A frecuencias intermedias (25-30 kHz) se produce un efecto más complejo nivel-dependiente y a altas frecuencias (30-35 kHz) se genera un incremento de la señal (Dolan y cols., 1990).

Otro estudio realizado en cobayos en que se le aplica un ruido de banda ancha para evaluar la dependencia auditiva de la señal, se observa un aumento progresivo de la magnitud de la señal en torno a 900 Hz, este incremento es exponencial a mayor intensidad de sonido (Sendowski y cols., 2006).

En relación a estudios de supresión por tonos de baja frecuencia (para el audiograma del cobayo) se observa que la disminución de amplitud ocurre dentro de una región tonotópicamente limitada de la cóclea, entre los 10 y 20 kHz, con una supresión máxima centrada en aproximadamente 16 kHz. Esta supresión es dependiente de la intensidad, de modo que tonos de baja frecuencia a alta intensidad producen mayor supresión del RWN que tonos de alta frecuencia (Searchfield y cols., 2004). A su vez, la estimulación con ruido blanco contralateral disminuye el RWN, presumiblemente por activación de las fibras olivococleares mediales (Lima da Costa y cols., 1997; Popelar y cols., 2001).

Otros estudios han demostrado, que la ablación del núcleo coclear reduce la amplitud del RWN en la ventana redonda (McMahon y Patuzzi 2002). El mecanismo por lo que esto ocurre es incierto, pero se sugiere que el núcleo coclear contribuye al RWN mediante la difusión electrotónica de su propia actividad espontánea o por mediación de las aferencias primarias vía sistema eferente. La completa eliminación del RWN mediante perfusión de tetrodotoxina (TTX, bloqueador de canales de sodio voltaje dependiente) y furosemida en el nicho de la ventana redonda sugiere que la contribución de la actividad espontánea del núcleo coclear solo ocurre en presencia de un nervio auditivo íntegro (Searchfield y cols., 2004). Se ha observado además, que una hora tras infundir ácido kaínico (agonista glutamatérgico, neurotóxico) en la membrana redonda de cobayos elimina el RWN sin alterar las microfónicas ni el po-

tencial de sumación (Dolan y cols., 1990). Del mismo modo, la inyección de gentamicina disminuye el poder espectral del RWN y aumenta el umbral del PAC hasta 70 dB en altas frecuencias (Lima da Costa y cols., 1997).

Estudios con antagonistas del receptor de glutamato (DNQX), principal neurotransmisor de la sinapsis entre célula ciliada interna y nervio auditivo también reducen la amplitud del RWN, esto, secundario a la alteración de la sinapsis aferente de las células ciliadas internas de la cóclea (Searchfield y cols., 2004). Además, se han identificado receptores de ATP en las terminales nerviosas aferentes primarias tanto de las células ciliadas internas como externas (Weisz y cols., 2009). El ATP actuaría como neurotransmisor o co-transmisor de dichas sinapsis y la perfusión coclear con ATP se asocia a aumentos del umbral del PAC y disminución del RWN. Por otra parte, al bloquear el co-transportador $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ en la célula marginal de la estría vascular (que es un elemento clave en la producción y mantenimiento del potencial eléctrico positivo (+80-100mV) en la escala media) con furosemida se produce una reducción temporal de la amplitud del RWN (Patuzzi y cols., 2004; Searchfield y cols., 2004).

Hasta la fecha solo existen reportes de RWN registrado en mamíferos pequeños, y no hay estudios publicados en humanos. En esta tesis se buscó y caracterizó el ruido eléctrico timpánico a través de un registro electrococleográfico no invasivo con un electrodo posicionado en la membrana timpánica de voluntarios sanos. Estudiar la actividad espontánea del nervio auditivo en seres humanos podría ser de gran utilidad en el estudio de pacientes con patologías del sistema auditivo y vestibular, como por ejemplo sordos candidatos a implantes cocleares.

HIPÓTESIS

La amplitud del *peak* espectral en 1000 Hz del ruido eléctrico de la membrana timpánica en humanos se modifica con estímulos auditivos. Esto supone que un mayor número de fibras del nervio auditivo serán reclutadas por la estimulación acústica, lo que incrementa la amplitud del *peak* espectral en 1000 Hz.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar y determinar el origen del ruido eléctrico timpánico en seres humanos normo-oyentes.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener registros del ruido eléctrico timpánico en sujetos normo-oyentes a través de técnica no invasiva con electrodos en penacho colocados en el tímpano.
- Estandarizar las características técnicas para la medición del registro (filtros, amplificación, colocación de electrodos).
- Determinar la influencia de fuentes no neurales de ruido eléctrico como la actividad electromiográfica y electrocardiográfica.
- Determinar la influencia de artefactos como parpadeos y movimientos oculares en la señal del ruido eléctrico timpánico.
- Determinar el origen neural de la señal eléctrica del tímpano, evaluando los siguientes pares craneanos: nervio auditivo (rama coclear del VIII par), nervio vestibular (VIII par, rama vestibular), el nervio facial (VII par), nervio trigémino (V par) y cuerda del tímpano (rama sensorial gustativa del nervio facial).

- Realizar mediciones en un mismo sujeto en diferentes días para confirmar repetitividad del registro.

MATERIAL Y MÉTODOS

A. Sujetos

Todos los sujetos estudiados en esta tesis fueron mayores de 18 años y menores de 45 años a quienes se les invitó a participar a través de consentimiento informado. Todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité de Ética del Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

B. Montaje del registro y colocación de electrodos

Para la realización de este estudio se adquirieron electrodos timpánicos (Lilly TM-Wick electrode de Intelligent Hearing Systems®) (Figura 2), que se utilizaron para la técnica de electrococleaografía clínica. El electrodo viene deshidratado y se rehidrata antes de usar con solución salina durante 10 minutos. Luego bajo visión otomicroscópica, se coloca el electrodo apoyado sobre la membrana timpánica con gel conductor, el electrodo se fija con tela de papel en el pabellón auricular. Además se coloca otros electrodos, el de referencia en el vertex o lóbulo contralateral, el electrodo tierra en la frente. Ambos son electrodos con forma de anillo y superficie de cloruro de plata (EasyCap®). El paciente se acuesta en una camilla dentro de una jaula de Faraday situada en la sala sono-amortiguada del Hospital Clínico de la Universidad de Chile.



Figura 2. Electrodo timpánico de penacho. El electrodo, en uno de sus extremos posee un penacho de fibras muy finas, las que se hidratan durante 10 minutos, previo a su colocación en la membrana timpánica.

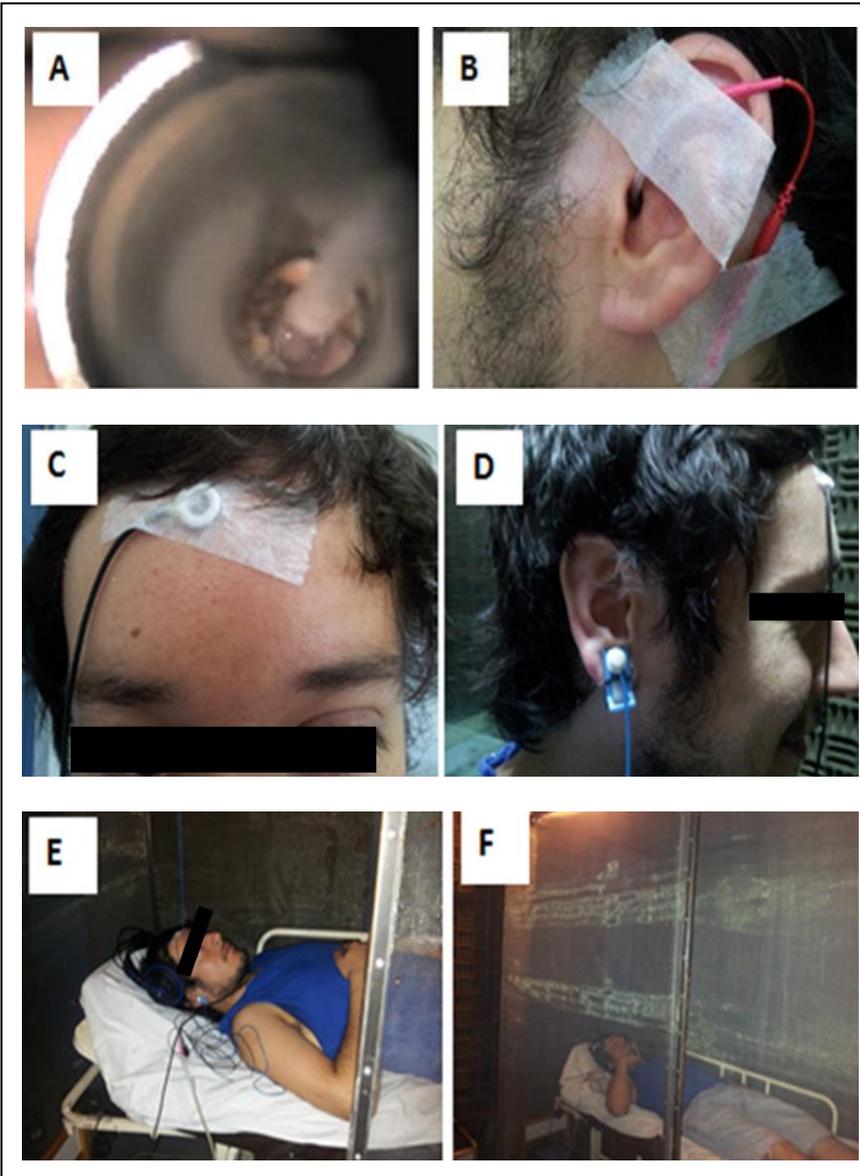


Figura 3. Montaje de electrodos. **A.** Bajo visión oto-microscópica se coloca el electrodo en la membrana timpánica. **B.** Se fija en forma externa con tela de papel al pabellón auricular. **C y D.** Se colocan electrodos tierra y referencia. **E y F.** El sujeto se recuesta en una camilla en la sala sono-amortiguada del Hospital Clínico de la Universidad de Chile, dentro de una jaula de Faraday.

C. Generación de estímulos acústicos y adquisición de datos

Los estímulos (clics, tonos puros, ruido blanco filtrado) fueron generados con sistema Tucker-Davis Technologies (RZ6), con una tasa de conversión digito-analógica de 50,000 muestras por segundo. Los sonidos fueron presentados mediante fonos de inserción modelo ER 10-C, Etymotic Research®, USA.

La adquisición de datos se realizó con una tasa de adquisición analógico/digital de 50,000 muestras por segundo. Se utilizaron 4 preamplificadores distintos, Medusa de Tucker-Davis Technologies®, con una sensibilidad de 122 nV, PZ3 de Tucker Davis Technologies® de una sensibilidad de 23 nV, y los preamplificadores BMA-200 y BMA-400 (Cwe-Inc®) de una sensibilidad de 7 μ V. Dado las amplitudes del ruido eléctrico timpánico son del orden de decenas a centenas de nanovolts, todos los datos presentados en esta tesis fueron finalmente adquiridos con el sistema Tucker-Davis Technologies® PZ3 acoplado mediante fibra óptica al sistema RZ6.

D. Procedimiento

- Ruido eléctrico timpánico: Se registró el ruido eléctrico timpánico en todos los sujetos en condiciones de silencio y dentro de una pieza sonoamortiguada con doble pared. Para descartar el origen electrocardiográfico de la señal, se utilizó además, un electrodo de muñeca. Se realizó un protocolo de movimientos oculares, parpadeo y contracción de ambos músculos maséteros de la cara para descartar el origen electromiográfico de la señal. Además en 3 sujetos se realizaron mediciones repetidas en días diferentes para evaluar la reproducibilidad de la señal.

- Evaluación de nervios craneales: Buscando el probable origen de la señal, se evaluaron otros nervios craneanos, cercanos anatómicamente al sitio del registro. Se evaluó el nervio trigémino (V par) mediante un protocolo de estimulación táctil con una tórula de algodón en el tercio superior de la cara durante un minuto. Se evaluó el nervio facial (VII par) con un protocolo de pestañeo durante un minuto. El nervio de la cuerda del tímpano, rama sensorial del VII par, que otorga el gusto a los dos tercios anteriores de la lengua, se evaluó dando a tomar al sujeto una solución glucosada al 30%. La rama coclear del nervio auditivo (VIII par) se evaluó con un protocolo de estimulación acústica y la rama vestibular mediante estimulación calórica, lo que se detalla a continuación:

- Estimulación acústica

- i. Evaluación de la rama coclear del nervio auditivo: La estimulación auditiva se realizó utilizando ruido blanco filtrado, tonos puros, clics y diapasones. El ruido blanco fue filtrado con un pasa alto a 4000 Hz. Los tonos puros utilizados fueron de 500, 2000 y 4000 Hz. Para esto, se utilizaron dos tipos de fonos, Presonus HD7 y Etymotic ER-10C a 72 dB de intensidad SPL a 1 Volt (Figura 4). Se realizó la estimación en decibeles del ruido aplicado, mediante calibración con una jeringa de 2cc, cavidad cerrada virtual, con la que se obtuvo un valor de 72 dB de ruido a 1 Volt. Además, se usaron diapasones de 128, 512 y 2048 Hz, tanto por vía aérea como por vía ósea. Se usó diapasones con el objetivo de descartar cualquier tipo de interferencia electromecánica durante el registro del ruido eléctrico. (Figura 5).

ii. Potencial microfónico coclear y PAC: Adicionalmente, se evaluó la actividad evocada del nervio auditivo midiendo PAC y el potencial microfónico coclear medido con diapasón de 512 Hz por vía aérea.

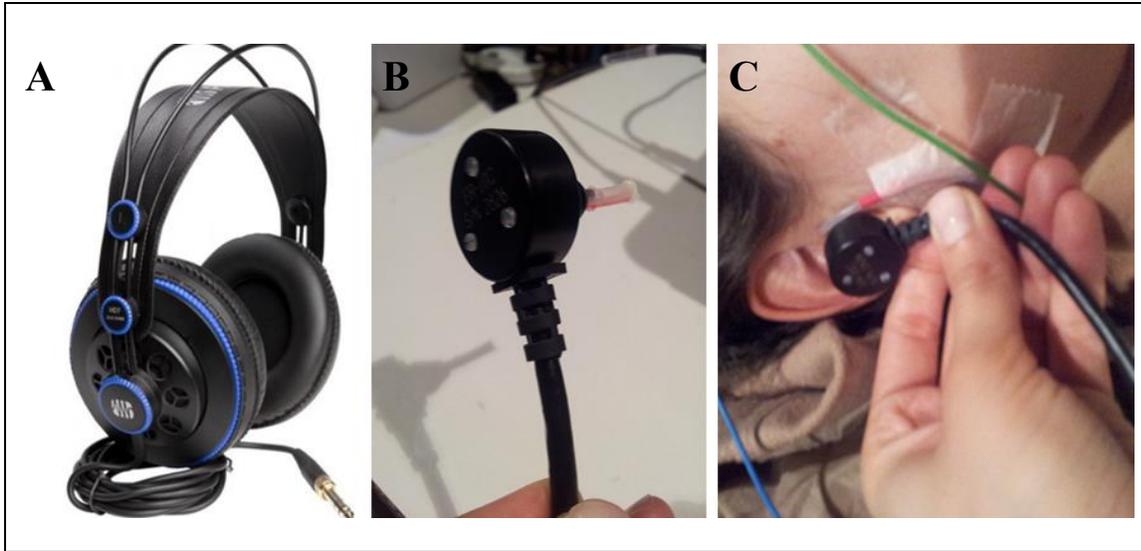


Figura 4. Fonos utilizados para la estimulación auditiva. A. Presonus HD7, B y C. Etymotic ER-10C, se observa como es introducido en el conducto auditivo externo de un sujeto que ya está siendo registrado con un electrodo timpánico en ese mismo oído.

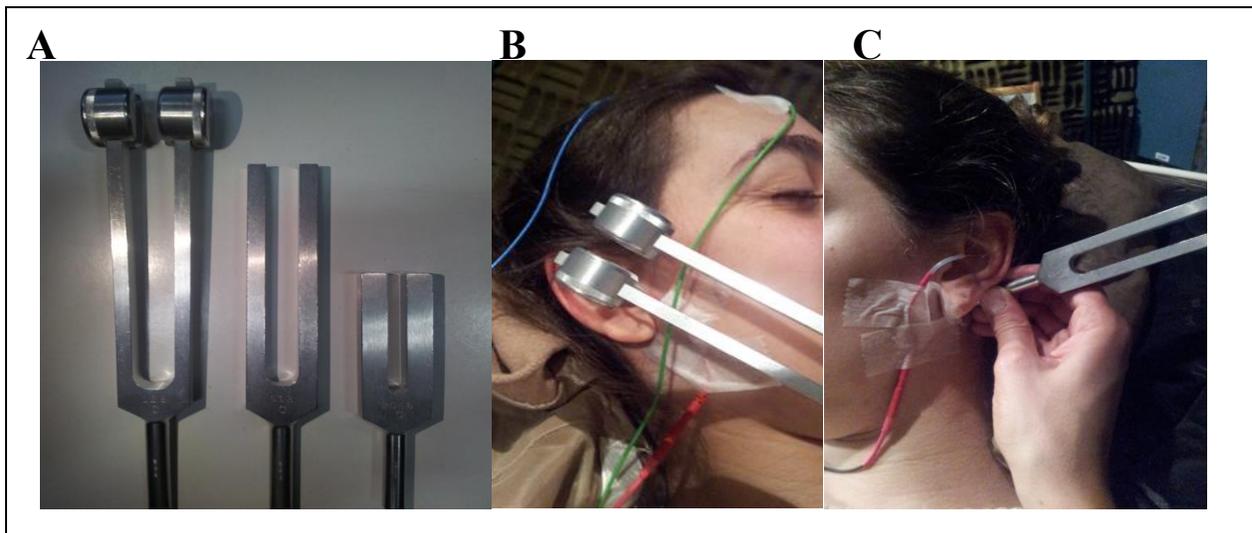


Figura 5. A. Diapasones de 2048, 1024 y 512 Hz. Utilizados para la estimulación auditiva tanto por **B. vía aérea** como por **C. vía ósea** a través del hueso mastoideo.

○ Evaluación del nervio vestibular:

La prueba calórica es un método tradicional para la evaluación de la vía vestibular. Este examen estudia específicamente las respuestas del canal semicircular lateral. La estimulación calórica, ya sea con agua o aire frío y caliente, modifica el peso específico de la endolinfa dentro del canal, originando una corriente de convección térmica, ascendente si la temperatura es caliente o descendente si es fría. Este estímulo genera nistagmo por la activación del reflejo vestíbulo-ocular a nivel del tronco encéfalo. La fase rápida o nistagmo del movimiento ocular es hacia el lado estimulado si el estímulo es de mayor temperatura que la corporal o hacia el lado contrario si es más fría. El nistagmo generalmente se acompaña de vértigo o ilusión de movimiento tipo giro.

○ Utilizamos un irrigador de aire frío/caliente ATMOS® Varioair. La prueba calórica se realiza estimulando a través del conducto auditivo externo, y con cuidado de

mantener el electrodo timpánico en posición (Figura 6). El protocolo se inicia con el sujeto acostado en la camilla con los ojos cerrados, y se obtiene 1 minuto de registro basal, en el que el irrigador se encuentra posicionado en el conducto auditivo, pero sin irrigar, seguido de 2 minutos de estimulación calórica con aire, el que puede ser a temperatura fría (26°C) o caliente (44°C) y finalmente 1 a 2 minutos de recuperación, en los que se retira el irrigador del conducto auditivo y se le pide al sujeto evaluado que abra los ojos y mire fijo al frente. En este momento se evalúa presencia de síntomas como mareo o vértigo y si existe nistagmo clínico evidenciable con lentes de Frenzel, lentes con aumento de 20 dioptrías que impiden la fijación ocular y hacen más evidente el nistagmo a ojo desnudo (Figura 7).

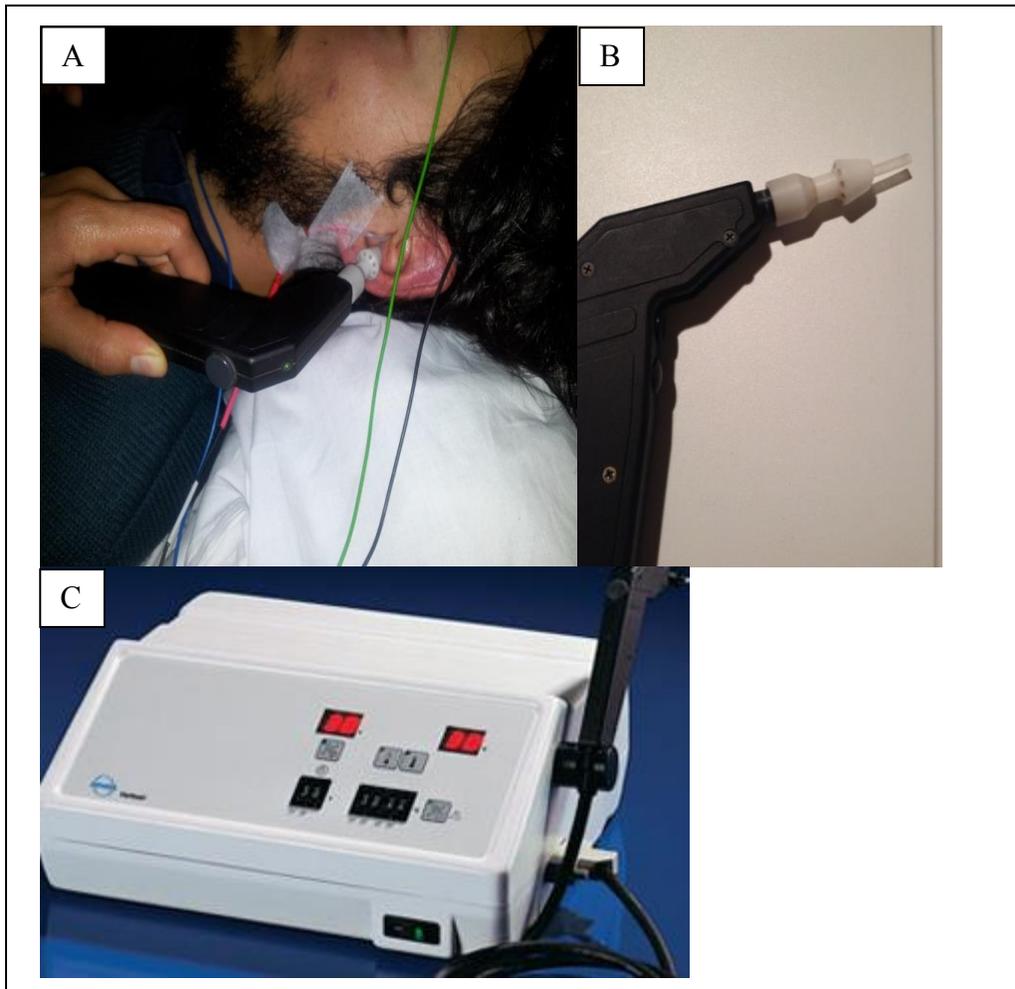


Figura 6. Equipo para la realización de estimulación calórica de los conductos auditivos externos (ATMOS® Varioair). Se aplica un estímulo de aire a 26°C o 44°C. **A.** Se observa el equipo utilizado para aplicar el estímulo calórico en el conducto auditivo de los sujetos mediante un estimulador tipo pistola **B.**, que conduce el aire a la membrana timpánica. **C.** Equipo de estimulación calórica por aire ATMOS® Varioair.

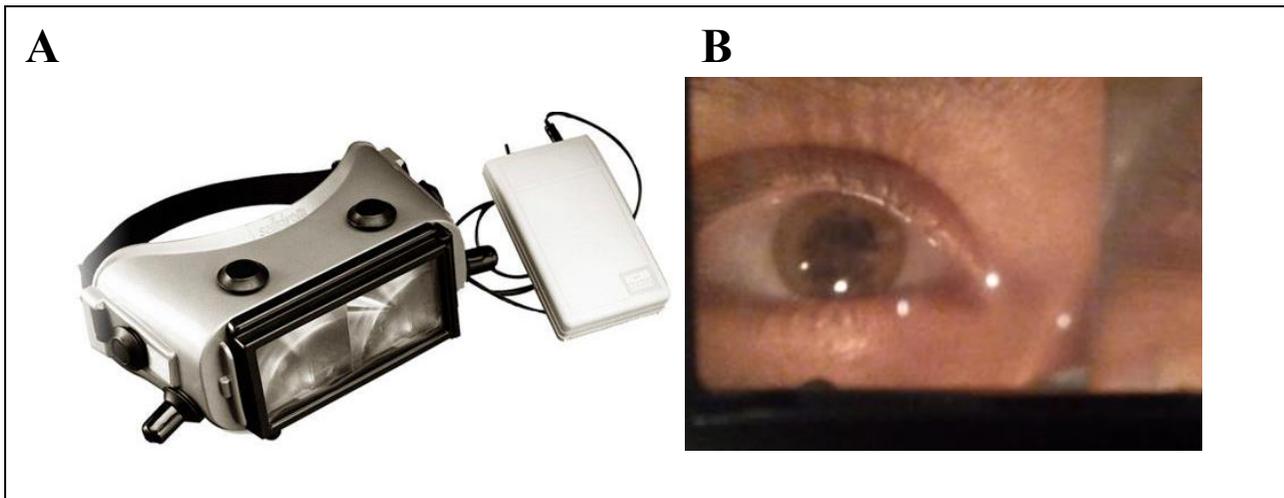


Figura 7. Lentes de Frenzel. A. Lentes que poseen gran aumento (20 dioptrías) e impiden la fijación ocular. Permiten evaluar el nistagmo post- calórico. **B.** Una vez realizada la estimulación calórica, se le solicita al sujeto que abra los ojos y fije la mirada al frente, para evidenciar con mayor aumento el nistagmo post- calórico.

ANÁLISIS DE LOS DATOS

E. Procesamiento de la señal

La señal registrada es de una magnitud muy pequeña (del orden de 10^{-9} V), por lo que en algunos casos los artefactos provocados por el ruido de la red eléctrica imposibilita el análisis. Se diseñó un protocolo de eliminación de artefactos derivados de la corriente alterna de la red eléctrica, incluyendo la frecuencia de 50 Hz y sus componentes armónicos. Este procedimiento fue aplicado al espectro de frecuencias obtenidas del ruido, en el que se eliminaron los *peaks* generados por los armónicos de la corriente alterna. Luego se compara la diferencia entre el registro original y el procesado (Figura 8). Para obtener la amplitud del ruido eléctrico timpánico (RET) se realizan registros de RET de al menos 1 minuto de duración. A estos registros se les realizó el procedimiento de limpieza de armónicos de la corriente alterna a 50 Hz (descrito arriba, ver Figura 8).

F. Estadística

Para el análisis estadístico de la amplitud de los *peaks* alrededor de 1000 Hz se utilizó como medida el área bajo la curva obtenida del análisis de poder espectral de la prueba de Fourier, tomando como límites la frecuencia de 650 y 1200 Hz utilizando un programa escrito en IGOR (WaveMetrics). Este valor se utilizó como “la muestra” para promediaciones y análisis estadísticos posteriores. Para corroborar si los distintos tipos de estímulos sensoriales provocan cambios significativos en la amplitud del peak de 1000 Hz se realizaron pruebas estadísticas con el programa SigmaPlot versión 12.5. En primer lugar se evaluó la distribución de los datos con la prueba de Shapiro-Wilk. Si los datos presentaban una distribución normal, las posibles diferencias fueron evaluadas mediante el test de ANOVA de una vía, en caso contrario se utilizó el test de Mann-Whitney o Kruskal-Wallis, según el número de condiciones analizadas. En todos los casos se consideró un $p < 0.05$ como una diferencia significativa.

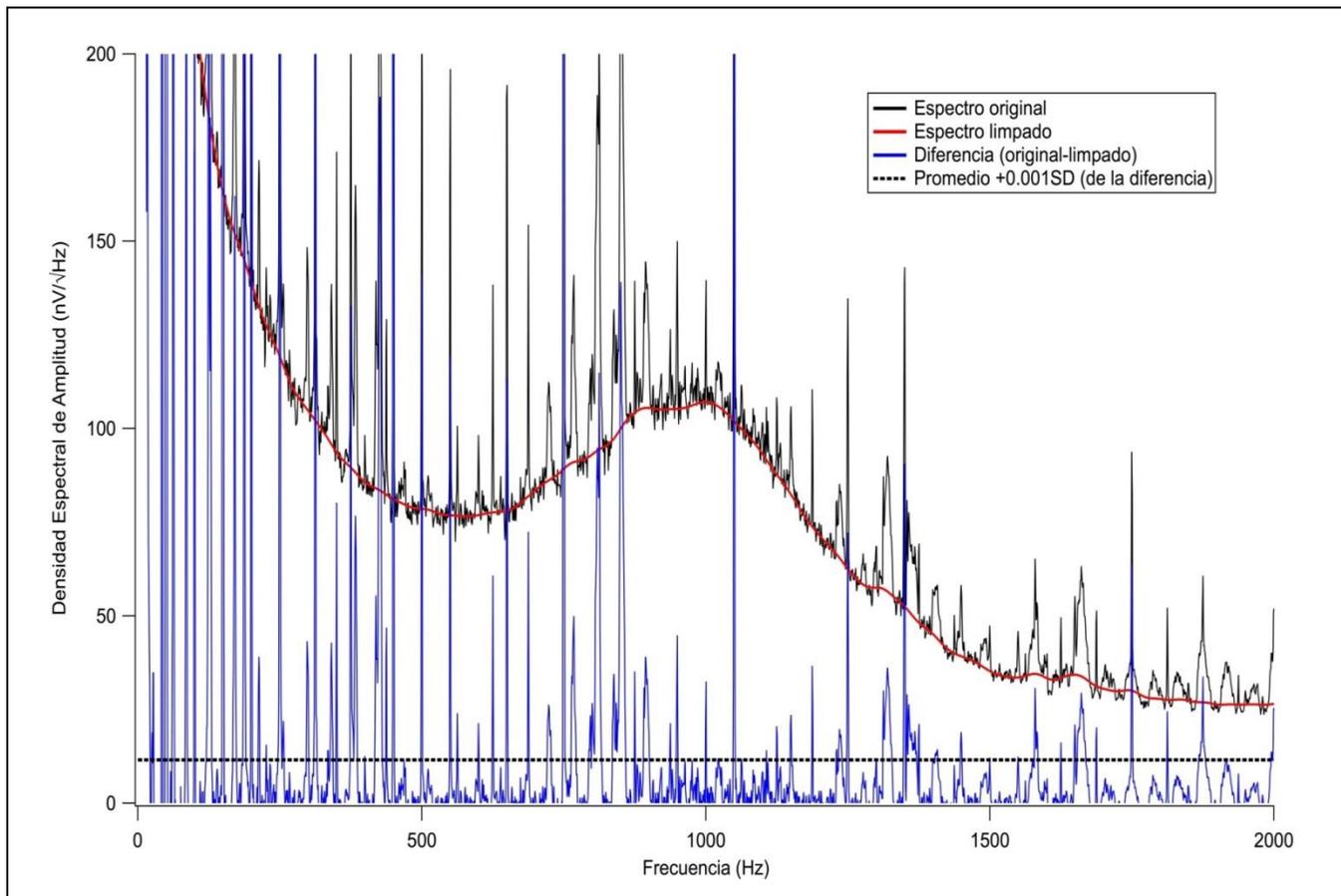


Figura 8. Ejemplo del pre-procesamiento de la señal utilizado para eliminar los componentes armónicos múltiples de 50 Hz (señal alterna de la red eléctrica). La línea negra corresponde al espectro original. En azul se observa la diferencia entre el original y el limpiado. La línea roja representa el espectro limpiado, obtenido luego del procesamiento de la señal biológica.

RESULTADOS

A. Resultados obtenidos

Se obtuvieron registros electrofisiológicos provenientes de 45 oídos o tímpanos, de un total de 31 sujetos normo-oyentes. El 55% (17 voluntarias) de la muestra fueron de género femenino y el 45% de género masculino (14 voluntarios). A todos los sujetos se les registró la actividad espontánea (sin estimulación auditiva). Se evaluaron artefactos no neurales u otras fuentes, como electrocardiograma en 6 sujetos, electromiografía en 3 sujetos, movimientos oculares en 3 sujetos y parpadeo en 3 sujetos. En 16 voluntarios se realizaron protocolos auditivos, 11 con ruido blanco filtrado, 3 con tonos puros, 7 con mediciones de microfónicas, en 15 sujetos PAC con clics y 2 sujetos fueron evaluados con diapasones. En 8 sujetos se realizaron protocolos de estimulación vestibular (prueba calórica), en 5 sujetos se estimularon las papilas gustativas de la lengua con solución glucosada al 30%, y en 3 se evaluó la sensibilidad de la cara con algodón (V par craneano). (Tabla 1)

Al medir los componentes frecuenciales de la señal se obtuvo un *peak* en torno a 1000 Hz (Figura 9) en todos los registros y en todos los voluntarios de una amplitud de decenas de nanovolts. Al observar los diferentes sujetos registrados, se observa una gran variabilidad de la amplitud de la señal, la que se correlaciona con la impedancia del registro (Figura 10), a mayor impedancia del registro mayor amplitud de la señal registrada. Este *peak* se mantiene estable en el tiempo como se observa en un ejemplo obtenido de un sujeto, calculando un espectrograma de tiempo-frecuencia durante 360 segundos (Figura 11).

Sujeto	Estimulación Auditiva										Prueba Calórica	EKG	EMG	Parpadeo	Movimientos oculares	Glucosa	Sensibilidad cara	
	Actividad espontánea	Ruido blanco	Tonos	Diapasones	CAP	Microfónicas												
1																		
2																		
3																		
4																		
5																		
6																		
7																		
8																		
9																		
10																		
11																		
12																		
13																		
14																		
15																		
16																		
17																		
18																		
19																		
20																		
21																		
22																		
23																		
24																		
25																		
26																		
27																		
28																		
29																		
30																		
31	31	11	3	2	15	7	8	7	3	3	3	5	3					

Tabla 1. Tabla resumen de todos los sujetos evaluados y las condiciones estudiadas.

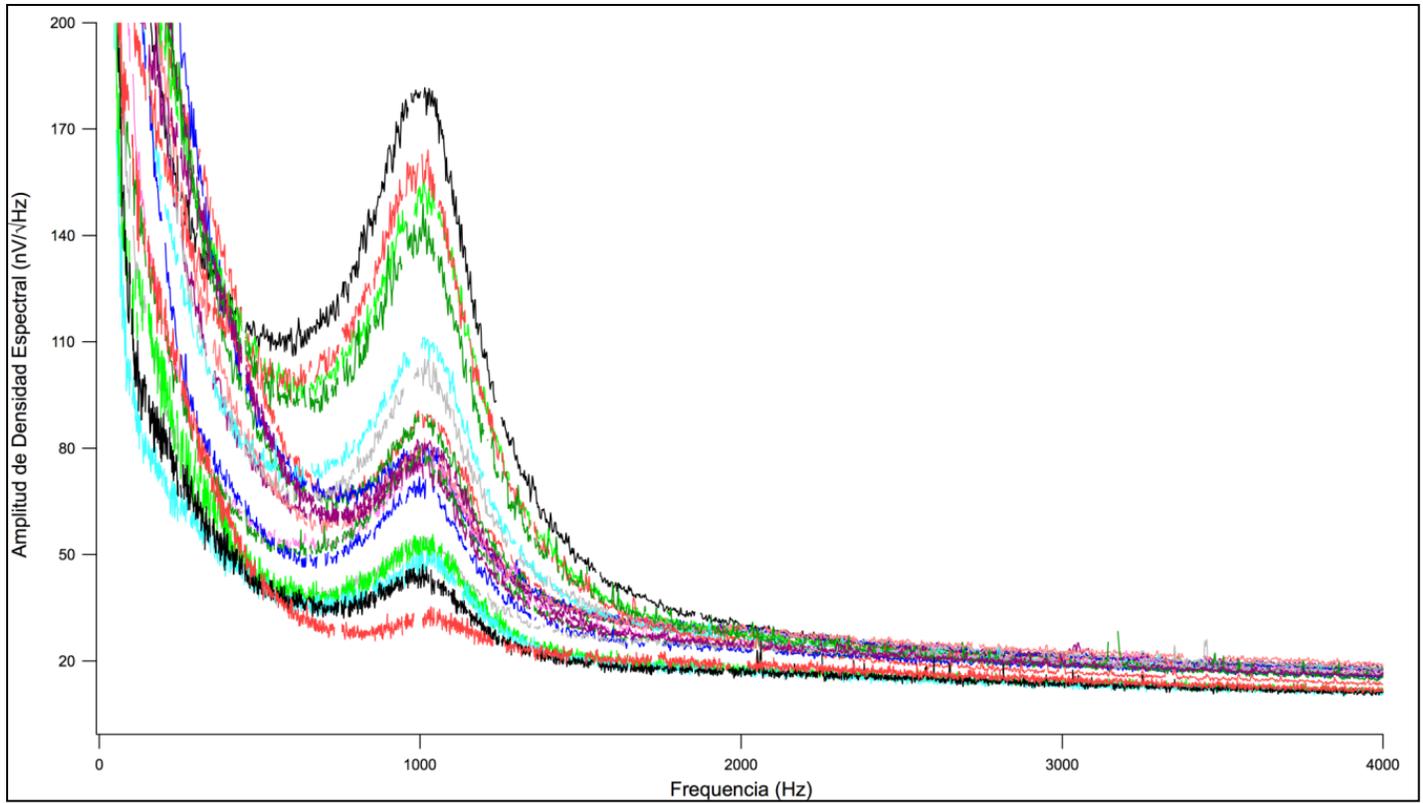


Figura 9. Espectrograma de 22 de los 31 sujetos normo-oyentes registrados. Se observa un *peak* cercano a 1000 Hz en todas las membranas timpánicas estudiadas. Los colores representan los diferentes sujetos evaluados. Notar que existe variabilidad en la amplitud del *peak* entre individuos, pero no la frecuencia del *peak* de 1000 Hz.

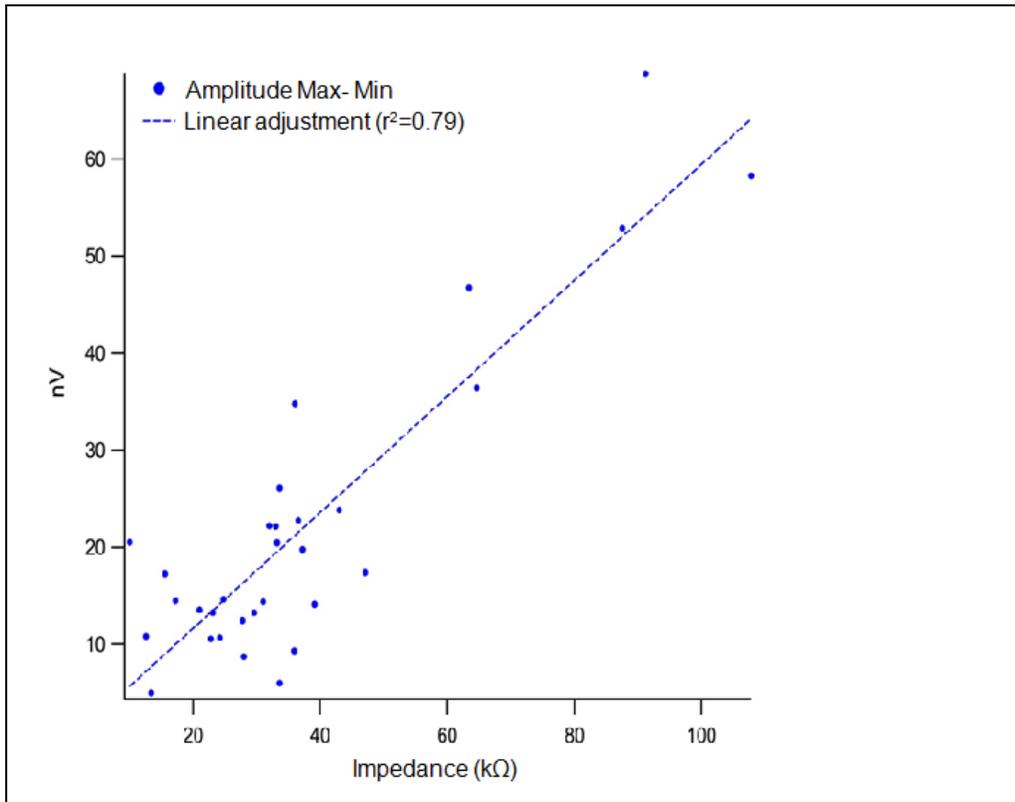


Figura 10. Correlación entre impedancia del registro y amplitud de la señal. Se observa una correlación directa, a mayor impedancia medida en el registro, mayor es la amplitud obtenida. Cada punto corresponde a un sujeto estudiado (n=31).

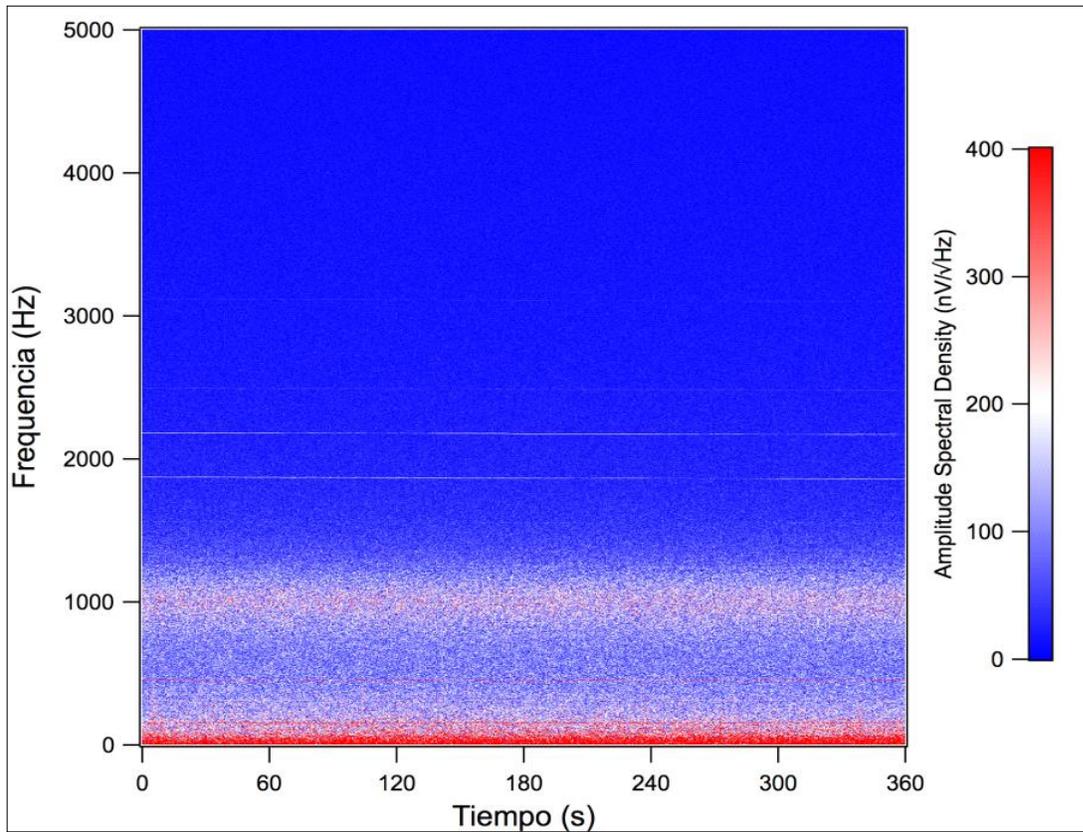


Figura 11. Espectrograma de tiempo/frecuencia. Registro que muestra el comportamiento de la señal registrada en un voluntario en el tiempo. En una ventana de tiempo de 360 segundos se observa como la señal se mantiene estable, con su peak en la frecuencia de 1000 Hz.

Para descartar posibles artefactos que originen el componente frecuencial a 1000 Hz, realizamos una serie de registros controles: (1) electrocardiograma, (2) electromiografía, (3) parpadeo y (4) movimientos oculares. Para descartar el origen electrocardiográfico de la señal, se buscó, sin encontrar el *peak* de 1000 Hz en un registro de muñecas tipo derivación D2 del electrocardiograma (Figura 12). El origen electromiográfico fue descartado evaluando el cambio espectral de la señal durante la contracción de ambos músculos maséters de la cara (Figura 13). Mientras que los artefactos producidos por los movimientos oculares y parpadeo también fueron descartados como posibles fuentes generadoras del *peak* de 1000 Hz (Figura 14).

Por otra parte, el nervio cuerda del tímpano, rama sensorial (gustativa) del nervio facial (VII par), se encuentra ubicado adyacente a la membrana timpánica, pasando justo por detrás de ella. Este nervio está constituido por fibras sensoriales que determinan el gusto de los 2/3 anteriores de la lengua y fibras parasimpáticas dirigidas a la glándula submandibular para la estimulación de la secreción salival. Es por esta razón, que se diseñó un experimento de estimulación gustativa de la cavidad oral con suero glucosado al 30%. Al administrar la solución glucosada, no se observan cambios estadísticamente significativos (Figura 15).

Además, evaluamos la rama sensitiva del nervio trigémino (V par) mediante un estímulo táctil con una tórula de algodón, en el tercio superior de la mitad de la cara ipsilateral al oído registrado, sin evidenciar cambios estadísticamente significativos en nuestro registro (Figura 16).

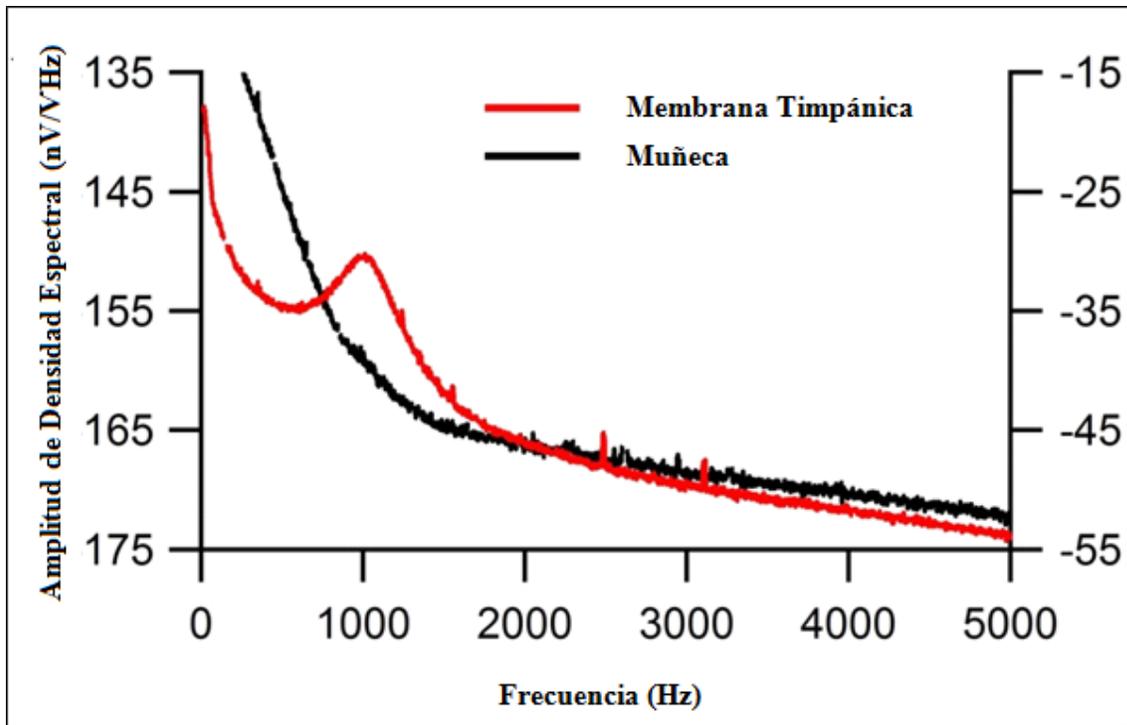


Figura 12. Registro timpánico vs registro de muñeca, tipo derivación D2 de electrocardiograma. Se realiza un registro de ruido eléctrico timpánico con un electrodo timpánico, donde se observa una elevación espectral en torno a 1000Hz (línea roja), lo que no se observa con un electrodo tipo derivación D2 de electrocardiograma en la muñeca (línea negra).

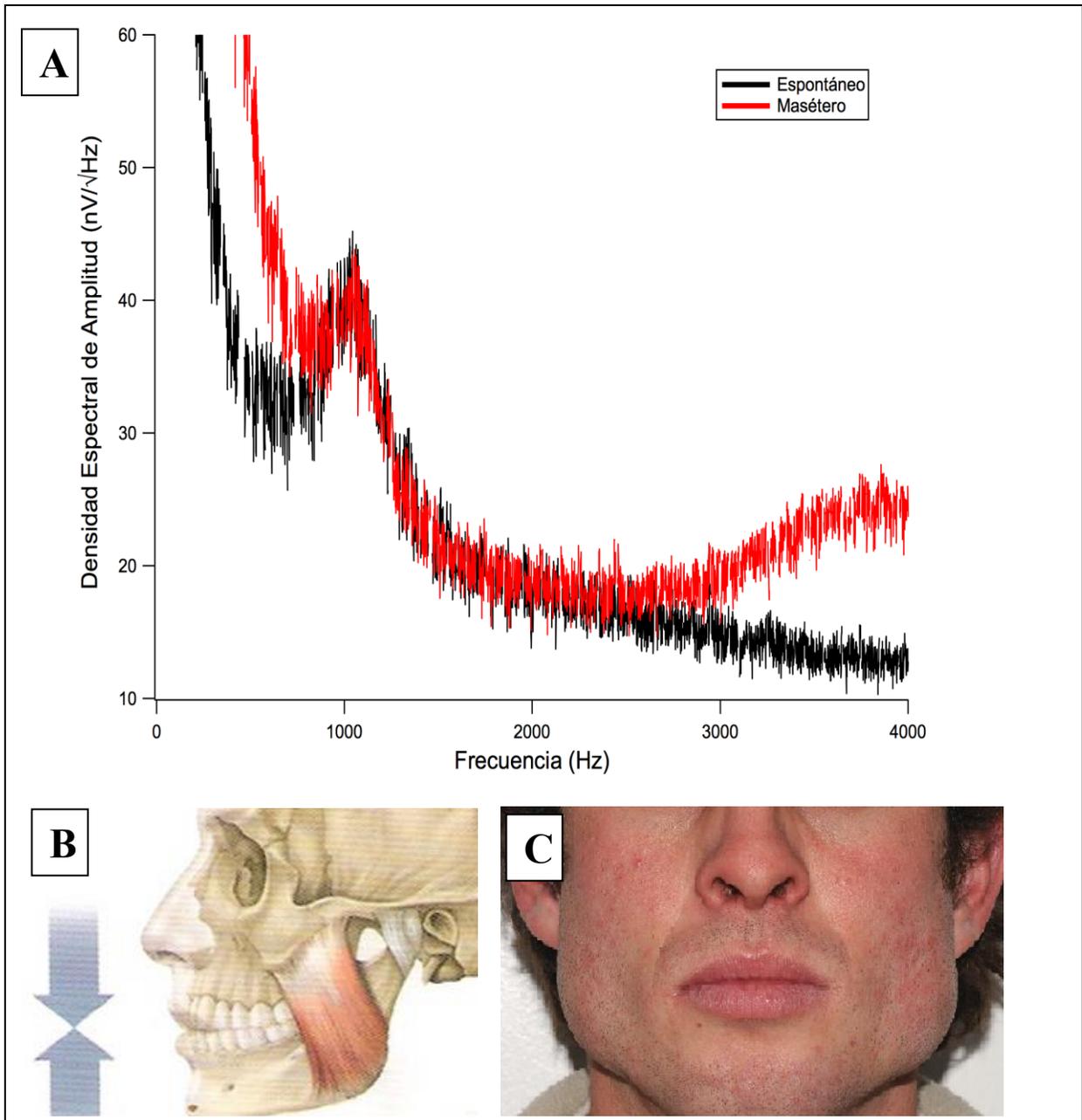


Figura 13. Influencia de la actividad muscular en el análisis espectral del ruido eléctrico timpánico. A. En ambos casos se observa el *peak* en 1000 Hz. Al contraer el músculo masetero se observa un aumento de la banda de frecuencias < 800 Hz. Esto se explicaría por la actividad electromiográfica asociada a la contracción muscular, que no influye en el *peak* de 1000 Hz. **B y C.** Imagen anatómica del músculo masétero y en actividad.

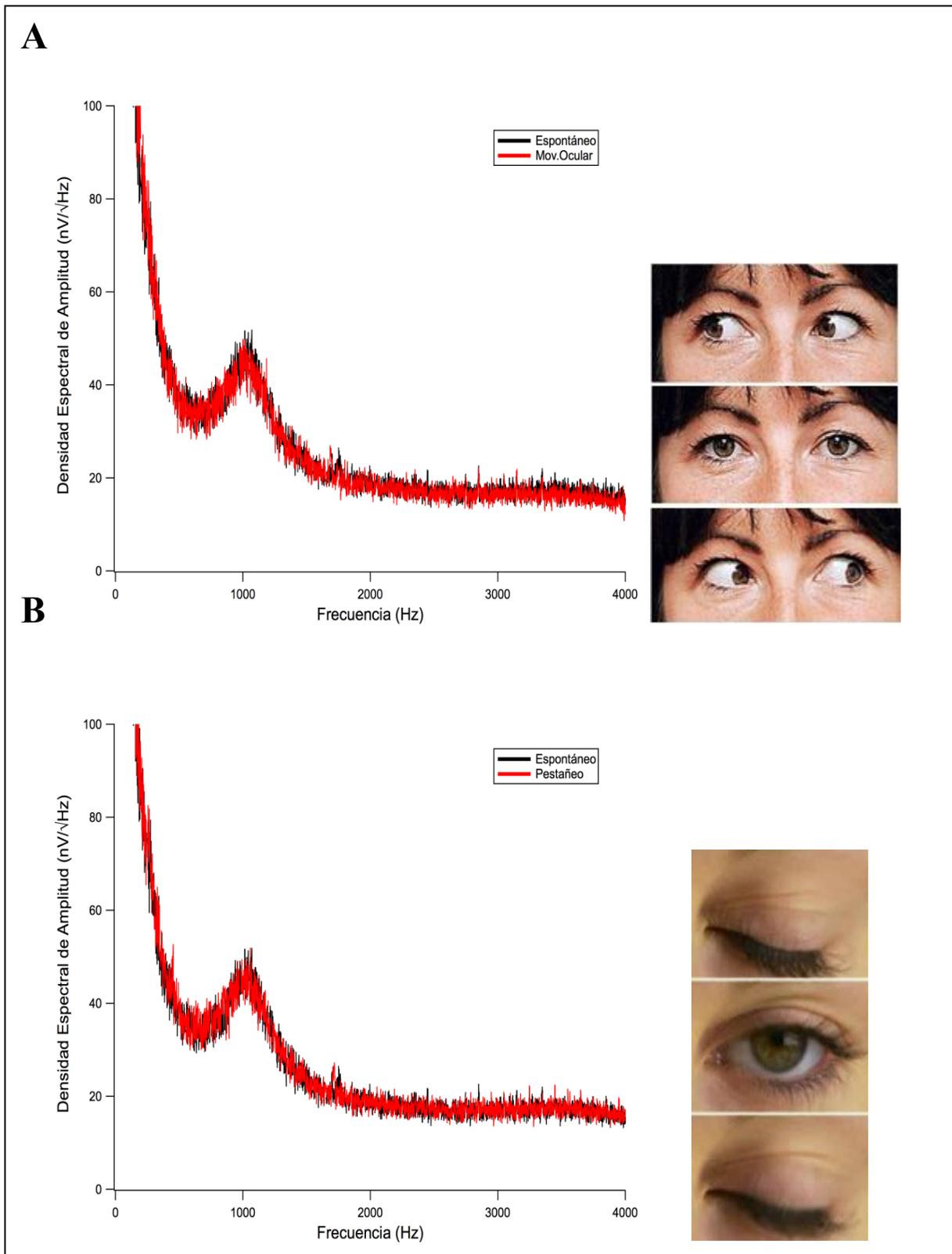


Figura 14. Influencia del movimiento ocular y parpadeo en el análisis espectral del ruido eléctrico timpánico. En ambos casos se observa el *peak* en 1000 Hz., que no se ve afectado por los movimientos oculares (**A**) ni por el parpadeo (**B**).

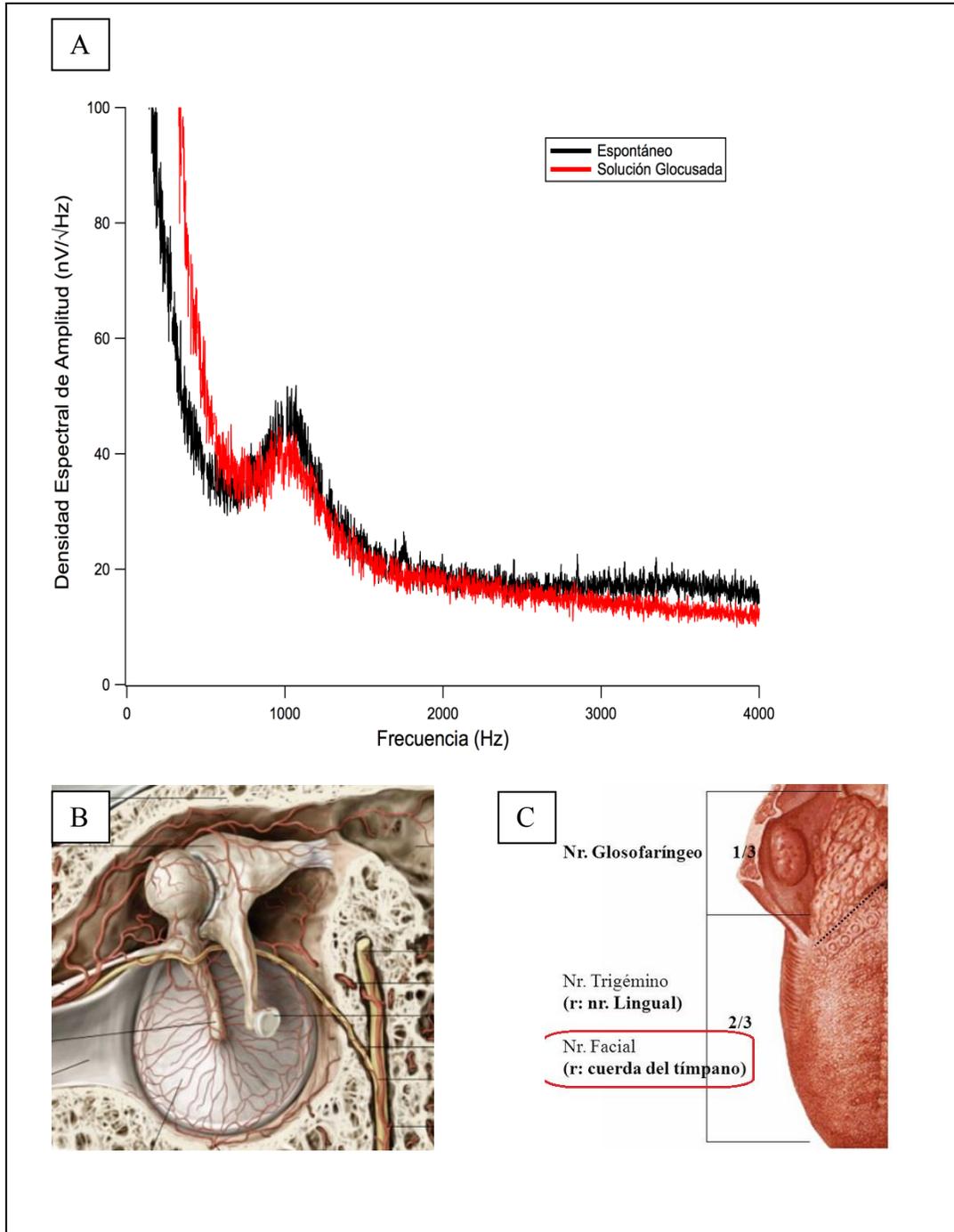


Figura 15. Estimulación del nervio cuerda del tímpano, rama sensorial del VII par.
A. No se observa cambios en el peak de 1000 Hz, tras la administración de solución glucosada al 30%, solo se ve un aumento de actividad <800 Hz similar al observado producto de la actividad electromiográfica del masetero. **B.** Nervio cuerda del tímpano. Cara medial de la membrana timpánica, Se aprecia su cercanía anatómica con el tímpano y huesos del oído medio, martillo y yunque. **C.** Este nervio conduce la información gustativa de los 2/3 anteriores de la lengua.

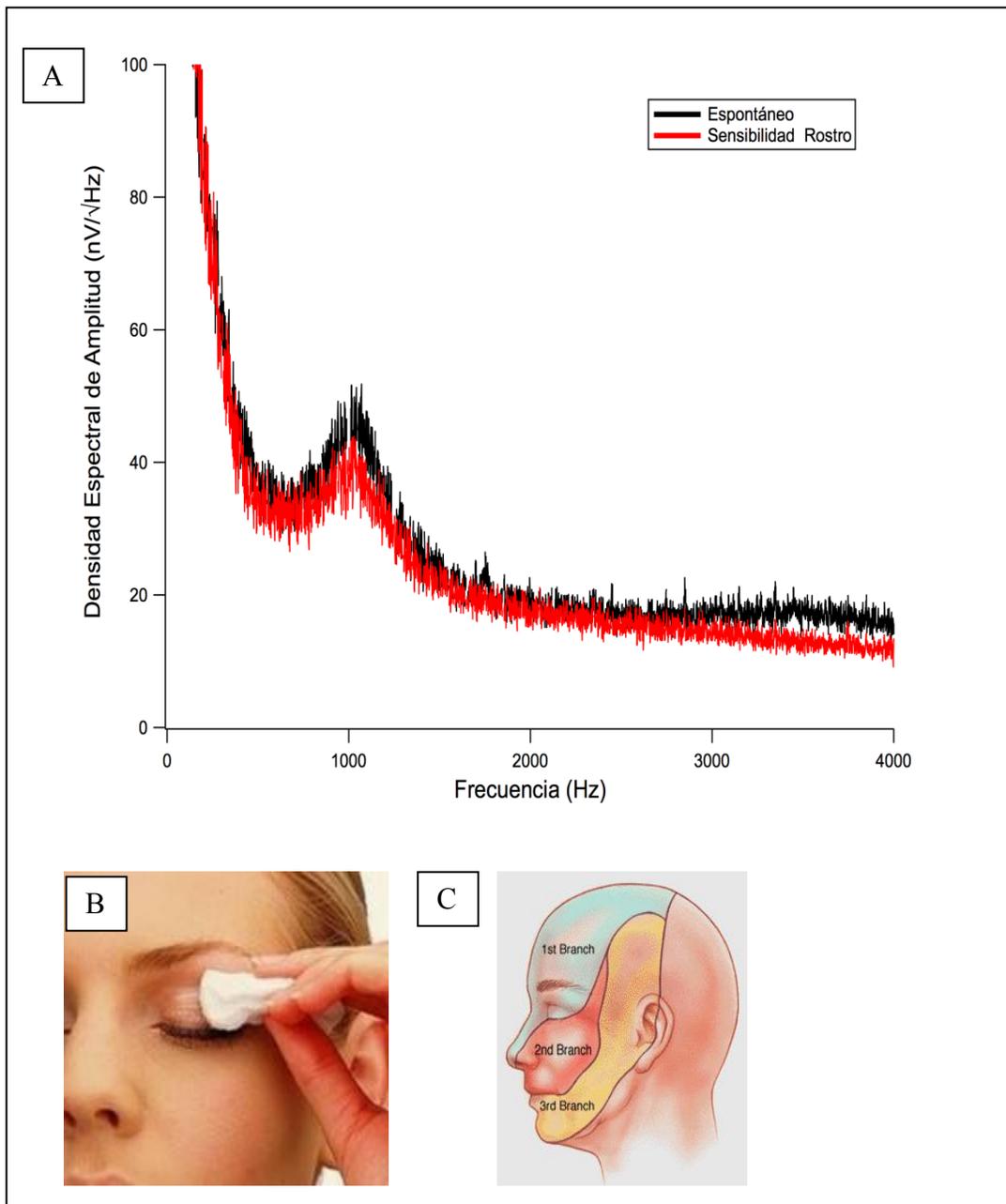


Figura 16. Influencia de la estimulación táctil del tercio superior de la cara, con una tórula de algodón y el análisis espectral del ruido eléctrico timpánico. A. No se observan cambios estadísticamente significativos del peak espectral en 1000Hz al estimular el nervio trigémino (V par). **B.** Estimulación con una tórula de algodón. **C.** Territorios de inervación sensitiva a nivel de la cara del nervio trigémino.

Estimulación auditiva

Para determinar el posible origen neural de la señal registrada en el tímpano, se diseñó un protocolo de estimulación auditiva que fue realizado a 16 sujetos. Incluyó estimulación auditiva ipsi y contralateral con ruido blanco filtrado mayor a 4 kHz en 11 sujetos normo-oyentes. Al realizar el análisis estadístico de la amplitud del peak espectral a 1000 Hz en silencio y con estimulación auditiva con ruido blanco con un pasa alto de 4000 Hz, se observó un cambio significativo de la amplitud en 9 de 11 sujetos (Mann-Whitney, $p < 0.05$) (Figura 17), que corresponden en 8 casos a aumentos de la amplitud (Figura 18) y en 3 sujetos a supresión de la amplitud del peak a 1000 Hz (hay 2 sujetos que tienen incrementos o reducciones, dependiendo de las características del estímulo auditivo) (Figura 19).

Por otra parte, en 3 sujetos utilizamos un protocolo de estimulación con tonos puros de 500, 2000 y 4000 Hz durante un minuto. En un sujeto se observó aumento de la amplitud de la señal para los tres tonos evaluados. En los otros dos sujetos se observó aumento significativo para 2 de los 3 tonos (Figura 20).

Con el objeto de determinar si algún artefacto electromagnético proveniente del sistema de estimulación auditiva fuese responsable de los cambios observados con fonos de inserción, se realizó en 2 sujetos estimulación con diapasones, de 128, 512, 2048 Hz, respectivamente, tanto por vía aérea como por estimulación ósea en el hueso mastoideo, donde también se observó aumento significativo de la amplitud de la señal. Cabe señalar, que fue excluido el diapason de 1024Hz, así como el tono de 1000 Hz, por ser una frecuencia muy similar a la frecuencia del ruido eléctrico timpánico estudiada, en torno a 1000 Hz.

Es importante destacar que al registrar con electrodos timpánicos obtuvimos potencial microfónico coclear en todos los sujetos evaluados (n=7) (Figura 21), así como potencial de acción compuesto del nervio auditivo (n= 15) (Figura 22), lo que confirma que podemos obtener respuestas auditivas “clásicas” con este tipo de electrodo.

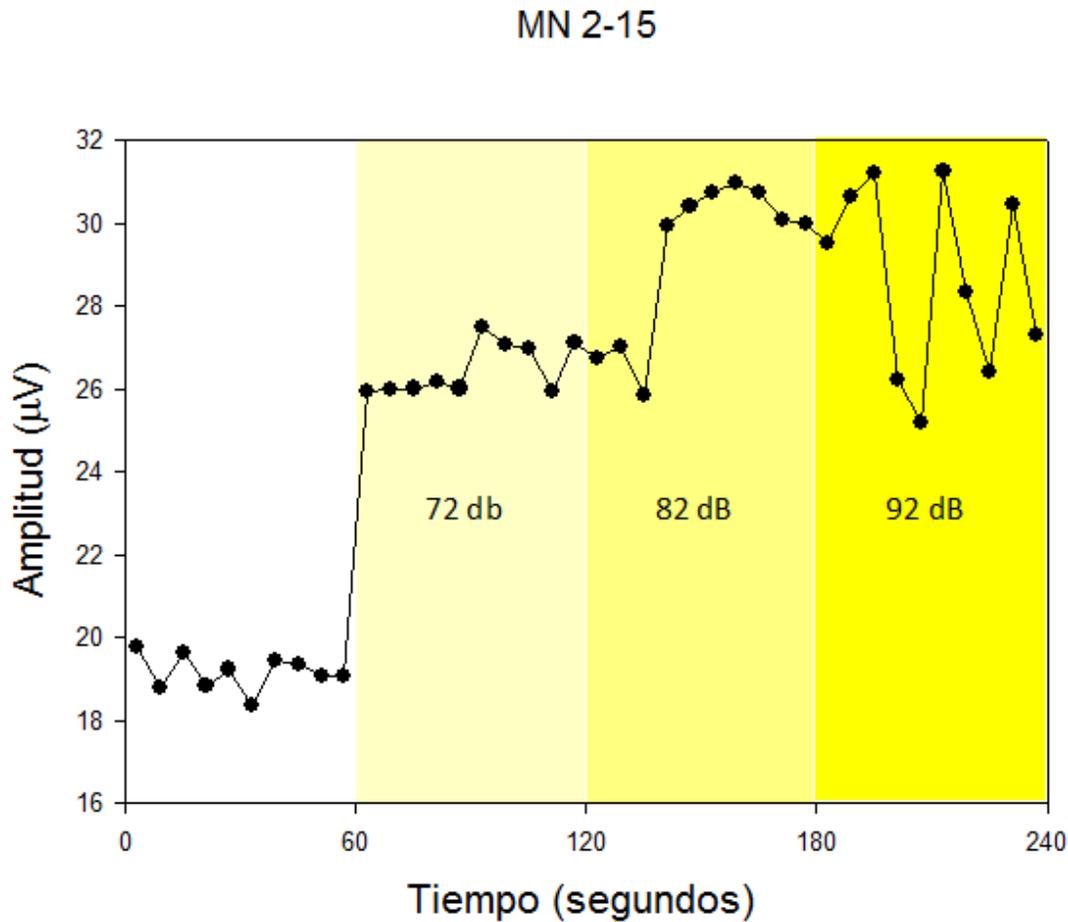


Figura 17. Estimación auditiva con ruido blanco filtrado. Ejemplo de un sujeto en el que se observa aumento de la amplitud del peak de 1000 Hz del ruido eléctrico timpánico con estimulación auditiva con ruido blanco filtrado con pasa alto a 4000 Hz a 72 dB, 82 dB y 92 dB SPL respectivamente. Kruskal Wallis, H: 21.951; $p < 0.001$.

Resumen general Ruido

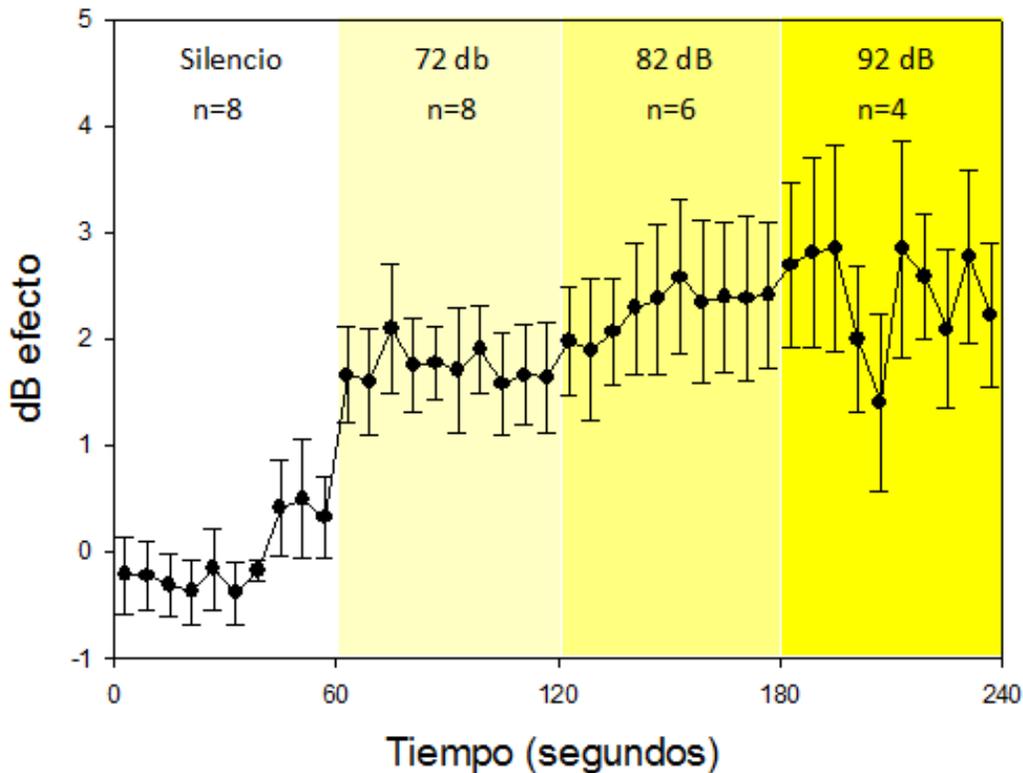


Figura 18. Resumen de la estimulación auditiva con ruido blanco filtrado con un pasa alto de 4000 Hz (n=8). En este gráfico se observa el efecto, en dB normalizados, del ruido sobre la amplitud del ruido eléctrico timpánico. Se grafican los promedios y las barras de error de los 8 sujetos evaluados. Se aprecia el aumento de la amplitud con ruido blanco a 72 dB y 82 dB y una pequeña caída en los 92 dB. Anova, $F_{(7)}: 216.581; p < 0.001$.

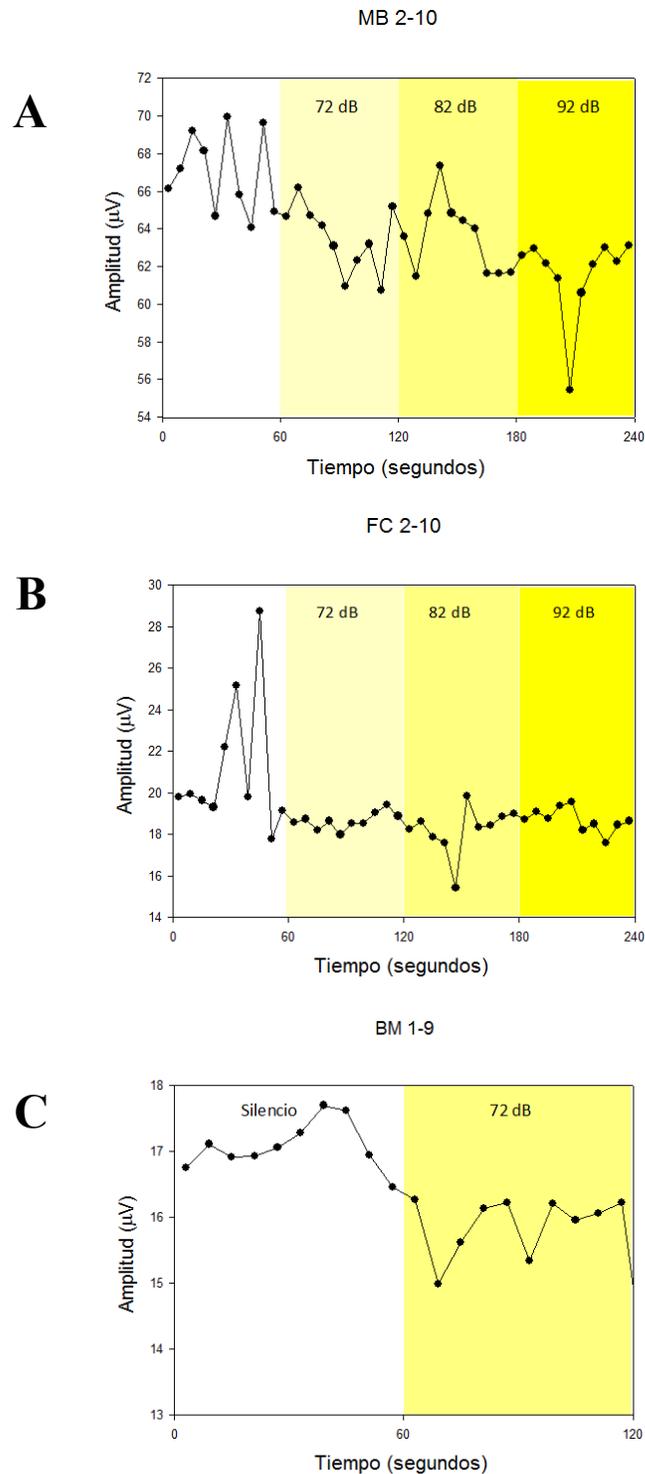
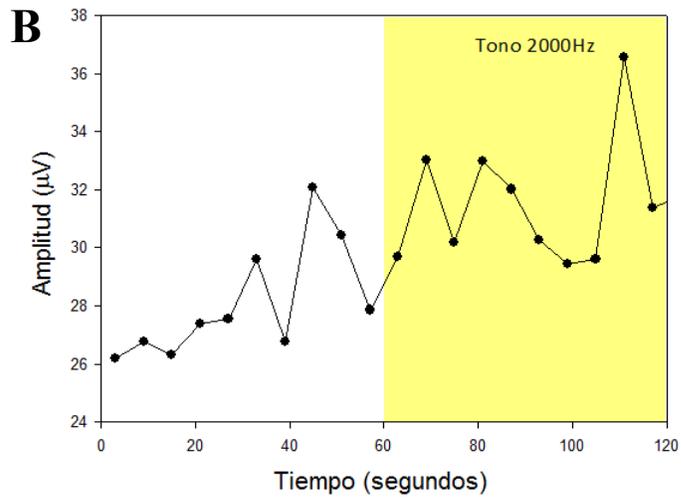
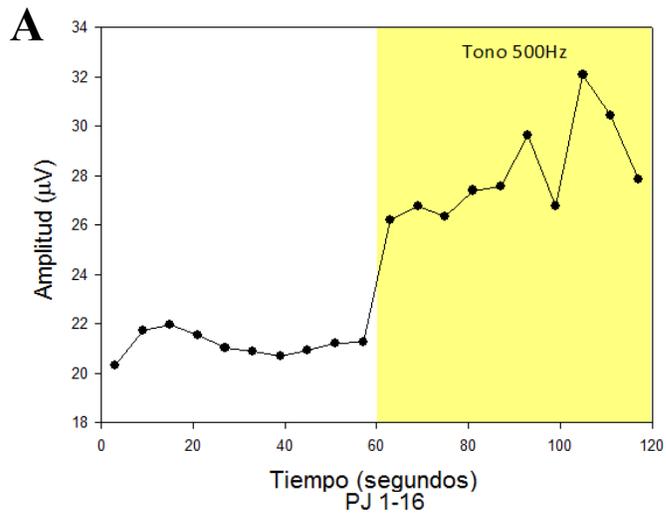
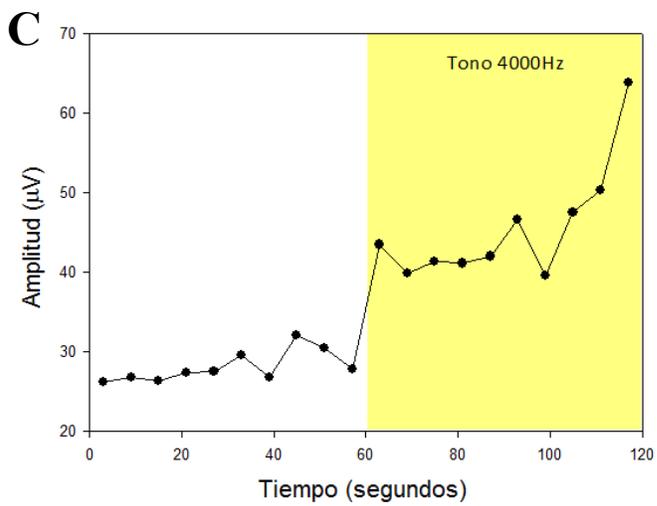


Figura 19. Estimulación auditiva con ruido blanco filtrado. Ejemplo de tres sujetos en los que se observa supresión de la amplitud del peak de 1000 Hz del ruido eléctrico timpánico con estimulación auditiva con ruido blanco. A, B estímulo a 72 dB, 82 dB y 92 dB SPL. Gráfico C, estímulo a 72 dB SPL. A: Anova, $F_{(10)}$: 26.793; $p < 0.001$. B: Mann-Whitney Rank Sum Test U: 63,000, $p = 0.007$. C: Kruskal Wallis, H: 15,000, $p < 0.001$.

PJ 1-13



PJ 1-19



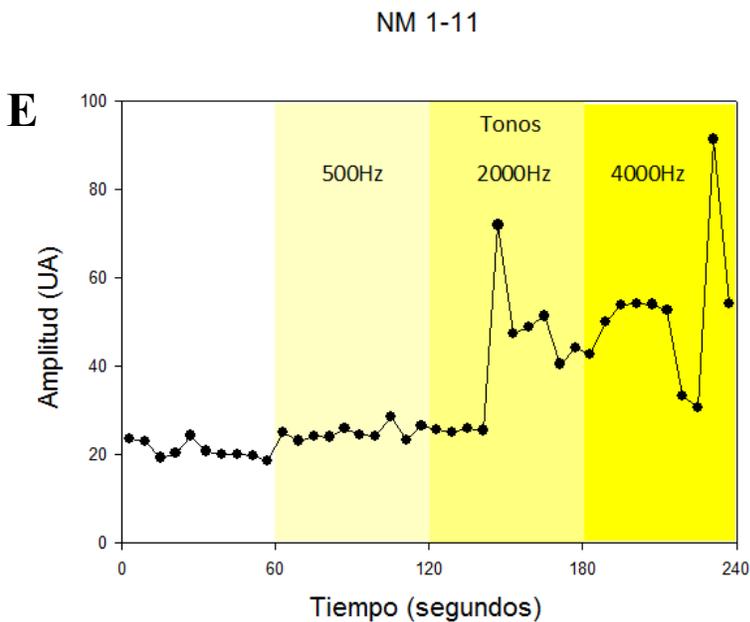
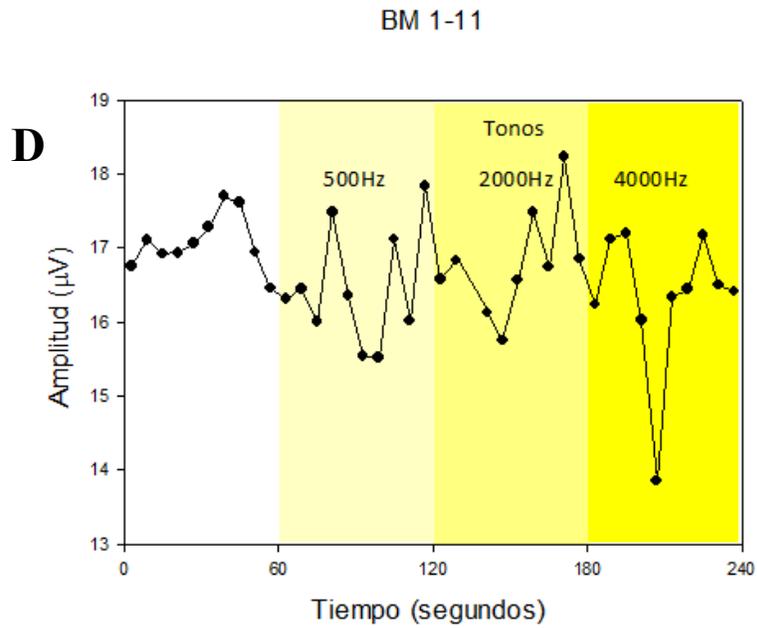


Figura 20. Estimulación auditiva con tonos. A, B, C. Corresponde al mismo sujeto en el que se observa aumento de la amplitud del peak de 1000 Hz del ruido eléctrico timpánico con estimulación auditiva con tonos de 500, 2000 y 4000 Hz. **D, E.** Dos sujetos en los que se observa aumento del peak de 1000 Hz del RET en 2 de los 3 tonos estudiados. A: Kruskal-Wallis, H: 14,286, $p < 0.001$. B: Kruskal-Wallis, H: 7,934, $p = 0.005$. C: Kruskal-Wallis, H: 14,286, $p < 0.001$, 1 grado de libertad. D: Kruskal-Wallis, H: 4,511, $p = 0,034$. E: Kruskal-Wallis, H: 19,950, $p < 0.001$.

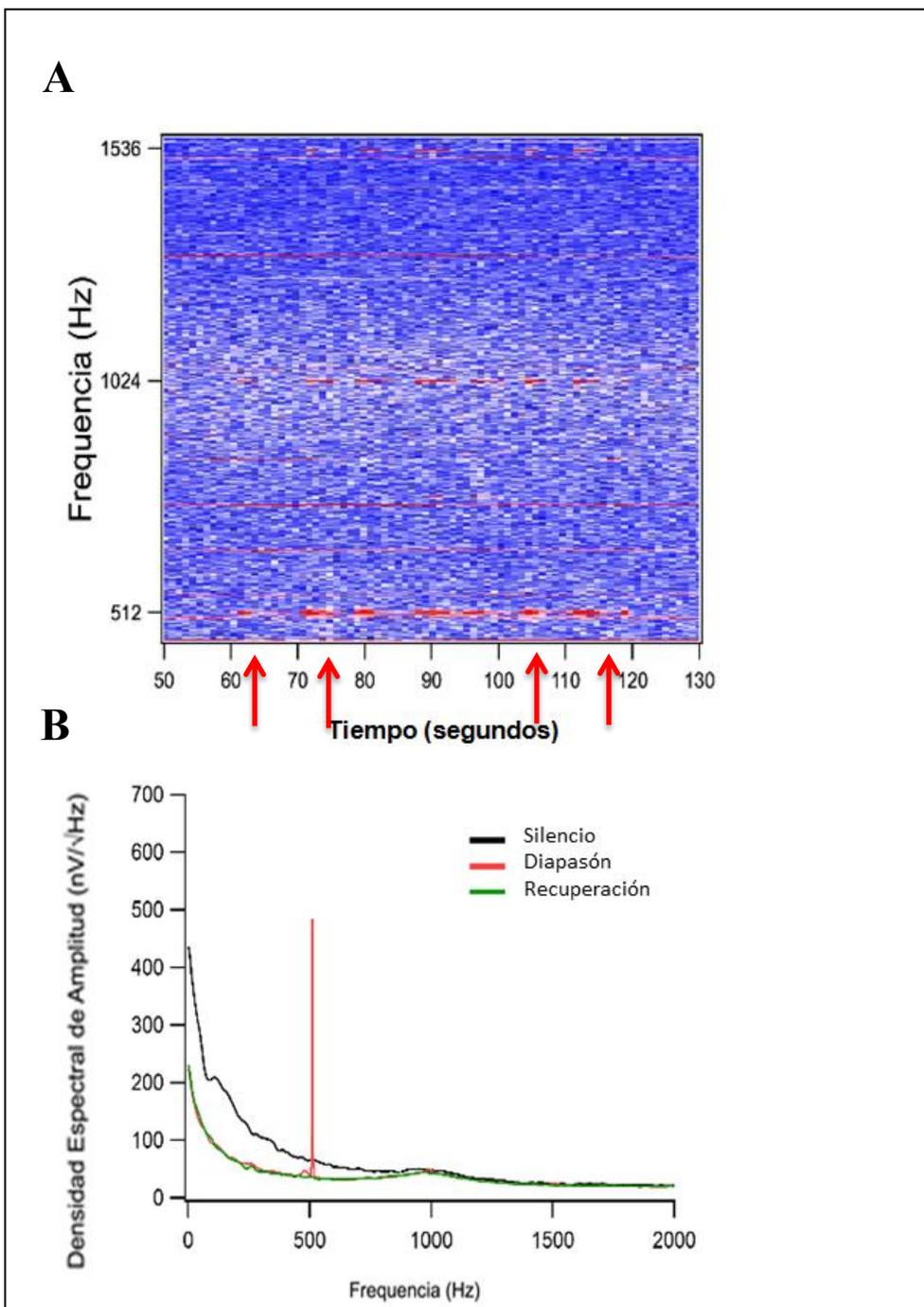


Figura 21. Potencial microfónico coclear en respuesta a estimulación con diapasón. En este ejemplo se muestra el espectrograma en el tiempo de la estimulación con diapasón de 512 Hz por vía aérea. **A.** En el panel superior se observa la microfónica en 512 Hz y sus armónicos en 1024 y 1536 Hz. Las flechas rojas en el registro, señalan los tiempos en que el diapasón es nuevamente estimulado, lo que concuerda con el aumento de la intensidad de la microfónica en el registro. **B.** En el panel inferior, la línea negra representa el registro base en silencio, con la elevación en 1000 Hz, en rojo el estímulo con el diapasón y la microfónica en el registro en 512 Hz y en verde el tiempo de recuperación.

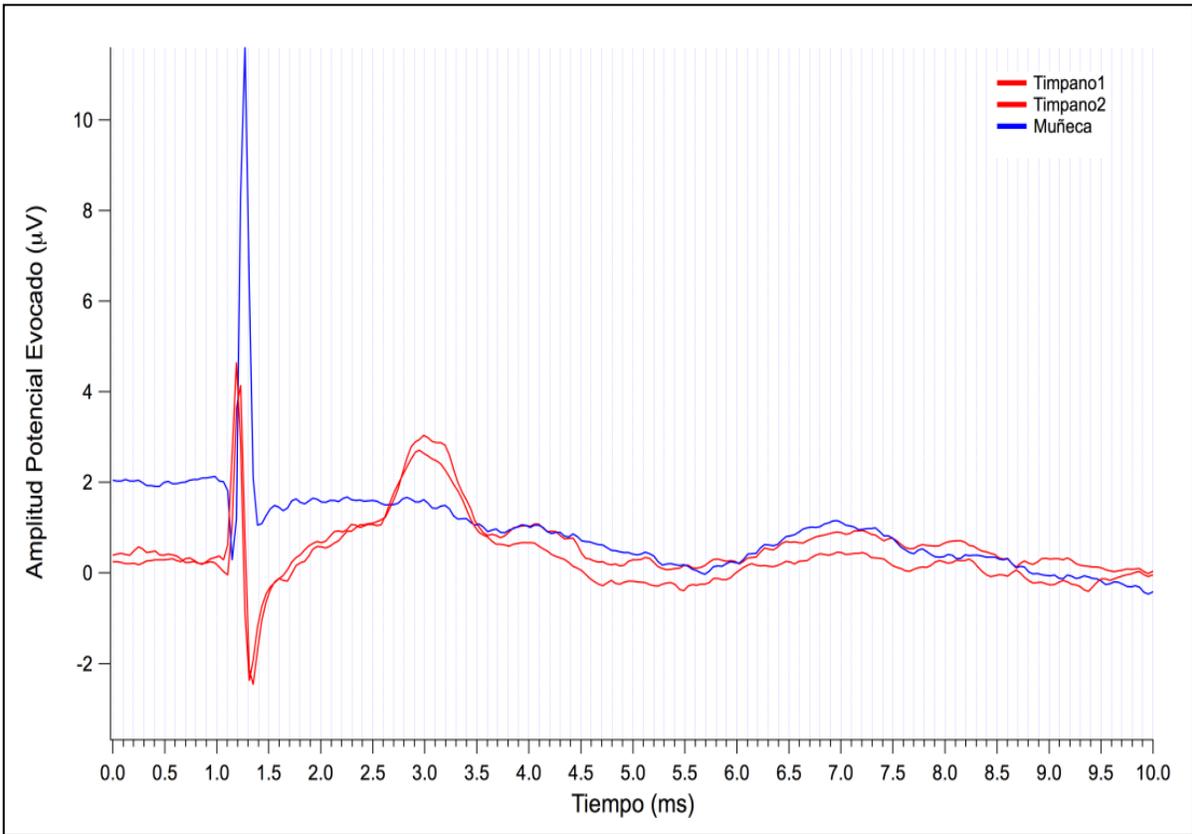


Figura 22. Potencial de acción compuesto del nervio auditivo. Ejemplo de curvas promedio en respuesta a 1000 clics. Se observa la actividad evocada entre 2,5 a 3,5 ms del potencial de acción compuesto del nervio auditivo, solo en los electrodos tímpanicos (en rojo, 2 pruebas en el mismo oído), el que no se observa en el electrodo de muñeca, en azul (entre 1,0 y 1,5 ms se observa el artefacto del clic).

Estimulación vestibular

Para evaluar la rama vestibular del VIII par, se utilizó un estímulo calórico con aire a 24°C y 49°C que se aplica en el conducto auditivo externo de los oídos a evaluar. Se midió además como control, la respuesta calórica a temperatura corporal normal (37° C). El examen fue realizado a un total de 8 sujetos. Se observó un aumento significativo de la señal de 1000 Hz tanto para la temperatura fría como caliente durante el periodo estimulado en todos los sujetos. Dicha señal que tiende a volver a valores basales en el periodo de recuperación (Figura 23 y Figura 24).

Al realizar el análisis estadístico, se observó, en todos los sujetos sin excepción, aumento significativo de la amplitud del ruido eléctrico timpánico (Mann-Whitney, $p < 0.05$) con ambas temperaturas (Figura 25). Al analizar el promedio de los 8 sujetos, queda claramente de manifiesto, el aumento de la amplitud de la señal para ambas temperaturas, al comparar el periodo basal, no estimulado, con el periodo estimulado (Figura 26). Es interesante señalar, que al comparar la diferencia espectral entre el periodo estimulado y el periodo basal para la estimulación calórica y la estimulación acústica, el estímulo calórico genera un incremento centrado en torno a 1000 Hz, en tanto el ruido de banda ancha muestra que el peak tiende a desplazarse hacia los 800 Hz (Figura 27).

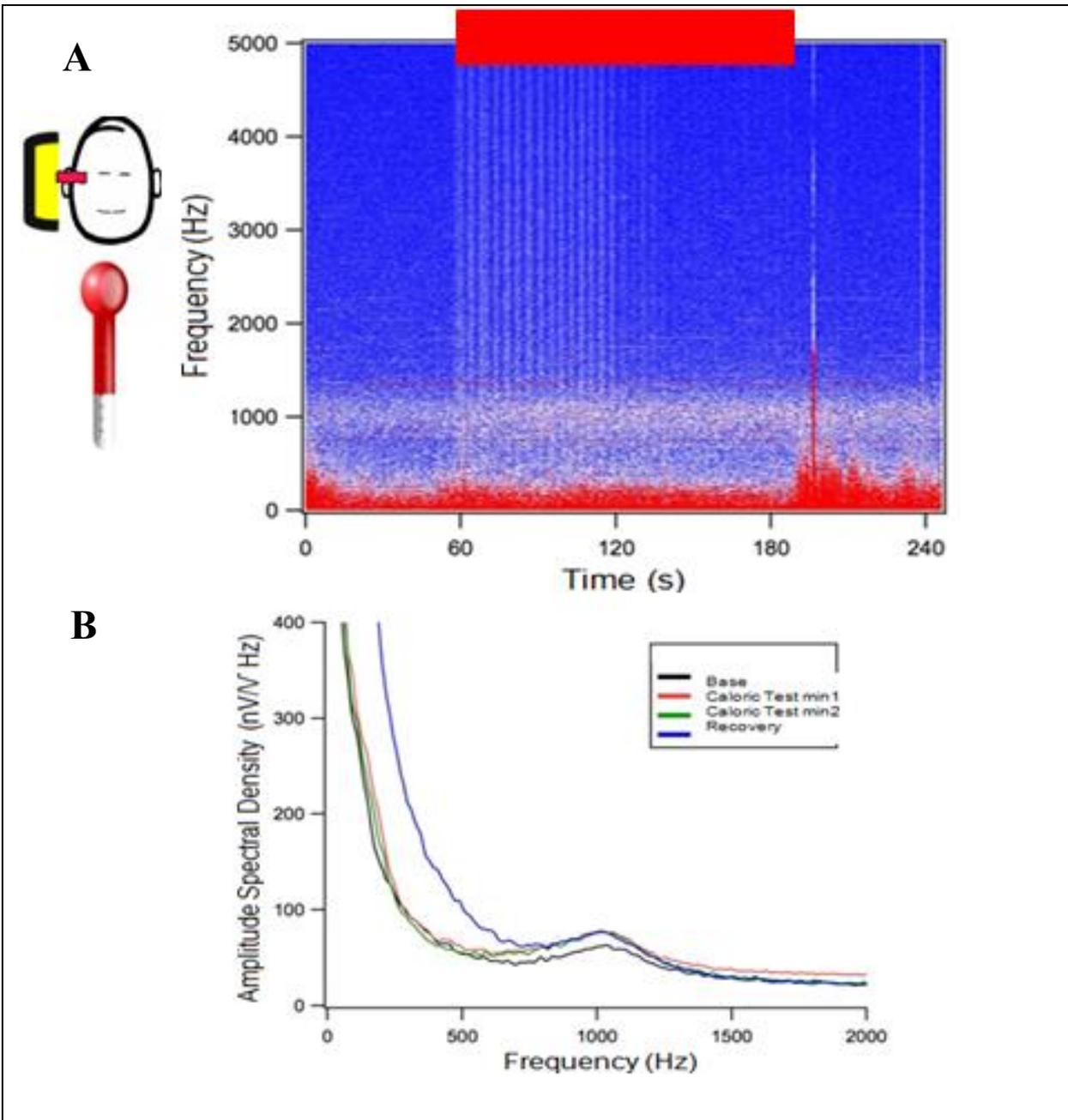


Figura 23. Prueba calórica, estímulo a alta temperatura (49°C). **A.** Estimulación vestibular mediante aire en el conducto auditivo derecho de un voluntario. Se produce aumento del *peak* de 1000 Hz en el oído estimulado. **B.** La línea negra representa el período basal, sin estímulo. En rojo y verde, 1° y 2° minuto de estimulación. La línea azul representa el período de recuperación. Note que en el período de recuperación hubo un incremento de bajas frecuencias, probablemente por activación muscular.

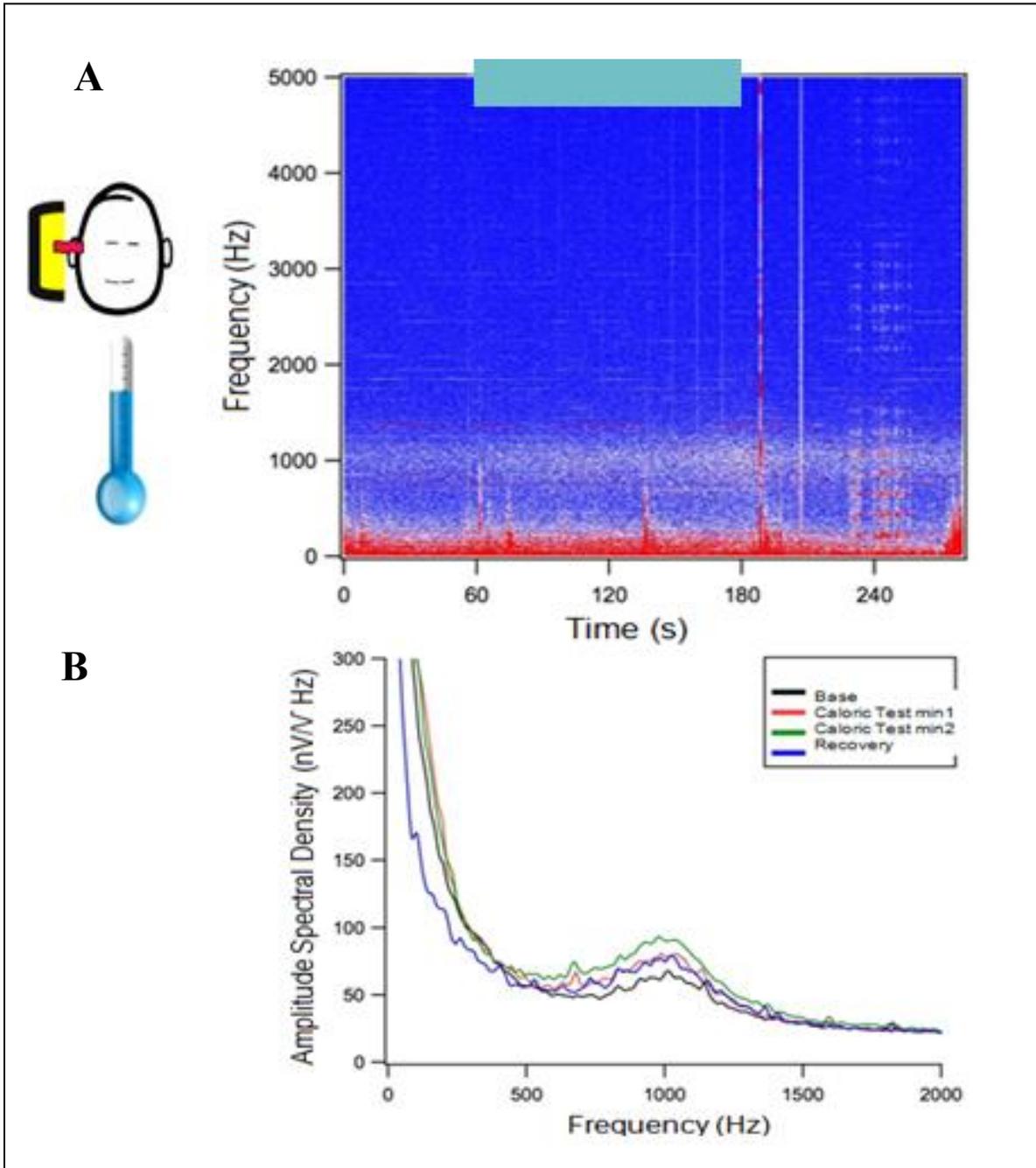


Figura 24. Prueba calórica, estímulo a baja temperatura (26°C). **A.** Estimulación vestibular mediante aire en el conducto auditivo derecho de un voluntario. Se produce aumento del componente de 1000 Hz en el oído estimulado. **B.** La línea negra representa el período basal, sin estímulo. En rojo y verde, 1er y 2do minuto de estimulación. La línea azul representa el período de recuperación.

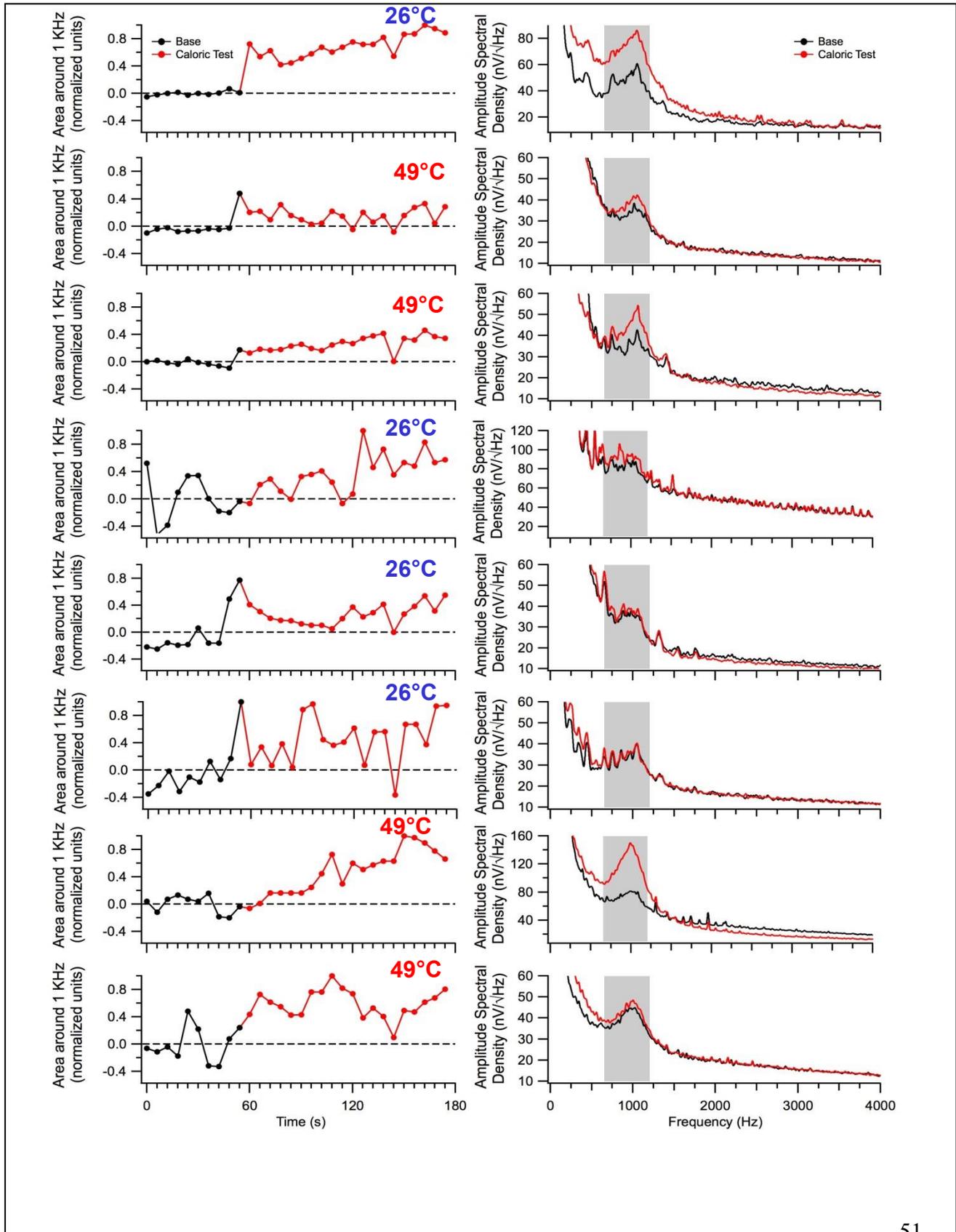
A**B**

Figura 25. A, B. Cambios en la amplitud del ruido eléctrico timpánico en 8 voluntarios durante la estimulación del canal auditivo con aire a diferentes temperaturas. Los trazados negros representan el primer minuto basal, sin estimulación. Los trazados rojos, el segundo y tercer minuto con estimulación calórica y los trazados azules el periodo de recuperación. En todos estos casos, el incremento de amplitud con el estímulo calórico fue significativo (Mann-Whitney Test, $p < 0.05$). Gráfico 1: Mann-Whitney Test, H: 29,881; $p < 0.001$. Gráfico 2: Mann-Whitney Test, H: 13,152; $p = 0.001$. Gráfico 3: Mann-Whitney Test, H: 21,148; $p < 0.001$; Gráfico 4: Mann-Whitney Test, H: 22,583; $p < 0.001$; Gráfico 5: Mann-Whitney Test, H: 10,447; $p = 0.005$. Gráfico 6: Mann-Whitney Test, H: 15,179; $p < 0.001$. Gráfico 7: Mann-Whitney Test, H: 18,680; $p < 0.001$. Gráfico 8: Test de Anova, $F_{(20)}$: 43,666; $p < 0.001$.

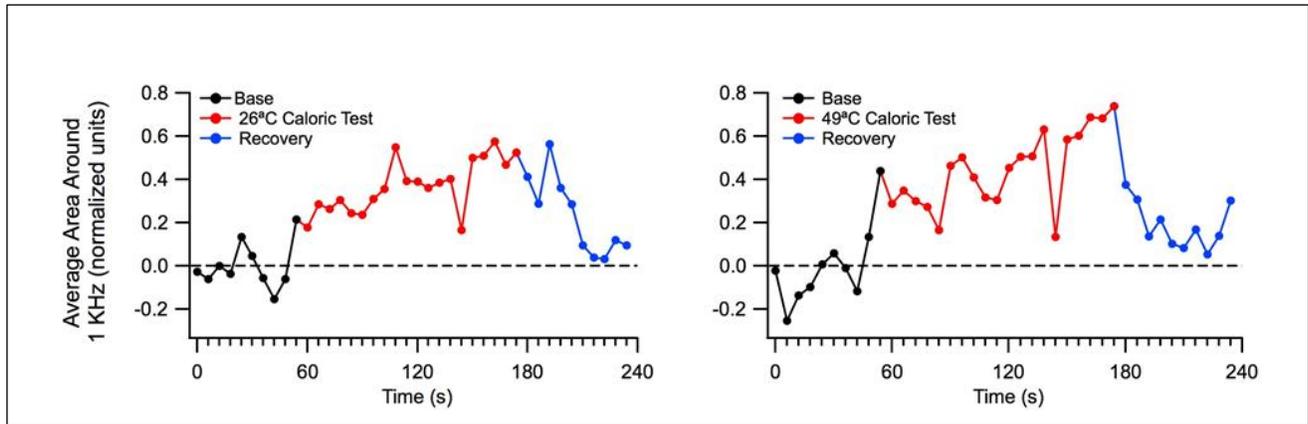
A**B**

Figura 26. A, B. Promedio de la estimulación calórica a 26°C y 49°C (n=8). Los trazados negros representan el primer minuto basal, sin estimulación, los trazados rojos, el segundo y tercer minuto con estimulación calórica y los trazados azules el periodo de recuperación. A: Test de Anova, $F_{(21)}$: 25,686; $p < 0.001$. B: Test de Anova, $F_{(20)}$: 32,818; $p < 0.001$.

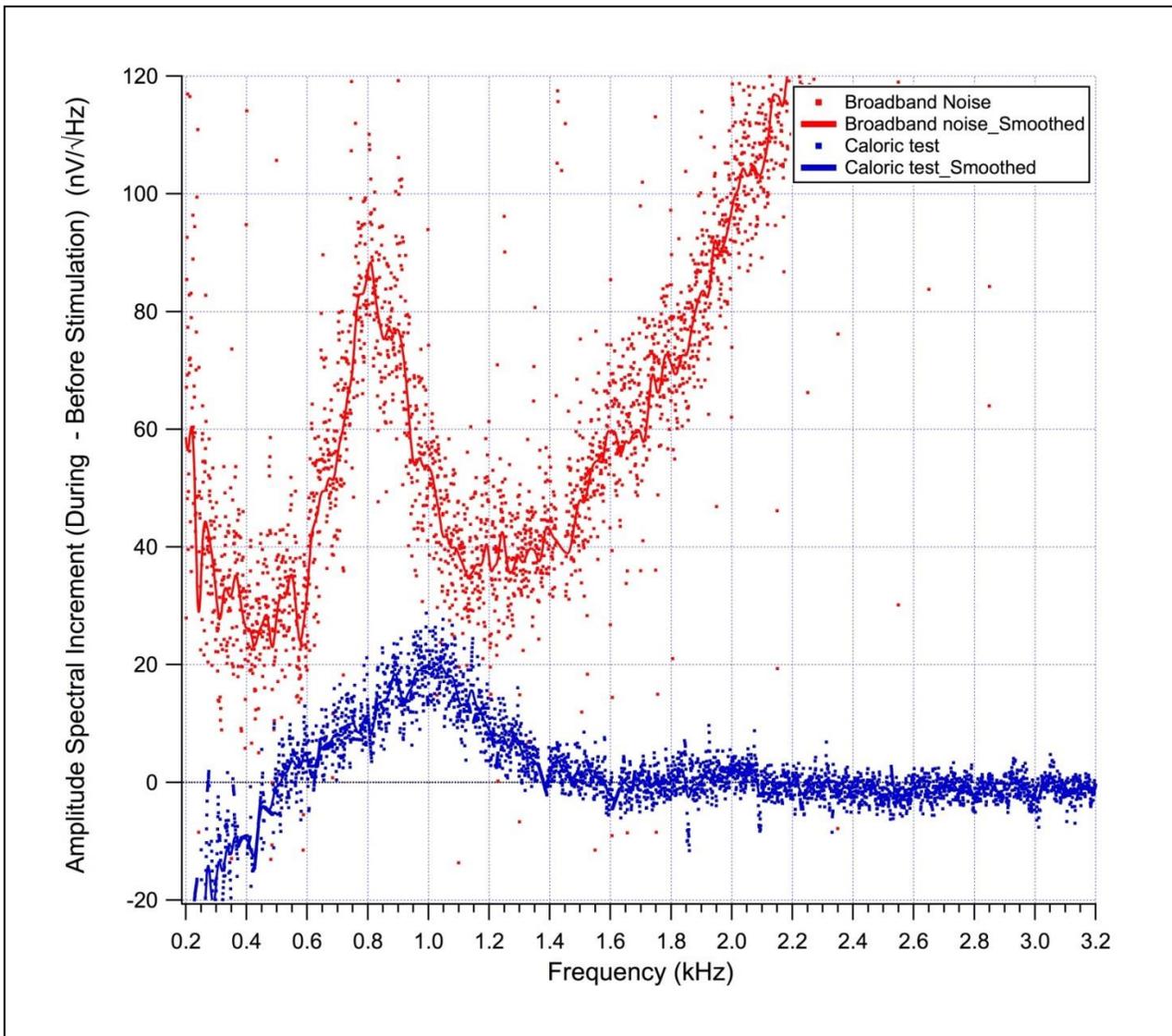


Figura 27. Diferencia espectral entre la estimulación acústica y calórica. Este gráfico muestra la diferencia espectral entre el período estimulado y el período basal para la estimulación calórica (en azul) y la estimulación acústica (en rojo). La estimulación calórica genera un incremento centrado en torno a 1000 Hz, en tanto el ruido de banda ancha, en este voluntario en particular, muestra un incremento en los 800 Hz. El aumento de la señal en otras frecuencias es una manifestación del potencial microfónico en respuesta al ruido.

DISCUSION

En esta tesis se registró y analizó por primera vez el ruido eléctrico timpánico en humanos, con electrodos en penacho no invasivos. Al analizar los componentes espectrales de este ruido en silencio, encontramos en todos los oídos estudiados un peak en torno a los 1000 Hz. Además demostramos que la amplitud de este peak se modifica con estímulos auditivos y vestibulares, lo que permite responder en forma positiva la hipótesis de esta tesis.

Caracterización del peak de 1000 Hz en el ruido eléctrico timpánico de humanos sin estimulación sensorial.

El primer resultado relevante, es que encontramos un peak cercano a los 1000 Hz al analizar los componentes frecuenciales del ruido eléctrico timpánico registrado con un electrodo apoyado en la membrana timpánica de sujetos normo-oyentes. Esto significa que la señal bioeléctrica del tímpano contiene información relevante y repetible entre los diversos sujetos estudiados. Más aún este hallazgo es de gran relevancia y originalidad, ya que hasta la fecha no existen publicaciones que describan el ruido eléctrico de la membrana redonda en seres humanos, que sólo había sido descrito en estudios animales (Searchfield y cols., 2004; Sendowski y cols., 2006).

La estandarización de la técnica de registro (Figura 3), y los métodos utilizados para limpiar la señal y extracción del ruido de origen biológico (Figura 8) y posterior interpretación, son un aporte original al conocimiento actual del tema. Esto debido a que estamos frente a una señal del orden de magnitud de decenas de nanovolts, por lo que al ser tan pequeña es difícil su adquisición, así como aislarla del ruido ambiente y otros ruidos de origen biológico.

De los 31 sujetos registrados (45 oídos o tímpanos) se obtuvo en todos, sin excepción, un peak espectral en torno a 1000 Hz de frecuencia a partir del RET en (Figura 9). Sin embargo, evidenciamos, que existía gran variabilidad en la magnitud de la señal entre los diferentes sujetos. Al analizar a que se debía esta variabilidad interindividual, nos dimos cuenta que se relacionaba directamente con la impedancia eléctrica de los electrodos utilizados, así a mayor impedancia, mayor es la amplitud de la señal registrada (Figura 10). Este hallazgo no había sido descrito previamente en la literatura de estudios con animales. Probablemente esto se deba a que el electrodo timpánico cubre una pequeña área de contacto, como es la membrana timpánica, que posee en el ser humano un diámetro aproximado de 10 mm, un área promedio de 69 mm^2 y un área vibrante efectiva de 43 mm^2 . Así, registros en áreas más localizadas generan una mayor impedancia, lo que se asemeja a un filtro pasa bajo de frecuencias, por lo que probablemente favorece el registro de las frecuencias de interés en torno a 1000 Hz. Al evaluar la estabilidad del peak de 1000 Hz en el tiempo, mediante un espectrograma de tiempo/ frecuencia (Figura 11), se observó que la amplitud y frecuencia del peak de 1000 Hz se mantiene en el lapso de 360 segundos, sin observar mayores variaciones.

De esta forma, se puede concluir que a partir del ruido eléctrico timpánico de humanos, cuya magnitud está en el orden de los nanovolts, se puede obtener un peak en torno a los 1000 Hz de manera confiable en todos los voluntarios registrados, y que si bien esta señal posee variabilidad interindividual, su magnitud y frecuencia se mantiene en el tiempo.

Diferencias entre el ruido eléctrico de ventana redonda y del tímpano

Según lo descrito en la literatura, en relación al ruido eléctrico de ventana redonda registrado en cobayos, este se obtiene a partir de un electrodo en el nicho de la ventana redonda y correspondería a la actividad eléctrica aleatoria y espontánea de neuronas del nervio auditivo (Dolan y cols., 1990). Se ha demostrado que la señal de ventana redonda es de origen biológico, ya que tiene un peak espectral cercano a 900 Hz que se pierde al buscarla en animales post mortem (ver ejemplo de Figura 1). Los diversos trabajos realizados en cobayos sugieren que se originaría en la actividad espontánea de las neuronas del nervio auditivo, las cuales de forma independiente y en un ambiente silencioso descargan potenciales de acción (lo que explica el peak cercano a 900 Hz) (Dolan y cols., 1990; Searchfield y cols., 2004)

En los registros obtenidos en humanos en esta tesis, la principal diferencia (además de la especie), es que la señal no fue medida en el nicho de la ventana redonda, sino, a nivel de la membrana timpánica, de esta forma en esta tesis nos referimos al ruido eléctrico timpánico y no al de ventana redonda. Esto puede tener implicancias en que las fuentes de origen de los peaks y los componentes frecuenciales (900 y 1000 Hz para RWN y RET respectivamente) sean distintos.

Los componentes frecuenciales del peak espectral del ruido de la ventana redonda según los trabajos realizados en cobayos se encuentran entre los 800-1000 Hz (Dolan y cols., 1990) (Figura 1) similar al peak espectral que se obtiene al evaluar los potenciales de acción de neuronas individuales del nervio auditivo (Kiang, 1976). De esta forma la descarga espontánea de las fibras del nervio auditivo es considerada la fuente de origen del ruido eléctrico obtenido de la ventana redonda. Por otra parte, el peak espectral de la señal registrada en silencio en la membrana timpánica

en humanos está centrado en torno a 1000 Hz, lo que es similar a lo descrito en mamíferos pequeños. Sin embargo, ya que anatómicamente la ventana redonda y la membrana timpánica se encuentran separadas, no podemos suponer directamente que el ruido eléctrico timpánico de humanos también se genere del nervio auditivo.

Posibles fuentes de origen del peak de 1000 Hz del ruido eléctrico timpánico

Decidimos evaluar las posibles fuentes de origen del ruido eléctrico timpánico, incluyendo fuentes neurales (nervio auditivo, vestibular, facial y trigémino) y otras fuentes no neurales de ruido eléctrico como la actividad electrocardiográfica y electromiográfica.

Al evaluar un registro con derivación electrocardiográfica tipo D2 con electrodos en muñeca, no se observa el peak frecuencial en torno a los 1000 Hz (Figura 12). Además se evaluó la posible contribución de la actividad electromiográfica mediante la contracción del músculo masetero, el cual es un musculo masticatorio de la cara, muy cercano a la zona de registro de interés. Se observó un aumento de la banda de frecuencias < 800 Hz, pero no influye en el *peak* de 1000 Hz. (Figura 13). Este hallazgo está en línea con lo descrito por Patuzzi y colaboradores en un estudio con animales, en el que realiza registro de ruido eléctrico de membrana redonda junto con parálisis de los músculos del cuello, lo que afecta el espectro de frecuencia hasta los 300-400 Hz, pero no el peak en torno a 1000 Hz (Patuzzi y cols., 2003).

Se analizó además, si los movimientos oculares y parpadeo eran una posible fuente de origen del peak de 1000 Hz. Esto debido a que el parpadeo es un artefacto habitual en los registros de electroencefalograma, por lo que es importante de descartar. Sin embargo, se vio que dichos movimientos no alteran la señal en torno a

1000 Hz, por lo que se descartan como fuente de origen o artefacto (Figura 14).

Luego de descartar como fuente de origen la actividad electrocardiográfica y electromiográfica, se buscaron fuentes de origen neural. Al realizar el análisis anatómico de los nervios cercanos a la zona de registro (la membrana timpánica), se diseñaron protocolos para el estudio de los siguientes nervios: nervio auditivo, tanto su rama coclear como vestibular, esto principalmente debido a que el origen descrito para el ruido eléctrico de la ventana redonda en mamíferos pequeños es el nervio auditivo. Así mismo, se estudió el nervio trigémino, V par craneal, que da la sensibilidad a los dos tercios superiores de la cara y el nervio cuerda del tímpano, rama sensorial del nervio Facial (VII par). El protocolo para estudio del nervio trigémino, consistió en estimular durante un minuto con una tórula de algodón los dos tercios superiores de la cara, sin evidenciar cambios significativos en el peak de 1000 Hz. (Figura 16). Así mismo, se evaluó el nervio cuerda del tímpano al administrar al voluntario solución glucosada al 30% en la cavidad oral, que tampoco provocó cambios en nuestra señal (Figura 15).

Cambios de amplitud y frecuencia del peak de 1000 Hz del ruido eléctrico timpánico por estímulos auditivos.

La evaluación de la rama coclear del nervio auditivo, se realizó mediante la estimulación auditiva con ruido blanco filtrado (>4000 Hz), tonos puros (500, 2000 y 4000 Hz) y diapasones (128, 512 y 2048 Hz), a un total de 16 sujetos. La exposición a ruido blanco filtrado generó cambios en la magnitud del peak de 1000 Hz del ruido eléctrico timpánico en 9 de los 11 sujetos evaluados. En 8 de los cuales provocó aumento de la amplitud de la señal, como fue claramente evidente en el ejemplo indivi-

dual mostrado en la Figura 17 y en el promedio general de estos casos en la Figura 18. Por otra parte, en 3 sujetos generó un efecto de supresión, con disminución de la amplitud de la señal (considerando que en 2 sujetos hubo reducción o aumento del peak de 1000 Hz, dependiendo del oído estudiado).

Al aplicar un ruido de banda ancha (similar a ruido blanco) para evaluar la dependencia auditiva de la señal en animales, se observa un aumento progresivo de la magnitud del RWN a 900 Hz, siendo este incremento exponencial a mayor intensidad de sonido, de 10 a 50 dB. (Sendowsky y cols., 2006). Esto es similar a los resultados que encontramos en el peak de 1000 Hz del RET en humanos y su respuesta ante el ruido blanco filtrado, donde se observa aumento progresivo de la amplitud de la señal a mayor intensidad de sonido, que solo tiende a caer parcialmente al exponer a los sujetos al umbral de discomfort auditivo (92 dB SPL) (Figura 18).

En relación a los efectos de supresión, observados en 3 sujetos tras la aplicación de ruido blanco filtrado (Figura 19), la hipótesis que explicaría este efecto en animales es equivalente a la supresión reportada por dos tonos en un único registro unitario desde el nervio auditivo (Pfeiffer y cols., 1971). En estos casos, la supresión de tonos se genera por interacción mecánica no lineal a nivel coclear, en que la respuesta vibratoria de la membrana basilar a un tono se ve disminuida por la presencia de un segundo tono presentado simultáneamente a otra frecuencia (Ruggero y cols., 1992). Por otra parte los efectos de supresión del RWN observados con la estimulación con ruido blanco contralateral, se deben presumiblemente a la activación de las fibras olivococleares mediales (Lima da Costa y cols., 1997; Popelar y cols., 2001). No sabemos con certeza, cual es la explicación para este efecto encontrado en 3 sujetos, sin embargo en dos de ellos esto se observó en el oído contralateral, tal vez

explicado por activación del haz olivococlear medial.

En relación a la estimulación con tonos puros, experimentos realizados en animales muestran que los tonos puros pueden suprimir o aumentar los componentes espectrales del peak de 900 Hz del RWN, dependiendo de la frecuencia y la intensidad utilizada (Searchfield y cols., 2004). Estos cambios son complejos, así a bajas frecuencias (5 a 20 kHz) se produce supresión del RWN que se satura a altas intensidades, mientras que a frecuencias intermedias (25 a 30 kHz) se produce un efecto complejo nivel-dependiente, y a altas frecuencias (30 a 35 kHz) se genera un incremento de la amplitud del RWN (Dolan y cols., 1990). Dado este antecedente y teniendo en consideración que el espectro frecuencial de la cóclea de humanos difiere a la de cobayos, es que no se puede homologar perfectamente la respuesta encontrada en humanos con lo reportado previamente en cobayos, sin embargo es sabido que la respuesta es compleja y frecuencia e intensidad dependiente como observamos en los tres sujetos evaluados.

Por otra parte, al analizar el efecto generado, se observa, que en condiciones de silencio la magnitud del ruido eléctrico timpánico está en torno a los 20 a 25 μV y que al presentarse el estímulo auditivo aumenta en forma significativa, llegando al orden de 30 a 35 μV en forma progresiva a 72 dB y 82 dB, lo que llevado a dB de efecto normalizado, da un efecto de 3 a 4 dB en el gran promedio de los 8 sujetos (Figura 18). Dicha señal cae al aumentar la intensidad de sonido a 92 dB SPL, lo que podría deberse a la activación del umbral del reflejo de oído medio, conocido como reflejo acústico o estapediano. Este es un arco reflejo que se activa con sonidos de 85 a 100 dB, sobre el umbral auditivo y que busca proteger al oído interno de un potencial daño secundario a sonidos intensos. Cuando el oído se ve expuesto a ruidos

intensos, se activa el reflejo estapediano cuya vía aferente viaja por el nervio auditivo, y cuya vía eferente es a través del nervio estapedial, rama motora del nervio facial, que inerva el músculo del estribo, el que se contrae rigidizando la membrana timpánica y la cadena de huesecillos, disminuyendo así la energía vibratoria que llega al oído interno.

En resumen, los estímulos auditivos provocan cambios significativos de amplitud del peak de 1000 Hz del ruido eléctrico timpánico. Sin embargo estos cambios son diversos e incluyen reducción e incrementos de amplitud, dependiendo de la frecuencia y presión sonora utilizada.

Cambios de amplitud y frecuencia del peak de 1000 Hz del ruido eléctrico timpánico por estímulos vestibulares.

La estimulación de la rama vestibular del nervio auditivo en forma clínica se realiza habitualmente a través de la prueba calórica de Fitzgerald-Hallpike (Hallpike, 1955), examen mediante el cual se estimula al canal semicircular horizontal, innervado por el nervio vestibular superior, mediante un estímulo calórico ya sea con agua (a 30° y 44° C) o aire (a 24° y 49° C). En un paciente sin alteración del sistema vestibular, la respuesta esperada es de tipo excitatoria para la temperatura caliente, que se evidencia con nistagmo o movimientos oculares que se dirigen hacia el oído estimulado y de tipo inhibitoria con temperatura fría, lo que determina movimiento ocular que se aleja del oído irrigado.

Realizamos estimulación calórica con aire a 8 sujetos, tanto con temperatura fría como caliente, y encontramos un aumento de la amplitud del peak de 1000 Hz del ruido eléctrico timpánico durante el periodo de estimulación, que lentamente

vuelve a valores basales durante el periodo de recuperación (Figura 25, Figura 26)

Este hallazgo nos plantea una clara interrogante: si asumimos que el estímulo calórico a alta temperatura es considerado un estímulo excitatorio que depolariza los mecanoreceptores de la cresta ampular del canal semicircular horizontal del lado estimulado, con el consiguiente aumento de la descarga de las fibras del nervio vestibular superior, si el peak de 1000 Hz del RET se origina (en parte) del nervio vestibular ipsilateral, es de esperar, que se produzca un aumento de la amplitud del peak de 1000 Hz de la señal del RET, como efectivamente lo cuantificamos en nuestros experimentos. Sin embargo, la estimulación con aire frío, es considerada un estímulo inhibitorio, y que disminuye la actividad del nervio vestibular, generó un aumento de amplitud del peak de 1000 Hz del ruido eléctrico timpánico en nuestros experimentos. Este punto será discutido más en profundidad a continuación, en posibles orígenes del peak de 1000 Hz en el RET.

Una diferencia que encontramos entre la estimulación auditiva y vestibular fue que el peak espectral se desplaza hacia los 800 Hz en el caso auditivo, mientras que con la estimulación vestibular se mantiene en torno a los 1000 Hz (Figura 27). Ya que el espectro de frecuencias descrito para el ruido eléctrico de ventana redonda en animales se encuentra entre 800-1000 Hz, tal vez estos estudios han mostrado dos componentes superpuestos de cada rama del VIII par (coclear y vestibular).

Posibles orígenes del peak de 1000 Hz del ruido eléctrico timpánico

Diversos estudios realizados en animales han demostrado que el ruido eléctrico de la ventana redonda es una señal de origen biológico, que desaparece en animales post mortem y que se registra en condiciones de silencio (Dolan y cols., 1990).

Su peak espectral en torno a 800-1000 Hz, se correlaciona con el peak de descarga de las neuronas auditivas individuales del nervio auditivo (Kiang y cols., 1976). Se ha visto además, que el RWN, se correlaciona con la sensibilidad auditiva medida a través de umbrales de respuesta del potencial de acción compuesto del nervio auditivo, por lo que si los umbrales se elevan el RWN disminuye su amplitud y el peak espectral del RWN pierde definición (Searchfield y cols., 2004). Además, múltiples manipulaciones farmacológicas, con diuréticos, como furosemida, ácido kaínico y TTX entre otros, apuntan a que el RWN tiene un origen neural, probablemente de las neuronas del nervio auditivo (Searchfield y cols., 2004; Dolan y cols., 1990; Lima da Costa y cols., 1997).

Al analizar la amplitud de la señal del RWN en diferentes bandas de frecuencia, y en condiciones en las que la función coclear está gravemente alterada por ototoxicidad provocada por diuréticos, prácticamente no hay potencial de acción compuesto del nervio auditivo, y los umbrales se elevan hasta 70 dB. En esta situación, la amplitud del RWN antes del tratamiento, es de alrededor de $80 \mu V^2$ entre 500 a 2500 Hz y se reduce a $9 \mu V^2$ en el momento de máximo efecto de los diuréticos. Esta respuesta reducida se mantiene en $16 \mu V^2$ después del tratamiento combinado con gentamicina. Por lo tanto, la actividad específica coclear representa al menos el 80% del origen de esta señal. La diferencia o remanente de actividad (en la señal del RWN) después del tratamiento con ototóxicos representaría probablemente la actividad de los nervios vestibular y facial (Lima da Costa y cols., 1997).

En conclusión, si bien el RWN es una señal de origen neural, depende al menos, en 80% de la actividad coclear. Es posible que las respuestas cocleares generadas por sonidos propios del cuerpo, como latidos cardíacos o la respiración, pue-

dan en parte explicar la presencia del RWN, como una señal “de actividad espontánea” del nervio auditivo. Además, si bien el principal candidato como fuente de origen del ruido eléctrico de la ventana redonda son las neuronas del nervio auditivo, no se puede descartar completamente a neuronas del nervio vestibular superior e inferior y del nervio facial.

Teniendo todos estos antecedentes del ruido eléctrico de la ventana redonda en animales, podemos discutir el origen del RET obtenido en esta tesis recordando que la medición se realiza en humanos con un electrodo apoyado sobre la membrana timpánica y no en el nicho de la ventana redonda, como está descrito para mamíferos pequeños, por lo que, anatómicamente representa una zona diferente y más distante del nervio auditivo. En segundo lugar corresponde a una medición realizada en seres humanos, lo que hasta la fecha no ha sido reportado en la literatura, por lo tanto no contamos con referencias previas de esta señal. Sin embargo, y pese a las consideraciones anteriores, a través del electrodo timpánico fuimos capaces de registrar fehacientemente microfónicas cocleares y más importantemente, el potencial de acción compuesto del nervio auditivo, con lo que, por una parte tenemos seguridad de que esta técnica permite registrar potenciales auditivos similares a los que habitualmente se registran en la ventana redonda. De esta forma, presumimos que también estamos en condiciones de medir su actividad espontánea.

Al evaluar diferencias y semejanzas entre el RWN de animales y el RET de humanos vemos que en ambos tipos de registros se encuentra un peak que comparte la banda frecuencial de 800 a 1000 Hz (Tabla 2). Además, en ambos casos la magnitud del peak depende de estímulos auditivos. Sin embargo, en el caso de la señal registrada en el tímpano de humanos, las respuestas vestibulares parecen ser

más constantes que las auditivas ya que todos los sujetos tuvieron respuestas a los estímulos calóricos, pero no todos a los estímulos auditivos.

	Round window noise	Ruido eléctrico timpánico
Especie	Cobayos	Humanos
Lugar de medición	Ventana redonda	Membrana timpánica
Peak espectral	800- 1000 Hz	1000 Hz
Dependencia auditiva	si	si
Dependencia vestibular	no	si
Dependencia EMG	no	no
Dependencia nervio facial	no	no
Dependencia nervio trigémino	no	no
Origen	Nervio Auditivo	Nervio auditivo y vías auditivas y vestibulares en tronco encefálico

Tabla 2. Comparación del ruido eléctrico de ventana redonda (RWN) y el ruido eléctrico timpánico medido en humanos. EMG: electromiografía.

Origen central y periférico para el peak de 1000 Hz del ruido eléctrico timpánico

El estudio del ruido eléctrico timpánico con estimulación vestibular no tiene un buen parangón en la literatura del RWN y otorga una nueva arista al estudio del origen de los ruidos biológicos en humanos. Sin embargo, el hecho de que tanto los estímulos de alta temperatura (excitatorios) o de frío (inhibitorios) generaron un incremento de amplitud del peak de 1000 Hz del RET en todos los sujetos evaluados, fue un hallazgo inesperado.

A partir de estos resultados proponemos que el peak de 800-1000 Hz del ruido eléctrico timpánico tiene un origen mixto en seres humanos, central y periférico. El origen periférico se refiere a la contribución de los nervios que constituyen el VIII par craneal, tanto su rama coclear como vestibular. El origen central se refiere a las vías neurales del sistema auditivo y vestibular que se ubican en el tronco encefálico (Figura 28). El planteamiento de un origen mixto, central y periférico para el *peak* de 1000 Hz del RET nos permitiría explicar que tanto el estímulo calórico excitatorio como inhibitorio incrementa la magnitud de la señal, ya que se producen aumentos de la tasa de descarga en neuronas de la vía vestibular del tronco encefálico, independiente de la calidad térmica del estímulo calórico.

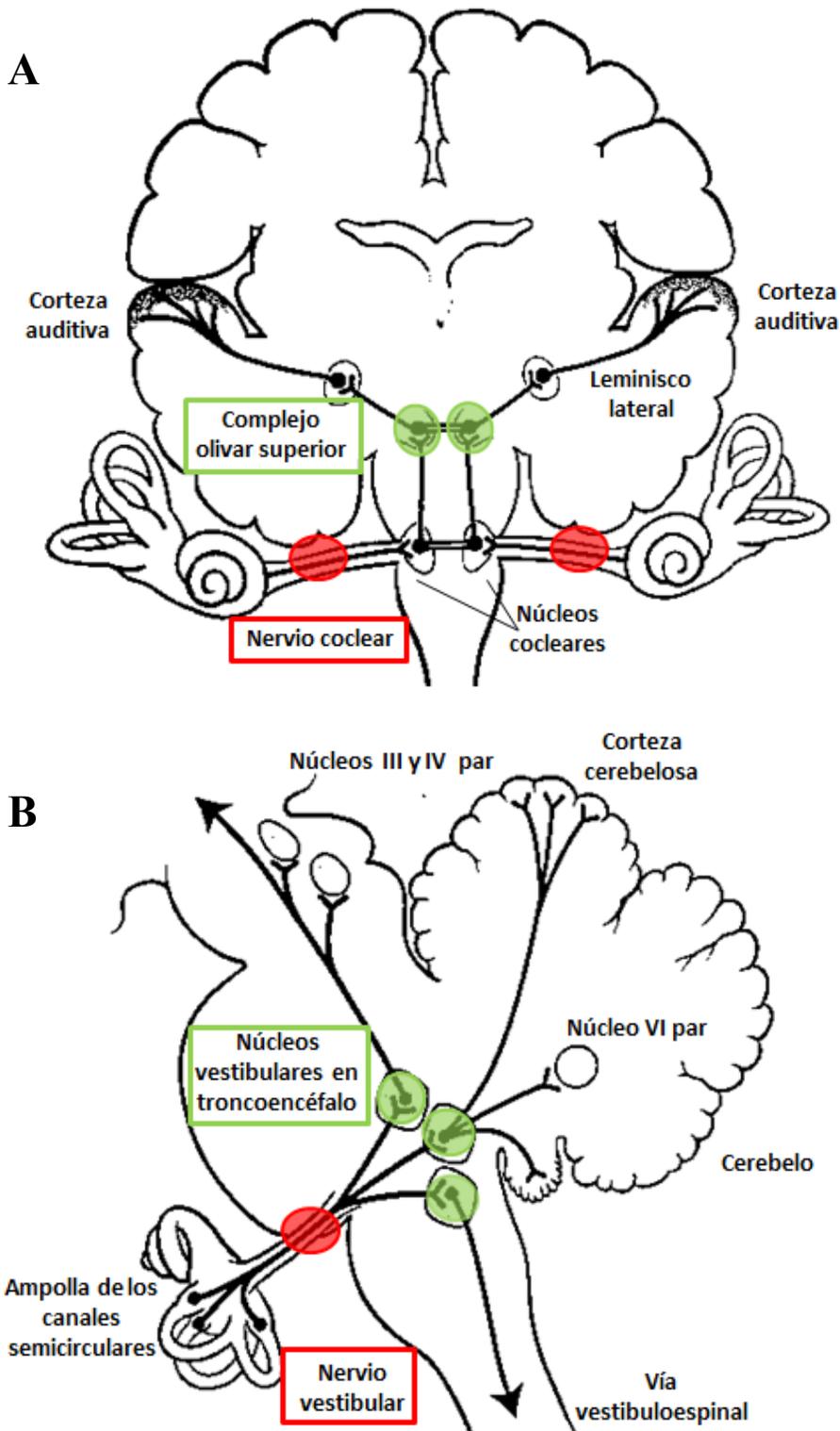


Figura 28. Esquema que explica la teoría de la génesis del peak de 1000 Hz del ruido eléctrico timpánico en humanos. **A.** Vía auditiva periférica y central. **B.** Vía vestibular periférica y central. Se plantea un origen mixto, desde el VIII par (rama coclear y vestibular, círculo rojo) a nivel periférico, así como desde las vías auditivas

y vestibulares centrales a nivel del tronco cerebral (círculos verdes).

Posibles utilidades clínicas de la medición del *peak* de 1000 Hz del ruido eléctrico timpánico en humanos

La evaluación del *peak* de 1000 Hz del RET podría resultar de suma utilidad en clínica. La técnica empleada para su medición es similar a la utilizada en los registros de electrococleografía no invasiva para medir potenciales cocleares en humanos. Hasta la fecha, la electrococleografía es uno de los pocos exámenes que permiten obtener una evaluación funcional del nervio auditivo, centrada principalmente en la medición del potencial de acción compuesto del nervio. Sin embargo la medición del PAC auditivo necesita de un estímulo sincronizante, que puede ser un estímulo auditivo o un pulso eléctrico. Los estímulos auditivos necesarios para sincronizar y obtener un PAC del nervio auditivo no se pueden realizar en pacientes sordos profundos, ya que no se logra una adecuada estimulación auditiva. Por otra parte, la estimulación eléctrica del promontorio o a través de un implante coclear, son técnicas invasivas que habitualmente se realizan durante una cirugía de oído, lo que limita su utilidad predictora de la funcionalidad del nervio auditivo. De esta forma la medición del componente auditivo del *peak* de 1000 Hz del ruido eléctrico timpánico, podría permitir evaluar la funcionalidad del nervio auditivo de manera no invasiva y antes de un evento quirúrgico.

La presencia del *peak* de 1000 Hz en el ruido eléctrico de ventana redonda ha sido relacionado con la presencia de tinnitus en modelos animales. El salicilato (aspirina) es utilizado comúnmente en forma experimental para su estudio, ya que produce un tinnitus reversible en humanos (McFadden y cols., 1984). El mecanismo de

acción a nivel del sistema auditivo en mamíferos no es claramente conocido. A nivel periférico altas dosis de salicilato endovenoso aumentan la tasa de descarga espontánea de las neuronas aferentes y dosis menores la disminuyen. Cazals y cols. (1996) observaron que el uso de salicilato endovenoso en cobayos despiertos aumenta la amplitud del ruido eléctrico en torno a 900 Hz imitando el inicio y la progresión del tinnitus en humanos (Cazals y cols., 1996). Este aumento fue interpretado como incremento de la tasa de actividad espontánea y los cambios observados en el patrón de descarga espontánea fueron los que comúnmente se asocian al trauma acústico (Liberman y Kiang, 1978) y al hidrops endolinfático, como modelo animal de la enfermedad de Ménière (Harrison y Prijs, 1984; Eggermont, 1990). De esta forma la medición del peak de 1000 Hz del RET en humanos podría ser de utilidad para demostrar un aumento de la tasa de descarga en fibras del nervio auditivo en pacientes con tinnitus. En relación a la rama vestibular del VIII par, la medición del peak de 1000 Hz podría contribuir al diagnóstico y seguimiento de pacientes con neuritis vestibular, infección viral que genera una disminución de la tasa de descarga del nervio vestibular unilateral, con la consiguiente pérdida de equilibrio. Su estudio se realiza con prueba calórica y en algunos casos con potenciales miogénicos evocados de tronco pero pese a que tiende a la resolución espontánea, no existen claros predictores del tiempo ni velocidad de resolución (Nola y cols., 2011; Adamec y cols., 2014). Esta herramienta podría ser útil también, en pacientes con schwannomas vestibulares. En estos existe compresión progresiva del nervio vestibular por el tumor, que altera paulatinamente su función. Hasta la fecha no existen claros predictores preoperatorios de la preservación de la audición ni de riesgo de compromiso de otros pares craneanos cercanos como el nervio facial, por lo que podría constituir una he-

rramienta no invasiva y útil en su evaluación pre-quirúrgica (Tringali y cols., 2010; Phillips y cols. 2010).

CONCLUSIONES

Los datos obtenidos en esta tesis permiten demostrar por primera vez, la presencia de un peak en 1000 Hz medido a partir del ruido eléctrico registrado en forma no invasiva a nivel de la membrana timpánica en humanos. La amplitud de este peak se modifica con estímulos auditivos y vestibulares. Planteamos un origen mixto de dicha señal, tanto a nivel periférico desde el VIII par craneal (rama coclear y vestibular), como central, desde las vías auditivas y vestibulares del tronco cerebral. Este componente frecuencial del ruido eléctrico timpánico de humanos podría ser utilizado en el diagnóstico y manejo de diversas patologías audiológicas y otoneurológicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wever EG, Bray CW. Action currents in the auditory nerve in response to acoustical stimulation. *ProcNatlAcadSci U S A*. 1930 May 15; 16(5):344-50.
2. Dallos, P. Whole-nerve action potential. In: Dallos, P. (Ed.). *The Auditory Periphery*. Academic Press, New York, 1973 pp. 329-353.
3. Patuzzi R.B., Brown D.J., McMahon C.M., Halliday A.F. Determinants of the spectrum of the neural electrical activity at the round window: transmitter release and neural depolarisation. *Hear Res*. 2004 Apr; 190(1-2):87-108.
4. Tasaki I et al. "Exploration of cochlear potentials in guinea pigs with a micro-electrode". *J. Acoust. Soc. Am*. 1954; 26 (5): 765.
5. Ferraro JA, Thedinger B, Mediavilla SJ, Blackwell W human summing potencial to tone bursts: observations on TM versus promontory recordings in the same patient. *J Am AcadAudiol* 1994; 5: 24-29.
6. Starr A., Zeng F.G., Michalewski H.J. Perspectives on Auditory Neuropathy: Disorders of Inner Hair Cell, Auditory Nerve, and Their Synapse. In: *The Senses: A Comprehensive Reference*. New York. NY: Academic Press, 2008:397- 412.
7. Brendan J. Conlon. *Electrocochleography in the Diagnosis of Meniere's Disease*.

Acta Otorrinolaryngol, 2000, Vol. 120, No. 4:480-483.

8. Elgueda D., Délano P. H., Robles L. Effects of Electrical Stimulation of Olivocochlear Fibers in Cochlear Potentials in the Chinchilla. J Assoc Res Otolaryngol. 2011 Jun;12(3):317-27.

9. León A., Elgueda D., Silva M.A., Hamamé C.M., Delano P.H. Auditory Cortex Basal Activity Modulates Cochlear Responses in Chinchillas. PLoS ONE 2012; 7(4): e36203.

10. Dolan DF, Nuttall AL, Avinash G. Asynchronous neural activity recorded from the round window. J Acoust Soc Am. 1990 Jun;87 (6):2621-7.

11. Searchfield G.D., Muñoz D.J.B., Thorne P.R. Ensemble spontaneous activity in the guinea-pig cochlear nerve. Hear Res. 2004 Jun;192 (1-2):23-35.

12. Manley, Geoffrey A., Robertson D. Analysis of spontaneous activity of auditory neurones in the spiral ganglion of the guinea-pig cochlea. The Journal of Physiology, 1976, vol. 258, no 2, p. 323-336.

13. Kiang NYS, Moxon EC, Kahn AR. The relationship of gross potentials recorded from the cochlea to single unit activity in the auditory nerve. In: Ruben RJ, Elberling C, Salomon G, editors. Electrocochleography. University Park Press; Baltimore: 1976. pp. 95–115.

14. Sendowski I, Raffin F, Clarençon D. Spectrum of neural electrical activity in guinea pig cochlea: effects of anaesthesia regimen, body temperature and ambient noise. *Hear Res.* 2006 Jan; 211 (1-2):63-73.
15. Arthur R. M., Pfeiffer R. R., Suga N. Properties of 'two-tone inhibition' in primary auditory neurones. *J Physiol.* 1971 Feb; 212(3): 593–609.
16. Ruggero M.A., Robles L, Rich N.C. Two-tone suppression in the basilar membrane of the cochlea: mechanical basis of auditory-nerve rate suppression. *J Neurophysiol.* 1992 Oct ;68(4):1087-99.
17. Lima da Costa D, Erre JP, Charlet de Sauvage R, Popelar J, Aran JM. Bioelectrical cochlear noise and its contralateral suppression: relation to background activity of the eighth nerve and effects of sedation and anesthesia. *Exp Brain Res* 1997; 116:259–269.
18. Popelar, Jiri, et al. Effects of contralateral acoustical stimulation on three measures of cochlear function in the guinea pig. *Hearing research*, 2001, vol. 152, no 1, p. 128-138.
19. McMahon, C.M., Patuzzi, R.B. The origin of the 900 Hz spectral peak in spontaneous and sound-evoked round-window electrical activity. *Hear. Res.* 2002; 173, 134-152.

20. Weisz C, Glowatzki E, Fuchs P. The postsynaptic function of type II cochlear afferents. *Nature*. 2009 Oct 22;461(7267):1126-9.
21. Patuzzi R.B., Brown D.J., McMahon C.M., Halliday A.F. Determinants of the spectrum of the neural electrical activity at the round window: transmitter release and neural depolarization. *Hear Res*. 2004 Apr;190(1-2):87-108.
22. Hallpike. The Caloric Test. *Practica Oto_Rhino_Laryngologica* 1955;17:173–178
23. McFadden, D., Plattsmier, H.S., Pasanen, E.G. Aspirin-induced hearing loss as a model of sensorineural hearing loss. *Hear. Res*. 1984; 16, 251-260.
24. Cazals Y., Huang Z. W. Average spectrum of cochlear activity: a possible synchronized firing, its olivo-cochlear feedback and alterations under anesthesia. *Hear Res*. 1996 Nov 1;101(1-2):81-92.
25. Liberman, M.C., Kiang, N.Y.S. Acoustic trauma in cats. Cochlear pathology and auditory nerve activity. *Acta Otolaryngol*. 1978; (Suppl. 358), 1-63.
26. Harrison, R.V., Prijs, V.F. Single cochlear fibre responses in guinea pigs with long-term endolymphatic hydrops. *Hear. Res*. 1984; 14, 79-84.
27. Eggermont, J.J. On the pathophysiology of tinnitus; a review and a peripheral model. *Hear. Res*. 1990; 48, 111-123.

28. Nola G, Guastini L, Crippa B, Deiana M, Mora R, Ralli G. Vestibular evoked myogenic potential in vestibular neuritis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2011 Nov; 268(11):1671-7.

29. Adamec I, Krbot Skorić M, Ozretić D, Habek M. Predictors of development of chronic vestibular insufficiency after vestibular neuritis. *J Neurol Sci.* 2014 Dec 15; 347(1-2):224-8.

30. Tringali S, Charpiot A, Ould MB, Dubreuil C, Ferber-Viart C. Characteristics of 629 Vestibular Schwannomas According to Preoperative Caloric Responses. *Otol Neurotol.* 2010 Apr;31(3):467-72.

31. Phillips DJ, Kobylarz EJ, De Peralta ET, Stieg PE, Selesnick SH. Predictive factors of hearing preservation after surgical resection of small vestibular schwannomas. *Otol Neurotol.* 2010 Dec;31(9):1463-8.

RESUMENES DE CONGRESOS Y PUBLICACIONES GENERADAS

1. Poster presentado en la X Reunión anual de la Sociedad Chilena de Neurociencia Valdivia, 1 al 4 de Octubre de 2014.

Título: On the origin of the tympanic electric noise in humans.

Autores: Javiera Pardo J., Constantino Dragicevic R, Macarena Bowen M., Paul Délano R.

2. Presentación oral de Trabajo Libre, LXXI Congreso Chileno de Otorrinolaringología, Medicina y Cirugía de Cabeza y Cuello. Coquimbo, 12 al 15 de Noviembre de 2014.

Título: Dilucidando el origen del ruido eléctrico timpánico en humanos.

Autores: Javiera Pardo J., Constantino Dragicevic R, Macarena Bowen M., Paul Délano R.

3. Poster presentado en ARO, The Association of Research in Otolaryngology 38th Midwinter Meeting: The Baltimore Marriot Waterfront Hotel, Baltimore, Maryland, USA, Febrero 21-25, 2015.

Title: On the origin of the tympanic electric noise in humans.

Autors: Javiera Pardo J., Constantino Dragicevic R, Macarena Bowen M., Paul Délano R.

4. Artículo de Revisión, Revista de Otorrinolaringología Cirugía y Medicina de Cabeza y Cuello Chilena.

Título: Ruido eléctrico de la ventana redonda. Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello 2015; 75: 173-178

Autores: Javiera Pardo J., Constantino Dragicevic R, Macarena Bowen M., Paul Délano.