

**FUNCIÓN EFERENTE AUDITIVA EN PACIENTES CON
TINNITUS DURANTE UNA TAREA DE ATENCIÓN
SELECTIVA**

Tesis

**Entregada a la Universidad De Chile en cumplimiento parcial de los
requisitos para optar al grado de**

Magíster en Ciencias Biológicas

Facultad De Ciencias

Por

Rodrigo Andrés Donoso San Martín

Diciembre, 2020

Director de Tesis Dr:

Paul H. Délano Reyes
FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION

TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por la candidata.

Rodrigo Andrés Donoso San Martín

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas, en el examen de defensa privada de Tesis rendido el día

.....

Director de Tesis:

Dr. Paul H. Délano Reyes

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Juan Bacigalupo Vicuña

Dr. Jorge Mpodozis Marín

RESUMEN

El objetivo de este proyecto fue indagar en el rol del sistema eferente auditivo en pacientes con **tinnitus**, la percepción de un sonido en ausencia de estímulo acústico externo. El **sistema eferente auditivo** es una red cerebral que se origina en la corteza auditiva y a través de neuronas olivococleares, localizadas en el tronco encefálico, hace sinapsis con las células ciliadas de la **cóclea**, el órgano receptor auditivo de **mamíferos**. La evidencia indica que uno de los roles que este sistema cumple es la modulación de la sensibilidad coclear con el fin de ignorar estímulos auditivos irrelevantes en tareas donde se requiera prestar atención selectiva, además, diversos estudios han sugerido que la disfunción de las vías eferentes auditivas podría participar en la percepción de este sonido fantasma (tinnitus) por lo que nos pareció pertinente indagar si existe alteración en el funcionamiento de dicho sistema en sujetos que presenten la patología durante una tarea de atención visual y auditiva. Es posible establecer una división del sistema eferente auditivo en circuitos de tronco encefálico (sistema olivococlear) y en las vías corticofugales que emergen de la corteza auditiva. En esta tesis se estudiaron ambos circuitos, utilizando dos aproximaciones: (i) evaluación de emisiones otoacústicas con ruido contralateral (circuito de tronco encefálico) y (ii) tarea de atención con distractores auditivos (circuito corticofugal). Proponemos que el funcionamiento del sistema eferente auditivo en pacientes con tinnitus se encuentra alterado en ambos niveles y que dicho efecto puede ser observado a través de los dos enfoques sugeridos.

Métodos: En un total de 58 sujetos normoyentes (32 con tinnitus, 26 sanos) (i) se evaluó el efecto supresor del reflejo olivococlear en la amplitud de las emisiones otoacústicas evocadas por medio de la estimulación con ruido contralateral, además de la aplicación de pruebas psicométricas que buscaron determinar el impacto de la

condición en la calidad de vida de estos. En un subgrupo de 28 sujetos (14 tinnitus, 14 sanos) (ii) se realizaron mediciones simultáneas de EEG y *DPOAEs* durante una tarea de atención selectiva para determinar las posibles diferencias en términos electrofisiológicos y conductuales.

Resultados: El efecto supresor evocado con ruido contralateral no mostró diferencias significativas para ninguna de las frecuencias evaluadas al comparar los grupos de estudio y control (menor: $p=0,06$, $f=1754$ Hz en el oído izquierdo). Por otro lado, se encontraron correlaciones significativas entre el efecto supresor en el oído derecho y los puntajes obtenidos en las pruebas psicométricas aplicadas que tuvieron como objetivo cuantificar los niveles de ansiedad (*STAI*) ($r=0,61$, $p<0,01$) y el impacto del tinnitus en la calidad de vida (*THI*) ($r=0,66$, $p<0,01$).

Para la evaluación de las vías corticofugales se utilizó una prueba de atención selectiva, los pacientes con tinnitus mostraron un peor desempeño en la prueba visual reflejado en una menor precisión en las respuestas como también en la tendencia a ser reportadas más tardíamente (media tinnitus: $7,23^\circ$, $CI=[5,55^\circ, 9,81^\circ]$; media controles: $1,43^\circ$, $CI=[-2,72^\circ, 0,1^\circ]$). Al realizar una comparación entre los datos agrupados haciendo distinción en la presencia o ausencia de la patología, una prueba de comparación de medianas mostró resultados significativos ($p=5,6 \times 10^{-8}$) lo que refuerza la hipótesis que establece diferencias en términos cognitivos entre ambos grupos. Se observaron diferencias en la actividad de la corteza prefrontal y en el canal coclear durante la prueba, en pacientes con tinnitus dichas diferencias podrían deberse a una mayor necesidad de reclutamiento de recursos cognitivos para desarrollar la tarea visual y una falta de supresión en las oscilaciones de baja frecuencia (< 3 Hz) debido a una función eferente debilitada, respectivamente.

Conclusión: El peor de desempeño de los pacientes con tinnitus en la prueba de atención selectiva podría atribuirse a una función eferente debilitada lo que dificultaría la habilidad para ignorar distractores auditivos cuando es necesario focalizar la atención en estímulos visuales. Esta deficiencia también sería observable a nivel del circuito olivococlear debido a las correlaciones encontradas entre el efecto supresor del reflejo olivococlear y los resultados de las encuestas psicométricas que podrían explicarse por la interconexiones existentes entre estos núcleos del tronco encefálico y otras áreas del sistema nervioso central relacionadas con patologías como la ansiedad.

INTRODUCCIÓN

El sistema auditivo nos permite detectar los estímulos acústicos que se encuentran en el ambiente, lo que evolutivamente es de vital importancia pues posibilita estar alerta de potenciales amenazas que pueden provenir de todas las direcciones posibles. Estructuralmente, la vía auditiva está constituida por circuitos neuronales que van desde la cóclea hacia la corteza cerebral (vías aferentes), pero también por vías eferentes que se originan en la corteza auditiva, y que a través de proyecciones descendentes inervan a diversos núcleos subcorticales de la vía auditiva central, para finalmente hacer sinapsis en las células receptoras de la cóclea (Terreros, G. & Délano, P.H., 2015; Elgueta, D. & Délano, P.H., 2020). Entre las funciones del sistema auditivo eferente se ha propuesto la modulación de la sensibilidad coclear, con el fin de filtrar estímulos auditivos irrelevantes cuando la **atención** está fijada en otra modalidad sensorial, por ejemplo, visual.

El **tinnitus** es la percepción de un sonido sin la presencia de un estímulo acústico externo, constituyendo un paradigma importante para estudiar mecanismos de percepción sensorial. Los mecanismos que generan tinnitus no están del todo claros. Uno de los posibles mecanismos sería la reducción del control eferente auditivo de la función coclear por parte de las vías corticofugales. De manera importante, el tinnitus crónico es similar a un distractor auditivo, presente en forma permanente. La evidencia muestra que el **tinnitus disminuye el desempeño conductual en tareas que requieren atención selectiva** (Araneda *et al.*, 2015).

En esta tesis se evaluó la función eferente auditiva en humanos controles y con tinnitus, a dos niveles: (i) utilizando **ruido blanco contralateral** a la medición de emisiones otoacústicas producto de distorsión (**DPOAEs** por su sigla en inglés) como

medida de la **función eferente auditiva refleja del tronco encefálico** y (ii) a través de registros simultáneos de electroencefalograma (**EEG** de 32 canales) y **DPOAEs** durante una tarea de **atención selectiva** visual y auditiva, como medida de la **función de las vías corticofugales del sistema eferente auditivo**.

Antecedentes bibliográficos

Los sistemas sensoriales están compuestos por neuronas o receptores sensitivos, las que se hayan en localizaciones periféricas, además de vías neurales y áreas del cerebro involucradas en la percepción sensorial. Independientemente del tipo de estímulo que procesen, todas estas nos entregan información sobre el ambiente haciendo posible el acoplamiento entre éste y nuestros organismos. El sistema auditivo es vital en la comunicación en especies con la posibilidad de emitir vocalizaciones y además constituye un sistema de alerta temprana debido a la naturaleza propagativa de los estímulos lo que hace que no requiera de gran proximidad a la fuente (en contraste con los estímulos táctiles, de gusto y olfativos) ni del enfoque directo al origen del estímulo (en contraste con los estímulos visuales).

La vía aferente del sistema auditivo recibe estímulos mecánicos de presión sonora cuyas perturbaciones inciden en el tímpano provocando el movimiento de los huesecillos del oído medio. Estos movimientos son transmitidos hacia la cóclea donde se produce la transducción sensorial por medio de las células ciliadas internas posicionadas en el órgano de Corti. Las células ciliadas liberan glutamato en las sinapsis con las neuronas del nervio auditivo, las que se depolarizan en la región postsináptica, principalmente a través de receptores AMPA. El nervio auditivo genera potenciales de

acción que son transmitidos al núcleo coclear en el sistema nervioso central. La **vía auditiva de mamíferos** incluye múltiples sinapsis en núcleos subcorticales auditivos: complejo olivar superior, lemnisco lateral, colículos inferiores, y tálamo auditivo llegan al último eslabón de la vía auditiva aferente de mamíferos: la corteza auditiva en regiones temporales del cerebro, lugar donde se generaría la percepción sensorial auditiva.

Sin embargo, además de la vía aferente, en el sistema auditivo existen prominentes vías eferentes que hacen posible la retroalimentación en el proceso de integración de los estímulos auditivos, permitiendo la modulación de las respuestas sensoriales a múltiples niveles de la vía auditiva, incluyendo las células receptoras de la cóclea (Rasmussen G. L., 1946 & 1960; Warr, W.D., 1975; Warr, W.D. & Guinan, J.J., 1979; Guinan, J.J., Jr., 1996; Simmons, D. D., 2002).

El sistema eferente auditivo

El sistema eferente auditivo de mamíferos está constituido por vías descendentes que se originan principalmente en la corteza auditiva primaria, las cuales proyectan al cuerpo geniculado medial del tálamo, colículo inferior, núcleo coclear y complejo olivar superior (Saldaña *et al.*, 1996; Robles and Delano, 2008; Xiong *et al.*, 2009; Malmierca and Ryugo, 2011; Schofield, 2011). Estas proyecciones corticofugales junto a las vías auditivas ascendentes forman circuitos de retroalimentación que permiten interacciones a diferentes niveles de la vía auditiva (Figura 1).

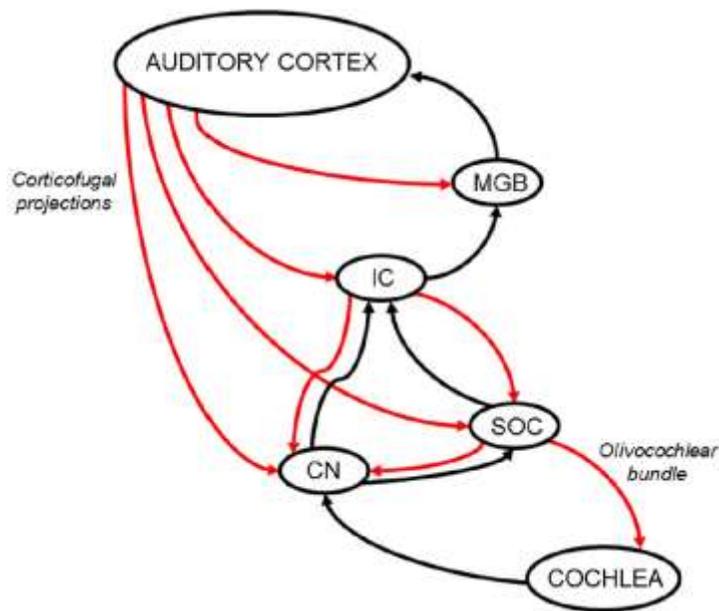


Figura 1. Diagrama esquemático de la red eferente (en rojo) y la red aferente (en negro). MGB: núcleo geniculado medial (*medial geniculate body*), IC: colículo inferior (*inferior colliculus*), CN: núcleo coclear (*cochlear nucleus*), SOC: complejo olivar superior (*superior olivary complex*). Extraído de Terreros y Delano (2015), *Frontiers in Systems Neuroscience*.

Como se observa en la figura 2 la inervación eferente a la cóclea proviene del complejo olivar superior donde se encuentran dos grupos de neuronas denominadas según su localización: las neuronas olivococleares mediales (*MOC neurons: medial olivocochlear neurons*) y las neuronas olivococleares laterales (*LOC neurons: lateral olivocochlear neurons*). Las neuronas *MOC* poseen axones gruesos y mielinizados, principalmente proyectan hacia la cóclea contralateral y hacen sinapsis directamente en la membrana basolateral de las células ciliadas externas (*OHCs: outer hair cells*). El principal neurotransmisor de este grupo neuronal es acetilcolina (ACh), el cual activa receptores nicotínicos localizados en las *OHCs*. Estos receptores son pentámeros constituidos por subunidades $\alpha 9/\alpha 10$. Las neuronas *LOC* poseen axones delgados no-mielinizados, proyectan a la cóclea ipsilateral formando sinapsis axo-dendríticas con las

neuronas que conforman el nervio auditivo justo debajo de su sinapsis con las células ciliadas internas (*IHCs: inner hair cells*). Liberan una gran cantidad de neurotransmisores y neuro-moduladores, entre ellos Ach, GABA, dopamina, dinorfinas, encefalina y péptido relacionado al gen de calcitonina (CGRP).

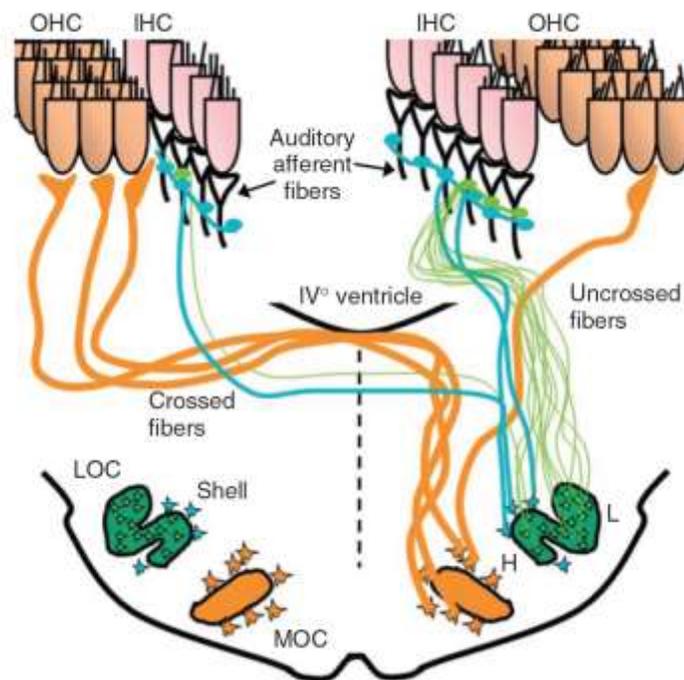


Figura 2. Ilustración del sistema olivococlear mostrando la inervación de las neuronas *MOC* sobre las *OHCs* (naranja) y la inervación de las neuronas *LOC* sobre las fibras aferentes auditivas (verde) bajo las *IHCs*. Extraído y modificado de Robles y Delano (2008), *The Senses*, Academic Press.

El **sistema olivococlear** (*MOC* y *LOC*) es una parte fundamental del funcionamiento de la red eferente que va de la corteza auditiva a la cóclea, debido a que todas las modulaciones sobre la cóclea y el nervio auditivo (provenientes desde zonas corticales o subcorticales) están mediadas por el *LOC* y/o *MOC*, por lo que se le considera **el efector final común**. Las neuronas *MOC* permiten modular las vibraciones

mecánicas de la membrana basilar (Murugasu, E. and Russell, I. J., 1996a; Dolan, D. F. *et al.*, 1997; Robles, L and Ruggero, M. A., 2001) actuando como unidades motoras a lo largo de la cóclea. Lo que sumado a resultados anatómicos que muestran que las neuronas corticales pueden ejercer una acción directa en la actividad de las neuronas MOC (Mulders, W. H. and Robertson, D., 2000a), permite proponer que la actividad de la corteza auditiva a través de las vías corticofugales podría modular la sensibilidad coclear, utilizando como vía final común al sistema olivococlear medial (MOC).

Varios trabajos de investigación proponen que la activación de las neuronas del sistema olivococlear produce un efecto inhibitorio en las respuestas cocleares. Dentro de los primeros estudios, realizados en gatos, para indagar en este efecto (Galambos, R., 1956; Fex, J., 1959; 1962) se utilizaron principalmente dos métodos, activación y bloqueo de las vías eferentes. La activación se llevó a cabo mediante la estimulación eléctrica en diferentes niveles de la vía aferente o por estimulación acústica contra e ipsilateral (ver más adelante, Figura 3), mientras que el bloqueo se indujo a través de lesiones quirúrgicas, aplicaciones de antagonistas para los receptores y por delación molecular de genes relevantes (e.g, receptor nicotínico $\alpha 9$). Registros de emisiones otoacústicas evocadas evidenciaron la existencia de modulación corticofugal en humanos, ya que las emisiones otoacústicas reflejan principalmente la función de las OHC (Perrot, X. *et al.*, 2006). En trabajos posteriores, realizados en chinchillas, se pudo determinar la posibilidad de la existencia de dos vías funcionales desde la corteza auditiva a la cóclea mediante métodos de desactivación, lesión y microestimulación eléctrica de la corteza auditiva en presencia y ausencia de ruido contralateral (León, A. *et al.*, 2012; Dragicevic, C. *et al.*, 2015). Mediante la desactivación de la corteza auditiva producida por aplicación de microinyecciones de lidocaína en jerbos de Mongolia (Jäger,

K. & Kössl, M., 2016) pudo observarse una disminución en la respuesta auditiva periférica en forma de *DPOAEs* (*distortion product otoacoustic emissions*) probablemente a través de las vías córtico-olivococleares. De esta forma estos trabajos demuestran la funcionalidad de las vías cortico-olivococleares, que permite modular las respuestas cocleares por medio de la activación de las vías descendentes que provienen de la corteza auditiva.

Entre las funciones que se le atribuyen al sistema eferente auditivo se encuentran: anti-enmascaramiento de estímulos auditivos en ambientes ruidosos (Dewson, J. H., 3rd, 1968; May, B. J. & McQuone, S. J., 1995; Hienz, R. D. *et al.*, 1998; May, B. J. *et al.*, 2004), rol protector en la prevención de la pérdida auditiva por exposición a sonidos de alta intensidad (Rajan, R. & Johnstone, B. M., 1988; Reiter, E. R. & Liberman, M. C., 1995; Kujawa, S. G. and Liberman, M. C., 1997; Yamasoba, T. & Dolan, D. F., 1997; Darrow, K. N. *et al.*, 2007). Estas guardan relación con la porción más periférica del sistema eferente, específicamente el circuito comprendido entre la cóclea y los núcleos localizados en el tronco encefálico. Otros roles, que contemplan funciones cognitivas y por lo tanto la vía completa son: modulación de la sensibilidad coclear con el fin de filtrar tonos irrelevantes en tareas auditivas (Greenberg, G.Z. & Larkin, W.D., 1968; Scharf, B., 1998) o en tareas que requieren atención selectiva a estímulos en otras modalidades sensoriales (Hernandez-Peón *et al.*, 1956; Oatman, L. C., 1971; Gifford, M. L. and Guinan, J. J., Jr., 1987; Delano, P. H. *et al.*, 2007), modulación de la respuesta auditiva aferente durante estados de sueño o vigilia (Velluti, R. *et al.*, 1989), y equilibrio de la sensibilidad inter-aural (Darrow K. N. *et al.*, 2006b).

Emisiones otoacústicas producto de distorsión (DPOAEs)

Para evaluar la función de las células ciliadas externas de la cóclea, de manera no invasiva es posible realizar la medición de emisiones otoacústicas que consisten en ondas de presión sonora generadas en el oído interno debido a la actividad electromotil (amplificador coclear) de la proteína prestina localizada en las células ciliadas externas (OHC) (Liberman, M.C. *et al.*, 2002). Estas ondas se transmiten hacia la sección externa del canal auditivo donde pueden ser registradas con equipos de alta precisión.

Un tipo particular de emisiones otoacústicas son las emisiones otoacústicas producto de distorsión que son respuestas generadas por la cóclea al ser estimulada simultáneamente por dos tonos puros f_1 y f_2 que se encuentran en una razón $f_2:f_1$ que varía entre 1,1 y 1,3 (Robles, L., *et al.*, 1991). La respuesta, debido a la dinámica no lineal de la cóclea, se genera en frecuencias no existentes en el estímulo, en general tiene una amplitud de más de 6 dB con respecto al ruido que depende de la razón entre las frecuencias. Por ejemplo, $f = 2 f_1 - f_2$ se denomina tono de distorsión cúbica. La prevalencia de las DPOAEs es de 100% en sujetos con audición normal.

Se puede separar la función del sistema eferente auditivo, entre la función reflejo del tronco encéfalo y la función cognitiva que depende de las vías descendentes de la corteza auditiva. A continuación se explican las bases fisiológicas de ambos circuitos:

(I) Reflejo olivococlear provocado con ruido blanco contralateral

El efecto supresor del reflejo olivococlear puede observarse al estimular un oído (ipsilateral para estos efectos) con los tonos primarios f_1 y f_2 que provocan la emisión otoacústica y el oído contralateral con ruido. El ruido blanco en el oído contralateral producirá la estimulación del nervio auditivo del mismo lado involucrando las neuronas MOC ipsilaterales las que a través de su actividad modularán la amplitud de las emisiones otoacústicas registradas en el oído estimulado por los tonos primarios (De Venecia, R.K., *et al.*, 2005).

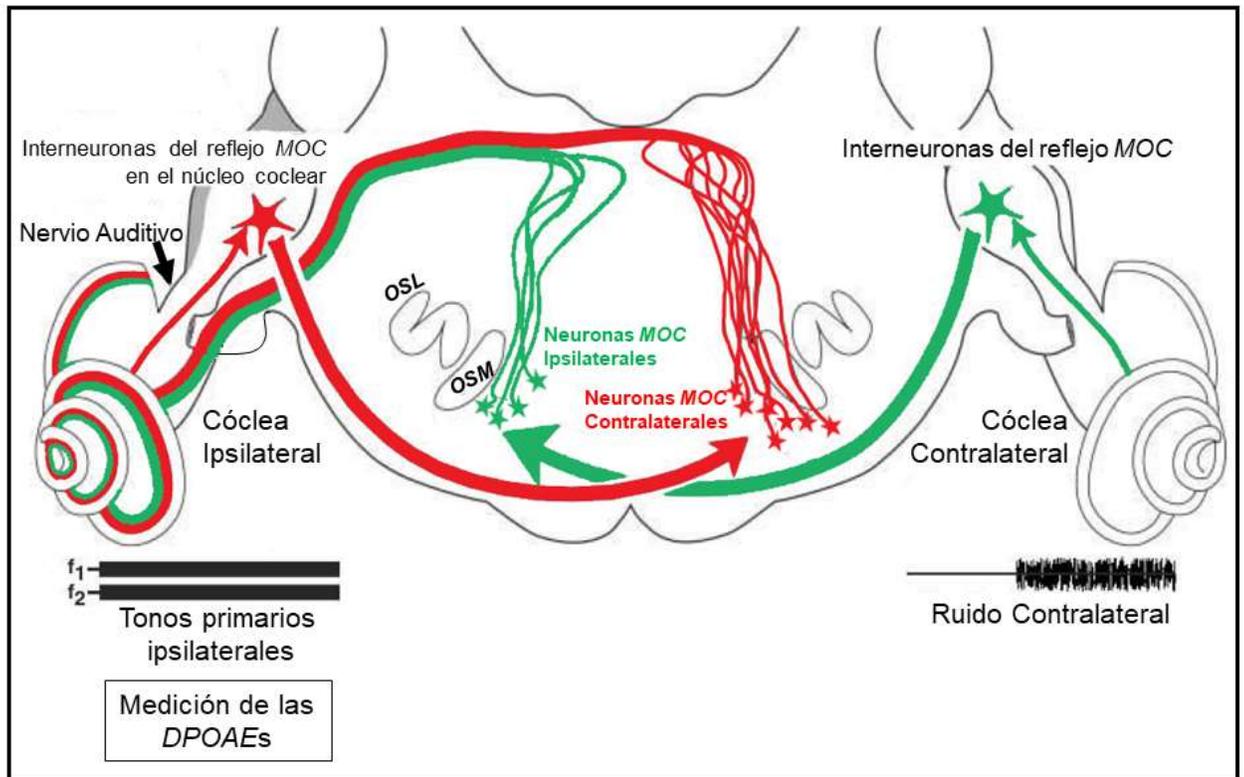


Figura 3. Esquema de las vías involucradas en el reflejo olivococlear medial (MOC reflex). En rojo: Vías reclutadas a través de la estimulación con los tonos primarios de la cóclea ipsilateral. En verde: Vías reclutadas a través de la estimulación con ruido del oído contralateral, esta vía finaliza con la inervación de las células ciliadas externas (OHCs) en la cóclea ipsilateral provocando la modulación de la amplitud de las emisiones otoacústicas evocadas. OSL: Oliva superior lateral, OSM: Oliva superior medial.

(II) **Modulación de la respuesta periférica por parte del sistema auditivo eferente a través de vías corticofugales durante tareas de atención selectiva**

En chinchillas se ha demostrado que la sensibilidad coclear puede ser modulada durante una tarea de atención visual, lo que se produciría a través de la activación de la vía auditiva aferente, posiblemente por medio de fibras eferentes olivococleares mediales (Delano, P. H. *et al.*, 2007). En forma similar, en seres humanos, a través del registro de *DPOAEs* también se pudo determinar que la sensibilidad coclear es modulada por la atención selectiva (Srinivasan, S. *et al.*, 2012) por medio de la realización de tareas que implicaran el conteo de estímulos auditivos o estímulos visuales, registrándose un incremento en la amplitud de las *DPOAEs* durante las tareas que implicaran ignorar estímulos auditivos. Otro estudio muestra que las amplitudes de las *DPOAEs* son estadísticamente menores cuando la atención al estímulo auditivo está dirigida al oído ipsilateral con respecto al oído en que se están registrando las *DPOAEs* (Srinivasan, S. *et al.*, 2014), lo que corrobora que los mecanismos corticofugales que median las respuestas cocleares durante atención intermodal provienen del *MOC*. Al analizar la conectividad de la red descendente que modula las respuestas auditivas periféricas se ha propuesto un modelo de tres vías paralelas (Terrerros, G., *et al.*, 2015), que desembocarían tanto en las neuronas *MOC* como en las *LOC*. Dichas conexiones se activarían durante la atención selectiva entre otras funciones cognitivas. Adicionalmente, en un estudio que utilizó ratones *knock-out* para la subunidad $\alpha 9$ del receptor nicotínico (Terrerros, G. & Délano, P.H., 2016) se demostró que estos, en comparación con ratones *wild-type*, tuvieron un peor desempeño en un paradigma de atención selectiva visual mientras eran simultáneamente estimulados con distractores auditivos. Este hallazgo mostró la importancia de la transmisión colinérgica entre las

neuronas olivococleares mediales (*MOC*) y las células ciliadas externas (*OHC*) para la funcionalidad de la vía eferente.

Tinnitus: un sonido fantasma

El tinnitus es la percepción de un sonido sin la presencia de un estímulo acústico externo. Su prevalencia ha aumentado en los últimos años, afectando en algún momento de la vida hasta un 10% de la población en los países occidentales, alterando severamente la calidad de vida de aproximadamente un 1-2% de los pacientes (Shargorodsky, J., *et al.*, 2010; Langguth, B., *et al.*, 2013). Si bien los mecanismos que lo producen no están del todo dilucidados diversos trabajos postulan que la reducción en el control neuronal eferente de la cóclea podría ser una de las posibles causas de su generación. Variadas hipótesis contemplan la participación de las vías provenientes de las neuronas *MOC*. Por ejemplo, que la reducción en el control neuronal eferente del amplificador coclear podría resultar en un aumento en la ganancia de este, lo cual implicaría un acrecentamiento de la actividad espontánea en el nervio auditivo.

Araneda y colaboradores (2015) proponen que el control inhibitorio por parte de las vías eferentes auditivas, durante tareas de atención selectiva, se encuentra alterado en sujetos con tinnitus. Esta hipótesis aún no ha sido corroborada con estudios electrofisiológicos, ya que el trabajo de Araneda y cols. (2015) solo reporta datos conductuales. Estos investigadores observaron que los sujetos con tinnitus tienen mayor distractibilidad a interferencias sensoriales (auditivas o visuales) durante tareas de atención selectiva, lo que se refleja en dificultades para ignorar estímulos irrelevantes. De hecho, el tinnitus puede ser considerado como un distractor permanente que altera la función cognitiva. Por último, Araneda y cols. indican que la mayor interferencia se produce por estímulos auditivos con características frecuenciales similares a la del

tinnitus percibido, pues el estímulo provocaría respuestas emocionales que afectarían los procesos cognitivos. Todo esto provoca un peor desempeño de los sujetos con tinnitus en tareas de atención selectiva ya sea en condiciones uni-modales o bimodales. Esto se refleja en un mayor número de falsas alarmas y en un mayor tiempo de reacción a los estímulos blanco en pacientes con tinnitus. Otros estudios (Hallam, R.S., *et al.*, 2004; Stevens, C., *et al.*, 2007; Heeren, A., *et al.*, 2014) indagaron en el efecto del padecimiento de tinnitus en la atención selectiva encontrando evidencia en ambos sentidos a la hora de evaluar cuán reducida se veía la capacidad de los sujetos para desarrollar tareas enmarcadas en este tipo de paradigma. En el artículo de revisión de Mohamad, N., *et al.*, 2016 puede encontrarse citado un ampliado conjunto de estudios que evalúan el impacto del tinnitus en distintas funciones cognitivas.

Impacto psicoemocional del tinnitus

Como se mencionó en la sección anterior el padecimiento de tinnitus puede afectar gravemente la calidad de vida de las personas propiciando el desarrollo de trastornos psicoemocionales como ansiedad, depresión, irritabilidad, problemas atencionales y mayores tasas de suicidio (Kim, HJ. *et al.*, 2015; Langguth, B., 2011). El tinnitus puede ser clasificado, desde el punto de vista clínico, en pulsátil (cardiosincrónico o no) o no pulsátil (tonal o no tonal) los cuales, según los estudios, tienen diferentes causas (Wimmer, J. *et al.*, 2019; Levine, RA. & Oron, Y., 2015). El tinnitus crónico no pulsátil es el más frecuente y sería provocado por la pérdida auditiva periférica lo que induciría una hiperactividad compensatoria en la vía auditiva a nivel central afectando principalmente la sección entre los colículos inferiores y las áreas corticales asociadas al procesamiento auditivo. Cabe destacar que la corteza auditiva primaria inerva directamente a la amígdala basolateral donde los impulsos son procesados y enviados

al núcleo central de la amígdala, este constituye el principal núcleo de procesamiento emocional (Baars, B.J., & Gage, N.M., 2010). Precisamente esto último influiría en la percepción del tinnitus como un síntoma molesto afectando las funciones cognitivas y el procesamiento emocional, además de propagar esta desregulación en la actividad a otras redes neuronales interconectadas (Singer, W., et al., 2014; Concina, G., et al., 2019).

Varios estudios de larga data (Redmond, D.E., et al., 1979; Pohl, R., et al., 1987; Tanaka, M., et al., 2000) señalan al locus coeruleus como uno de los núcleos de mayor relevancia en lo que concierne a la fisiopatología de la ansiedad. Este núcleo del tronco encefálico está implicado en el circuito del nivel de alerta y su disfunción se asocia a trastornos ansiosos. El Locus coeruleus tiene conexiones anatómicas con múltiples estructuras de la vía auditiva central, incluyendo neuronas fusiformes de los núcleos cocleares dorsales (Kaltenbach, J.A., 2006), neuronas del complejo olivar superior (parte del sistema eferente auditivo) (Mulders, WHAM., & Robertson, D., 2005a & 2005b) y neuronas de la corteza auditiva (Salgado, H., et al., 2011; Pérez-Valenzuela, C., et al., 2016). Por lo tanto, resulta factible pensar que afectaciones en la vía auditiva, como las relacionadas al tinnitus crónico no pulsátil, podrían provocar alternaciones en la actividad del locus coeruleus y así incidir en un aumento en los niveles de ansiedad en pacientes que presentan dicha patología cerebral-auditiva.

Medición de la actividad cortical oscilatoria durante atención selectiva mediante electroencefalografía (EEG)

Los pacientes con tinnitus presentan alteraciones funcionales en las redes neuronales relacionadas con atención, esto ha sido reportado en la literatura haciendo

uso de distintos métodos de neuroimágenes ya sea indirectamente en estudios que indagaran en estas vías o través del análisis de las propiedades espectrales de estas en sujetos afectados por la enfermedad en cuestión.

Shomstein y Yantis (2004) mostraron a través del uso de imágenes por resonancia magnética funcional (*fMRI: functional magnetic resonance imaging*) que existe comunicación entre distintas áreas de la corteza cerebral cuando la atención voluntaria cambia de modalidad visual a modalidad auditiva. Dicho cambio se expresa en un incremento de la actividad de la corteza auditiva y una disminución en la actividad de la corteza visual y viceversa. Además, las cortezas parietal posterior y prefrontal superior mostraron aumentos transitorios en su actividad que se correspondían temporalmente con el inicio del cambio de la atención voluntaria entre las modalidades visual y auditiva.

Utilizando registros simultáneos de *EEG* y *fMRI BOLD (blood-oxygen level dependent imaging)* (Wang, W., *et al.*, 2016) para correlacionar la amplitud de las oscilaciones corticales en la banda theta (4-8 Hz), que se ha observado son relevantes para operaciones de control cognitivo en paradigmas de atención visual, y la actividad de ciertas zonas de la corteza cerebral se encontró una correlación positiva entre la actividad theta y *BOLD* en la corteza auditiva y una correlación negativa en la corteza visual durante la atención auditiva. Mientras que la atención asociada a estímulos visuales presentó una correlación positiva de la actividad theta y *BOLD* en el área fronto-parietal que no se observó en la condición auditiva.

Se ha visto que existe acoplamiento entre la fase de frecuencias bajas y la amplitud de frecuencias altas (Canolty, R.T., *et al.*, 2006). Se ha reportado que pacientes

con tinnitus tienen falta de acoplamiento entre la fase de delta (<4 Hz) frontal y la amplitud de gamma alto (>50 Hz). Dado que este fenómeno refleja la comunicación interregional durante procesos cognitivos y dado el déficit atencional que presentan en la inhibición de estímulos, esto sugiere que los pacientes con tinnitus podrían tener alterado el control descendente de las aferencias sensoriales (Ahn, M.-H., *et al.*, 2017). Esto, sin embargo, no ha sido demostrado en la literatura.

Pregunta de investigación

¿Existe alteración del funcionamiento del sistema eferente auditivo en pacientes con tinnitus durante una tarea de atención visual y auditiva?

Hipótesis

La modulación corticofugal de las respuestas cocleares durante la atención visual selectiva con distractores auditivos se encuentra alterada en pacientes con tinnitus.

Proponemos que los sujetos con tinnitus tendrán una alteración del reflejo olivococlear de tronco encefálico y de las vías descendentes de la corteza auditiva. Además, obtendrán peores resultados en tareas de atención visual selectiva con distractores auditivos en comparación con los sujetos control. La alteración del reflejo olivococlear se estudiará con ruido blanco contralateral y DPOAE, mientras que la función de las vías corticofugales se estudiará con una tarea que alterna entre atención visual y auditiva, con medición simultánea de EEG y DPOAE.

Objetivos

Generales:

Estudiar la modulación de las respuestas cocleares (*DPOAEs*) por circuitos de tronco encefálico con ruido blanco contralateral y por circuitos corticofugales durante una tarea de atención visual selectiva junto a la actividad cortical (EEG) en sujetos control y tinnitus.

Específicos:

- Determinar si existen diferencias en el reflejo olivococlear de tronco encéfalo en sujetos controles y tinnitus.
- Determinar si existen diferencias en el desempeño en tareas de atención selectiva entre sujetos control y sujetos con tinnitus.
- Determinar si existen diferencias en la actividad cortical entre sujetos con tinnitus y sujetos control durante una tarea de atención selectiva a través de registros de EEG.
- Determinar si existen diferencias en la actividad periférica (cóclea) entre sujetos con tinnitus y sujetos control durante una tarea de atención selectiva a través del registro de *DPOAEs*.
- Correlacionar las modulaciones de las *DPOAEs* con las del EEG durante la tarea de atención selectiva.

MATERIALES Y MÉTODOS

Criterios de inclusión:

- Adultos entre 18 y 60 años.
- Lateralidad diestra.
- Tinnitus no pulsátil persistente crónico (>3 meses) uni o bilateral.
- Sin tratamiento de tinnitus.
- Audición dentro de los rangos normales (<25 dB HL) en todas las frecuencias en audiometría tonal (0,5-4 kHz)

Criterios de exclusión:

- Exposición a ruido.
- Exposición a ototóxicos o uso de medicamentos ototóxicos.
- Audición fuera de los rangos normales (>25 dB).
- Historial de patologías auditivas o neurológicas.

Sujetos experimentales y procedimiento general

Todos los participantes firmaron un consentimiento informado aprobado por el comité de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile y las pruebas fueron llevadas a cabo en la sala de potenciales evocados auditivos del Hospital Clínico de la Universidad de Chile que cuenta con una jaula de Faraday y doble muralla sonoamortiguada, condiciones idóneas de aislamiento para efectuar registros electrofisiológicos y auditivos. Todos los sujetos se sometieron a una audiometría para corroborar que sus umbrales auditivos cumplieran con los criterios de inclusión en el

estudio, adicionalmente se efectuó la revisión del canal auditivo externo y la membrana timpánica con el uso de un otoscopio para descartar la presencia de tapones de cerumen u otras condiciones que pudieran afectar los registros.

Debido a la alta prevalencia de trastornos ansiosos en pacientes con tinnitus, previo a la realización de la prueba y registros principales de este estudio se pidió a cada sujeto que contestara la encuesta STAI (*State-Trait Anxiety Inventory*: Spielberger, C.D., *et al.*, 1982) con el objetivo de indagar los niveles de ansiedad-rasgo que estos presentaban. El cuestionario *STAI* posee preguntas con respuestas graduadas de 1 a 4 haciendo alusión a la severidad de la afectación, donde un puntaje de 1 está asociado a la respuesta “casi nunca”, 2 a “algunas veces”, 3 a “frecuentemente” y 4 a “casi siempre”. Adicionalmente, los sujetos del grupo tinnitus debieron contestar la encuesta THI (*Tinnitus Handicap Inventory*: Newman, G.H., *et al.*, 1996) para evaluar el impacto de la condición en su calidad de vida. La encuesta *THI* evalúa el impacto psicológico, social y las posibles incapacidades derivadas del padecimiento del tinnitus. Consiste en 25 preguntas con respuestas “sí”, “a veces” y “no” con puntajes asignados de 4, 2 y 0 respectivamente. El puntaje obtenido al sumar los resultados en cada pregunta entrega un número entre 0 y 100 el que se utiliza para estimar el grado de impacto de la enfermedad clasificando al paciente en uno de cinco niveles, a saber, grado 1: muy leve (0 a 16 puntos), grado 2: leve (18 a 36 puntos), grado 3: moderado (38 a 56 puntos), grado 4: severo (58 a 76 puntos) y grado 5: catastrófico (78 a 100 puntos).

Los sujetos efectuaron una prueba que presentaba alternadamente *trials* que requerían prestar atención a estímulos en las modalidades visual o auditiva, durante este procedimiento fueron llevados a cabo registros de electroencefalograma (EEG de 32 canales) y registros de emisiones otoacústicas. Un experimento completo consistía en 4

bloques, de 44 *trials* y aproximadamente 8 minutos cada uno, los que entregaron un total de 176 *trials* por modalidad.

Finalmente se procedió al montaje de los equipos de registro y a la etapa de calibración, a través de un DPOAE-grama (1,25 – 16 kHz), que tuvo como objetivo seleccionar los tonos con frecuencias f_1 y f_2 que fueron utilizados para estimular el sistema auditivo de cada sujeto con el fin de evocar la emisión otoacústica producto de distorsión (DPOAE). Estos tonos se presentaron de manera continua durante cada uno de los bloques experimentales exceptuando un breve período que será explicado más adelante.

Montaje experimental y equipos de registro

La sala de potenciales evocados auditivos del Hospital Clínico de la Universidad cuenta con aislación eléctrica y doble aislación acústica. Se pueden distinguir dos sectores dentro de la sala:

- Sector A (de doble aislación acústica): donde se encuentra el sujeto experimental y se llevan a cabo los registros, el experimentador puede observar este sector a través de un “vidrio espía”.
- Sector B (de aislación acústica simple): lugar donde se encuentra el experimentador y desde donde se controla el curso de cada bloque experimental.



Figura 4. Dos vistas de la sala de registros indicando las zonas mencionadas en la descripción.

Para la estimulación y registros de la actividad auditiva periférica se utilizó el equipo de Etymotic Research® (ER10-C), especializado en el registro de emisiones otoacústicas en humanos que consiste en un audífono con dos canales de salida para la emisión de tonos y un tercer canal de entrada que actúa como un micrófono de alta sensibilidad. Para garantizar una adecuada aislación del conducto auditivo externo se utilizaron tapones para oídos de esponja con memoria especialmente diseñados para la configuración espacial de los tres canales.

Los registros electrofisiológicos se realizaron utilizando un EEG de 32 canales, con referencia en el lóbulo contrario al que se realizaron los registros auditivos, más 4 electrodos que sirvieron como electrooculograma (EOG vertical y horizontal). Estas señales fueron digitalizadas utilizando preamplificadores de la marca Tucker-Davis

Technologies®, específicamente PZ3 (para EEG) y RA4PA (EOG). Para el EEG se ocuparon electrodos de Ag/AgCl húmedos con forma de anillo posicionados sobre una capa de la marca EasyCap® la cual estaba disponible en tres tamaños (56, 58 y 60) y se seleccionaba midiendo la circunferencia craneana de cada sujeto, las posiciones de los electrodos fueron elegidas en conformidad al sistema estándar 10-20 y se seleccionó el electrodo AFz como tierra. Los electrodos de EOG, del mismo tipo que los electrodos de EEG, se colocaron directamente en la piel, sobre y bajo el ojo izquierdo (vertical) y a ambos costados de la cabeza (horizontal) en el área debajo de las sienes, estos fueron fijados con cinta adhesiva. Por tratarse de electrodos húmedos fue necesario aplicar un gel electroconductor en la zona donde se posicionaron (ya sea del cuero cabelludo o de la cara) previamente limpiadas con alcohol. Antes de comenzar los registros se monitoreó que la impedancia de cada electrodo fuera de a lo más 5 k Ω . Un filtro pasa banda 0,1-100 Hz digital junto con un filtro *notch* a 50 Hz fueron aplicados. Las señales fueron filtradas y almacenadas con una tasa de muestreo de 1 kHz.

Los aparatos mencionados en lo precedente estaban localizados en el sector II de la sala de potenciales evocados auditivos.

Los equipos de registro, tanto auditivos como electrofisiológicos, se encontraban conectados al multiprocesador Tucker-Davis Technologies® modelo RZ6 y a una tarjeta multifuncional de adquisición de datos National Instruments® modelo NI6321. Ambos aparatos estaban ubicados en el sector I y se encontraban conectados a un computador de escritorio desde el cual se controlaba el curso de cada bloque experimental. Los estímulos y registros auditivo fueron llevados a cabo con ayuda del multiprocesador RZ6 a una tasa de muestreo de 48 kHz.

Un monitor de alta tasa de refresco (Samsung LED 23" 3D S23A700D, 100Hz) y un pulsador conectados al multiprocesador, con sus cables atravesando la pared desde un sector hacia el otro, fueron utilizados para la tarea de atención selectiva. El monitor fue posicionado frente al sujeto con el fin de proporcionar las visualizaciones implicadas en la tarea de atención selectiva visual y el pulsador se entregó al sujeto el cual debía asirlo para presionar el botón según las instrucciones tanto para la tarea en la modalidad visual como auditiva.

Experimentos y vías del sistema auditivo involucradas

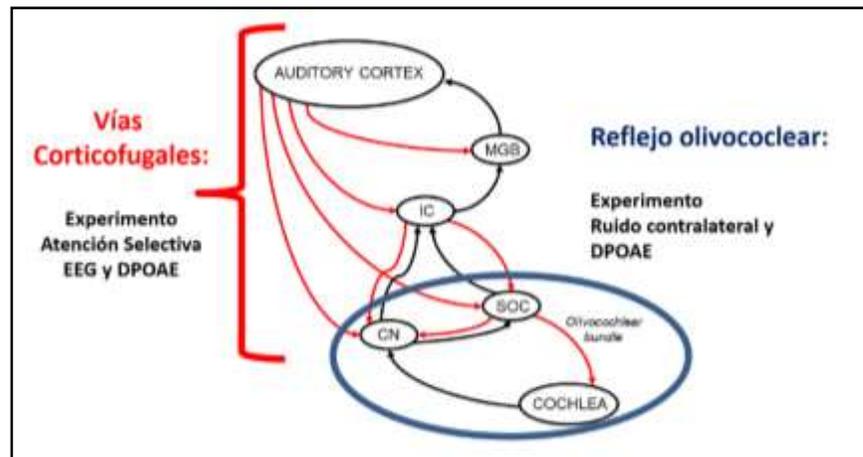


Figura 5. Vías del sistema auditivo involucradas en los dos experimentos que se describen a continuación.

(i) Evaluación del reflejo olivococlear contralateral (función eferente de tronco encefálico)

Se evaluaron las amplitudes de las *DPOAE* y el efecto supresor del reflejo olivococlear provocado con ruido contralateral para luego correlacionar sus valores con los puntajes obtenidos en las encuestas realizadas (*STAI* y *THI*) a los voluntarios del estudio. Para investigar el efecto supresor del reflejo olivococlear se midieron las amplitudes de las *DPOAE* de frecuencias 707, 891, 1122, 1414, 1781, 2244, 2828 y 3563 Hz. Se realizaron tres bloques, dos de los cuales se hicieron sin la presencia de ruido

contralateral y un bloque tercer bloque con ruido contralateral. Se calculó la diferencia entre las amplitudes de las emisiones, por frecuencia, obtenidas sin ruido contralateral con las obtenidas con la presencia de este. Debido a esto los resultados obtenidos de esta operación son números negativos y por lo tanto un mayor efecto supresor se asoció a un número negativo de mayor valor absoluto.

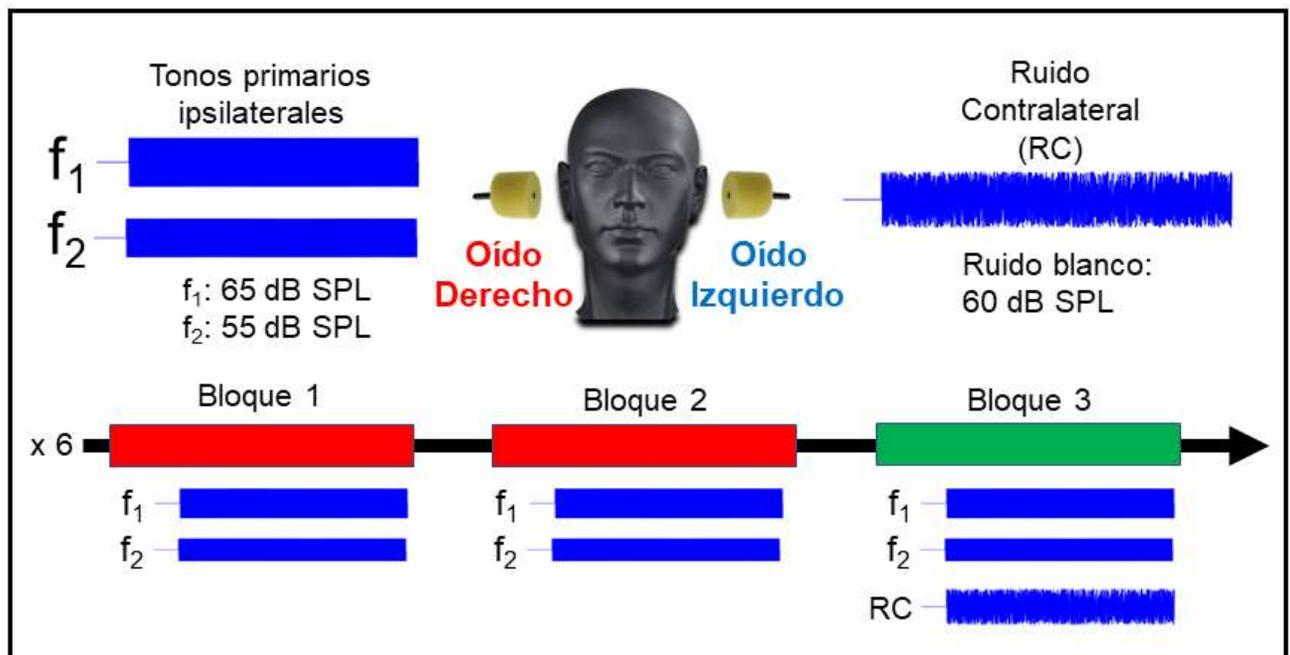


Figura 6. Esquema del experimento de evaluación del reflejo olivococlear. El diseño propuesto fue repetido en seis oportunidades para cada par de tonos primarios f_1 y f_2 .

(ii) **Evaluación de vías corticofugales durante atención selectiva:**

Tarea visual: Comenzaba con un período que no requería atención cuya duración, pseudo-aleatorizada, fue de entre 2000 y 2500 ms. Las instrucciones entregadas al sujeto indicaron que debía mantener el foco en el reloj de una manecilla, único objeto que se mostraba en el monitor. El reloj avanzaba de manera horaria a 1 Hz pasando por cada una de las 100 divisiones del círculo. Haciendo uso de las capacidades de la tarjeta multifuncional National Instruments® y del monitor de alta tasa de refresco se aseguró

la sincronización entre el *software* y la visualización para garantizar una percepción coherente del movimiento. En un punto durante el período de 2000-2500 ms anteriormente mencionado hacía aparición una corona de color verde alrededor del reloj (Figura 7) lo que marcaba el inicio del período de atención visual. Los sujetos fueron instruidos para reportar, de la forma más precisa posible, la posición de la manecilla del reloj al momento de la desaparición de dicha corona, lo que ocurría entre 1500 a 2500 ms luego de su aparición. Para señalar la posición en la cual los sujetos pensaban que se encontraba la manecilla del reloj al momento producirse la ausencia de la corona verde estos debían presionar y mantener presionado el botón del pulsador, el cual comenzaba a moverse de manera antihoraria a una velocidad reducida de 1/3 Hz, para luego soltarlo cuando esta alcanzara la posición que deseaban reportar como correcta. No se entregó retroalimentación al sujeto sobre la precisión en su respuesta. Al momento de soltar el botón del pulsador el reloj comenzaba a moverse de forma aleatoria entre las 100 divisiones del círculo que lo conformaba, la liberación del botón también marca el inicio del período de atención auditiva. Los tonos f_1 y f_2 utilizados para evocar las *DPOAE* sirvieron como distractores auditivos durante la tarea de atención selectiva visual.

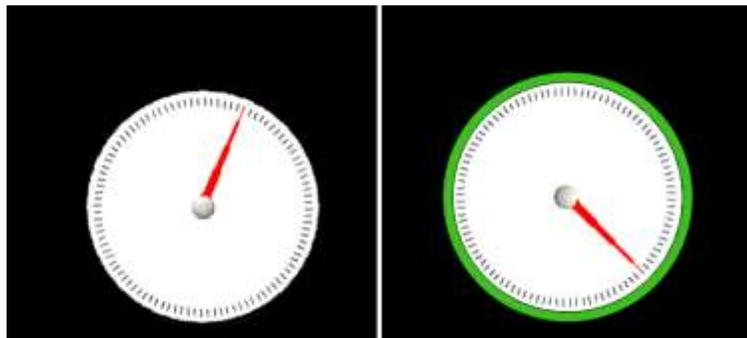


Figura 7. Ejemplo de la visualización durante la prueba. Derecha: reloj durante los períodos de atención visual (corona verde). Izquierda: reloj durante el resto del curso de la tarea.

Tarea auditiva: Al momento de producirse el cambio de la modalidad atencional visual a la auditiva, los sujetos fueron instruidos para reportar la presencia de un breve intervalo de silencio (de 2 a 4 ms), que interrumpía los tonos f_1 y f_2 el cual podía presentarse entre 1500 y 2500 ms después de ocurrido el cambio. Con el objetivo de indicar esto se debía presionar brevemente el botón del pulsador, el máximo tiempo de reacción permitido para registrar la respuesta fue de 1000 ms desde el comienzo de la ausencia de estimulación auditiva. Luego del reporte de la respuesta o del término del tiempo de reacción permitido la tarea pasaba nuevamente a la etapa visual inicial que no requería atención.

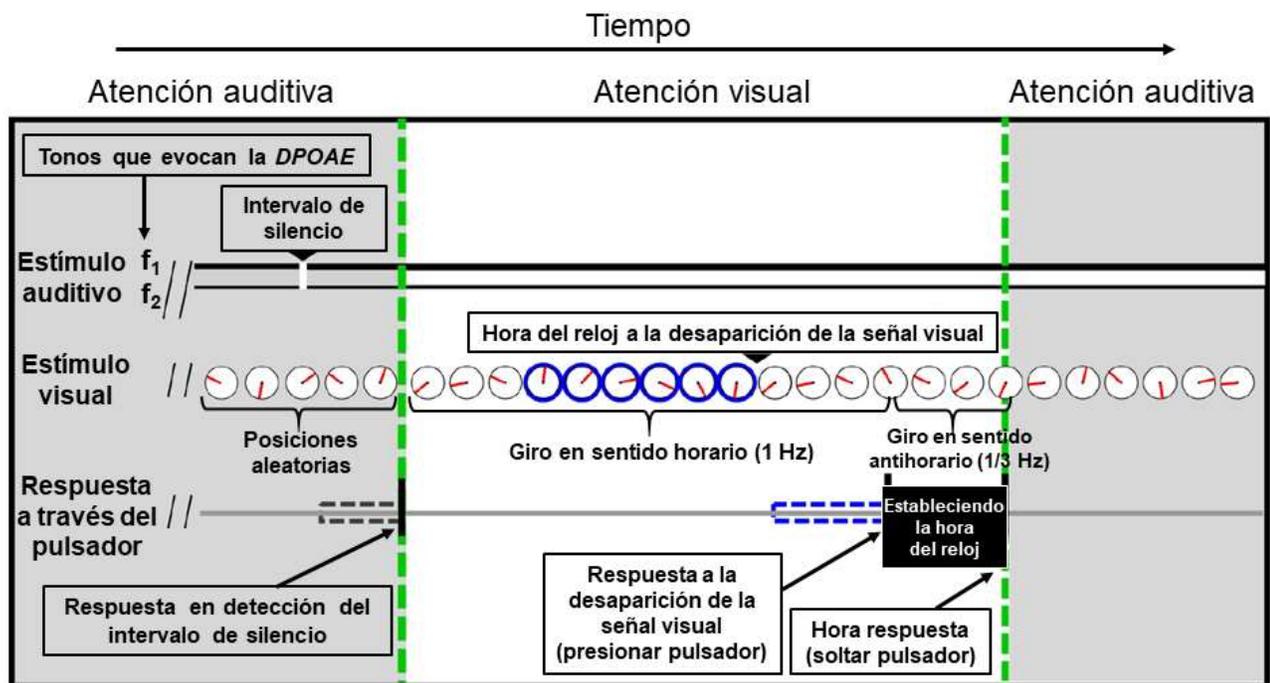


Figura 8. Experimento de evaluación de la función de las vías descendentes de la corteza auditiva del sistema eferente auditivo utilizando paradigmas de atención selectiva visual y auditiva, con registro simultáneo de EEG y DPOAE. Extraído y modificado de Dragicevic et al., 2019.

Selección de los tonos

Nueve pares de tonos con frecuencias f_1 y f_2 e intensidades L_1 y L_2 fueron generados dejando fija la intensidad L_2 y con f_2 logarítmicamente espaciado entre 1 y 4 kHz. Para determinar L_1 y f_1 se utilizaron las fórmulas propuestas en Johnson et al., (2006) con el objetivo de optimizar la amplitud y la razón señal-ruido de la emisión otoacústica evocada dados f_2 y L_2 . El primer procedimiento consistió en la calibración del equipo para cada una de las frecuencias buscando alcanzar un sonido constante en intensidad a un nivel de presión de 50 dB SPL. Posteriormente se realizó la medición de las emisiones otoacústicas producidas por los nueve pares de tonos y se seleccionó el par de tonos de manera manual eligiendo el que entregara la mejor respuesta basándose en las métricas anteriormente mencionadas (amplitud y razón señal ruido).

Bloques de entrenamiento

Luego de realizar el montaje de los equipos experimentales y las etapas de calibración y selección de los tonos se realizó a cada sujeto una ronda de entrenamiento que consistió, en la mayoría de los casos, en la mitad de un bloque experimental (alrededor de 22 *trials*). Esta fase podía ser repetida, de ser necesario, para garantizar la comprensión de la prueba por parte del sujeto.

Análisis de datos

Este estudio se dividió en dos partes, la primera tuvo como objetivo la evaluación del reflejo del tronco encefálico para indagar en la función de la sección más periférica del sistema eferente auditivo: las vías olivococleares. En la segunda parte, que incluye la tarea atencional, se investigó el funcionamiento del sistema eferente auditivo por completo, es decir, las vías descendentes desde la corteza hasta la cóclea.

Estudio sobre el reflejo olivococlear y su relación con ansiedad en tinnitus

Se utilizaron métodos de estadística descriptiva y pruebas paramétricas para realizar las comparaciones entre las variables observadas para ambos grupos separando por oído haciendo uso de la prueba de *t-student*, para las medidas que necesitaran la implementación de pruebas no paramétricas se utilizaron las pruebas de *Mann-Whitney* o *Wilcoxon*. Las comparaciones múltiples se llevaron a cabo mediante la prueba *ANOVA* de un factor.

Las correlaciones entre las variables relacionadas a mediciones audiológicas y los resultados obtenidos en las pruebas psicométricas se realizaron haciendo uso del test de *Pearson* para medidas paramétricas y del test de *Spearman* para medidas no paramétricas.

Para considerar los resultados como estadísticamente significativos se consideró, en todas las pruebas mencionadas en los dos párrafos precedentes, un nivel de 95% ($p < 0.05$).

Estudio sobre el sistema eferente auditivo durante una tarea de atención selectiva

Análisis del canal de DPOAE

Para el análisis del canal de emisiones otoacústicas solo se consideró la amplitud de este, la cual fue extraída de la señal cruda del micrófono calculando su envolvente con el uso de la transformada de Hilbert. La idea general de este método es la siguiente:

Sea $s(t)$ una señal con valores reales, la transformada de Hilbert es

$$H(s)(t) = \frac{1}{\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{s(u)}{t-u} du .$$

Considere

$$\sigma(t) = s(t) + i H(s)(t) ,$$

llamada la señal analítica de $s(t)$, una función del tiempo con valores complejos.

Para obtener la envolvente, que representa la amplitud de $s(t)$, es necesario calcular el valor absoluto de la señal analítica $\sigma(t)$, es decir:

$$Amplitud_{DPOAE} = |\sigma(t)| = |s(t) + i H(s)(t)| .$$

Cabe destacar que previo a la implementación de este procedimiento se aplicó un filtro de atenuación para las frecuencias fuera de una vecindad de la frecuencia de la emisión otoacústica evocada ($2F_1 - F_2$) con el objetivo de eliminar componentes que pudieran entorpecer su análisis, especialmente pensando en los tonos f_1 y f_2 . La amplitud se almacenó en un canal "virtual" y fue analizada en conjunto con los canales de registros electrofisiológicos a una tasa de muestreo común de 256 Hz. La figura 9 ilustra la localización de las frecuencias mencionadas en lo precedente.

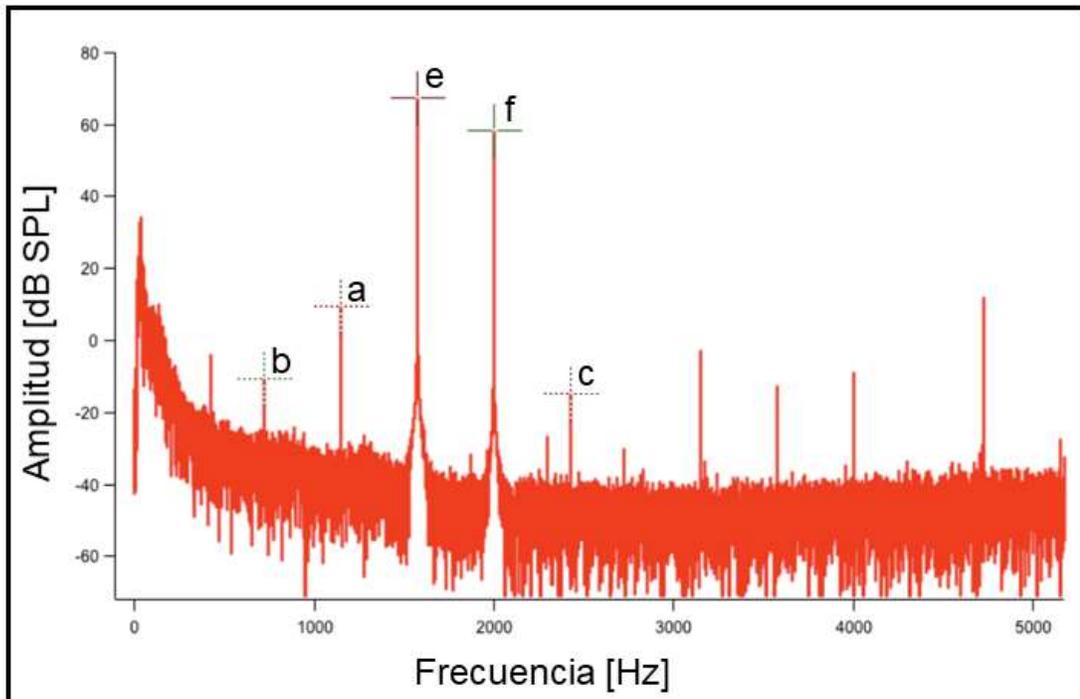


Figura 9. Espectro de la señal del micrófono. Las mayores amplitudes corresponden a los tonos que evocan las emisiones otoacústicas (e: f_1 , f: f_2). Para efectos de este estudio se consideraron las emisiones otoacústicas producto de distorsión cúbicas (a) las que se encuentran en la frecuencia $f = 2f_1 - f_2$, Adicionalmente, pueden observarse los productos en las frecuencias $3f_1 - 2f_2$ (b) y $2f_2 - f_1$ (c).

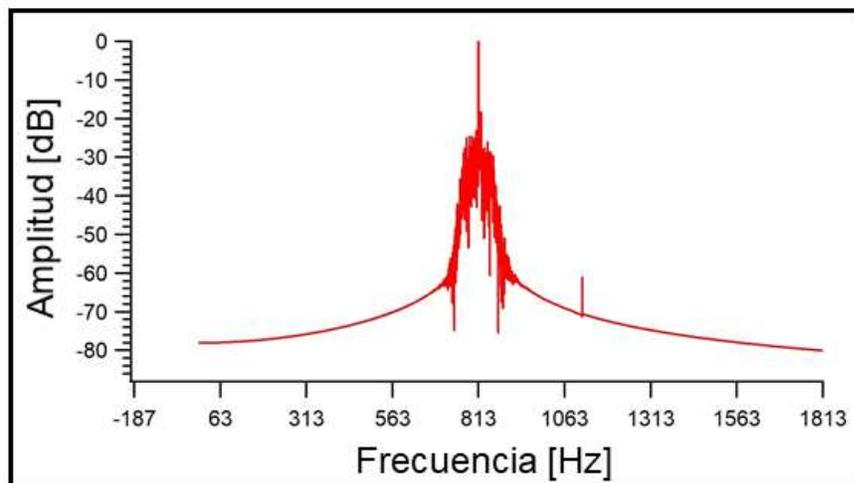


Figura 10. Espectro de la señal del micrófono filtrado previo a la aplicación de la transformada de Hilbert. El filtro está centrado en la frecuencia $2f_1 - f_2$ que se busca aislar y posee una respuesta plana sin atenuación en una vecindad de ± 50 Hz. En este ejemplo: $f_1=1114$ Hz, $f_2=1414$ Hz. $2f_1 - f_2 = 813$ Hz y $f_2 : f_1 = 1,27$.

Preprocesamiento

Cada *trial*, tanto auditivo como visual, se definió considerando un intervalo de ± 1500 ms con el 0 en el punto donde se requería el sujeto comenzara a prestar atención en cada modalidad. El momento de inicio de la atención visual estuvo marcado por la aparición de una corona verde alrededor del círculo que conformaba el reloj, el período de atención auditiva comenzaba al soltar el botón del pulsador para reportar la respuesta a la prueba visual momento en que el sujeto debía prestar atención a la presentación del intervalo de silencio.

El rechazo de *trials* con respecto al canal de DPOAE fue realizado de manera visual utilizando el *software* Igor 6 de Wavemetrics® observando su serie de tiempo y posicionando los cursores, tal como se observa en la figura 11, para así restringir el rango de amplitud.

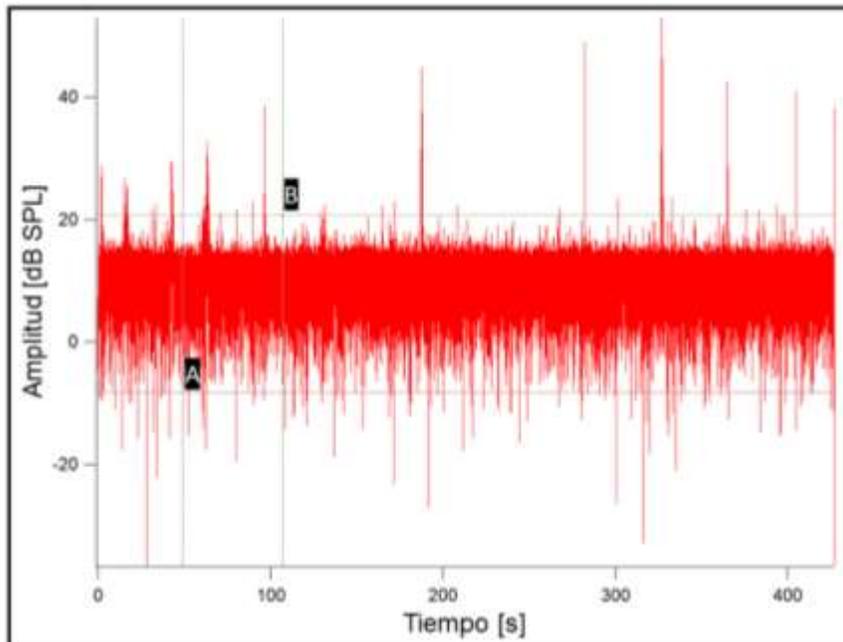


Figura 11. Rechazo manual de *trials* a través del curso temporal de la señal del micrófono (Igor). Posicionando los cursores A y B se seleccionan los límites inferior y superior, respectivamente, para la amplitud de la señal.

El rechazo de *trials* con respecto a los canales de registros electrofisiológicos fue realizado en dos etapas utilizando el *toolbox* de Matlab® EEGLAB y el programa de código abierto ELAN respectivamente. La primera etapa consistió en la implementación del método computacional ICA (*Independent Component Analysis*) que fue aplicado para aislar y eliminar los pestañeos y otras fuentes de ruido fisiológico que pudieran ensuciar los registros de la actividad cortical (por ej. el ritmo cardíaco), este método ubica topográficamente las fuentes para facilitar su identificación. En la etapa posterior, se procedió a la inspección visual *trial a trial* con el fin de eliminar artefactos debido a movimientos del sujeto u otros eventos ocasionales que no hubieran sido detectados en el paso anterior. Las interfaces de ambos programas se pueden observar en las figuras 12, 13 y 14.

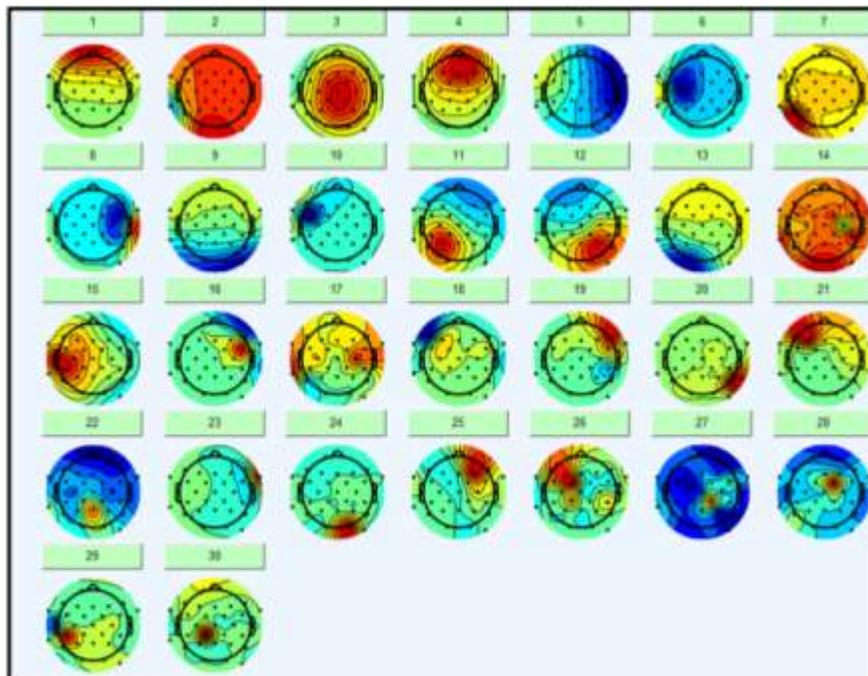


Figura 12. Interfaz *toolbox* de Matlab EEGLAB: Independent Component Analysis. 30 componentes determinadas como resultado de la aplicación del método ICA a partir de los datos entregados por 30 electrodos de EEG de un sujeto. Los mapas topográficos para cada componente muestran la localización de la fuente en la cabeza. La componente 1, con su fuente en la zona anterior, corresponde a los artefactos provocados por los pestañeos del sujeto y buscamos eliminarla para tener un registro más limpio.

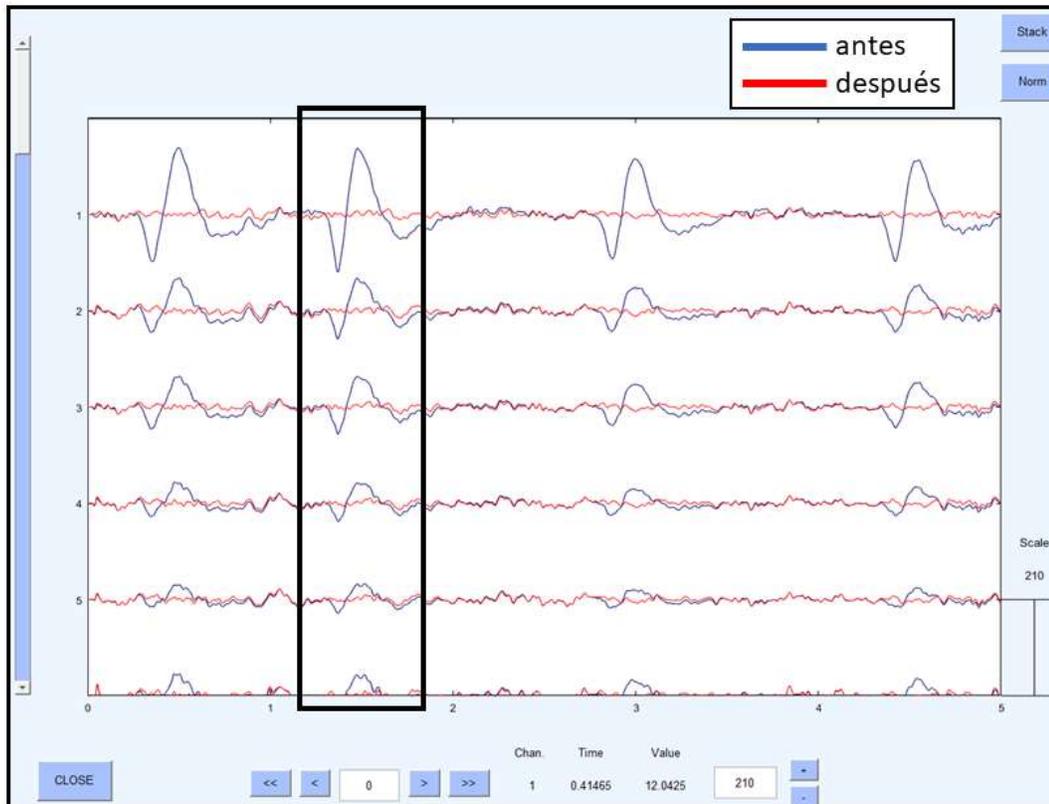


Figura 13. Interfaz *toolbox* de Matlab EEGLAB: Eliminación de pestaños. Comparación de las señales de los electrodos de EEG de un sujeto antes y después de la aplicación del método *ICA*. Azul: antes, rojo: después. Dentro del rectángulo negro se observa la forma estereotipada de la señal que corresponde a un pestaño, podemos ver como se propaga a través de los electrodos con mayor amplitud en el canal 1 correspondiente al electrodo prefrontal Fp1.

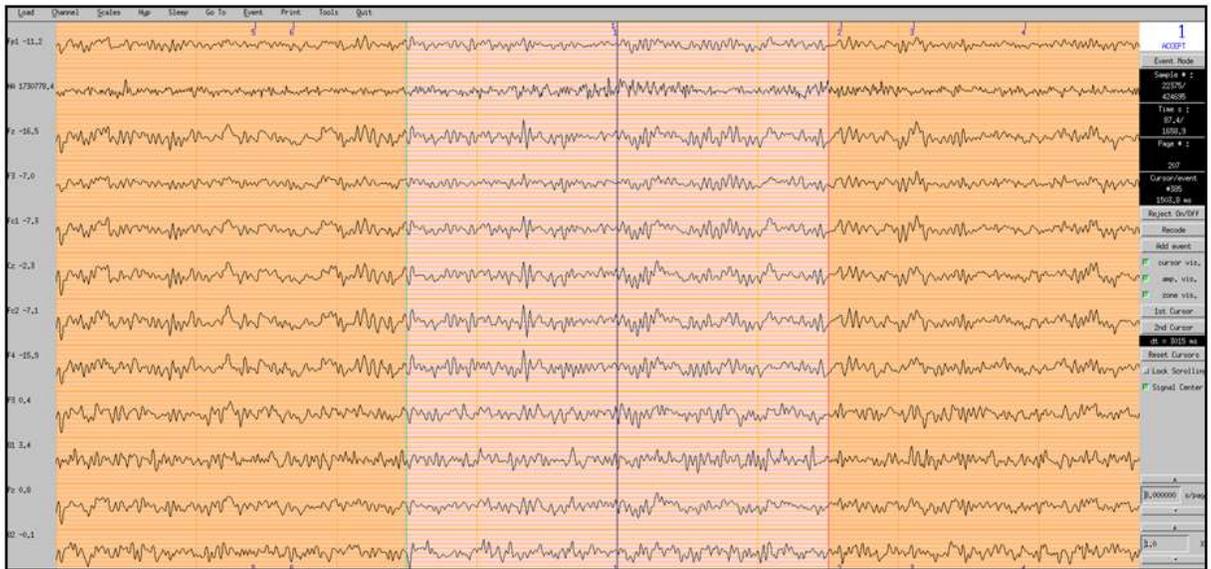


Figura 14. Interfaz de la aplicación EEG del software libre ELAN. Rechazo manual de *trials* de un sujeto considerando los canales de EEG y el canal coclear. La línea central representa el tiempo en que se produce un evento, las zonas destacadas antes y después, cada una de ancho 1500 ms, constituye uno de los *trials* considerados en el análisis. En la figura se muestra un *trial* aceptado.

Adicionalmente, por la presencia de un artefacto tipo clic de amplitud considerable con respecto al rango de la señal en una parte importante de los *trials* correspondientes a la prueba auditiva (localizado luego del tiempo 0 y posiblemente debido a que el inicio de la atención auditiva se correspondía con la liberación del botón para reportar la respuesta a la prueba visual), se escribió un código en Matlab® para la eliminación de *outliers* que a través de la interpolación con un polinomio cúbico redujo la amplitud de estos artefactos sin afectar las propiedades espectrales de la señal. Este procedimiento permitió aumentar la cantidad de *trials* no descartados. En la figura 15 un ejemplo ilustrativo de la implementación de este método.

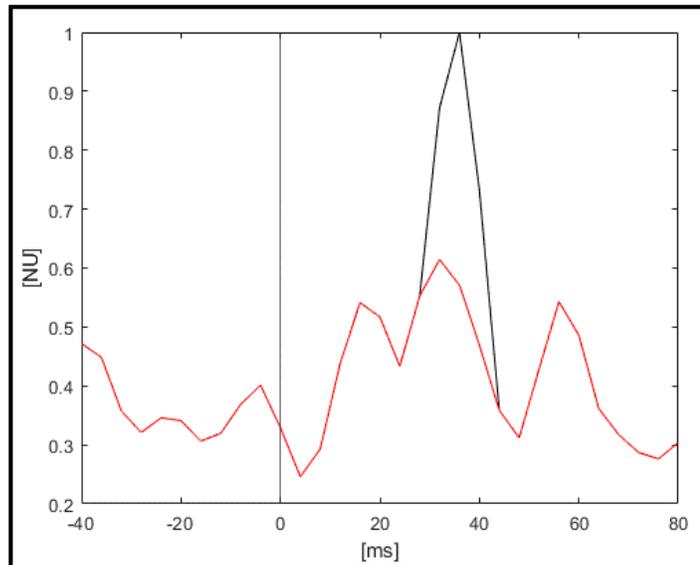


Figura 15. Implementación del método de remoción de *outliers* en *trials* auditivos. Para ilustrar el efecto del método se muestra una sección en torno a 0 ms del curso temporal de la señal reparada (en rojo) con la respectiva sección eliminada en negro.

Análisis conductuales: Desempeño en las pruebas

Los resultados de desempeño en la prueba visual en términos de precisión angular, agrupados por condición (tinnitus/control), se analizaron considerando cuánto se desvió la respuesta angularmente (en cada sujeto y en cada *trial*) con respecto a la posición efectiva donde se encontraba la manecilla del reloj, entre las 100 divisiones de este, al momento de la desaparición de la corona verde. Las estadísticas fueron realizadas en conformidad al *toolbox* de Matlab® CircStat para estadística circular presentado en Berens, P. (2009).

Para ambas pruebas se analizó la precisión de la respuesta en términos temporales agrupadas por condición (Tinnitus/Control).

Análisis en el dominio del tiempo

Se consideró, separando por condición (tinnitus/control) y por modalidad sensorial (visual/auditiva), el promedio de los *trials* por sujeto y luego el promedio de los sujetos con el fin de analizar los potenciales relacionados a eventos en cada canal cortical como también la forma de señal del canal de emisiones otoacústicas.

Análisis en el dominio de la frecuencia

Tanto para los canales corticales como para el canal de emisiones otoacústicas se utilizaron tres diferentes medidas, para cada una de ellas se consideraron las frecuencias entre 1 y 50 Hz con intervalos de 1 Hz.

1.- Valores espectrales promediados de Z: Por sujeto el espectro de cada *trial* fue calculado con el uso de un método de ondículas (*wavelets* en inglés), y los valores de Z fueron extraídos utilizando el período de -1500 a 0 ms como referencia. El valor de Z para cada punto entre los 0 y 1500 ms se obtuvo por *trial* dividiendo la diferencia entre el valor de la señal en el punto y el promedio de la señal en el período de referencia por la desviación estándar del período de referencia, llamando *s* a la señal y *p* a un punto en entre los 0 y 1500 ms:

$$Z(p) = \frac{s(p) - \overline{s[-1500, 0]}}{\text{std}(s[-1500, 0])} .$$

Posteriormente se calculó el promedio de los espectros de cada *trial* por sujeto. Finalmente, de manera análoga al análisis en el dominio temporal, se obtuvieron los promedios separando por condición y por modalidad sensorial.

2.- Valores inter-*trial* de phase locking: Este valor entrega un indicador del grado de alineamiento de fase entre los distintos *trials* considerando la fase de cada frecuencia y dejando de lado su amplitud. Esta medida se obtuvo por sujeto para luego promediarse

por condición y por modalidad. Sus valores van entre 0 y 1 señalando nulo y total acoplamiento respectivamente.

3.- Gráfico de áreas de significancia estadística: Esta medida se deriva de los valores espectrales promediados de Z y busca establecer una comparación para un canal dado del resultado obtenido en dicho indicador entre condiciones o entre modalidades, es decir, indagar en las diferencias existentes al cotejar los valores de Z para tinnitus y controles (para una misma modalidad sensorial) o los valores de Z para la modalidad visual y auditiva dentro de un mismo grupo de sujetos. Las comparaciones se hicieron píxel a píxel encerrando las áreas donde las diferencias fueran estadísticamente significativas para los valores umbrales de $p < 0,05$ y $0,01$ acorde a la prueba no-paramétrica de Kruskal-Wallis.

RESULTADOS

Descripción general y umbrales auditivos con audiometría y DPOAE

Se reclutaron un total de 58 sujetos, incluyendo 32 pacientes con tinnitus y 26 controles. El promedio de edad de los sujetos con tinnitus fue de $40,3 \pm 11,8$ años y 26 pacientes control de $34,2 \pm 9,1$ años (diferencia significativa, $p=0,03$). Los pacientes con la patología presentaron bilateralmente la afectación en el 37,5% de los casos, 34,4% solo en el oído izquierdo y 28,1% solo en el oído derecho.

El promedio de los umbrales perceptuales auditivos (PTP) se dividió en dos secciones: 0,5-4 kHz (baja frecuencia) y 9-16 kHz (alta frecuencia). Para las bajas frecuencias, los umbrales promedio del grupo tinnitus fue de $9,5 \pm 5,7$ dB en el oído derecho y $8,1 \pm 5,6$ dB en el oído izquierdo. Para el grupo control, los valores reportados fueron de $10,8 \pm 5,5$ dB y $9,0 \pm 5,2$ dB, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas en el PTP para bajas frecuencias al realizar la comparación entre el grupo control y los pacientes con tinnitus (oído derecho: $p=0,62$; oído izquierdo: $p=0,50$, *t-student*).

Por otro lado, los umbrales para las altas frecuencias resultaron significativamente mayores (oído derecho: $p=0,01$; oído izquierdo: $p=0,007$, *t-student*) para el grupo tinnitus: $34,8 \pm 24,4$ dB en el oído derecho y $35,1 \pm 23,7$ dB para el oído izquierdo; mientras que para el grupo control $20,4 \pm 17,3$ dB en el oído derecho y $17,8 \pm 13,6$ dB en el oído izquierdo.

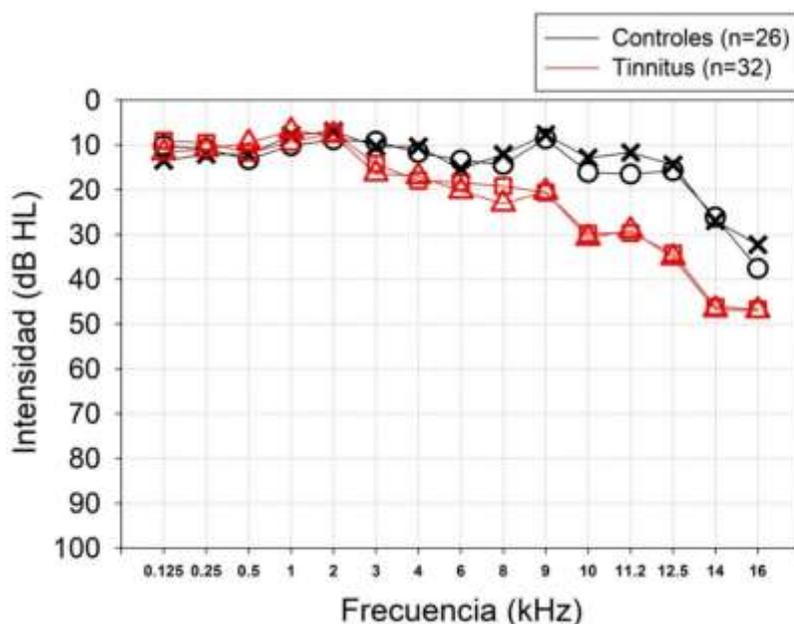


Figura 16. Audiometría promedio de pacientes con tinnitus (rojo) y controles (negro). Los oídos derechos se muestran con triángulos y círculos, y los oídos izquierdos con cruces y cuadrados. Los pacientes con tinnitus tienen peores umbrales que los controles para frecuencias de 9 a 16 kHz.

Se analizó la amplitud de las *DPOAE* a través de la variación de la frecuencia de uno de los tonos que las evocan (f_2), encontrándose diferencias significativas para las frecuencias de 2786 Hz (oído derecho: $p=0,04$; oído izquierdo: $p=0,007$) y 3508 Hz (oído derecho: $p=0,03$; oído izquierdo: $p=0,04$). En la tabla 1 se muestran los valores obtenidos para cada una de las ocho frecuencias consideradas, mientras que en la figura 17 se observa un gráfico de los datos.

f_2 [Hz]	Tinnitus		Controles		p	p
	OD (dB SPL)	OI (dB SPL)	OD (dB SPL)	OI (dB SPL)		
1105	8,81 ± 6,88	9,35 ± 5,77	7,11 ± 7,20	10,69 ± 6,78	0,20	0,45
1393	9,27 ± 7,18	10,01 ± 6,13	9,90 ± 5,98	9,59 ± 6,63	0,73	0,81
1754	6,61 ± 7,26	8,44 ± 6,59	7,55 ± 4,94	8,56 ± 4,94	0,56	0,93
2210	4,17 ± 7,02	3,92 ± 7,69	5,57 ± 5,72	6,40 ± 4,90	0,42	0,16
2786	0,61 ± 6,22	0,77 ± 6,44	4,04 ± 5,86	5,33 ± 5,11	0,04*	0,007*
3508	1,16 ± 6,48	1,97 ± 6,93	4,16 ± 6,56	5,43 ± 5,78	0,03*	0,04*
3624	2,05 ± 7,04	2,24 ± 7,20	3,73 ± 6,33	5,56 ± 6,75	0,38	0,09
4568	3,13 ± 6,10	1,90 ± 7,66	2,19 ± 7,24	3,70 ± 6,33	0,64	0,38

Tabla 1. Amplitudes promedio de las *DPOAEs* en los grupos tinnitus y control. OD: oído derecho, OI: oído izquierdo.

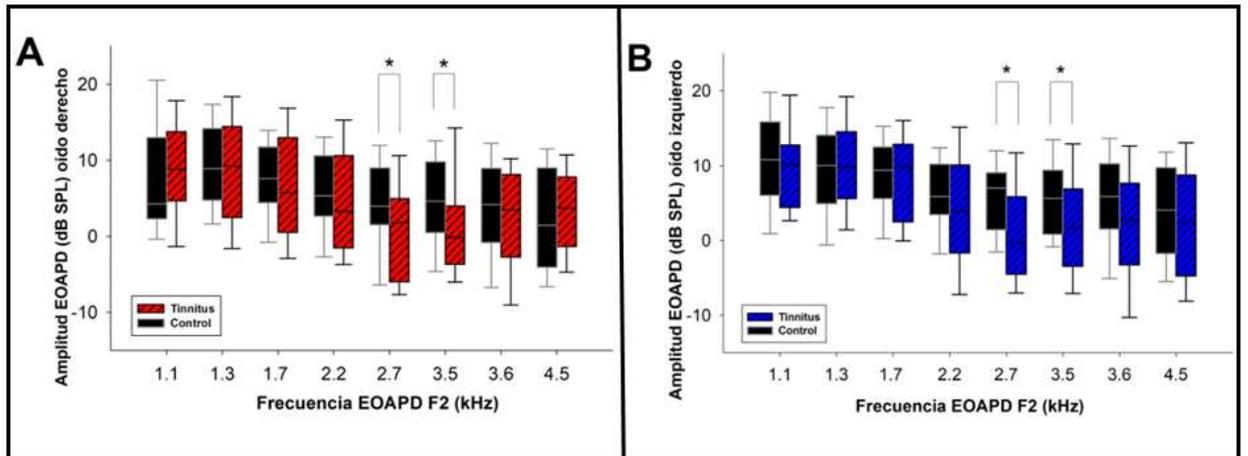


Figura 17. Amplitudes de las DPOAEs en tinnitus y controles. A: oído derecho, B: oído izquierdo. Se observan diferencias significativas en forma bilateral para las frecuencias de 2786 y 3508 Hz (* $p < 0,05$).

(i) Función de tronco encéfalo evaluada con el reflejo olivococlear contralateral

Para evaluar el efecto del reflejo olivococlear del tronco encefálico se calculó la diferencia de las amplitudes de las DPOAE para cada uno de los tonos f_2 en presencia y ausencia de ruido contralateral. No se encontraron diferencias significativas entre pacientes con tinnitus y sujetos controles para ninguna de las frecuencias evaluadas, los valores se encuentran disponibles en la tabla 2.

f_2 [Hz]	Tinnitus		Controles		p	p
	OD (dB)	OI (dB)	OD (dB)	OI (dB)		
1105	-0,75 ± 0,89	-0,76 ± 1,28	-0,63 ± 1,23	-0,62 ± 1,00	0,78	0,68
1393	-0,56 ± 0,69	-0,92 ± 0,76	-0,73 ± 1,07	-0,59 ± 1,16	0,77	0,36
1754	-0,76 ± 1,10	-1,03 ± 1,07	-0,57 ± 0,83	-0,50 ± 0,95	0,49	0,06
2210	-0,45 ± 0,86	-0,41 ± 1,20	-0,70 ± 1,20	-0,62 ± 0,80	0,36	0,46
2786	-0,43 ± 1,12	-0,46 ± 1,21	-0,36 ± 0,88	-0,47 ± 0,61	0,80	0,95
3508	-0,69 ± 1,19	-0,23 ± 0,87	-0,33 ± 0,86	-0,31 ± 0,46	0,22	0,68
3624	-0,12 ± 0,68	-0,32 ± 0,58	-0,41 ± 0,62	-0,19 ± 0,74	0,12	0,98
4568	-0,19 ± 0,56	-0,01 ± 0,87	-0,14 ± 0,90	-0,27 ± 0,56	0,26	0,58

Tabla 2. Magnitud del efecto supresor del reflejo olivococlear en la amplitud de las DPOAEs en tinnitus y controles. No se encontraron diferencias significativas. OD: oído derecho, OI: oído izquierdo.

Encuestas de ansiedad y calidad de vida (STAI y THI)

Con respecto a los resultados de la encuesta *STAI* (medición de ansiedad-rasgo) aplicada a la totalidad de los sujetos experimentales, el conjunto de pacientes con tinnitus reportó un puntaje de $37,56 \pm 9,28$ y el grupo control obtuvo un puntaje de $35,92 \pm 11,31$ (diferencia no significativa, $p=0,33$). El cuestionario *THI*, aplicado al grupo Tinnitus, el puntaje promedio fue de $31,25 \pm 19,22$ puntos. Al ser agrupados según la escala de evaluación de impacto del Tinnitus, 20 de los sujetos obtuvieron puntajes que permitió catalogarlos dentro del grupo “muy leve-leve”, mientras que los 12 restantes pertenecieron al grupo “moderado-severo”. Considerando estas últimas agrupaciones, se indagó en la relación existente entre los resultados de ambas encuestas y se encontró que los pacientes del grupo “muy leve-leve” tenían un puntaje en la prueba *STAI* de $33,25 \pm 6,99$ y los catalogados dentro de “moderado-severo” obtuvieron un puntaje de $44,75 \pm 8,26$. La realización una prueba estadística entregó una diferencia significativa para estos últimos valores ($p=0,02$, *Mann-Withney*).

Al analizar las amplitudes de las *DPOAE*, el grupo “muy leve-leve” alcanzó un promedio de $4,89 \pm 4,79$ dB SPL en el oído derecho y $4,18 \pm 5,75$ dB SPL en el oído izquierdo. El grupo “moderado-severo” obtuvo un puntaje promedio de $3,43 \pm 5,64$ dB SPL en el oído derecho y $5,09 \pm 4,53$ dB SPL en el oído izquierdo. Al comparar no se encontraron diferencias significativas para ninguno de ambos oídos (derecho: $p=0,44$, izquierdo: $p=0,64$, *t-student*).

En cuanto al efecto supresor del reflejo olivococlear, el grupo “muy leve-leve” obtuvo un promedio de $-0,59 \pm 0,45$ dB SPL en el oído derecho y $-0,81 \pm 0,34$ dB SPL en el oído izquierdo. El conjunto de sujeto catalogados dentro de “moderado-severo” alcanzó un promedio de $-0,41 \pm 0,36$ dB SPL en el oído derecho y $-0,10 \pm 0,35$ dB SPL

en el oído izquierdo. Al comparar ambos grupos se obtuvo diferencias significativas solo para el oído izquierdo (izquierdo: $p < 0,01$, derecho: $p = 0,25$, *t-student*).

A través de una prueba *ANOVA* se realizó una comparación múltiple entre los grupos control, “muy leve-leve” y “moderado-severo” de los promedios del efecto supresor del reflejo olivococlear en el oído izquierdo para lo cual se obtuvo una diferencia significativa ($p < 0,01$). Luego de esto, haciendo el uso de la prueba de Bonferroni, se hallaron diferencias significativas en la amplitud de las *DPOAE* en el oído izquierdo encontrando que estas eran menores en el grupo control comparado con el grupo “muy leve-leve” ($p = 0,02$) y mayores en el grupo control comparado con el grupo “moderado-severo” ($p = 0,013$). No se encontraron diferencias significativas en las mismas mediciones para el oído derecho.

Finalmente, se indagó en las posibles correlaciones existentes entre las amplitudes de las *DPOAE* y el efecto supresor del reflejo olivococlear con los puntajes obtenidos en los cuestionarios *THI* y *STAI*. Se encontraron correlaciones significativas entre la magnitud del efecto supresor en el oído izquierdo y los puntajes obtenidos en ambas encuestas en pacientes con Tinnitus, no así para el oído derecho (Figura 18).

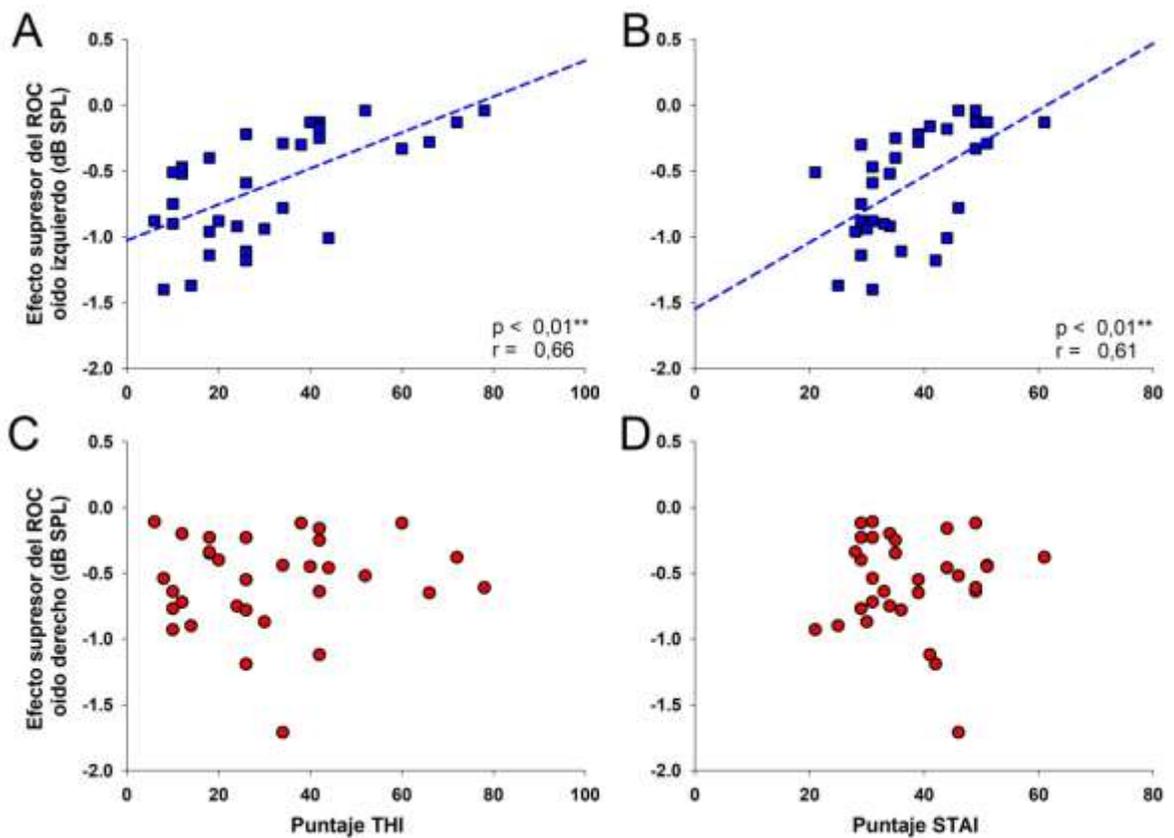


Figura 18. Relación para pacientes con Tinnitus entre la magnitud del efecto supresor del reflejo olivococlear y los puntajes obtenidos en los cuestionarios *THI* y *STAI*. Oído derecho: rojo, oído izquierdo: azul. A, C: Puntaje *THI*. B, D: Puntaje *STAI*. Se observan correlaciones significativas entre estas mediciones solo para el oído izquierdo.

De esta forma, podemos concluir que en la primera parte de esta investigación no hubo diferencias significativas en la magnitud del reflejo olivococlear de tronco encefálico al comparar pacientes con tinnitus y controles. Por otro lado, encontramos una correlación significativa entre la magnitud del reflejo supresor y el puntaje de prueba *THI* y *STAI* del oído izquierdo.

(ii) Función de las vías auditivas corticofugales durante atención selectiva

Para este experimento se analizó una submuestra de 28 sujetos, incluyendo, 14 con tinnitus con un promedio de edades de $38,1 \pm 9$ años y 14 controles de $34,2 \pm 8$ años (diferencia no significativa, $p=0,23$) que cumplieron con todas las especificaciones contempladas en los criterios de inclusión y cuyos registros electrofisiológicos y auditivos fueron lo suficientemente buenos en cuanto a la calidad de las señales lo que se refleja en un número de *trials* no descartados de al menos 45. Los sujetos fueron identificados con un código de dos letras. En la siguiente tabla se especifica el número de *trials* por sujeto considerado en el análisis.

Tinnitus	N° de <i>trials</i>		Controles	N° de <i>trials</i>	
Identificador	Visual	Auditivo	Identificador	Visual	Auditivo
CI	137	69	AM	125	83
CO	85	70	AX	111	120
CP	104	94	BR	122	87
DR	138	157	CA	108	103
FS	88	89	CB	103	105
HM	54	43	CD	104	108
JE	102	109	CH	124	78
JM	56	61	EM	89	140
JR	129	148	JA	136	66
LL	87	77	JC	104	50
MA	84	126	MM	153	92
MS	62	54	MO	62	70
NG	125	107	PP	120	113
RI	108	105	SS	61	46
Total	1359	1309	Total	1522	1261

Tabla 3. Sujetos experimentales y número de trials utilizados en el análisis por cada modalidad sensorial. 14 sujetos en el grupo tinnitus y 14 sujetos en el grupo de control.

Resultados conductuales

A través de las respuestas a la prueba de atención selectiva visual registradas de los 28 sujetos utilizados en este experimento se analizó, separando según el grupo al que correspondían (tinnitus/control) y con el objetivo de determinar si existían diferencias en el desempeño entre ambos grupos, la precisión en la respuesta angular. Los resultados para cada grupo se muestran en la figura 19.

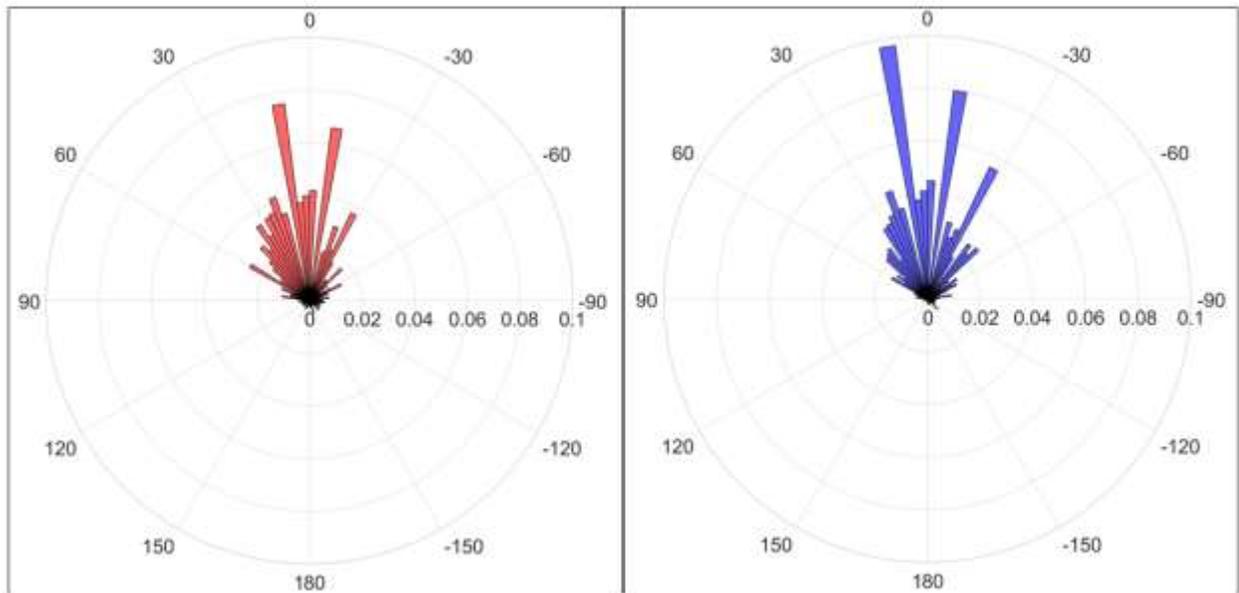


Figura 19. Histogramas circulares normalizados. Tinnitus: rojo, controles: azul. El eje radial representa la probabilidad de cada ángulo. El ángulo de 0° representa la respuesta correcta en la prueba de atención selectiva visual por lo que los ángulos presentados indican la magnitud de la desviación con respecto a dicha respuesta.

Para indagar en las diferencias estadísticas entre las respuestas de ambos grupos se utilizaron las funciones disponibles en el *toolbox* de Matlab® CircStat para estadística circular, las cuales entregaron los indicadores de media circular, mediana circular, magnitud del vector resultante, la prueba de simetría con respecto a la mediana para cada grupo y la prueba de comparación de medianas que tiene como objetivo determinar si las diferencias entre los grupos son estadísticamente significativas. Esta

última es un análogo circular de la prueba no-paramétrica de Kruskal-Wallis y la única prueba que se pudo implementar debido a que estos datos no se encuentran uniformemente distribuidos alrededor del círculo.

Estadística descriptiva: En cuanto a las medias circulares el grupo Tinnitus obtuvo una media de $7,23^\circ$ con un intervalo de confianza $[5,55^\circ, 9,81^\circ]$ y el grupo control una media de $-1,43^\circ$ con un intervalo de confianza de $[-2,72^\circ, 0,1^\circ]$. Las medianas circulares resultaron de $10,8^\circ$ para el grupo Tinnitus y 0° para los sujetos control. La magnitud del vector resultante, es decir el vector suma de todas las respuestas angulares acumuladas, fue de 0,67 para Tinnitus y 0,77 para controles.

Estadística inferencial: La prueba de simetría alrededor de la mediana entregó un valor de $p=0,0089$ para Tinnitus y $p=0,3547$ para controles, lo que nos indica que para el grupo Tinnitus es posible descartar la hipótesis de que los datos estén simétricamente distribuidos en torno a la mediana, no así para el grupo control. Finalmente, la prueba de comparación de medianas dio como resultado un valor de $p=5,6 \times 10^{-8}$, lo que sugiere que existen diferencias significativas en el desempeño en la prueba de atención selectiva visual entre ambos grupos de sujetos, indicando una menor precisión en las respuestas con una tendencia a respuestas más tardías en el grupo de estudio.

La latencia de la respuesta, calculada como el valor absoluto de la diferencia entre el tiempo de presentación del *target* y el tiempo de la respuesta se calculó para ambas pruebas.

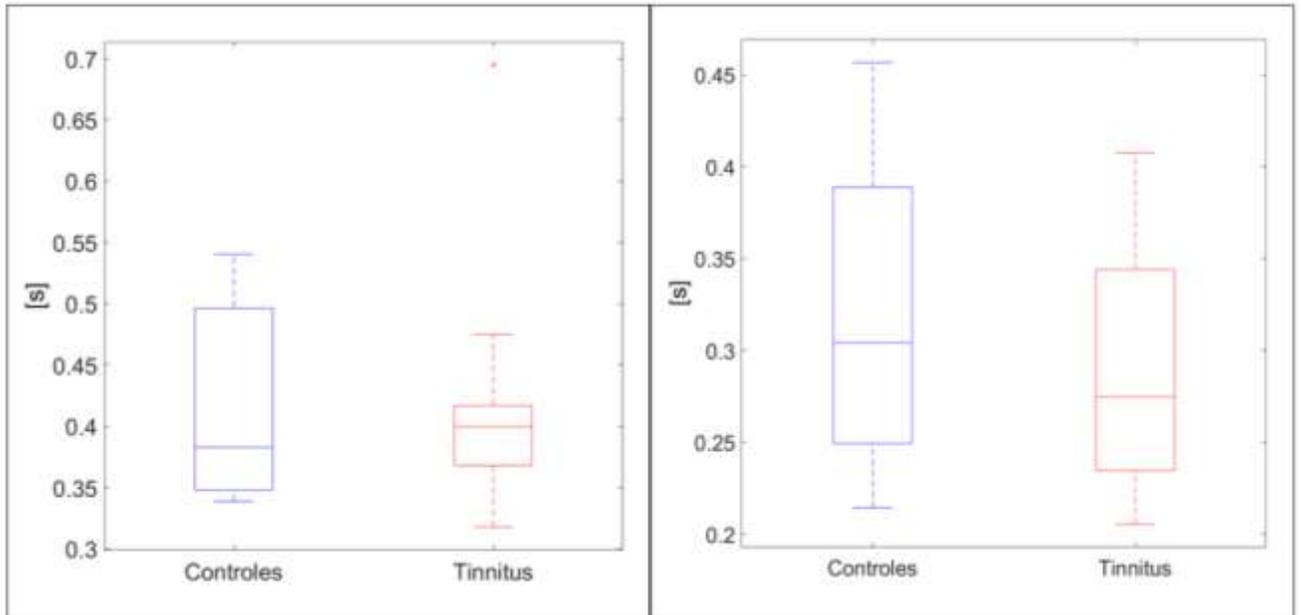


Figura 20. Latencia de las respuestas a la prueba de atención selectiva. Izquierda: *Boxplot* para las latencias de la prueba de atención selectiva visual agrupados por condición. Derecha: *Boxplot* para las latencias de la prueba de atención selectiva auditiva. Pese a observarse una tendencia a un menor tiempo de respuesta en el grupo Tinnitus no se encontraron diferencias significativas para ninguna de las dos modalidades (Visual: $p=0,98$, Wilcoxon Rank-sum test. Auditivo: $p=0,29$, t-test).

Registros electrofisiológicos

Dominio del tiempo

Potenciales relacionados a eventos

Para la prueba en la modalidad visual se analizaron los electrodos occipitales O1 y O2 que registran la actividad cortical de las áreas relacionadas a los procesos atencionales que involucran la visión.

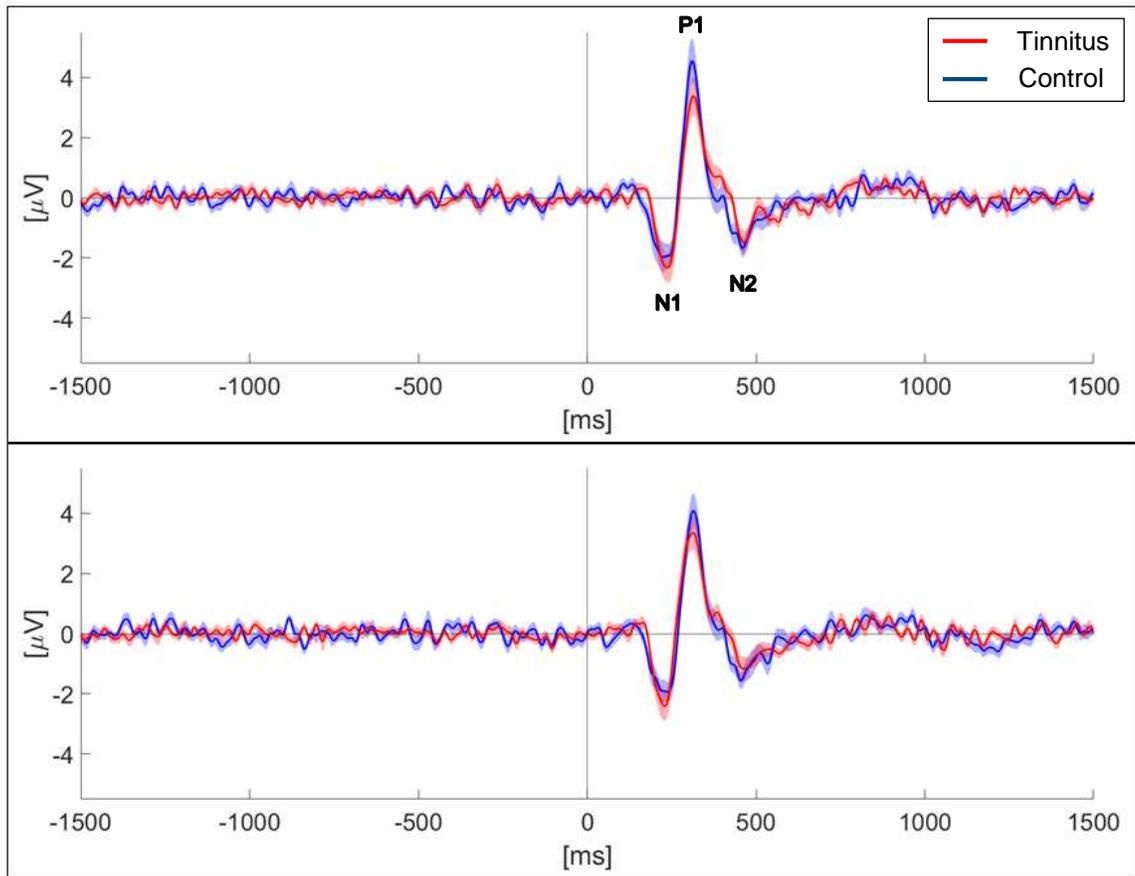


Figura 21. Arriba: Electrodo O1. Abajo: Electrodo O2. Grupo Tinnitus en rojo, grupo control en azul. Las líneas sólidas representan el promedio de 14 sujetos en cada condición, la franja transparente del correspondiente color alrededor de cada línea representa el error estándar. Se observan los potenciales visuales relacionados a eventos tal como se describen en la literatura, es posible identificar fácilmente los componentes N1, P1 y N2. Presentan similar amplitud y temporalidad para ambos grupos, al realizar las pruebas estadísticas pertinentes no se encontraron diferencias significativas en estos parámetros entre ambos conjuntos de sujetos.

En cuanto a la prueba en la modalidad auditiva se analizaron los potenciales relacionados a eventos registrados en el electrodo Cz el cual, debido a la geometría de la cabeza y a las propiedades del cuero cabelludo, registra la actividad de las áreas corticales temporales que están involucradas en los procesos atencionales que involucran la audición.

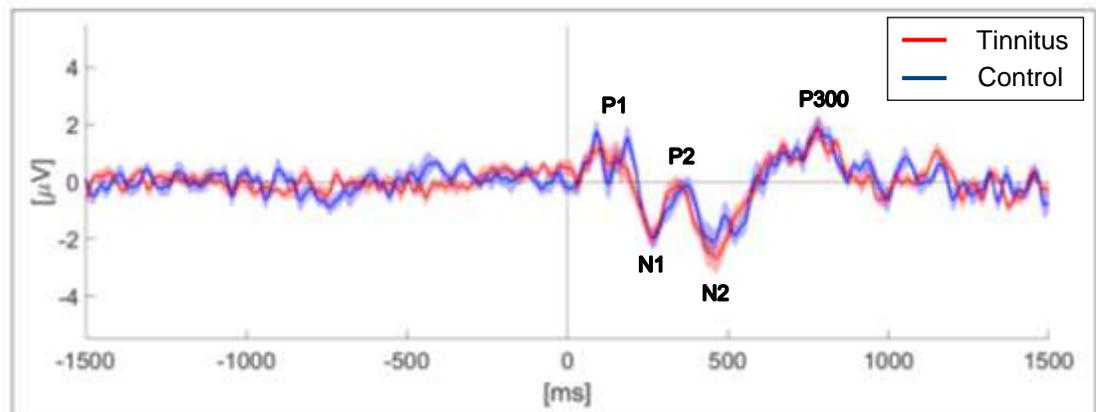


Figura 22. Electrodo Cz. Tinnitus en rojo, controles en azul. Las líneas sólidas representan el promedio de 14 sujetos en cada condición, la franja transparente del correspondiente color alrededor de cada línea representa el error estándar. Es posible observar los potenciales auditivos relacionados a eventos, se pueden distinguir los componentes P1, N1, P2, N2 y P300. Presentan similar amplitud y temporalidad para ambos grupos, al realizar las pruebas estadísticas pertinentes no se encontraron diferencias significativas en estos parámetros entre ambos conjuntos de sujetos.

Con el objetivo de indagar en la actividad cortical prefrontal involucrada, de acuerdo con la literatura, con procesos atencionales y de memoria se analizó el electrodo Fz en búsqueda de diferencias en los potenciales relacionados a eventos entre los dos conjuntos de sujetos.

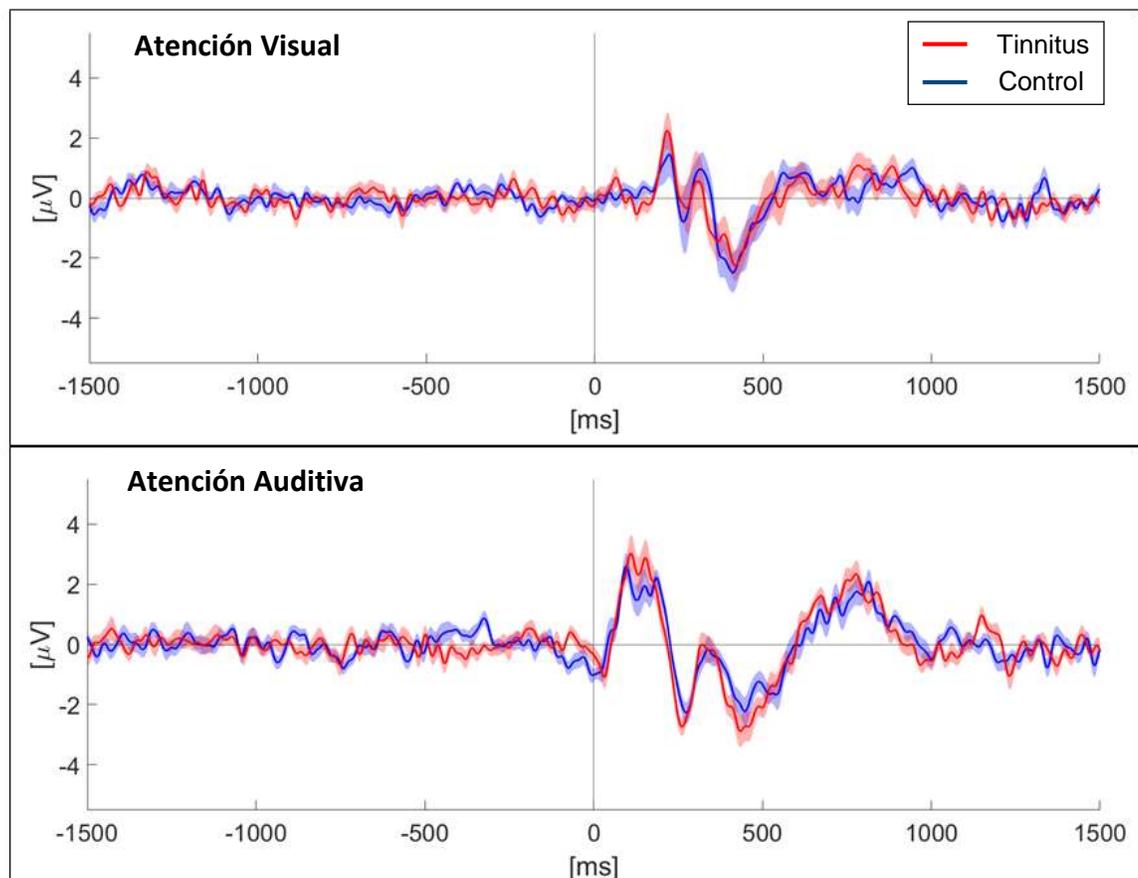


Figura 23. Electrodo Fz. Arriba: Prueba Visual. Abajo: Prueba Auditiva. Tinnitus en rojo, controles en azul. Las líneas sólidas representan el promedio de 14 sujetos en cada condición, la franja transparente del correspondiente color alrededor de cada línea representa el error estándar. Los potenciales prefrontales relacionados a eventos para ambas modalidades sensoriales no difieren de manera significativa entre ambos grupos al considerar sus amplitudes y temporalidades.

Canal de DPOAE

El canal “virtual” conteniendo la amplitud del registro de emisiones otoacústicas fue estudiado para conocer la forma de la señal y en búsqueda de posibles diferencias entre los dos conjuntos de sujetos en el dominio temporal.

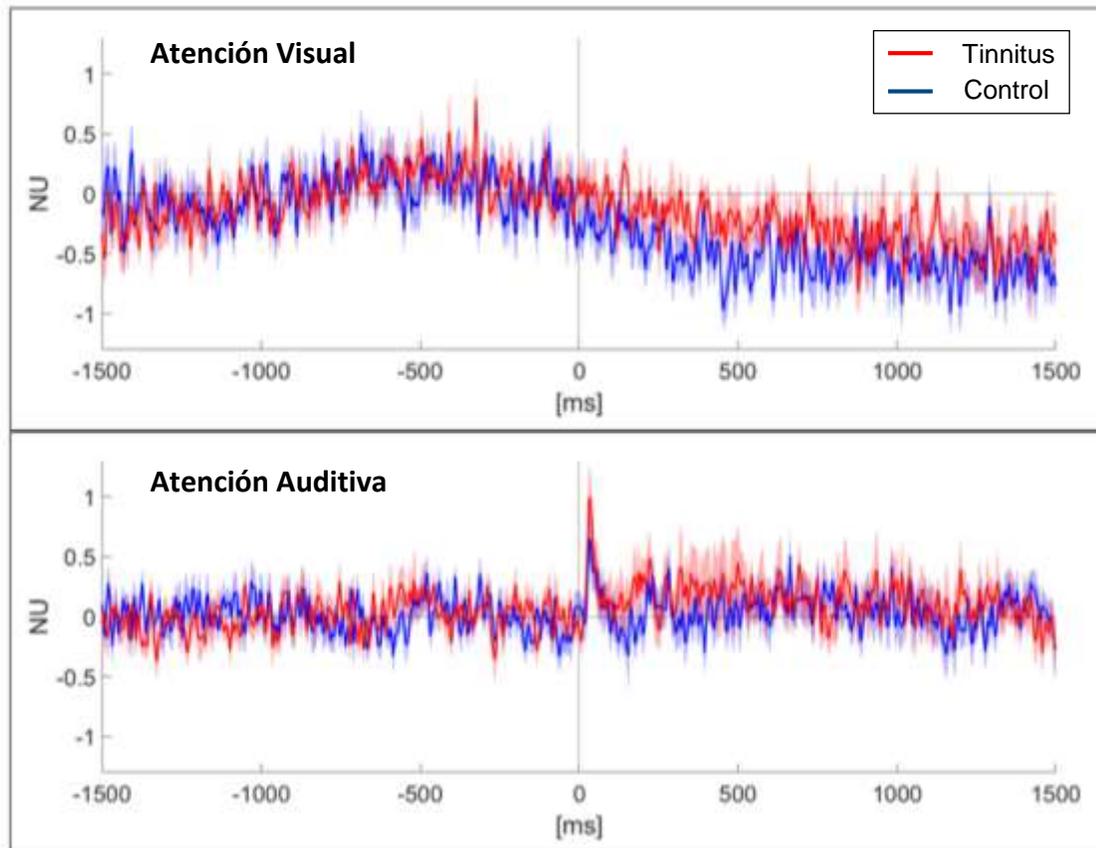


Figura 24. Canal de emisiones otoacústicas. Arriba: Prueba Visual. Abajo: Prueba Auditiva. Tinnitus en rojo, controles en azul. Las líneas sólidas representan el promedio de 14 sujetos en cada condición, la franja transparente del correspondiente color alrededor de cada línea representa el error estándar. Los gráficos se encuentran en unidades normalizadas con respecto al mayor en amplitud en cada uno de los casos. Los valores negativos representan una disminución en la amplitud de la envolvente (calculada con el método de Hilbert como se explica en la sección de Materiales y Métodos) y no un valor negativo propiamente tal debido a la escala logarítmica original de estos canales (dB). En la tarea visual, desde el tiempo 0, podemos notar valores negativos lo que indica una disminución en la amplitud de las emisiones cuando los sujetos debían prestar atención a la tarea en dicha modalidad. Estos valores podrían ser atribuidos al efecto supresor del sistema eferente auditivo en la actividad coclear cuando la atención está focalizada en una modalidad sensorial distinta a la auditiva. En la tarea auditiva no se observa esta disminución de amplitud, lo que reafirma la hipótesis del rol del sistema eferente auditivo en el efecto observado en la tarea visual. Los hallazgos en este canal están en conformidad con los resultados del estudio expuesto en Wittekindt, A. et al. (2014). No se encontraron diferencias significativas a la hora de comparar ambos grupos de sujetos para cada modalidad.

Dominio de la frecuencia

De manera análoga al análisis en el dominio temporal para el estudio de las señales en términos de frecuencia se seleccionaron los canales más relevantes para reportar la actividad cortical asociada a los procesos atencionales en cada modalidad. También fue considerado el canal de *DPOAE* para indagar en el acoplamiento en el sentido espectral de este canal con los canales de EEG.

Valores espectrales promediados de Z

Tarea de atención visual

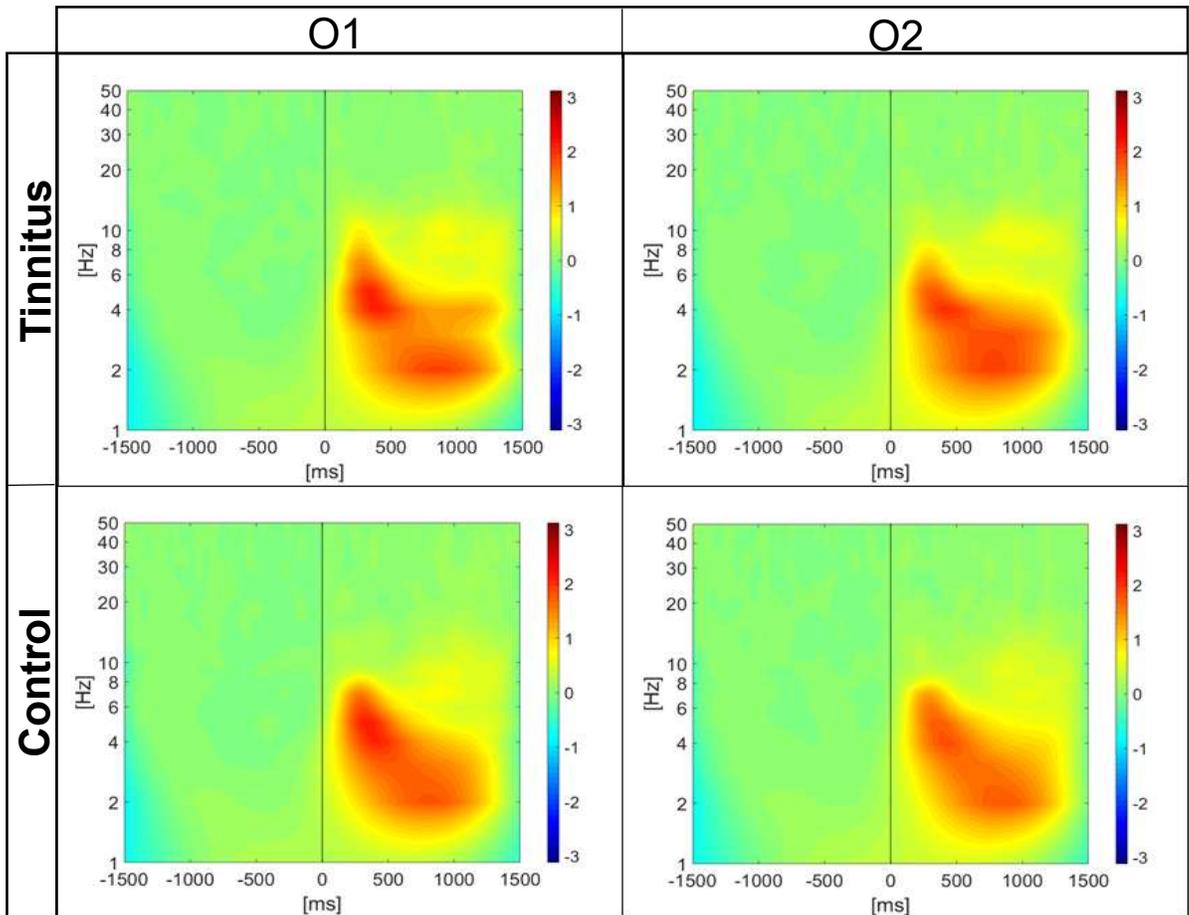


Figura 25. Electrodo occipitales. Arriba: Tinnitus, Abajo: Control. Izquierda: Electrodo O1, Derecha: Electrodo O2. Para cada grupo y para ambos electrodos occipitales se observan oscilaciones en frecuencias menores a 10 Hz, más precisamente en la banda entre 1 y 8 Hz. Al realizar un análisis estadístico considerando los *peaks* por sujeto de estos gráficos (comparación 14 vs. 14) no se encontraron diferencias significativas.

Tarea de atención auditiva

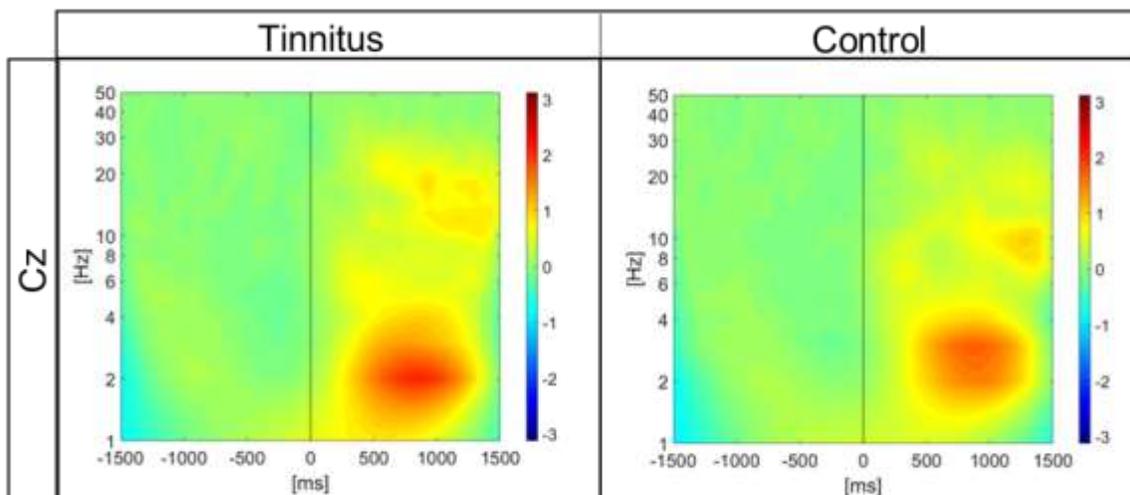


Figura 26. Electrodo Cz. Izquierda: Tinnitus, Derecha: Control. Para cada grupo se observan oscilaciones en la banda de frecuencias entre 1 y 4 Hz. Al realizar un análisis estadístico considerando los *peaks* por sujeto de estos gráficos (comparación 14 vs. 14) no se encontraron diferencias significativas.

Actividad cortical prefrontal

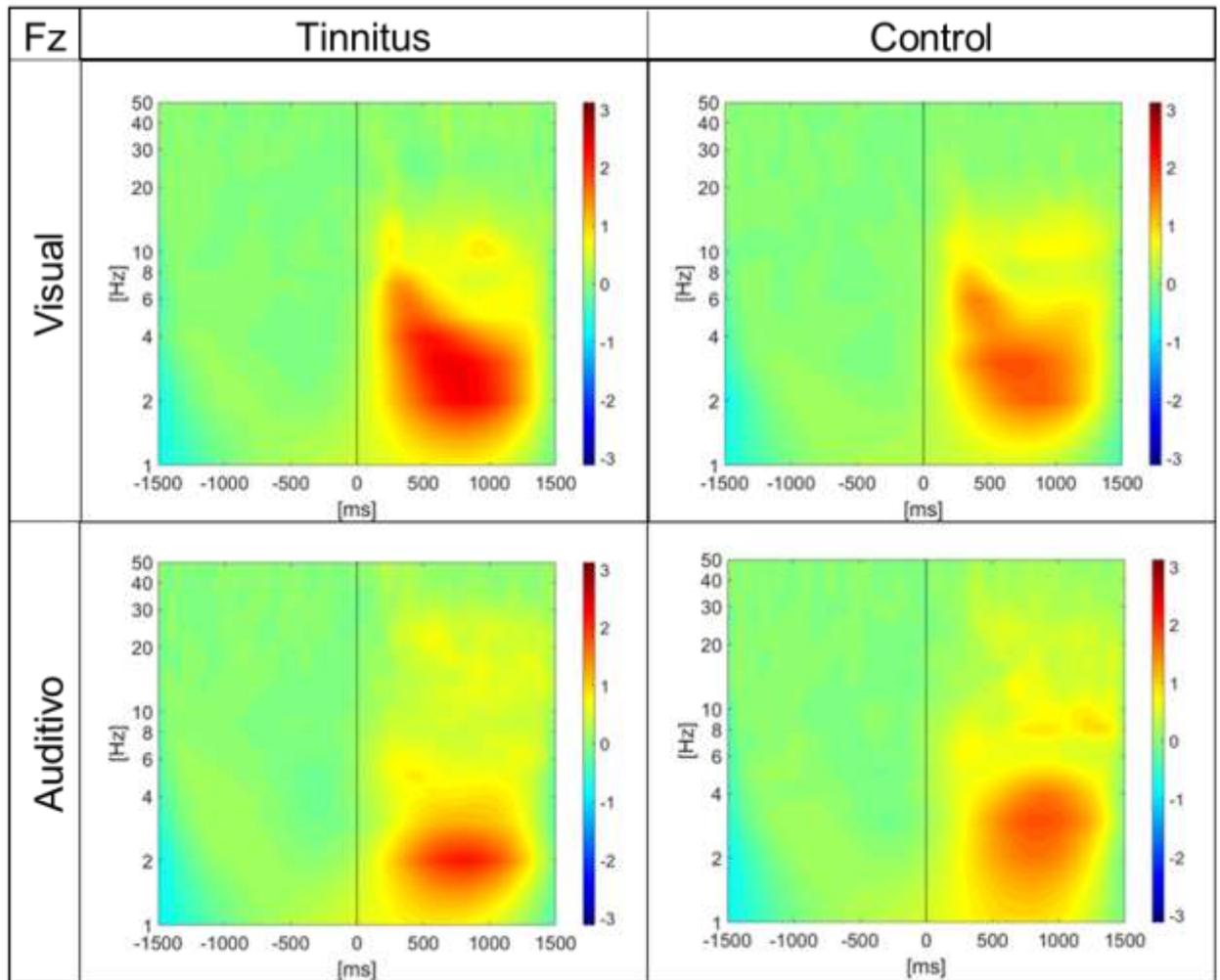


Figura 27. Electrodo Fz. Arriba: Prueba Visual, Abajo: Prueba Auditiva. Izquierda: Tinnitus, Derecha: Control. Para cada grupo y cada modalidad pueden distinguirse oscilaciones en frecuencias menores a 10 Hz. Para la prueba visual estas oscilaciones se encuentran en la banda entre 1 y 8 Hz, para la prueba auditiva están concentradas en la banda entre 1 y 4 Hz. Es posible distinguir un patrón de forma en el área de mayor intensidad tanto para la modalidad visual como la auditiva. Al observar las intensidades dentro de cada conjunto de sujetos se puede notar un mayor valor en el *peak* en la prueba visual con respecto a la prueba auditiva para el grupo Tinnitus, no así realizando la misma inspección para el grupo control. Sin embargo, los análisis estadísticos de los *peaks* por sujeto (comparación 14 vs. 14) no entregaron diferencias significativas, pero sí se encontraron áreas de diferencia estadística significativa como se verá más adelante.

Canal de DPOAE

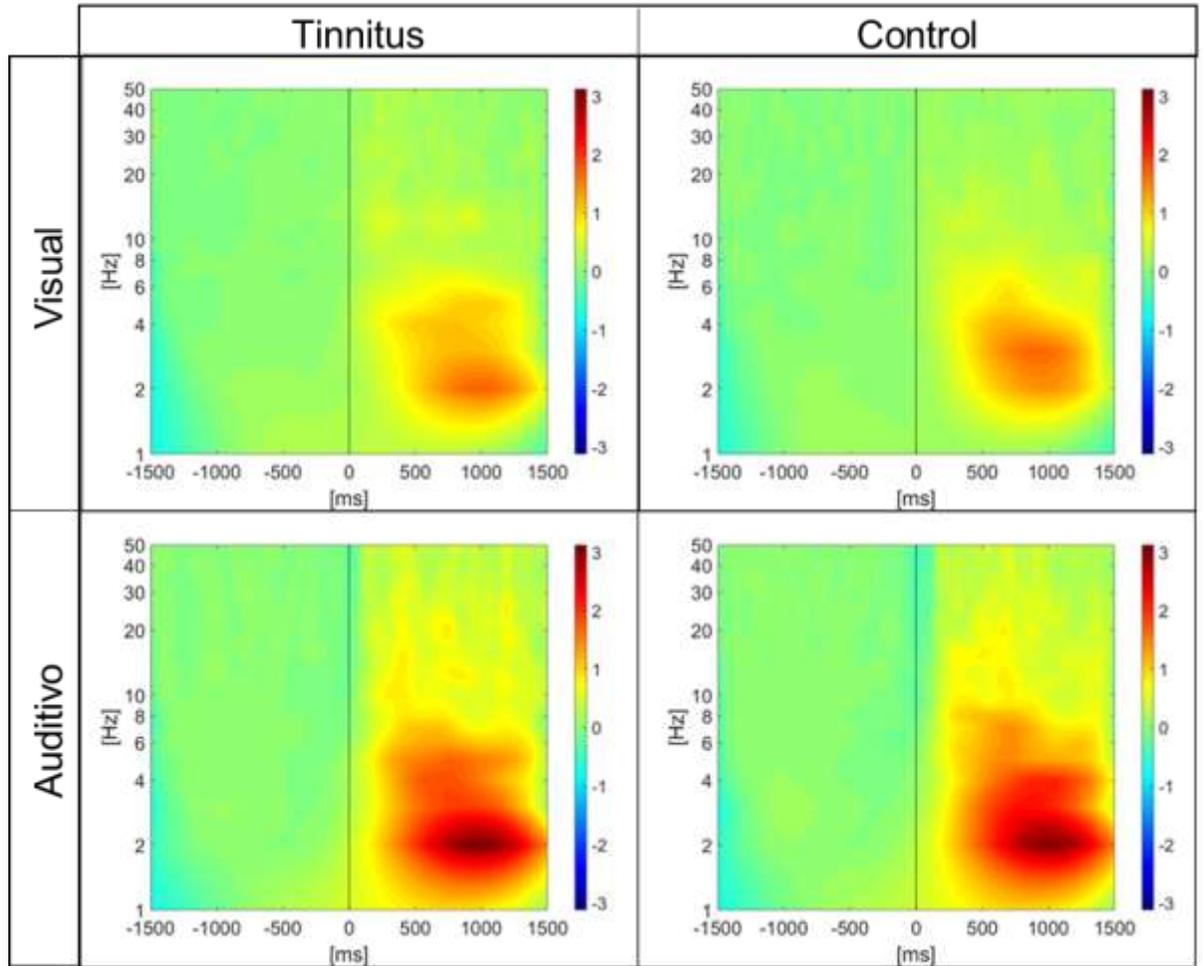


Figura 28. Canal de emisiones otoacústicas. Arriba: Prueba Visual, Abajo: Prueba Auditiva. Izquierda: Tinnitus, Derecha: Controles. Oscilaciones de entre 1 y 7 Hz se observan en ambos grupos y modalidades sensoriales, la magnitud de estas en términos de los valores de Z es mayor para la prueba auditiva comparada con la prueba visual para ambos conjuntos de sujetos. El menor valor en las cartas tiempo frecuencia para la modalidad sensorial visual podría deberse al efecto supresor en la amplitud de las emisiones otoacústicas del sistema eferente auditivo durante atención visual. Al realizar un análisis estadístico considerando los *peaks* por sujeto de estos gráficos (comparación 14 vs. 14) no se encontraron diferencias significativas. Se encontraron diferencias significativas en los análisis intragrupal comparando las modalidades.

Valores inter-trial de *phase-locking*

Considerando los electrodos relevantes para cada modalidad sensorial, la actividad cortical prefrontal y el canal de *DPOAE* se generaron las cartas tiempo frecuencia que contienen los valores inter-trial de *phase-locking*. Esta medida es un indicador de la consistencia en el alineamiento de la fase a través de los *trials*, para su cálculo se considera solo la fase de cada frecuencia dejando de lado su amplitud. Inicialmente es determinado de manera individual para cada sujeto y luego es promediado por condición (tinnitus/control). Sus valores varían entre 0 y 1, con indicando nula y total sincronía entre los *trials* respectivamente.

Tarea de atención visual

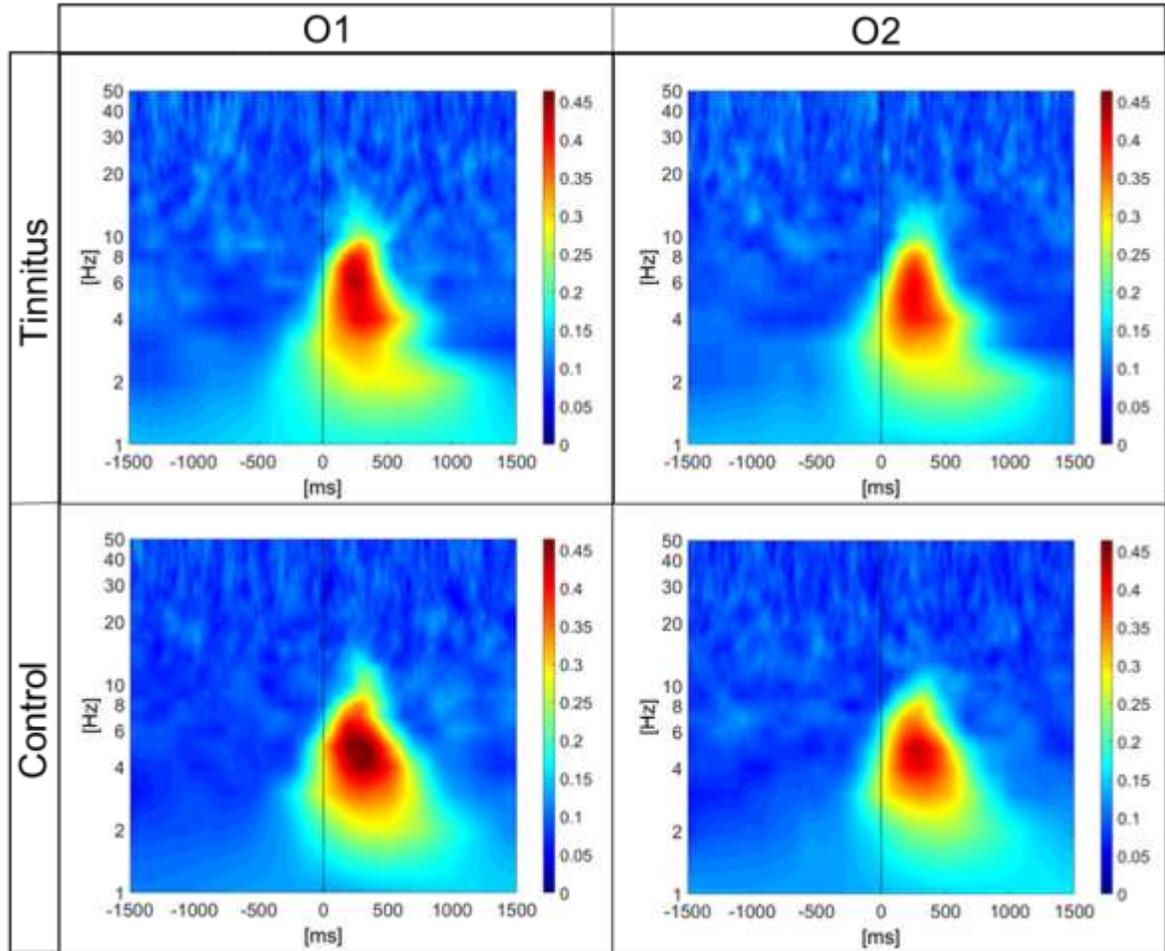


Figura 29. Electrodo occipitales. Arriba: Tinnitus, Abajo: Control. Izquierda: Electrodo O1, Derecha: Electrodo O2. En ambos electrodos occipitales y para ambas condiciones (Tinnitus/Control) puede apreciarse un incremento en los valores de *phase-locking* para frecuencias menores a 10 Hz en el intervalo de tiempo de 0 a 500 ms. Al realizar un análisis estadístico considerando los *peaks* por sujeto de estos gráficos (comparación 14 vs. 14) no se encontraron diferencias significativas.

Tarea de atención visual

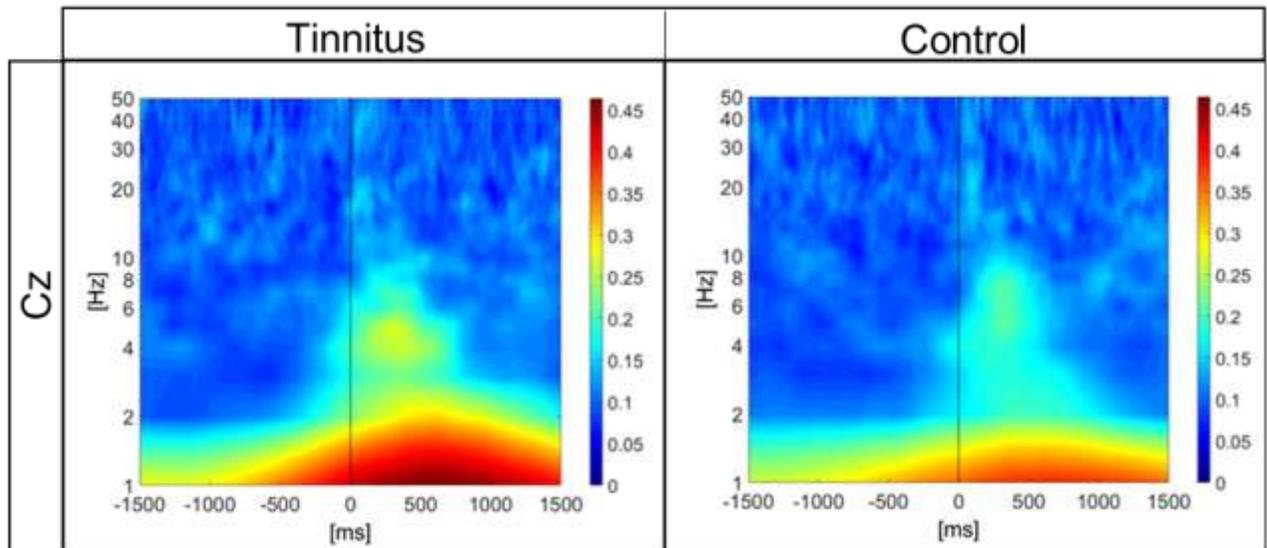


Figura 30. Electrodo Cz. Izquierda: Tinnitus, Derecha: Control. Para ambos grupos puede observarse un incremento en los valores de *phase-locking* para las oscilaciones menores a 10 Hz. Este aumento se presenta entre los 0 y 500 ms, aunque si nos centramos en la banda de 1 a 2 Hz el incremento puede observarse durante todo el período atencional (0 – 1500 ms). Al momento de calcular las pruebas estadísticas considerando los *peaks* por sujeto de estos gráficos (comparación 14 vs. 14) no se encontraron diferencias significativas.

Actividad cortical prefrontal

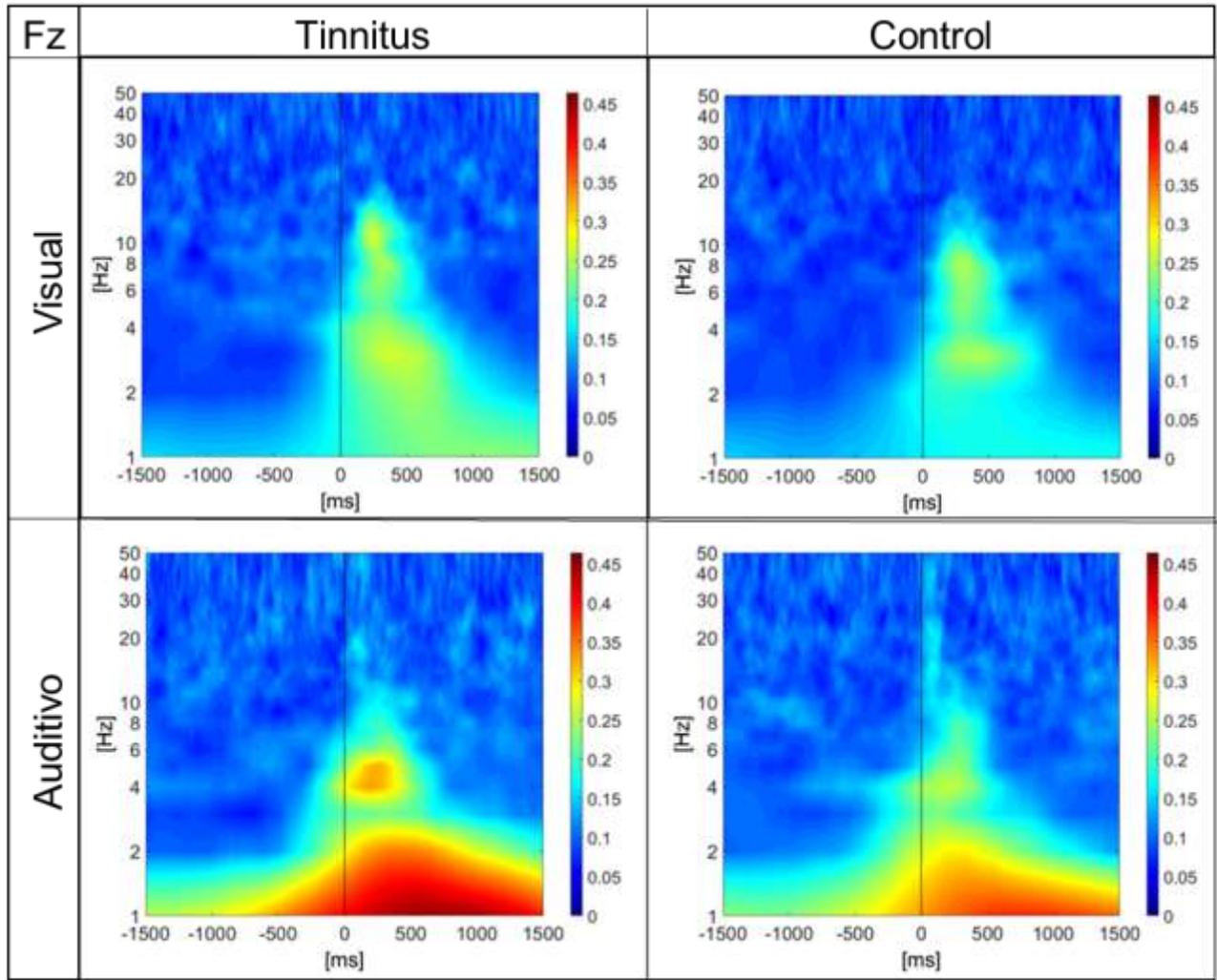


Figura 31. Electrodo Fz. Arriba: Prueba Visual, Abajo: Prueba Auditiva. Izquierda: Tinnitus, Derecha: Control. Para ambos grupos de sujetos y ambas modalidades sensoriales se puede notar un incremento en los valores de *phase-locking* para las oscilaciones con frecuencias menores a 10 Hz. Este aumento se presenta entre los 0 y 500 ms, aunque si consideramos la prueba de atención visual y nos centramos en la banda de 1 a 2 Hz el incremento puede observarse durante todo el período atencional (0 – 1500 ms).

Canal de DPOAE

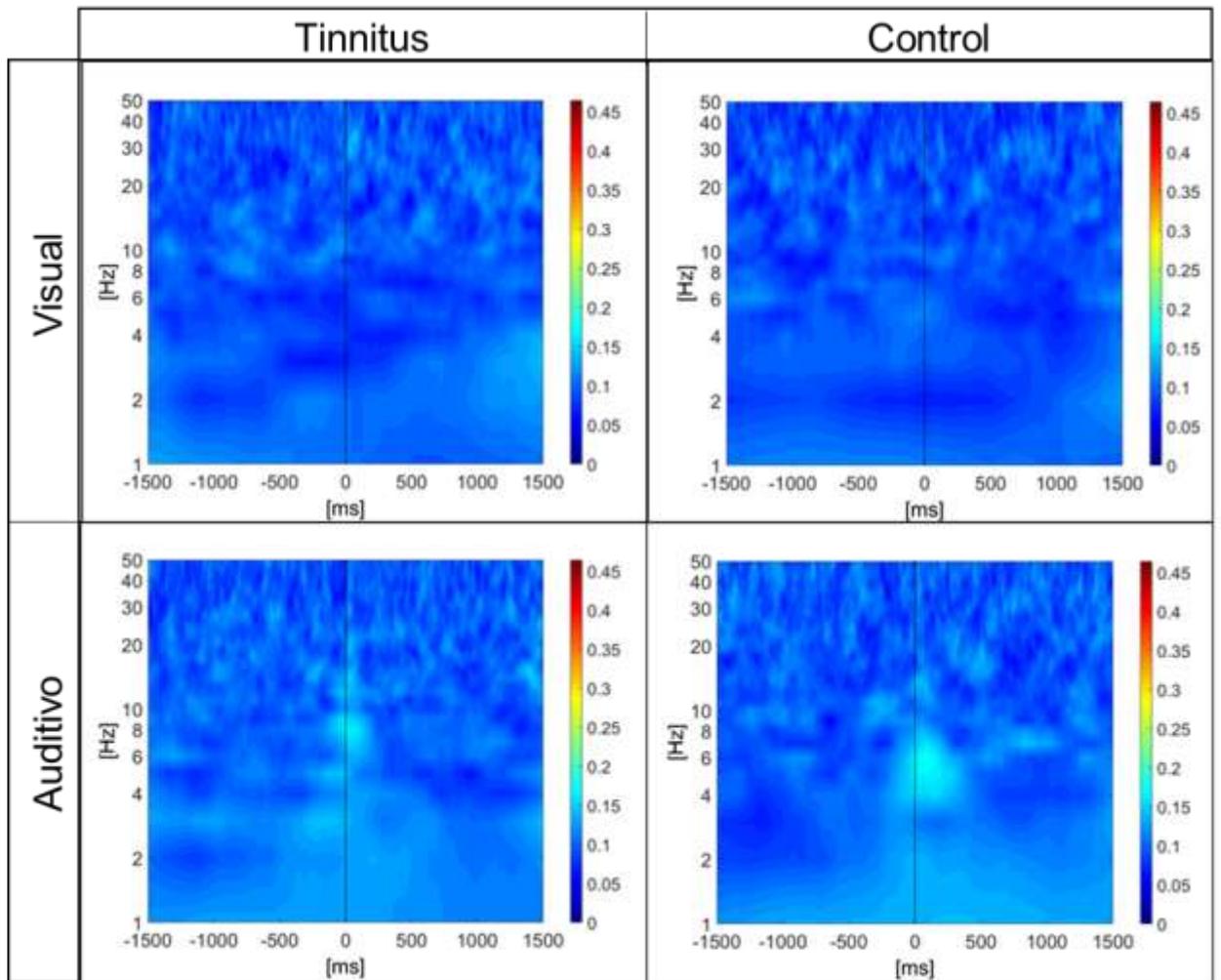


Figura 32. Canal de emisiones otoacústicas. Arriba: Prueba Visual, Abajo: Prueba Auditiva. Izquierda: Tinnitus, Derecha: Control. Este indicador no muestra sincronía entre *trials* para la prueba de atención visual. En la prueba auditiva pueden notarse pequeñas zonas de sincronía entre la fase de las frecuencias entre 4 y 10 Hz alrededor de 0 ms.

Gráficos de áreas de significancia estadística

Se calculó el valor de la prueba estadística de Kruskal-Wallis píxel a píxel utilizando los datos que generaron los gráficos de valores espectrales promediados de Z para cada sujeto (14 Tinnitus, 14 Controles). El objetivo de esta métrica fue encontrar áreas de diferencia estadística significativa que permitieran determinar de manera certera las frecuencias e intervalos temporales que presentasen mayor discrepancia al comparar un par de cartas tiempo frecuencia para valores de Z. Los hallazgos más relevantes se hicieron al cotejar de manera intragrupal entre modalidades sensoriales. Los gráficos para el canal de *DPOAE* y el electrodo frontocentral Fz se encuentran en las figuras 33 y 34 respectivamente.

Canal de *DPOAE*

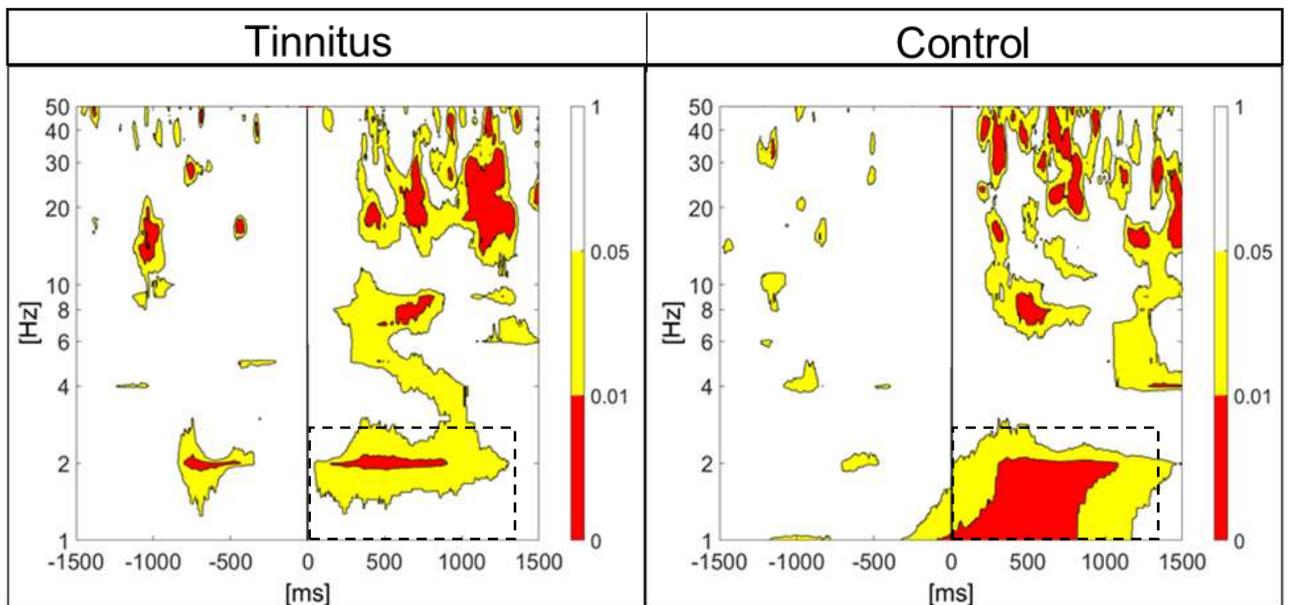


Figura 33. Áreas de diferencia estadística significativa para el canal de emisiones otoacústicas producto de distorsión. Izquierda: Tinnitus, Derecha: Control. Podemos notar, para el grupo control, que entre los 0 y 1000 ms aproximadamente existe un área que muestra diferencias estadísticas significativas para frecuencias menores a 3 Hz. Dicho hallazgo no se observa en el grupo Tinnitus.

Electrodo Fz

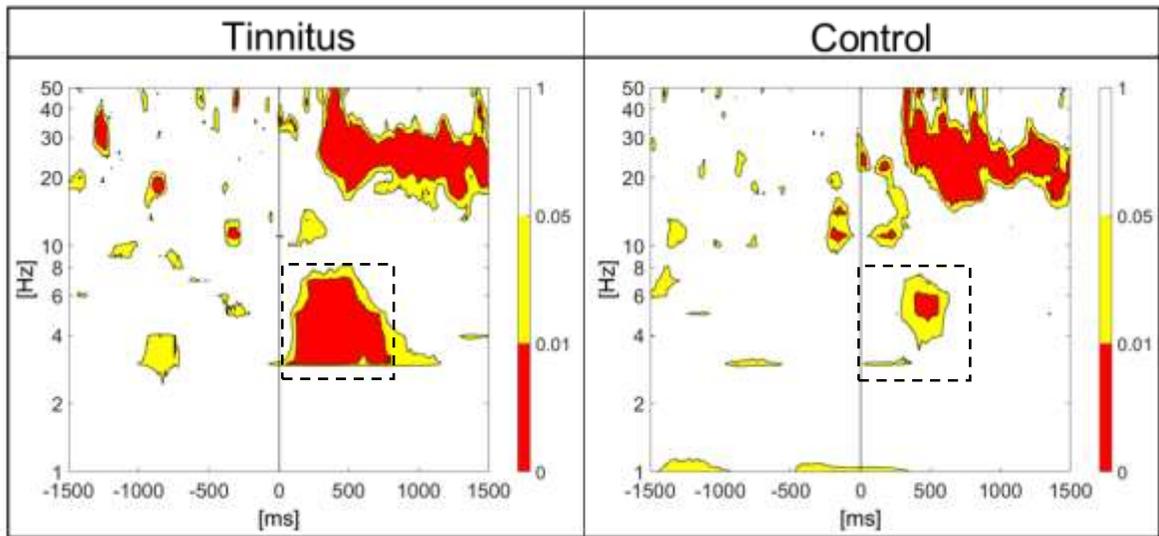


Figura 34. Áreas de diferencia estadística significativa para el electrodo Fz. Izquierda: Tinnitus, Derecha: Control. Podemos percatarnos, en el grupo Tinnitus, que existe una gran área de significancia estadística que involucra las frecuencias en 2 y 10 Hz alrededor de 0 ms y se extiende hasta los 700 ms aproximadamente. En cuanto al grupo control se observa una pequeña región de significancia estadística que involucra frecuencias de 4 a 8 Hz alrededor de los 500 ms.

Electrodo Cz

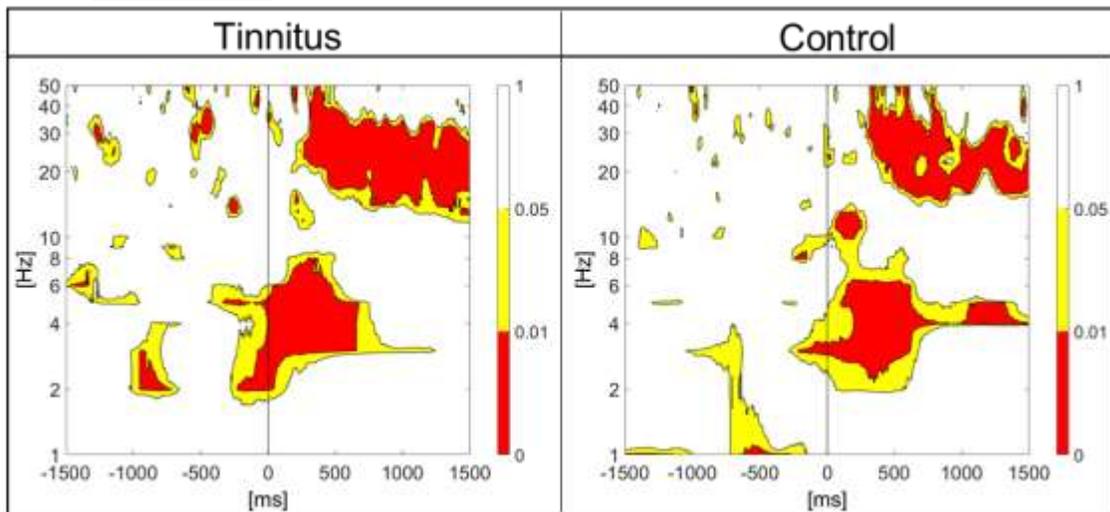


Figura 35. Áreas de diferencia estadística significativa para el electrodo Cz. Izquierda: Tinnitus, Derecha: Control. Se observan zonas de significancia estadística similares para ambos grupos en el período de -250 ms a 750 ms entre los 2 y 10 Hz aproximadamente.

Electrodo O1

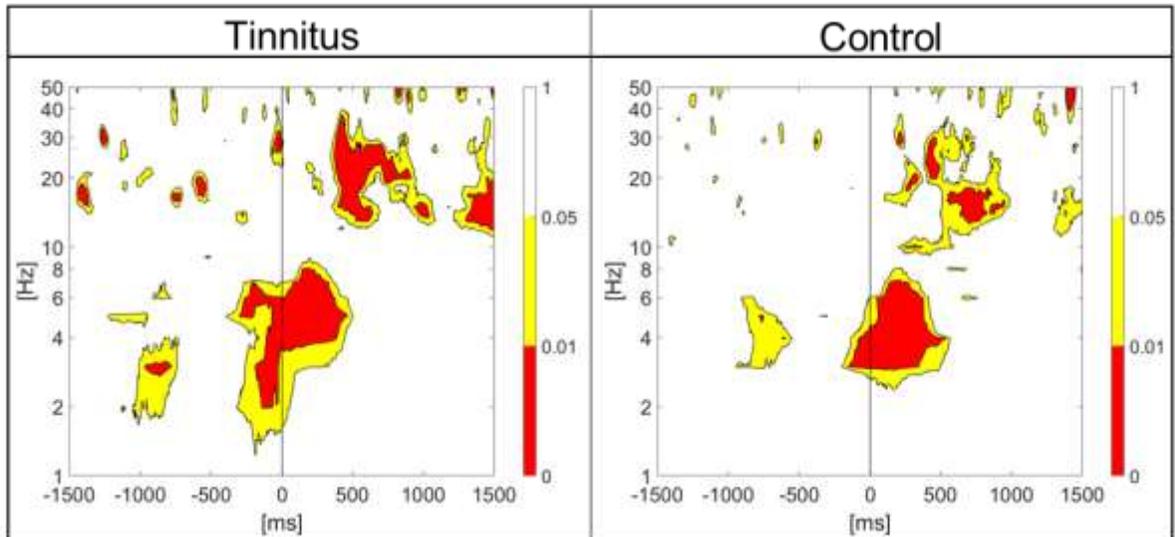


Figura 36. Áreas de diferencia estadística significativa para el electrodo O1. Izquierda: Tinnitus, Derecha: Control. Se observan zonas de significancia estadística similares para ambos grupos en el período de -100 ms a 500 ms entre los 2 y 8 Hz aproximadamente.

Electrodo O2

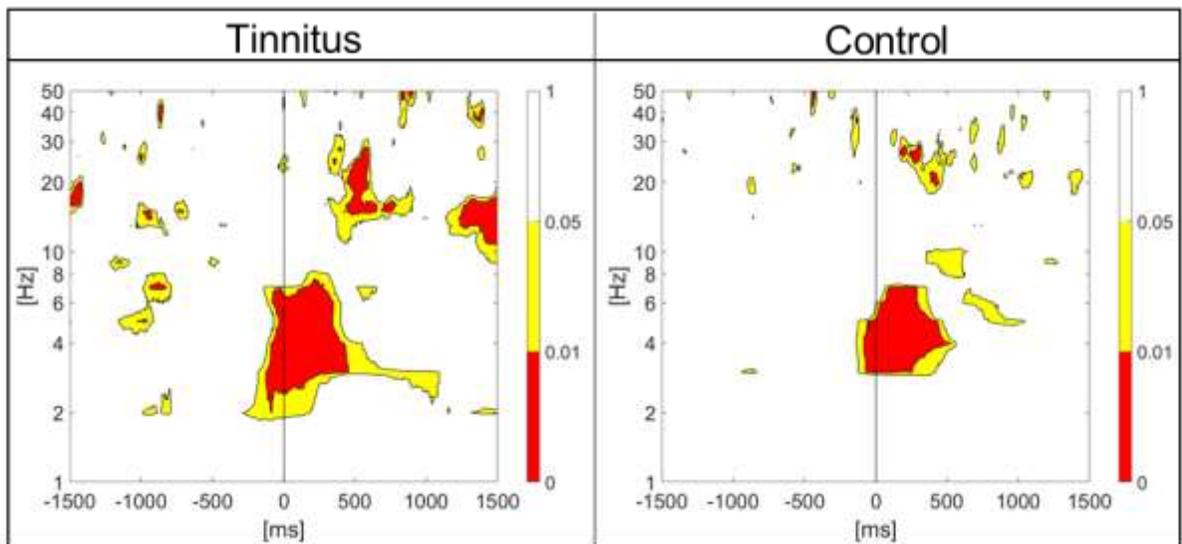


Figura 37. Áreas de diferencia estadística significativa para el electrodo O2. Izquierda: Tinnitus, Derecha: Control. Se observan zonas de significancia estadística similares para ambos grupos en el período de -100 ms a 500 ms entre los 2 y 8 Hz aproximadamente.

DISCUSIÓN

El objetivo principal de este estudio fue determinar las posibles diferencias entre individuos diagnosticados con tinnitus crónico no pulsátil y sujetos sanos en los mecanismos involucrados en los procesos de atención selectiva. Esta investigación ofrece una aproximación, a través del estudio de una patología (tinnitus), del rol del sistema eferente auditivo mediante dos medidas de su funcionalidad: (i) la magnitud del reflejo supresor olivococlear provocado por ruido contralateral (evaluando la porción más periférica de las vías eferentes) y (ii) el desempeño de los sujetos en una tarea de atención selectiva (evaluando la función de las vías corticofugales que desembocan en la cóclea).

Utilizamos la innovación metodológica implementada por el laboratorio en Dragicevic *et al.*, (2019) del canal virtual de *DPOAE*. Esto permitió mezclar los canales de EEG con el canal virtual de *DPOAE* para analizar propiedades temporales y espectrales de ambas señales en forma simultánea, posibilitando la observación del sistema eferente auditivo desde sus componentes ubicados en el sistema nervioso central hasta sus elementos periféricos con un enfoque funcional de esta vía y teniendo en mente los roles sugeridos para este por los diversos estudios en la literatura.

Se evaluó el reflejo olivococlear de un total de 58 sujetos (32 con tinnitus) experimentales, mientras que las vías corticofugales fueron evaluadas en 28 de ellos (14 con tinnitus). El motivo radica en la dificultad de muchos de estos para completar la prueba y entregar una cantidad de *trials* suficientes en número y calidad que permitiera establecer conclusiones certeras. Los pacientes con tinnitus, debido al impacto psicoemocional que induce esta condición, suelen presentar rasgos ansiosos que se manifiestan en inconvenientes para mantenerse quietos por un largo rato, lo que ensucia

de sobremanera los registros tanto electrofisiológicos como auditivos, o mantener por un período prolongado atención focalizada como lo requería la prueba cognitiva implementada. Otros simplemente solicitaban abandonar la prueba antes de tiempo manifestando incomodidad por la situación controlada propia de un experimento, bajo estas circunstancias se procedió al retiro inmediato del montaje experimental para cumplir con los criterios éticos. Por estas razones las mediciones de algunos de ellos no resultaron aptas para ser sometidas al análisis.

Magnitud del efecto supresor olivococlear

No hubo diferencias significativas entre la magnitud del reflejo olivococlear con ruido contralateral al comparar tinnitus con controles. Esto sugiere que el circuito de tronco encefálico no estaría involucrado en la presencia de tinnitus. Los análisis realizados en esta sección sugieren que una disfunción en el efecto supresor del reflejo olivococlear solo podría observarse en los pacientes que obtienen un mayor puntaje (“moderado-severo”) en el cuestionario *THI (Tinnitus Handicap Inventory)* generando hiperexcitabilidad en la vía auditiva y una decodificación errónea por parte de las estructuras de ésta encargadas del procesamiento e integración de estímulos en dicha modalidad.

Los resultados de la aplicación de la encuesta *STAI*, en la cual solo se consideró la batería de preguntas involucradas en la determinación de la ansiedad como rasgo, no mostró diferencias significativas entre los grupos al ser analizados en solitario. Esto podría deberse a que los sujetos experimentales pertenecientes al grupo control también presentaban altos niveles de ansiedad posiblemente relacionados al estrés cotidiano al que se ve sometida la mayoría de las personas hoy en día sobre todo al habitar una ciudad como Santiago. Una posible mejora en los resultados podría realizarse

implementando otro testeo que tenga como línea de base el contexto de estrés y ansiedad que sufre la mayor parte de los individuos en una ciudad de las magnitudes de la nuestra.

El hallazgo más relevante del estudio secundario se realizó dentro del conjunto de sujetos diagnosticados con la patología y fue la correlación positiva entre la magnitud del efecto supresor del reflejo olivococlear en el oído izquierdo y los puntajes en las encuestas *THI* y *STAI* para el grupo de pacientes del grupo “moderado-severo” según la clasificación inducida por los niveles de la prueba *THI*. La interpretación de esta correlación es que un mayor efecto supresor va de la mano con menores molestias debidas a la presencia del Tinnitus y menores niveles de ansiedad. En otras palabras, la preservación de un buen funcionamiento del sistema eferente auditivo está correlacionada con menores niveles de ansiedad y menores molestias psicoemocionales derivadas del padecimiento de Tinnitus.

Desempeño en la prueba de atención selectiva: vías corticofugales

La prueba cognitiva de atención selectiva implementada en este estudio evaluaba la habilidad de los sujetos para realizar cambios atencionales rápidamente entre modalidades, pues estos debían focalizar su atención de manera alternante en cada dominio sensorial además de reportar respuestas a la presencia de eventos o blancos específicos.

En la etapa de análisis de la prueba de atención visual, en la cual los sujetos debían informar la posición de la manecilla del reloj (entre las 100 marcas que presentaba) al momento de la desaparición del objeto que indicaba el período de atención visual (corona verde alrededor del reloj), varios fueron los indicadores estadísticos utilizados para poder describir las muestras de ambos grupos (Tinnitus/Control). Debido a la

naturaleza angular de los datos no fue posible aplicar los descriptores y pruebas inferenciales habituales por lo que fue necesario utilizar un paquete de funciones especializada en el análisis de datos circulares, además debido a la gran variabilidad inter-sujeto y por lo recomendado en la literatura el análisis se realizó agrupando los datos acorde a la presencia o ausencia de la patología en cuestión.

Las medias circulares entregaron valores de $7,23^\circ$ para el grupo Tinnitus y $-1,43^\circ$ para el grupo control, lo que nos indica que la respuesta promedio de los sujetos con Tinnitus presenta una mayor desviación angular con respecto a la respuesta correcta que debían haber reportado. En cuanto a las medianas de las respuestas, los sujetos del grupo Tinnitus presentaron un valor de $10,8^\circ$ y los individuos sanos de 0° . Este indicador, al igual que la media, muestra una tendencia de los reportes de individuos diagnosticados con la patología a una inexactitud en las respuestas inclinada hacia ángulos positivos. Otra medida utilizada fue la magnitud del vector resultante que cuantifica la dispersión de los datos, es decir, a un mayor valor indica que las respuestas se encuentran agrupadas de manera más compacta alrededor de un cierto ángulo. El valor máximo para esta medida es 1. Para el grupo Tinnitus la magnitud del vector resultante fue de 0,67 mientras que para el grupo control fue de 0,77, indicando que las respuestas de este último grupo presentan una menor dispersión lo que sugiere una mayor exactitud.

En términos descriptivos se utilizaron dos pruebas estadísticas para determinar si existían diferencias entre los dos conjuntos muestrales. La prueba de simetría alrededor de la mediana, aplicada a cada grupo por separado, entregó valores que permitieron establecer diferencias debido a que en esta solo se obtuvo un valor significativo para los sujetos con Tinnitus. Este valor indica que para la agrupación de individuos con la

patología es posible descartar la hipótesis de una distribución simétrica de los datos alrededor de su propia mediana, mientras que para los sujetos control no fue posible obtener esta conclusión. Otro testeo estadístico aplicado fue la prueba de comparación de medianas, un análogo de la prueba multimuestral de Kruskal-Wallis para datos lineales, que se aplicó a ambos grupos. El valor obtenido resultó significativo lo que permite concluir que la agrupación por condición (Tinnitus/Control) genera muestras con características diferentes lo que no es esperable para una división aleatorizada de los sujetos. Este resultado, en conjunto con las medidas descriptivas obtenidas sugieren una menor precisión de la respuesta en el grupo tinnitus además de mostrar una tendencia a reportes más tardíos en el mismo grupo.

Dominio del tiempo

Los resultados obtenidos para el análisis en el dominio temporal de los promedios de los *trials* para ambas pruebas no mostraron diferencias significativas en ninguno de los canales analizados al comparar ambos grupos. Esto, lejos de ser desalentador, nos entrega información importante pues indica que los sujetos con Tinnitus no presentan alteraciones en sus potenciales relacionados a evento visuales ni auditivos. Lo anterior permite descartar, al menos para este estudio, dichas diferencias como un factor a considerar en el estudio de esta enfermedad y del rol del sistema eferente auditivo. Tampoco se encontraron diferencias en la actividad cortical prefrontal en términos temporales lo que indica que al menos desde este enfoque las propiedades de los potenciales relacionados a evento se conservan.

La indagación en las propiedades temporales del canal de emisiones otoacústicas tampoco mostró diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, sin

embargo fue posible reproducir un resultado reportado por Wittekindt, A. *et al.* (2014) que no fue obtenido en Dragicevic, C. *et al.*, (2019) utilizando el mismo diseño experimental que este estudio, a saber, la disminución a partir de los 0 ms de la amplitud del canal para la prueba visual, no así para la prueba auditiva. Dicho efecto podría ser atribuido al efecto supresor del sistema eferente auditivo en la actividad coclear cuando la atención se encuentra focalizada en una modalidad sensorial distinta a la auditiva. Esta diferencia con la investigación precedente de nuestro grupo podría deberse a la mayor cantidad de etapas en el procesamiento en el presente estudio que permitieron conservar un mayor número de *trials*.

Dominio de la frecuencia

Se observó la presencia de oscilaciones de baja frecuencias (<10 Hz) para los canales de EEG y *DPOAE* en ambos grupos sin reportarse diferencias significativas en los *peaks* de estas para los valores espectrales promediados de Z. La temporalidad de estas oscilaciones sugiere una relación con el proceso de cambio atencional desde una modalidad sensorial a la otra. Las oscilaciones encontradas pueden ser clasificadas como ondas en el rango delta y theta (0,1-3,9 y 4-7,9 Hz, respectivamente). Estudios precedentes también encontraron componentes frecuenciales en el rango theta en tareas donde se requería el cambio atencional de una modalidad a otra (Phillips, JM., *et al.*, 2014; Wang, W., *et al.*, 2016). Estas oscilaciones se originarían en el área cortical frontal permitiendo la modulación *topdown* de las áreas corticales asociadas al procesamiento de estímulos auditivos y visuales respectivamente.

Los hallazgos más relevantes se produjeron en los gráficos de áreas de significancia estadística al realizar una comparación intragrupo entre ambas modalidades

sensoriales. Para el canal de *DPOAE*, en el grupo control, se encontró una región con diferencias estadísticas significativas, entre los 0 y 1000 ms aproximadamente, para las frecuencias menores a 3 Hz con un efecto de nivel de significancia mayor para las frecuencias bajo los 2 Hz. Esto no se observó en los pacientes con tinnitus lo que sugiere una falta de supresión durante la tarea visual de las oscilaciones en esta banda para este grupo. Lo anterior podría deberse a un debilitamiento en la función del sistema eferente auditivo en individuos con la patología que no permitiría encontrar diferencias en esta banda de frecuencias al realizar comparaciones entre las cartas tiempo-frecuencia para las modalidades visual y auditiva. Estudios sugieren que las ondas en el rango delta, generadas en la corteza frontal, podrían modular la demanda atencional durante tareas cognitivas que involucren atención en redes neuronales alejadas de los lóbulos frontales (Harmony, T., 2013). Por lo tanto, pensando en la conectividad de la vía auditiva eferente, es pertinente pensar este hallazgo como una posible consecuencia de la disminución de la modulación *topdown* provocada por disfunciones en estas conexiones corticofugales. En cuanto al canal Fz, que registra la actividad eléctrica de la corteza prefrontal, los gráficos mostraron un área de significancia estadística mucho más extendida en términos temporales y de frecuencia para el grupo con la enfermedad. Esto podría deberse a que la presencia del tinnitus impone dificultades a los pacientes para poder ignorar los distractores auditivos con el fin de focalizar su atención en la percepción visual lo que hace necesario el reclutamiento de mayores recursos cognitivos que se ven reflejados en una mayor actividad de la corteza prefrontal para la tarea visual. Esto último puede concluirse de la observación de la diferencia simple, para el electrodo Fz en el grupo Tinnitus, de los gráficos de valores espectrales promediados de Z en ambas modalidades (Visual - Auditivo).

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos a través del estudio sobre el reflejo supresor olivococlear muestran que no hay diferencias entre tinnitus y control, pero si hubo una asociación entre niveles de ansiedad elevados y un empeoramiento en la calidad de vida en pacientes con Tinnitus con una función eferente disminuida. Es pertinente pensar que ambas propiedades (mayor nivel de afectación psicoemocional y sistema eferente auditivo debilitado) inciden en el desempeño de los pacientes provocando los resultados obtenidos.

Los pacientes con Tinnitus presentaron un peor desempeño en la prueba de atención selectiva visual implementada en esta investigación en comparación con los sujetos del grupo control de acuerdo con los indicadores estadísticos utilizados. Esto podría deberse a un empeoramiento en la habilidad para ignorar los distractores auditivos presentados durante el curso de cada experimento. Los hallazgos en los registros electrofisiológicos y auditivos, a saber, una falta de supresión en el canal de *DPOAE* para bajas frecuencias (<3 Hz) y una necesidad de reclutamiento de mayores recursos cognitivos, reflejada en una mayor activación de la actividad oscilatoria en la corteza prefrontal para la tarea visual, sugieren un rol en los resultados conductuales de estructuras centrales del sistema eferente auditivo y su efecto en el amplificador coclear a través de la regulación *topdown*.

Bibliografía

1. **Adamchic, I., Langguth, B., Hauptmann, C., Tass, P.A., (2014).** Abnormal crossfrequency coupling in the tinnitus network. *Front. Neurosci.* 8, 284.
2. **Aedo, C., Tapia, E., Pávez, E., Elgueda, D., Délano, P.H., Robles, L. (2015).** Stronger efferent suppression of cochlear neural potentials by contralateral acoustic stimulation in awake than in anesthetized chinchilla. *Front. Syst. Neurosci.*, 9:21.
3. **Ahn, M.-H., Hong, S.K., Min, B.-K., (2017).** The absence of resting-state high-gamma cross-frequency coupling in patients with tinnitus. *Hearing Research*, Volume 356.
4. **Araneda, R., De Volder, A.G., Deggouj, N. & Renier, L. (2015).** Altered inhibitory control and increased sensitivity to cross-modal interference in tinnitus during auditory and visual tasks. *PLoS ONE* 10(3): e0120387.
5. **Baars, B.J., Gage, N.M. (2010).** *Cognition, Brain and Consciousness: introduction to cognitive neuroscience*, 2nd edition. Academic Press, Burlington MA.
6. **Boothalingam, S., Kurke, J., Dhar, S. (2018).** Click-evoked Auditory Efferent Activity: Rate and Level Effects. *J. Assoc. Res. Otolaryngol.*, 19: 421-434.
7. **Bowen, M., Terreros, G., Moreno-Gómez, F.N., Ipinza, M., Vicencio, S., Robles, L., Délano, P.H. (2020).** The olivocochlear reflex strength in awake chinchillas is relevant for behavioural performance during visual selective attention with auditory distractors. *Scientific Reports* 10, 14894.
8. **Canolty, R.T., Edwards, E., Dalal, S.S., Soltani, M., Nagarajan, S.S., Kirsch, H.E., Berger, M.S., Barbaro, N.M., Knight, R.T., (2006).** High gamma power is phase-locked to theta oscillations in human neocortex. *Science* 313, 1626-1628.
9. **Concina, G., Renna, A., Grosso, A., Sacchetti, B. (2019).** The auditory cortex and the emotional valence of sounds. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 98: 256-264.
10. **Darrow, K. N., Maison, S. F., & Liberman, M. C. (2006b).** Cochlear efferent feedback balances interaural sensitivity. *Nat. Neurosci.* 9, 1474–1476.
11. **Darrow, K. N., Maison, S. F., & Liberman, M. C. (2007).** Selective removal of lateral olivocochlear efferents increases vulnerability to acute acoustic injury. *J. Neurophysiol.* 97, 1775–1785.
12. **De Venecia, R.K., Liberman, M.C., Guinan, J.J. Jr. & Brown, M.C. (2005).** Medial olivocochlear reflex interneurons are located in the posteroventral cochlear nucleus: A kainic acid lesion study in guinea pigs. *J. Comp. Neurol.*, 487: 345:360.

13. **Dewson, J. H., 3rd. (1968).** Efferent olivocochlear bundle: some relationships to stimulus discrimination in noise. *J. Neurophysiol.* 31, 122–130.
14. **Délano, P.H., Robles, I., Robles, L. (2005).** Sistema eferente auditivo. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello*, 65: 55-62.
15. **Délano, P. H., Elgueda, D., Hamame, C. M., & Robles, L. (2007).** Selective attention to visual stimuli reduces cochlear sensitivity in chinchillas. *J. Neurosci.* 27, 4146–4153.
16. **Der, C., Alzérreca, E., San Martín, J.T., et al. (2012).** National linguistic validation of the Tinnitus Handicap Inventory (THI). Assessment of disability caused by tinnitus in Chilean Spanish-speaking population. *Int. Tinnitus J.*, 17: 146-151.
17. **Dolan, D. F., Guo, M. H., & Nuttall, A. L. (1997).** Frequency dependent enhancement of basilar membrane velocity during olivocochlear bundle stimulation. *J. Acoust. Soc. Am.* 102, 3587–3596.
18. **Dragicevic, C., Aedo, C., León, A., Bowen, M., Jara, N., Terreros, G., et al. (2015).** The Olivocochlear Reflex Strength and Cochlear Sensitivity are Independently Modulated by Auditory Cortex Microstimulation. *J Assoc Res Otolaryngol* 16:223–40.
19. **Edmonson-Jones, M., McCormack, A., Somerset, S., Hall, D. (2016).** A systematic review of the reporting of tinnitus prevalence and severity. *Hear Res.* 337: 70-79.
20. **Eggermont, J.J., Tass, P.A. (2015).** Maladaptive Neural Synchrony in Tinnitus: Origin and Restoration. *Front. Neurol.* 6:29.
21. **Elgueda, D., Délano, P.H. (2020).** Corticofugal modulation of audition. *Current Opinion in Physiology*, 18: 73-78.
22. **Fex, J. (1959).** Augmentation of cochlear microphonic by stimulation of efferent fibres to the cochlea; preliminary report. *Acta Otolaryngol.* 50, 540-541.
23. **Fex, J. (1962).** Auditory activity in centrifugal and centripetal cochlear fibres in cat. A study of a feedback system. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 1962; 189, 1-68.
24. **Galambos, R. (1956).** Suppression of auditory nerve activity by stimulation of efferent fibers to the cochlea. *J. Neurophysiol.* 19, 424-437.
25. **Geven, L.I., de Kleine, E., Free, R.H., van Dijk, P. (2011).** Contralateral suppression of otoacoustic emissions in tinnitus patients. *Otol. Neurotol.*, 32: 315-321.

26. **Gifford, M. L. and Guinan, J. J., Jr. (1987).** Effects of electrical stimulation of medial olivocochlear neurons on ipsilateral and contralateral cochlear responses. *Hear. Res* 29, 179–194.
27. **Granjeiro, R.C., Kehrlé, H.M., de Oliveira, T.S., Sampaio, A.L., de Oliveira, C.A. (2013).** Is the degree of discomfort caused by tinnitus in normal-hearing individuals correlated with psychiatric disorders?. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 148: 658-663.
28. **Greenberg, G.Z., Larkin, W.D. (1968).** Frequency-response characteristic of auditory observers detecting signals of a single frequency in noise: the probe-signal method. *J. Acoustic. Soc. Am.*, 44(6): 1513-23.
29. **Guinan, J.J., Jr. (1996).** Physiology of Olivocochlear Efferents. In: *The Cochlea* (eds. P. Dallos, A. Popper, and R. Fay), pp. 435-502. Springer.
30. **Guinan, J.J. (2006).** Olivocochlear Efferents: Anatomy, Physiology, Function, and the Measurements of Efferent Effects in Humans. *Ear Hear*, 27: 589-607.
31. **Hallam, R.S., McKenna, L. & Shurlock, L. (2004).** Tinnitus impairs cognitive efficiency. *International Journal of Audiology*, 43:4, 218-226.
32. **Heeren, A., Maurage, P., Perrot, H., et al. (2014).** Tinnitus specifically alters the top-down executive control sub-component of attention: evidence from the Attention Network Task. *Behav. Brain Res.*, 269: 147-154.
33. **Hernandez-Peón, R., Scherrer, H., and Jouvét, M. (1956).** Modification of electric activity in cochlear nucleus during attention in unanesthetized cats. *Science* 123, 331–332.
34. **Hienz, R. D., Stiles, P., and May, B. J. (1998).** Effects of bilateral olivocochlear lesions on vowel formant discrimination in cats. *Hear. Res.* 116, 10–20.
35. **Hinalaf, M., Maggi, A.L., Hüg, M.X., Kogan, P., Villalobo, J.P., Biassoni, E.C. (2017).** Tinnitus, Medial Olivocochlear System, and Music Exposure in Adolescents. *Noise Health*, 19: 95-102.
36. **Jäger, K. & Kössl, M. (2016).** Corticofugal Modulation of DPOAEs in Gerbils. *Hear Res* 332:61–72.
37. **Kaltenbach, J.A. (2006).** The dorsal cochlear nucleus as a participant in the auditory, attentional and emotional components of tinnitus. *Hear. Res.*, 216: 224-234.
38. **Khalifa, S., Collet, L. (1996).** Functional asymmetry of medial olivocochlear system in humans. Towards a peripheral auditory lateralization. *Neuroreport*, 7: 993-996.

39. **Khalifa, S., Micheyl, C., Veuille, E., Collet, L. (1998).** Peripheral auditory lateralization assessment using TEOAEs. *Hear Res.*, 121: 29-34.
40. **Kim, H.J., Lee, H.J., An, S.Y., Sim, S., Park, B., Kim, S.W., Lee, J.S., Hong, S.K., Choi, H.G. (2015).** Analysis of prevalence and associated risk factors of tinnitus in adults. *PLoS One*. 10: e0127578.
41. **Knudson, I.M., Shera, C.A., Melcher, J.R. (2014).** Increased contralateral suppression of otoacoustic emissions indicates a hyperresponsive medial olivocochlear system in humans with tinnitus and hyperacusis. *J. Neurophysiol.*, 112: 3197-3208.
42. **Kujawa, S. G., Glatcke, T. J., Fallon, M., and Bobbin, R. P. (1994).** A nicotinic-like receptor mediates suppression of distortion product otoacoustic emissions by contralateral sound. *Hear. Res.* 74, 122–34.
43. **product otoacoustic emissions by contralateral sound. Hear. Res.** 74, 122–34.
44. **Lagos, R.G. & López, E.M. (2016).** Estudio normativo: Umbrales auditivos de alta frecuencia (9-20 kHz) en normoyentes entre 8 años y 23 años 11 meses, pertenecientes a la ciudad de Chillán. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello*, 76:31-42.
45. **Langguth, B. (2011).** A review of tinnitus symptoms beyond “ringing in the ears”: a call to action. *Curr. Med. Res. Opin.* 27: 1635-43.
46. **Langguth, B., Kreuzer, P. M., Kleinjung, T., De Ridder, D. (2013).** Tinnitus: causes and clinical management. *Lancet Neurol.* 12(9): 920–930.
47. **Liberman, M. C., Gao, J., He, D.Z.Z., Wu, X., Jia, S., & Zuo, J. (2002).** Prestin is required for electromotility of the outer hair cell and for the cochlear amplifier. *Nature*, 419(6904), 300-304.
48. **León, A., Elgueda, D., Silva, M. A., Hamamé, C. M. & Delano, P. H. (2012).** Auditory Cortex Basal Activity Modulates Cochlear Responses in Chinchillas. *PLoS ONE* 7(4): e36203.
49. **Levine, R.A. & Oron, Y. (2015).** Tinnitus en Celesia G.G., Hickok, G., EDS, *Handbook of Clinical Neurology: The Human Auditory System. Fundamental Organization and Clinical Disorders.* Edinburgh: Elsevier, 129: 409-31.
50. **Lucertini, M., Moleti, A., Sisto, R. (2002).** On the detection of early cochlear damage by otoacoustic emission analysis. *J. Acoust. Soc. Am.*, 111: 972-978.
51. **Malmierca, M. S. & Ryugo, D. K. (2011).** “Descending connections of the auditory cortex to the midbrain and the brainstem,” en *The AC*, eds J. A. Winerand C. E. Schreiner (New York: Springer Press), 189–208.
52. **May, B. J. & McQuone, S. J. (1995).** Effects of bilateral olivocochlear lesions on pure-tone intensity discrimination in cats. *Audit. Neurosci.* 1, 385–400.

53. **May, B. J., Budelis, J., and Niparko, J. K. (2004).** Behavioral studies of the olivocochlear efferent system: learning to listen in noise. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 130, 660–664.
54. **McCombe, A., Baguley, D., Coles, R., et al. (2001).** Guidelines for the grading of tinnitus severity: The results of a working group commissioned by the British Association of Otolaryngologists. *Allied Sci.*, 26: 388-93.
55. **Modh, D., Katarkar, A., Alam, N., Jain, A., Shah, P. (2014).** Relation of distortion product otoacoustic emission and tinnitus in normal hearing patients: A pilot study. *Noise Health*, 16: 69-72.
56. **Mohamad, N., Hoare, D.J., Hall, D.A. (2015).** The consequences of tinnitus and tinnitus severity on cognition: A review of the behavioural evidence. *Hearing Research*, 332: 199-209.
57. **Mulders, W. H. & Robertson, D. (2000a).** Evidence for direct innervation of medial olivocochlear neurons in rats. *Hear. Res.* 144, 65-72.
58. **Mulders, W.H.A.M. & Robertson, D. (2005a).** Catecholaminergic innervation of guinea pig superior olivary complex. *J. Chem. Neuroanat.*, 30: 230-242.
59. **Mulders, W.H.A.M. & Robertson, D. (2005b).** Noradrenergic modulation of brainstem nuclei alters cochlear neural output. *Hear Res.*, 204: 147-155.
60. **Murugasu, E. and Russell, I. J. (1996a).** The effect of efferent stimulation on basilar membrane displacement in the basal turn of the guinea pig cochlea. *J. Neurosci.* 16, 325–332.
61. **Newman, G.H., Jacobson, G.P., Spitzer, J.B. (1996).** Development of the Tinnitus Handicap Inventory. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 122: 143-8.
62. **Oatman, L. C. (1971).** Role of visual attention on auditory evoked potentials in unanesthetized cats. *Exp. Neurol.* 32, 341–356.
63. **Oeken, J. (1998).** Distortion Product Otoacoustic Emissions in acute acoustic trauma. *Noise Health*, 1: 56-66.
64. **Pattyn, T., Van Den Eede, F., Vanneste, S., Cassiers, L., Veltman, D.J., Van De Heyning, P., Sabbe, B.C.G. (2016).** Tinnitus and anxiety disorders: A review. *Hear Res.*, 333: 255-265.
65. **Peña Martínez, A. (2006).** Evaluación de la incapacidad provocada por el tinnitus: homologación lingüística nacional del *Tinnitus Handicap Inventory (THI)*. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello*, 66: 232-235.
66. **Pérez-Valenzuela, C., Gárate-Pérez, M.F., Sotomayor-Zárate, R., Délano, P.H., Dagnino-Subiabre, A. (2016).** Reboxetine Improves Auditory Attention and

Increases Norepinephrine Levels in the Auditory Cortex of Chronically Stressed Rats. *Front. Neural Circuits*, 10: 108.

67. **Perrot, X., Ryvlin, P., Isnard, J., Guénot, M., Catenoix, H., Fischer, C., Mauguière, F. & Collet, F. (2006).** Evidence for Corticofugal Modulation of Peripheral Auditory Activity in Humans, *Cerebral Cortex*, Volume 16, Issue 7, 1 July 2006, Pages 941–948.
68. **Pohl, R., Rainey, J.M., Ortiz, A., Yeragani, V.K. (1987).** Locus coeruleus and anxiety. *Biol. Psychiatry*, 22: 116-117.
69. **Rajan, R. and Johnstone, B. M. (1988).** Binaural acoustic stimulation exercises protective effects at the cochlea that mimic the effects of electrical stimulation of an auditory efferent pathway. *Brain Res.* 459, 241–255.
70. **Rasmussen, G. L. (1946).** The olivary peduncle and other fiber projections of the superior olivary complex. *J. Comp. Neurol.* 84, 141-219.
71. **Rasmussen, G. L. (1960).** Efferent fibers of the Cochlear Nerve and Cochlear Nucleus. In: *Neural Mechanisms of the Auditory and Vestibular Systems* (eds. G.L. Rasmussen and W.F. Windle), pp. 105-115. C.C. Thomas.
72. **Redmond, D.E. Jr., Huang, Y.H. (1979).** Current concepts. II. New evidence for a locus coeruleus-norepinephrine connection with anxiety. *Life Sci.*, 25: 2149-2162.
73. **Reiter, E. R. and Liberman, M. C. (1995).** Efferent-mediated protection from acoustic overexposure: relation to slow effects of olivocochlear stimulation. *J. Neurophysiol.* 73, 506–514.
74. **Riga, M., Katotomichelakis, M. & Danielides, V. (2015).** The potential role of the medial olivocochlear bundle in the generation of tinnitus: controversies and weaknesses in the existing clinical studies. *Otol Neurotol.* 36(2):201-8.
75. **Robles, L., Ruggero, M.A., & Rich, N.C. (1991).** Two-tone distortion in the basilar membrane of the cochlea. *Nature*, 349(6308), 413-414.
76. **Robles, L. & Ruggero, M. A. (2001).** Mechanics of the mammalian cochlea. *Physiol. Rev.* 81, 1305–1352.
77. **Robles, L. & Delano, P. H. (2008).** “Efferent system,” in *The Senses: A Comprehensive Reference*, eds. P. Dallos and D. Oertel (London, UK: Academic Press), 413–445.
78. **Saldaña, E., Feliciano, M., & Mugnaini, E. (1996).** Distribution of descending projections from primary auditory neocortex to inferior colliculus mimics the topography of intracollicular projections. *J. Comp. Neurol.* 371, 15–40.

79. **Salgado, H., García-Oscos, F., Dinh, L., Atzori, M. (2011).** Dynamic modulation of short-term synaptic plasticity in the auditory cortex: The role of norepinephrine. *Hear Res.*, 271: 26-36.
80. **Schofield, B. R. (2011).** "Central descending auditory pathways," in *Auditory and Vestibular Efferents*, eds. D. K. Ryugo, A. N. Popper, and R. R. Fay (New York, NY: Springer-Verlag), 261–290.
81. **Serra, L.S., Granjeiro, R.C., Braga, S.C., Oliveira, C.A., Sampaio, A.L. (2015).** Association between suppression of otoacoustic emissions and annoyance levels in tinnitus patients with normal hearing. *Int Tinnitus J.*, 19: 52-58.
82. **Shargorodsky, J., Curhan, G. C., Farwell, W. R. (2010).** Prevalence and characteristics of tinnitus among US adults. *Am. J. Med.* 123(8): 711–718.
83. **Scharf, B. (1988).** Auditory attention: The psychoacoustical approach. En H. Pashler (Ed.), *Attention* (p. 75-117). Psychology Press/Erlbaum (UK) Taylor & Francis.
84. **Shiomi, Y., Tsuji, J., Naito, Y., Fujiki, N., Yakamoto, N. (1997).** Characteristics of DPOAE audiogram in tinnitus patients. *Hear Res.*, 108: 83-88.
85. **Shomstein, S., Yantis, S. (2004).** Control of attention shifts between vision and audition in human cortex. *J Neurosci.* 24: 10702–10706.
86. **Simmons, D. D. (2002).** Development of the inner ear efferent system across vertebrate species. *J. Neurobiol.* 53, 228-250.
87. **Singer, W., Panford-Walsh, R., Knipper, M. (2014).** The function of BDNF in the adult auditory system. *Neuropharmacology*, 76: 719-728.
88. **Spielberger, C.D., Gorsuch, R.L., Lushene, R.E. (1982).** STAI, Manual for the State-Trait Anxiety Inventory. California, Consulting Psychologists Press. Adapt. Española. Madrid, TEA Ediciones.
89. **Srinivasan, S., Keil, A., Stratis, K., Carr, K. L. W. & Smith, D. W. (2012).** Effects of Cross-Modal Selective Attention on the Sensory Periphery: Cochlear Sensitivity Is Altered by Selective Attention. *Neuroscience*.223:325–332.
90. **Srinivasan, S., Keil, A., Stratis, K., Osborne, A. F., Cerwonka, C., Wong, J., et al. (2014).** Interaural attention modulates outer hair cell function. *Eur. J. Neurosci.* 40, 3785–3792.
91. **Stevens, C., Walker, G., Boyer, M. & Gallagher, M. (2007).** Severe Tinnitus and its effect on selective and divided attention. *International Journal of Audiology*, 45:6, 208-216.

92. **Tanaka, M., Yoshida, M., Emoto, H., Ishii, H. (2000).** Noradrenaline systems in the hypothalamus, amygdala and locus coeruleus are involved in the provocation of anxiety: basic studies. *Eur. J. Pharmacol.*, 405: 397-406.
93. **Terreros, G., & Delano, P. H. (2015).** Corticofugal modulation of peripheral auditory responses. *Front. in Syst. Neurosci.* 9:134.
94. **Terreros, G., Jorratt, P., Aedo, C., Elgoyhen, A.B., Délano, P.H. (2016).** Selective Attention to Visual Stimuli Using Auditory Distractors Is Altered in Alpha-9 Nicotinic Receptor Subunit Knock-Out Mice. *J. Neurosci.*, 36(27): 7198-209.
95. **Urnau, D. & Tochetto, T.M. (2012).** Occurrence and suppression effect of Otoacoustic Emissions in normal hearing adults with tinnitus and hyperacusis. *Braz. J. Otorhinolaryngol.*, 78: 87-94.
96. **Velluti, R., Pedemonte, M., and Garcia-Austt, E. (1989).** Correlative changes of auditory nerve and microphonic potentials throughout sleep. *Hear. Res* 39, 203–208.
97. **Vera-Villarroel, P., Celis-Atenas, K., Córdova-Rubio, N., Buela-Casal, G., Spielberg, C.D. (2007).** Preliminary Analysis and Normative Data of the State-Trait Anxiety Inventory (STAI) in Adolescent and Adults of Santiago, Chile. *Ter. Psicol.*, 25: 155-162.
98. **Vielsmeier, V., Lehner, A., Strutz, J., et al. (2015).** The relevance of the High Frequency Audiometry in Tinnitus Patients with Normal Hearing in Conventional Pure-Tone Audiometry. *Biomed. Res. Int.*, 2015: 302515.
99. **Warr, W. B. (1975).** Olivocochlear and vestibular efferent neurons of feline brainstem – their location, morphology and number determined by retrograde axonal-transport and acetylcholinesterase histochemistry. *J. Comp. Neurol.* 161, 159-181.
100. **Warr, W. B. & Guinan, J. J. (1979).** Efferent Innervation of the Organ of Corti – 2 Separate Systems. *Brain. Res.* 173, 152-155.
101. **Wimmer, J., Donoso, R., Leiva, A., Breinbauer, H., Delano, P.H. (2019).** Tinnitus: Una patología cerebral. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello.* 79: 125-136.
102. **Wittekindt, A., Kaiser, J. & Abel, C. (2014).** Attentional modulation of the inner ear: a combined otoacoustic emission and EEG study. *J Neurosci.* 34(30):9995-10002.
103. **Xiong, Y., Zhang, Y. & Yan, J. (2009).** The neurobiology of sound-specific auditory plasticity: a core neural circuit. *Neurosci. Biobehav.Rev.* 33, 1178–1184.
104. **Yakunina, N., Tae, W.S., Kim, S.S., Nam, E.C. (2019).** Functional MRI evidence of the cortico-olivary efferent pathway during active auditory target processing in humans. *Hear Res.*, 379: 1- 11.

105. **Yamasoba, T. & Dolan, D. F. (1997).** Chronic strychnine administration into the cochlea potentiates permanent threshold shift following noise exposure. *Hear. Res.* 112, 13–20.