



# Universidad de Navarra

Facultad de Medicina

Facultad de Ciencias

*ESTUDIO DE LA FARMACOCINÉTICA COCLEAR  
POR MEDIO DE LA LIBERACIÓN DE FÁRMACO A  
TRAVÉS DE UN IMPLANTE COCLEAR EN  
UN MODELO EXPERIMENTAL ANIMAL:  
MACACA FASCICULARIS*

*STUDY OF COCHLEAR PHARMACOKINETICS BY  
MEANS OF DRUG DELIVERY VIA A COCHLEAR  
IMPLANT IN AN EXPERIMENTAL ANIMAL MODEL:  
MACACA FASCICULARIS*

Marta Álvarez de Linera Alperi





Universidad de Navarra

Facultad de Ciencias

Facultad de Medicina

*ESTUDIO DE LA FARMACOCINÉTICA COCLEAR POR MEDIO DE  
LA LIBERACIÓN DE FÁRMACO A TRAVÉS DE UN IMPLANTE  
COCLEAR EN UN MODELO EXPERIMENTAL ANIMAL:  
MACACA FASCICULARIS*

*STUDY OF COCHLEAR PHARMACOKINETICS BY MEANS OF  
DRUG DELIVERY VIA A COCHLEAR IMPLANT IN AN  
EXPERIMENTAL ANIMAL MODEL: MACACA FASCICULARIS*

Memoria presentada por D<sup>a</sup> Marta Álvarez de Linera Alperi para aspirar al Grado de Doctor por la Universidad de Navarra en el Programa de Doctorado de Medicina Aplicada y Biomedicina

El presente trabajo ha sido realizado bajo la Dirección de los siguientes Profesores en el Departamento de Otorrinolaringología y autorizamos su presentación ante el Tribunal que lo ha de juzgar.

Pamplona, 30 de mayo de 2022.

Dr. Manuel Jesús Manrique Rodríguez

Dra. Raquel Manrique Huarte



## DEDICATORIA

A mis abuelos, **Tata** y **Toto**, por hacerme siempre ver, a través de su cariño y enseñanzas, que no hay nada más importante que el amor de la familia para ser feliz y alcanzar tus metas. Teniendo *sentido común, que es el menos común de todos*, llegarás a convertirte en *el tesoro* que buscas ser.

A mis padres, por ser mi ejemplo a seguir y mi apoyo incondicional. A **Papá**, por enseñarme que luchar por lo que uno quiere tiene su recompensa y que no hay nada más especial que conseguir las cosas por uno mismo. *Las cosas comienzan a encajar con absoluta perfección cuando estamos concentrados en lo que queremos*. Es por eso que, *antes de rendirte, intenta*. A **Mamá**, por mantener la alegría y la ilusión en cada momento de la vida, haciéndonos ver aquello por lo que realmente merece la pena luchar, y transmitirnos a todos siempre que la vida se disfruta mucho más a sorbitos pequeños. *Sé feliz y siempre sonríe*.

A **Miguel**, mi hermano, por ser cada día mi segunda mitad. Por enseñarme que las cosas siempre son posibles, por muy difíciles que puedan parecer. Porque *la vida es corta y el secreto está en vivirla intensamente*. Por demostrarme que, aunque *life is about learning how to dance in the rain*, solo tenemos que recordar siempre que *cundo cambias la forma de ver las cosas, ves que las cosas cambian*.

A **Pablo**, por enseñarme a confiar en mí y sacar lo mejor de mi en cada momento. Por hacerme entender que los límites se los pone uno mismo. Por acompañarme siempre y siempre encontrar la manera de llegar a mí. Por enseñarme que el amor de verdad existe y es lo más bonito que uno puede alcanzar. Un *gran mago* siempre confía en su baraja de cartas y los *verdaderos tesoros* están escondidos y son aquellos por los que merece la pena luchar. *La dureza de un diamante; la eternidad, disfrazada en elefante*.

A **Ana**, una de las personas que más me conoce y que siempre buscó impulsarme en todos los aspectos de mi vida, tanto personales como profesionales, ayudándome a crecer y tomar mis propias decisiones.

A **Jaime Fullaondo**, por aconsejarme y cuidarme siempre como si fuera una hija más y ayudarme a descubrir el bonito mundo de la otología, orientándome y animándome a realizar mi formación en la Clínica Universidad de Navarra.

Al resto de mi familia y amigos, al resto del “**Núcleo duro**”, por ayudarme a convertirme en la persona que soy hoy y tener la vida que siempre deseé.



## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, deseo expresar especialmente mi gratitud a mis directores, el Dr. Manuel Manrique Rodríguez y la Dra. Raquel Manrique Huarte, quienes con sus conocimientos y apoyo me impulsaron día a día para conseguir alcanzar mis objetivos, introduciéndome en la ámbito de la investigación y transmitiéndome la pasión por el mundo de la otología-otoneurología, no solo desde un punto de vista laboral, sino también personal y familiar, siempre desde el mayor de los afectos y cariños.

Al Dr. Cervera, cuyo criterio contribuyó a hacerme formar parte del Departamento de Otorrinolaringología de la Clínica Universidad de Navarra, ejerciendo de tutor durante los cuatro años de mi residencia, brindándome su tiempo y consejos, e impulsándome siempre a conseguir alcanzar todas mis metas.

Al Dr. Alcalde, por haber buscado siempre transmitirme todos sus conocimientos, aconsejándome, cuidándome y haciéndome así crecer día tras día, tanto en el ámbito laboral como en el personal.

Al resto de profesionales que componen el Departamento de Otorrinolaringología, de los que tanto he aprendido y tengo la suerte de seguir aprendiendo día a día:

Al Dr. Baptista, a la Dra. Huarte, al Dr. Fernández, y al resto de especialistas que forman parte de nuestro Departamento, por dedicarme todo su tiempo y esfuerzo para que llegase a convertirme en la mejor versión de mí, no solo en el ámbito profesional, sino también en el personal.

A mi equipo de residentes, Octavio, Carlos, Sol, Natalia y David, mis amigos y compañeros, con los que he tenido la suerte de compartir mis cuatro años de formación. Por enseñarme que hay tiempo para todo y que ir a trabajar puede convertirse en una gran alegría si se enfoca desde el punto de vista adecuado.

A Alicia Gancino, las secretarias, enfermeras, auxiliares y resto de miembros del Departamento de Otorrinolaringología, del equipo de quirófano y de las plantas de hospitalización, con los que tantos momentos he compartido y que siempre me han ayudado, aconsejándome y haciéndome sentir parte de una gran familia.

A María Antonia, a Josean y al personal del servicio de Experimentación Animal de la Universidad de Navarra, así como al Prof. Alec Salt, a Jared Hartsock y a Ruth Gill, de la *Washington University in St. Louis*, por su gran apoyo y ayuda, introduciéndome y enseñándome la bonita experiencia y aprendizaje de la experimentación animal.

A todos los miembros del Departamento de Otorrinolaringología del *NKO Sint-Augustinus Antwerpen*, en especial al Prof. Dr. Zarowski, al Prof. Dr. Offeciers y a los especialistas en formación con los que tuve la oportunidad de coincidir, por cuidarme, enseñarme y dedicarme todo su tiempo para así contribuir a la profundización y desarrollo de esta tesis doctoral, optando a la obtención de la *mención internacional*.

A Virginia Sobrini, a la Universidad de Navarra y al personal de la compañía *Cochlear Ltd.*, sin los cuales no habría sido posible el adecuado desarrollo de esta tesis doctoral.



## RESUMEN

En la actualidad, el implante coclear (IC) es uno de los dispositivos más empleados en el tratamiento de la hipoacusia neurosensorial de grado severo-profundo. A pesar de las mejoras en la técnica quirúrgica y en las guías de electrodos empleadas, su colocación genera un daño al oído interno, así como un ambiente proinflamatorio que favorece el aumento de las impedancias eléctricas y el empeoramiento de los niveles auditivos post-operatorios. La reciente experimentación en animales demuestra que la administración de corticoides a nivel intracoclear disminuiría la formación de la capa fibrótica en torno al electrodo tras la implantación, obteniéndose un mayor rendimiento del IC.

Dado que la cóclea es un órgano relativamente aislado en el organismo, la administración sistémica de fármacos para el tratamiento de patologías auditivas no ha tenido hasta ahora resultados satisfactorios. A su vez, los tratamientos intratimpánicos presentan un efecto terapéutico limitado a largo plazo. Por esta razón, en las últimas décadas se ha estudiado la posibilidad de emplear un tratamiento basado en la asociación de un IC con fármacos o terapia génica. Para ello, se desarrolló un nuevo dispositivo de IC que cuenta con una bomba de liberación asociada a una cánula, que permitiría tratar las pérdidas de audición por medio de un abordaje combinado de terapia farmacológica y estimulación eléctrica. Sin embargo, a día de hoy aún no se conoce del todo la farmacocinética de los líquidos cocleares. El adecuado conocimiento del comportamiento y distribución de los fármacos en el oído interno permitiría conocer la repercusión exacta que su administración supondría, asegurando un tratamiento a largo plazo, un control eficaz de la dosis y la posibilidad de emplear distintos fármacos.

Dados los satisfactorios hallazgos obtenidos en otros animales de experimentación y los estudios recientes que demuestran la similitud existente, tanto a nivel anatómico como fisiológico, entre los primates y el ser humano, el traslado a la experimentación en *Macaca fascicularis* (Mf) permitiría la futura extrapolación de los resultados obtenidos al ser humano, con el fin de conocer a fondo las características farmacocinéticas de la cóclea humana planteando así dosis y terapias útiles y con menores efectos secundarios en el tratamiento de las distintas patologías auditivas. Así, el objetivo fundamental de esta tesis doctoral es establecer la dinámica de fluidos existente a nivel coclear en un modelo experimental animal: Mf, demostrando la existencia de un flujo en dirección apical, favorecido por distintos factores intracocleares e igualmente condicionado por los mismos.

Este estudio se llevó a cabo siguiendo los principios básicos que rigen la farmacocinética: el esquema LADME (Liberación, Absorción, Distribución, Metabolismo y Eliminación). Se realizó un estudio prospectivo, longitudinal, experimental y comparativo entre un total de 15 Mf a los que se les implantó un dispositivo preclínico, *CI Electrode Array HL14DD*, manufacturado por la compañía *Cochlear Ltd.*, asociado a una bomba de

liberación cargada con Isotiocinato de fluoresceína, asociado a dextrano (FITC-Dextran). Se crearon 3 grupos (5 Mf en cada uno), en función del tiempo de liberación programado: Grupo 2 horas, Grupo 24 horas y Grupo 7 días. Se tomaron muestras de perilinfa (10 muestras, de 1  $\mu$ L cada una) del ápex coclear y se analizaron inmediatamente después por medio de un espectrofluorímetro. Tras la eutanasia del animal, se realizó un análisis histológico detallado del hueso temporal implantado. Los resultados obtenidos fueron analizados, interpretados y comparados entre sí, así como con los hallazgos evidenciados en otros animales de experimentación, en estudios previos.

Estos resultados apoyan la viabilidad del Mf como modelo para el estudio de la farmacocinética del oído interno, con la existencia de un flujo coclear en el Mf, en dirección apical, así como la necesidad de un tiempo de infusión de entre 2 y 24 horas para alcanzar concentraciones máximas en el ápex. Pasado este tiempo, una vez transcurrido al menos un periodo de liberación de sustancia comprendido entre 24 horas y 7 días, las concentraciones tienden a disminuir, correspondiéndose con el inicio del periodo de “lavado” de la sustancia administrada a nivel intracoclear. También se sugiere que las variaciones anatómicas del Mf y la existencia de posibles reservorios generados como consecuencia de las comunicaciones existentes entre la escala timpánica, y los espacios extracelulares (espacio modiolar, seno endolinfático) pueden jugar un papel importante en el mantenimiento de las concentraciones a lo largo de la toma de muestras.

Los importantes avances en las técnicas de imagen, así como los buenos resultados obtenidos en este estudio, promueven nuevas vías de investigación, aplicando estos hallazgos a otras regiones del oído interno. Técnicas mínimamente invasivas de abordaje al laberinto posterior permitirían no sólo ampliar el conocimiento en la administración local de fármacos, directamente a nivel del oído interno, sino también establecer nuevos tratamientos que permitiesen un abordaje completo del conjunto de patologías que pueden comprometer la adecuada funcionalidad de este órgano de los sentidos, tanto a nivel auditivo como vestibular.

## ABSTRACT

At present, the cochlear implant (CI) is one of the most widely used devices to treat severe-to-profound sensorineural hearing loss. Despite improvements in surgical technique and electrode arrays, its placement leads to damage to the inner ear, as well as a pro-inflammatory environment that favours increased electrical impedances and worsens postoperative hearing outcomes. Recent animal experimentation reveals that intracochlear corticosteroid administration would decrease the formation of the fibrotic layer around the electrode post-implantation, which would enhance CI performance.

Given that the cochlea is a relatively isolated organ in the body, systemic administration of drugs to treat auditory impairment has failed to yield satisfactory results thus far. Furthermore, intratympanic treatments have a limited long-term therapeutic effect. Therefore, the possibility of using a treatment based on the association of a CI with drugs or gene therapy has been explored in recent decades. To this end, a new CI device with a cannula-associated delivery pump was developed that would make it possible to treat hearing loss through a combined approach of drug therapy and electrical stimulation. However, the pharmacokinetics of cochlear fluids have yet to be fully understood. A suitable knowledge of drug behaviour and distribution within the inner ear would provide insight into the precise impact of drug administration, ensuring long-term treatment, effective dosage control, and the possibility of using a variety of drugs.

Given the satisfactory findings in other experimental animals and the recent studies that demonstrate the anatomical and physiological similarity between primates and humans, the translation to experimentation in *Macaca fascicularis* (Mf) would enable the results obtained in the future to be extrapolated to humans, with the aim of gaining in-depth knowledge regarding the pharmacokinetic characteristics of the human cochlea, thereby establishing useful doses and therapies with fewer side effects to treat different auditory pathologies. Thus, the main objective of this doctoral thesis is to establish the existing fluid dynamics of the cochlea in an experimental animal model: Mf, evidencing the existence of a flow in the apical direction, assisted by different intracochlear factors and also conditioned by them.

This study was conducted according to the basic principles governing pharmacokinetics: the LADME (Liberation, Absorption, Distribution, Metabolism, and Elimination) scheme. A prospective, longitudinal, experimental and comparative study was performed in a total of 15 Mf implanted with a preclinical device, *CI Electrode Array HL14DD*, manufactured by *Cochlear Ltd.*, associated with a release pump loaded with fluorescein isothiocyanate, associated with dextran (FITC-Dextran). Three groups (5 Mf each) were formed based on the scheduled release time: Group 2 hours, Group 24 hours and Group 7 days. Perilymph samples (10 samples, 1  $\mu\text{L}$  each) were taken from the cochlear apex and analysed immediately afterwards by spectrofluorimeter. After euthanasia of the animal, a

detailed histological analysis of the implanted temporal bone was conducted. The results were analysed, interpreted, and compared with each other, as well as with findings from previous studies in other experimental animals.

These results support the viability of the Mf as a model to study inner ear pharmacokinetics, with a cochlear flow in the Mf towards the apex, as well as the need for an infusion time of between 2 and 24 hours to attain peak concentrations in the apex. Then, after a period of at least 24 hours to 7 days of substance release, concentrations tend to decrease, corresponding to the beginning of the “washout” period of the substance administered intracochlearly. Furthermore, it is suggested that the anatomical variations in Mf and the existence of possible reservoirs generated as a result of communications between the scala tympani and the extracellular spaces (modiolar space, endolymphatic sinus) could play an important role in maintaining concentrations throughout the sampling period.

Major inroads into imaging techniques, as well as the encouraging results obtained in this study, promote new avenues of research, applying these findings to other regions of the inner ear. Minimally invasive techniques to approach the posterior labyrinth would not only enable us to broaden our knowledge regarding local delivery of drugs directly to the inner ear, but also to establish new treatments that would provide a comprehensive approach to the range of conditions that can compromise the proper functioning of this sensory organ, both at the auditory and vestibular levels.

# Índice general



# Índice general

Índice de tablas	14
Índice de figuras	15
Índice de abreviaturas	19
<b>1. Introducción</b>	<b>21</b>
1.1. Oído interno	24
1.1.1. Descripción anatómo-fisiológica del oído interno del ser humano	24
1.1.1.1. Comunicación entre ambas regiones del oído interno: cóclea y laberinto	26
1.1.1.2. Comunicación entre las estructuras del oído interno y la región intracraneal	27
1.1.1.2.1. Acueducto coclear	27
1.1.1.2.2. Saco endolinfático	29
1.1.1.3. Vascularización y drenaje linfático del oído interno. Barrera hemato-perilinfática	29
1.1.1.3.1. Vascularización del oído interno	29
1.1.1.3.2. Drenaje linfático del oído interno	30
1.1.1.3.3. Barrera hemato-laberíntica	31
1.1.2. Características principales de los líquidos laberínticos en el ser humano: endolinfa y perilinfa	32
1.1.2.1. Localización de los líquidos laberínticos	32
1.1.2.1.1. Escalas vestibular y timpánica	32
1.1.2.1.2. Escala coclear o media	32
1.1.2.2. Producción de los líquidos laberínticos	32
1.1.2.2.1. Perilinfa	32
1.1.2.2.2. Endolinfa	33
1.1.2.3. Composición de los líquidos laberínticos	33
1.1.2.4. Reabsorción de los líquidos laberínticos	33
1.1.3. Comparación anatómo-fisiológica entre los distintos especímenes relevantes en el estudio: roedores ( <i>Guinea pig</i> ), primates ( <i>Macaca fascicularis</i> ) y el ser humano	34
1.2. Experiencia en la liberación de fármacos a nivel del oído	35

1.2.1.	Experiencia en la liberación de sustancias en animales de experimentación . . . . .	36
1.2.1.1.	Principios de la farmacocinética coclear: el esquema LADME	36
1.2.1.1.1.	Liberación . . . . .	36
1.2.1.1.1.1.	Administración por vía intratimpánica . .	37
1.2.1.1.1.2.	Administración directa a nivel del oído interno . . . . .	39
1.2.1.1.1.3.	Dispositivos de liberación . . . . .	40
1.2.1.1.2.	Absorción . . . . .	43
1.2.1.1.3.	Distribución . . . . .	44
1.2.1.1.4.	Metabolismo . . . . .	47
1.2.1.1.4.1.	Características de la sustancia inyectada. .	48
1.2.1.1.5.	Eliminación . . . . .	49
1.2.1.2.	Análisis de resultados. Técnicas de toma de muestras . . .	50
1.2.2.	Experiencia en la liberación de fármacos para el tratamiento de diferentes entidades clínicas en humanos . . . . .	50
1.2.2.1.	Enfermedad de Meniere . . . . .	51
1.2.2.2.	Sordera súbita . . . . .	53
1.2.2.3.	Trastornos inmunomediados del oído interno . . . . .	53
1.2.2.4.	Acúfenos . . . . .	54
<b>2.</b>	<b>Hipótesis y Objetivos</b>	<b>57</b>
2.1.	Hipótesis . . . . .	59
2.2.	Enumeración de las hipótesis específicas . . . . .	59
2.3.	Objetivos . . . . .	60
2.3.1.	Objetivo principal . . . . .	60
2.3.2.	Objetivos secundarios . . . . .	60
<b>3.</b>	<b>Materiales y métodos</b>	<b>61</b>
3.1.	Diseño del estudio . . . . .	63
3.2.	Descripción del animal de experimentación . . . . .	64
3.2.1.	Generalidades . . . . .	64
3.2.2.	Especímenes participantes en este estudio . . . . .	65
3.3.	Dispositivo implantable y sustancia liberada a nivel intracoclear . . . . .	65
3.4.	Procedimiento anestésico . . . . .	69
3.5.	Procedimiento quirúrgico . . . . .	70
3.5.1.	Procedimiento quirúrgico de implantación . . . . .	70
3.5.2.	Procedimiento quirúrgico de toma de muestras . . . . .	73
3.6.	Eutanasia y perfusión . . . . .	79
3.7.	Extracción del hueso temporal y procesamiento histológico . . . . .	80
3.8.	Análisis de las muestras obtenidas . . . . .	84
3.9.	Análisis histológico . . . . .	85
3.10.	Estimación de los volúmenes intracocleares del <i>Macaca fascicularis</i> . . . . .	87

3.11. Análisis estadístico . . . . .	88
<b>4. Resultados</b>	<b>91</b>
4.1. Resultados generales . . . . .	93
4.1.1. Procedimiento quirúrgico de implantación . . . . .	93
4.1.2. Procedimiento quirúrgico de toma de muestras . . . . .	96
4.1.3. Particularidades durante los procedimientos . . . . .	100
4.2. Resultados en cada uno de los grupos a estudio . . . . .	100
4.2.1. Grupo 2 horas . . . . .	100
4.2.1.1. <i>Macaca fascicularis</i> 1 (Mf1-2h) . . . . .	102
4.2.1.1.1. Datos demográficos . . . . .	102
4.2.1.1.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	102
4.2.1.1.2.1. Implantación. . . . .	102
4.2.1.1.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras. . . . .	103
4.2.1.1.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	103
4.2.1.1.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran . . . . .	103
4.2.1.1.4. Análisis histológico . . . . .	103
4.2.1.2. <i>Macaca fascicularis</i> 2 (Mf2-2h) . . . . .	108
4.2.1.2.1. Datos demográficos . . . . .	108
4.2.1.2.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	108
4.2.1.2.2.1. Implantación. . . . .	108
4.2.1.2.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras. . . . .	108
4.2.1.2.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	108
4.2.1.2.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran . . . . .	109
4.2.1.2.4. Análisis histológico . . . . .	109
4.2.1.3. <i>Macaca fascicularis</i> 3 (Mf3-2h) . . . . .	113
4.2.1.3.1. Datos demográficos . . . . .	113
4.2.1.3.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	113
4.2.1.3.2.1. Implantación. . . . .	113
4.2.1.3.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras. . . . .	113
4.2.1.3.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	113
4.2.1.3.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran . . . . .	114
4.2.1.3.4. Análisis histológico . . . . .	114
4.2.1.4. <i>Macaca fascicularis</i> 4 (Mf4-2h) . . . . .	118
4.2.1.5. <i>Macaca fascicularis</i> 4, oído derecho (Mf4-2h-OD) . . . . .	119
4.2.1.5.1. Datos demográficos . . . . .	119
4.2.1.5.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	119

4.2.1.5.2.1.	Implantación. . . . .	119
4.2.1.5.2.2.	Cocleostomía apical y toma de muestras. .	119
4.2.1.5.2.3.	Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	119
4.2.1.5.3.	Cuantificación de las concentraciones de FITC- Dextran . . . . .	120
4.2.1.5.4.	Análisis histológico . . . . .	120
4.2.1.6.	<i>Macaca fascicularis</i> 4, oído izquierdo (Mf4-2h-OI) . . . . .	124
4.2.1.6.1.	Datos demográficos . . . . .	124
4.2.1.6.2.	Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	124
4.2.1.6.2.1.	Implantación. . . . .	124
4.2.1.6.2.2.	Cocleostomía apical y toma de muestras. .	124
4.2.1.6.2.3.	Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	124
4.2.1.6.3.	Cuantificación de las concentraciones de FITC- Dextran . . . . .	125
4.2.1.6.4.	Análisis histológico . . . . .	125
4.2.1.7.	<i>Macaca fascicularis</i> 5 (Mf5-2h) . . . . .	129
4.2.1.7.1.	Datos demográficos . . . . .	129
4.2.1.7.2.	Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	129
4.2.1.7.2.1.	Implantación. . . . .	129
4.2.1.7.2.2.	Cocleostomía apical y toma de muestras. .	129
4.2.1.7.2.3.	Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	129
4.2.1.7.3.	Cuantificación de las concentraciones de FITC- Dextran . . . . .	130
4.2.1.7.4.	Análisis histológico . . . . .	130
4.2.2.	Grupo 24 horas . . . . .	134
4.2.2.1.	<i>Macaca fascicularis</i> 1 (Mf1-24h) . . . . .	135
4.2.2.1.1.	Datos demográficos . . . . .	135
4.2.2.1.2.	Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	135
4.2.2.1.2.1.	Implantación. . . . .	135
4.2.2.1.2.2.	Cocleostomía apical y toma de muestras. .	136
4.2.2.1.2.3.	Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	136
4.2.2.1.3.	Cuantificación de las concentraciones de FITC- Dextran . . . . .	137
4.2.2.1.4.	Análisis histológico . . . . .	138
4.2.2.2.	<i>Macaca fascicularis</i> 2 (Mf2-24h) . . . . .	142
4.2.2.2.1.	Datos demográficos . . . . .	142
4.2.2.2.2.	Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	142
4.2.2.2.2.1.	Implantación. . . . .	142
4.2.2.2.2.2.	Cocleostomía apical y toma de muestras. .	142

4.2.2.2.3.	Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	142
4.2.2.2.3.	Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran . . . . .	143
4.2.2.2.4.	Análisis histológico . . . . .	143
4.2.2.3.	<i>Macaca fascicularis</i> 3 (Mf3-24h) . . . . .	147
4.2.2.3.1.	Datos demográficos . . . . .	147
4.2.2.3.2.	Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	147
4.2.2.3.2.1.	Implantación. . . . .	147
4.2.2.3.2.2.	Cocleostomía apical y toma de muestras. . . . .	147
4.2.2.3.2.3.	Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	147
4.2.2.3.3.	Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran . . . . .	148
4.2.2.3.4.	Análisis histológico . . . . .	148
4.2.2.4.	<i>Macaca fascicularis</i> 4 (Mf4-24h) . . . . .	152
4.2.2.4.1.	Datos demográficos . . . . .	152
4.2.2.4.2.	Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	152
4.2.2.4.2.1.	Implantación. . . . .	152
4.2.2.4.2.2.	Cocleostomía apical y toma de muestras. . . . .	152
4.2.2.4.2.3.	Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	152
4.2.2.4.3.	Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran . . . . .	153
4.2.2.4.4.	Análisis histológico . . . . .	153
4.2.2.5.	<i>Macaca fascicularis</i> 5 (Mf5-24h) . . . . .	157
4.2.2.5.1.	Datos demográficos . . . . .	157
4.2.2.5.2.	Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	157
4.2.2.5.2.1.	Implantación. . . . .	157
4.2.2.5.2.2.	Cocleostomía apical y toma de muestras. . . . .	157
4.2.2.5.2.3.	Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	157
4.2.2.5.3.	Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran . . . . .	158
4.2.2.5.4.	Análisis histológico . . . . .	158
4.2.3.	Grupo 7 días . . . . .	162
4.2.3.1.	<i>Macaca fascicularis</i> 1 (Mf1-7d) . . . . .	163
4.2.3.1.1.	Datos demográficos . . . . .	163
4.2.3.1.2.	Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	163
4.2.3.1.2.1.	Implantación. . . . .	163
4.2.3.1.2.2.	Cocleostomía apical y toma de muestras. . . . .	164
4.2.3.1.2.3.	Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	164

4.2.3.1.3.	Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran . . . . .	165
4.2.3.1.4.	Análisis histológico . . . . .	166
4.2.3.2.	<i>Macaca fascicularis</i> 2 (Mf2-7d) . . . . .	169
4.2.3.2.1.	Datos demográficos . . . . .	169
4.2.3.2.2.	Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	169
4.2.3.2.2.1.	Implantación. . . . .	169
4.2.3.2.2.2.	Cocleostomía apical y toma de muestras. . . . .	170
4.2.3.2.2.3.	Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	170
4.2.3.2.3.	Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran . . . . .	171
4.2.3.2.4.	Análisis histológico . . . . .	171
4.2.3.3.	<i>Macaca fascicularis</i> 3 (Mf3-7d) . . . . .	174
4.2.3.3.1.	Datos demográficos . . . . .	174
4.2.3.3.2.	Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	174
4.2.3.3.2.1.	Implantación. . . . .	174
4.2.3.3.2.2.	Cocleostomía apical y toma de muestras. . . . .	174
4.2.3.3.2.3.	Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	175
4.2.3.3.3.	Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran . . . . .	176
4.2.3.3.4.	Análisis histológico . . . . .	176
4.2.3.4.	<i>Macaca fascicularis</i> 4 (Mf4-7d) . . . . .	180
4.2.3.4.1.	Datos demográficos . . . . .	180
4.2.3.4.2.	Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	180
4.2.3.4.2.1.	Implantación. . . . .	180
4.2.3.4.2.2.	Cocleostomía apical y toma de muestras. . . . .	180
4.2.3.4.2.3.	Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	180
4.2.3.4.3.	Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran . . . . .	181
4.2.3.4.4.	Análisis histológico . . . . .	181
4.2.3.5.	<i>Macaca fascicularis</i> 5 (Mf5-7d) . . . . .	185
4.2.3.5.1.	Datos demográficos . . . . .	185
4.2.3.5.2.	Procedimientos y hallazgos quirúrgicos . . . . .	185
4.2.3.5.2.1.	Implantación. . . . .	185
4.2.3.5.2.2.	Cocleostomía apical y toma de muestras. . . . .	185
4.2.3.5.2.3.	Particularidades observadas durante los procedimientos. . . . .	185
4.2.3.5.3.	Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran . . . . .	186
4.2.3.5.4.	Análisis histológico . . . . .	186

4.3. Comparación y análisis de los resultados obtenidos en el conjunto de los tres grupos . . . . .	190
<b>5. Discusión</b>	<b>193</b>
5.1. Consideraciones generales . . . . .	195
5.2. Respecto al espécimen a estudio . . . . .	196
5.3. Respecto al dispositivo implantable . . . . .	197
5.4. Respecto al procedimiento quirúrgico y la técnica de toma de muestras . .	199
5.4.1. Traumatismo generado por la colocación del implante . . . . .	200
5.4.2. Cambio de presiones generado por la alteración de las estructuras que delimitan el oído interno . . . . .	201
5.4.2.1. Alteración de la cadena de huesecillos, con desarticulación de la platina del estribo . . . . .	201
5.4.2.2. Cambios generados a nivel de la ventana redonda . . . . .	201
5.4.2.3. Influencia de la presencia del dispositivo de implante coclear a nivel de la escala timpánica . . . . .	203
5.4.2.4. Alteración de la estructura anatómica de la cápsula ótica .	203
5.5. Respecto a los resultados de concentraciones obtenidos de las muestras tomadas. Comparativa con otros estudios previos . . . . .	206
5.5.1. Esquema LADME . . . . .	208
5.5.2. Diferencias entre especies . . . . .	212
5.5.2.1. Influencia de la entrada de líquido cefalorraquídeo a través del acueducto coclear . . . . .	212
5.5.2.2. Existencia de posibles reservorios que condicionen la tendencia a la estabilidad de las muestras obtenidas en el <i>Macaca fascicularis</i> . . . . .	214
5.6. Respecto al análisis histológico . . . . .	220
5.6.0.1. Afectación de las estructuras a nivel de la espira basal. Cocleostomía a nivel del ápex . . . . .	220
5.6.0.2. Acueducto coclear . . . . .	221
5.6.0.3. Clasificación de Eshraghi . . . . .	222
5.6.0.4. Hidrops endolinfático . . . . .	222
5.7. Nuevas vías de investigación. Perspectivas de futuro . . . . .	224
5.8. Limitaciones del estudio . . . . .	226
<b>6. Conclusiones - Conclusions</b>	<b>229</b>
6.1. Conclusiones (en castellano) . . . . .	231
6.2. Conclusions (en inglés) . . . . .	232
<b>7. Bibliografía</b>	<b>233</b>
<b>8. Anexos</b>	<b>257</b>
8.1. Anexo 1: Informe del comité de ética . . . . .	259
8.2. Anexo 2: Resultados de los contrastes <i>post-hoc</i> (LSD) entre Muestras . . .	262

8.3.	Anexo 3: Difusión de los resultados . . . . .	266
8.3.1.	Artículos científicos . . . . .	266
8.3.1.1.	Artículo principal . . . . .	266
8.3.1.2.	Artículos complementarios . . . . .	266
8.3.2.	Comunicaciones en congresos . . . . .	267
8.3.3.	Premios . . . . .	267
8.3.4.	Proyectos de investigación . . . . .	267

# Índice de tablas

1.1.	Resumen detallado de la anatomía coclear . . . . .	26
1.2.	Principales vías de liberación de sustancias para el tratamiento de las patologías del oído: sistémica, intratimpánica e intracoclear . . . . .	38
1.3.	Liberación de fármaco asociado a un implante coclear . . . . .	44
1.4.	Toma de muestras de perilinfa . . . . .	51
3.1.	Clasificación de Eshraghi . . . . .	86
3.2.	Dimensiones del oído interno, en función de la especie a estudio . . . . .	88
4.1.	Estadística descriptiva de los tiempos quirúrgicos . . . . .	93
4.2.	Resumen de los resultados obtenidos en el Grupo 2 horas . . . . .	101
4.3.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf1-2h . . . . .	104
4.4.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf2-2h . . . . .	110
4.5.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf3-2h . . . . .	115
4.6.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-2h-OD . . . . .	121
4.7.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-2h-OI . . . . .	126
4.8.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf5-2h . . . . .	131
4.9.	Resumen de los resultados obtenidos en el Grupo 24 horas . . . . .	134
4.10.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf1-24h . . . . .	138
4.11.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf2-24h . . . . .	144
4.12.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf3-24h . . . . .	149
4.13.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-24h . . . . .	154
4.14.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf5-24h . . . . .	158
4.15.	Resumen de los resultados obtenidos en el Grupo 7 días . . . . .	162
4.16.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf1-7d . . . . .	166
4.17.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf2-7d . . . . .	171
4.18.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf3-7d . . . . .	176
4.19.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-7d . . . . .	182
4.20.	Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf5-7d . . . . .	186
4.21.	Resultados del ANOVA factorial mixto . . . . .	191
4.22.	Pruebas de contraste <i>post-hoc</i> (DMS) entre Grupos . . . . .	192
5.1.	Valoración histológica de la presencia de hidrops endolinfático . . . . .	224
8.1.	Pruebas de contraste <i>post-hoc</i> (LSD) Muestra a Muestra entre Grupos . . . . .	262
8.2.	Pruebas de contraste <i>post-hoc</i> (LSD) entre Muestras del Grupo 2 horas . . . . .	263

8.3. Pruebas de contraste <i>post-hoc</i> (LSD) entre Muestras del Grupo 24 horas . . .	264
8.4. Pruebas de contraste <i>post-hoc</i> (LSD) entre Muestras del Grupo 7 días . . .	265

# Índice de figuras

1.1. Variaciones en la morfología del oído interno entre especies . . . . .	35
3.1. Diseño del estudio . . . . .	63
3.2. Sistema de dispositivo implantable y bomba de liberación . . . . .	68
3.3. <i>Pulled plastic syringe</i> . . . . .	75
3.4. Silicona . . . . .	75
3.5. <i>Pick angle</i> . . . . .	76
3.6. Apertura de la cocleostomía apical por medio del <i>pick angle</i> . . . . .	77
3.7. Toma de muestras a nivel de la cocleostomía apical por medio de tubos capilares . . . . .	77
3.8. Medición de las muestras bajo control microscópico . . . . .	78
3.9. Tubos capilares . . . . .	78
3.10. Etiquetado de las muestras . . . . .	78
3.11. Almacenamiento de las muestras . . . . .	79
3.12. Cámara de vacío . . . . .	81
3.13. Curado o endurecimiento . . . . .	81
3.14. Marcado del cubo . . . . .	82
3.15. Molde de silicona . . . . .	83
3.16. Pieza de pulidora . . . . .	83
3.17. Microscopio asociado a cámara digital . . . . .	84
3.18. Plano de sección transmodiolar . . . . .	86
3.19. División de la estructura coclear en cuatro cuadrantes . . . . .	87
4.1. Exposición de la ventana redonda e incisión a través de su membrana . . . . .	94
4.2. Guía de electrodos implantada y técnica de sellado de la ventana redonda . . . . .	95
4.3. Colocación y fijación del conjunto del dispositivo implantado . . . . .	95
4.4. Cierre de la herida quirúrgica . . . . .	96
4.5. Lecho quirúrgico. Cánula y guía de electrodos a nivel de la ventana redonda . . . . .	97
4.6. Exposición del ápex coclear . . . . .	98
4.7. Creación del <i>silicon cup</i> y apertura de la cápsula ótica . . . . .	98
4.8. Toma de muestras por medio de tubos capilares . . . . .	99
4.9. Interrupción del flujo de liberación y extracción del dispositivo implantado . . . . .	99
4.10. Concentraciones de FITC-Dextran obtenidas en el Grupo 2 horas . . . . .	102
4.11. Valoración radiológica tras la implantación en el Mf1-2h . . . . .	104
4.12. Guía de electrodos implantada en el Mf1-2h . . . . .	105

4.13. Estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf1-2h . . . . .	105
4.14. Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf1-2h . . . . .	106
4.15. Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf1-2h . . . . .	106
4.16. Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf1-2h . . . . .	107
4.17. Visión general de la cóclea en el Mf1-2h . . . . .	107
4.18. Valoración radiológica tras la implantación en el Mf2-2h . . . . .	109
4.19. Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acue- ducto coclear en el Mf2-2h . . . . .	110
4.20. Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf2-2h . . . . .	111
4.21. Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf2-2h . . . . .	111
4.22. Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf2-2h . . . . .	112
4.23. Visión general de la cóclea en el Mf2-2h . . . . .	112
4.24. Valoración radiológica tras la implantación en el Mf3-2h . . . . .	114
4.25. Guía de electrodos implantada en el Mf3-2h . . . . .	115
4.26. Estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf3-2h . . . . .	116
4.27. Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf3-2h . . . . .	116
4.28. Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf3-2h . . . . .	117
4.29. Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf3-2h . . . . .	117
4.30. Visión general de la cóclea en el Mf3-2h . . . . .	118
4.31. Valoración radiológica tras la implantación en el Mf4-2h-OD . . . . .	120
4.32. Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acue- ducto coclear en el Mf4-2h-OD . . . . .	121
4.33. Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf4-2h-OD . . . . .	122
4.34. Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-2h-OD . . . . .	122
4.35. Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf4-2h-OD . . . . .	123
4.36. Visión general de la cóclea en el Mf4-2h-OD . . . . .	123
4.37. Valoración radiológica tras la implantación en el Mf4-2h-OI . . . . .	125
4.38. Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acue- ducto coclear en el Mf4-2h-OI . . . . .	126
4.39. Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf4-2h-OI . . . . .	127
4.40. Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-2h-OI . . . . .	127
4.41. Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf4-2h-OI . . . . .	128
4.42. Visión general de la cóclea en el Mf4-2h-OI . . . . .	128
4.43. Valoración radiológica tras la implantación en el Mf5-2h . . . . .	130
4.44. Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acue- ducto coclear en el Mf5-2h . . . . .	131
4.45. Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf5-2h . . . . .	132
4.46. Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf5-2h . . . . .	132
4.47. Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf5-2h . . . . .	133
4.48. Visión general de la cóclea en el Mf5-2h . . . . .	133
4.49. Concentraciones de FITC-Dextran obtenidas en el Grupo 24 horas . . . . .	135
4.50. Valoración radiológica tras la implantación en el Mf1-24h . . . . .	137
4.51. Concentraciones de FITC-Dextran obtenidas en el Mf1-24h . . . . .	137

4.52. Guía de electrodos implantada y estado de la ventana redonda en el Mf1-24h	139
4.53. Acueducto coclear en el Mf1-24h . . . . .	139
4.54. Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf1-24h . . . . .	140
4.55. Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf1-24h . . . . .	140
4.56. Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf1-24h . . . . .	141
4.57. Visión general de la cóclea en el Mf1-24h . . . . .	141
4.58. Valoración radiológica tras la implantación en el Mf2-24h . . . . .	143
4.59. Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acue- ducto coclear en el Mf2-24h . . . . .	144
4.60. Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf2-24h . . . . .	145
4.61. Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf2-24h . . . . .	145
4.62. Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf2-24h . . . . .	146
4.63. Visión general de la cóclea en el Mf2-24h . . . . .	146
4.64. Valoración radiológica tras la implantación en el Mf3-24h . . . . .	148
4.65. Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acue- ducto coclear en el Mf3-24h . . . . .	149
4.66. Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf3-24h . . . . .	150
4.67. Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf3-24h . . . . .	150
4.68. Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf3-24h . . . . .	151
4.69. Visión general de la cóclea en el Mf3-24h . . . . .	151
4.70. Valoración radiológica tras la implantación en el Mf4-24h . . . . .	153
4.71. Guía de electrodos implantada y estado de la ventana redonda en el Mf4-24h	154
4.72. Acueducto coclear en el Mf4-24h . . . . .	154
4.73. Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf4-24h . . . . .	155
4.74. Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-24h . . . . .	155
4.75. Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf4-24h . . . . .	156
4.76. Visión general de la cóclea en el Mf4-24h . . . . .	156
4.77. Valoración radiológica tras la implantación en el Mf5-24h . . . . .	158
4.78. Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acue- ducto coclear en el Mf5-24h . . . . .	159
4.79. Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf5-24h . . . . .	160
4.80. Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf5-24h . . . . .	160
4.81. Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf5-24h . . . . .	161
4.82. Visión general de la cóclea en el Mf5-24h . . . . .	161
4.83. Concentraciones de FITC-Dextran obtenidas en el Grupo 7 días . . . . .	163
4.84. Valoración radiológica tras la implantación en el Mf1-7d . . . . .	165
4.85. Concentraciones de FITC-Dextran obtenidas en el Mf1-7d . . . . .	165
4.86. Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acue- ducto coclear en el Mf1-7d . . . . .	167
4.87. Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf1-7d . . . . .	167
4.88. Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf1-7d . . . . .	168
4.89. Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf1-7d . . . . .	168
4.90. Visión general de la cóclea en el Mf1-7d . . . . .	169

4.91. Valoración radiológica tras la implantación en el Mf2-7d . . . . .	170
4.92. Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf2-7d . . . . .	172
4.93. Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf2-7d . . . . .	172
4.94. Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf2-7d . . . . .	173
4.95. Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf2-7d . . . . .	173
4.96. Visión general de la cóclea en el Mf2-7d . . . . .	174
4.97. Valoración radiológica tras la implantación en el Mf3-7d . . . . .	175
4.98. Guía de electrodos implantada y estado de la ventana redonda en el Mf3-7d	177
4.99. Guía de electrodos implantada y estado del acueducto coclear en el Mf3-7d	177
4.100 Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf3-7d . . . . .	178
4.101 Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf3-7d . . . . .	178
4.102 Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf3-7d . . . . .	179
4.103 Visión general de la cóclea en el Mf3-7d . . . . .	179
4.104 Valoración radiológica tras la implantación en el Mf4-7d . . . . .	181
4.105 Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf4-7d . . . . .	182
4.106 Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf4-7d . . . . .	183
4.107 Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-7d . . . . .	183
4.108 Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf4-7d . . . . .	184
4.109 Visión general de la cóclea en el Mf4-7d . . . . .	184
4.110 Valoración radiológica tras la implantación en el Mf5-7d . . . . .	186
4.111 Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf5-7d . . . . .	187
4.112 Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf5-7d . . . . .	188
4.113 Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf5-7d . . . . .	188
4.114 Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf5-7d . . . . .	189
4.115 Visión general de la cóclea en el Mf5-7d . . . . .	189
4.116 Comparación de las concentraciones medias de cada muestra de FITC-Dextran entre los 3 grupos de estudio: Grupo 2 horas, Grupo 24 horas, y Grupo 7 días . . . . .	190
5.1. Concentraciones de FITC-Dextran en el <i>Guinea pig</i> . . . . .	207
5.2. Vías de comunicación entre la cóclea y las principales estructuras vecinas .	216
5.3. Seno endolinfático en el <i>Guinea pig</i> . . . . .	218
5.4. Regulación de presiones por medio del seno y el saco endolinfático . . . . .	219

# Índice de abreviaturas

- 3D** 3 dimensiones.
- AC** acueducto coclear.
- CAE** conducto auditivo externo.
- CAI** conducto auditivo interno.
- CCE** células ciliadas externas.
- CCI** células ciliadas internas.
- CEEA** Comité de Ética para la Experimentación Animal.
- CI** intervalo de confianza.
- CIMA** Centro de Investigación de Medicina Aplicada.
- CSH** canal semicircular horizontal.
- CSP** canal semicircular posterior.
- dB** decibelios.
- DE** desviación estandar.
- df** grados de libertad.
- DM** diferencia de medias.
- DMSO** dimetil sulfóxido.
- EIT** trauma generado por la inserción del electrodo.
- EM** escala media o coclear.
- EMA** *European Medicines Agency*.
- ET** escala timpánica.
- EV** escala vestibular.
- F** fascia del músculo temporal.
- FDA** *Food and Drug Administration*.
- FITC-Dextran** Isotiocinato de fluoresceína, asociado a dextrano.
- Gp** *Guinea pig*.
- HE** hidrops endolinfático.
- IC** implante coclear.
- LCR** líquido cefalorraquídeo.
- LE** ligamento espiral.
- Mf** *Macaca fascicularis*.
- NMDA** ácido N-metil-D-aspártico.
- OMS** Organización Mundial de la Salud.
- PBS** *buffer* fosfato salino.
- PLGA** ácido poli(láctico-co-glicólico).
- rpm** revoluciones por minuto.

**Rx** radiografía simple.

**TCL** *tympanic covering layer*.

**TMPA** trimetilfenilamonio.

**VR** ventana redonda.

**1**

# **Introducción**



El aumento de la esperanza de vida y los cambios en el estilo de vida, con una mayor exposición en la actualidad al ruido ambiental o la existencia de mayor exposición a fármacos ototóxicos, entre otros muchos posibles factores etiológicos, dirige la medicina hacia el estudio de nuevos avances, con el objetivo de preservar las estructuras del oído en el mejor estado posible [1].

La pérdida de audición o hipoacusia, siendo la más común de las alteraciones sensoriales en los seres humanos, es un grave problema de salud pública, no sólo por el impacto en el desarrollo cognitivo, social y emocional de la persona afectada, sino también por el elevado coste que genera en los sistemas sanitarios. Aproximadamente 1500 millones de personas en el mundo viven con algún grado de pérdida de audición [2], entendiendo por pérdida de audición aquella incapacidad para oír por uno o ambos oídos a umbrales iguales o menores a 20 decibelios (dB) y clasificándose en leve, moderada o severa, en función del grado de pérdida evidenciado en cada oído.

Distintas organizaciones recogen datos acerca de la alta prevalencia de la hipoacusia a distintas edades, estimándose que, a lo largo de la vida, una de cada mil personas de la población general adquirirá un determinado grado de hipoacusia, llegando a presentar el 8% de la población general dificultades en la discriminación de la palabra hablada y, por tanto, en la capacidad de mantener una conversación en un tono de voz normal. En España se estima que cada año nacen entre 1800 y 2500 recién nacidos con pérdida de audición. De igual forma, y dado que la edad es considerada uno de los principales predictores de hipoacusia, pues las personas pierden alrededor de 100 neuronas del ganglio espiral/año [3], a lo largo de la vida el porcentaje de personas con pérdida de audición discapacitante (superior a 30 dB en el oído con mejor audición) va aumentando, duplicándose aproximadamente su prevalencia en los adultos por cada década de vida. Se estima que estas cifras se corresponden con unos valores aproximados de 2, 8.5 y 25-30% de las personas con edades comprendidas entre 45-54 años, 55-64 años y 65-74 años, respectivamente. Por encima de los 75 años, estos valores alcanzan un rango de entre un 50 y un 80%. Además, es especialmente importante destacar que, en el conjunto de los países desarrollados, el porcentaje de personas con daño auditivo inducido por ruido alcanza el 50% de la población entre 12 y 35 años, siendo este valor correspondiente al 25% de la población que se encuentra en un rango de edad comprendido entre 20 y 65 años [2][4][5][6]. Por otro lado, se estima que para 2050, casi 2500 millones de personas padezcan algún grado de pérdida de audición, requiriendo aproximadamente 700 millones de personas algún tipo de dispositivo de rehabilitación auditiva [2]. Si bien los dispositivos más empleados a lo largo de la historia han sido los audífonos, en la actualidad su uso es rechazado por un alto número de personas, siendo usuarias de los mismos únicamente el 17% de todas las personas que podrían beneficiarse de ellos [2]. Por su parte, el número de usuarios de implante coclear (IC) cada vez es mayor, a pesar de ser, al igual que los audífonos y el resto de dispositivos de ayuda auditiva conocidos y empleados hasta la fecha, una terapia paliativa y no curativa.

Así, y si bien la medicina ha sufrido grandes avances recientemente, el tratamiento definitivo de la hipoacusia aún requiere de una importante profundización en su estudio. A día de hoy, se estima que aproximadamente unos 430 millones de personas (equivalente

a más del 5% de la población mundial) necesita servicios de rehabilitación auditiva [2], ya sea por medio del uso de audífonos o de otros dispositivos de ayuda auditiva, como puede ser un IC. Si bien la etiología de la pérdida de audición es variable, desde causas genéticas, o complicaciones en el parto, hasta ciertas enfermedades infecciosas, exposición a ruidos intensos, uso de medicamentos ototóxicos o, como se mencionaba previamente, el propio envejecimiento, hasta la fecha, la práctica clínica habitual en el tratamiento de las hipoacusias neurosensoriales ha sido meramente paliativo, sin conseguir alcanzar un tratamiento curativo, definitivo, de las mismas. Análisis llevados a cabo por la Organización Mundial de la Salud (OMS) estiman que la profundización en la prevención, detección y tratamiento de las pérdidas auditivas serían intervenciones costo-eficaces y supondrían grandes beneficios, no solo para las personas afectadas, sino también para su entorno personal y social, y para los sistemas de salud [2]. Así, y dado que incluso las hipoacusias moderadas han demostrado constituir un factor de riesgo importante para el desarrollo de deterioro cognitivo y demencia, en los últimos años ha habido un gran repunte en las técnicas de tratamiento local, a nivel del oído. Terapia celular, terapia génica, fármacos antiapoptóticos o antiinflamatorios, entre otros, han sido la base de los estudios recientes en el ámbito de la otología [7]. De igual forma, la vía de administración ha sido ampliamente estudiada. El flujo sanguíneo que alcanza el oído, junto con la existencia de la barrera hemato-laberíntica [8][9] es limitado, por lo que la administración de fármacos sistémicos tiene un efecto limitado, además de un mayor número de efectos secundarios. Por esta razón, en los últimos años se han intentado estudiar y desarrollar nuevas terapias locales, con el fin de alcanzar dosis máximas a nivel de las estructuras auditivas, evitando la exposición sistémica, que permitan una mejor y más controlada administración de fármacos al órgano diana, en este caso, el oído interno. Uno de los más destacados es la administración de una sustancia asociada a un IC.

## **1.1. Oído interno**

### **1.1.1. Descripción anatómo-fisiológica del oído interno del ser humano**

Con el fin de implementar terapias útiles en la protección y en el tratamiento del oído interno, es fundamental el conocimiento pormenorizado de la anatomía del oído.

El primer texto que describe la anatomía de la cóclea humana data de 1744 [10]. Desde entonces, el conocimiento de la anatomía coclear se ha ido profundizando progresivamente, siendo Corti, en 1851, el que descubre este órgano de los sentidos, con la descripción de lo que actualmente se conoce como el órgano de Corti [11] estructura básica en el proceso auditivo.

El oído interno es un órgano cuya anatomía es compleja. Está embebido en el hueso temporal, simétrico en ambos lados del organismo y en espejo, en relación con su homólogo contralateral. Así como el oído medio está relleno, en condiciones fisiológicas, de aire, el oído interno es considerado como un espacio líquido [12] factor condicionante de la

transmisión del sonido.

El conjunto del oído interno está recubierto por una capa ósea conocida como cápsula ótica. En su interior, se encuentra compartimentado por la existencia de unas estructuras recubiertas de una capa membranosa, el laberinto membranoso. El espacio que rodea el laberinto membranoso está bañado por la perilinfa, cuyo límite más externo sería la previamente mencionada, cápsula ótica. Es igualmente importante resaltar que, a nivel histopatológico, esta cápsula ótica está compuesta por un total de tres capas. La más externa, conocida como periostio, está separada de la más interna, el endostio, por una capa media compuesta por una combinación de hueso endocondral e intracondral. Habitualmente, la osificación de esta capa endostial tiene lugar en la mitad de la gestación, pudiendo la capa media permanecer únicamente calcificada durante la gestación, alcanzando la osificación en el feto cercano a término y/o en los primeros años de vida [13].

Por otro lado, clásicamente el oído interno, se divide en dos partes: 1) el laberinto, que corresponde a la región más posterior y que se encarga principalmente del mantenimiento del equilibrio; y 2) la cóclea o caracol, que, encontrándose en la parte más anterior, desempeña las funciones relacionadas con el proceso de la audición. A su vez, cada una de estas estructuras cuenta con sucesivas divisiones. De esta forma, el laberinto se compone de los órganos otoconiales: utrículo y sáculo, y de los tres canales semicirculares: posterior, lateral u horizontal y anterior o superior. Estos últimos conectan directamente con el utrículo. El interior de la estructura coclear está igualmente dividido por las estructuras membranosas, en tres rampas o escalas: la escala timpánica (ET), la escala media o coclear (EM) y la escala vestibular (EV).

Cabe remarcar que la cóclea es una estructura dispuesta en espiral, compuesta por aproximadamente entre dos y cuatro vueltas o espiras [14]. Esta forma característica de la cóclea determina un eje central, denominado modiolos, que le da sustento y que contiene todas las estructuras que se ocupan de la unificación de los estímulos recogidos por las estructuras nerviosas distribuidas por las distintas regiones de la cóclea. El ser humano cuenta con aproximadamente 35.000 neuronas aferentes, bipolares, encargadas de transmitir los estímulos hacia los núcleos cocleares, a través de estas estructuras nerviosas, cuyo soma, localizado en el nervio espiral, se encuentra embebido en una estructura ósea, el canal de Rosenthal, dispuesto en la espira basal de la cóclea, en el espesor del modiolos [12]. Por otro lado, se estima que la longitud total de la estructura coclear en el ser humano ronda los 42 mm, correspondiendo el 53% de esta longitud (unos 23 mm) a la longitud de la espira basal [12]. Este aspecto es especialmente relevante a la hora de valorar el procedimiento quirúrgico, la influencia y la posible repercusión de la colocación de un IC. Igualmente interesante es el hecho de que, en los primeros años de vida, existe una pequeña modificación de la orientación de la cóclea, debido a cambios en el receso facial, que condicionan el ángulo de inserción y la orientación durante la implantación [15].

Profundizando un poco más en la anatomía coclear, en la Tabla 1.1 se recogen las estructuras principales que delimitan cada una de estas regiones anatómicas que componen la cóclea, las escalas o rampas, así como sus principales componentes [16].

Dentro de estas estructuras, previamente mencionadas, cabría destacar especialmente el órgano de Corti y el ligamento espiral (LE). A lo largo de toda la EM, dispuesto

Tabla 1.1: Resumen detallado de la anatomía coclear.

<b>Escala</b>	Límite medial	Límite lateral	Límite superior	Límite inferior	Líquido laberíntico
Vestibular	Lámina espiral ósea, alcanzando el modiolo	Porción superior del ligamento espiral	Cápsula Ótica	Membrana de Reissner	Perilinf
Media o coclear		<i>Stria vascularis</i> y ligamento espiral	Membrana de Reissner	Membrana basilar, con el Órgano de Corti sobre ella	Endolinfa
Timpánica	Lámina espiral ósea, alcanzando el modiolo	Porción inferior del ligamento espiral	Membrana basilar y lámina espiral ósea	Endotelio escamoso que recubre la Cápsula Ótica	Perilinf

sobre la membrana basilar, se encuentra el órgano de Corti. Esta estructura constituye la base del funcionamiento de este órgano de los sentidos en la transmisión del sonido. Está compuesto por tres filas de células ciliadas externas (CCE) y células ciliadas internas (CCI) abarcando un total aproximado de 15000 células ciliadas y permitiendo gracias a su distribución tonotópica a lo largo de la cóclea, distinguir sonidos de distintas frecuencias [17]. Así, las células ciliadas se encargan de liberar los neurotransmisores responsables de la activación nerviosa, al detectar el estímulo sonoro pertinente. De esta forma, el órgano de Corti, con los distintos componentes celulares y nerviosos que lo conforman, será el encargado de transformar dichos estímulos sonoros y enviar esta nueva información eléctrica, a través de la lámina espiral ósea al ganglio espiral [12]. Por otro lado, el LE constituye el límite lateral de las tres escalas que componen la estructura coclear. Esta estructura, siendo un tejido altamente implicado en el metabolismo de la cóclea, juega un papel fundamental en la fisiología de los líquidos laberínticos. Además, a nivel de la EM, esta estructura supone el anclaje de la membrana basilar a la cápsula ótica [12].

#### 1.1.1.1. Comunicación entre ambas regiones del oído interno: cóclea y laberinto

La conexión entre ambas regiones del oído interno, el laberinto y la cóclea, se lleva a cabo a través de distintas estructuras, en función del líquido laberíntico que contenga. De esta forma, la endolinfa que baña el órgano de Corti en toda la extensión de la EM queda comunicada a través del *ductus reuniens*, que relaciona la porción más basal de la cóclea con el sáculo. A su vez, la endolinfa contenida en esta estructura se comunica con aquella procedente del utrículo por medio del ducto endolinfático, a través de dos estructuras, el ducto sacular y el ducto utricular, que provienen del sáculo y del utrículo,

respectivamente [18]. Por su parte, la perilinfa procedente de las ET y EV, y tras haberse comunicado entre sí en la porción más apical de la cóclea, el helicotrema, alcanzaría el laberinto desde la porción más basal de la EV, mezclándose con la perilinfa que rodea las estructuras previamente mencionadas de esta porción más posterior del oído interno [16].

Centrándonos en la región más anterior del laberinto, y si bien el helicotrema constituye la única región anatómica donde la ET y la EV entran en contacto directo, pues se corresponde con el punto de continuación de una escala con la otra, la perilinfa que cada una de dichas escalas contiene presenta más relaciones entre sí, existiendo, a lo largo de la estructura coclear, otros puntos de interconexión de la perilinfa procedente de una y otra escala. Así, mientras que en un primer momento se pensó que la comunicación entre la perilinfa de la ET y la EV sólo tenía lugar a nivel del helicotrema, quedando separadas en el resto de regiones de estas escalas gracias a estructuras como el tejido conectivo del LE, actualmente se sabe que esta división no es del todo hermética. Este tejido del posee una serie de porosidades, que se cree permitirían un contacto entre la perilinfa de ambas escalas [16]. La relación entre ambos líquidos, así como su influencia en los procesos funcionales del oído interno, serán explicados más adelante.

#### **1.1.1.2. Comunicación entre las estructuras del oído interno y la región intracraneal**

Como bien ha sido previamente mencionado, el oído interno se encuentra embebido en el espesor del hueso temporal, en la porción petrosa del mismo, existiendo pequeños límites óseos, como puede ser el *tegmen tympani*, que lo separa de las estructuras intracraneales. Si bien algunos autores consideran como posibles vías de entrada de líquido cefalorraquídeo (LCR) al oído interno estructuras como el conducto auditivo interno (CAI) y el nervio vestibulococlear [7] existen dos áreas anatómicas, que permiten la libre comunicación entre estas dos regiones del cuerpo humano, favoreciendo un correcto mantenimiento de sus funciones fisiológicas. Esta conexión se realiza fundamentalmente a través de la regulación de los líquidos del oído interno, endolinfa y perilinfa, junto con el LCR, procedente del espacio subaracnoideo [16].

Así, las principales estructuras, conocidas hasta el momento, son:

- A. El acueducto coclear: perilinfa-LCR.
- B. El saco endolinfático: endolinfa-LCR.

##### **1.1.1.2.1. Acueducto coclear**

El acueducto coclear (AC) es una estructura ósea, estrecha, en forma de “S”, que conecta en mamíferos el espacio subaracnoideo de la fosa craneal posterior, a través de su apertura en la porción anterior del foramen yugular (en estrecha relación con el nervio glosofaríngeo), con la porción más basal de la ET, a escasos milímetros de la ventana redonda (VR) [16]. La parte más estrecha del AC se encuentra en aquella zona correspondiente a la entrada en la cápsula ótica [19]. Está principalmente encargada de la regulación de las

presiones a nivel del oído interno e intracraneal. A través de él circula el LCR, entrando en contacto con la perilinfa de la ET.

Si bien algunos autores refieren que esta estructura permanece permeable durante la vida fetal y la infancia [19][20], correspondiendo únicamente a un 20-44 % de los adultos entre 20 y 60 años de edad [21] otros han demostrado histológicamente su persistencia, así como su permeabilidad en el intercambio de fluidos entre el espacio subaracnoideo y la ET, en todos los huesos temporales analizados [22]. Actualmente, la permeabilidad del AC sigue siendo un tema controvertido. Estudios más recientes refieren que a partir de los 50 años puede producirse una reducción en el diámetro del AC. Esta progresiva disminución de su diámetro tendría lugar en gran medida a lo largo de edades tempranas de la vida, principalmente condicionado por procesos de osificación, así como por los cambios anatomofisiológicos, correspondientes principalmente a la fosa yugular y a la pneumatización perilaberíntica [19]. Este mismo grupo de trabajo afirma que, dada la estrecha relación que esta estructura tiene con el foramen yugular, la permanencia de permeabilidad del AC puede verse comprometida en aquellos casos en los que la fosa yugular se encuentra localizada en porciones más cefálicas, por lo que la localización de la fosa yugular podría implicar una determinada orientación del AC, condicionando la cantidad de fluido que alcance la ET a través de él. Por otro lado, la revisión bibliográfica llevada a cabo por el grupo de trabajo de Rask-Andersen [23] recoge las dificultades existentes a la hora de extrapolar los resultados sobre el AC de la experimentación animal al ser humano, dadas sus diferencias anatómicas.

En 1968, Neiger llevó a cabo un estudio en *Macaca rhesus*, dada su proximidad con el ser humano, con el fin de conocer a fondo la anatomía y función del AC. En su estudio concluye que se trata de un canal óseo, en forma de “diábolo”, con dos aperturas en forma de embudo, una a nivel endocraneal y la otra a nivel de la base de la cóclea. Está recubierto por una capa de tejido conectivo, más grueso en su porción endocraneal que se prolonga, con un grosor variable, hasta alcanzar la apertura del AC a nivel de la ET, formando la *membrana limitans*. Esta última estructura podría igualmente condicionar la permeabilidad del AC y, por tanto, la entrada de LCR a la ET a través del mismo, influenciado por la diferencia de presiones existentes entre el espacio subaracnoideo y la ET. Basándose en estos hallazgos, Neiger concluyó que cuando la cóclea se encuentra en unas condiciones fisiológicas, no existe flujo de LCR a través del AC hacia la ET, pues no existe diferencia de presiones entre ambas estructuras. Sin embargo, la alteración de la anatomía con la apertura de la cápsula ótica sí generaría un flujo de líquido condicionado por una caída brusca de la presión a nivel de la ET. En este caso, el flujo generado estaría influido por la longitud y el diámetro del AC de la especie a estudio [24].

Por otro lado, se han descrito dos estructuras que discurren en estrecha relación con el AC: el primer canal accesorio y el segundo canal accesorio, presente este último en todos los recién nacidos. Por cada uno de ellos discurre una estructura venosa. En el caso del primer canal accesorio, esta vena es la vena coclear inferior. Su proximidad al AC hace que el mayor o menor diámetro de este canal también pueda condicionar la permeabilidad del AC [19].

### 1.1.1.2.2. Saco endolinfático

El saco endolinfático es una estructura intradural, considerado como una extensión intracraneal del laberinto membranoso, que comunica con el órgano otolítico, utrículo y sáculo, a través del conducto endolinfático. Se cree que tiene una función absorbente y fagocítica, jugando un papel importante en la regulación del volumen y la presión de la endolinfa [25]. Cabe resaltar que la falta de una adecuada regulación de este líquido laberíntico conlleva alteraciones no sólo a nivel del equilibrio, sino también a nivel auditivo.

Reforzando esta hipótesis en el mantenimiento de la presión endolinfática, Portmann mencionó por primera vez la influencia que el daño en esta estructura conlleva en el desarrollo y posterior evolución de la enfermedad de Meniere, condicionando el exceso de endolinfa característico de esta patología, y siendo la hipoplasia del saco endolinfático la anomalía más frecuentemente encontrada [26]. Actualmente algunos autores consideran el drenaje quirúrgico del saco endolinfático como un tratamiento útil en la enfermedad de Meniere [27], si bien esta afirmación aún resulta controvertida [28].

La comunicación con el laberinto membranoso se realiza a través del canal endolinfático, embebido en un conducto óseo que recibe el nombre de acueducto vestibular.

### 1.1.1.3. Vascularización y drenaje linfático del oído interno. Barrera hemato-perilinfática

#### 1.1.1.3.1. Vascularización del oído interno

La vascularización del oído interno es fundamental para mantener un correcto funcionamiento de esta estructura. Alteraciones en el aporte sanguíneo, especialmente en la *stria vascularis*, han demostrado condicionar la aparición de diversas patologías a nivel del oído interno, como puede ser la sordera súbita o la presbiacusia [8][29].

Desde el primer estudio acerca de la vascularización del oído interno, que data de 1887 [30], diversos autores han profundizado en este tema a lo largo de la historia. En 2018, el grupo de trabajo de Mei [29] demostró por medio de reconstrucciones tridimensionales este complejo sistema vascular. Así, a día de hoy se sabe que la vascularización arterial del oído interno depende de una única arteria, la arteria laberíntica, también conocida como arteria auditiva interna, que proviene en la mayoría de los casos (83.6 %) de la arteria cerebelosa anteroinferior, correspondiéndose su origen en el 12.3 % de los casos a la arteria basilar. Una vez alcanzado el CAI, la arteria laberíntica clásicamente se divide en tres ramas: 1) la arteria vestibular anterior, 2) la arteria cócleo-vestibular, que posteriormente se ramifica en direcciones opuestas para alcanzar la cóclea y el vestíbulo, respectivamente, y 3) la arteria coclear, siendo considerada como la arteria dominante en la mayoría de los casos y anastomosándose con la rama coclear proveniente de la arteria cócleo-vestibular, discurre a lo largo del modiolos, enviando arteriolas que entran a la EV para formar la *stria vascularis*. Así, las distintas ramificaciones de la arteria laberíntica se distribuyen a lo largo de toda la estructura del oído interno, a través de las porosidades de la cápsula ótica, alcanzando el laberinto membranoso en sus distintas regiones [7][17][29]. La región con

mayor cantidad de capilares a nivel coclear se localiza en la pared lateral, correspondiente a la *stria vascularis* y al LE, en el ganglio espiral y las células del limbo espiral, y, en menor medida, en la membrana basilar y en la lámina espiral ósea [9].

Por su parte, el drenaje venoso ocurre a través de unas estructuras que discurren paralelas a los acueductos coclear y vestibular, conocidos como canal accesorio coclear y vestibular, respectivamente. Si bien el drenaje venoso no sigue un patrón tan claro como el aporte arterial, se ha descrito que el drenaje de los canales semicirculares tiene lugar a través del canal accesorio del acueducto vestibular, mientras que el drenaje del vestíbulo junto con el de la cóclea es dependiente fundamentalmente de la vena coclear inferior. Así, tanto las venas modiolares espirales anterior y posterior, como las venas vestibulares anterior y posterior, convergen en otras progresivamente mayores a nivel de la VR y la región más basal del LE de la ET, formando la vena coclear inferior, que discurre paralela al AC, a través de un pequeño canal óseo, hasta desembocar en el seno petroso inferior y, posteriormente, la vena yugular interna [7][17][29].

#### **1.1.1.3.2. Drenaje linfático del oído interno**

Al igual que la vascularización, el drenaje linfático a nivel del oído interno también contribuye en gran medida a la adecuada homeostasis y funcionamiento de esta estructura, gracias a su abundante circulación entre las células y permitiendo la transferencia de metabolitos desde el LCR [17].

Por un lado, antiguamente se consideraba que la actividad inmune del oído interno quedaba restringida a la actividad del saco endolinfático, estructura situada en la porción petrosa del temporal, donde se encontraban las células inmunes. El primero en describir la presencia de este tipo de células (leucocitos, interacciones linfocitos-macrófagos, células plasmáticas. . .) en el saco endolinfático fue Guild, en 1927. La capacidad inmune de esta estructura fue estudiada más a fondo en años posteriores, confirmando su importancia en las respuestas inmunológicas del oído interno [31][32], así como la presencia de macrófagos en otras estructuras que conforman este órgano de los sentidos, como es el caso del VIII par craneal [33].

A día de hoy, el oído interno es considerado un órgano relativamente “inmunoprivilegiado”, condicionado igualmente en gran medida por la acción de la barrera hemato-laberíntica. Sin embargo, esta alta capacidad inmune puede tener repercusión en el desarrollo de algunas de las patologías auditivas. La abundante cantidad de macrófagos existente a nivel del oído interno, con su alta capacidad fagocítica y de presentación de antígenos, así como la entrada de monocitos, posteriormente transformados en macrófagos adicionales en respuesta a daños a este nivel, como puede ser un trauma acústico o la propia degeneración asociada a la edad, contribuyen a la defensa de este órgano de los sentidos, así como a la generación de diferentes respuestas inflamatorias, incluyendo el desarrollo de enfermedades autoinmunes que condicionen el correcto funcionamiento del oído interno [34].

Esta reacción inflamatoria en respuesta a estímulos externos, así como la abundante presencia de macrófagos, es especialmente importante en algunos de los aspectos más

relevantes en las investigaciones del oído a día de hoy. Por un lado, su conocimiento permitiría entender a fondo los cambios generados a nivel del oído por los distintos estímulos que se le presentan, ya sea la degeneración con la edad o la exposición a ruidos intensos o fármacos ototóxicos, ya sea el daño generado por las técnicas actuales de tratamiento de hipoacusia, como es la colocación de un IC. Por otro lado, esta respuesta inflamatoria puede ser considerada como una diana en el tratamiento local, a nivel del oído interno, con los beneficios demostrados por el tratamiento corticoideo o inmunomodulador a este nivel [35][36].

En cuanto a las vías de drenaje linfático del oído, antiguamente se consideraba que la conexión del oído interno con el sistema linfático se producía principalmente a través del oído medio, drenando en los ganglios linfáticos cervicales y comunicándose el oído interno con éste por medio de los canales linfáticos de la mucosa del oído medio, principalmente. En 2001, Yimtae *et al.* demostraron en *Guinea pig* (Gp) la existencia de una comunicación linfática directa entre el oído interno y dichos ganglios linfáticos, más concretamente, los ganglios linfáticos ventrales superficiales y parotídeos [37].

### 1.1.1.3.3. Barrera hemato-laberíntica

La barrera hemato-laberíntica juega un papel fundamental en la homeostasis de los líquidos laberínticos y, por tanto, en la farmacocinética coclear, siendo por primera vez descrita en los años 80 y ampliamente estudiada por diversos autores en los últimos años.

Con el fin de comprender mejor esta estructura, se hace referencia a la barrera hemato-laberíntica, como aquella estructura que separa la vascularización sistémica de los líquidos del oído interno. A su vez, esta barrera puede clasificarse en hemato-perilinfática y hemato-estrial/hemato-endolinfática, en función de si la región a la que hace referencia comunica un compartimento externo al oído interno, la circulación sanguínea sistémica, con un compartimento interno correspondiente bien a todas las estructuras que componen el oído interno bañadas por perilinfa, o bien a aquellas que contienen el fluido intersticial intraestrial, directamente relacionado con la endolinfa, respectivamente [9]. Así, la relación entre el sistema vascular y la endolinfa queda limitada por el compartimento intraestrial, eléctricamente polarizado (oscilando entre +90 y +120 mV), que contiene el líquido intersticial intraestrial. Este espacio queda delimitado a nivel externo por la luz de los capilares con sus células endoteliales estriales y, a nivel interno, por uniones estrechas entre células epiteliales marginales, células intermedias y células basales endoteliales, separándolo del compartimento endolinfático [8][9]. Así mismo, en los últimos años se ha profundizado en el estudio de la regulación del flujo sanguíneo en relación con las fibras nerviosas adyacentes a la arteria modiolar espiral, formando la denominada barrera hemato-nerviosa e interviniendo en dicha regulación por medio de sustancias como péptidos vasoactivos [8].

De esta forma, la barrera hemato-laberíntica, compuesta principalmente por uniones estrechas y células endoteliales vasculares, y cuya permeabilidad y propiedades varían a lo largo del oído interno (siendo más compleja a nivel estrial), juega un papel importante no sólo en el acceso al oído interno de las sustancias provenientes a través del aporte sanguíneo sistémico, contribuyendo especialmente a la composición de la endolinfa a través

de la *stria vascularis*, como más tarde será detallado, sino también en la defensa inmune de este órgano, gracias a la presencia de macrófagos tanto a nivel del LE, como a nivel de las ya mencionadas células intermedias [8].

### **1.1.2. Características principales de los líquidos laberínticos en el ser humano: endolinfa y perilinfa**

Los líquidos laberínticos, endolinfa y perilinfa, son esenciales para el mantenimiento de las principales funciones del oído interno: la audición y el equilibrio. La alteración en la composición de uno u otro repercute directamente en el correcto funcionamiento del mismo [8].

#### **1.1.2.1. Localización de los líquidos laberínticos**

##### **1.1.2.1.1. Escalas vestibular y timpánica**

Estas estructuras contienen perilinfa. Están comunicadas entre sí por el helicotrema, así como por las porosidades existentes a lo largo del LE [16]. El empleo de la microscopía electrónica en el estudio de la anatomía coclear ha permitido evidenciar estas porosidades en el espesor del LE, contribuyendo a la verificación de la existente conexión entre la perilinfa de la ET y la EV [12].

##### **1.1.2.1.2. Escala coclear o media**

Esta estructura contiene endolinfa, procedente de la *stria vascularis*. Igualmente está compuesta por un conjunto de células: células marginales (encargadas de los intercambios de  $K^+$ , componente principal de la endolinfa), células basales y células intermedias, que desempeñan un cierto papel en los procesos fisiológicos de la audición [38].

#### **1.1.2.2. Producción de los líquidos laberínticos**

##### **1.1.2.2.1. Perilinfa**

En un primer tiempo, se consideró que la perilinfa podría ser un ultrafiltrado del plasma [39][40]. Sin embargo, las pequeñas diferencias existentes en la composición de ambas (perilinfa y plasma), llevaron a la generación de nuevas hipótesis, que establecieran otros posibles orígenes de la misma. Igualmente se consideró la posibilidad de que la perilinfa de la ET y de la EV tuvieran distintos orígenes. Así, la perilinfa de la EV provendría principalmente del plasma, a través del endotelio de la barrera hemato-perilinfática y del epitelio del limbo espiral, mientras que aquella correspondiente a la ET estaría compuesta, en un 80 % aproximadamente, de la influencia del LCR, a través del AC [40]. La influencia que el LCR tiene en la formación de la perilinfa de la EV, se cree que sería menor al 10 %

[16]. Otra de las hipótesis planteadas a lo largo de la historia es que la perilinfa pueda provenir de los espacios perivasculares o perineurales del CAI [40].

#### 1.1.2.2.2. Endolinfa

La endolinfa se produce fundamentalmente en dos regiones. Por un lado, se cree que la endolinfa vestibular puede formarse a partir de las células epiteliales cilíndricas oscuras que recubren la pared del laberinto membranoso que conforma el vestíbulo, gracias principalmente a la actividad de la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa [16]. A nivel coclear, la *stria vascularis*, límite lateral de la EM, sería la principal productora de endolinfa, dependiente principalmente de una bomba de  $\text{K}^+$ , encargada de generar el potencial positivo característico de la endolinfa. Así, el LE tiene una gran importancia en el mantenimiento del balance iónico entre la perilinfa y la endolinfa, gracias a estas bombas de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa, que toman  $\text{K}^+$  de la perilinfa y lo transportan a la endolinfa [12].

#### 1.1.2.3. Composición de los líquidos laberínticos

A la hora de estudiar el funcionamiento y la dinámica de los líquidos que componen las estructuras del oído interno, es imprescindible conocer su composición exacta. Como se verá más adelante, el equilibrio entre los distintos líquidos laberínticos juega un papel fundamental en la farmacocinética coclear. Ambos líquidos, endolinfa y perilinfa, difieren en su composición, lo que genera una diferencia de potencial, denominado potencial endococlear (100-120 mV), mediado en gran medida por la *stria vascularis* [12], que constituye la base de la activación electrofisiológica de las células neurosensoriales del oído interno, en el órgano de Corti [41].

De esta forma, mientras que la composición de la endolinfa es especialmente dependiente del  $\text{K}^+$ , asemejándose a los líquidos intracelulares ( $\text{N}^+$ : 1-5 mEq/L,  $\text{K}^+$ : 110-145 mEq/L,  $\text{Cl}^-$ : 130 mEq/L y proteínas: 0.3-0.6 mEq/L), la perilinfa es rica en  $\text{Na}^+$ , tal y como es característico de los líquidos extracelulares (plasma ultrafiltrado) ( $\text{N}^+$ : 140-150 mEq/L,  $\text{K}^+$ : 3.5-7 mEq/L,  $\text{Cl}^-$ : 110 mEq/L y proteínas: 1-1.5 mEq/L) [38].

Sin embargo, cabe igualmente destacar que existen pequeñas diferencias, correspondientes a la perilinfa de la ET y de la EV, como bien se mencionaba previamente. Se ha observado que la concentración de  $\text{K}^+$ , glucosa, algunos aminoácidos y proteínas, es algo mayor en la perilinfa contenida en la EV. Esto se cree que es debido, en gran medida, a la entrada de LCR en la porción basal de la ET, a través del AC. Cuando se obstruye esta estructura, se puede apreciar una igualación de la composición de la perilinfa de ambas escalas, a expensas de cambios en la perilinfa de la ET [16].

#### 1.1.2.4. Reabsorción de los líquidos laberínticos

Como se mencionaba previamente, y tal y como describe Allen en su teoría del equilibrio de presiones (*The theory of pressure balance*) [42], se ha demostrado que las dos estructuras que influyen principalmente en esta regulación son el AC y el saco endolinfático. Así, la regulación de presiones endolinfa-perilinfa se produce gracias a la acción del

saco endolinfático, para la endolinfa, y del AC, para la perilinfa, si bien también existe alguna influencia del sistema vascular [42], condicionando así la reabsorción de ambos líquidos. Numerosos estudios se llevaron a cabo con el fin de demostrar este hecho. De esta forma, en 1965 Kimura y Schuknecht evidenciaron que la destrucción del saco endolinfático podía ser consecuencia de la generación de un hidrops endolinfático (HE) [43]. Igualmente, Carlborg y Farmer (1983) elaboraron un estudio en gatos en el que demostraron (aumentando la presión intracraneal con infusión subaracnoidea de LCR) que, a pesar de la obliteración del AC, existe una regulación de las presiones de los líquidos laberínticos gracias a la función del saco y conducto endolinfáticos, siendo esta regulación menor y más lenta que aquella dependiente del AC [21]. Por otro lado, el LE también es considerado como un punto de reabsorción de perilinfa, alcanzando ésta el sistema venoso a través del mismo [40].

### **1.1.3. Comparación anatómo-fisiológica entre los distintos especímenes relevantes en el estudio: roedores (*Guinea pig*), primates (*Macaca fascicularis*) y el ser humano**

El grado de dispersión de una determinada sustancia a través de las estructuras cocleares, motivado por la difusión pasiva, ha demostrado estar en gran medida influenciado por la especie a estudio y el tamaño de la cóclea [44][45]. Diversos estudios se llevaron a cabo a lo largo de la historia con el fin de conocer a fondo las distintas estructuras que componen el oído interno de varios mamíferos. Sin embargo, y si bien las dimensiones de cada una de estas estructuras que conforman este órgano de los sentidos han sido ampliamente estudiadas por numerosos autores en los seres humanos [44][46][47] y en especies como el Gp [7][12][14][48], las investigaciones hasta la fecha no aportan tanta información sobre las dimensiones del oído interno en otras especies superiores, como el *Macaca fascicularis* (Mf) [24][49][50]. Recientemente, el grupo de trabajo de Salt estableció una comparativa de las dimensiones aproximadas del oído interno en distintas especies animales [51]. A continuación, se muestra de forma gráfica dicha comparativa entre las especies que conciernen este estudio (Figura 1.1), de forma que los análisis realizados puedan adecuarse a las características concretas de cada espécimen, pudiendo en un futuro extrapolar los resultados obtenidos al ser humano con la mayor exactitud posible. Así mismo, la Tabla 3.2, recogida en el apartado: *Material y métodos*, recopila para estas especies las dimensiones de las principales estructuras del oído interno, implicadas en el estudio de la farmacocinética coclear. De esta forma, tal y como se puede observar y dada su proximidad filogenética, el oído interno del Mf y del ser humano presentan importantes similitudes, ya demostradas en estudios previos [12][50][52].

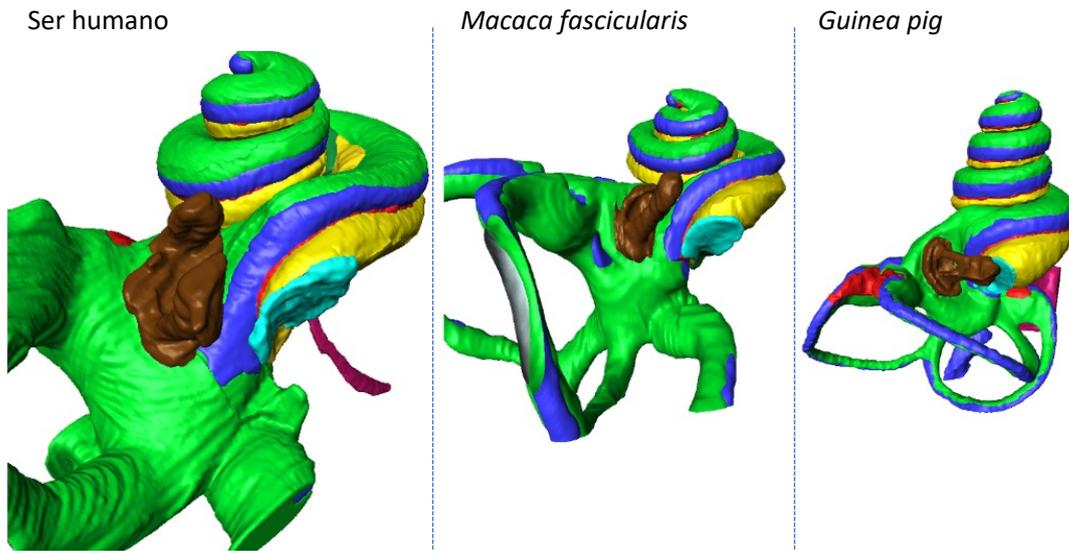


Figura 1.1: Variaciones en la morfología del oído interno entre especies. Imágenes en 3 dimensiones (3D), generadas mediante microscopía de imágenes láser de lámina fina (TSLIM- *thin-sheet laser imaging microscopy*) del oído [51]. Imagen por cortesía del Prof. Alec Salt.

## 1.2. Experiencia en la liberación de fármacos a nivel del oído

La posibilidad de llevar a cabo tratamientos locales para paliar las patologías del oído interno está siendo cada vez más estudiada, siendo uno de los objetivos del tratamiento farmacológico local, a nivel del oído interno, la regeneración de las CCI [53]. En los últimos años, diversas líneas de investigación en animales de experimentación demuestran los beneficios que supone el empleo de dexametasona a nivel coclear: reducción del daño producido por agentes ototóxicos como kanamicina [54] o cisplatino [55], protección frente al trauma causado por exposición a ruido [56] o mantenimiento de la audición residual al trauma generado por la inserción del electrodo (EIT) durante la implantación coclear [57, 58, 59, 60, 61], entre otros. Sin embargo, a día de hoy aún no existe mucha experiencia en la liberación de sustancias a nivel intracoclear asociadas a un IC en seres humanos.

La administración intracoclear de fármacos requiere de un análisis detallado, no sólo de la anatomía de la cóclea, sino también de las características de la propia sustancia inyectada. El análisis del comportamiento de una determinada sustancia constituye una rama de la farmacología denominada farmacocinética. No se puede asumir que los compartimentos perilinfáticos sean homogéneos a lo largo de toda la cóclea. Así, se ha demostrado que la constante de flujo está más condicionada por las dimensiones anatómicas de la cóclea (principalmente el *cross-sectional area* o área de sección transversal) en las diferentes zonas que la componen, que por las propias características fisiológicas de los tejidos. Esta diferencia en el diámetro a lo largo de la cóclea dificulta igualmente la obtención y el

mantenimiento de una concentración estable y homogénea de fármaco a lo largo de toda esta estructura, con la administración de sustancia a un flujo constante [62]. Este hecho viene condicionado por las características anatómicas del espécimen a estudio, siendo un factor importante, por tanto, en la posible extrapolación de determinados resultados al ser humano.

Un adecuado conocimiento de la farmacocinética coclear y de sus principios básicos: el esquema LADME (Liberación, Absorción, Distribución, Metabolismo, Eliminación) orientará y determinará la elección, la dosis, el tiempo y la velocidad de administración del fármaco, así como la estrategia de liberación y la elección de una correcta vía de administración a la hora de valorar el probable éxito o beneficio de una determinada terapia. También proporcionará información sobre los posibles obstáculos que puedan surgir durante su aplicación.

Si bien la mayoría de estudios se han llevado a cabo en animales de experimentación, especialmente en Gp, algunas sustancias ya han sido aprobadas para su uso en el ser humano, siendo la administración de alguno de estos tratamientos considerados como procedimientos de rutina en la práctica clínica diaria de una consulta de Otorrinolaringología.

### **1.2.1. Experiencia en la liberación de sustancias en animales de experimentación**

En los últimos años, se han ido estudiando y desarrollando, especialmente en distintos animales de experimentación, nuevas sustancias y técnicas de liberación específicas para el oído interno con el fin de tratar las distintas patologías que afectan a este órgano de los sentidos. Sin embargo, el futuro desarrollo y diseño de nuevos estudios farmacocinéticos y la precisa interpretación de los resultados obtenidos en ellos, aún requiere de una mayor profundización en estos ámbitos [63]. Así, para poder estudiar adecuadamente la farmacocinética coclear, es fundamental conocer los principios básicos de esta rama de la farmacología.

#### **1.2.1.1. Principios de la farmacocinética coclear: el esquema LADME**

Así, en 2009 Salt y Plonkte [64] aplicaron por primera vez al oído el principio básico de la farmacocinética, el esquema LADME:

##### **1.2.1.1.1. Liberación**

*“La Liberación es un proceso mediante el cual un principio activo presente en una forma de dosificación llega a estar disponible para su absorción” [65].*

La elección del más adecuado método de liberación de sustancia juega un papel fundamental en la farmacocinética coclear. A la hora de establecer las posibles vías de liberación de una determinada sustancia en el oído interno, es imprescindible tener en cuenta la importancia de mantener todas las estructuras que componen este órgano de los sentidos en

---

las mejores y más fisiológicas condiciones posibles, poniendo especial hincapié al mantenimiento de la integridad de la cápsula ótica. Esta estructura, a su vez, es considerada, junto con la barrera hemato-laberíntica, la principal limitación anatómica y fisiológica a la liberación de fármacos en el oído interno.

Así, los tres principales métodos para administrar fármacos al oído son: sistémico, intratimpánico e intracoclear. La Tabla 1.2 resume las principales ventajas e inconvenientes de cada uno de ellos.

De esta manera, la sustancia puede alcanzar el oído interno por distintas vías, en función de la forma administración de la misma:

#### 1.2.1.1.1. Administración por vía intratimpánica

La cavidad del oído medio no es un compartimento estanco. Posibles pérdidas de sustancia pueden ser observadas, principalmente a través de la trompa de Eustaquio, pero también a través de vasos sanguíneos y linfáticos. Además, el propio epitelio que recubre estas estructuras favorece las pérdidas y el “lavado” de las sustancias inyectadas, dado que esta parte del oído está fisiológicamente preparado para ser una cavidad rellena de aire, con el fin de conseguir una correcta transmisión del sonido. Se asume que una sustancia, inyectada en el oído medio, por vía transtimpánica, permanecerá allí durante 30 minutos, en gran parte favorecido por las pautas de aplicación a seguir: el paciente debe permanecer tumbado durante unos 20-30 minutos, con la cabeza lateralizada hacia el lado contralateral al tratado. Pasado este tiempo, comenzará el declive de la misma [66].

A nivel del oído medio se ha apreciado también la existencia de un flujo radial, que condiciona igualmente la difusión de la sustancia desde esta zona hacia la perilinfa del oído interno [67][68]. Así, las principales vías por las que el fármaco se distribuiría desde el oído medio hacia el oído interno serían bien a través de la VR, alcanzando la ET o bien a través de la platina del estribo, accediendo directamente al vestíbulo y a la EV [66]. Se ha demostrado incluso la existencia de áreas de escaso espesor óseo a lo largo de la cápsula ótica que también podrían suponer una vía de comunicación directa con el oído interno [69]. Por su parte, el ligamento anular que rodea el estribo se cree que constituye una importante vía de entrada hacia los órganos vestibulares [67][68], habiendo sido demostrado por algunos autores una mayor permeabilidad de la ventana oval en relación con la VR [70]. Kang *et al.* (2016) demostraron, en huesos temporales humanos, que este tipo de administración a nivel de la ventana oval también podría generar un flujo hacia las regiones apicales de la cóclea [71]. Este hecho condiciona la toxicidad que determinadas sustancias pueden tener sobre el sistema vestibular, como en el caso del uso de Gentamicina para el tratamiento de la enfermedad de Meniere avanzada, así como la pérdida de audición que se produce en algunos pacientes como efecto secundario a la administración de la misma [72]. Actualmente se está estudiando la posibilidad de utilizar implantes a nivel de la ventana oval, destinados especialmente al tratamiento de determinadas patologías vestibulares [73], buscando disminuir las posibles repercusiones que determinados fármacos administrados por vía intratimpánica puedan tener sobre el

Tabla 1.2: Principales vías de liberación de sustancias para el tratamiento de las patologías del oído: sistémica, intratimpánica e intracoclear.

<b>Vías de liberación</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Inconvenientes</b>
<b>Sistémica</b>	Fácil administración	Efectos secundarios a nivel sistémico
	Dosis conocidas	Menor concentración de fármaco que alcanza el oído por la barrera hemato-laberíntica
<b>Intratimpánica</b>	Fácil administración	Abundantes pérdidas a través del oído medio
	No condicionado por la barrera hemato-laberíntica	Riesgo de generar un daño a nivel del oído medio por la propia inyección [62]
	Amplia experiencia en patologías como la enfermedad de Meniere o la sordera súbita	Entrada de la sustancia al oído interno limitada por dos estructuras: ventana oval y VR
		Falta de control en los lugares de distribución de la sustancia (ej: pérdida auditiva en el tratamiento del vértigo con Gentamicina por enfermedad de Meniere), lo que condiciona una falta de precisión en los resultados obtenidos con el tratamiento
<b>Intracoclear</b>	Máximas dosis a nivel del oído interno	Difícil administración, tratamiento quirúrgico
	No condicionado por la barrera hemato-laberíntica	Falta de experiencia en ser humanos
	Se evitan los efectos secundarios sistémicos	

sistema auditivo.

La técnica de acceso al oído interno a través del oído medio y, más concretamente, de

la VR ha sido estudiada por numerosos autores a lo largo de la historia. Kelso *et al.* fueron los primeros en llevar a cabo microperforaciones a nivel de la VR del Gp, demostrando un aumento de difusión de la sustancia administrada (en este caso, *Rhodamine B*), al ser liberada en un espacio que representaba la caja timpánica y, por tanto, simulaba el proceso de liberación intratimpánica [74]. Desde entonces, diversas microagujas (microserreadas, doble hoja. . .) han sido empleadas con el fin de lograr la máxima precisión en la administración de las sustancias, generando las menores repercusiones posibles, tanto a nivel anatómico como fisiológico.

#### 1.2.1.1.1.2. Administración directa a nivel del oído interno

Como se mencionaba previamente, la administración directa al oído interno permite minimizar las pérdidas condicionadas principalmente por la absorción a nivel de la barrera hemato-perilinfática, de la VR y de la ventana oval.

Al igual que a nivel del oído medio, en el oído interno también se estudió la posibilidad de utilizar sistemas portadores (*carriers-systems*), con el fin de facilitar la permanencia y distribución de los fármacos, inyectados directamente a este nivel, con resultados igualmente satisfactorios [75, 76, 77]. Los dispositivos de células encapsuladas para el tratamiento de la pérdida de audición que contienen células humanas modificadas, liberadoras de factores neurotróficos, constituyen otro importante avance reciente en este campo [78], así como el tratamiento local con vectores adenovirales [62].

Por otro lado, para acceder al oído interno alterando lo menos posible las estructuras que lo componen, se han establecido tres vías principales: a través de la VR, a través de la ventana oval o con la realización de una coceleostomía a nivel basal. El objetivo es alcanzar la perilinfa, pues la administración directa a nivel endolinfático conlleva grandes riesgos a nivel auditivo [79]. También se llevaron a cabo estudios en Gp en los que el acceso al oído interno se realizó a través del ápex de la cóclea o a través del canal semicircular horizontal (CSH) [80][81]. Lichtenhan *et al.* demostraron que, al aplicar la sustancia a nivel del ápex, ésta se distribuye hacia la base de la cóclea, a través de la ET, proporcionando mayores beneficios en el tratamiento de las pérdidas auditivas de frecuencias graves con esta localización de administración, dada la mayor concentración de fármaco que entra en contacto con estas regiones más apicales de la cóclea [81]. Por otro lado, la liberación intracoclear de sustancia a nivel del CSH ha demostrado en Gp que, en esta localización, la influencia del LCR es menor, dada su mayor lejanía con respecto al AC [80]. Así, si bien los resultados farmacocinéticos fueron satisfactorios, especialmente para la aplicación a nivel apical, la aplicación a través de la VR supone una menor alteración de las estructuras anatómicas cocleares, siendo además más accesible en la práctica clínica diaria.

Al analizar las características de distribución de una sustancia inyectada a nivel intracoclear, se concluyó que el flujo de volumen generado por las condiciones de infusión del fármaco, junto con la propia difusión pasiva inherente a la estructura coclear, como más tarde será explicado, juegan un papel fundamental en este aspecto. La influencia de la difusión pasiva en la farmacocinética coclear fue corroborada al evidenciar que la sustancia difunde mejor hacia regiones más apicales de la cóclea en aquellos casos en los que

la liberación se hacía en cantidades constantes, durante mayores periodos de tiempo, en relación con aquellos casos en los que se inyectan grandes cantidades de volumen, en un corto espacio de tiempo [66]. Este hecho supone que el cambio de concentraciones inducido en la perilinfa con la inyección de la propia sustancia condiciona su posterior distribución, generando un flujo longitudinal, asociado a cambios en la propia difusión pasiva, hacia las regiones más apicales de la cóclea. Así, estudios recientes inciden en descubrir la vía y el dispositivo de administración intracoclear del fármaco más adecuado para conseguir tratar de forma completa, eficaz y con los menores efectos secundarios posibles las distintas patologías que condicionan el adecuado funcionamiento de este órgano de los sentidos.

### **1.2.1.1.1.3. Dispositivos de liberación**

Por otro lado, y si bien aún están siendo estudiados, habiendo sido la mayoría utilizados únicamente en experimentación animal, Borenstein llevó a cabo una revisión bibliográfica en la que clasificó los dispositivos de liberación intracoclear de fármacos, a través de su colocación a nivel del oído medio, en dos grupos, pasivo o activo, según el tipo de administración y la asociación del dispositivo a controles eléctricos. Estos dispositivos activos pueden ser a su vez subdivididos en función de si la infusión supone un flujo constante o si el dispositivo controla el flujo de forma recíproca, es decir, capaz de liberar y a su vez recoger la sustancia en cuestión [82].

A continuación se recoge algún ejemplo de los principales dispositivos de liberación activa, empleados hasta la fecha:

- Microbombas o bombas de jeringa (*Micropumps/Syringe pumps*):

En 2008, Fiering *et al.* demostraron los beneficios proporcionados por la aplicación de fármaco al oído interno a través de dispositivos de tipo *microfluidic system* capaces de liberar una determinada sustancia de forma automática, en pulsos, durante un periodo de tiempo y a unas cantidades establecidas, de forma que se alcancen altas concentraciones de la misma en el área deseada, con la posterior retirada de una determinada cantidad de volumen, manteniendo así los líquidos cocleares en concentraciones y volúmenes estables, sin detener la infusión de la sustancia, con resultados satisfactorios [83]. Otros autores utilizaron dispositivos similares igualmente en experimentación animal. Estos dispositivos, compuestos por bombas digitales asociadas a una cánula colocada en el lugar de inyección deseado (en este caso a nivel de la ET) liberan sustancia a un flujo previamente establecido, sin disponer del circuito de extracción y recogida presentado en el dispositivo anteriormente mencionado. En estos casos, para evitar un aumento excesivo de la presión a nivel perilinfático, se analizó previamente el flujo y la velocidad de infusión más adecuada [84].

- Bombas osmóticas:

Si bien son pequeñas y flexibles, y no requieren de dispositivos externos para su funcionamiento, su duración es limitada y una vez colocadas e iniciadas, no se puede modificar el proceso de liberación. Su principal utilidad reside en la liberación de

---

moléculas de gran tamaño, proteínas y péptidos [82].

- *Silicone-based ear cubes*:

Dispositivos que se colocan a nivel de la ventana oval. Cuentan con un reservorio, situado a nivel del oído medio, y una porción cilíndrica, insertada en el oído interno a través de la ventana oval. Han demostrado beneficios significativos en el mantenimiento de la sustancia inyectada (en este caso, Dexametasona) durante años, sin efectos secundarios, como inflamación o erosión de la zona implantada [85].

- Liberación intracoclear asociado a un dispositivo de IC:

En 2008, Hendricks *et al.* analizaron las diferentes técnicas de administración de fármacos que podían ser integrados en los nuevos sistemas protésicos auditivos [86]. La administración directamente a nivel coclear, integrada a los nuevos dispositivos auditivos, ha demostrado ser una técnica efectiva y segura que aporta ventajas frente a la administración sistémica: mayor control y acceso al oído interno, con una menor dosis requerida, menores efectos secundarios y menor ototoxicidad, y mejores resultados terapéuticos [87].

En la actualidad, el IC es uno de los dispositivos más empleados en el tratamiento de la hipoacusia neurosensorial severo-profunda [88][89]. Se trata de una técnica con buenos resultados clínicos y segura para el paciente [90]. Buscando preservar el mayor nivel auditivo posible, en las últimas tres décadas se han introducido cambios tanto en la técnica quirúrgica de implantación del dispositivo como en el empleo de electrodos más flexibles y de menor volumen. Sin embargo, la propia cirugía de colocación de un IC genera invariablemente un traumatismo a nivel del oído interno, mayor o menor en función de la técnica y el dispositivo empleados, produciéndose un ambiente proinflamatorio que favorece el aumento de las impedancias eléctricas y el empeoramiento de los niveles auditivos postoperatorios [91, 92, 93, 94, 95]. Así, si bien en un primer momento la colocación de un IC buscaba únicamente la rehabilitación auditiva, el paso de los años va orientando hacia la búsqueda de la preservación de restos auditivos, así como la protección e incluso la posible regeneración neural. En 2017, se demostraron los beneficios que factores neurotróficos o fármacos antioxidantes, entre otros, generan a nivel auditivo al ser aplicados bien sea antes, durante o después de la colocación del dispositivo de IC [84]. El empleo de agonistas del receptor de glucocorticoides ha demostrado reducir el número de mediadores que promueven la fibrosis. Resultados hasta la fecha demuestran, en distintos especímenes, incluyendo entre ellos el Mf y el ser humano, que su administración disminuiría la formación de la capa fibrótica en torno al electrodo tras la implantación, con la consiguiente reducción de las impedancias, y contribuiría al mantenimiento de la densidad neural, obteniéndose un mayor rendimiento del IC [35][96][97]. A su vez, si bien los tratamientos intratimpánicos han demostrado tener grandes beneficios en la preservación de la audición en los periodos postoperatorios iniciales [98], su efecto terapéutico es limitado, no pudiendo suprimir los procesos de inflamación crónica secundarios. Por esta razón, en las últimas décadas se ha estudiado la posibilidad de combinar un IC con fármacos o terapia génica, lo que permitiría tratar las pérdidas de audición por medio de un abordaje combinado de

terapia farmacológica y estimulación eléctrica. Así, los dispositivos de liberación de fármaco intracoclear asociados a un IC, suponen un beneficio frente a las otras técnicas previamente mencionadas. Al mismo tiempo que restauran la audición por estimulación directa del nervio auditivo, la aplicación de fármacos asociados al mismo supone un beneficio añadido en la posible restauración de la funcionalidad de las células auditivas y, especialmente y a nivel farmacológico, este método de administración favorece la distribución y permanencia del fármaco a nivel del oído interno, gracias a la posibilidad de perfundir la sustancia a un flujo determinado y durante un tiempo establecido. Esto evita igualmente cambios bruscos en el volumen coclear, que pudieran alterar la adecuada farmacocinética fisiológica de la misma.

Así, y a modo de resumen, las principales ventajas que presenta la liberación de una sustancia directamente a nivel perilinfático, es decir, intracoclear, por medio de un dispositivo de IC, se recogen a continuación:

1. Evita los factores dependientes de la VR, como puede ser el área de la misma, su disposición (especialmente en relación con la resistencia que puede generar a nivel del AC) [99] o su permeabilidad.
2. Permite seleccionar el flujo deseado. La posibilidad de emplear un pequeño flujo (menor de  $0.01 \mu\text{L}/\text{min}$ ), contribuye a la mayor fiabilidad de los resultados obtenidos, pues el flujo longitudinal no se vería condicionado por los parámetros de inyección [45].
3. Supone, hasta el momento, el método de liberación de sustancias en el espacio perilinfático más preciso.

De esta forma, en los últimos años se estudiaron y desarrollaron distintas posibilidades de liberación de fármaco asociado a un IC, pudiendo destacar:

#### A. *Eluting CI electrode array*

Por un lado, se ha estudiado la posibilidad de llevar a cabo la liberación de sustancia a través del recubrimiento de la porción implantable del propio dispositivo, por medio de biopolímeros asociados al fármaco, que han demostrado su utilidad en la reducción de las fuerzas de inserción [100]. Así, en 2016, Roemer *et al.* [101], llevaron a cabo un estudio en seres humanos en el que liberaron a nivel intracoclear células procedentes de la médula ósea, dadas sus propiedades antiinflamatorias y neuroprotectoras, de los propios pacientes a estudio. Para ello, generaron “electrodos biohíbridos”, recubriendo la silicona que envuelve los electrodos del IC de una mezcla formada a partir de las células procedentes de la médula ósea y de adhesivo fibrilar. Un total de 3 individuos, portadores de un IC en el oído contralateral, fueron incluidos, siendo cada uno de ellos su propio control. La comparación de este dispositivo “biohíbrido” con el implante convencional, no mostró mayores repercusiones a nivel de la discriminación de la palabra hablada ni de las impedancias. La biocompatibilidad del adhesivo

fibrilar, así como los beneficios de la administración de estas células fue igualmente demostrado. De igual forma, los buenos resultados obtenidos con este tipo de liberación intracoclear de sustancia a través de un dispositivo de IC equipado con un *dexamethasone-eluting component* demostraron también en otras especies superiores, Mf, los beneficios a nivel auditivo a largo plazo que proporciona, así como la disminución de la reacción inflamatoria a nivel del tejido neural tras la implantación [97].

#### B. *Pump and cannulated CI electrode array*

Por otro lado, se está valorando igualmente la posibilidad de integrar al dispositivo bombas de infusión activa. De esta forma, este otro tipo de dispositivo empleado es un IC que cuenta con una cánula asociada a una bomba de liberación, cargada, previa a la cirugía, con la sustancia a estudio. El grupo de trabajo de Salt demostró, en Gp, la eficacia del uso de este tipo de dispositivos [84]. Según algunos autores afirman, estos dispositivos suponen un beneficio especialmente en el tratamiento de pacientes con pérdidas de audición menos severas, pues permiten el empleo de electrodos de menor longitud, que alcancen únicamente aquellas zonas más afectadas de la cóclea, coincidiendo en la mayoría de los casos, con las frecuencias más agudas, distribuidas en las regiones más basales de la cóclea [82]. Este hecho reafirma la importancia de alcanzar un profundo conocimiento de la farmacocinética coclear, con el fin de ser capaces de hacer llegar la sustancia administrada a todas las regiones del oído interno, pudiendo así tratar cualquier región del mismo, condicionada por la existencia de una determinada patología, ya sea auditiva y/o vestibular [102].

La Tabla 1.3 resume las principales ventajas e inconvenientes del empleo de una u otra posibilidad.

#### 1.2.1.1.2. Absorción

La absorción de una determinada sustancia a nivel sistémico se entiende como aquel proceso por el que el fármaco en cuestión alcanza la vía sanguínea desde el sitio administrado, condicionada principalmente por su biodisponibilidad y la capacidad de dicha sustancia para atravesar las membranas biológicas. Sin embargo, a nivel del oído, el concepto de absorción queda representado por el paso de la sustancia al oído interno tras su aplicación en un lugar externo al mismo, como puede ser la administración sistémica, a través de la vascularización, o la administración directa a nivel del oído medio, a través de las distintas barreras biológicas que delimitan esta región con el oído interno [66]. De esta forma, se podría concluir que la liberación directa de la sustancia a nivel de la ET, asociada, por ejemplo, a la colocación de un IC, supondría un beneficio, dado que este tipo de liberación no condicionaría los resultados farmacocinéticos cocleares obtenidos, pues éstos no dependerían de la influencia de la absorción de la sustancia a nivel del oído medio.

Tabla 1.3: Liberación de fármaco asociado a un implante coclear.

	<i>Eluting CI electrode array</i>	<i>Pump and canulated CI electrode array</i>
<b>Ventajas</b>	Procedimiento quirúrgico sencillo.	Mayor control de la dosis administrada.  Posibilidad de administrar diferentes sustancias a través de un único dispositivo.  Liberación a largo plazo.
<b>Inconvenientes</b>	Variabilidad en el control de la dosis administrada.  Liberación a corto plazo.  Imposibilidad de administrar diferentes sustancias a través de un único dispositivo.	Procedimiento quirúrgico más complejo, especialmente para la colocación de la bomba.  Obstrucción y/o acodamiento de la cánula de liberación.  Potenciales problemas a la hora de rellenar de más cantidad o de una nueva sustancia la bomba de liberación.

### 1.2.1.1.3. Distribución

A nivel del organismo, la distribución de una determinada sustancia es la capacidad que tiene la misma de difundirse desde la circulación sistémica hacia otros fluidos intersticiales o intracelulares [66].

Como bien se mencionaba previamente, una de las principales dificultades a la hora de analizar la farmacocinética coclear es conocer la diferente distribución que una sustancia tiene a través de las distintas estructuras implicadas. Se ha demostrado que las sustancias aplicadas a nivel del oído interno no se distribuyen de manera uniforme a través del mismo [103]. De esta forma, a la hora de analizar la farmacocinética coclear, Salt establece tres principales factores que van a condicionar la distribución de cualquier sustancia inyectada en la perilinfa: 1. Difusión pasiva; 2. Flujo de volumen longitudinal; 3. pérdidas hacia compartimentos adyacentes [45].

#### 1. Difusión pasiva:

Se sabe que, incluso en ausencia de un flujo de volumen, cualquier sustancia inyectada en la cóclea, tenderá a distribuirse por difusión pasiva, desde el sitio de

mayor concentración, en este caso la base, al sitio de menor concentración, el ápex. Esta diferencia de concentraciones es generada principalmente por la diferencia del área de sección transversal (*cross-sectional area*) a lo largo de la cóclea, así como por el “lavado” generado a nivel de la perilinfa. De esta forma, Salt y Thalmann analizaron en Gp, mediante un marcador inerte, como es el tetrametilamonio, la existencia de un movimiento de fluidos, tanto de endolinfa como de perilinfa [104]. Gracias a la difusión pasiva, se puede demostrar un movimiento de ambos líquidos laberínticos, independiente de la existencia de un flujo de volumen endococlear. En el Gp se ha demostrado que esta difusión pasiva es el principal factor que interviene en la farmacocinética coclear [45]. Sin embargo, la influencia que la difusión pasiva tiene siempre será limitada, independientemente del tamaño y las características de la molécula introducida. Así, cuando la cóclea está en condiciones fisiológicas (“sellada”), el flujo tanto de perilinfa como de endolinfa es muy lento y limitado [45], dependiente únicamente de la propia difusión pasiva. Sin embargo, cuando la estructura coclear es alterada, creando una perforación de la cápsula ótica, se produce un cambio de presiones cocleares que favorecen un movimiento de fluidos mucho más rápido y de mayor volumen, ampliamente condicionado por la entrada de LCR a través del AC.

2. Flujo de volumen longitudinal:

La distribución de una sustancia gracias al flujo longitudinal también ha sido ampliamente estudiada. En 1988, Ohyama *et al.* demostraron en Gp que este flujo longitudinal de perilinfa es muy lento, menor de 2 nL/minuto [105]. Diversos estudios concluyeron que, si bien la aportación de este fenómeno es muy limitada en condiciones fisiológicas, es decir, cuando la cóclea está anatómicamente inalterada, correctamente sellada, la realización de una perforación a nivel de la cápsula ótica condicionaría un gran aumento de este flujo longitudinal, superando a la influencia de la difusión pasiva en la distribución de una determinada sustancia a través de las estructuras del oído interno [45][82]. Cabe remarcar que existe también evidencia de autores que emplean, asociado a la cocleostomía para la liberación de la sustancia, una canalostomía a nivel, por ejemplo, del canal semicircular posterior (CSP), con el fin de reducir el gradiente de concentración a nivel intracoclear, favoreciendo así la distribución de la sustancia aplicada hacia las regiones más apicales de la cóclea [106]. Por otro lado, la inyección de una determinada sustancia, a un flujo determinado, también se considera responsable de la generación de un aumento de este flujo longitudinal [66].

3. Flujo de volumen radial. Pérdidas hacia compartimentos adyacentes:

Las comunicaciones existentes entre la ET y las estructuras adyacentes también juegan un papel fundamental a la hora de estudiar y conocer los factores que condicionan la distribución de las sustancias inyectadas [45].

a) Comunicación con otras escalas: vestibular y media.

Si bien algunos autores afirman, mediante estudios llevados a cabo con trimetilfenilamonio (TMPA), que no existe difusión de esta sustancia entre la

perilinfia y la endolinfa, la distribución desde la ET (zona de inyección de la sustancia) a la EV (zona no perfundida), principalmente a través del helicotrema (flujo longitudinal) y del LE (flujo radial), sí ha sido ampliamente demostrada [7][67][68]. Por otro lado, estos mismos estudios demostraron que la distribución de una sustancia a través de la perilinfia está favorecida por una dirección determinada, siendo mayor la distribución al inyectar la sustancia en la ET (apreciando su desplazamiento hacia el vestíbulo), que a la inversa.

A pesar de la controversia existente en el pasado en la posible o no comunicación entre la ET y la EM, Angelborg corroboró, por medio de la inyección de *Thorotrast* en la perilinfia del Gp, su distribución hacia el órgano de Corti [107]. Este hecho defiende el posible desplazamiento de la sustancia inyectada hacia la EM. El espacio perilinfático está delineado por una capa de células mesoteliales, que forman uniones estrechas entre sí, con el fin de evitar el flujo intercelular. Glueckert *et al.*, al analizar la posible influencia que la microanatomía coclear puede tener en el flujo de sustancias a través de las estructuras del oído interno, concluyeron que esta capa de células mesoteliales es más gruesa a nivel de la membrana basilar, recibiendo el nombre de *tympanic covering layer* (TCL) [7]. Sin embargo, y a pesar de su mayor grosor, se ha demostrado que no existe un sellado completo entre las células que la componen, existiendo canales que permiten el libre paso a través de la membrana basilar. Estas células tienen la capacidad de secretar sustancias que actúan como lubricantes y tienen alta capacidad fagocítica, facilitando el transporte de fluidos y el “lavado” de la luz de la ET. Ha sido igualmente demostrado que esta estructura es más prominente en regiones más apicales de la cóclea. Así, si bien en la región apical de la cóclea, la membrana basilar es más ancha y delgada, la TCL es más gruesa. En la región basal de la cóclea sería a la inversa. Este hecho podría condicionar la diferente farmacocinética de una sustancia en función de la localización de la aplicación de la misma.

b) Comunicación con los espacios líquidos del modiollo.

En 2006, Rask-Andersen *et al.* demostraron la existencia de una libre comunicación entre el espacio perilinfático y modiolar [23], que puede condicionar el paso de sustancias entre una y otra región. Años más tarde se han descrito unas cavidades, denominadas *Stomata* (3-12  $\mu\text{m}$ ), en las uniones entre las células mesoteliales, que permiten acceso directo desde la ET al área del modiollo y la rápida eliminación de sustancias a través de ellos [7].

c) Comunicación con otras estructuras y con los espacios líquidos de la cápsula ótica.

El oído interno se considera limitado, a nivel vascular, fundamentalmente por la existencia de dos barreras: la barrera hemato-perilinfática y la barrera hemato-estrial. Estas estructuras, a diferencia de la membrana de la VR, compuesta por un total de tres capas celulares (capa externa epitelial, capa de tejido conectivo y capa interna epitelial) [108], se cree que presentan mayor limitación al paso de sustancias. Este hecho supone una limitación, no sólo en

la entrada de sustancias a nivel del oído interno tras su administración sistémica, sino también en la salida de las mismas, tras su administración directa intratimpánica y/o intracoclear. En 2012, el grupo de trabajo de Salt corroboró la gran influencia que las pérdidas sanguíneas tienen a la hora de interpretar y conocer los principios básicos de la farmacocinética coclear [80]. De esta forma, y tras haber analizado a fondo la anatomía de la estructura coclear, centrándose en las comunicaciones de la ET con las regiones adyacentes y basándose en estudios previos de otros autores, se concluyó que la vascularización del ganglio espiral constituye el principal condicionante de los procesos de homeostasis de la perilinfa, interviniendo por tanto en los procesos farmacocinéticos cocleares.

Por otro lado, los espacios líquidos de la cápsula ótica también juegan un papel fundamental. Estudios previos han demostrado la existencia en la cápsula ótica de un sistema lacuno-canalicular que permite el paso de determinadas sustancias a través del mismo [109]. Si bien la cápsula ótica es más densa en humanos que en animales de experimentación, en 2009 Mikulec *et al.* demostraron en Gp que, al administrar una sustancia a nivel de la bulla timpánica, ésta alcanzaba la perilinfa a través de los espacios existentes en la cápsula ótica, distribuyéndose hasta el ápex coclear [69]. La administración a este nivel en el Gp se considera equivalente a la administración intratimpánica en humanos. De esta forma, el paso de sustancias a través de la cápsula ótica también debe ser considerada a la hora de interpretar la farmacocinética coclear, no sólo por la posibilidad de los fármacos de alcanzar por esta vía la perilinfa del oído interno, sino también por las pérdidas de sustancia que se puedan producir a través de la misma.

Igualmente, la existencia de la vena de la VR podría condicionar el mayor o menor drenaje de sustancias aquí administradas, así como su posible lesión durante el fresado o la manipulación de la zona en el proceso de colocación de un IC [29].

#### 1.2.1.1.4. Metabolismo

El metabolismo de una determinada sustancia ha demostrado desempeñar un importante papel en la distribución y posterior actuación del fármaco administrado. Dado que hasta el momento no se ha demostrado la existencia de un transporte activo de sustancias entre las distintas estructuras del oído [66], el transporte a este nivel es considerado fundamentalmente pasivo, por lo que las características estructurales de las membranas biológicas, así como las de la propia sustancia, van a tener una gran repercusión en la farmacocinética coclear. De esta forma, y siendo entendido este proceso como la bioconversión o transformación química de la sustancia, se seleccionará una u otra formulación farmacológica en función del objetivo que se pretenda conseguir con una determinada terapia. Así, centrándonos en la sustancia a liberar, cabe resaltar distintos conceptos que a continuación se detallan.

**1.2.1.1.4.1. Características de la sustancia inyectada.** En 2015, el grupo de trabajo de Salt demostró que cualquier fármaco, inyectado a nivel del oído interno, presenta características y efectos distintos, principalmente en función de su flujo de entrada a través de la VR, su distribución a lo largo de la ET, la influencia de la entrada de LCR a través del AC, así como las posibles pérdidas, bien hacia compartimentos adyacentes (como el LE o el órgano de Corti), bien hacia la sangre a través de la vascularización de los tejidos circundantes [103]. De esta forma, y analizando los hallazgos evidenciados hasta la fecha, Plonkte y Salt, años más tarde, establecieron los principales puntos a tener en cuenta a la hora de profundizar en el estudio de la farmacocinética coclear, con la administración local de fármacos a nivel del oído interno [66]. La elección, posología, tiempo y velocidad de administración del fármaco, así como la estrategia de liberación y la elección de una correcta vía de administración constituirían los principales conceptos destacables que deberían ser estudiados a la hora de analizar el posible beneficio de una determinada terapia, así como los posibles obstáculos que podrían surgir durante la aplicación de la misma.

Si bien la permeabilidad vascular, el flujo sanguíneo o su capacidad de unión a tejidos o proteínas plasmáticas intervienen en el proceso de distribución de una sustancia [66], los dos factores fundamentales que condicionan la fácil difusión del fármaco a través de una barrera natural, como puede ser la barrera hematoencefálica y la intestinal, viene condicionada por la polaridad y la lipofiliidad de la sustancia a estudio, siendo el tamaño de la misma otro factor a tener en cuenta (a mayor tamaño del soluto empleado, menor difusión del mismo) [110]. De esta forma, se ha demostrado que aquellas moléculas pequeñas, lipofílicas y con pocos grupos polares son aquellas capaces de atravesar barreras membranosas biológicas con mayor facilidad [111].

Uno de los grupos de fármacos más empleados en la actualidad para el tratamiento de las patologías auditivas son los corticoides. Sin embargo, si bien se conoce que su administración a nivel sistémico cuenta con un metabolismo rápido y eficaz, la obtención de estos mismos beneficios para el tratamiento de las patologías auditivas y su correcta administración y distribución a nivel del oído requiere unas consideraciones especiales. En 2020, Salt y Plontke llevaron a cabo un estudio en el que remarcaron la importancia de establecer una correcta nomenclatura en el uso de corticoides para el tratamiento local de las patologías auditivas, en función de la fórmula farmacológica específica empleada. Tal y como este grupo de trabajo afirma: “Pequeños cambios en la molécula farmacológica pueden conllevar enormes diferencias en las propiedades físicas, que influyen en la farmacocinética, indudablemente afectando a la eficacia de la sustancia al ser aplicada al oído” [111]. Así, la correcta descripción y elección de la sustancia ofrecería y permitiría corroborar sus propiedades de difusión concretas y la mayor o menor retención de la misma en el área de administración. En general, estas formas farmacológicas a las que se hace referencia son conocidas como pro-fármacos. Se tratan de formas inactivas que, en el organismo, y gracias a la existencia de diversas enzimas capaces de metabolizar estos componentes, se convertirían en sus formas activas. Un ejemplo a destacar sería el uso de dexametasona-fosfato. Este compuesto presenta mayor peso molecular y es menos liposoluble por ser más polar que la dexametasona aislada, por lo que atraviesa las barreras

más lento y permanece durante más tiempo en la zona inyectada. Cuando alcanza su forma activa (pierde el fosfato), se vuelve menos polar y, por tanto, atraviesa más rápido las barreras biológicas. Aplicando estos conceptos a la liberación a nivel del oído, cabe destacar que la administración de una sustancia a nivel del oído medio no presentará los mismos resultados que la administración directa a nivel del oído interno. Así, siguiendo con el ejemplo de la dexametasona-fosfato, al ser aplicada a nivel intratimpánico, y dadas sus características farmacocinéticas previamente expuestas, atraviesa muy lentamente la VR (el grupo fosfato le confiere mayor polaridad, siendo menos liposoluble), por lo que entra muy poca cantidad de fármaco a la ET. Además, una vez se encuentra en la ET, se convierte, gracias a la fosfatasa, en su forma activa: menos polar y de menor peso molecular, atravesando más fácilmente las barreras y, por tanto, eliminándose con mayor facilidad de la perilinfa de la ET. Estos hechos hacen que la administración intratimpánica de dexametasona-fosfato no sea muy útil, pues la cantidad que alcanza la cóclea es pequeña y no llega a las regiones más apicales, por su rápida eliminación. En cambio, la aplicación directa de la dexametasona-fosfato a nivel del oído interno, es decir, la aplicación intracoclear, permite la administración de una mayor concentración, con menor variabilidad y una distribución más uniforme a lo largo de la ET [66].

Estos hallazgos son fundamentales a la hora de establecer la posología de una determinada sustancia, pues la dosis a emplear variará en función de la velocidad a la que ésta sea capaz de atravesar las membranas y, sobre todo, en función de su solubilidad y, por tanto, su capacidad de eliminación, controlando así la posible toxicidad que su “retención” durante un largo periodo de tiempo podría generar.

#### **1.2.1.1.5. Eliminación**

En el organismo, la eliminación de una sustancia a nivel sistémico consiste en su expulsión por vía renal, pulmonar y/o biliar. En el oído, este proceso tiene lugar a distintos niveles. Salt afirma que las posibles pérdidas de sustancia constituyen el factor que mayor influencia tiene sobre su distribución y retención en el ámbito de la farmacocinética coclear [45]. A mayor cantidad de pérdidas, menor concentración de fármaco será capaz de alcanzar el área deseada. Así, estas pérdidas a nivel del oído interno, ya sea por ejemplo a través de la vascularización, del AC o del oído medio (en caso de incorrecto sellado de la VR), si bien son difíciles de cuantificar, deben ser analizadas en detalle a la hora de valorar la repercusión farmacocinética de una determinada sustancia [66].

Dada la mayor facilidad para liberar fármaco a nivel del oído medio en relación con el oído interno, diversos estudios se llevaron a cabo tratando de investigar alguna sustancia que favoreciera la retención de los fármacos administrados a nivel del oído medio, con el fin de facilitar una menor eliminación, gracias a un mayor tiempo de permanencia de la sustancia en cuestión. Péptidos de penetración celular, menores de 30 aminoácidos, ácido hialurónico o microesferas de ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA), son algunos de los medios empleados que, sin causar daños a nivel auditivo, favorecen la más lenta eliminación (alcanzando hasta 30 días de permanencia) de las sustancias a nivel del oído medio y, por tanto, su mayor distribución hacia el oído interno [112, 113, 114, 115]. Estos hallazgos, entre otros, han sido recogidos en revisiones bibliográficas recientes [62]. Sin

embargo, el empleo de otras sustancias, como hidrogeles termosensitivos que gracias a su alta viscosidad disminuyen la eliminación a través de la trompa de Eustaquio, se ha visto que puede conllevar alteraciones de la capacidad auditiva en el Gp [116]. Se analizó igualmente la repercusión de la introducción de estas nanopartículas, aplicadas generalmente a nivel del oído medio, en el oído interno a través de un campo electromagnético externo, con resultados satisfactorios en animales en la repercusión de la ototoxicidad generada por cisplatino [117]. Incluso, y tal y como se describe previamente, se estudió la posibilidad de depositar a nivel del oído medio dispositivos reabsorbibles que liberasen de forma activa y progresiva una determinada sustancia, con el fin de conseguir una eliminación más lenta de la misma [118].

Por otro lado, el análisis de la farmacocinética coclear requiere de la toma de muestras de los líquidos cocleares para la cuantificación de la sustancia a estudio en las distintas regiones del oído interno. Este procedimiento se puede considerar parte de la eliminación de la sustancia, pues condiciona una pérdida de la misma procedente de los líquidos del oído interno.

#### **1.2.1.2. Análisis de resultados. Técnicas de toma de muestras**

En los últimos años, diversos autores analizaron las posibles localizaciones donde podría llevarse a cabo esta recogida de muestras, buscando alterar lo mínimo posible las estructuras del oído interno, de forma que los resultados farmacológicos obtenidos fueran lo más exactos posibles, en relación a las condiciones fisiológicas de una cóclea inalterada. Así, la Tabla 1.4 recoge las principales posibilidades hasta el momento estudiadas, a la hora de llevar a cabo la toma de muestras de perilinfa, cuando la administración se realiza a través de la VR o de la espira basal de la cóclea.

#### **1.2.2. Experiencia en la liberación de fármacos para el tratamiento de diferentes entidades clínicas en humanos**

Si bien muy pocos fármacos han sido empleados en el ser humano a nivel local para el tratamiento de patologías auditivas, Borenstein recoge las principales patologías para las que podría ser más beneficioso el tratamiento local, a nivel del oído interno, basándose, entre otras cosas, en la incidencia y prevalencia en la población general, así como el espectro de tratamiento existente hasta la fecha [82]. Así, los criterios de elección de dichas patologías quedan resumidos a continuación:

- A. Patologías que afectan a un número considerable de la población general, como son la pérdida de audición neurosensorial, incluyendo aquellas inducidas por el ruido y por la edad, especialmente las de mayor repercusión en la edad pediátrica, como la pérdida de audición inducida por ototoxicidad farmacológica (protección frente al tratamiento con cisplatino), así como la enfermedad de Meniere, los acúfenos o la ototoxicidad asociada a radioterapia (especialmente en cánceres de cabeza y cuello).
- B. Patologías que requieren tratamiento inmediato y a altas dosis, como es el caso de la sordera súbita, y/o continuado, como los trastornos autoinmunitarios del oído

Tabla 1.4: Principales hallazgos en la toma de muestras de perilinfa, en función de su localización a nivel del oído interno.

Lugar de toma	Ventajas	Inconvenientes	Literatura previa
<b>Espira basal</b>	Fácil acceso.	Contaminación por LCR [62].	
<b>CSH</b> [119]	Fácil acceso.  Menor contaminación por LCR.	Dificultad para establecer la procedencia exacta de las muestras obtenidas.	Se demostró distribución de la sustancia a nivel del vestíbulo, EV, ET, y LCR.
<b>Ápex coclear</b> [102][120][121]	Menor contaminación por LCR.	Se demostró la existencia de un flujo en dirección apical, favorecido por la entrada de LCR a través del AC.  La sucesiva toma de muestras, representa una determinada región dentro de la ET, desde más apical a más basal.	

CSH: canal semicircular horizontal; LCR: líquido cefaloraquídeo; AC: acueducto coclear; EV: escala vestibular; ET: escala timpánica.

interno, dadas las fluctuaciones que esta entidad puede presentar.

- C. Como alternativa a un tratamiento quirúrgico que suponga grandes secuelas a nivel de este órgano sensorial: neurinoma del VIII par craneal.

Sin embargo, a día de hoy estos tratamientos aún son limitados, siendo los más empleados en el momento actual los aminoglucósidos y los glucocorticoides, y teniendo la mayor experiencia en las patologías que a continuación se recogen brevemente.

### 1.2.2.1. Enfermedad de Meniere

La enfermedad de Meniere es una patología caracterizada por la combinación de episodios de vértigo giratorio recurrentes, de minutos-horas de duración, fluctuaciones auditivas, con progresiva hipoacusia neurosensorial y sensación de plenitud ótica, y acúfenos.

Esta patología, asociada a la existencia de un hidrops endolinfático, condicionado por alteraciones de la regulación de la endolinfa-perilinfia, e influenciado por factores internos y externos, como cambios hormonales o de presión barométrica o estrés, y cuya etiología y fisiopatología aún no es del todo conocida [122][123], condiciona en gran medida la calidad de vida de los pacientes. Por esta razón y dado su carácter progresivo, diversos tratamientos han sido estudiados y empleados a lo largo de la historia, con el objetivo de conseguir un adecuado control de la enfermedad, sin existir en el momento actual una terapia considerada curativa. Desde dietas bajas en sodio, cafeína, alcohol o teína, o fármacos como diuréticos, betahistina, benzodiazepinas o corticoides, hasta técnicas quirúrgicas como la descompresión del saco endolinfático, laberintectomías o sección del nervio vestibular, han sido empleados a lo largo de la historia [123][124]. En ocasiones, la enfermedad llega a ser incapacitante, especialmente debido a los episodios de vértigo intenso recurrente. En estos casos, la administración intratimpánica de aminoglucósidos, considerada como terapia ablativa dado su carácter ototóxico, consigue una abolición parcial o completa de la funcionalidad del laberinto ipsilateral, con sus consecuentes repercusiones en la estabilidad del paciente.

El éxito del tratamiento de la enfermedad de Meniere con antibióticos ototóxicos por vía intratimpánica fue por primera vez descrito en 1956 [125]. Sin embargo, es conocido que la toxicidad de estos tratamientos puede afectar gravemente a los niveles auditivos del paciente. Por esta razón, desde entonces numerosos estudios han ido dirigidos a la búsqueda de nuevos fármacos administrados a nivel local, con el fin de obtener beneficios en el tratamiento de esta patología, sin las repercusiones previamente descritas. Así, y dado el carácter inmunomediado de la enfermedad que algunos autores describen [124][126], los corticoides se han convertido actualmente en uno de los pilares del tratamiento. En 2017, Patel llevó a cabo una revisión bibliográfica en la que quedan patentes los beneficios del tratamiento de la enfermedad de Meniere con corticoide intratimpánico, con escasos efectos secundarios [127].

Sin embargo, y a pesar de la evolución favorable que el paciente presenta a la administración de corticoide por vía intratimpánica, el carácter recurrente y progresivo de la enfermedad de Meniere hace en muchas ocasiones necesario llevar a cabo varias instilaciones a lo largo de los años. Además, y a pesar de haber seguido distintos protocolos de administración de corticoide por vía intratimpánica en la enfermedad de Meniere, estudios recientes llegaron a la misma conclusión: a mayor concentración de corticoide que alcanza el oído interno, mayor control de la sintomatología vertiginosa [124]. Por esta razón, la posibilidad de administrar corticoide a través de una bomba incorporada a un dispositivo de liberación directa a nivel intracoclear permitiría, entre otros beneficios, administraciones repetidas con mayor control de la dosis y menores daños a las estructuras auditivas, como es el caso de la membrana timpánica, en función de las fluctuaciones presentadas por el paciente y la evolución de su enfermedad.

### 1.2.2.2. Sordera súbita

La sordera súbita es considerada como una de las patologías más frecuentes en el ámbito de las urgencias otorrinolaringológicas. Se caracteriza por una pérdida de audición rápida ( $> 30$  dB en tres frecuencias consecutivas), en un corto periodo de tiempo ( $< 72$  horas) [128]. Dado que en la mayoría de los casos (aproximadamente 70 %) esta patología es considerada idiopática, pudiendo identificarse la causa subyacente en únicamente un 10-12 % de los casos, y que aproximadamente entre un 32-65 % de los casos los pacientes se recuperan espontáneamente [129, 130, 131], se han estudiado y administrado diversos tratamientos a lo largo de la historia, sin resultados concluyentes. Sin embargo, los corticoides siguen siendo, a día de hoy, el tratamiento más utilizado [132]. La vía de administración más eficaz aún no está clara. Si bien en la mayoría de los casos los corticoides son administrados por vía oral, este tipo de liberación requiere altas dosis, con sus consecuentes posibles efectos secundarios, y no siempre se consigue la recuperación de los niveles de audición. Así, se valoró la posibilidad de administrar el tratamiento corticoideo por vía intratimpánica, en lugar de por vía oral o bien en combinación con ella, sin alcanzar diferencias significativas entre la mejoría con una u otra vía de administración [133, 134, 135]. Sin embargo, algunos autores han demostrado los mayores beneficios en la recuperación de la audición en las sorderas súbitas con la administración de corticoides por vía intratimpánica a altas dosis [132][136], llegando incluso a ser considerada esta vía de administración de corticoides como el tratamiento primario de elección en la sordera súbita [137][138]. Dados estos hallazgos, se estima que la administración directa a nivel intracoclear de corticoides supondría una mayor efectividad, pudiendo administrar mayores dosis, sin producir los efectos secundarios que la administración sistémica a altas dosis puede conllevar.

### 1.2.2.3. Trastornos inmunomediados del oído interno

Los trastornos inmunomediados del oído interno fueron descritos por primera vez en 1979 [139]. Se tratan de entidades poco frecuentes, en cuyo diagnóstico participa la sospecha clínica, junto con una adecuada respuesta a la terapia inmunosupresiva, siendo aún a día de hoy el corticoide a altas dosis la primera línea de tratamiento a emplear. La hipoacusia neurosensorial bilateral progresiva es el síntoma predominante, pudiendo igualmente acompañarse de sintomatología vestibular. El inicio precoz del tratamiento resulta fundamental para tratar de controlar la progresión de la enfermedad, con las consecuentes secuelas irreversibles que pudieran desencadenarse. En 2009, Buniel *et al.*, llevaron a cabo una revisión de la terapia inmunosupresiva en la enfermedad autoinmune del oído interno, analizando los resultados obtenidos con distintos fármacos administrados por vía sistémica e intratimpánica, la mayoría en animales de experimentación, concluyendo que la terapia corticoidea por vía sistémica sigue siendo la principal recomendación [140], a pesar de la limitación existente dada la necesidad de extrapolar la mayoría de los resultados obtenidos al ser humano.

Así, si bien el tratamiento por vía sistémica sería ventajoso en aquellas patologías inmunomediadas del oído interno que asocien enfermedad a nivel sistémico, la afectación

exclusiva del sistema auditivo y/o vestibular requeriría igualmente de altas dosis de fármaco, sin poderse alcanzar altas concentraciones a nivel del oído interno. La posibilidad de administrar el tratamiento directamente al oído interno permitiría no sólo disminuir los efectos secundarios sistémicos derivados de este tratamiento inmunosupresivo, sino también la posibilidad de administrar dosis más precisas, con mejores resultados posteriores, así como la posibilidad de llevar a cabo variaciones en las dosis administradas en función de las posibles fluctuaciones de la enfermedad con el paso de los años.

#### **1.2.2.4. Acúfenos**

Los acúfenos se describen habitualmente como aquella sensación de sonido, ya sea “zumbido” o “pitido”, que un determinado individuo percibe en ausencia de cualquier sonido externo, condicionando, en ocasiones, la calidad de vida del paciente. A día de hoy, su prevalencia ronda el 15 % de la población adulta [141]. Pueden clasificarse en subjetivos u objetivos, en función de si ese sonido es producido o no por alguna estructura anatómica. De esta forma, una vez descartado que se trate de un acúfeno objetivo, como pueden ser espasmos de la musculatura del oído medio, pues su tratamiento sería el propio de la etiología de base, se debe incidir sobre la mejoría de la calidad de vida del paciente. Si bien no todos los acúfenos presentan un origen auditivo, un gran número de ellos se considera asociado a pérdidas de audición, siendo algo más del 50 % descrito por el paciente como un ruido procedente del oído [142]. Por otro lado, y dado el componente de ansiedad o depresión que suele acompañar a los acúfenos, se recomienda un tratamiento multidisciplinar, incluyendo audífono, terapia de adaptación al acúfeno o de relajación, o tratamientos farmacológicos para favorecer el adecuado descanso nocturno. En 2017 Markar *et al.* llevaron a cabo una revisión bibliográfica con el fin de analizar las estrategias de tratamiento no farmacológico de los acúfenos [143]. Sin embargo, aquellos pacientes cuya calidad de vida se ve condicionada por esta patología (desarrollando ansiedad, depresión o incluso ideación suicida [141]) y/o no obtienen el suficiente beneficio con este tipo de terapias, buscan de la mano de distintos especialistas, ya sea el otorrinolaringólogo, el neurólogo o el psiquiatra, algún fármaco o tratamiento quirúrgico que pueda aliviarles. A pesar de la prevalencia de esta patología y de los esfuerzos llevados a cabo, a día de hoy aún no se conoce una terapia definitiva ni fármacos aprobados por la *Food and Drug Administration* (FDA) o por la *European Medicines Agency* (EMA) para su tratamiento [144][142]. Diversos fármacos han sido estudiados a lo largo de los años, desde moduladores de los canales de potasio o benzodiazepinas, hasta vasodilatadores o antipsicóticos y antidepresivos. Si bien algunos resultados han sido prometedores, el tamaño muestral sigue siendo limitado y su potencial beneficio aún no ha sido del todo demostrado [142].

Los primeros estudios del tratamiento intratimpánico de los acúfenos datan de los años 40, con el empleo de morfina. Posteriormente, a lo largo de los años, fueron desarrollándose distintos estudios con diversos fármacos administrados a este nivel, como es el caso de la lidocaína o la dexametasona [145]. Dado que en la actualidad se considera como una de las principales explicaciones fisiopatológicas del acúfeno la activación excesiva a nivel de las sinapsis de las células ciliadas internas de los receptores de glutamato,

subtipo de ácido N-metil-D-aspartico (NMDA), los últimos tratamientos intratimpánicos estudiados para pacientes con acúfenos van encaminados a actuar como antagonistas de estos receptores NMDA, pudiendo destacar entre ellos fármacos como AM-101 o como OTO-313. Los resultados prometedores presentados en ensayos clínicos controlados con placebo promueven la continuación de la investigación en este ámbito [146][147].

Así, y si bien aún se considera necesario llevar a cabo más estudios sobre el tratamiento de los acúfenos, se estima que aquellos acúfenos subjetivos, con posible origen a nivel auditivo, especialmente aquellos asociados a pérdida de audición, podrían beneficiarse de un tratamiento local, a nivel del oído interno, asociado a la colocación de un IC. De esta forma, se llevaría a cabo un abordaje combinado, consiguiendo una mejora en los niveles auditivos junto con la abolición del acúfeno, y evitando los posibles efectos secundarios que la administración sistémica conlleva, así como la necesidad de realizar instilaciones intratimpánicas repetidas que, en paciente portador de audífono, podrían aumentar la posibilidad de infecciones o complicaciones derivadas.

Por otro lado, recientes estudios han demostrado el posible componente hereditario relacionado con esta patología, si bien las conclusiones aún son limitadas y requieren de más profundización en su estudio [141]. El conocimiento de estas alteraciones genéticas, con la posibilidad de realizar estudios genéticos bien de los acúfenos como sintomatología aislada, bien de aquellos asociados a otras patologías como la migraña vestibular o la enfermedad de Meniere, permitirían alcanzar un más concreto diagnóstico de los mismos, así como desarrollar nuevos tratamientos con el objetivo de no solo paliarlos, sino de, en un futuro, poder alcanzar un tratamiento curativo.



**2**

## **Hipótesis y Objetivos**



## 2.1. Hipótesis

Los beneficios ofrecidos a nivel auditivo en el tratamiento de la hipoacusia neurosensorial severo-profunda con un dispositivo de IC, así como los nuevos avances tanto tecnológicos como farmacológicos de los que la sociedad dispone actualmente, dirige la medicina hacia el estudio de nuevas técnicas de tratamiento que permitan potenciar los resultados obtenidos en las terapias orientadas a la resolución de las distintas patologías auditivas.

El beneficio demostrado con la liberación de fármacos o el empleo de terapia génica a nivel auditivo en la preservación del buen estado coclear, así como en la preservación de las frecuencias auditivas graves tras la administración de dichas sustancias, supone un importante avance en el tratamiento de la pérdida de audición. Además, la administración local, directamente a través de una cánula incorporada al dispositivo de IC, supondría una liberación más estable y uniforme de fármaco, favoreciendo, por tanto, la acción farmacológica de la sustancia, así como la reducción de los posibles efectos secundarios desencadenados, en relación con la administración sistémica.

La existencia de un flujo coclear apical, dependiente de diversos factores, como la difusión pasiva o la influencia de la entrada del LCR a través del AC, ha sido demostrada previamente en roedores. La comparación de estos resultados, junto con los aquí estudiados, puede facilitar la interpretación de los mismos, así como la posibilidad de establecer unas características farmacocinéticas similares para las distintas especies dentro de los mamíferos.

Por otro lado, y basándonos en la experiencia clínica, estimamos posible llevar a cabo la toma de muestras en el ápex de la cóclea, con el objetivo de medir la concentración obtenida a este nivel, tras su administración a nivel basal. Esto corroboraría la existencia de un flujo apical, que permitiría el estudio de la distribución de una sustancia, junto con la perilinfa, a través de la cóclea.

Dada la similitud filogenética del Mf con el ser humano, se propone este espécimen como modelo animal experimental para llevar a cabo este estudio.

## 2.2. Enumeración de las hipótesis específicas

Así, las hipótesis específicas planteadas en este estudio se recogen a continuación:

1. El Mf es un modelo experimental animal adecuado para el estudio de la farmacocinética coclear, dada su proximidad filogenética con el ser humano.
2. El empleo de un dispositivo de IC asociado a una bomba de liberación, permitiría la administración constante de una sustancia, manteniendo concentraciones estables durante el periodo de administración.
3. La toma de muestras a nivel del ápex coclear permitiría demostrar la existencia de un flujo de sustancia a nivel intracoclear.
4. La administración de una sustancia a nivel de la base de la cóclea genera un flujo en dirección apical.

## **2.3. Objetivos**

### **2.3.1. Objetivo principal**

El objetivo fundamental de este proyecto es establecer la dinámica de fluidos existente a nivel coclear en el Mf, demostrando la existencia de un flujo en dirección apical, favorecido por distintos factores intracocleares e igualmente condicionado por los mismos.

Además, se evaluará el espécimen Mf y la anatomía del mismo en relación a la anatomía de la cóclea humana para así poder extrapolar, con el menor error posible, los resultados obtenidos de uno a otro.

### **2.3.2. Objetivos secundarios**

De esta forma, se definen los siguientes objetivos secundarios:

1. Establecer las bases principales de la farmacocinética coclear del Mf, así como los posibles factores anatómicos y fisiológicos que puedan influir no sólo en los resultados obtenidos tras la liberación de una determinada sustancia a nivel intracoclear, sino también en su adecuada interpretación.
2. Determinar la viabilidad del uso de un dispositivo de IC asociado a una cánula de liberación para la administración de sustancia a nivel de la espira basal de la cóclea.
3. Comparar las concentraciones de Isotiocinato de fluoresceína, asociado a dextrano (FITC-Dextran) obtenidas tras su administración a nivel basal durante distintos periodos de tiempo, por medio de la realización de una cocleostomía apical, con el fin de establecer la existencia de un flujo de sustancia intracoclear.
4. Conocer la distribución del FITC-Dextran a nivel intracoclear tras su administración en la espira basal de la cóclea.

**3**

**Materiales y métodos**



### 3.1. Diseño del estudio

De acuerdo con lo establecido en las guías de buenas prácticas y calidad científica, este proyecto ha recibido la aprobación del comité de ética correspondiente al ámbito de aplicación, el Comité de Ética para la Experimentación Animal (CEEA) de la Universidad de Navarra: protocolo número 083/2018. Se trata de un estudio prospectivo, longitudinal, experimental y comparativo entre un total de 15 especímenes que componen tres grupos, distribuidos en función del tiempo de administración intracoclear de sustancia.

La Figura 3.1 resume gráficamente el diseño de este estudio.

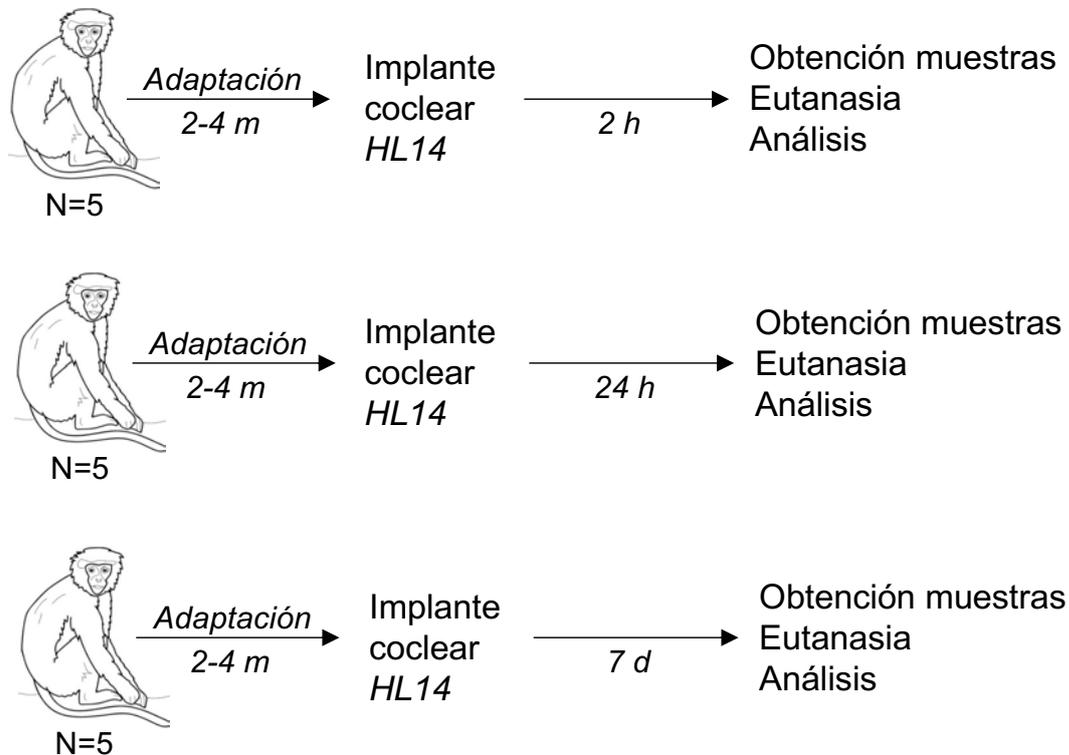


Figura 3.1: Diseño del estudio. Se realizó un estudio prospectivo, longitudinal, experimental y comparativo entre un total de 15 Mf. A su llegada al animalario, los animales fueron mantenidos en un periodo de cuarentena sanitaria, que además permitió su adaptación a su nuevo hábitat. Se crearon 3 grupos (5 Mf en cada uno), en función del tiempo de liberación programado: 2 horas, 24 horas y 7 días. En un primer tiempo quirúrgico, se realizó la implantación de un dispositivo preclínico, *CI Electrode Array HL14DD*, manufacturado por *Cochlear Ltd.*, asociado a una bomba de liberación cargada con FITC-Dextran. Una vez finalizado el periodo de liberación, en un segundo tiempo quirúrgico, se tomaron muestras de perilinfa (10 muestras, de 1  $\mu$ L cada una) del ápex coclear y se analizaron inmediatamente después por medio de un espectrofluorímetro. Tras la toma de muestras, se procedió a la eutanasia del animal.

En los 15 especímenes (Mf) se llevó a cabo un procedimiento quirúrgico, con el fin de colocar un IC dotado de una cánula y una bomba de perfusión, sobre uno de los oídos.

Este dispositivo fue cargado con FITC-Dextran (*Fluorescent dextran, FW -4000, Sigma-Aldrich, St. Louis USA*) a una concentración previamente establecida, y programado en función del tipo de liberación correspondiente a cada uno de los sujetos animales a estudio.

Los 15 especímenes fueron agrupados en tres grupos (Grupo 2 horas, Grupo 24 horas y Grupo 7 días), en función del tiempo de administración de fármaco a nivel intracoclear. De esta forma, los cinco primeros fueron intervenidos y sacrificados a las dos horas de comenzar la liberación del fármaco. A los cinco siguientes se les colocó el IC y el tiempo de liberación de fármaco se prolongó a 24 horas. Finalmente, los cinco restantes, fueron sacrificados a los 7 días de la colocación del IC y, por tanto, del inicio de la liberación del fármaco a nivel intracoclear.

Tras la cirugía de colocación del IC, se realizó un estudio radiológico mediante radiografía simple (Rx), con el fin de asegurar el correcto posicionamiento del dispositivo, así como la ausencia de otras posibles alteraciones que pudieran condicionar, *a posteriori*, los resultados obtenidos.

Previo al sacrificio, se intervinieron nuevamente los 15 especímenes, con el fin de exponer el ápex coclear y realizar la toma de muestras de perilinfa a dicho nivel. El análisis de las muestras obtenidas se realizó en el Centro de Investigación de Medicina Aplicada (CIMA) de la Universidad de Navarra, inmediatamente después de su obtención.

Tras el sacrificio del animal, el hueso temporal implantado de cada uno de ellos fue extraído para su posterior análisis histológico. Con los resultados aquí obtenidos, se realizó igualmente un análisis comparativo para descartar posibles alteraciones que condicionasen las diferencias de resultados obtenidos entre los distintos sujetos a estudio.

La interpretación final de los resultados se realizó gracias a la comparación de los tres grupos a estudio, así como a experiencias previas en otros animales de experimentación.

## **3.2. Descripción del animal de experimentación**

### **3.2.1. Generalidades**

El Mf es una especie animal perteneciente a la familia *Cercopithecidae* (del suborden *Anthropoidea*) [148]. La anatomía coclear del *Macaca*, así como su relación anatómico-fisiológica con el ser humano, ha sido ampliamente estudiada a lo largo de los años [12][50]. Si bien un mayor número de estudios han sido llevados a cabo en *Macaca rhesus*, este espécimen pertenece igualmente a la familia *Cercopithecidae*, por lo que existe una cierta similitud entre éste y el Mf que permite la extrapolación de los resultados de uno a otro [148][149]. Además, y dada su similitud y proximidad filogenética con el ser humano, perteneciente al mismo orden y suborden que éste y presentando frente a otros especímenes animales, por tanto, una mayor proximidad filogenética con los humanos [52], constituye un adecuado espécimen para el estudio comparativo y su posible extrapolación posterior a la práctica clínica, razón por la cual fue esta subespecie elegida para llevar a cabo este estudio.

### 3.2.2. Especímenes participantes en este estudio

Este trabajo se realizó en concordancia con un protocolo aprobado por el CEEA de la Universidad de Navarra (expediente número 083/18). De acuerdo con el Reglamento de la Unión Europea (Normativa 86/609), los animales fueron importados, cuidados y mantenidos en el animalario de la Universidad de Navarra, bajo la supervisión de veterinarios, especialistas en la materia, con experiencia en la anestesia y cuidados pre- y post-quirúrgicos de esta especie animal.

Este estudio experimental se llevó a cabo en un total de 15 animales de la especie de primates Mf, con las características que a continuación se recogen: 9 machos y de 6 hembras, de entre tres y cuatro años de edad, criados en cautiverio en granjas homologadas del sudeste asiático, con un peso de entre 1.850 y 3.550 kg. Tras su importación desde Asia a través de proveedores británicos, fueron mantenidos en un periodo de cuarentena sanitaria, que además permitió su adaptación a su nuevo hábitat. Al llegar a las instalaciones del Servicio de Experimentación Animal de la Universidad de Navarra (animalario de Investigación de la Universidad de Navarra), fueron sometidos a controles sanitarios adicionales. Durante el periodo de estudio fueron alojados en jaulas individuales de acero inoxidable de 120 x 75 x 100 cm. Se alimentaron con pienso específico para primates (*BK Universal*) y tuvieron acceso a agua, fruta fresca y frutos secos a voluntad. En todo momento permanecieron en condiciones controladas de iluminación (luz artificial desde las 8:00 horas hasta las 20:00 horas), temperatura ( $22 \pm 1$  °C) y humedad ambiental ( $55 \pm 10$  %). En las manipulaciones de los animales de experimentación, el personal investigador actuó de acuerdo con las medidas de aislamiento respiratorio y de contacto recomendadas: mascarilla, guantes, bata y calzas.

Para su adecuada clasificación, cada uno de los especímenes fue denominado, siguiendo una determinada nomenclatura. De esta forma, en primer lugar, se menciona el número de espécimen correspondiente, seguido del grupo de liberación de fármaco al que pertenece. Así, el primer *Macaca* del Grupo 2 horas, se corresponde con Mf1-2h, el segundo con Mf2-2h... y así sucesivamente, hasta completar el total de sujetos animales a estudio. Lo mismo sucedería con aquellos especímenes pertenecientes a los grupos de 24 horas y de 7 días (Mf1-24h, Mf2-24h... o Mf1-7d, Mf2-7d...).

### 3.3. Dispositivo implantable y sustancia liberada a nivel intracoclear

Los numerosos trabajos en experimentación animal realizados hasta la fecha han permitido llevar a cabo grandes avances en los dispositivos de liberación local de sustancias a nivel del oído. En 2011, el equipo de Shepherd llevó a cabo una investigación preclínica en un modelo experimental animal (gatos), centrada en la comparación entre un nuevo dispositivo de IC, *CI Electrode Array HL14*, de características similares a los empleados en la práctica clínica en humanos, comparándolo con otros ya comercializados [150]. Por otro lado, Salt *et al.* [84] llevaron a cabo un estudio en el que analizaron la farmacocinética

coclear en el Gp, a través de la liberación de FITC-Dextran por medio de un dispositivo de IC asociado a una cánula y a una bomba de liberación, similar al aquí empleado, pero compuesto únicamente por un total de 8 electrodos. Los buenos resultados obtenidos en estos dos estudios, es decir, tanto con el empleo de este nuevo dispositivo *CI Electrode Array HL14*, especialmente en relación al mínimo traumatismo generado durante su inserción más allá de la espira basal de la cóclea [150], así como el éxito en la liberación de sustancias a través de una cánula asociada al IC [84], nos ha llevado a considerar como el dispositivo más adecuado a emplear en este estudio aquel constituido a partir del conjunto de las características de ambos dispositivos, previamente expuestos.

De esta forma, y siendo manufacturado por la compañía *Cochlear Ltd.* con fines de investigación, el dispositivo empleado en este estudio estaba compuesto de un total de 14 electrodos, con una longitud total de 11.5 mm, desde la región más basal de la guía de electrodos hasta su porción más distal, trazado sobre la longitud coclear total de uno de los animales investigados en este estudio, según la distribución tonotópica del animal establecida por Moody [151]. Este dispositivo, de corte seccional elíptico, presentaba una disminución progresiva de su calibre a lo largo de sus 11.5 mm de longitud en el segmento intracoclear: la porción más proximal mostraba unos diámetros de 0.5 y 0.35 mm, mientras que la porción más distal presentaba unos diámetros de 0.35 y 0.25 mm. Por su parte, la cánula de liberación utilizada, también de corte seccional elíptico, presentaba unos diámetros de 0.35 y 0.25 mm, y se encontraba en el interior de la guía de electrodos previamente descrita. Cabe remarcar que la punta de la cánula, donde se produciría la liberación del FITC-Dextran, se encuentra a 4 mm de la VR.

Este dispositivo cuenta además de una bomba de liberación, asociada a la cánula. Dicha micro-bomba de infusión (*iPRECIO SMP-200 @, Tokyo, Japan*) fue, previo a la cirugía, cargada con una solución de 10 mM FITC-Dextran (*FW-4000, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA*), preparada bajo condiciones estériles en *MEM* sin rojo fenol (*Minimal Essential Medium, ref. 51200-038, Invitrogen, Paisley, UK*).

La elección de FITC-Dextran, como sustancia a liberar en este trabajo, viene condicionada por los estudios llevados a cabo por el grupo de trabajo de Salt [80]. La comparación de los resultados obtenidos tras la liberación a nivel intracoclear de FITC-Dextran con otras sustancias empleadas en estudios de experimentación animal previos, como es el TPA o la fluoresceína sin combinar con dextrano, concluyeron que el FITC-Dextran es eliminado más lentamente de la perilinfa, lo que facilita la interpretación de los resultados obtenidos [103]. Además, se demostró igualmente que esta sustancia no sólo no produce daños a nivel de las estructuras del oído interno, sino que la fluoresceína podría proporcionar incluso beneficios en la función coclear [80].

Por tanto, una vez preparada y siguiendo las indicaciones previamente expuestas, su incorporación a la bomba de liberación se realizó empleando una jeringuilla de 1 mL, con una cánula de aguja 27 G. Dicha bomba fue rellenada con un volumen total aproximado de 1175  $\mu$ L de FITC-Dextran. La cánula de silicona por la que discurre el FITC-Dextran fue recortada, previa incorporación del acoplador de acero inoxidable (*SS Coupler*), hasta obtener una longitud de 2.5 cm. Este tamaño evitó la formación de posibles bucles que pudieran condicionar la liberación de la sustancia a lo largo del estudio. En todos los

casos se llevó a cabo una comprobación detallada del adecuado relleno de dicha bomba, así como de la ausencia de burbujas de aire en todo el conjunto del recorrido por el que discurre el FITC-Dextran en el dispositivo a implantar. Igualmente se corroboró, previa implantación y activación de la bomba, la adecuada colocación del acoplador de acero inoxidable empleado como nexo de unión entre la cánula y la guía de electrodos del IC. Por último, la programación de la liberación de esta sustancia a nivel coclear se realizó, previo a la implantación del dispositivo, siguiendo un flujo y unos parámetros establecidos a través de un sistema informático (*iPRECIO software*), a un flujo constante de  $2 \mu\text{L/h}$ .

La Figura 3.2 muestra a continuación información detallada de las distintas estructuras que componen el dispositivo de IC empleado en este estudio.

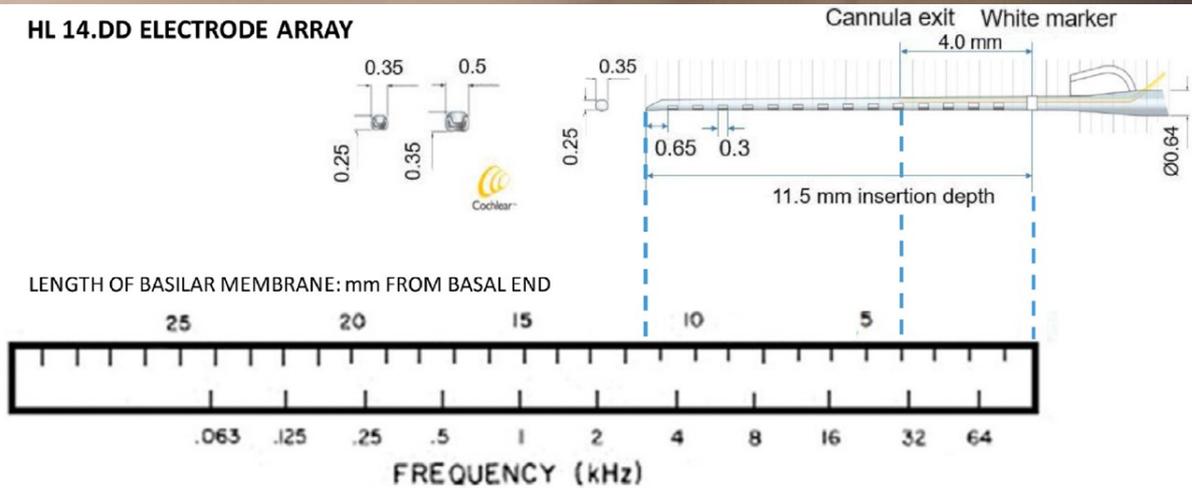
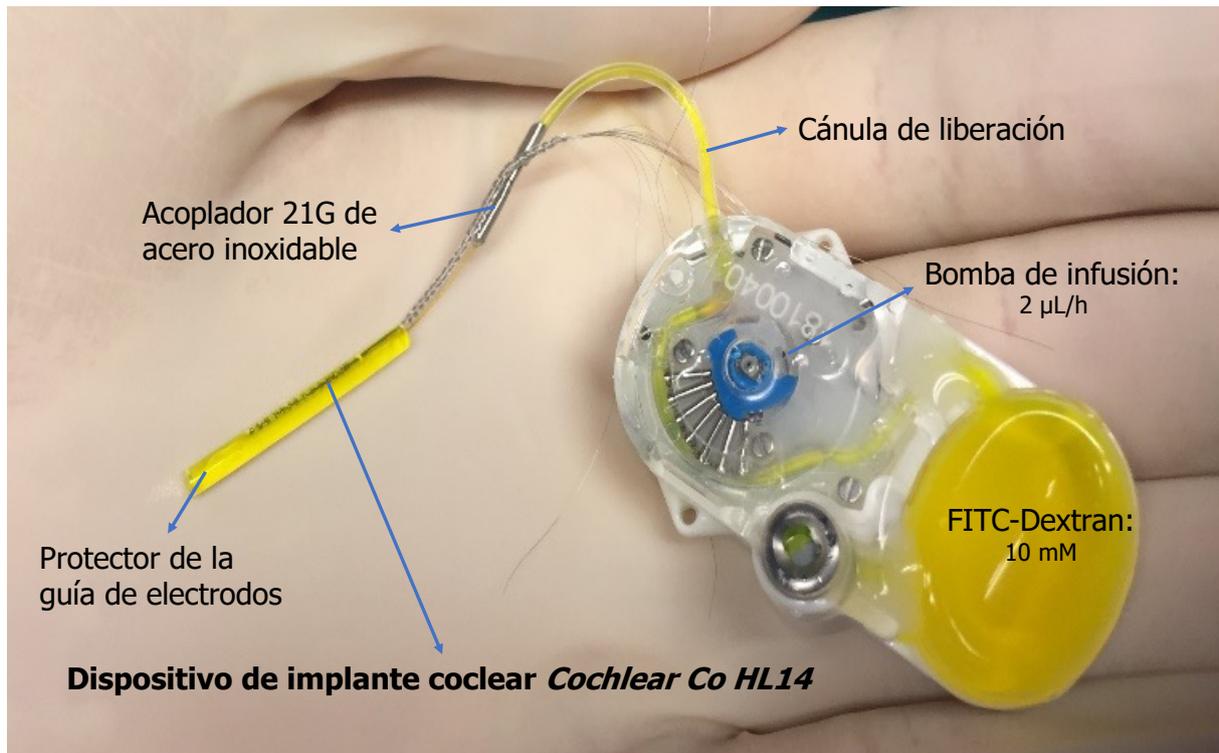


Figura 3.2: Sistema de dispositivo implantable y bomba de liberación. El dispositivo utilizado en este estudio consiste en una guía de electrodos de IC HL14 (Cochlear Ltd.), compuesta por 14 electrodos, con una longitud total de 11.5 mm y un diámetro máximo de 0.5 mm. Incluye una bomba, donde se introducirá el FITC-Dextran. Un tubo de silicona conecta esta bomba con un acoplador de acero inoxidable que se une a la salida de la cánula de la guía de electrodos. La cánula incorporada sale a 4 mm del marcador blanco, localizado a nivel basal. La profundidad alcanzada en caso de inserción completa corresponde a 11 mm, trazada sobre la longitud coclear total con la distribución tonotópica del animal según Moody [151]. Imagen HL14 DD. *Electrode array*, cortesía de la compañía Cochlear Ltd.

### 3.4. Procedimiento anestésico

Siguiendo el protocolo de actuación diseñado expresamente para la realización de experimentos previos en esta especie animal [152], todos los animales fueron anestesiados, bajo continua analgesia y monitorización. Durante las 12 horas previas a la realización del procedimiento quirúrgico, el espécimen intervenido se mantuvo en ayunas tanto de alimentos líquidos, como de sólidos. Para su traslado al quirófano experimental, los primates fueron sometidos a inmovilización mecánica dentro de las jaulas del animalario donde se alojaban, administrándoles posteriormente una inyección intramuscular que contenía la medicación preanestésica necesaria para conseguir una sedación profunda del animal: 5 mg/kg de clorhidrato de ketamina, 0.5 mg/kg de midazolam y 0.1 mg/kg de sulfato de atropina. Esta técnica permitió un adecuado y seguro manejo de los sujetos animales a estudio, requiriendo únicamente un periodo de aproximadamente  $4 \pm 1.7$  minutos, para alcanzar la sedación completa. Una vez realizado esto y bajo supervisión con mantenimiento óptimo de su respiración espontánea y frecuencia cardiaca, fueron transportados desde el animalario al quirófano experimental, donde tendría lugar la intervención.

Durante todo el procedimiento se mantuvo una perfusión de suero glucosalino, a razón de 10 mL/kg/h, a través de un acceso venoso, previo rasurado de la extremidad inferior del animal, a nivel de la vena safena, por medio de un *Abbocath®* (*Abbot Laboratories, Sligo, Irlanda*) del nº 22. Con el fin de mantener una monitorización electrocardiográfica continua, el tórax fue igualmente rasurado y los electrodos colocados sobre el mismo. En todos los especímenes se empleó para este registro el monitor *Siemens Sirecust 916D* (*Siemens Gmb, Heildelberg, Alemania*).

En la mesa quirúrgica, el animal fue posicionado en decúbito supino. Con el fin de mantener una temperatura constante de 35-37 °C, se dispuso en la superficie de la mesa quirúrgica una manta eléctrica, cubierta por un colchón aislante, programada para mantener dicha temperatura. La broncoaspiración salival fue evitada por medio del empleo de una sonda de aspiración, introducida por vía transnasal, para retirada del contenido gástrico. La intubación endotraqueal se realizó, previa administración de 1.5 mg/kg de propofol intravenoso, a través de la cavidad oral y bajo visión laringoscópica (*laringoscopia McIntosh con pala recta nº 1*) empleando un tubo pediátrico, sin balón, del nº 3. El tubo endotraqueal se introdujo alrededor de 2 cm en la luz traqueal con la ayuda de una pinza de *Magyll*. La boca del animal fue externamente cerrada con esparadrapo y a nivel de las cavidades oral y faríngea se colocó gasa, con el fin de evitar las posibles fugas. Una bolsa de ventilación manual fue empleada en el período previo a la conexión del tubo endotraqueal al respirador para mantener una adecuada asistencia del animal en respiración espontánea. El respirador empleado, aparato *Servo D.Siemens* (*Siemens Gmb, Heildelberg, Alemania*), fue ajustado para suprimir de manera refleja la respiración espontánea, proporcionando 20 ventilaciones/minuto, con un flujo de 1.2 L/minuto y un volumen espiratorio de 65 mL. Ningún animal presentó dificultades de adaptación al respirador. Hasta este punto, desde la administración de la primera dosis intramuscular en la jaula del animal, el tiempo máximo requerido no superó aproximadamente los 15 minutos.

Posteriormente y previo a la realización de la incisión retroauricular, se les administró una dosis única intravenosa de 10  $\mu\text{g}$  de fentanilo y se expuso el oído a intervenir, posicionando la cabeza del animal girada 90° lateralmente.

Durante todo el procedimiento quirúrgico, la anestesia se mantuvo mediante la administración de una mezcla de gases de oxígeno al 65% y de isofluorano al 2%, con una relación inspiración/espирación de 1/2. El animal se mantuvo de manera continua con oxígeno al 65%, isofluorano (2 a 3%) y una perfusión de fentanilo (4 a 6  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ). Asimismo, a todos los especímenes se les administró por vía endovenosa 125 mg de ampicilina y 20 mg de metilprednisolona durante la cirugía. Ni la profilaxis antibiótica ni los corticoides fueron administrados sistemáticamente durante el postoperatorio ni el período de seguimiento.

### **3.5. Procedimiento quirúrgico**

Dada la importancia que tiene el procedimiento quirúrgico para poder alcanzar los objetivos planteados y poder, en un futuro, extrapolar los resultados obtenidos a la práctica clínica, la técnica quirúrgica empleada es análoga a aquella utilizada en seres humanos y cuenta con una amplia experiencia en trabajos previos [153][154]. Todos los pasos quirúrgicos se llevaron a cabo siguiendo el protocolo establecido en Gp por el grupo de trabajo de Salt [84], teniendo siempre en cuenta las diferencias anatómicas existentes entre esta especie animal y el Mf.

El procedimiento quirúrgico se llevó a cabo en dos tiempos, en cada uno de los quince especímenes a estudio (Mf1-Mf15). El primero de estos tiempos, el procedimiento quirúrgico de implantación, tuvo por objetivo la colocación del IC asociado a la bomba de liberación de FITC-Dextran. Por su parte, el segundo de los tiempos, el procedimiento quirúrgico de toma de muestras, se realizó con el fin de obtener, para su posterior análisis, las muestras de FITC-Dextran con perilinfa, procedentes de la ET, a través de la realización de una cocleostomía a nivel apical, siguiendo en todo momento el procedimiento descrito por el grupo de trabajo de Salt [121].

Todos los pasos que compusieron el procedimiento quirúrgico fueron grabados en vídeo para la verificación posterior de la técnica empleada y de los posibles fallos en la misma que pudieran condicionar los resultados obtenidos.

#### **3.5.1. Procedimiento quirúrgico de implantación**

El análisis anatómico y las similitudes presentadas entre las estructuras que componen el oído y la región mastoidea del espécimen animal aquí estudiado (Mf) y el ser humano, permitieron llevar a cabo el procedimiento de inserción del dispositivo, siguiendo la técnica empleada habitualmente en el ser humano para la colocación de un IC [52]. Sin embargo, como principales diferencias en la técnica quirúrgica con respecto a la colocación de un IC convencional en el humano, cabe destacar:

- El menor tamaño de la mastoides en el Mf [50].

- La orientación en el plano axial de la escala basal de la cóclea del espécimen animal, con respecto a la línea media en el plano sagital [155].
- La necesidad de completar el procedimiento quirúrgico con el objetivo de facilitar la posterior toma de muestras a nivel apical.

Los pasos de los que se compuso el procedimiento quirúrgico, previamente establecidos y planificados para cada uno de los 15 especímenes participantes en el estudio, se detallan a continuación:

A. Abordaje quirúrgico:

El abordaje se realizó a través de una incisión retroauricular, aproximadamente a unos 2 cm del *sulcus* retroauricular, sin requerir una amplia extensión a nivel superior. El plano muscular fue expuesto, permitiendo la clara identificación de la línea temporal, que divide el músculo temporal, superiormente, y la musculatura cervical, inferiormente. Las referencias anatómicas más relevantes en este primer paso quirúrgico se recogen a continuación y son las mismas que se observan en el humano, con mínimas diferencias que no suponen grandes repercusiones en la realización de la técnica quirúrgica:

- A nivel superior: la línea temporal, correspondiente con la prolongación de la apófisis cigomática.
- A nivel inferior: la punta mastoidea, cuyo aspecto es más achatado que en el ser humano, y la porción más superior de la glándula parótida, que requiere ser seccionada para alcanzar un correcto abordaje quirúrgico de la zona.
- A nivel anterior: el conducto auditivo externo (CAE).
- A nivel posterior: el seno lateral. Sobre esta estructura anatómica cabe remarcar que carece de una referencia externa que permita su identificación a este nivel.

Una vez identificadas estas estructuras y por medio del desarrollo de un colgajo musculocutáneo de forma triangular, con base a nivel más anterior de la incisión, se expuso la cortical mastoidea localizada en la región posterior del CAE. Igualmente se expuso parte del hueso occipital, ampliando la disección hacia regiones posteriores e inferiores de la incisión, bajo los planos musculares, con el fin de crear un receso que donde tarde fue alojado el dispositivo implantado. De esta forma, el IC quedó protegido por la musculatura cervical que lo recubre.

B. Mastoidectomía y timpanotomía posterior:

Tras la adecuada identificación del CAE, se realizó una mastoidectomía cortical simple bajo visión microscópica. Las primeras maniobras de fresado se realizaron por debajo de la línea temporal, preservando en todo momento el *tegmen timpani*, el seno sigmoide e, inicialmente, la pared posterior del CAE, y exponiendo progresivamente las celdas mastoideas hasta alcanzar el antro mastoideo. La entrada en esta última estructura anatómica nos permitió identificar la rama larga del yunque, así como el CSH, en la pared interna del antro mastoideo. Cabe remarcar que, en esta

especie animal aquí estudiada, la capa ósea que recubre el CSH presenta un menor espesor, así como una orientación más vertical, con respecto al ser humano. Con el fin de conseguir una adecuada fijación de los cables que componen el dispositivo a implantar, se creó un túnel óseo a nivel del ángulo de Citelli, por lo que es muy importante la preservación de esta región anatómica.

Una vez identificada la rama larga del yunque, se comenzó a realizar la timpanotomía posterior, en la región comprendida entre el nervio cuerda del tímpano y el acueducto de Falopio, respetando en todo momento el nervio facial. Si bien, la trayectoria del acueducto de Falopio en su segunda y tercera porción sigue una trayectoria similar a la del ser humano, lo que facilita su identificación y preservación, se debe prestar especial atención a esta tercera porción, dónde se dispone en una posición algo más inferomedial, con respecto al CSH. La timpanotomía posterior se consideró correctamente realizada una vez pudieron ser adecuadamente identificados a través de la misma la VR y el promontorio.

Una vez finalizada la timpanotomía posterior, se desarticularon el estribo y el yunque, retirándose este último huesecillo junto con el *buttress*. El martillo y la membrana timpánica también fueron retirados. En este momento, las paredes posterior y superior del CAE fueron igualmente fresadas, con el fin de facilitar el acceso al ápex y la consecuente toma de muestras de perilinfa, en la segunda etapa del procedimiento quirúrgico de este estudio. La exposición de la piel del CAE no supone complicaciones reseñables.

En este primer paso quirúrgico se procedió igualmente a la exposición del ápex coclear, lugar donde se realizó posteriormente la cocleostomía, con el fin de facilitar la toma de muestras en un segundo tiempo. De esta forma, el sitio donde tendría lugar la realización de la cocleostomía apical fue localizado entre el nervio de Jacobson, el músculo del martillo y la arteria carótida interna.

#### C. Cocleostomía a través de la VR e implantación del dispositivo:

Tras la adecuada identificación de la VR y de la membrana que la recubre, se llevó a cabo un fresado del borde superior del nicho de la ventana redonda, empleando una fresa de diamante de 0.7 mm de diámetro. El objetivo fue el de conseguir una visión completa de la membrana y una adecuada trayectoria de inserción, para evitar daños sobre la misma. El polvo de hueso generado tras este procedimiento fue retirado para impedir su posible entrada en la ET tras la apertura de la membrana de la VR. Es igualmente importante remarcar la importancia de la adecuada identificación y preservación del estribo, pues cualquier alteración en el mismo alteraría de manera relevante la farmacocinética coclear, condicionando por tanto los resultados obtenidos.

Previo a la apertura de la cóclea a nivel basal y a la colocación del dispositivo, se verificó en los 15 especímenes implantados el correcto funcionamiento de la bomba de liberación de FITC-Dextran, previamente programada. Se comprobó entonces la correcta permeabilidad del receso generado durante el abordaje quirúrgico inicial, a nivel occipital, introduciendo en dicha región la bomba del dispositivo.

Posteriormente, se realizó la incisión en la membrana de la VR por medio del bisel de una aguja de tamaño 27 G (0.40 x 0.35 mm) (*Ref DN2735B, Terumo Corporation, Tokyo-Japan*). Esta técnica permitió ajustar lo máximo posible el tamaño de esta incisión a la guía de electrodos del IC, favoreciendo la prevención de fístulas perilinfáticas. En todos los especímenes se llevó a cabo una inserción completa y cuidadosa de la guía de electrodos *HL14*, lo que se correspondería con una longitud de inserción de 11 mm. Una vez realizada la inserción, y con el fin de evitar las posibles fístulas de líquido perilinfático a nivel de la zona de inserción, se procedió a realizar un sellado de la VR. Para ello, se empleó fascia del músculo temporal (F) del músculo temporal del propio Mf, obtenida durante el abordaje quirúrgico; y/o cianoacrilato (*Permabond 101 ULTRA LOW viscosit, Winchester, Reino Unido*).

La inserción se realizó siguiendo los principios de cirugía mínimamente traumática en los 15 Mf implantados, verificando la ausencia de daños a nivel de las estructuras cocleares por medio del análisis histológico posterior y siguiendo los parámetros establecidos en la clasificación de Eshraghi [91].

Finalmente, y para asegurar la fijación de las estructuras que componen el dispositivo, se realizó un túnel óseo en la porción posteroinferior de la mastoidectomía. A través de él se dispuso una sutura no reabsorbible, que quedaría fijada al acoplador de acero inoxidable del dispositivo, evitando así cualquier interferencia o repliegue de los cables o la cánula y manteniendo la adecuada posición de los mismos sobre la región mastoidea. Esta fijación sólo se llevó a cabo en los grupos de 24 horas y 7 días. No se realizó en el Grupo 2 horas dado que los especímenes pertenecientes a este grupo permanecieron anestesiados hasta su sacrificio.

#### D. Cierre del lecho quirúrgico:

En el Grupo 24 horas y Grupo 7 días, los planos musculares fueron suturados, manteniendo el dispositivo implantado completamente inmóvil y protegido bajo los mismos. Se realizó una sutura firme del colgajo cutáneo, con el fin de evitar las posibles lesiones generadas por el espécimen animal durante el tiempo de liberación del fármaco.

En el Grupo 2 horas, no se requirió la realización del cierre del lecho quirúrgico, sino que se mantuvo al animal anestesiado, con el campo quirúrgico cubierto con un paño, asegurando siempre el mantenimiento de la esterilidad durante todo el proceso.

#### E. Verificación radiológica:

Por último, y previa desintubación del animal, se realizó una radiografía craneal, con el fin de asegurar la correcta profundidad de inserción de la guía de electrodos.

### 3.5.2. Procedimiento quirúrgico de toma de muestras

De igual manera que el procedimiento quirúrgico de implantación, la correcta realización de la toma de muestras a nivel apical requiere el cumplimiento riguroso de unos

determinados pasos, siguiendo las pautas establecidas por el grupo de trabajo de Salt [121]. En este punto es importante recordar que este segundo tiempo quirúrgico tuvo lugar en distintos momentos con respecto al procedimiento de colocación del IC, en función del grupo al que perteneciera el espécimen a estudio: Grupo 2 horas, Grupo 24 horas y Grupo 7 días.

A. Exposición del material implantado:

En los especímenes pertenecientes al Grupo 24 horas y Grupo 7 días, previo a la reapertura de la incisión quirúrgica, se palpó la región occipital, verificando la adecuada localización del dispositivo. Tras la retirada de los puntos de sutura a nivel de la cicatriz retroauricular previa, se accedió a la región muscular a través del plano subcutáneo y se comprobó que todos los componentes del IC persistieran correctamente protegidos bajo las capas musculares. Posteriormente se accedió a través de la musculatura a la región mastoidea, verificando en un primer momento la adecuada localización y conexión de todas las estructuras que componen el dispositivo implantado en el primer tiempo quirúrgico, así como la ausencia de pliegues de la cánula de liberación, que pudieran haber condicionado la administración intracoclear de fármaco, y la ausencia de migración de la guía de electrodos hacia el exterior de la cóclea. Se retiró el tejido fibroso formado sobre la zona, excepto aquella región correspondiente a la zona de la VR, evitando cualquier desplazamiento accidental del dispositivo. Durante esta primera visualización, se comprobó la presencia/ausencia de fugas de FITC-Dextran sobre la región mastoidea y/o la caja timpánica.

B. Realización de la cocleostomía a nivel apical:

El proceso de exposición de la región apical, previamente iniciado en el primer tiempo quirúrgico, se completó estimando intraquirúrgicamente la localización de la porción más apical de la ET, a nivel del helicotrema, correspondiente al área interés para la realización de la cocleostomía. En la zona delimitada por estas estructuras, se retiró el mucoperiostio, dejando expuesta la estructura ósea. Con una fresa de 1.5 mm, a una velocidad por debajo de 4000 revoluciones por minuto (rpm), y sin interrumpir el funcionamiento de la bomba de liberación, se comenzó a realizar la cocleostomía hasta alcanzar la última capa endostial, sin llegar a realizar la apertura de la ET a este nivel, lo que puede ser verificado gracias a la ausencia de salida de FITC-Dextran en la zona. El proceso de exposición de la región apical, previamente iniciado en el primer tiempo quirúrgico, se completó estimando intraquirúrgicamente la localización de la porción más apical de la ET, a nivel del helicotrema, correspondiente al área interés para la realización de la cocleostomía.

Con el fin de evitar la contaminación y el exceso de humedad de la zona, y previo a la apertura apical de la ET, se revisó la hemostasia de los tejidos blandos y se colocó una pieza de algodón impregnada en adrenalina sobre la zona, para reducir la posibilidad de sangrados. La región de la cocleostomía apical fue adecuadamente secada, con ayuda de hemostetas, para favorecer los procedimientos que se detallan

a continuación. Una pequeña cantidad de cianoacrilato se colocó sobre la zona. Para ello, se empleó una jeringa de 1 mL (*BD Syringe, ref 309628*), previamente fabricada de forma manual. Dicha jeringa, coloquialmente denominada *pulled plastic syringe*, se calentó al fuego, con el fin de fundir el plástico que la conforma, de manera que, a medida que se procedió a alargar su extremo más distal mientras aún permanecía el plástico caliente, se consiguió un diámetro cada vez menor de la misma (Figura 3.3). Posteriormente, se comprobó su permeabilidad una vez la jeringa se había enfriado, volviendo a su temperatura habitual. Este procedimiento permitió ganar precisión a la hora de aplicar el cianoacrilato en la región deseada, sin afectar a las estructuras adyacentes.



Figura 3.3: *Pulled plastic syringe*. Proceso de producción de esta jeringa, con el fin de obtener un diámetro mínimo para la aplicación precisa del cianoacrilato en las áreas de interés.

Una vez aplicado el cianoacrilato y comprobado que esta sustancia estaba completamente seca, se dispuso la cubierta de silicona (*Kwik-Cast World Precision Instruments, Sarasota, FL*) alrededor de la misma. Previo a su colocación, se mezclaron los dos componentes que la conforman (la propia silicona, de color amarillo, y el endurecedor, de color azul) sobre un papel, con la ayuda de puntas dentales (*dental points*) (*Gutta-Percha Auxiliary Points; Dentsply maillefer; Ref. A 022L 000 004 00*) hasta obtener una mezcla homogénea, de color verdoso (Figura 3.4).

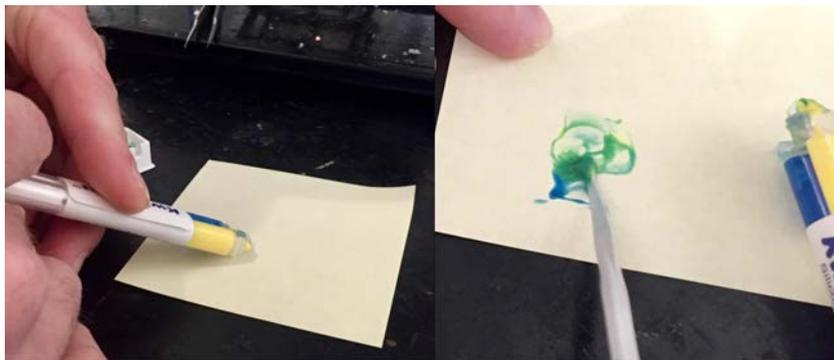


Figura 3.4: Silicona (*Kwik-Cast World Precision Instruments, Sarasota, FL*). Mezcla de los componentes sobre un papel, previo a su aplicación a nivel del ápex coclear, que dará lugar a la creación del *silicon cup*, evitando la pérdida de FITC-Dextran-perilinfá durante la toma de muestras.

Utilizando otra punta dental montada en este caso sobre un porta, esta silicona se aplicó alrededor del área impregnada en cianoacrilato, con el fin de crear una capa hidrofóbica que evitara las pérdidas de perilinfa durante el proceso toma de muestras, una vez que la cápsula ótica estuviera abierta. Al igual que en el paso anterior, se dispuso también del tiempo necesario para asegurar un correcto secado y fijación de la silicona. Este proceso de aplicación de silicona se repitió tantas veces como fue necesario hasta conseguir crear un lecho circular que rodease toda el área de la cocleostomía apical. Manteniendo el funcionamiento de la bomba de liberación y por medio de un instrumento angulado expresamente seleccionado para este fin, *pick angle* (*Storz 1/3 mm 30\* House stapes pick N1705 80, Bausch and Lomb inc.*) (Figura 3.5) se retiró la fina capa ósea que aún cubría la región de la cocleostomía apical, accediendo entonces a la ET y evidenciando la salida de FITC-Dextran a través de la misma (Figura 3.6).



Figura 3.5: *Pick angle* (*Storz 1/3 mm 30\* House stapes pick N1705 80, Bausch and Lomb inc.*). Instrumento empleado para la apertura de la cocleostomía, a nivel apical, generando el menor daño posible sobre la zona y la estructura coclear.

Por medio del empleo de tubos capilares colocados sobre la región de cocleostomía apical (*Blaubrand® Ref 708707. Wertheim, Germany*) y bajo visión microscópica, se obtuvieron de cada uno de los 15 especímenes a estudio un total de 10 muestras consecutivas, de al menos  $1 \mu\text{L}$  de volumen cada una (Figura 3.7). En todos los casos se contabilizó el tiempo total requerido para la toma de las 10 muestras, así como el tiempo entre cada una de ellas. La nomenclatura empleada para las muestras se corresponde con M1 para la primera muestra de  $1 \mu\text{L}$  de perilinfa en la secuencia de 10 muestras, M2 para la segunda muestra de  $1 \mu\text{L}$  de perilinfa en la secuencia de 10 muestras, y así sucesivamente, hasta alcanzar M10, correspondiente a la última muestra de  $1 \mu\text{L}$  de perilinfa en la secuencia de 10 muestras.

Inmediatamente después de la obtención de cada una de las muestras, los capilares fueron analizados bajo visión microscópica, con el fin de conocer el volumen exacto obtenido de las mismas (Figura 3.8).

Cabe remarcar que cada uno de estos capilares contaba con 5 marcas señalizadas en el exterior de los mismos, a una distancia entre sí de 1.5 cm, correspondientes cada una de ellas a  $1 \mu\text{L}$  de volumen (Figura 3.9).

Una vez anotados estos valores, las muestras fueron almacenadas en 10 tubos de Eppendorf (*Sartstedt AG Co. Numbrecht, Germany*), de 0.5 mL, siendo guardados



Figura 3.6: Apertura de la cocleostomía apical por medio del *pick angle*. Imagen correspondiente al espécimen Mf5-7d, tomada durante el segundo tiempo quirúrgico, previo a la toma de muestras. Se evidencia dispositivo de IC, junto con cánula de liberación, así como el *silicon cup* a nivel apical, con salida de fluoresceína a través del orificio de cocleostomía.

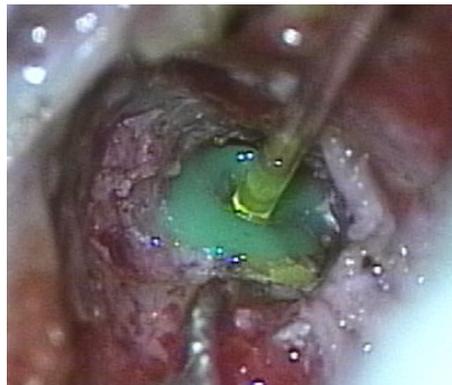


Figura 3.7: Toma de muestras a nivel de la cocleostomía apical por medio de tubos capilares. Imagen correspondiente al espécimen Mf2-24h, obtenida durante el procedimiento de toma de muestras. *silicon cup* en región apical, con obtención de muestras de 1  $\mu\text{L}$  cada por medio de tubo capilares. Se evidencia coloración de la fluoresceína a través de los mismos.

éstos a su vez en una caja opaca, para su posterior traslado al laboratorio donde tendría lugar su análisis. Cada uno de estos tubos fue numerado del 1 al 10, correspondiéndose con la muestra obtenida, y habiéndolos rellenado previamente con 150  $\mu\text{L}$  de *buffer* fosfato salino (PBS) con Azida (*Ref. sc-296028; ChemCruz*). Para vaciar el capilar en el interior del tubo de Eppendorf, se utilizó una jeringa de 1 mL (*BD Syringe, ref 309628*) rellena de aire que se introdujo a través de un adaptador de silicona, conectado al tubo capilar correspondiente (Figuras 3.10 y 3.11).

Se realizó entonces una nueva comprobación de los capilares, bajo visión microscópica, para asegurar la ausencia de FITC-Dextran remanente en el interior de



Figura 3.8: Medición de las muestras bajo control microscópico. Cálculo del volumen exacto de cada una de las muestras obtenidas para cada espécimen.

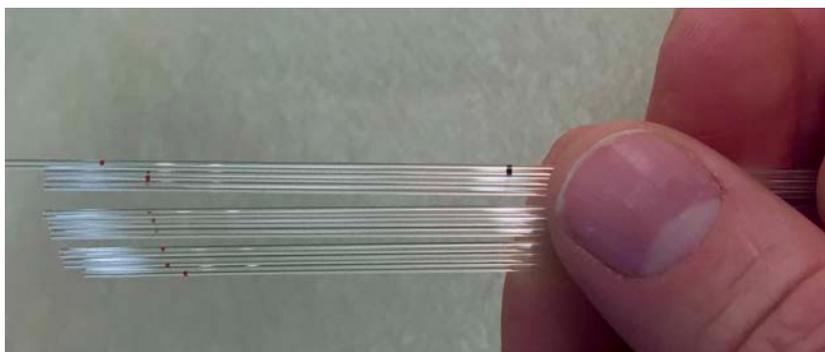


Figura 3.9: Tubos capilares. Marcas externas a una distancia de 1.5 mm, que corresponden cada una de ellas a 1  $\mu$ L de volumen.



Figura 3.10: Etiquetado de las muestras. Asignación de los tubos capilares a la muestra correspondiente de cada espécimen.

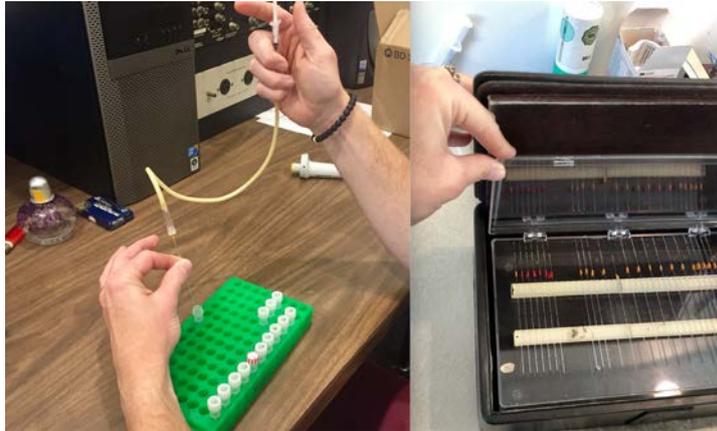


Figura 3.11: Almacenamiento de las muestras. Contenido de las muestras almacenado en tubos de Eppendorf para su posterior traslado, en caja opaca, y análisis con la ayuda de un espectrofluorímetro.

los mismos. En todo momento se evitó la exposición mantenida de las muestras a la luz, para evitar cualquier tipo de alteración en las propiedades de la fluoresceína.

C. Retirada del dispositivo implantado:

Una vez finalizada la toma de muestras se colocó una grapa o *hemoclip* sobre la cánula de liberación de FITC-Dextran y se cortaron los cables, evitando cualquier desplazamiento de los mismos a nivel intracoclear. Se retiró entonces la bomba de liberación, obteniendo el FITC-Dextran remanente de la misma, para posteriores verificaciones de la cantidad de sustancia liberada durante todo el procedimiento. Las estructuras implantadas a nivel intracoclear se mantuvieron en su posición original, con el fin de llevar a cabo el posterior análisis histológico.

D. Verificación radiológica:

Finalmente, se realizó a todos los especímenes una nueva Rx de la región craneal, con el fin de asegurar el mantenimiento de la correcta profundidad de inserción de la guía de electrodos.

### 3.6. Eutanasia y perfusión

A los animales se les aplicó la eutanasia siguiendo el protocolo establecido por el Comité Ético de la Universidad de Navarra. Con este fin, se les administró por vía intravenosa 200 mg/kg de pentobarbital sódico, produciéndoles una sobredosis por barbitúricos justo antes del inicio del proceso de perfusión. Posteriormente, se realizó un lavado del árbol vascular con solución salina por vía intracardiaca y una perfusión con paraformaldehído para fijar los tejidos. El proceso de fijación de tejidos se detalla a continuación:

1. Lavado del árbol vascular con solución salina isotónica (suero *Ringer*).

2. Perfusión con solución fría de paraformaldehído al 4 % en tampón fosfato (0.1 M, pH 7.4, a temperatura ambiente). La perfusión se realizó a una velocidad de 1 L/15 minutos hasta un total de 3 L.
3. Nueva perfusión con solución de crioprotección al 10 % (dimetil sulfóxido (DMSO), Glicerina en tampón fosfato 0.1M) a la misma velocidad hasta completar 1L.

### **3.7. Extracción del hueso temporal y procesamiento histológico**

Tras la eutanasia del animal, los huesos temporales implantados de cada uno de los especímenes fueron extraídos para su posterior procesamiento histológico, siguiendo la metodología clásica utilizada en los laboratorios de hueso temporal [156]. Los huesos extraídos fueron entonces deshidratados y embebidos en resina epóxica (*EpoTek 301, Epoxy Technology, Inc. Billerica, MA, USA*) [157]. Se aseguró el mantenimiento de la guía de electrodos en su adecuada posición y se realizaron sobre el bloque cortes seriados cada 100  $\mu\text{m}$ . Cada uno de estos cortes fue teñido con azul de toluidina y fotografiado con un microscopio-esteroscopio (*Leica ®S8AP*) (aumentos: 1.25, 1.6, 2, 4, y 6.3), para el posterior análisis de los hallazgos histológicos.

A continuación, se detallan los procedimientos llevados a cabo para la obtención de los cortes histológico de las cócleas implantadas:

1. Deshidratación. En un contenedor de Nalgene® (*Nalge Nunc International Corporation, Rochester, NY, USA*) se colocó el hueso temporal, con la tapa puesta. Se deshidrató progresivamente con soluciones crecientes de alcohol, según la siguiente pauta: durante 24 horas, etanol 75 %, cambiando esta solución cada 12 horas. Pasadas las 24 horas, etanol 85 %, con cambio cada 12 horas. Este procedimiento se repitió sucesivamente con etanol 95 % y etanol 100 %. A continuación, se aplicó acetona 100 %, cambiando la solución dos veces, por la mañana y por la tarde. Durante el proceso de deshidratación, el hueso temporal se colocó en una mesa agitadora con movimiento orbital.
2. Secado. Retirada de la acetona, previamente aplicada. El hueso temporal se dejó secar al aire durante un tiempo de 15 minutos.
3. Preparación de la resina epóxica. La mezcla de resina se preparó en una relación 4:1 de parte A (reactivo) (*EpoTek 301, Kit Part A. 301/1LB/A*) y de parte B (*EpoTek 301, Kit Part B. 301/1LB/B*), respectivamente. Durante un minuto, esta mezcla fue removida con una varilla en el sentido de las agujas del reloj. A continuación, durante otro minuto más, la mezcla se removió en sentido anti-horario.
4. Inclusión. El hueso temporal se colocó nuevamente en el bote, siguiendo una orientación, a ser posible, perpendicular a la cóclea. Se añadió la resina, previamente preparada, hasta cubrir la totalidad del hueso y todo este conjunto (bote sin tapar, hueso temporal y resina) se colocaron en la cámara de vacío, cerrando posteriormente tanto la cámara como la válvula. Con el objetivo de que la resina infiltrase

la cóclea completamente, se conectó la bomba y se sometió a una presión negativa de aproximadamente 25 mmHg, durante 15 minutos (Figura 3.12).



Figura 3.12: Cámara de vacío. Hueso temporal embebido en resina dentro de cámara de vacío.

5. Curado o endurecimiento. La mezcla obtenida en el procedimiento anterior debe ser, a continuación, enfriada. Para ello, el bote con el hueso temporal fue introducido en un recipiente más grande y cubierto por agua, hasta sobrepasar el nivel del hueso con la resina. Durante un tiempo aproximado de 24 horas, se colocó dentro del frigorífico (6-8 °C) sobre la mesa agitadora. Pasado este tiempo, se sacó del frigorífico y se dejó a temperatura ambiente durante un periodo de 3 horas. Finalmente, una vez que la epoxi se hubiese endurecido, el bloque de hueso con resina se extrajo del bote (Figura 3.13).



Figura 3.13: Curado o endurecimiento. El bloque de hueso con resina, colocado en contenedor de agua en el frigorífico.

6. Orientación. Para conseguir una adecuada orientación del bloque, se tomó una Rx de cada una de las piezas, en dos proyecciones. La primera, paralela al eje de la cóclea y la segunda, perpendicular a la misma.
7. Marcado. A partir de las referencias obtenidas en la Rx, se marcaron los límites de la cóclea, para obtener un cubo de 3x3 cm. El bloque se colocó entonces sobre un negatoscopio portátil y, sobre éstos, la Rx a tamaño real, superponiéndose, de modo que fuera posible conocer la ubicación de la cóclea. Con un rotulador permanente fino y una regla, se perfiló sobre el bloque un cuadrado de 3x3 cm, que incluía la estructura coclear en su interior.
8. Sección. Para la obtención del cubo de 3x3 cm de superficie, se empleó una sierra automática (*Labotom 3, Struers, Dinamarca*), siguiendo el recorrido de las previamente perfiladas líneas de corte. Con el objetivo de obtener un nuevo cubo más pequeño, cuya sección fuera, en este caso, a la altura de la VR, repetimos de nuevo el proceso de orientación del bloque. Fue necesario realizar una nueva Rx, igualmente en dos proyecciones: perpendicular y paralela a la cóclea.
9. Nuevo marcado. Para poder obtener el corte justo a nivel de la VR y del límite inferior de la espiral basal, se perfilaron nuevamente los cubos para su posterior corte. El marcaje se realizó de forma similar, delimitando una línea vertical a nivel de la VR y otra perpendicular a nivel del borde inferior de la espira basal (Figura 3.14).



Figura 3.14: Marcado del cubo.

10. Nueva sección. Siguiendo las líneas que habíamos trazado, se cortó nuevamente este último bloque con la sierra automática.
11. Pulido. Una vez los moldes de la pulidora (*Tegra pol-11, Struers, Dinamarca*) fueron

untados con silicona, el cubo de resina epóxica se colocó en el molde y, el espacio restante del mismo se rellenó con resina. Este molde se introdujo nuevamente en la cámara de vacío con bomba de succión, a una presión similar (-25 mmHg), durante 3 minutos, y se dejó posteriormente sobre la mesa durante 10 horas. Pasado este tiempo, ya se habría endurecido, adoptando el tamaño y forma adecuada para ajustarlo a la pieza de la pulidora que permitiese fijar el cilindro y exponer el grosor que interesaba pulir (habitualmente del orden de 100  $\mu\text{m}$ ). El cilindro de resina se extrajo entonces del molde y la pieza se sujetó manualmente, presionando sobre la lija de la pulidora mientras ésta, a una velocidad de 200-250 rpm, fue perfilando el cilindro. Una vez pulido el cubo y obtenido el grosor de interés, se colocó en una tinción de azul de toluidina (*Sigma-Aldrich Inc., Sant Louis, MO, USA*) durante 10 minutos (Figuras 3.15 y 3.16).



Figura 3.15: Molde de silicona.

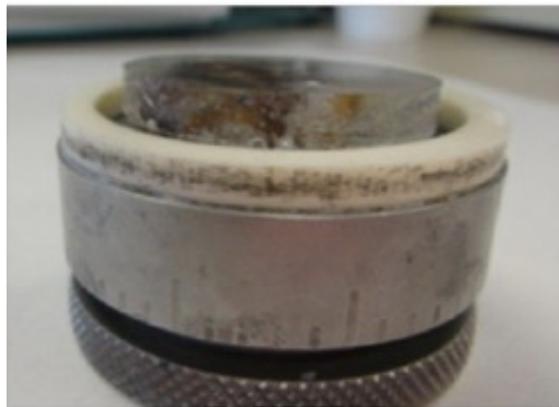


Figura 3.16: Pieza de pulidora.

12. Obtención de imágenes. El cilindro obtenido en el procedimiento anterior se lavó con agua para retirar el exceso de azul de toluidina y se colocó bajo el microscopio (*Leica @S8AP*). El programa en el que se procesaron las imágenes fue el *Leica Application*

*Suite (LAS. Versión 4.0.0 [Build:877]. Copyright©2003-2011. Leica Microsystems (Switzerland) Limited. Leica Microsystems CMS GmbH.* La obtención del siguiente corte se realizó colocando nuevamente el cilindro de resina en la pieza de la pulidora, exponiendo 100  $\mu\text{m}$  de grosor. A continuación, nuevamente se pulió, se tiñó y se fotografió, hasta obtener, sucesivamente, imágenes de toda la estructura coclear. El hecho de ir puliendo progresivamente el bloque imposibilitó la conservación de las muestras. Con este método se obtuvieron sucesivas imágenes de la pieza (Figura 3.17).



Figura 3.17: Microscopio asociado a cámara digital. Almacenamiento de las imágenes histológicas obtenidas.

13. Medición de profundidad. La profundidad de inserción de la guía de electrodos se calculó sumando el grosor en milímetros de todas las secciones realizadas, desde la VR hasta la punta de la guía.

### **3.8. Análisis de las muestras obtenidas**

La concentración de fluoresceína de cada una de las 10 de las muestras obtenidas fue medida en todos los casos con un espectrofluorímetro (*SpectraMax Gemini XS, Molecular Devices, San Jose, CA, USA*), utilizando los parámetros que a continuación se detallan: 485 nm (excitación), 530 nm (emisión) y período de bloqueo automático (*Auto cutoff*). La curva de calibración fue preparada para cada espécimen, cubriendo un rango determinado de concentraciones de *FITC-Dextran* (de 1  $\mu\text{M}$  a 10 mM).

Dada la importancia que tiene el mantenimiento de la fluoresceína y con el fin de evitar alterar sus propiedades y, por tanto, minimizar el riesgo de obtener alteraciones en

los resultados obtenidos, el análisis de las muestras de perilinfa-FITC-Dextran fue llevado a cabo, para cada espécimen, en un tiempo inmediatamente posterior a su obtención, no superior a 30 minutos, manteniendo las muestras, durante todo el proceso, en ausencia completa de luz. De esta forma, en ese mismo momento se elaboraron gráficas preliminares que permitieran no sólo una mejor y más precisa recogida de los datos, sino también, en un futuro, facilitar la comparación de estos resultados tanto entre los propios especímenes de un mismo grupo, como con los resultados obtenidos entre un grupo y otro.

Con los resultados obtenidos de cada uno de los especímenes, así como del total de las muestras de los 5 Mf pertenecientes a cada uno de los grupos a estudio (2 horas, 24 horas y 7 días), se elaboraron unas gráficas que permitirían conocer la tendencia de distribución del FITC-Dextran a lo largo de la estructura coclear y facilitarían la posterior interpretación y comparación del conjunto de resultados obtenidos.

### 3.9. Análisis histológico

El análisis histológico se realizó con los siguientes objetivos:

1. Evaluar la correcta localización de la guía de electrodos a nivel intracoclear.
2. Valorar la presencia/ausencia, a nivel de la VR, la ET y el vestíbulo de cualquier tipo de reacción biológica, como puede ser fibrosis u osificación, alrededor de la guía de electrodos y de la cánula, secundarias al proceso de inserción del IC.
3. Valorar los posibles daños generados a las estructuras cocleares, prestando especial atención al LE, la *stria vascularis*, la lámina espiral y el AC.
4. Localización y medición de la región correspondiente a la cocleostomía apical, así como la valoración de posibles daños o alteraciones generadas en esta región.

La estructura coclear se analizó por medio de secciones transmodiolares, previo pulido de los bloques, con una orientación perpendicular al CAE, cada 100  $\mu\text{m}$  (Figura 3.18).

Para valorar el posible daño causado durante el proceso de inserción del electrodo, se utilizó la clasificación Eshraghi [91]. Kennedy, en 1987 [158], remarca que el principal daño generado con esta técnica quirúrgica se produce a nivel del LE, en la unión de la primera y segunda mitad de la primera espira, la membrana basilar y la lámina espiral ósea. De esta forma, Eshraghi [91] clasifica el daño a nivel coclear, en una escala de 0 a 4, tal y como a continuación se detalla en la Tabla 3.1.

En 2014, Marx *et al.* [159] dividieron la estructura coclear en cuatro cuadrantes. De esta forma, y tomando como referencia estos trabajos, se aplicaron en este estudio dichos hallazgos relacionando el trauma coclear con la localización intracoclear. Así, esta división permitió establecer una correlación entre el lugar de la lesión, la localización de los electrodos y el grado de inserción de la guía, en cada una de estas cuatro regiones delimitadas (0-90°, 90-180°, 180-270° y 270-360°) (Figura 3.19). El trazado de dos líneas, A y B, da lugar a la formación de dichos cuadrantes: la línea A sigue una trayectoria a través del modiolo y de la VR (identificada por el primero de los electrodos de la guía con la Rx) y la línea B se dispone de forma perpendicular a la anterior, a través del modiolo.

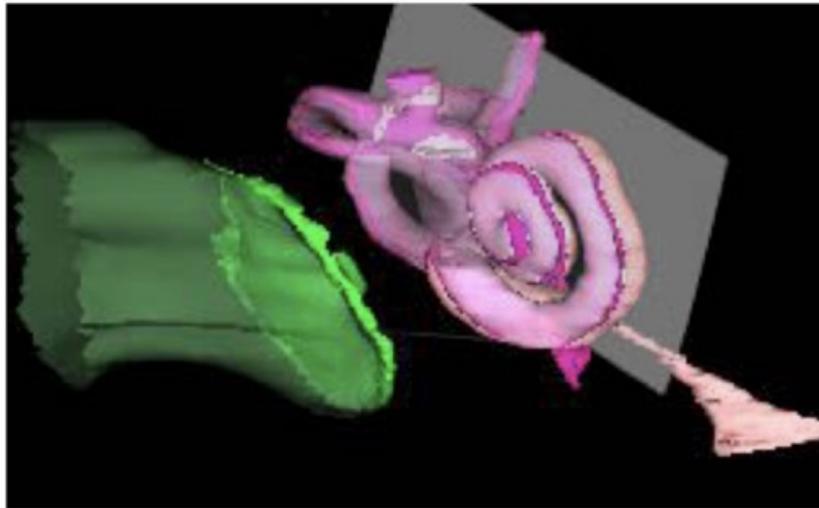


Figura 3.18: Plano de sección transmodiolar. Imagen tridimensional que muestra el plano de sección transmodiolar empleado en los cortes para su estudio histológico.

Tabla 3.1: Clasificación de Eshraghi. Grados de lesión intracoclear según la clasificación de Eshraghi [91].

Grado	Lesión
0	No trauma visible
1	Elevación de la membrana basilar
2	Ruptura de la membrana basilar
3	Electrodo en la escala vestibular
4	Trauma severo: fractura óseas de la lámiina espiral o el modiolo o ruptura de la <i>stria vascularis</i>

Por otro lado, a partir de los cortes histológicos se valoró también la presencia de hidrops en la EM, en relación con la colocación del dispositivo de IC, así como con los posibles daños generados en la estructura coclear, según la clasificación de Eshraghi [91]. La valoración del hidrops a nivel histológico fue descrita por distintos autores, basándose tanto en el grado de distensión de la membrana de Reissner como en su densidad celular, habiéndose descrito incluso distintos grados de hidrops, en función de la distensión de la misma: leve, en casos de distensión y abultamiento; moderado, en aquellos casos en los que la membrana llegaba a contactar con la pared ósea de la EV; y severa, en aquellos casos en los que también se visualizaba en contacto con la región más medial de la EV [160][161]. De esta forma, a día de hoy, se puede considerar que, a nivel histológico el hidrops endolinfático queda representado principalmente por la evidencia de dilatación de la EM de la cóclea, con desplazamiento de la membrana de Reissner, asociado o no dilatación sacular y/o utricular [162][163][164].

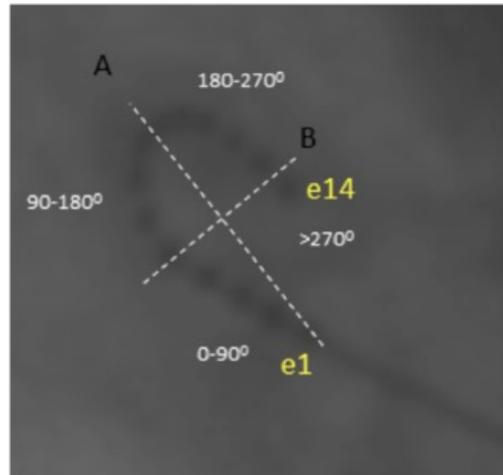


Figura 3.19: División de la estructura coclear en cuatro cuadrantes. Imagen que muestra los cuatro cuadrantes en los que se dividió la cóclea. Abreviaturas: electrodo 1 (e1); electrodo 14 (e14).

Así, en este estudio, la presencia de hidrops endolinfático en la EM se determinó por medio de la valoración subjetiva del abombamiento y la distensión de la membrana de Reissner, basándonos en la observación de los cortes histológicos de cada uno de los especímenes participantes del estudio.

### 3.10. Estimación de los volúmenes intracocleares del *Macaca fascicularis*

Teniendo en cuenta la importancia que tiene conocer el tamaño y el volumen del oído interno a la hora de estudiar la farmacocinética coclear, y dada la diferencia existente en función del espécimen a estudio, se utilizaron los valores previamente calculados por el grupo de trabajo de Salt en el ser humano, el Mf y el Gp [51], para la interpretación de los resultados obtenidos en este estudio. La Figura 1.1 muestra una representación a escala de las dimensiones de la estructura coclear en el ser humano, el Mf y el Gp.

Por su parte, la Tabla 3.2 resume los principales valores correspondientes a las dimensiones de las distintas estructuras del oído interno, relevantes en este estudio [51].

Tabla 3.2: Dimensiones del oído interno, en función de la especie a estudio. Descripción de los volúmenes y las longitudes de la ET y EV, así como del volumen correspondiente a la perilinfa y la endolinfa coclear, calculada para el ser humano, el Mf y el Gp [51].

	Ser humano	<i>Macaca fascicularis</i>	<i>Guinea pig</i>
<b>Volumen (<math>\mu\text{L}</math>)</b>			
Perilinfia coclear	125.4	21.7	16.8
Endolinfa coclear	7.7	2.1	2.0
Escala timpánica	40.5	7.8	6.0
Escala vestibular	84.9	13.9	10.8
<b>Longitud (mm)</b>			
Escala timpánica	28.5	17.2	17.1
Escala vestibular	36.7	19.9	19.6

### 3.11. Análisis estadístico

La descripción de las variables se realizó reportando la media, la desviación estandar (DE), la mediana (en caso de que la variable no se distribuyera de forma normal), y el rango. Para los contrastes de hipótesis, se planteó un análisis ANOVA factorial mixto, comenzando con la comprobación de la normalidad utilizando el test Shapiro-Wilk y comprobaciones visuales a través de gráficos quantil-quantil y diagramas de cajas. También se comprobó la asunción de esfericidad utilizando el test de Maunchly y la existencia de *outliners* mediante diagramas de cajas.

Posteriormente se realizó el análisis ANOVA factorial mixto de medidas repetidas, con el objetivo de esclarecer si existían diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de FITC-Dextran de cada Grupo, y entre las concentraciones del mismo Grupo. Se utilizó el Grupo (Grupo 2 horas, Grupo 24 horas, y Grupo 7 días) como factor inter-sujeto y las muestras (de M1 a M10) como factor intra-sujeto. Este diseño nos permitió de igual forma comprobar si existía interacción entre ambos factores y averiguar si la diferencia entre los grupos era constante a lo largo de las 10 Muestras.

En caso de detectar diferencias, se realizaron pruebas post-hoc (DMS para Grupos y LSD para Muestras) con el objetivo de identificar entre qué Grupos o Muestras existían las diferencias responsables de dar como resultado un ANOVA significativo, así como para cuantificar la diferencia de medias (DM) de concentración y su intervalo de confianza (CI) al 95 %.

Se consideró un  $p$ -valor  $< 0.05$  para establecer la significación estadística en todos los casos. Los resultados referentes al ANOVA se reportaron a través del  $F$ -score y de sus grados de libertad (df), junto con el  $p$ -valor y el  $\eta^2$ , de la siguiente forma:  $F(\text{df1};\text{df2})$ ;  $p$ -valor;  $\eta^2$ ; por otro lado, los resultados de los tests post-hoc se reportaron a través de la

DM y de su CI al 95 %, así como del  $p - valor$ , de la siguiente forma: DM, 95 %CI [límite inferior, límite superior];  $p - valor$ .

La determinación del tamaño muestral se llevó a cabo utilizando el método *Resource Equation*, que sugiere que los df del término error del ANOVA factorial, deben encontrarse entre 10 y 20 [165]. Según esto, y teniendo en cuenta que se contaba con 3 grupos, se estimó que el número de especímenes por grupo debía oscilar entre 5 y 8. Finalmente se optó por reclutar 5 especímenes siguiendo los principios de las 3R (reemplazo, reducción y refinamiento) [166].

Se excluyeron del análisis estadístico las concentraciones obtenidas en especímenes donde se produjeron errores en el proceso de toma de muestras, y los análisis estadísticos se realizaron utilizando el *software IBM SPSS Statistics V22* [167].



4

## Resultados



## 4.1. Resultados generales

Los resultados que se recogen a continuación analizan la farmacocinética coclear a través del estudio de la distribución de FITC-Dextran liberado directamente a nivel intracoclear, en la ET, por medio de un dispositivo de IC asociado a una bomba de liberación.

### 4.1.1. Procedimiento quirúrgico de implantación

El total de intervenciones quirúrgicas se realizó con éxito, verificando posteriormente la adecuada localización del dispositivo implantado.

La media de los tiempos quirúrgicos de colocación del dispositivo a implantar fue de  $83.33 \pm 28.58$  minutos, con una mediana de 70.00 minutos y con un rango de 50.00 (Mf4-2h-OI) a 143.00 (Mf5-7d) minutos (Tabla 4.1). La descripción de los tiempos del primer acto quirúrgico para cada uno de los grupos se resume de igual forma, en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1: Estadística descriptiva de los tiempos quirúrgicos

	Grupo 2 horas		Grupo 24 horas		Grupo 7 días		Total	
	1ºT	2ºT	1ºT	2ºT	1ºT	2ºT	1ºT	2ºT
<b>Media</b>	73.00	27.40	78.60	65.60	98.40	66.60	83.33	53.20
<b>Mediana</b>	60.00	31.00	80.00	44.00	74.00	70.00	70.00	44.00
<b>DE</b>	26.00	9.07	11.45	38.92	35.32	11.86	28.58	30.20
<b>Mínimo</b>	30.00	13.00	65.00	24.00	65.00	45.00	50.00	13.00
<b>Máximo</b>	125.00	37.00	92.00	117.00	143.00	78.00	143.00	117.00

1ºT: primer tiempo quirúrgico; 2ºT: segundo tiempo quirúrgico; DE: desviación estándar.

Nota: los valores del tiempo de toma de muestras referentes al espécimen Mf4-2h corresponden al oído izquierdo, dado que no se obtuvieron muestras del oído derecho.

Todas las unidades recogidas en la Tabla se expresan en minutos.

En todos los casos se preservó la integridad del acueducto de Falopio y, por tanto, del nervio facial. Sin embargo, a pesar del intento de preservar el nervio cuerda del tímpano, en todos los especímenes esta estructura tuvo que ser sacrificada durante el procedimiento.

Previo a la colocación del dispositivo a implantar, se verificó, en todos los casos, la ausencia de traumatismo y/o desplazamientos del estribo con respecto a la platina, así como la integridad del CSH.

Todos los dispositivos fueron implantados a nivel de la VR. Por medio del fresado de los márgenes óseos del nicho de la VR realizado en aquellos especímenes en que fue requerido (Grupo 24 horas: Mf1-24h, Mf2-24h, Mf3-24h, Mf4-24h; Grupo 7 días: Mf1-7d, Mf2-7d, Mf3-7d, Mf4-7d, Mf5-7d), se consiguió una adecuada visualización de la membrana y una adecuada trayectoria de inserción de la guía de electrodos. Este proceso de fresado no produjo en ningún caso daño a nivel de la membrana de la VR ni en otras

estructuras cocleares, no teniendo por tanto ningún tipo de repercusión en los procedimientos quirúrgicos ni en los resultados farmacocinéticos posteriormente obtenidos. Como única incidencia, en los cinco especímenes que componen el Grupo 7 días (Mf1-7d, Mf2-7d, Mf3-7d, Mf4-7d y Mf5-7d), durante el fresado del labio superior de la VR se produjo una parcial desinserción de la membrana a este nivel, sin evidenciar fugas de perilinfa ni, por tanto, tener este incidente repercusiones sobre los resultados posteriormente obtenidos. En ninguno de los especímenes fue necesaria la realización de una cocleostomía basal para colocación del dispositivo.

Por otro lado, la clasificación de Eshraghi [91] no adquirió valores superiores a 1 en ninguno de los especímenes. La profundidad de inserción fue de 11 mm en los 15 Mf, con un ángulo de inserción de 180-270° (equivalente al tercer cuadrante [159]) en todos los casos excepto en los especímenes Mf2-2h y Mf1-7d, donde el ángulo de inserción fue >270° (cuarto cuadrante).

La curva de aprendizaje adquirida en las sucesivas cirugías realizadas conllevó la modificación de la técnica de sellado de la VR a partir del Grupo 2 horas, empleándose en todos los especímenes de los grupos de 24 horas y 7 días la combinación de F y cianoacrilato, como se detalla en el siguiente apartado: *Resultados en cada uno de los grupos a estudio*. De esta forma, ninguna fuga de FITC-Dextran se apreció a nivel de la cavidad mastoidea ni de la VR en los grupos de 24 horas y 7 días. Sin embargo, todos los especímenes pertenecientes al Grupo 2 horas presentaron fugas de FITC-Dextran a nivel de la VR.

Las siguientes imágenes recogen los principales procedimientos que conformaron este primer tiempo quirúrgico:

1. Adecuada visualización y exposición del nicho de la VR. Incisión sobre la membrana de la VR (Figura 4.1).

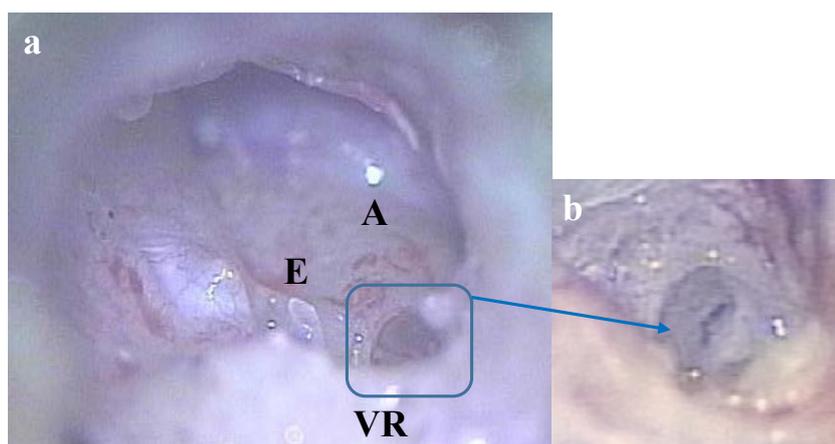


Figura 4.1: Exposición de la ventana redonda e incisión a través de su membrana. Imágenes obtenidas durante el primer tiempo quirúrgico, correspondientes al especimen Mf2-2h. a. Visión general del nicho de la VR, con exposición de la región apical (A). Estribo (E) presente. b. Incisión de apertura de la membrana de la VR para colocación del dispositivo de IC.

2. Colocación de la guía de electrodos. Sellado de la VR (Figura 4.2).

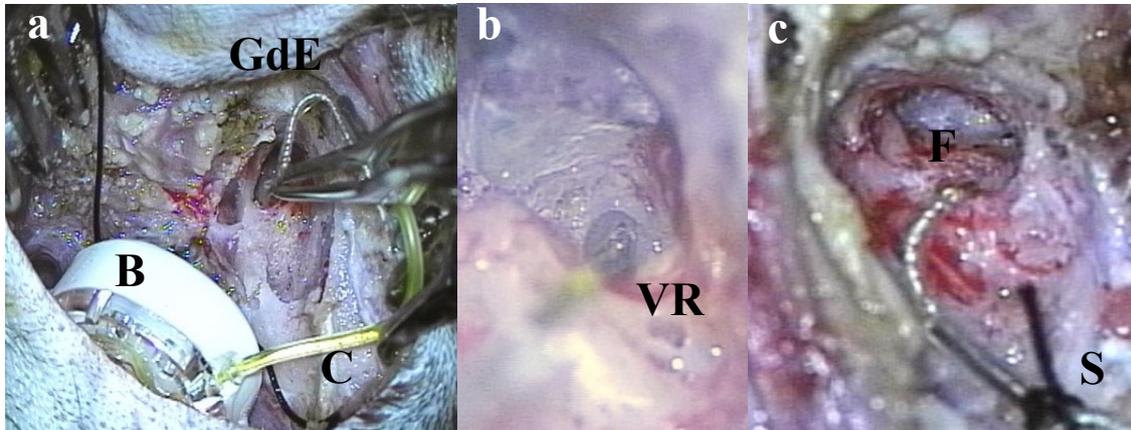


Figura 4.2: Guía de electrodos implantada y técnica de sellado de la ventana redonda. Imágenes obtenidas durante el primer tiempo quirúrgico, correspondientes al espécimen Mf2-2h (a), Mf4-2h-OI (b) y Mf2-24h (c). a. Procedimiento de inserción de la guía de electrodos (GdE) y cánula de liberación (C) a través de la VR, previa colocación de la bomba de liberación (B) en el bolsillo subperióstico, a nivel occipital. b. GdE insertada a través de la incisión de la membrana de la VR. c. Sellado de la VR con fascia (F) y fijación de la cánula y la GdE a la región mastoidea con punto de sutura (S).

3. Colocación final del conjunto del dispositivo. Fijación del mismo (Figura 4.3).

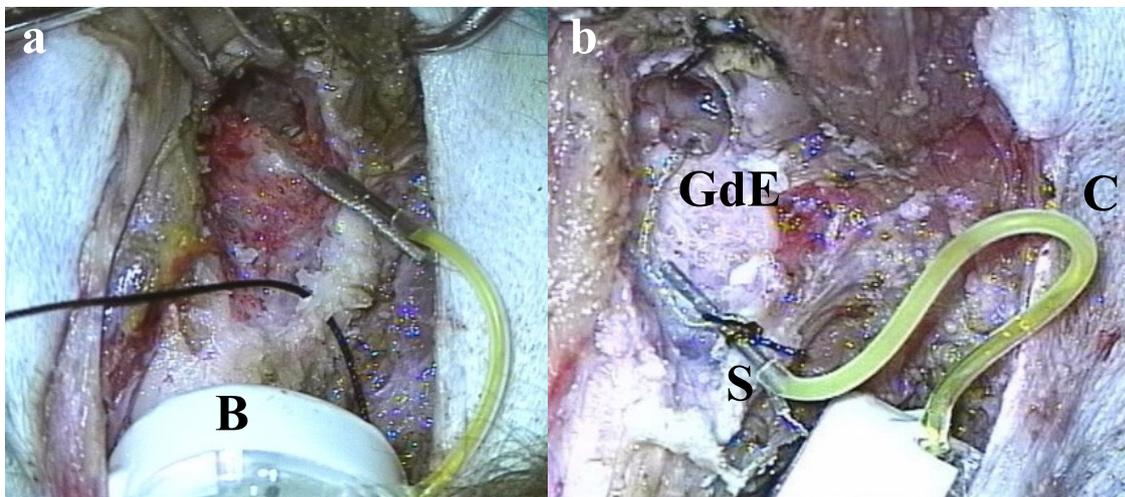


Figura 4.3: Colocación y fijación del conjunto del dispositivo implantado. Imágenes obtenidas durante el primer tiempo quirúrgico, correspondientes al espécimen Mf3-2h (a) y Mf5-24h (b), donde se evidencian las principales estructuras que componen el dispositivo implantado: la bomba de liberación (B), la cánula de liberación (C) y la guía de electrodos (GdE) a. Colocación final del conjunto del dispositivo. b. Fijación del dispositivo en el ángulo de Citelli.

4. Cierre de la herida quirúrgica tras colocación del dispositivo, en el Grupo 24 horas y en el Grupo 7 días (Figura 4.4).

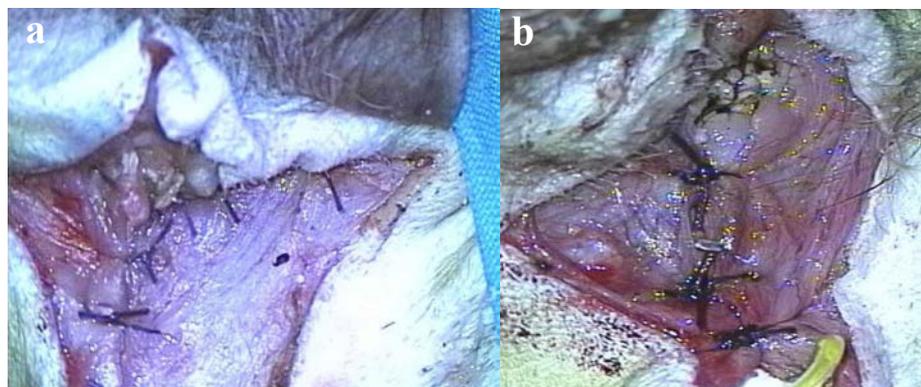


Figura 4.4: Cierre de la herida quirúrgica. Imágenes obtenidas durante el primer tiempo quirúrgico, correspondientes al espécimen Mf2-7d (a) y Mf4-7d (b). Cierre por planos de la herida quirúrgica tras colocación y fijación del dispositivo, en el Grupo 24 horas y en el Grupo 7 días.

Finalizado este primer tiempo quirúrgico, la Rx craneal realizada a cada espécimen corroboró, en todos los casos, la correcta inserción de la guía de electrodos. Así mismo, el análisis histológico realizado tras el sacrificio animal permitió verificar la correcta localización de la guía, a nivel de la ET, en los 15 especímenes intervenidos.

#### **4.1.2. Procedimiento quirúrgico de toma de muestras**

El procedimiento de toma de muestras constituyó el segundo de los tiempos quirúrgicos.

El cierre correcto del lecho quirúrgico en el Grupo 24 horas y en el Grupo 7 días tras la primera intervención por medio de puntos sueltos muy próximos unos a otros en dos planos, así como el desarrollo del bolso subperióstico que alojaba la bomba de liberación a nivel occipital, evitaron que el animal, a través de maniobras como el rascado sobre la zona, se retirase el dispositivo o interrumpiese el adecuado funcionamiento del mismo. A pesar de ello, en uno de los casos, el Mf4-2h oído izquierdo (Mf4-2h-OI), se evidenció dehiscencia de la herida quirúrgica, en probable relación con el rascado de la zona por el propio Mf, sin repercusión en el correcto funcionamiento del dispositivo implantado.

Excepto en cinco casos donde la cocleostomía se realizó a nivel de la segunda espira (Mf5-2h, Mf2-24h, Mf3-24h, Mf2-7d y Mf3-7d) y en otro caso en el que la cocleostomía además de realizarse a nivel apical, se realizó en otra localización adicional (espira basal en Mf4-7d), en los Mf restantes se verificó por medio del análisis histológico la correcta localización de la cocleostomía apical.

En cuanto al proceso de toma de muestras, en la mayoría de los especímenes estudiados se pudo llevar a cabo la toma de muestras, con excepción de un espécimen, el Mf4-2h-OD, donde no se pudo obtener ninguna, y en otros dos, Mf1-24h y Mf1-7d, donde

las concentraciones obtenidas no pudieron ser consideradas valorables. Estas excepciones serán detallados en el siguiente apartado: *Resultados en cada uno de los grupos a estudio*.

Si bien el flujo de fluido extraído de la cóclea no fue constante durante los procedimientos de toma de muestras en los distintos especímenes, los tiempos que compusieron este segundo procedimiento quirúrgico, en los tres grupos a estudio, fueron variables, con una media estimada de  $53.20 \pm 30.20$  minutos, una mediana de 44.00 minutos, y un rango de 13.00 (Mf5-2h) a 117.00 (Mf3-24h) minutos (Tabla 4.1). La descripción de los tiempos del segundo acto quirúrgico para cada uno de los grupos se resume de igual forma, en la Tabla 4.1.

En ninguno de los Mf se observaron complicaciones derivadas de la detención de la liberación de FITC-Dextran, interrumpiendo la propia cánula, ni de la retirada del dispositivo de IC, junto con la bomba de liberación, una vez finalizado el proceso de toma de muestras. La guía de electrodos se mantuvo insertada dentro de la cóclea, prestando especial atención a evitar la transmisión de la fuerza generada por la retirada del dispositivo que pudiera generar daños ni aumentos de flujo a nivel intracoclear.

A continuación, se muestran las imágenes correspondientes a los siguientes procesos que componen este segundo tiempo quirúrgico:

1. Estado de la herida quirúrgica y fibrosis generada en torno al dispositivo implantado, en el Grupo 24 horas y en el Grupo 7 días. Permanencia de la cánula y la guía de electrodos insertada a nivel de la VR (Figura 4.5).

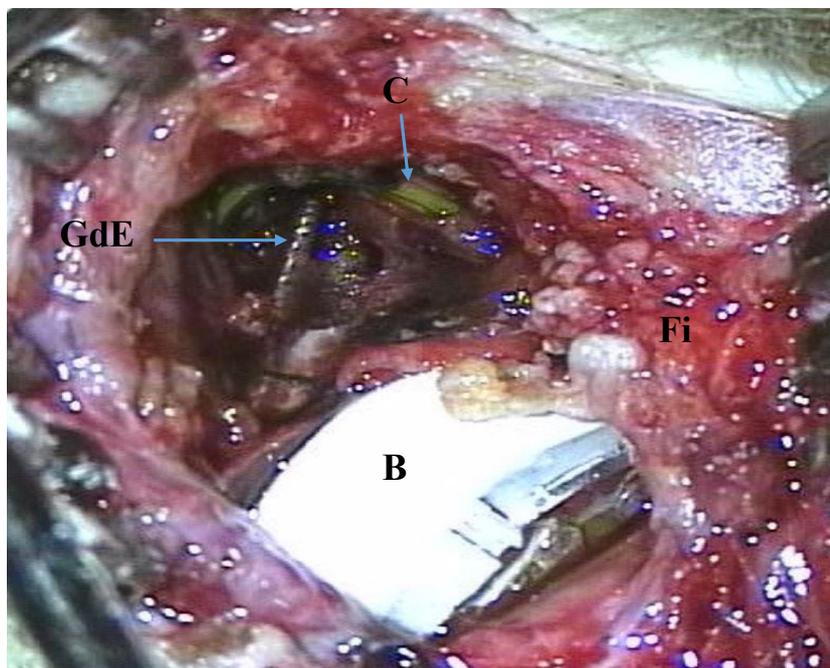


Figura 4.5: Lecho quirúrgico. Cánula y guía de electrodos a nivel de la ventana redonda. Imagen obtenida durante el segundo tiempo quirúrgico, correspondiente al espécimen Mf1-7d. Estado del lecho quirúrgico y fibrosis (Fi) generada en torno al dispositivo (B) implantado. Ausencia de daños y permanencia de la cánula (C) y la guía de electrodos (GdE) en su correcta localización.

2. Exposición y fresado del ápex coclear y creación del nicho de silicona (*silicon cup*). Cocleostomía apical (Figuras 4.6 y 4.7).

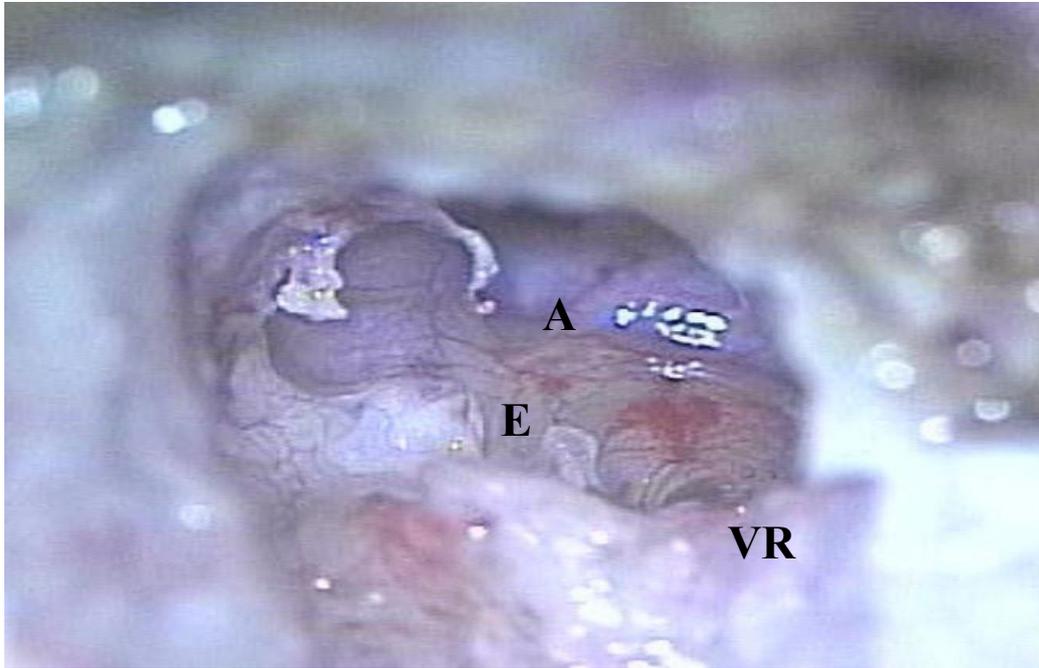


Figura 4.6: Exposición del ápex coclear. Imagen obtenida durante el primer tiempo quirúrgico, correspondiente al espécimen Mf4-7d. Exposición de la región coclear apical (A). Esta imagen permite igualmente evidenciar la supraestructura del estribo (E) y la VR.

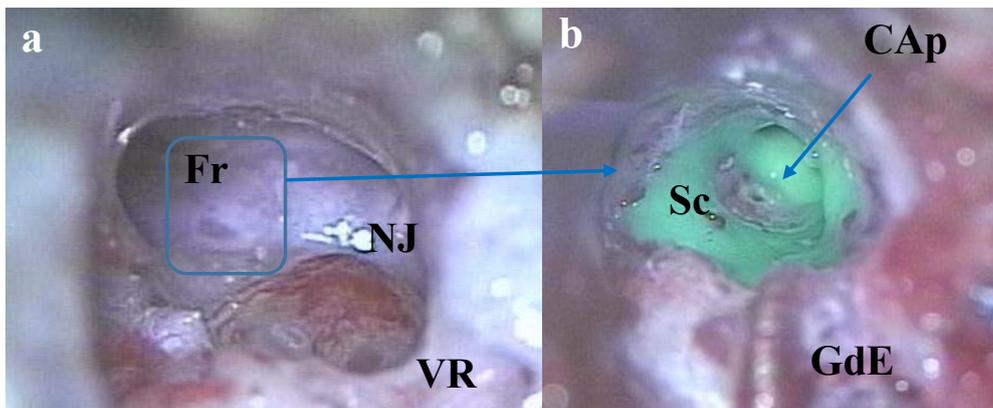


Figura 4.7: Creación del *silicon cup* y apertura de la cápsula ótica. Imagen obtenida durante el segundo tiempo quirúrgico, correspondiente al espécimen Mf4-24h (a) y Mf1-7d (b). a. Preparación del ápex coclear para la cocleostomía apical. Fresado de la cápsula ótica (Fr). Se evidencia el nervio de Jacobson (NF) y la VR. b. Creación del *silicon cup* (Sc) y apertura de la cocleostomía apical (CAp), por medio del *pick angle*. Guía de electrodos (GdE) sobre región mastoidea.

3. Toma de muestras por medio de los tubos capilares (Figura 4.8).

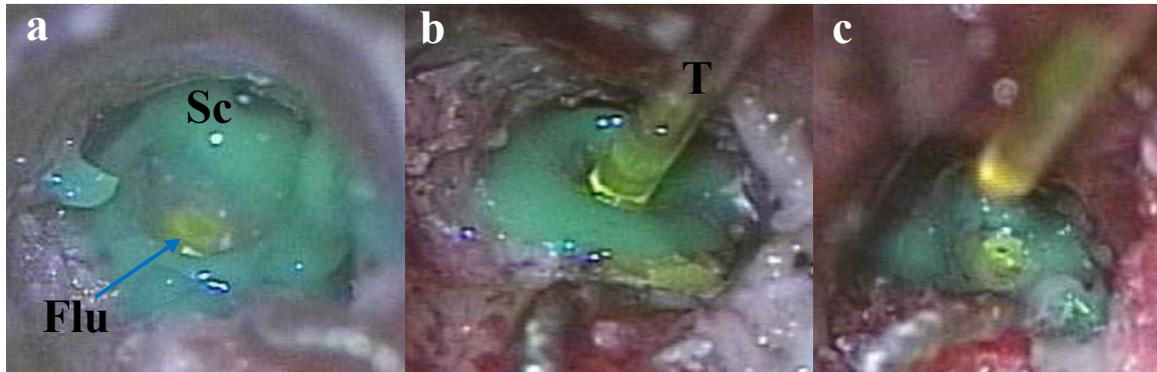


Figura 4.8: Toma de muestras por medio de tubos capilares. Imagen obtenida durante el segundo tiempo quirúrgico, correspondiente al espécimen Mf5-24h (a), Mf2-24h (b) y Mf5-7d (c). a. Salida de fluoresceína (Flu) tras apertura de la cocleostomía apical, una vez creado el *silicon cup* (Sc). b. Toma de muestras por medio de tubos capilares (T). c. Ausencia de pérdida de fluoresceína tras la retirada del tubo capilar, gracias a la adecuada creación previa del *silicon cup* (Sc).

4. Interrupción del flujo de liberación de FITC-Dextran y extracción del dispositivo implantado (Figura 4.9).

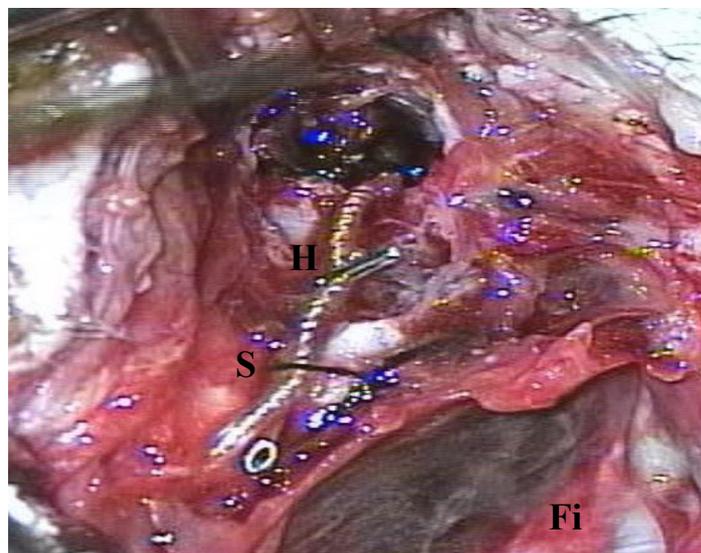


Figura 4.9: Interrupción del flujo de liberación y extracción del dispositivo implantado. Imagen obtenida durante el segundo tiempo quirúrgico, correspondiente al espécimen Mf1-7d. Guía de electrodos fijada con punto de sutura (S). Colocación de hemoclip (H) para interrupción del flujo de liberación de FITC-Dextran. Retirada del dispositivo implantado, evidenciándose la fibrosis (Fi) generada en el bolso subperióstico a nivel occipital.

Finalizado este segundo tiempo quirúrgico, la nueva Rx craneal realizada a cada espécimen corroboró, en todos los casos, la ausencia de desplazamientos o cualquier otra alteración del dispositivo a nivel intracoclear. Así mismo, el análisis histológico realizado tras el sacrificio animal verificó la correcta localización de la guía, a nivel de la ET, en los 15 especímenes intervenidos, así como permitió llevar a cabo el cálculo preciso de la profundidad de inserción.

### **4.1.3. Particularidades durante los procedimientos**

El dispositivo empleado en este estudio, asociado a una cánula de liberación, si bien fue diseñado de acuerdo a la estructura coclear del Mf, presenta unas dimensiones estructurales muy similares a los IC convencionales. Según valoración subjetiva del cirujano, ningún tipo de resistencia se evidenció durante la inserción del dispositivo. Igualmente, la localización del ápex coclear en el Mf no supuso una complicación reseñable.

Sin embargo, cabe remarcar dos principales dificultades durante los procedimientos:

1. Creación del nicho de cocleostomía. Si bien los pasos seguidos durante este proceso fueron aquellos descritos por el equipo de Salt [121], el grosor de la cápsula ótica en el Mf y en el Gp difiere levemente. La creación de este nicho de cocleostomía por medio del fresado y el posterior empleo del *pick angle* resultó ser algo más dificultosa en el Mf, dado el mayor grosor del hueso, sin llegar en ningún caso a perforar y alcanzar la ET, previo a la creación del nicho con cianoacrilato y silicona. Por otro lado, la creación de este nicho resultó ser igualmente algo dificultosa por la mayor humedad de la zona en el Mf. El adecuado secado evitó movimientos del *silicon cup* y, por tanto, pérdidas de perilinf-FITC-Dextran durante la toma de muestras.
2. Toma de muestras con los capilares. Siguiendo igualmente el procedimiento descrito por Salt [121], la principal dificultad evidenciada en el Mf fue lograr la correcta angulación del capilar durante la toma de las muestras, de forma que éste pudiera ejercer su “efecto succión” del líquido liberado. Para ello, en algunos especímenes fue necesario el fresado de la pared más anterior del CAE que permitiese, de esta forma, un acceso más perpendicular al área de cocleostomía.

A pesar de estas particularidades previamente expuestas, todos los procedimientos fueron llevados a cabo con éxito, sin evidenciar fallos en el transcurso de los mismos que pudieran condicionar los resultados obtenidos y su posterior interpretación.

## **4.2. Resultados en cada uno de los grupos a estudio**

### **4.2.1. Grupo 2 horas**

Los resultados referentes al Grupo 2 horas se resumen en la Tabla 4.2. De igual forma, en la Figura 4.10 se representan las concentraciones obtenidas de cada espécimen, junto con la concentración media de cada muestra y su intervalo de confianza al 95 %.

Tabla 4.2: Resumen de los resultados obtenidos en el Grupo 2 horas.

	Mf1-2h	Mf2-2h	Mf3-2h	Mf4-2h- OD*	Mf4-2h- OI*	Mf5-2h
<b>Procedim. quirúrgico</b>	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
<b>Función dispositivo</b>	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
<b>Inserción dispositivo</b>	VR (No Fr)	VR (No Fr)	VR (No Fr)	VR (No Fr)	VR (No Fr)	VR (No Fr)
<b>Sellado ventana</b>	Fascia	G	G	Fascia + G	Fascia + G	Fascia
<b>Fugas</b>	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí
<b>Nº muestras (min)**</b>	10 (35)	10 (37)	10 (21)	-	10 (31)	10 (13)
<b>Clasificación Eshraghi</b>	0	0	0	0	1	1
<b>Localización GdE</b>	ET	ET	ET	ET	ET	ET
<b>Ángulo inserción</b>	180-270°	>270°	180-270°	180-270°	180-270°	180-270°
<b>Long. inserción (mm)</b>	11	11	11	11	11	11
<b>Lugar cocleostomía</b>	Ápex	Ápex	Ápex	Ápex	Ápex	2ª Espira
<b>D. cocleostomía (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	-	154.60	-	319.51	209.15	-
<b>Hallazgos histológicos</b>						
- GdE	Extracción parcial	OK	Extracción total	OK	OK	OK
- VR	OK	OK	OK	OK	G	OK
- Ápex coclear	OK	Esquirlas óseas	Esquirlas óseas	Esquirlas óseas	Esquirlas óseas; Fractura inter-escalar	OK
- 2ª Espira	-	-	-	-	-	Esquirlas óseas

OD: oído derecho; OI: oído izquierdo; VR: ventana redonda; Fr: fresado del nicho de la ventana redonda; G: cianoacrilato; GdE: guía de electrodos; ET: escala timpánica; D.: diámetro mayor.

\*Los resultados obtenidos en el Mf4-2h-OD no fueron valorables por ausencia de flujo de perilinfa a través de la cocleostomía apical, por lo que se intervino el oído contraletal: Mf4-2h-OI.

\*\*Duración total del proceso de extracción de muestras en minutos.

En la Figura 4.10 puede observarse que las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas en el Grupo 2 horas permanecen relativamente estables, con una aparente tendencia levemente ascendente en las primeras muestras, hasta M7, en la que se alcanzan concentraciones máximas, y posterior a la cual las concentraciones parecen estabilizarse.

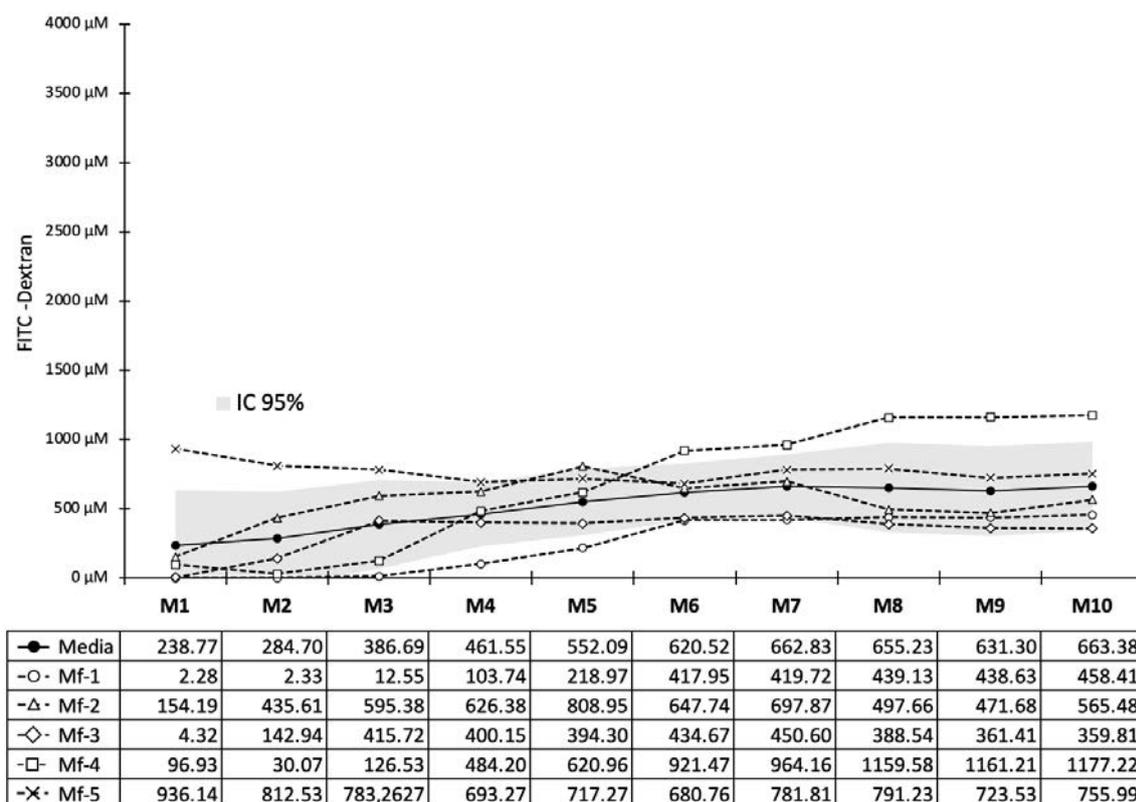


Figura 4.10: Concentraciones de FITC-Dextran obtenidas en el Grupo 2 horas. Todos los valores de la Figura se expresan en  $\mu\text{M}$ . Del espécimen Mf4-2h, se representa exclusivamente los valores del Mf4-2h-OI. El Mf4-2h-OD ha sido excluido, dada la falta de obtención de muestras.

A continuación se detallan los resultados específicos obtenidos para cada espécimen.

#### 4.2.1.1. *Macaca fascicularis* 1 (Mf1-2h)

##### 4.2.1.1.1. Datos demográficos

Mf codificado con el número #5118. Hembra, de 1800 g de peso.

##### 4.2.1.1.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos

**4.2.1.1.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído derecho, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Material y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, sin requerir fresado del nicho de la misma, siendo tras esto su membrana sellada

únicamente con fascia del músculo temporal. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital.

Una vez finalizado este procedimiento, el lecho quirúrgico se cubrió con un paño húmedo, manteniendo en todo momento la esterilidad, hasta haberse cumplido las 2 horas de liberación requeridas previas al comienzo del segundo tiempo quirúrgico.

**4.2.1.1.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico se lograron igualmente sin incidencias ni complicaciones. En este caso, en la observación de la VR se evidenciaron fugas de FITC-Dextran. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. Por medio de los tubos capilares, se obtuvieron un total de 10 muestras de perilinf-FITC-Dextran, sin evidenciar fugas a este nivel ni desplazamiento del *silicon cup* previamente creado. El volumen medio extraído en cada muestra fue de  $1.03 \pm 0.06 \mu\text{L}$ , con un rango que osciló entre 0.93 y  $1.13 \mu\text{L}$ . El tiempo total requerido para la toma del total de muestras fue de 35 minutos.

**4.2.1.1.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** El desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos tuvo lugar sin incidencias ni complicaciones, si bien cabe remarcar la pequeña fuga de FITC-Dextran a nivel de la VR, objetivada al inicio del segundo tiempo quirúrgico. La duración total del procedimiento fue de 215 minutos: 60 minutos se requirieron para la culminación del primer tiempo quirúrgico, las 2 horas posteriores fueron destinadas al proceso de liberación del FITC-Dextran y los restantes 35 minutos se correspondieron con el procedimiento de toma de muestras.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.11).

#### 4.2.1.1.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

La Figura 4.10 muestra las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas a partir de cada una de las muestras. Como puede observarse, en el caso del espécimen Mf1-2h, se evidencia una tendencia ascendente de las muestras, con una concentración mínima en M1 de  $2.28 \mu\text{M}$ , y una concentración máxima en M10 de  $458.41 \mu\text{M}$ .

#### 4.2.1.1.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a  $180\text{-}270^\circ$  (tercer cuadrante). No se produjeron daños a nivel histológico en la estructura coclear, obteniendo una puntuación en la clasificación de Eshraghi de

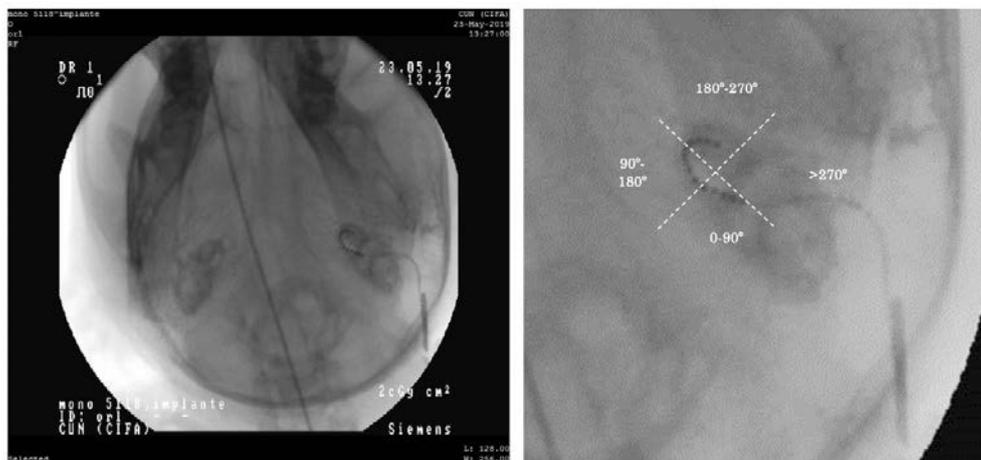


Figura 4.11: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf1-2h. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf1-2h tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de 180-270° (tercer cuadrante).

0 (Tabla 4.3). Durante el análisis histológico se produjo accidentalmente una parcial extrusión de la guía de electrodos.

Tabla 4.3: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf1-2h. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	0
90-180°	0
180-270°	0
>270°	0

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, en este caso cortes histológicos verificaron signos indirectos de la correcta localización a nivel del ápex coclear, sin embargo poder llegar a realizar una valoración de las dimensiones exactas de la misma. No se evidenciaron signos de fibrosis, osificación ni otros hallazgos relevantes. Igualmente se analizó en los cortes histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET, sin evidenciar, en este espécimen, compromiso del mismo.

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figuras 4.12 y 4.13).

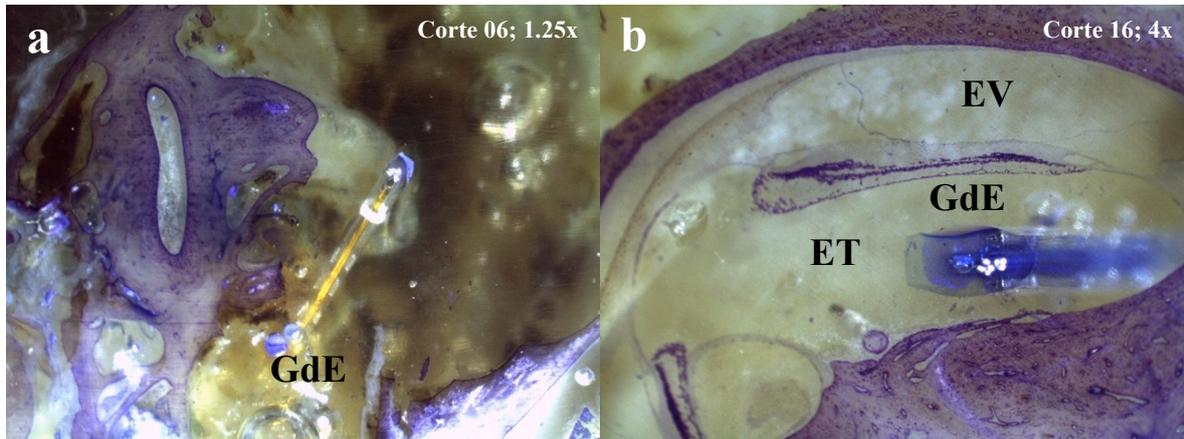


Figura 4.12: Guía de electrodos implantada en el Mf1-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf1-2h. a. Guía de electrodos (GdE) parcialmente extraída de la cóclea (primera marca y contactos). b. Dispositivo a nivel de la espira basal de la cóclea, en la ET, así como la ausencia de reacciones biológicas secundarias a su inserción.

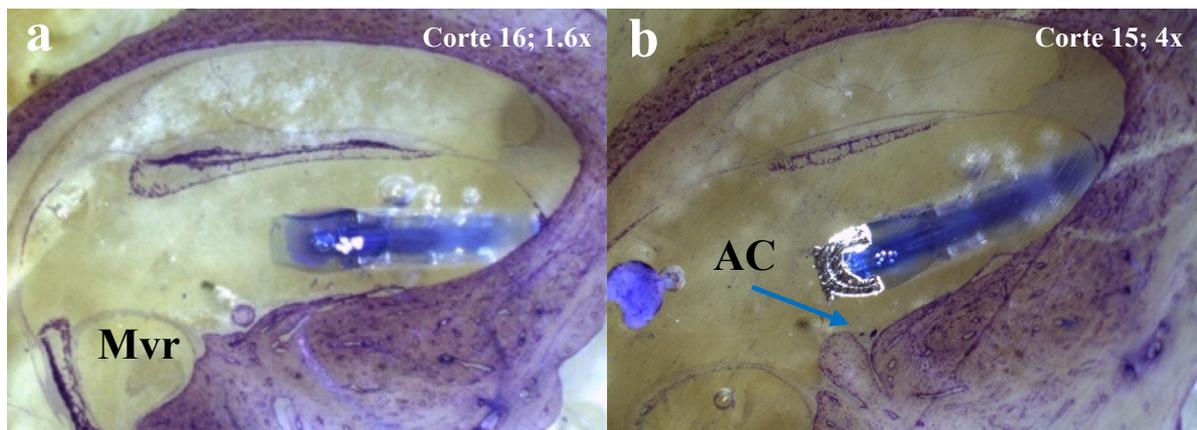


Figura 4.13: Estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf1-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf1-2h, que muestran en detalle: a. Estado de la membrana de la ventana redonda (Mvr). b. AC permeable, en su apertura a nivel de la ET.

2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.14).

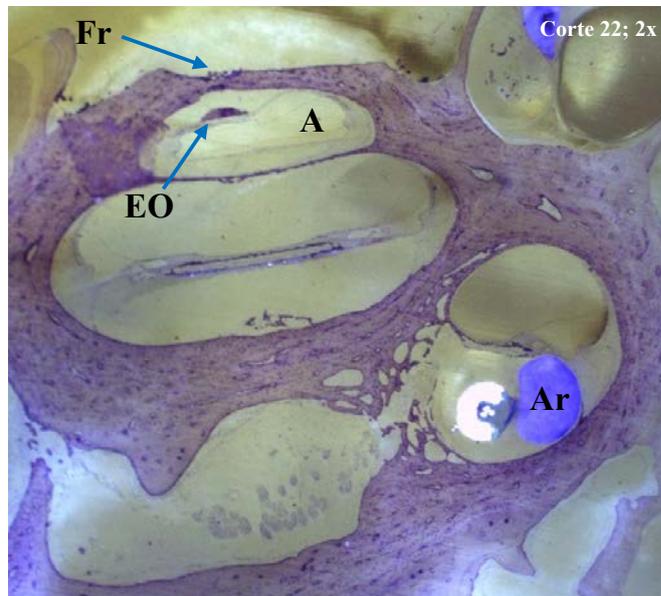


Figura 4.14: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf1-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf1-2h. Signos indirectos de la cocleostomía apical: hueso apical fresado (Fr), sin otros hallazgos histológicos relevantes, salvo pequeñas esquirilas óseas (EO) a nivel del ápex (A) coclear.

3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.15).

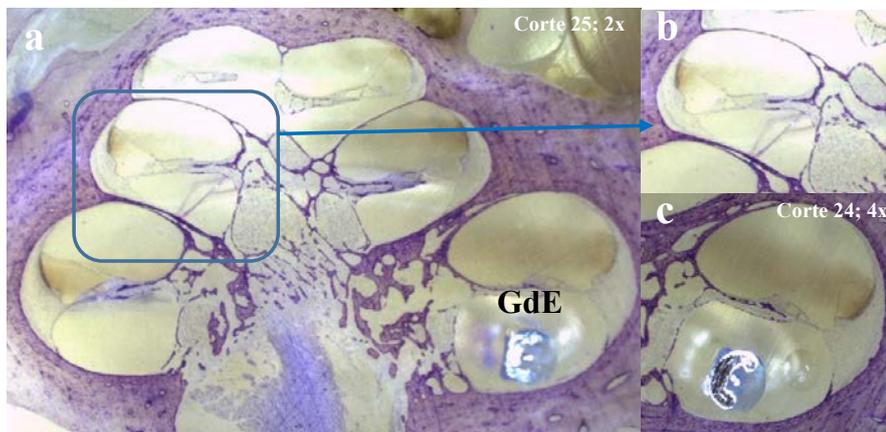


Figura 4.15: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf1-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf1-2h. Los cortes histológicos obtenidos no permiten la visualización de la guía de electrodos (GdE) a nivel del segundo cuadrante de la espira basal. a. Visión general de la cóclea que permite valorar la ausencia de trauma generado por la inserción. Clasificación de Eshraghi: 0. GdE en la ET. b. Detalle de la integridad de las estructuras a nivel de la segunda espira coclear. c. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la espira basal.

## 4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.16 y 4.17).

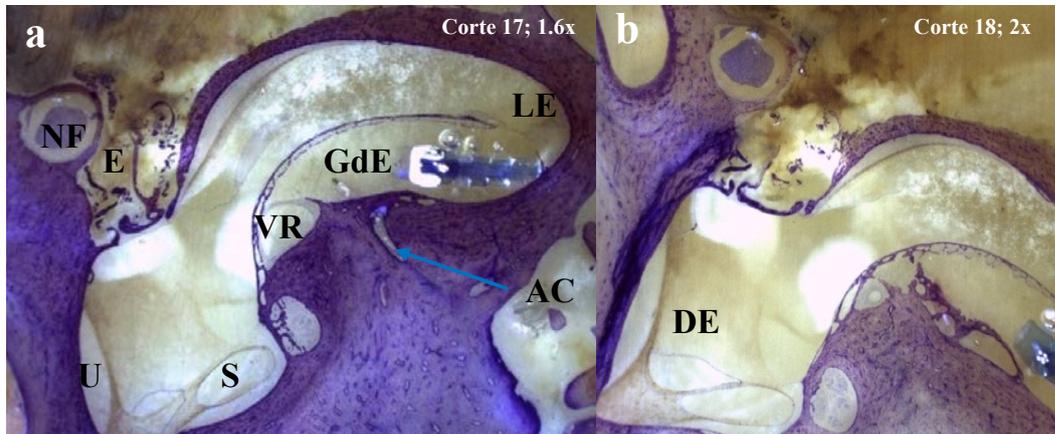


Figura 4.16: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf1-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf1-2h. a. Visión general del vestíbulo (V), el sáculo (S) y el utrículo (U), el ducto endolinfático (DE), el estribo (E) y el nervio facial (NF), la espira basal de la cóclea con la guía de electrodos (GdE), la VR, el ligamento espiral (LE) y el AC. b. Detalle del ducto endolinfático (DE).

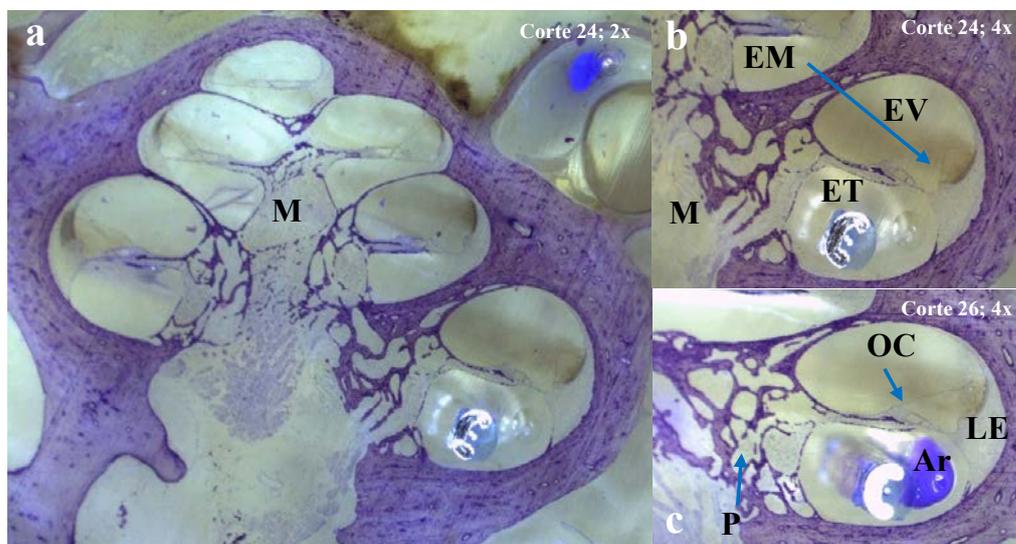


Figura 4.17: Visión general de la cóclea en el Mf1-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf1-2h. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM. c. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar (M), así como el buen estado del ligamento espiral (LE) y el Órgano de Corti (OC). Artefacto de tinción (Ar) en torno a la guía de electrodos).

#### **4.2.1.2. *Macaca fascicularis* 2 (Mf2-2h)**

##### **4.2.1.2.1. Datos demográficos**

Mf codificado con el número #1324. Hembra, de 3550 g de peso.

##### **4.2.1.2.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos**

**4.2.1.2.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído derecho, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Material y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, sin requerir fresado del nicho de la misma, siendo tras esto su membrana sellada únicamente con cianoacrilato. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital.

Una vez finalizado este procedimiento, el lecho quirúrgico se cubrió con un paño húmedo, manteniendo en todo momento la esterilidad, hasta haberse cumplido las 2 horas de liberación requeridas previas al comienzo del segundo tiempo quirúrgico.

**4.2.1.2.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico se lograron igualmente sin incidencias ni complicaciones. En este caso, en la observación de la VR se evidenciaron fugas de FITC-Dextran. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. Por medio de los tubos capilares, se obtuvieron un total de 10 muestras de perilinf-FITC-Dextran, sin evidenciar fugas a este nivel ni desplazamiento del *silicon cup* previamente creado. El volumen medio extraído en cada muestra fue de  $1 \pm 0.07 \mu\text{L}$ , con un rango que osciló entre 0.8 y  $1.067 \mu\text{L}$ . El tiempo total requerido para la toma del total de muestras fue de 37 minutos.

**4.2.1.2.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** El desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos tuvo lugar sin incidencias ni complicaciones, si bien cabe remarcar la pequeña fuga de FITC-Dextran a nivel de la VR, objetivada al inicio del segundo tiempo quirúrgico. La duración total del procedimiento fue de 229 minutos: 70 minutos se requirieron para la culminación del primer tiempo quirúrgico, las 2 horas posteriores fueron destinadas al proceso de liberación del FITC-Dextran y los restantes 37 minutos se correspondieron con el procedimiento de toma de muestras.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.18).

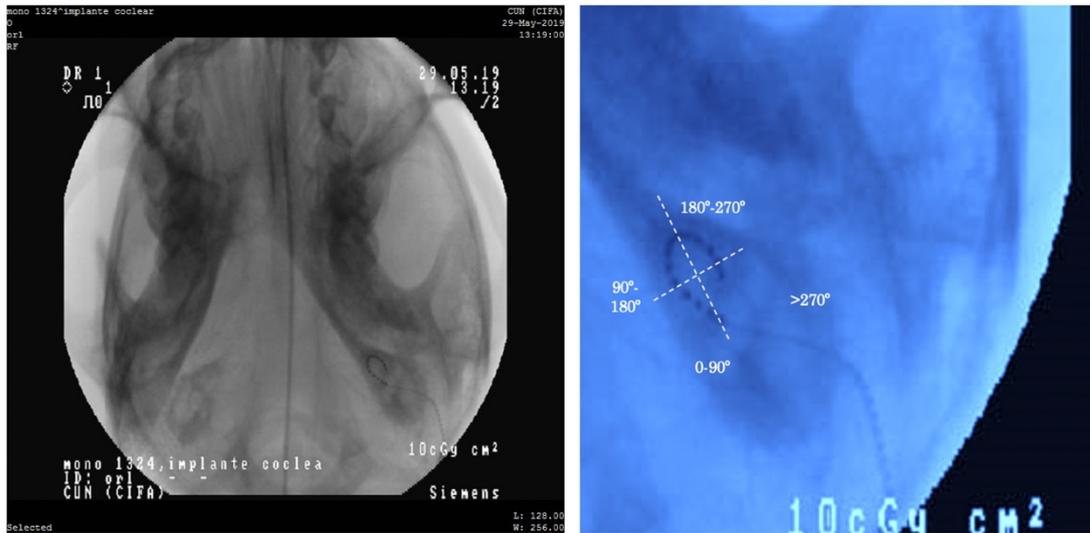


Figura 4.18: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf2-2h. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf2-2h tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de  $>270^\circ$  (cuarto cuadrante).

#### 4.2.1.2.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

La Figura 4.10 muestra las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas a partir de cada una de las muestras. En este caso, se observa un aumento de las concentraciones desde la muestra M1, que toma un valor de  $154.19 \mu\text{M}$ , constituyendo el valor mínimo, hasta la muestra M5, donde se observó el valor máximo de  $808.95 \mu\text{M}$ . Posteriormente se produjo un descenso gradual de las concentraciones hasta la muestra M10, alcanzando un valor de  $565.48 \mu\text{M}$ .

#### 4.2.1.2.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a  $>270^\circ$  (cuarto cuadrante). No se produjeron daños a nivel histológico en la estructura coclear, obteniendo una puntuación en la clasificación de Eshraghi de 0 (Tabla 4.4).

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, en este caso los cortes histológicos verificaron la correcta localización a nivel del ápex coclear, con unas dimensiones (longitud mayor de apertura de cocleostomía) de  $154.60 \mu\text{m}$ . No se evidenciaron signos de fibrosis, ni osificación, si bien pudieron apreciarse esquirlas óseas a nivel de la cocleostomía apical: ET y EV, en sus regiones más apicales. Igualmente se analizó en los cortes histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET, sin evidenciar, en este espécimen, compromiso del mismo.

Tabla 4.4: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf2-2h. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	0
90-180°	0
180-270°	0
>270°	0

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figura 4.19).

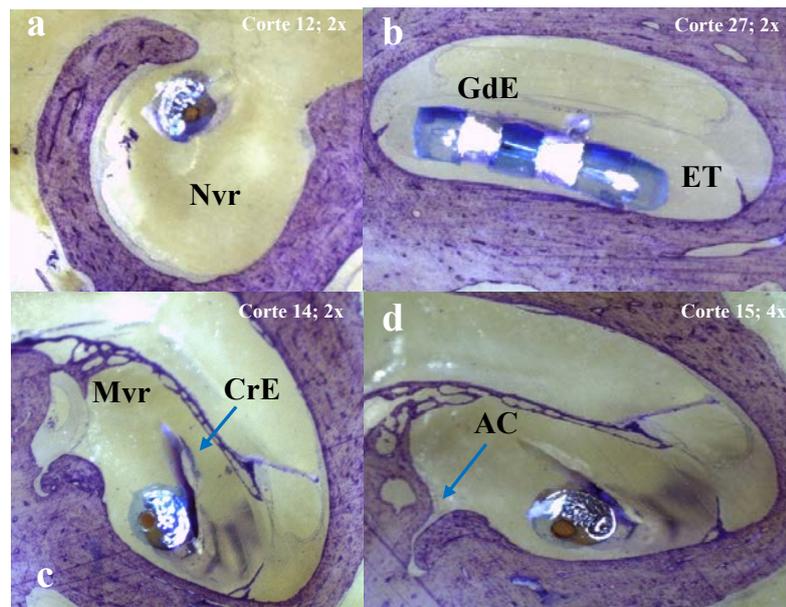


Figura 4.19: Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf2-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf2-2h. a. Nicho de la VR (Nvr), con la guía de electrodos (GdE) dentro de la espira basal de la cóclea. b. Adecuado estado de la GdE a nivel de la primera espira de la cóclea, en la ET. c. Dispositivo a nivel de la espira basal de la cóclea, en la ET. Ausencia de reacciones biológicas secundarias a su inserción, salvo Crack en Epoxi (CrE) en torno a la GdE. Estado de la membrana de la ventana redonda (Mvr); d. AC permeable, en su apertura a nivel de la ET.

## 2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.20).

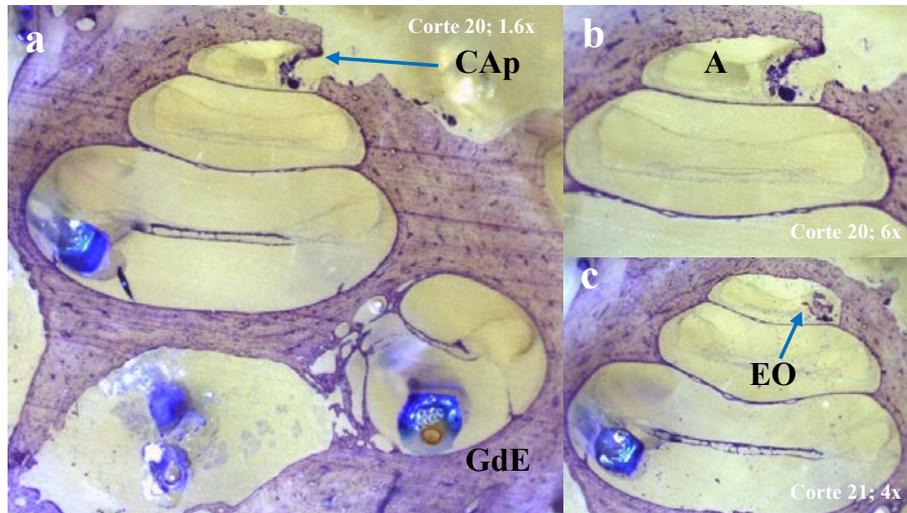


Figura 4.20: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf2-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf2-2h. a. Visión general de la cóclea que permite la comprobación de la adecuada localización de la guía de electrodos (GdE) a lo largo de la ET, así como de la cocleostomía apical (CAp). b. Detalle de la cocleostomía apical. Hueso apical fresado, con acceso a la región intracoclear, a nivel del ápex (A), para la toma de muestras. c. Esquirlas óseas (EO) en el interior de la cóclea, a nivel del ápex.

## 3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.15).

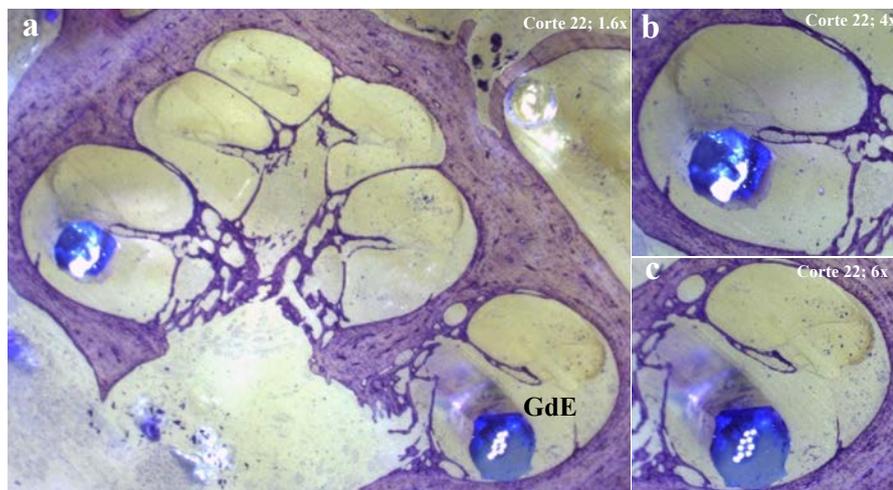


Figura 4.21: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf2-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf2-2h. a. Visión general de la cóclea que permite valorar la ausencia de trauma generado por la inserción. Clasificación de Eshraghi: 0. Guía de electrodos (GdE) en ET. b. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la primera espira coclear. c. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la espira basal.

4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.22 y 4.23).

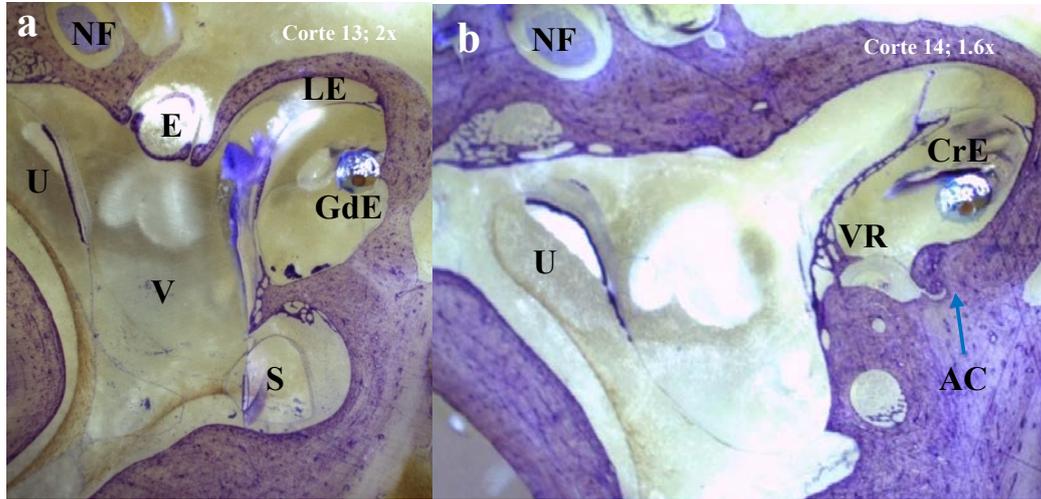


Figura 4.22: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf2-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf2-2h. a. Visión general del vestíbulo (V), el sáculo (S) y el utrículo (U), el estribo (E) y el nervio facial (NF), la espira basal de la cóclea con la guía de electrodos (GdE) y el ligamento espiral (LE). b. Detalle del U, pudiendo evidenciarse en el mismo corte histológico la entrada del AC en la ET y la VR.

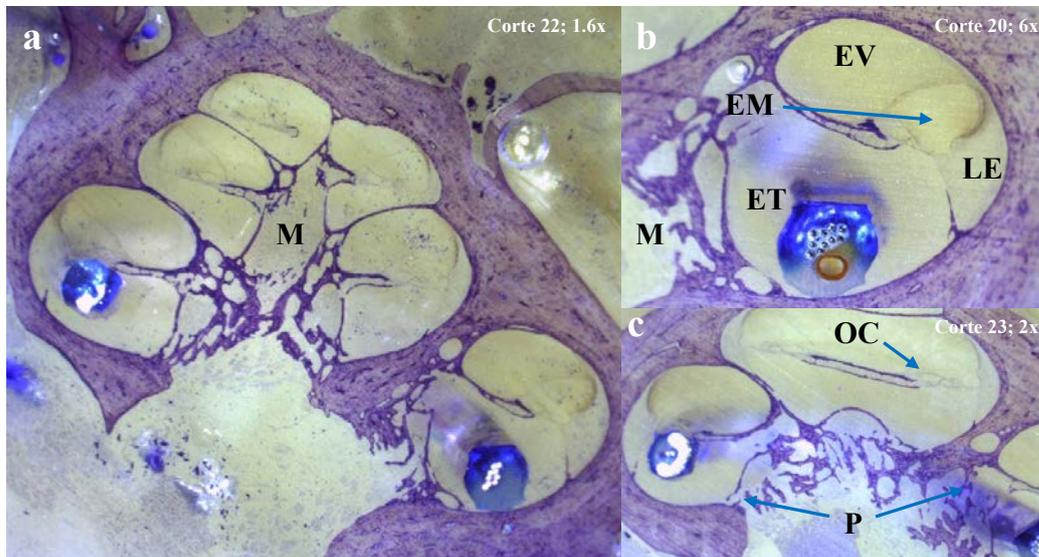


Figura 4.23: Visión general de la cóclea en el Mf2-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf2-2h. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM, así como el LE. c. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar (M), así como el Órgano de Corti (OC).

### 4.2.1.3. *Macaca fascicularis* 3 (Mf3-2h)

#### 4.2.1.3.1. Datos demográficos

Mf codificado con el número #5695. Hembra, de 3025 g de peso.

#### 4.2.1.3.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos

**4.2.1.3.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído derecho, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Material y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, sin requerir fresado del nicho de la misma, siendo tras esto su membrana sellada únicamente con cianoacrilato. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital.

Una vez finalizado este procedimiento, el lecho quirúrgico se cubrió con un paño húmedo, manteniendo en todo momento la esterilidad, hasta haberse cumplido las 2 horas de liberación requeridas previas al comienzo del segundo tiempo quirúrgico.

**4.2.1.3.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico se lograron igualmente sin incidencias ni complicaciones. En este caso, en la observación de la VR se evidenciaron fugas de FITC-Dextran. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. Por medio de los tubos capilares, se obtuvieron un total de 10 muestras de perilinf-FITC-Dextran, sin evidenciar fugas a este nivel ni desplazamiento del *silicon cup* previamente creado. El volumen medio extraído en cada muestra fue de  $1.08 \pm 0.12 \mu\text{L}$ , con un rango que osciló entre 1 y  $1.4 \mu\text{L}$ . El tiempo total requerido para la toma del total de muestras fue de 21 minutos.

**4.2.1.3.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** El desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos tuvo lugar sin incidencias ni complicaciones, si bien cabe remarcar la pequeña fuga de FITC-Dextran a nivel de la VR, objetivada al inicio del segundo tiempo quirúrgico. La duración total del procedimiento fue de 266 minutos: 125 minutos se requirieron para la culminación del primer tiempo quirúrgico, las 2 horas posteriores fueron destinadas al proceso de liberación del FITC-Dextran y los restantes 21 minutos se correspondieron con el procedimiento de toma de muestras.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.24).

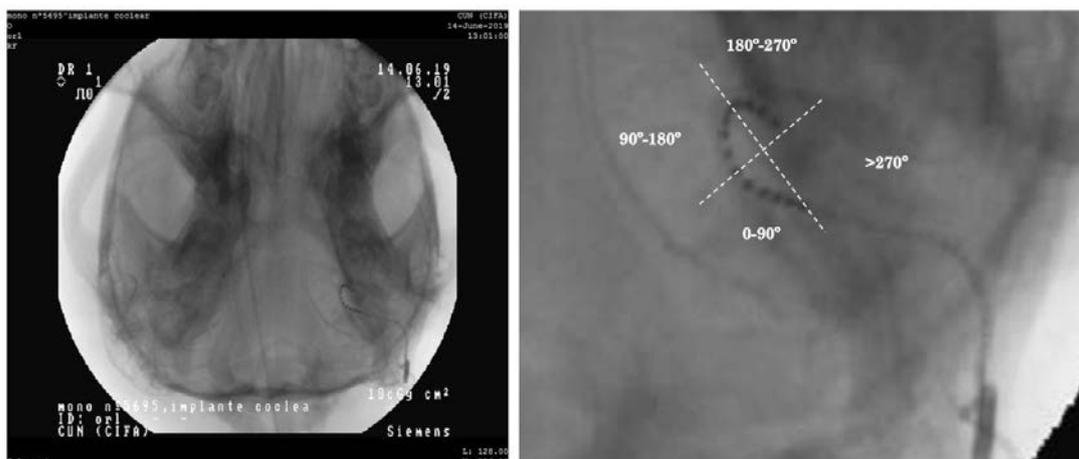


Figura 4.24: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf3-2h. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf3-2h tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de 180-270° (tercer cuadrante).

#### 4.2.1.3.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

La Figura 4.10 muestra las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas a partir de cada una de las muestras. En este caso, se observa un aumento de las concentraciones desde la muestra M1, que toma un valor de  $4.32 \mu\text{M}$ , constituyendo el valor mínimo, hasta la muestra M7, donde se observó el valor máximo de  $450.60 \mu\text{M}$ . Posteriormente se produjo un descenso gradual de las concentraciones hasta la muestra M10, alcanzando un valor de  $359.81 \mu\text{M}$ .

#### 4.2.1.3.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a 180-270° (tercer cuadrante). No se produjeron daños a nivel histológico en la estructura coclear, obteniendo una puntuación en la clasificación de Eshraghi de 0 (Tabla 4.5). Durante el análisis histológico se produjo accidentalmente una parcial extrusión de la guía de electrodos.

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, en este caso los cortes histológicos realizados verificaron signos indirectos de la correcta localización a nivel del ápex coclear, sin embargo poder llegar a realizar una valoración de las dimensiones exactas de la misma. No se evidenciaron signos de fibrosis ni osificación, si bien pudieron apreciarse esquirlas óseas a nivel de la cocleostomía apical: ET y EV, en sus regiones más apicales. Igualmente se analizó en los cortes histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET, sin evidenciar, en este espécimen, compromiso del mismo.

Tabla 4.5: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf3-2h. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	0
90-180°	0
180-270°	0
>270°	0

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figuras 4.25 y 4.26).

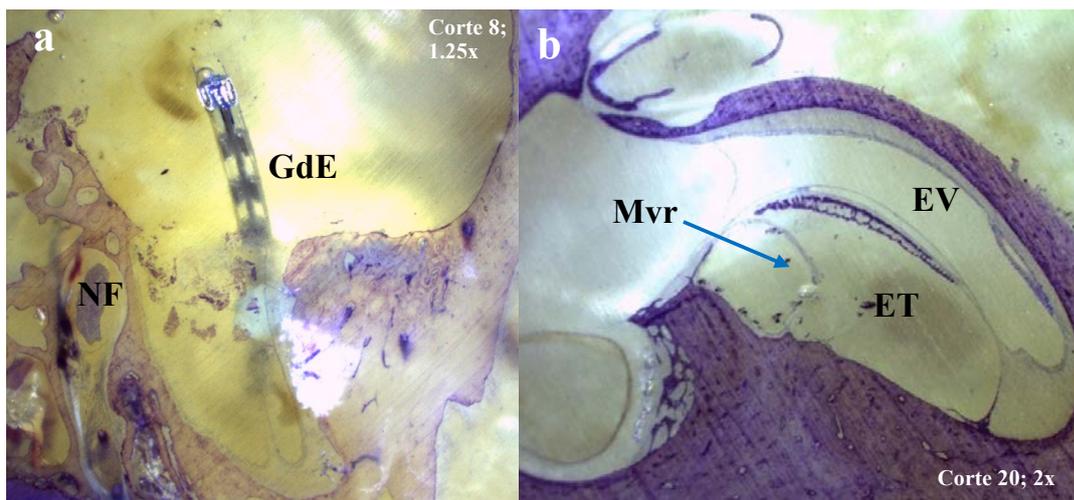


Figura 4.25: Guía de electrodos implantada en el Mf3-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-2h. a. Guía de electrodos (GdE) fuera de la cóclea (primera marca y contactos). b. Dada la accidental extrusión, no se evidencia dispositivo a nivel de la espira basal de la cóclea, en la ET. Estado de la membrana de la VR (Mvr) y de la EV.

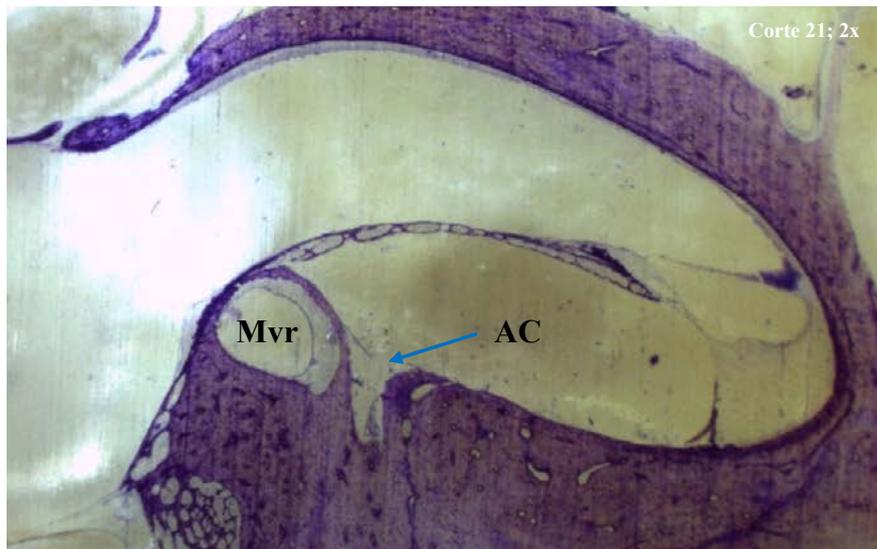


Figura 4.26: Estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf3-2h. Corte histológico correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-2h, que muestran en detalle: el estado de la membrana de la ventana redonda (Mvr) y el AC permeable, en su apertura a nivel de la ET.

## 2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.27).

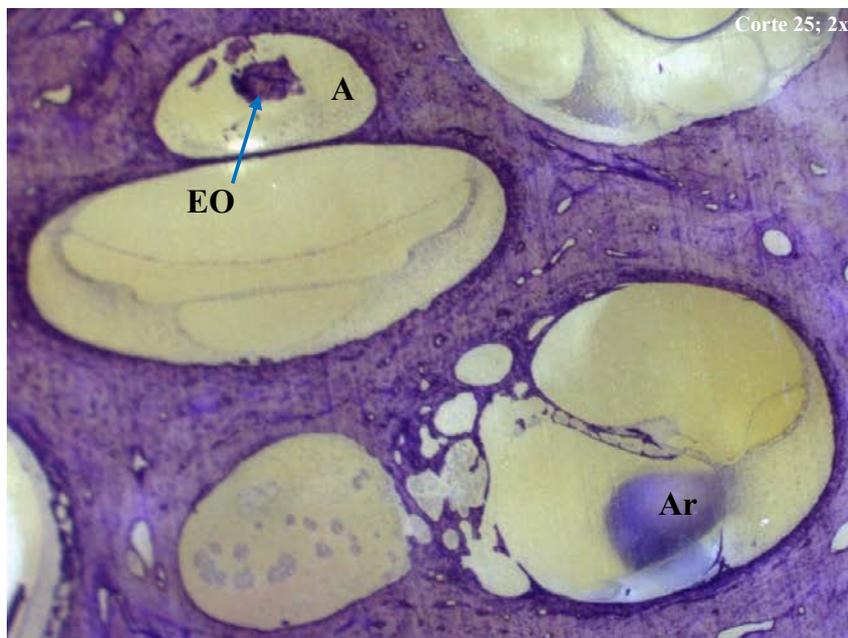


Figura 4.27: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf3-2h. Corte histológico correspondiente al oído derecho del espécimen Mf3-2h. Signos indirectos de la cocleostomía apical: esquirlas óseas (EO) a nivel del ápex coclear (A), sin otros hallazgos histológicos relevantes. Artefacto (Ar) de tinción a nivel de la escala basal, en probable relación con el área donde se encontraba localizada la guía de electrodos (GdE).

## 3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.28).

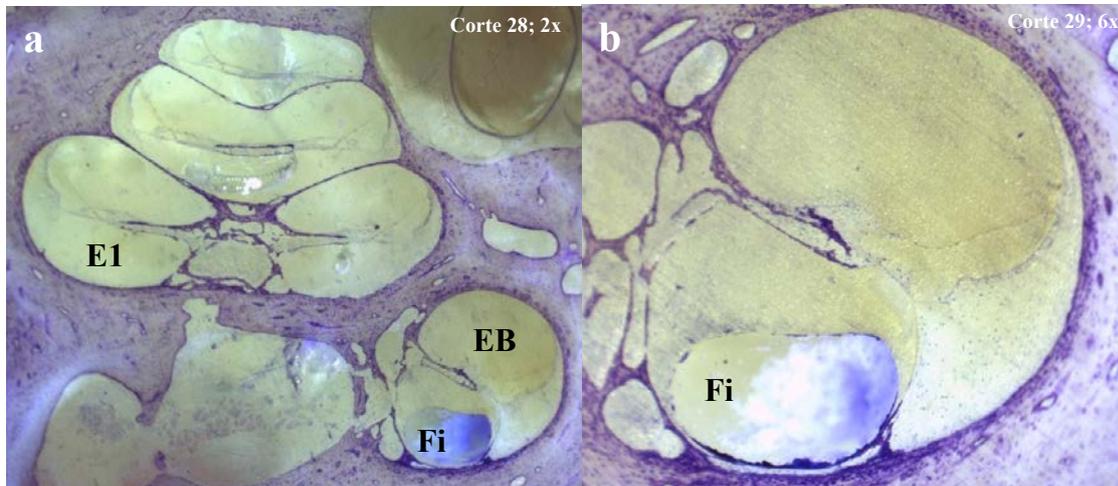


Figura 4.28: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf3-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-2h. a. Visión general de la cóclea que permite valorar la ausencia de trauma generado por la inserción, tanto a nivel de la espira basal (EB) como de la primera espira (E1). b. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la espira basal, si bien dada la accidental extrusión de la guía de electrodos (GdE) durante el análisis histológico, los cortes obtenidos únicamente muestran el lecho fibroso (Fi) generado en torno a la misma. Clasificación de Eshraghi: 0.

## 4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.29 y 4.30).

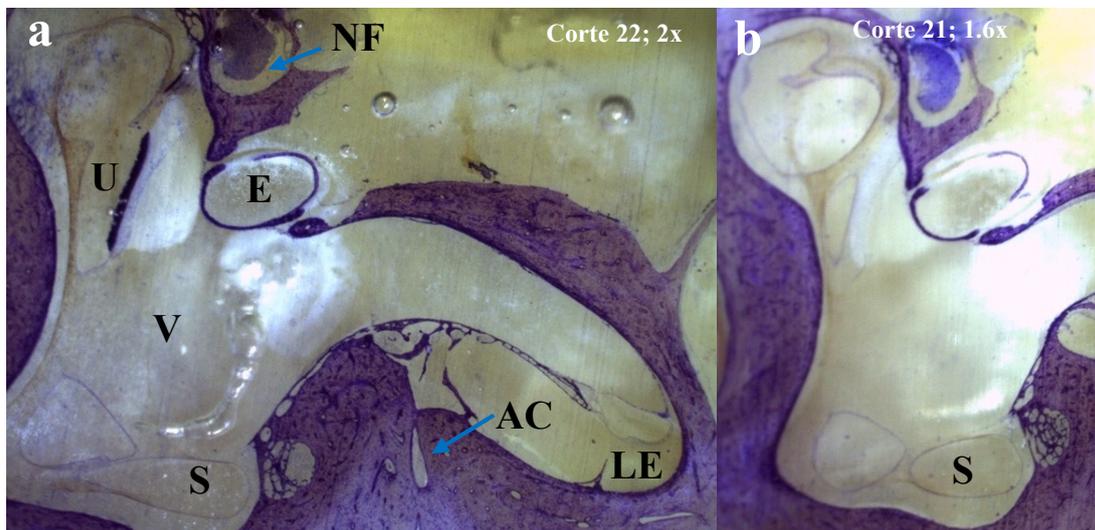


Figura 4.29: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf3-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-2h. a. Visión general del vestíbulo (V), el sáculo (S) y el utrículo (U), el estribo (E) y el nervio facial (NF), la espira basal de la cóclea, el ligamento espiral (LE) y el AC. b. Detalle del V, con visualización del S.

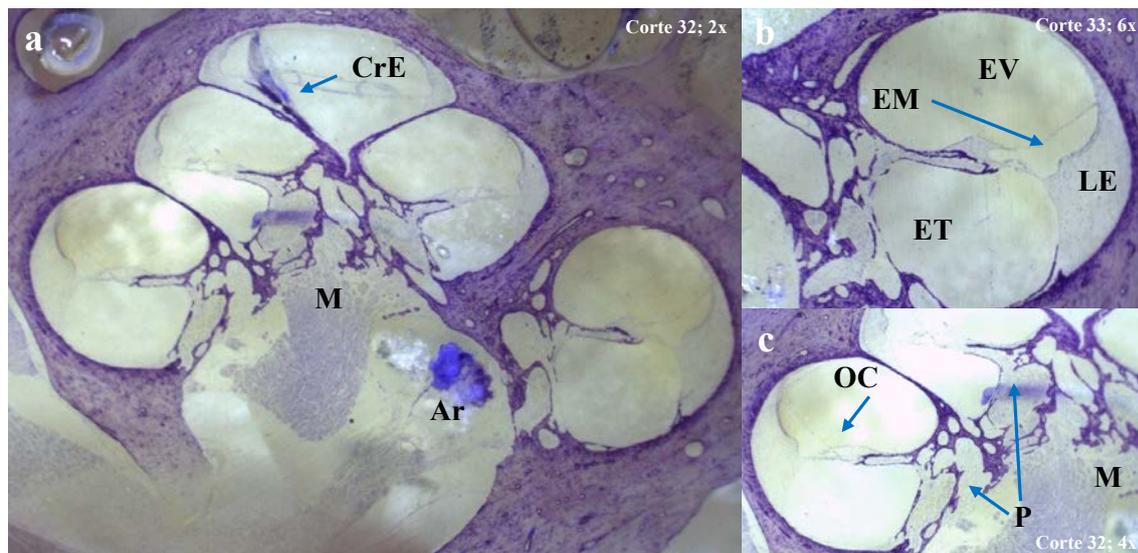


Figura 4.30: Visión general de la cóclea en el Mf3-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-2h. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). Crack en Epoxi (CrE) a nivel apical. Artefacto de tinción (Ar). b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM; así como de la ausencia de daños a nivel del ligamento espiral (LE). c. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar (M), así como el Órgano de Corti (OC).

#### 4.2.1.4. *Macaca fascicularis* 4 (Mf4-2h)

Este espécimen fue implantado de forma bilateral, secuencial, debido al fallo en la toma de muestras en la primera cirugía, en el oído derecho. La decisión de llevar a cabo esta segunda cirugía sobre el oído izquierdo, y dado el aparente adecuado desarrollo previo del procedimiento quirúrgico, tenía el objetivo de esclarecer las causas de esta ausencia de flujo a través de la cóclea derecha, así como de obtener 10 muestras válidas para continuar el proceso de análisis seguido en el resto de los especímenes. El tiempo transcurrido entre la intervención sobre el oído derecho y sobre el oído izquierdo, fue de 1 mes. Durante este periodo de tiempo, y una vez habiendo sido retirado el dispositivo colocado sobre el oído derecho, se mantuvo al espécimen en su jaula individual, alimentado y con acceso a agua, fruta fresca y frutos secos a voluntad, hasta la segunda intervención quirúrgica. Una vez finalizada esta última, se procedió a la eutanasia del Mf para extracción y posterior análisis histológico de ambos huesos temporales.

A continuación, se recogen los datos desglosados, en función del oído implantado. El análisis de resultados, así como su comparación con el resto de los especímenes que componen este grupo y los dos grupos restantes, se realizó a partir de las conclusiones obtenidas de la cirugía del oído izquierdo (Mf4-2h-OI).

#### 4.2.1.5. *Macaca fascicularis* 4, oído derecho (Mf4-2h-OD)

##### 4.2.1.5.1. Datos demográficos

Mf codificado con el número #7231. Hembra, de 3220 g de peso.

##### 4.2.1.5.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos

**4.2.1.5.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído derecho, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Material y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, sin requerir fresado del nicho de la misma, y siendo tras esto su membrana sellada con la asociación de F y cianoacrilato, dispuestos sobre la misma en ese orden. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital.

Una vez finalizado este procedimiento, el lecho quirúrgico se cubrió con un paño húmedo, manteniendo en todo momento la esterilidad, hasta haberse cumplido las 2 horas de liberación requeridas previas al comienzo del segundo tiempo quirúrgico.

**4.2.1.5.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico no se alcanzaron. En este caso, en la observación de la VR no se evidenciaron fugas de FITC-Dextran. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. A pesar de estimar un desarrollo adecuado de estos procedimientos, no se logró la obtención de ninguna muestra de perilinfa-FITC-Dextran, por medio de los tubos capilares. Esta situación no cambió pese a la revisión y repetición de la maniobra de apertura de la luz coclear a nivel apical mediante el uso del *pick angle*.

En este caso, tras la retirada del dispositivo implantado, el lecho quirúrgico fue nuevamente suturado. Una vez realizada la radiografía craneal de control, se retiró la anestesia y el Mf fue desintubado y trasladado nuevamente a su jaula a la espera de la realización de la cirugía sobre el oído izquierdo.

**4.2.1.5.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** A pesar del correcto desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos, la falta de obtención de muestras hizo que este espécimen no pudiera ser considerado valorable. La duración total del procedimiento no fue estimada en este caso, pues no se pudo establecer un tiempo de toma de muestras, dada la ausencia de obtención de las mismas. El tiempo requerido para la culminación del primer tiempo quirúrgico fue de 100 minutos y las 2 horas posteriores fueron destinadas al proceso de liberación del FITC-Dextran.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.31).



Figura 4.31: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf4-2h-OD. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf4-2h-OD tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de 180-270° (tercer cuadrante).

#### 4.2.1.5.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

No se pudo obtener ninguna muestra de perilinf-FITC-Dextran, por lo que no se puede establecer un rango de concentraciones. No se evidenció ningún flujo de perilinf durante el transcurso del segundo tiempo quirúrgico.

#### 4.2.1.5.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a 180-270° (tercer cuadrante). No se produjeron daños a nivel histológico en la estructura coclear, obteniendo una puntuación en la clasificación de Eshraghi de 0 (Tabla 4.6).

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, en este caso los cortes histológicos verificaron la localización a nivel del ápex coclear, con unas dimensiones de 319.51  $\mu\text{m}$ . No se evidenciaron signos de fibrosis ni osificación, si bien pudieron apreciarse abundantes esquirlas óseas a nivel de la cocleostomía apical: ET y EV, en sus regiones más apicales. Igualmente se analizó en los cortes histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET, sin evidenciar, en este espécimen, compromiso del mismo.

Tabla 4.6: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-2h-OD. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	0
90-180°	0
180-270°	0
>270°	0

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figura 4.32).

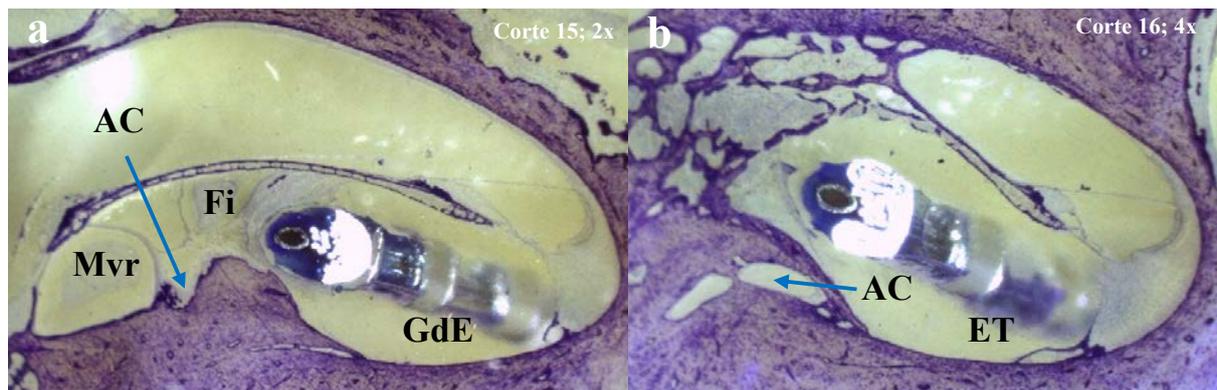


Figura 4.32: Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf4-2h-OD. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-2h-OD. a. Adecuado estado de la GdE a nivel de la espira basal de la cóclea, en la ET. Evidencia de leve reacción biológica (Fi) secundaria a su inserción. Estado de la membrana de la ventana redonda (Mvr) y localización del punto de apertura del AC a nivel de la ET. b. AC permeable, a nivel de la ET.

2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.33).

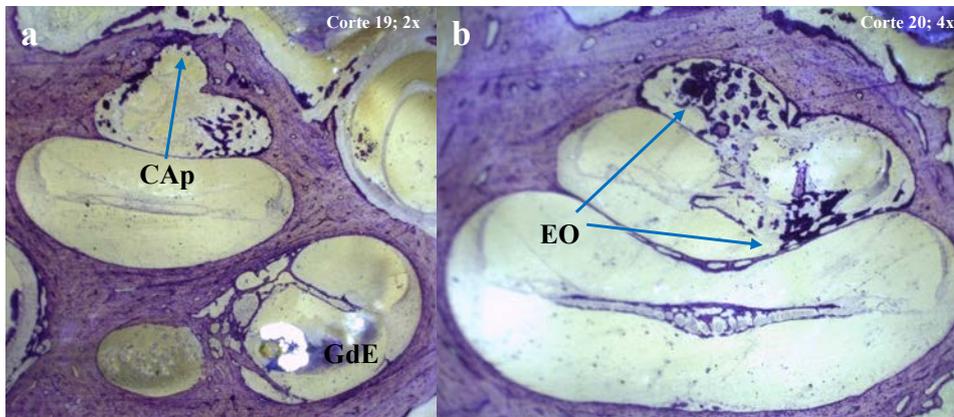


Figura 4.33: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf4-2h-OD. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-2h-OD. a. Visión general de la cóclea que permite la comprobación de la adecuada localización de la guía de electrodos (GdE) en la ET, así como de la cocleostomía apical (CAp), pudiendo apreciarse el hueso apical fresado, con acceso a la región intracoclear para la toma de muestras. Mayor trauma a nivel apical por la repetición de maniobras de apertura de la luz coclear. b. Abundantes esquirlas óseas (EO) en el interior de la cóclea, a nivel del principalmente del ápex y de la segunda espira.

3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.34).

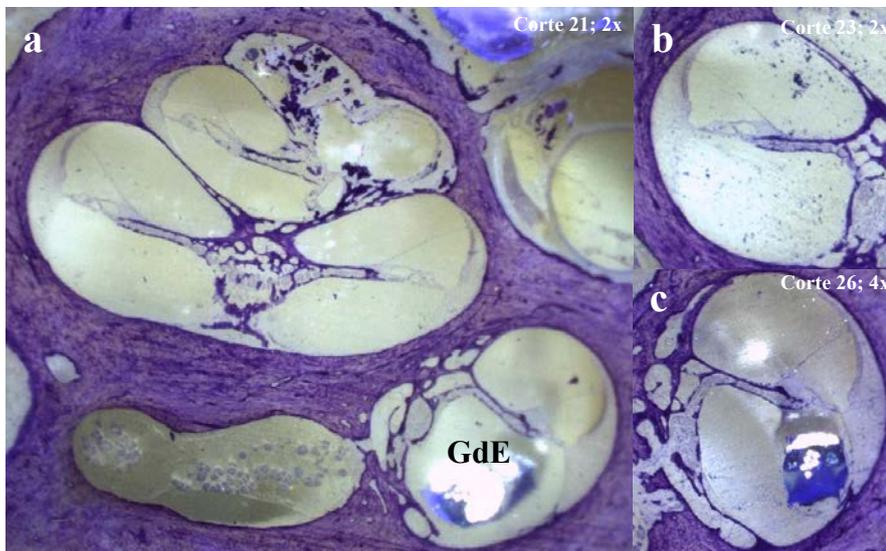


Figura 4.34: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-2h-OD. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-2h-OD. a. Visión general de la cóclea que permite valorar la ausencia de trauma generado por la inserción. Guía de electrodos (GdE) en espira basal. b. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la primera espira coclear, si bien los cortes histológicos obtenidos no permiten la visualización de la GdE a este nivel. c. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la espira basal. Clasificación de Eshraghi: 0.

## 4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.35 y 4.36).

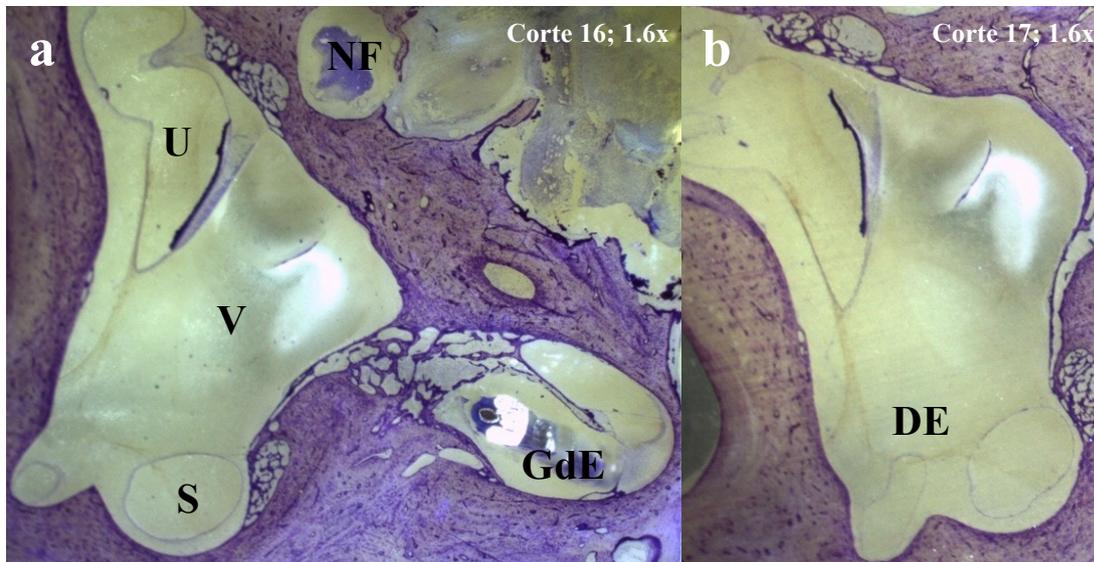


Figura 4.35: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf4-2h-OD. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-2h-OD. a. Visión general del vestíbulo (V), el sáculo (S) y el utrículo (U) y el nervio facial (NF) y la espira basal de la cóclea con la guía de electrodos (GdE). b. Detalle del ducto endolinfático (DE).

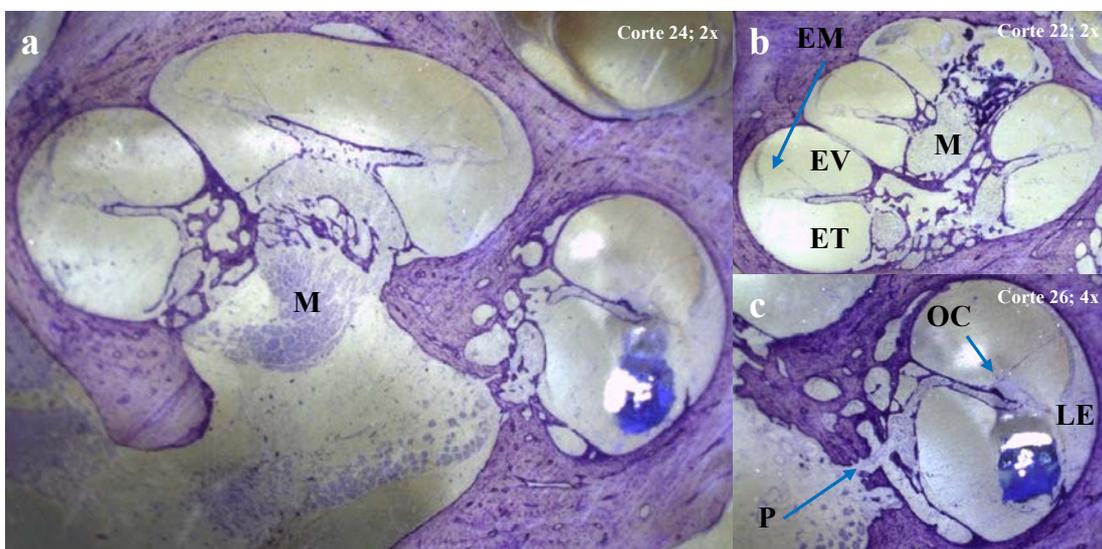


Figura 4.36: Visión general de la cóclea en el Mf4-2h-OD. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-2h-OD. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM. c. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar (M), así como el buen estado del ligamento espiral (LE) y el Órgano de Corti (OC).

#### 4.2.1.6. *Macaca fascicularis* 4, oído izquierdo (Mf4-2h-OI)

##### 4.2.1.6.1. Datos demográficos

Mf codificado con el número #7231. Hembra, de 3220 g de peso.

##### 4.2.1.6.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos

**4.2.1.6.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído izquierdo, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Material y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, sin requerir fresado del nicho de la misma, y siendo tras esto su membrana sellada con la asociación de F y cianoacrilato, dispuestos sobre la misma en ese orden. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital.

Una vez finalizado este procedimiento, el lecho quirúrgico se cubrió con un paño húmedo, manteniendo en todo momento la esterilidad, hasta haberse cumplido las 2 horas de liberación requeridas previas al comienzo del segundo tiempo quirúrgico.

**4.2.1.6.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico se lograron igualmente sin incidencias ni complicaciones. En este caso, en la observación de la VR se evidenciaron fugas de FITC-Dextran, si bien parecían ser subjetivamente menores que en los casos previos. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. Por medio de los tubos capilares, se obtuvieron un total de 10 muestras de perilinfa-FITC-Dextran, sin evidenciar fugas a este nivel ni desplazamiento del *silicon cup*, previamente creado. El volumen medio extraído en cada muestra fue de  $1.08 \pm 0.12 \mu\text{L}$ , con un rango que osciló entre 1.01 y  $0.07 \mu\text{L}$ . El tiempo total requerido para la toma del total de muestras fue de 31 minutos.

**4.2.1.6.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** El desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos tuvo lugar sin incidencias ni complicaciones, si bien cabe remarcar la pequeña fuga de FITC-Dextran a nivel de la VR, objetivada al inicio del segundo tiempo quirúrgico. La duración total del procedimiento fue de 201 minutos: 50 minutos se requirieron para la culminación del primer tiempo quirúrgico, las 2 horas posteriores fueron destinadas al proceso de liberación del FITC-Dextran y los restantes 31 minutos se correspondieron con el procedimiento de toma de muestras.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.37).

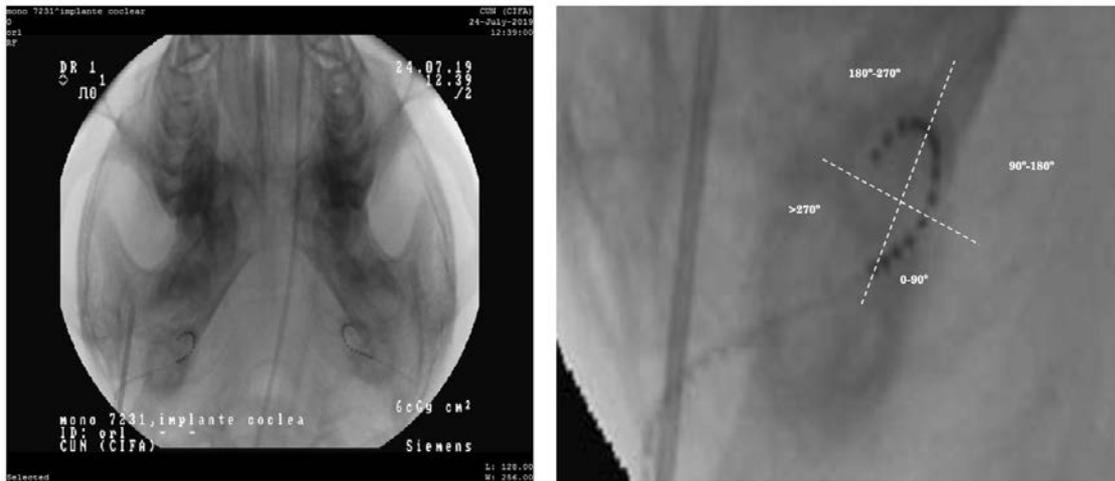


Figura 4.37: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf4-2h-OI. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf4-2h-OI tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de  $180\text{-}270^\circ$  (tercer cuadrante).

#### 4.2.1.6.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

La Figura 4.10 muestra las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas a partir de cada una de las muestras. En este caso, se observa un aumento progresivo de las concentraciones desde la muestra M1, que toma un valor de  $96.93 \mu\text{M}$ , hasta la muestra M10, donde se observó el valor máximo de  $1177.22 \mu\text{M}$ . El valor mínimo correspondiente a  $30.07 \mu\text{M}$  se alcanzó en M2.

#### 4.2.1.6.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a  $180\text{-}270^\circ$  (tercer cuadrante). La puntuación obtenida en la clasificación de Eshraghi fue de 1 (Tabla 4.7).

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, en este caso los cortes histológicos verificaron la localización a nivel del ápex coclear, con unas dimensiones de  $209.15 \mu\text{m}$ . No se evidenciaron signos de fibrosis ni osificación, si bien pudieron apreciarse esquizas óseas a nivel de la cocleostomía apical: ET y EV, en sus regiones más apicales, junto con fractura inter-escalara; así como restos de cianoacrilato a nivel basal de la ET, próximo a la región de la VR. Igualmente se analizó en los cortes histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET, sin evidenciar, en este espécimen, compromiso del mismo.

Tabla 4.7: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-2h-OI. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	1
90-180°	1
180-270°	0
>270°	0

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figura 4.38).

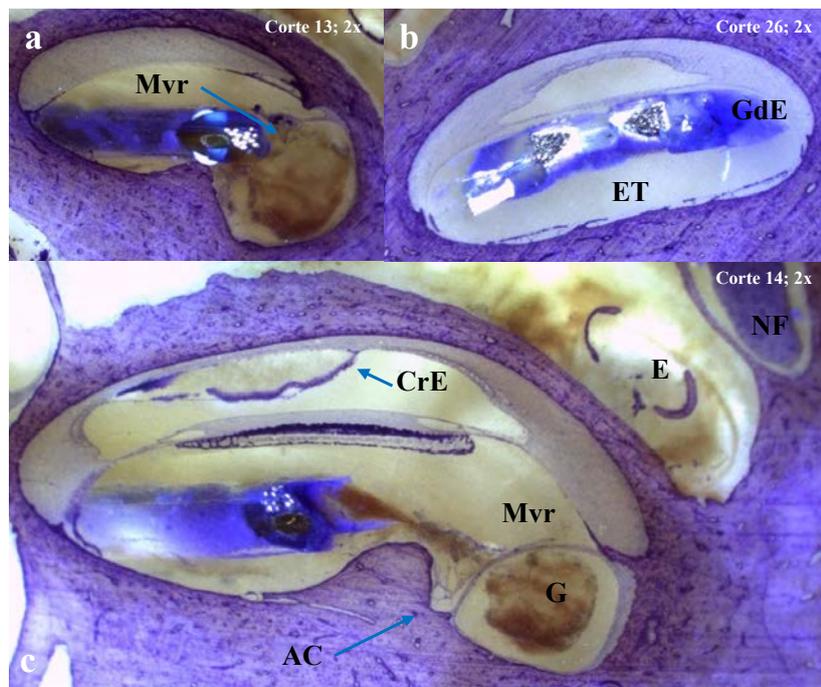


Figura 4.38: Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf4-2h-OI. Cortes histológicos correspondientes al oído izquierdo del espécimen Mf4-2h-OI. a. Visualización parcial de la membrana de la VR (Mvr), con la guía de electrodos (GdE) en su entrada a espira basal de la cóclea. b. Adecuado estado de la GdE a nivel de la primera espira de la cóclea, en la ET. c. Dispositivo a nivel de la espira basal de la cóclea, en la ET. Ausencia de reacciones biológicas secundarias a su inserción, salvo Crack en Epoxi (CrE) en la EV y restos de cianoacrilato (G) a nivel del nicho de la VR y en torno a la GdE, a su entrada en la ET. Estado de la Mvr. AC permeable, en su apertura a nivel de la ET. El corte histológico permite igualmente la visualización parcial del nervio facial (NF) y del estribo (E).

## 2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.39).

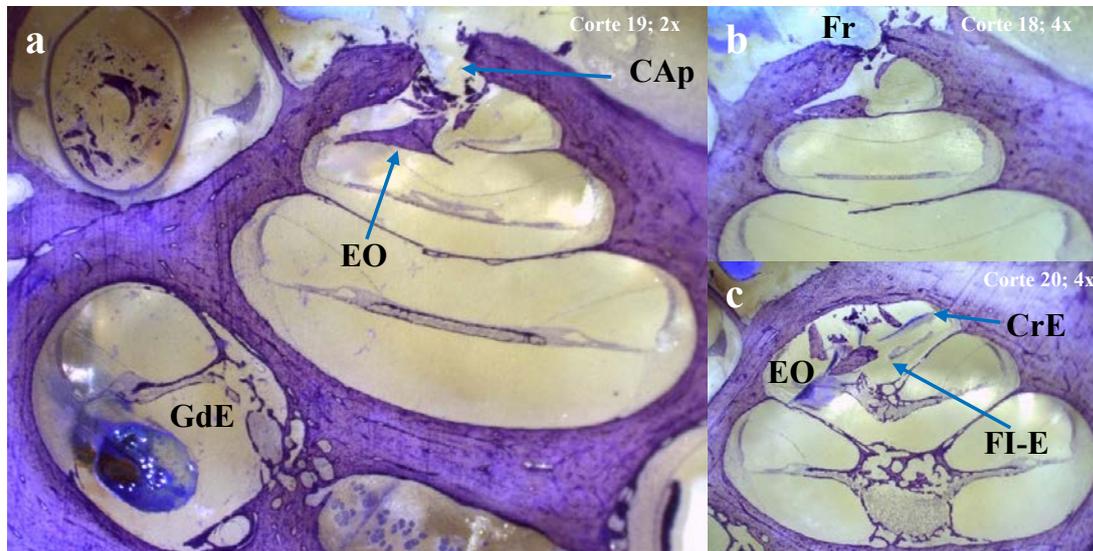


Figura 4.39: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf4-2h-OI. Cortes histológicos correspondientes al oído izquierdo del espécimen Mf4-2h-OI. a. Visión general de la cóclea que permite la comprobación de la adecuada localización de la guía de electrodos (GdE) a lo largo de la ET, así como de la cocleostomía apical (CAp). Esquirlas óseas (EO) en región apical. b. Detalle de la CAp. Hueso apical fresado (Fr), que permite el acceso a la región intracoclear para la toma de muestras. c. Esquirlas óseas (EO) en el interior de la cóclea, a nivel del ápex, junto con fractura inter-escalar (FI-E). Crack en Epoxi (CrE) como artefacto de la imagen.

## 3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.40).

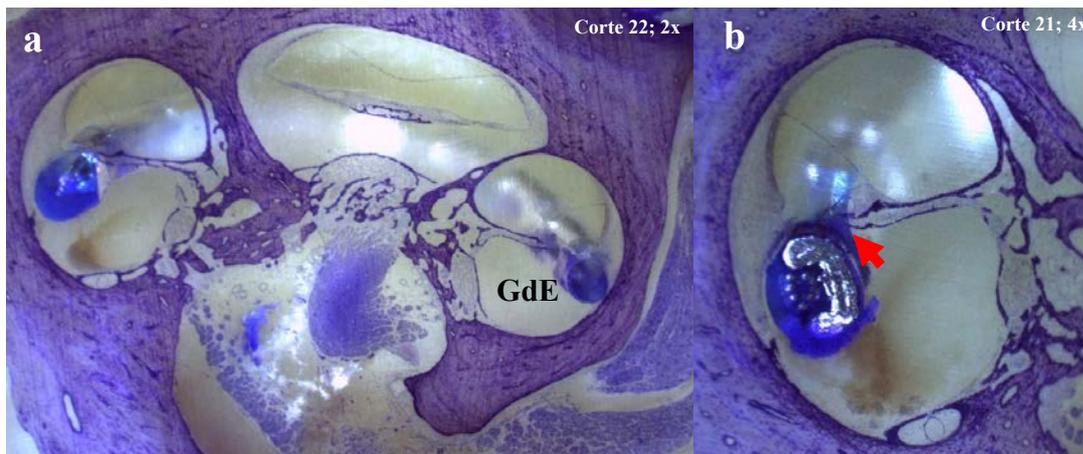


Figura 4.40: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-2h-OI. Cortes histológicos correspondientes al oído izquierdo del espécimen Mf4-2h-OI. a. Visión general de la cóclea que permite valorar el trauma generado por la inserción. b. Detalle del trauma generado a nivel de la primera espira, evidenciándose elevación de la membrana basilar (flecha roja). Clasificación de Eshraghi: 1.

4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.41 y 4.42).

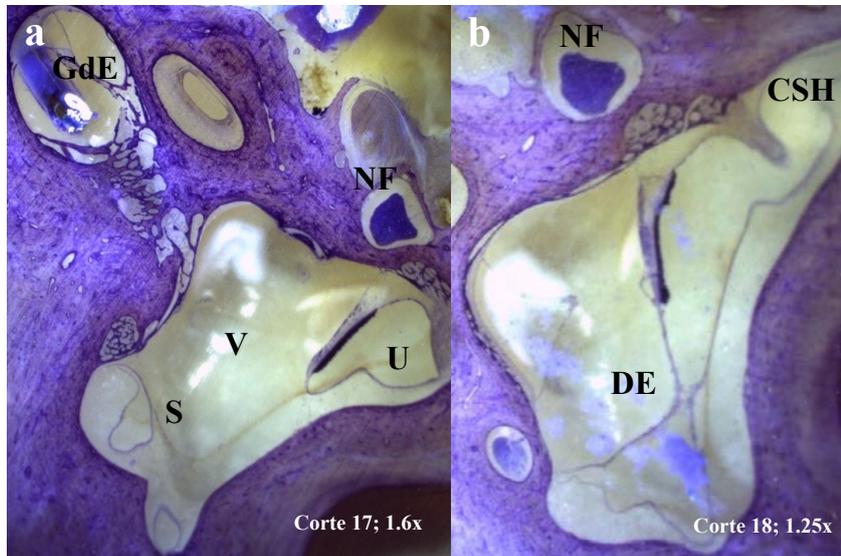


Figura 4.41: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf4-2h-OI. Cortes histológicos correspondientes al oído izquierdo del espécimen Mf4-2h-OI. a. Visión general del vestíbulo (V), el sáculo (S) y el utrículo (U), así como el nervio facial (NF) y la espira basal de la cóclea con la guía de electrodos (GdE). b. Detalle del ducto endolinfático (DE) y otras estructuras que componen el sistema vestibular: CSH, en su región ampular.

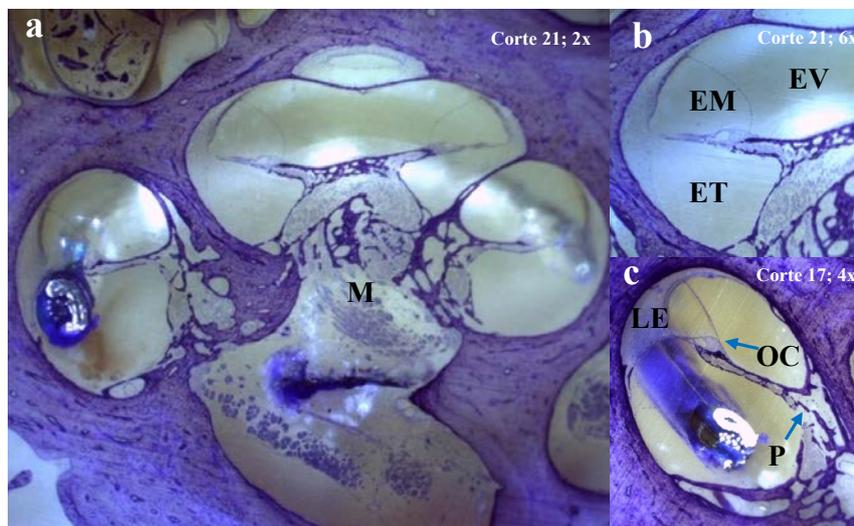


Figura 4.42: Visión general de la cóclea en el Mf4-2h-OI. Cortes histológicos correspondientes al oído izquierdo del espécimen Mf4-2h-OI. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM. c. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar, así como el buen estado del ligamento espiral (LE) y el Órgano de Corti (OC).

#### 4.2.1.7. *Macaca fascicularis* 5 (Mf5-2h)

##### 4.2.1.7.1. Datos demográficos

Mf codificado con el número #8393. Hembra, de 2250 g de peso.

##### 4.2.1.7.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos

**4.2.1.7.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído derecho, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Material y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, sin requerir fresado del nicho de la misma, y siendo tras esto su membrana sellada con F. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital.

Una vez finalizado este procedimiento, el lecho quirúrgico se cubrió con un paño húmedo, manteniendo en todo momento la esterilidad, hasta haberse cumplido las 2 horas de liberación requeridas previas al comienzo del segundo tiempo quirúrgico.

**4.2.1.7.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico se lograron igualmente sin incidencias ni complicaciones. En este caso, en la observación de la VR se evidenciaron fugas de FITC-Dextran. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. Por medio de los tubos capilares, se obtuvieron un total de 10 muestras de perilinf-FITC-Dextran, sin evidenciar fugas a este nivel ni desplazamiento del *silicon cup*, previamente creado. El volumen medio extraído en cada muestra fue de  $1.13 \pm 0.38 \mu\text{L}$ , con un rango que osciló entre 0.93 y  $2.3 \mu\text{L}$ . El tiempo total requerido para la toma del total de muestras fue de 13 minutos.

**4.2.1.7.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** El desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos tuvo lugar sin incidencias ni complicaciones, si bien cabe remarcar la pequeña fuga de FITC-Dextran a nivel de la VR, objetivada al inicio del segundo tiempo quirúrgico. La duración total del procedimiento fue de 193 minutos: 60 minutos se requirieron para la culminación del primer tiempo quirúrgico, las 2 horas posteriores fueron destinadas al proceso de liberación del FITC-Dextran y los restantes 13 minutos se correspondieron con el procedimiento de toma de muestras.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.43).

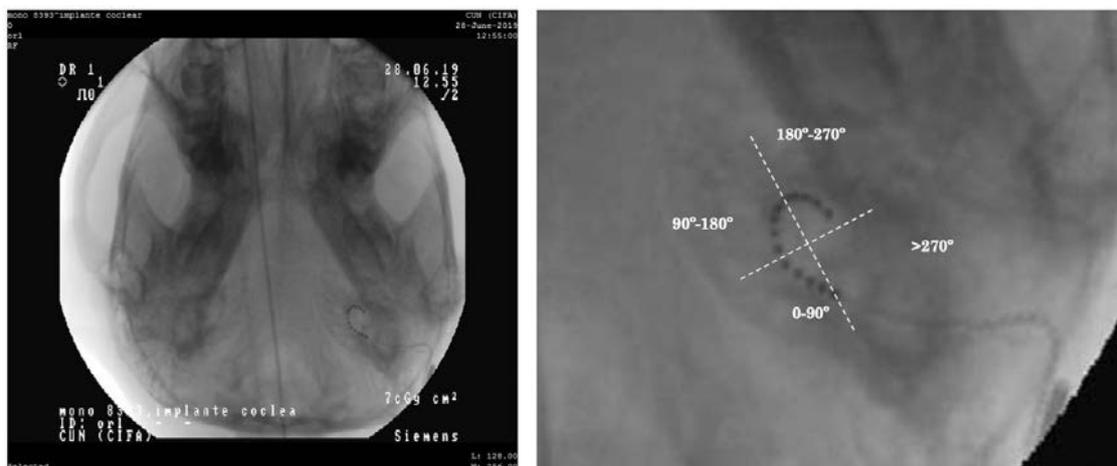


Figura 4.43: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf5-2h. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf5-2h tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de 180-270° (tercer cuadrante).

#### 4.2.1.7.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

La Figura 4.10 muestra las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas a partir de cada una de las muestras. En este caso, se observa un descenso de las concentraciones desde la muestra M1, que toma un valor de 936.14  $\mu\text{M}$ , constituyendo el valor máximo, hasta la muestra M4, donde se observó el valor mínimo de 693.27  $\mu\text{M}$ . Posteriormente las concentraciones tendieron a la estabilidad hasta la muestra M10, donde se alcanzó un valor de 755.99  $\mu\text{M}$ .

#### 4.2.1.7.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a 180-270° (tercer cuadrante). La puntuación obtenida en la clasificación de Eshraghi fue de 1 (Tabla 4.8).

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, en este caso los cortes histológicos verificaron la localización en la ET, a nivel de la segunda espira, sin embargo poder llegar a realizar una valoración de las dimensiones exactas de la misma. No se evidenciaron signos de fibrosis ni osificación, si bien pudieron apreciarse esquirolas óseas a nivel de la cocleostomía, en la segunda espira. Igualmente se analizó en los cortes histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET, sin evidenciar, en este espécimen, compromiso del mismo.

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

Tabla 4.8: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf5-2h. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	1
90-180°	1
180-270°	0
>270°	0

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figura 4.44).

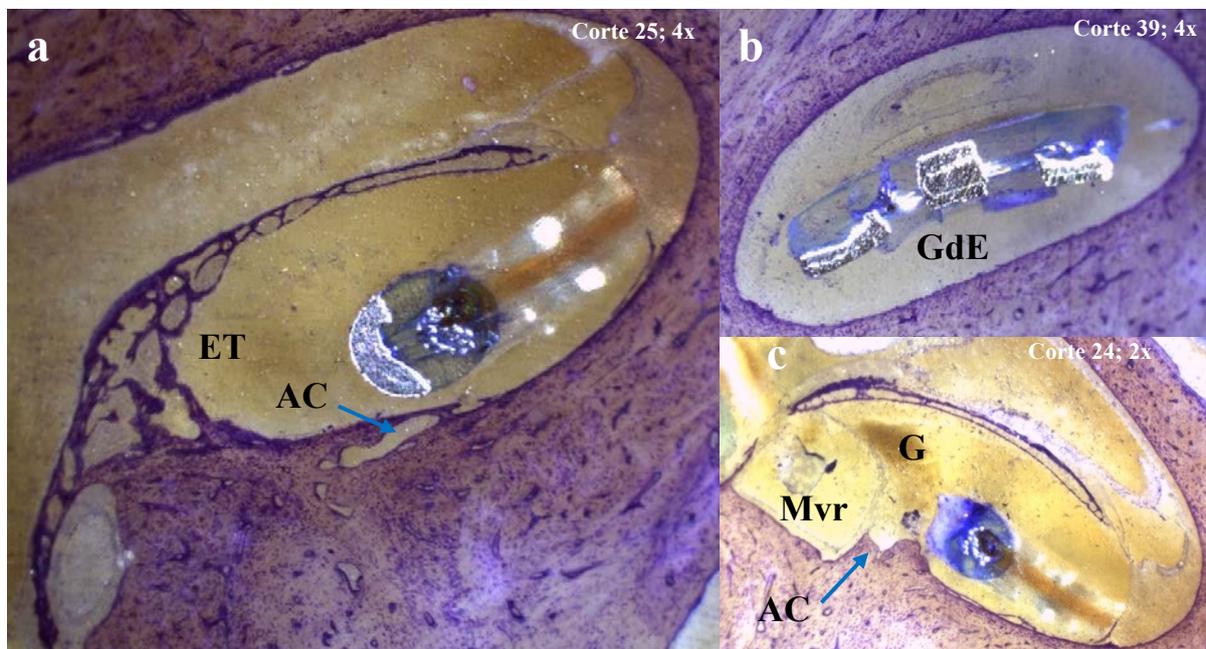


Figura 4.44: Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf5-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf5-2h. a. Dispositivo a nivel de la espira basal de la cóclea, en la ET. Ausencia de reacciones biológicas secundarias a su inserción. AC permeable. b. Adecuado estado de la guía de electrodos (GdE) a nivel de la primera espira de la cóclea, en la ET. c. Visualización de la membrana de la VR (Mvr), así como de la desembocadura del AC a nivel de la ET. Restos de cianoacrilato (G) en el nicho de la VR.

2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.45).

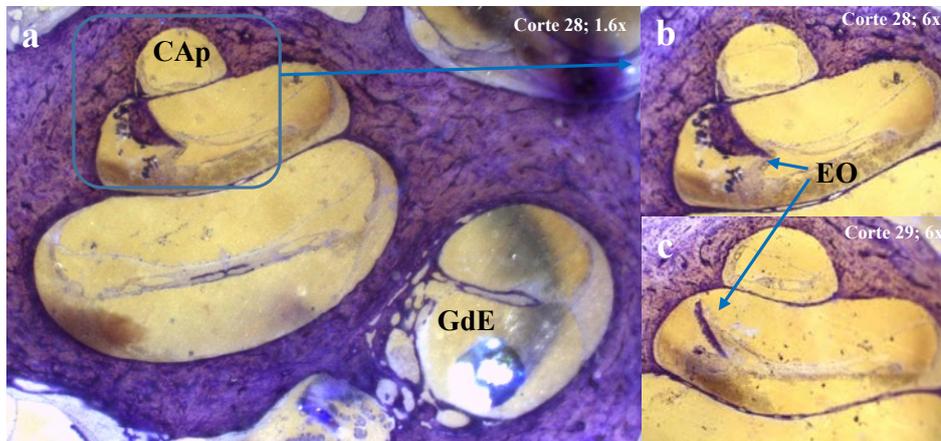


Figura 4.45: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf5-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf5-2h. a. Visión general de la cóclea que permite la comprobación de la adecuada localización de la guía de electrodos (GdE) a nivel de la ET, así como signos indirectos de la localización de la cocleostomía apical (CAp). b y c. Detalle de la CAp, realizada en este caso a nivel de la segunda espira, con esquirlas óseas (EO) en el interior de la cóclea.

3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.46).

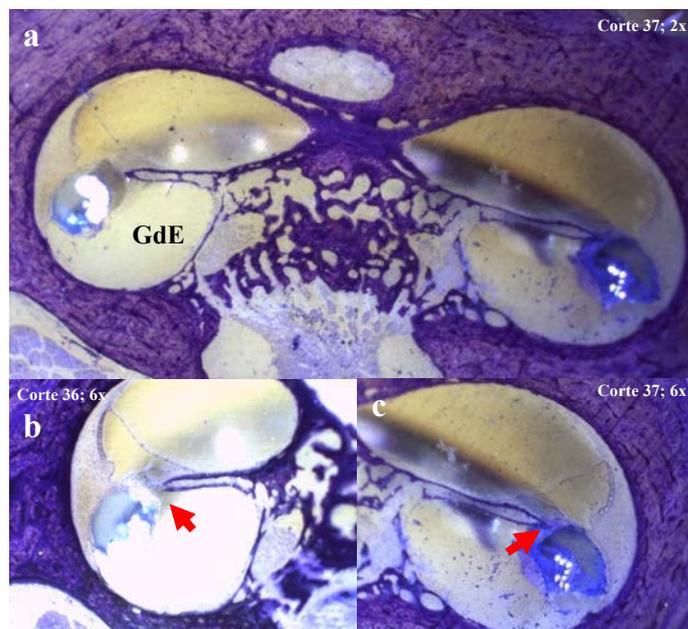


Figura 4.46: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf5-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf5-2h. a. Visión general de la cóclea que permite valorar el trauma generado por la inserción. b. Detalle del trauma generado a nivel de la primera espira, evidenciándose elevación de la membrana basilar (flecha roja). c. Detalle del trauma generado a nivel de la espira basal, evidenciándose igualmente elevación de la membrana basilar (flecha roja). Clasificación de Eshraghi: 1.

## 4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.47 y 4.48).

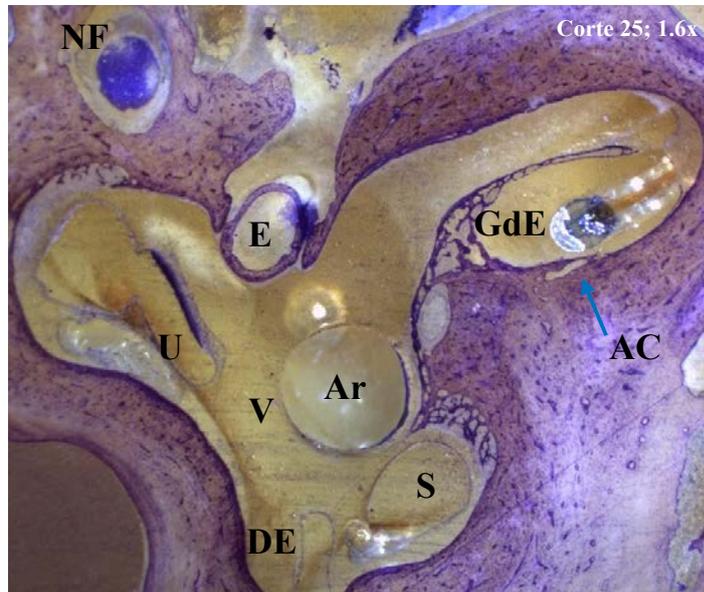


Figura 4.47: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf5-2h. Corte histológico correspondiente al oído derecho del espécimen Mf5-2h. Visión general del vestíbulo (V), con artefacto (Ar) en la región central, el sáculo (S) y el utrículo (U), el ducto endolinfático (DE), el estribo (E) y el nervio facial (NF), así como de la espira basal de la cóclea con la guía de electrodos (GdE) y el AC.

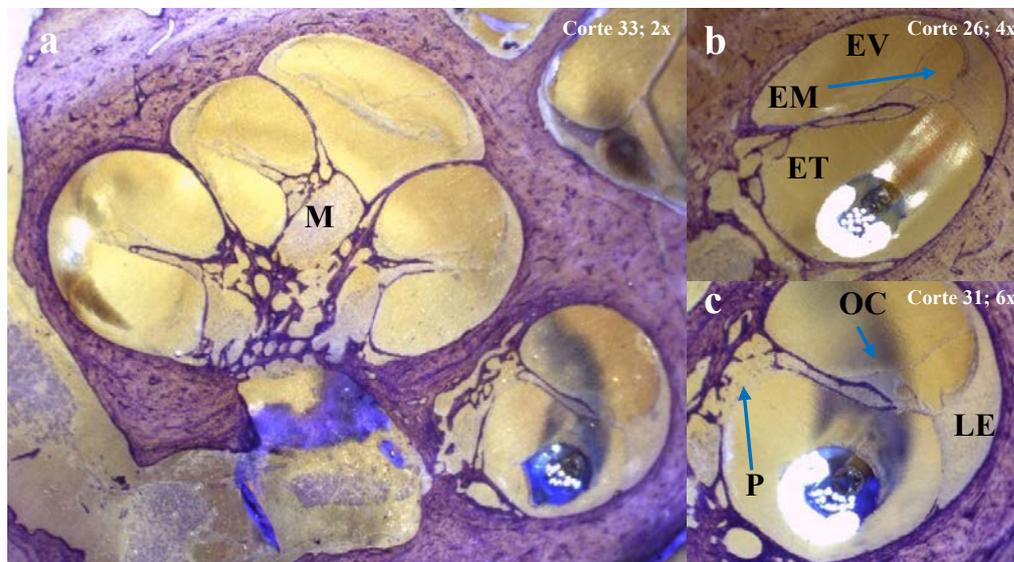


Figura 4.48: Visión general de la cóclea en el Mf5-2h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf5-2h. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM. c. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar (M), así como el buen estado del ligamento espiral (LE) y el Órgano de Corti (OC).

### 4.2.2. Grupo 24 horas

Los resultados referentes al Grupo 24 horas se resumen en la Tabla 4.9. De igual forma, en la Figura 4.49 se representan las concentraciones obtenidas de cada espécimen en cada muestra, junto con la concentración media y su intervalo de confianza al 95 %.

Tabla 4.9: Resumen de los resultados obtenidos en el Grupo 24 horas.

	Mf1-24h*	Mf2-24h	Mf3-24h	Mf4-24h	Mf5-24h
<b>Procedim. quirúrgico</b>	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
<b>Función dispositivo</b>	Fallo	Ok	Ok	Ok	Ok
<b>Inserción dispositivo</b>	VR (Fr)	VR (Fr)	VR (Fr)	VR (Fr)	VR (No Fr)
<b>Sellado ventana</b>	G + Fascia + G	G + Fascia + G	Fascia + G	Fascia + G	Fascia + G
<b>Fugas</b>	No	No	No	No	No
<b>Nº muestras (min)**</b>	10 (24)	10 (44)	10 (117)	10 (108)	10 (35)
<b>Clasificación Eshraghi</b>	1	0	1	0	1
<b>Localización GdE</b>	ET	ET	ET	ET	ET
<b>Ángulo inserción</b>	180-270º	180-270º	180-270º	180-270º	180-270º
<b>Long. inserción (mm)</b>	11	11	11	11	11
<b>Lugar cocleostomía</b>	Ápex	2ª Espira	2ª Espira	Ápex	Ápex
<b>D. cocleostomía (µm)</b>	-	-	139.13	218.29	214.03
<b>Hallazgos histológicos</b>					
- GdE	OK	OK	OK	OK	OK
- VR	OK	Fascia	G	G	G
- Ápex coclear	OK	Fractura inter-escalar	OK	Esquirlas óseas	OK
- 2ª Espira	-	Esquirlas óseas; fractura inter-escalar	Esquirlas óseas	-	-

OD: oído derecho; OI: oído izquierdo; VR: ventana redonda; Fr: fresado del nicho de la ventana redonda; G: cianoacrilato; GdE: guía de electrodos; ET: escala timpánica; D.: diámetro mayor.

\*Los resultados obtenidos para el Mf1-24h no fueron valorables dadas las bajas concentraciones obtenidas en la toma de muestras, debido a un fallo en la programación del dispositivo de liberación.

\*\*Duración total del proceso de extracción de muestras en minutos.

En la Figura 4.49 puede observarse que las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas permanecen relativamente estables a lo largo de la toma de muestras, y toman valores claramente superiores a los que habían sido obtenidos con el Grupo 2 horas. La concentración máxima se alcanzó en torno a la muestra 4-5.

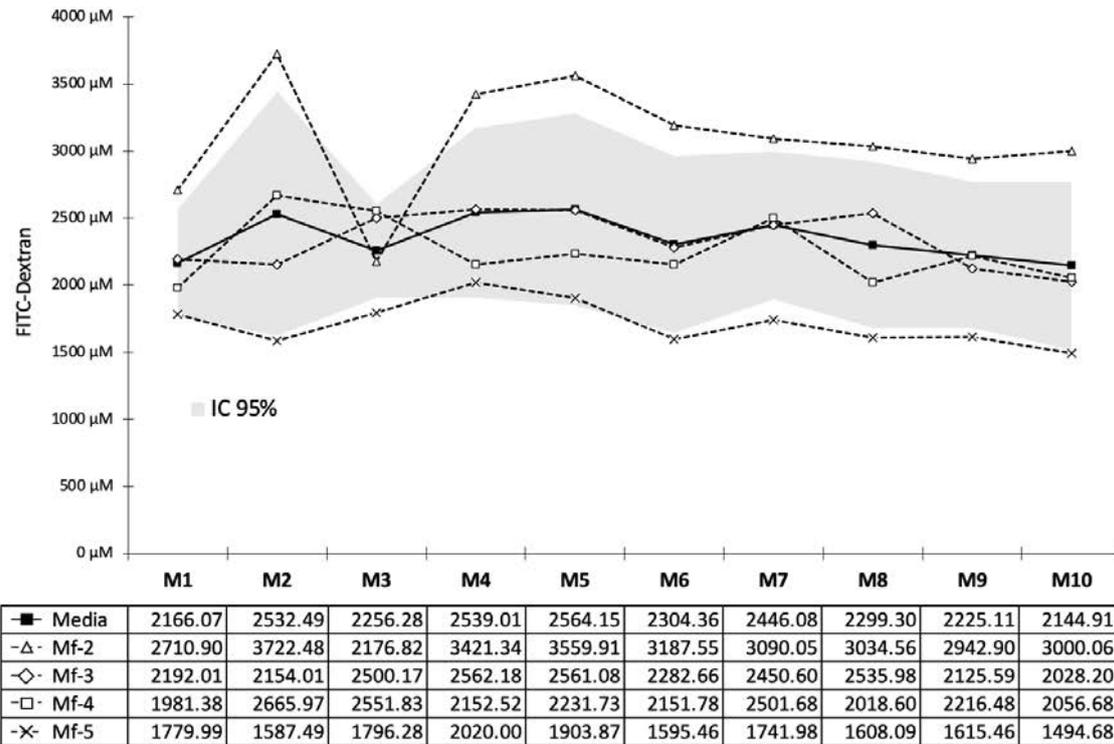


Figura 4.49: Concentraciones de FITC-Dextran obtenidas en el Grupo 24 horas. Todos los valores de la Figura se expresan en  $\mu\text{M}$ . El espécimen Mf1-24h ha sido excluido dado el fallo en la programación de la bomba de liberación.

A continuación se detallan los resultados específicos obtenidos para cada espécimen.

#### 4.2.2.1. *Macaca fascicularis* 1 (Mf1-24h)

##### 4.2.2.1.1. Datos demográficos

Mf codificado con el número #2264. Macho, de 2300 g de peso.

##### 4.2.2.1.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos

**4.2.2.1.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído derecho, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Materiales y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, requiriendo fresado previo del nicho de la misma, y siendo tras esto su membrana sellada con la asociación de F y cianoacrilato, siguiendo la secuencia: cianoacrilato+F+cianoacrilato. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital.

**4.2.2.1.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico se lograron igualmente sin incidencias ni complicaciones. En este espécimen no se evidenció dehiscencia de la herida resultante del primer tiempo quirúrgico, manteniéndose los puntos de sutura en buen estado. En este caso, en la observación de la VR no se evidenciaron fugas de FITC-Dextran. Tras la retirada de los puntos sobre el lecho quirúrgico, se comprobó la adecuada localización del dispositivo, así como el estado de los tejidos circundantes, prestando especial atención a la existencia de posibles fugas de FITC-Dextran y a la generación de fibrosis en el área intervenida. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. Por medio de los tubos capilares, se obtuvieron un total de 10 muestras de perilinfa-FITC-Dextran, sin evidenciar fugas a este nivel ni desplazamiento del *silicon cup* previamente creado. El volumen medio extraído en cada muestra fue de  $1.03 \pm 0.12 \mu\text{L}$ , con un rango que osciló entre 0.8 y 1.2  $\mu\text{L}$ . El tiempo total requerido para la toma del total de muestras fue de 24 minutos. Cabe remarcar que, en este espécimen, durante la toma de muestras, no se evidenció en ninguno de los tubos capilares el característico color de la fluoresceína. A pesar de ello, se continuó el procedimiento para la obtención de las 10 muestras y su posterior comprobación y medición espectro-fluorométrica.

**4.2.2.1.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** El desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos tuvo lugar sin incidencias ni complicaciones. La duración total del procedimiento fue de 1544 minutos: 80 minutos se requirieron para la culminación del primer tiempo quirúrgico, las 24 horas posteriores fueron destinadas al proceso de liberación del FITC-Dextran y los restantes 24 minutos se correspondieron con el procedimiento de toma de muestras.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.50).

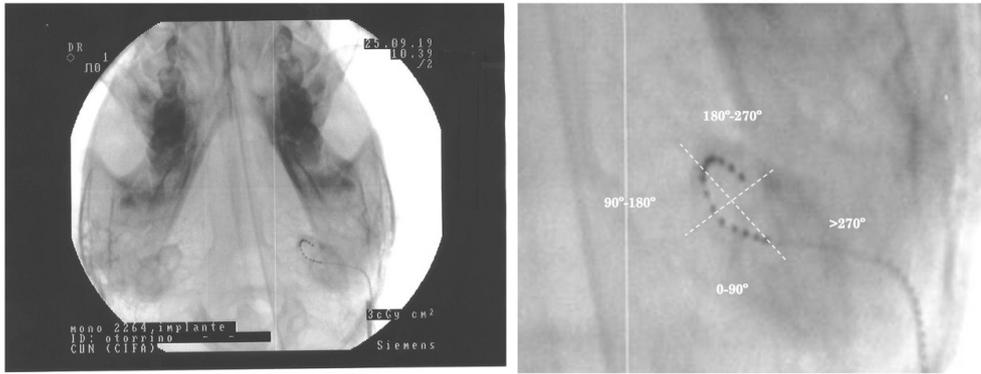


Figura 4.50: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf1-24h. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf1-24h tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de 180-270° (tercer cuadrante).

#### 4.2.2.1.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

Las muestras de perilinfia en este espécimen no se consideraron valorables, dadas las bajas concentraciones obtenidas. La Figura 4.51 muestra las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas a partir de cada una de las muestras. Como puede observarse, en el caso del espécimen Mf1-24h, el rango de valores se encuentra limitado en un intervalo de 1-4  $\mu\text{M}$ , coincidiendo con las muestras M10 y M9, respectivamente.

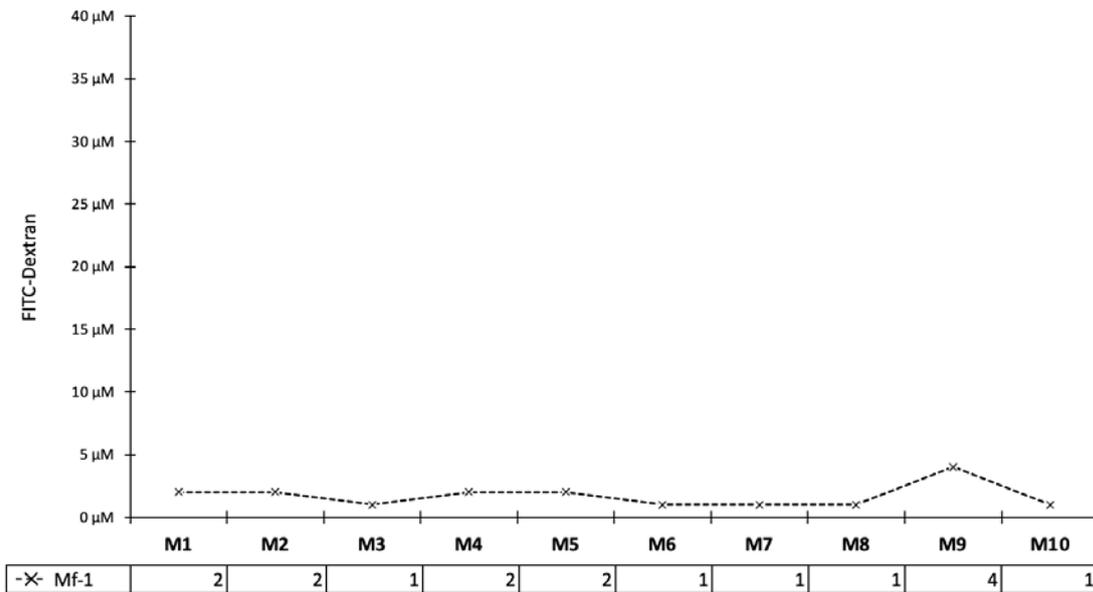


Figura 4.51: Concentraciones de FITC-Dextran obtenidas en el Mf1-24h. Todos los valores de la Figura se expresan en  $\mu\text{M}$ . Se ha reducido la escala en un factor de 100, con respecto a la gráfica de concentraciones del grupo, para mejorar la visualización.

#### 4.2.2.1.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a 180-270° (tercer cuadrante). La puntuación obtenida en la clasificación de Eshraghi fue de 1 (Tabla 4.10).

Tabla 4.10: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf1-24h. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	1
90-180°	1
180-270°	0
>270°	0

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, en este caso los cortes histológicos realizados verificaron signos indirectos de la correcta localización a nivel de la región más apical de la ET, sin embargo poder llegar a realizar una valoración de las dimensiones exactas de la misma. No se evidenciaron signos de fibrosis ni osificación, si bien pudo apreciarse artefacto de tinción en torno a la guía de electrodos a nivel de la espira basal de la cóclea. Igualmente se analizó en los cortes histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET, sin evidenciar, en este espécimen, compromiso del mismo.

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figuras 4.52 y 4.53).

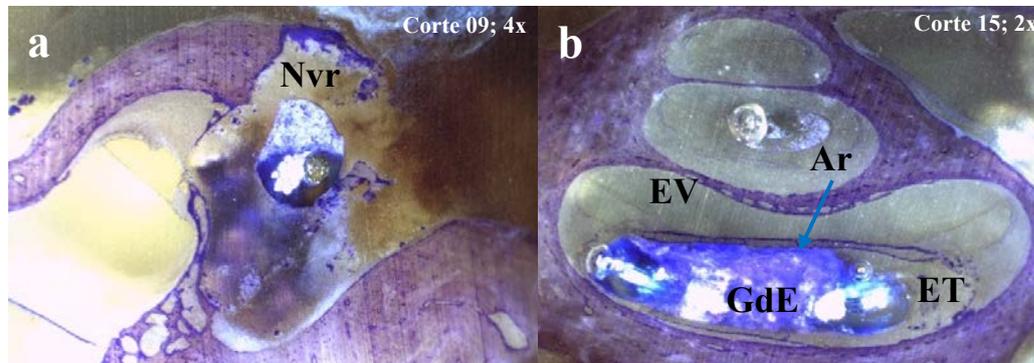


Figura 4.52: Guía de electrodos implantada y estado de la ventana redonda en el Mf1-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf1-24h. a. Nicho de la VR (Nvr), con la guía de electrodos (GdE) en su entrada a la espira basal de la cóclea. Los cortes histológicos obtenidos no permiten una mejor visión de la VR. b. Adecuado estado de la GdE a nivel de la primera espira de la cóclea, en la ET. Artefacto (Ar) de tinción en torno a la GdE.

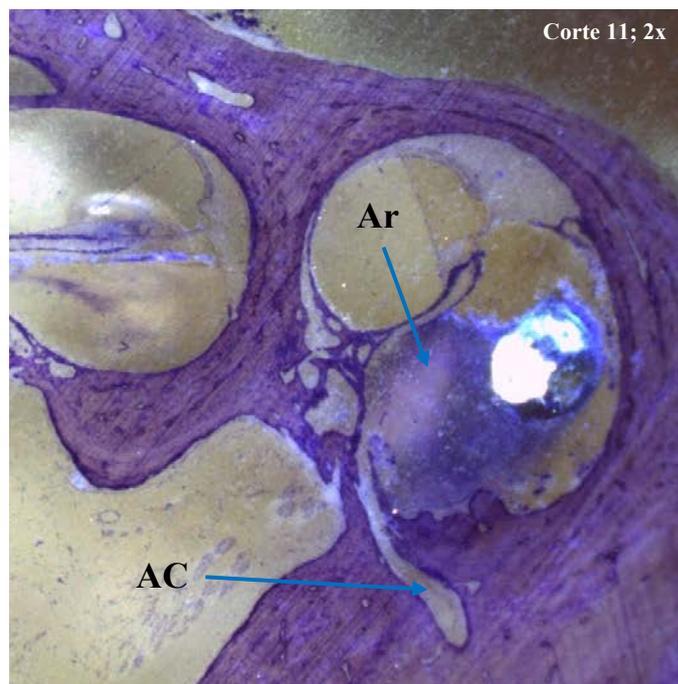


Figura 4.53: Acueducto coclear en el Mf1-24h. Corte histológico correspondiente al oído derecho del espécimen Mf1-24h, que muestra en detalle: el AC permeable, en su apertura a nivel de la ET. Ausencia de reacciones biológicas secundarias a su inserción. Artefacto de tinción (Ar) en torno a la guía de electrodos.

2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.54).

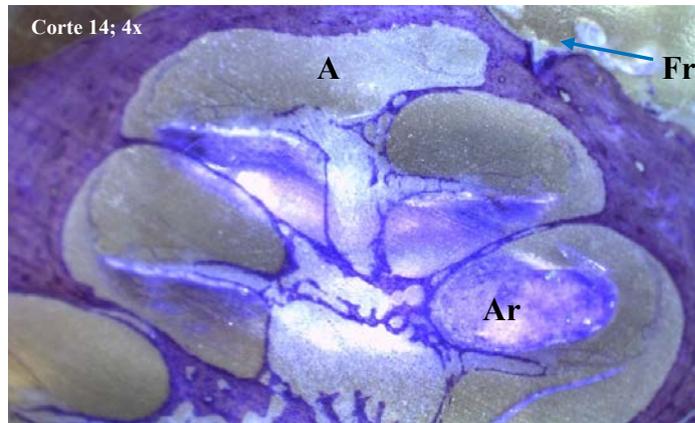


Figura 4.54: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf1-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf1-24h. Signos indirectos de la cocleostomía apical: hueso fresado (Fr) a nivel del ápex (A), sin otros hallazgos histológicos relevantes. Artefacto de tinción (Ar).

3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.55).

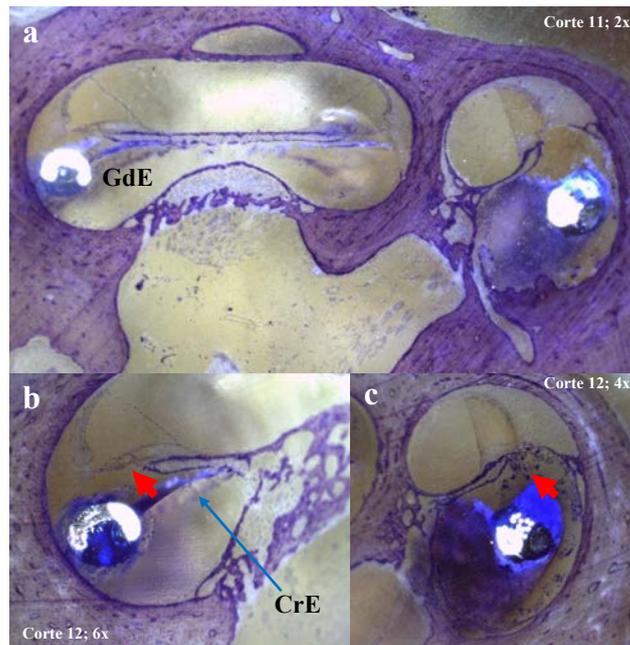


Figura 4.55: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf1-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf1-24h. a. Visión general de la cóclea que permite valorar el trauma generado por la inserción. b. Detalle del trauma generado a nivel de la primera espira, evidenciándose elevación de la membrana basilar (flecha roja). Crack en Epoxi (CrE). c. Detalle del trauma generado a nivel de la espira basal, evidenciándose igualmente elevación de la membrana basilar (flecha roja). Clasificación de Eshraghi: 1.

## 4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.56 y 4.57).

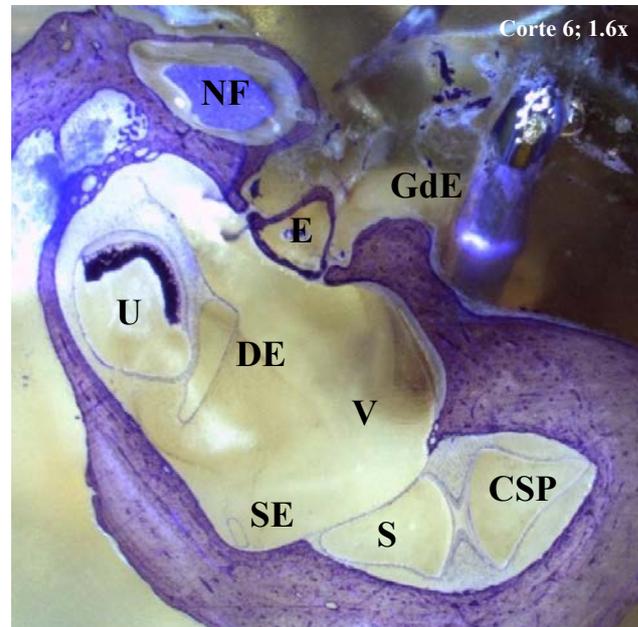


Figura 4.56: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf1-24h. Corte histológico correspondiente al oído derecho del espécimen Mf1-24h. Visión general del vestíbulo (V), el sáculo (S) y el utrículo (U), el ducto endolinfático (DE), el estribo (E) y el nervio facial (NF). Este corte histológico permite igualmente evidenciar el seno endolinfático (SE) y la región ampular del CSP. Guía de electrodos (GdE).

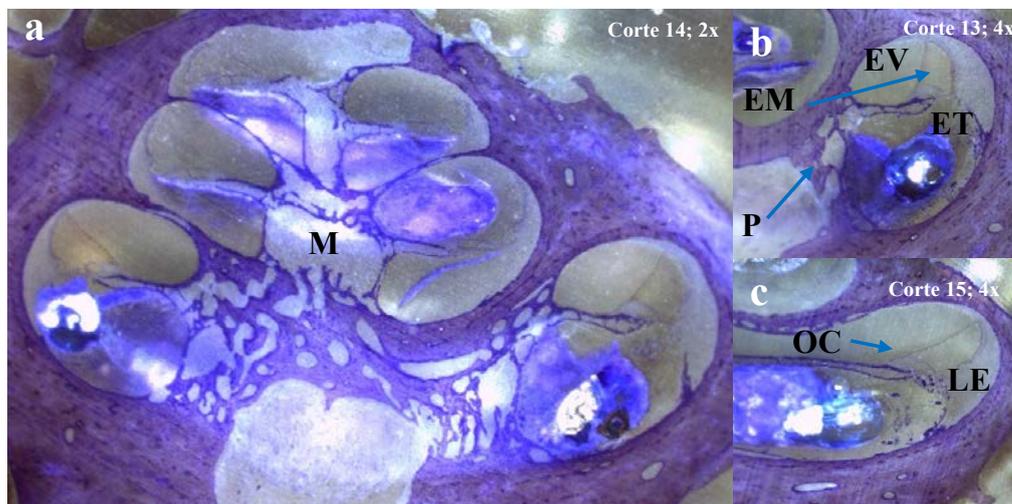


Figura 4.57: Visión general de la cóclea en el Mf1-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf1-24h. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar. c. Buen estado del ligamento espiral (LE) y el Órgano de Corti (OC).

#### **4.2.2.2. Macaca fascicularis 2 (Mf2-24h)**

##### **4.2.2.2.1. Datos demográficos**

Mf codificado con el número #0308. Macho, de 2475 g de peso.

##### **4.2.2.2.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos**

**4.2.2.2.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído derecho, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Material y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, requiriendo fresado previo del nicho de la misma, y siendo tras esto su membrana sellada con la asociación de F y cianoacrilato, siguiendo la secuencia: cianoacrilato+F+cianoacrilato. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital.

**4.2.2.2.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico se lograron igualmente sin incidencias ni complicaciones. En este espécimen no se evidenció dehiscencia de la herida resultante del primer tiempo quirúrgico, manteniéndose los puntos de sutura en buen estado. En este caso, en la observación de la VR no se evidenciaron fugas de FITC-Dextran. Tras la retirada de los puntos sobre el lecho quirúrgico, se comprobó la adecuada localización del dispositivo, así como el estado de los tejidos circundantes, prestando especial atención a la existencia de posibles fugas de FITC-Dextran y a la generación de fibrosis en el área intervenida. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. Por medio de los tubos capilares, se obtuvieron un total de 10 muestras de perilinfa-FITC-Dextran, sin evidenciar fugas a este nivel ni desplazamiento del *silicon cup* previamente creado. El volumen medio extraído en cada muestra fue de  $1 \pm 0.00 \mu\text{L}$ . El tiempo total requerido para la toma del total de muestras fue de 44 minutos.

**4.2.2.2.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** El desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos tuvo lugar sin incidencias ni complicaciones. La duración total del procedimiento fue de 1550 minutos: 66 minutos se requirieron para la culminación del primer tiempo quirúrgico, las 24 horas posteriores fueron destinadas al proceso de liberación del FITC-Dextran y los restantes 44 minutos se correspondieron con el procedimiento de toma de muestras.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.58).



Figura 4.58: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf2-24h. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf2-24h tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de 180-270° (tercer cuadrante).

#### 4.2.2.2.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

La Figura 4.49 muestra las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas a partir de cada una de las muestras. En este caso, se observa una tendencia a la estabilidad de las concentraciones, con un valor de M1 de 2710.90  $\mu\text{M}$  y un valor de M10 de 3000.06  $\mu\text{M}$ . La concentración máxima se observa en M2, alcanzando 3722.48  $\mu\text{M}$ , seguida de la concentración mínima en M3, correspondiente a 2176.82  $\mu\text{M}$ .

#### 4.2.2.2.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a 180-270° (tercer cuadrante). No se produjeron daños a nivel histológico en la estructura coclear, obteniendo una puntuación en la clasificación de Eshraghi de 0 (Tabla 4.11).

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, en este caso los cortes histológicos verificaron la localización en la ET, a nivel de la segunda espira, sin embargo poder llegar a realizar una valoración de las dimensiones exactas de la misma. No se evidenciaron signos de fibrosis ni osificación, si bien pudieron apreciarse esquirlas óseas y fractura interesalar a nivel de la cocleostomía apical, así como restos de F en la ET, en la región próxima a la VR. Igualmente se analizó en los cortes histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET, sin evidenciar, en este espécimen, compromiso del mismo.

Tabla 4.11: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf2-24h. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	0
90-180°	0
180-270°	0
>270°	0

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figuras 4.59).

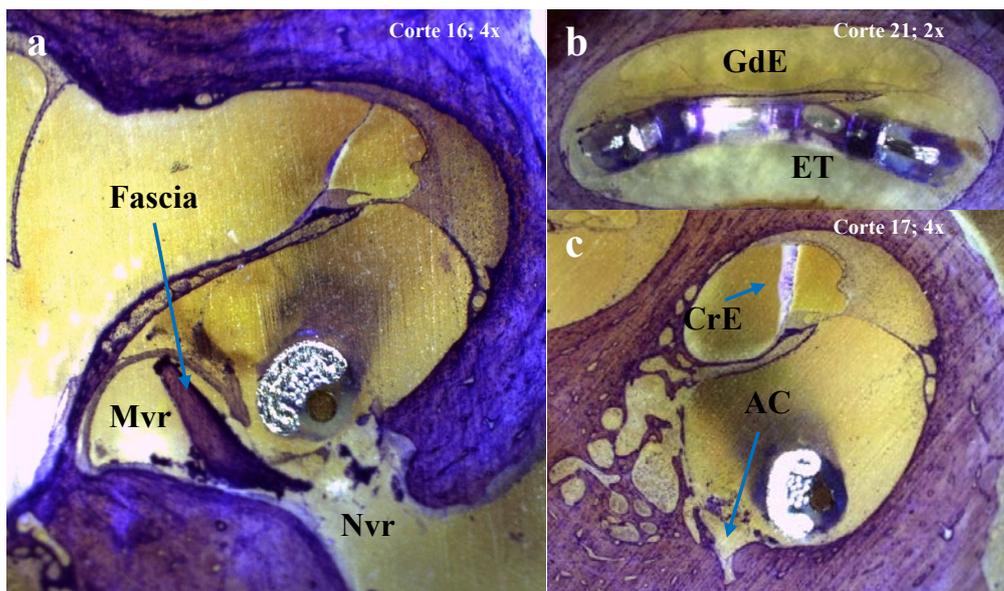


Figura 4.59: Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf2-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf2-24h. a. Nicho de la VR (Nvr). Estado de la membrana de la ventana redonda (Mvr). Se evidencia fascia de sellado en la región de inserción, sobre la Mvr. b. Adecuado estado de la guía de electrodos (GdE) a nivel de la primera espira de la cóclea, en la ET. c. AC permeable, en su apertura a nivel de la ET. Crack en Epoxi (CrE) a nivel de la membrana de Reissner.

## 2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.60).

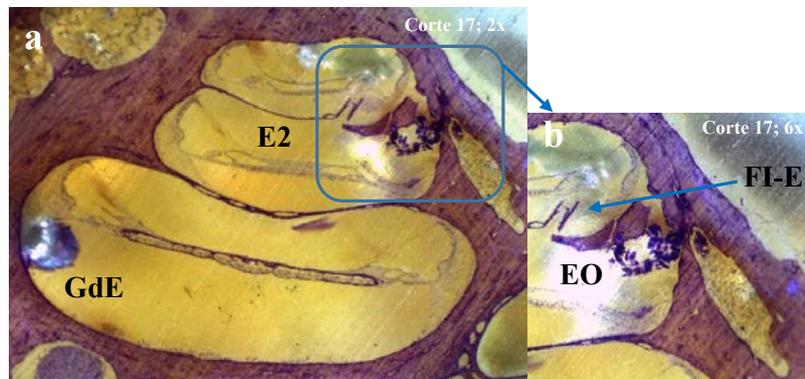


Figura 4.60: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf2-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf2-24h. a. Visión general de la cóclea que permite la comprobación de la localización de la guía de electrodos (GdE) a lo largo de la ET, así como de la cocleostomía, realizada en este caso a nivel de la segunda espira (E2). b. Detalle de la cocleostomía. Hueso fresado, con acceso a la región intracoclear para la toma de muestras a nivel de E2. Esquirlas óseas (EO) a dicho nivel, con evidencia de fractura inter-escalar (FI-E).

## 3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.61).

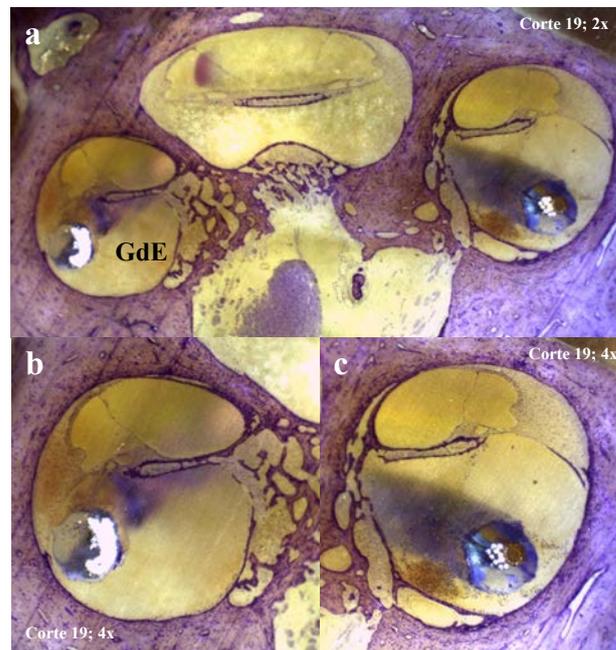


Figura 4.61: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf2-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf2-24h. a. Visión general de la cóclea que permite valorar la ausencia de trauma generado por la inserción. b. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la primera espira coclear. c. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la espira basal. Clasificación de Eshraghi: 0.

4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.62 y 4.63).

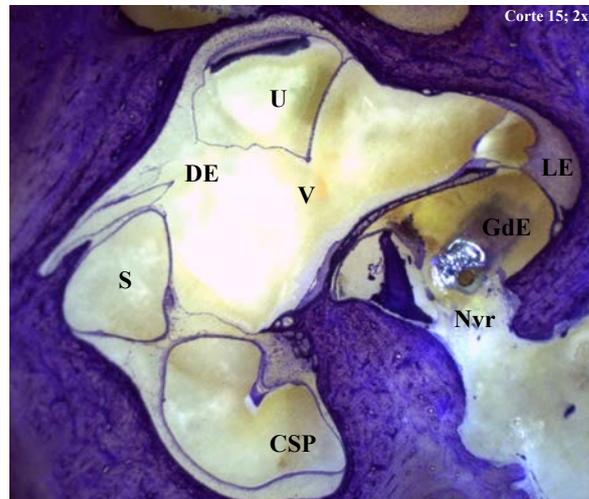


Figura 4.62: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf2-24h. Corte histológico correspondiente al oído derecho del espécimen Mf2-24h. Visión general del vértigo (V), el sáculo (S) y el utrículo (U), el ducto endolinfático (DE) y la región ampular del CSP, así como la espira basal de la cóclea con la guía de electrodos (GdE), el nicho de la ventana redonda (Nvr) y el ligamento espiral (LE).

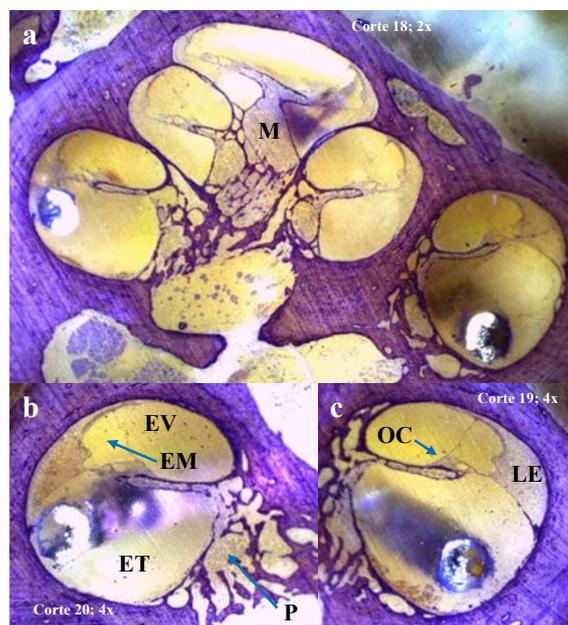


Figura 4.63: Visión general de la cóclea en el Mf2-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf2-24h. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar. c. Detalle del buen estado del ligamento espiral (LE) y el Órgano de Corti (OC).

### 4.2.2.3. *Macaca fascicularis* 3 (Mf3-24h)

#### 4.2.2.3.1. Datos demográficos

Mf codificado con el número #0363. Macho, de 2868 g de peso.

#### 4.2.2.3.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos

**4.2.2.3.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído derecho, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Material y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, requiriendo fresado previo del nicho de la misma, y siendo tras esto siendo tras esto su membrana sellada con la asociación de F y cianoacrilato, dispuestos sobre la misma en ese orden. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital.

**4.2.2.3.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico se lograron igualmente sin incidencias ni complicaciones. En este espécimen no se evidenció dehiscencia de la herida resultante del primer tiempo quirúrgico, manteniéndose los puntos de sutura en buen estado. En este caso, en la observación de la VR no se evidenciaron fugas de FITC-Dextran. Tras la retirada de los puntos sobre el lecho quirúrgico, se comprobó la adecuada localización del dispositivo, así como el estado de los tejidos circundantes, prestando especial atención a la existencia de posibles fugas de FITC-Dextran y a la generación de fibrosis en el área intervenida. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. Por medio de los tubos capilares, se obtuvieron un total de 10 muestras de perilinfa-FITC-Dextran, sin evidenciar fugas a este nivel ni desplazamiento del *silicon cup* previamente creado. El volumen medio extraído en cada muestra fue de  $1 \pm 0.00 \mu\text{L}$ . El tiempo total requerido para la toma del total de muestras fue de 117 minutos.

**4.2.2.3.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** El desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos tuvo lugar sin incidencias ni complicaciones. La duración total del procedimiento fue de 1622 minutos: 65 minutos se requirieron para la culminación del primer tiempo quirúrgico, las 24 horas posteriores fueron destinadas al proceso de liberación del FITC-Dextran y los restantes 117 minutos se correspondieron con el procedimiento de toma de muestras.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.64).

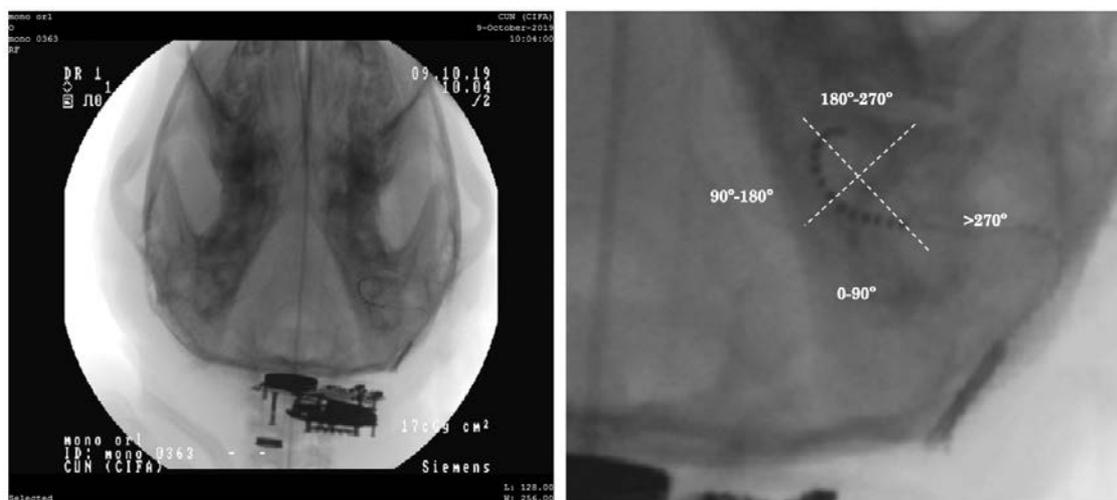


Figura 4.64: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf3-24h. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf3-24h tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de 180-270° (tercer cuadrante).

#### 4.2.2.3.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

La Figura 4.49 muestra las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas a partir de cada una de las muestras. En este caso, se observa una tendencia a la estabilidad de las concentraciones, con un valor de M1 de 2192.01  $\mu\text{M}$  y un valor de M10 de 2028.20  $\mu\text{M}$ , constituyendo el valor mínimo. La concentración máxima se observa en M4, con un valor de 2562.18  $\mu\text{M}$ .

#### 4.2.2.3.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a 180-270° (tercer cuadrante). La puntuación obtenida en la clasificación de Eshraghi fue de 1 (Tabla 4.12).

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, en este caso los cortes histológicos objetivaron la presencia de la cocleostomía a nivel de la segunda espira. Las dimensiones estimadas fueron de 139.13  $\mu\text{m}$ . No se evidenciaron signos de fibrosis ni osificación, si bien pudieron apreciarse esquirlas óseas a nivel de la segunda espira, así como restos de cianoacrilato en la ET, en la región próxima a la VR. Igualmente se analizó en los cortes histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET, sin evidenciar, en este espécimen, compromiso del mismo.

Tabla 4.12: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf3-24h. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	0
90-180°	1
180-270°	0
>270°	0

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figuras 4.65).

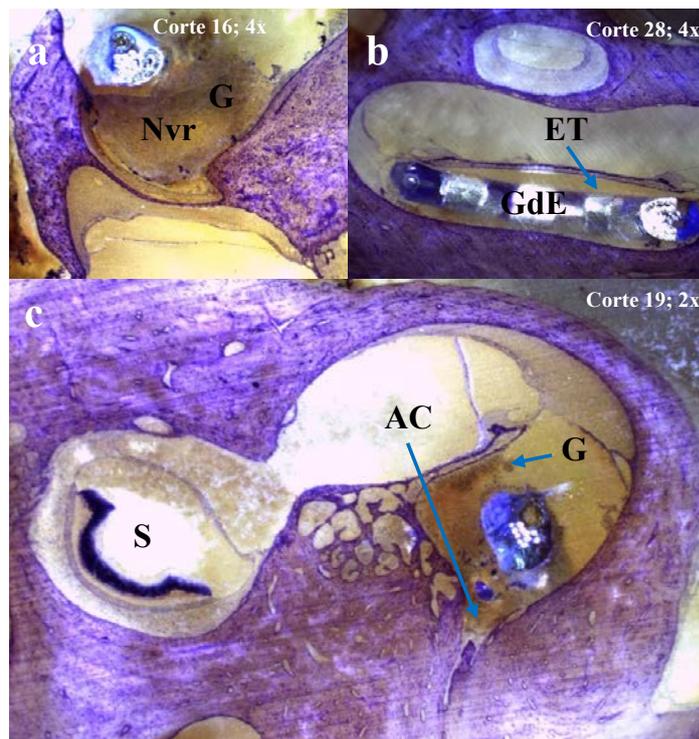


Figura 4.65: Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf3-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-24h. a. Nicho de la VR (Nvr), con la guía de electrodos. Restos de cianoacrilato (G) en la zona. b. Adecuado estado de la guía de electrodos (GdE) a nivel de la primera espira de la cóclea, en la ET. c. Ausencia de reacciones biológicas secundarias a la inserción, salvo algún resto de cianoacrilato (G) en a la guía de electrodos. AC permeable, en su apertura a nivel de la ET.

2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.66).

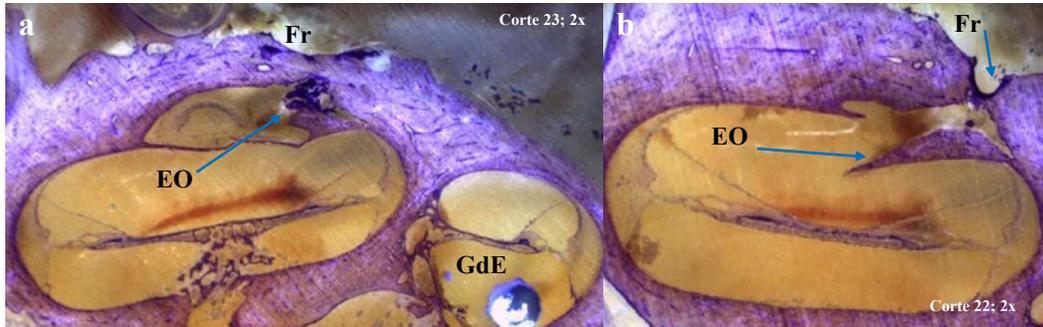


Figura 4.66: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf3-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-24h. a. Visión general de la cóclea que permite la comprobación de la adecuada localización de la guía de electrodos (GdE) a lo largo de la ET, así como signos indirectos de la localización de la cocleostomía a nivel de la segunda espira. Hueso apical fresado (Fr). Esquirlas óseas (EO) en el interior de la cóclea. b. Detalle de cocleostomía, a nivel de la segunda espira. Hueso fresado (Fr), con acceso a la región intracoclear para la toma de muestras. Esquirlas óseas (EO) en el interior de la cóclea, a este nivel.

3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.67).

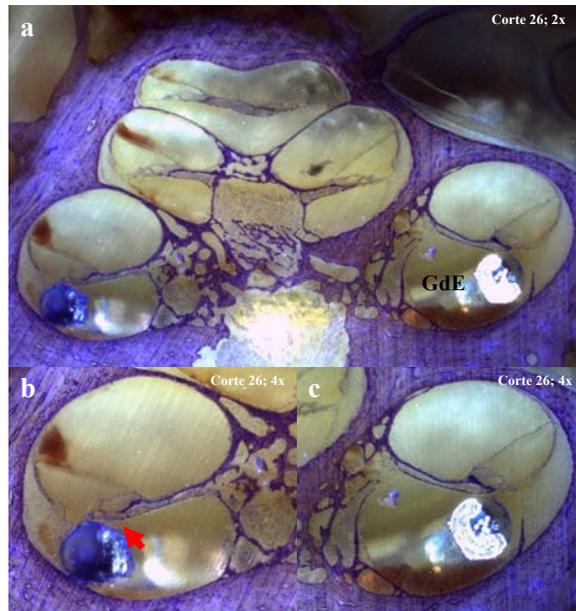


Figura 4.67: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf3-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-24h. a. Visión general de la cóclea que permite valorar el trauma generado por la inserción. b. Detalle del trauma generado a nivel de la primera espira, evidenciándose elevación de la membrana basilar (flecha roja). c. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la espira basal. Clasificación de Eshraghi: 1.

## 4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.68 y 4.69).

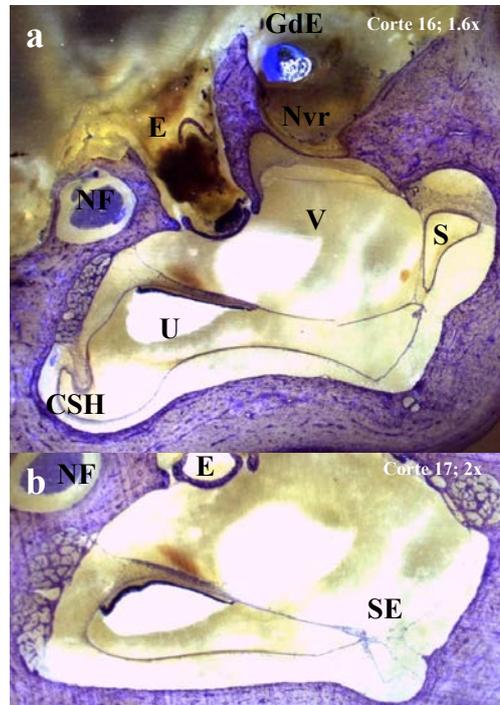


Figura 4.68: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf3-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-24h. a. Visión general del vestíbulo (V), el sáculo (S) y el utrículo (U), la región ampular del CSH, el estribo (E), el nervio facial (NF) y el nicho de la VR (Nvr) con la guía de electrodos (GdE). b. Detalle del seno endolinfático (SE).

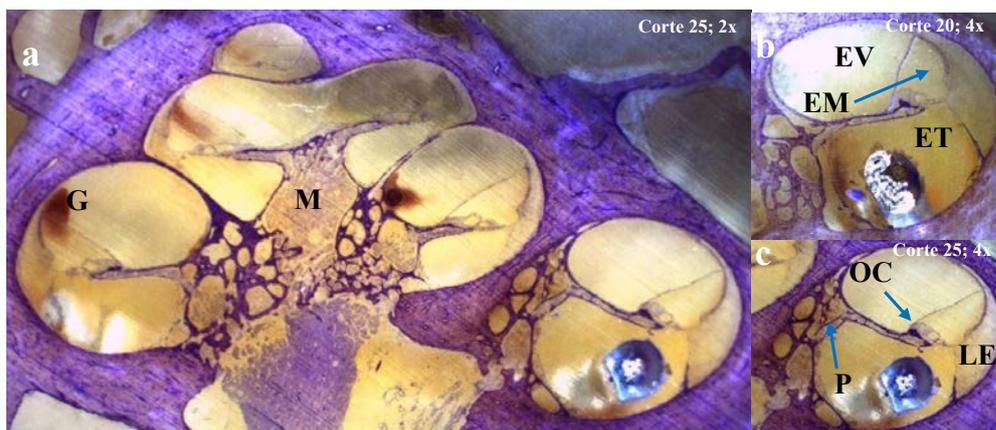


Figura 4.69: Visión general de la cóclea en el Mf3-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-24h. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM. c. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar, así como el buen estado del ligamento espiral (LE) y el Órgano de Corti (OC).

#### 4.2.2.4. *Macaca fascicularis* 4 (Mf4-24h)

##### 4.2.2.4.1. Datos demográficos

Mf codificado con el número #8460. Macho, de 3012 g de peso.

##### 4.2.2.4.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos

**4.2.2.4.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído derecho, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Material y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, requiriendo fresado previo del nicho de la misma, y siendo tras esto siendo tras esto su membrana sellada con la asociación de F y cianoacrilato, dispuestos sobre la misma en ese orden. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital.

**4.2.2.4.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico se lograron igualmente sin incidencias ni complicaciones. En este espécimen no se evidenció dehiscencia de la herida resultante del primer tiempo quirúrgico, manteniéndose los puntos de sutura en buen estado. En este caso, en la observación de la VR no se evidenciaron fugas de FITC-Dextran. Tras la retirada de los puntos sobre el lecho quirúrgico, se comprobó la adecuada localización del dispositivo, así como el estado de los tejidos circundantes, prestando especial atención a la existencia de posibles fugas de FITC-Dextran y a la generación de fibrosis en el área intervenida. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. Por medio de los tubos capilares, se obtuvieron un total de 10 muestras de perilinfa-FITC-Dextran, sin evidenciar fugas a este nivel ni desplazamiento del *silicon cup* previamente creado. El volumen medio extraído en cada muestra fue de  $1 \pm 0.00 \mu\text{L}$ . El tiempo total requerido para la toma del total de muestras fue de 108 minutos.

**4.2.2.4.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** El desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos tuvo lugar sin incidencias ni complicaciones. La duración total del procedimiento fue de 1640 minutos: 92 minutos se requirieron para la culminación del primer tiempo quirúrgico, las 24 horas posteriores fueron destinadas al proceso de liberación del FITC-Dextran y los restantes 108 minutos se correspondieron con el procedimiento de toma de muestras.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.70).

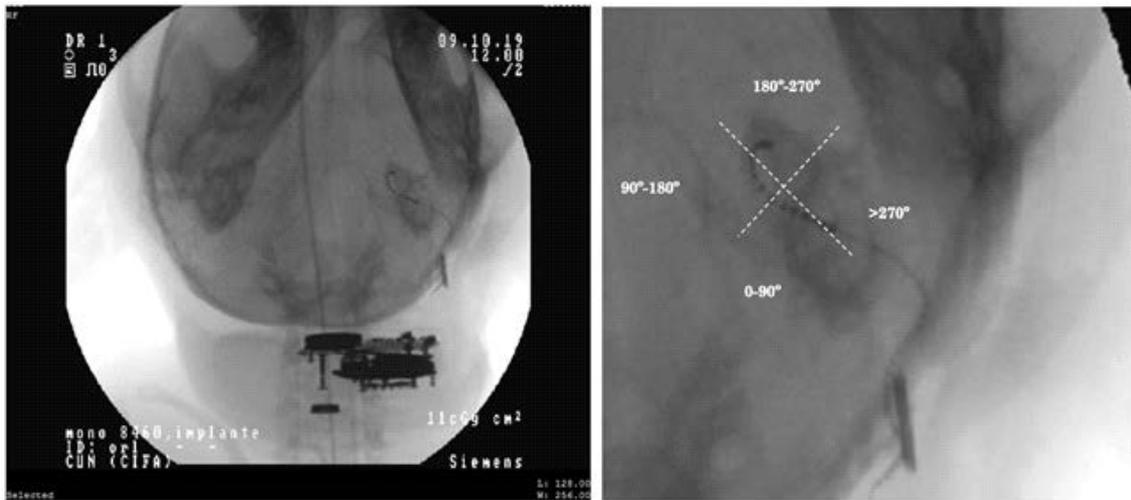


Figura 4.70: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf4-24h. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf4-24h tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de 180-270° (tercer cuadrante).

#### 4.2.2.4.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

La Figura 4.49 muestra las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas a partir de cada una de las muestras. En este caso, se observa una tendencia a la estabilidad de las concentraciones, con un valor de M1 de 1981.38  $\mu\text{M}$ , constituyendo el valor mínimo, y un valor de M10 de 2056.68  $\mu\text{M}$ . La concentración máxima se observa en M2, con un valor de 2665.97  $\mu\text{M}$ .

#### 4.2.2.4.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a 180-270° (tercer cuadrante). No se produjeron daños a nivel histológico en la estructura coclear, obteniendo una puntuación en la clasificación de Eshraghi de 0 (Tabla 4.13).

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, en este caso los cortes histológicos objetivaron la presencia de la cocleostomía a nivel del ápex coclear. Las dimensiones estimadas fueron de 218.29  $\mu\text{m}$ . No se evidenciaron signos de fibrosis ni osificación, si bien pudieron apreciarse esquirlas óseas a nivel de la cocleostomía apical, así como restos de cianoacrilato en la ET, en la región próxima a la VR. Igualmente se analizó en los cortes histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET. Si bien en este espécimen no se evidenció compromiso del AC, se puede apreciar un engrosamiento del vaso del AC.

Tabla 4.13: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-24h. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	0
90-180°	0
180-270°	0
>270°	0

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figuras 4.71 y 4.72).

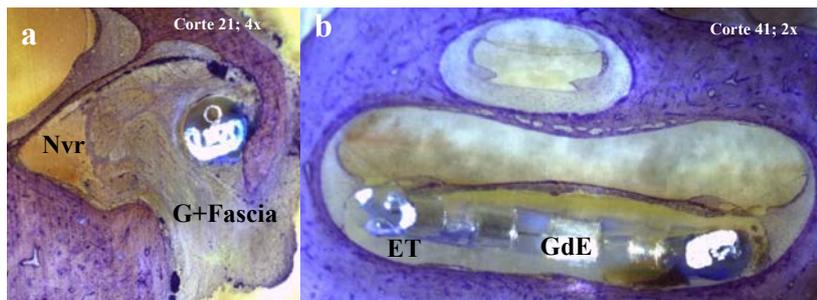


Figura 4.71: Guía de electrodos implantada y estado de la ventana redonda en el Mf4-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-24h. a. Nicho de la VR (Nvr) junto con la guía de electrodos. Restos de cianoacrilato (G) y fascia de sellado en torno a la misma. b. Adecuado estado de la guía de electrodos (GdE) a nivel de la segunda espira de la cóclea, en la ET.

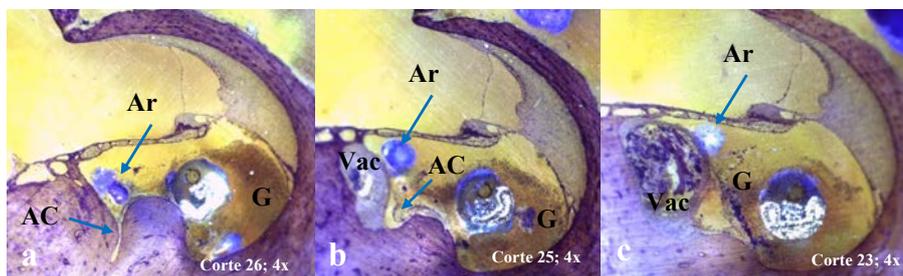


Figura 4.72: Acueducto coclear en el Mf4-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-24h, que muestran en detalle: a. AC permeable, en su apertura a nivel de la ET. b. Relación existente entre el AC y el vaso del AC (Vac). c. Vac engrosado. Artefacto (Ar) en la zona próxima al AC. Restos de cianoacrilato (G).

## 2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.73).

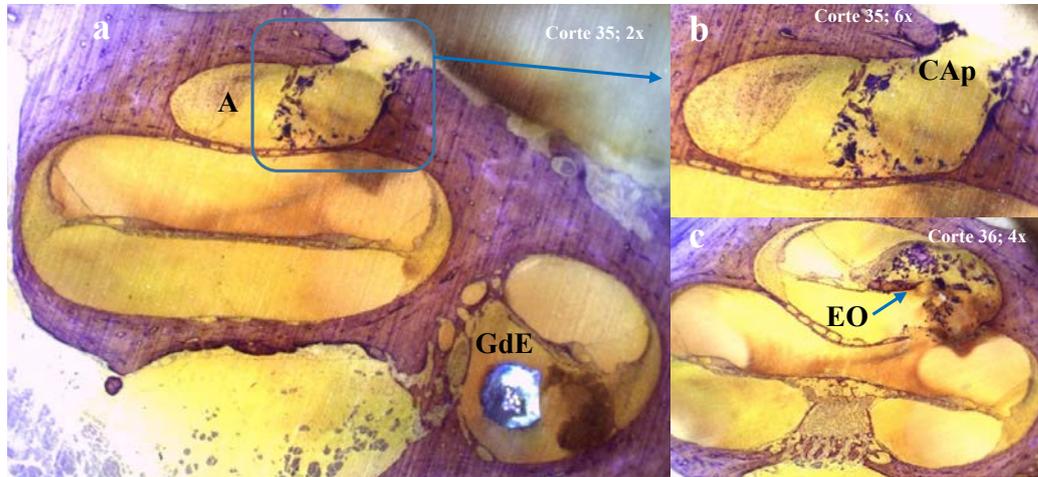


Figura 4.73: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf4-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-24h. a. Visión general de la cóclea que permite la comprobación de la adecuada localización de la guía de electrodos (GdE), así como de la cocleostomía a nivel del ápex (A). b. Detalle de la cocleostomía apical (CAp). Hueso apical fresado, con acceso a la región intracoclear para la toma de muestras. c. Esquirlas óseas (EO) en el interior de la cóclea, a nivel del ápex.

## 3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.67).

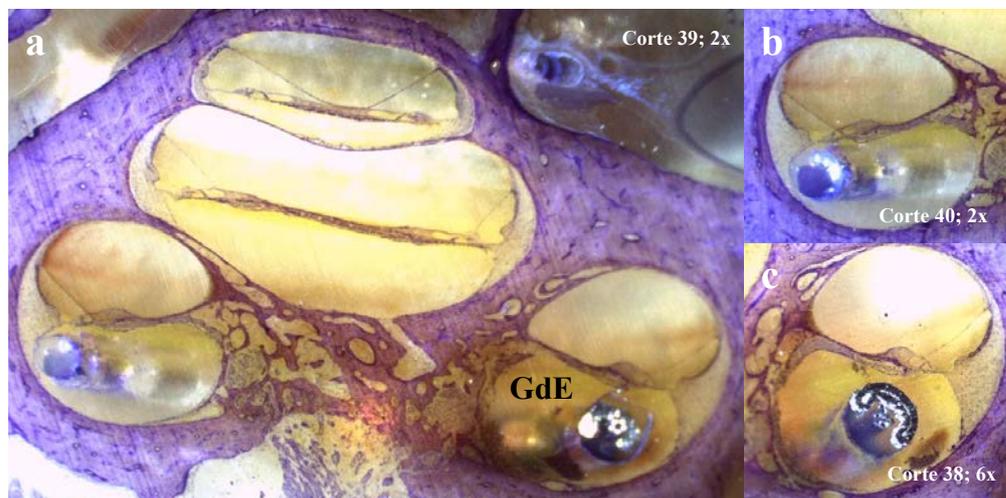


Figura 4.74: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-24h. a. Visión general de la cóclea que permite valorar la ausencia de trauma generado por la inserción. b. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la primera espira coclear, si bien los cortes histológicos obtenidos no permiten la visualización de la guía de electrodos (GdE) a este nivel c. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la espira basal. Clasificación de Eshraghi: 0.

4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.75 y 4.76).

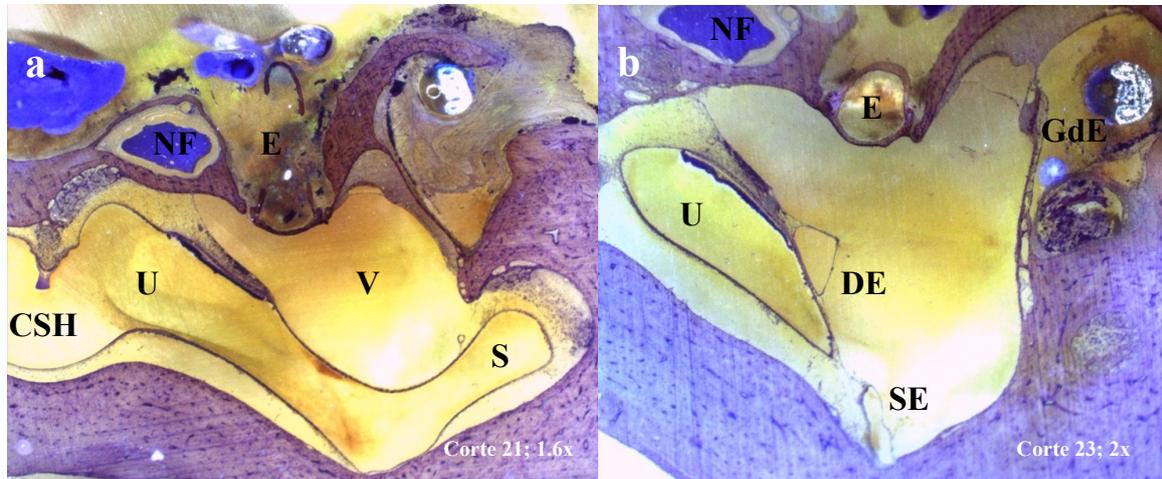


Figura 4.75: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf4-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-24h. a. Visión general del vestíbulo (V), el sáculo (S) y el utrículo (U), la región ampular del CSH, el estribo (E) y el nervio facial (NF). b. Detalle del ducto (DE) y seno endolinfáticos (SE). Espira basal de la cóclea con la guía de electrodos (GdE).



Figura 4.76: Visión general de la cóclea en el Mf4-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-24h. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar. c. Adecuado estado del ligamento espiral (LE) y el Órgano de Corti (OC).

#### 4.2.2.5. *Macaca fascicularis* 5 (Mf5-24h)

##### 4.2.2.5.1. Datos demográficos

Mf codificado con el número #8548. Hembra, de 2350 g de peso.

##### 4.2.2.5.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos

**4.2.2.5.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído derecho, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Material y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, sin requerir fresado previo del nicho de la misma, y siendo tras esto siendo tras esto su membrana sellada con la asociación de F y cianoacrilato, dispuestos sobre la misma en ese orden. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital.

**4.2.2.5.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico se lograron igualmente sin incidencias ni complicaciones. En este espécimen no se evidenció dehiscencia de la herida resultante del primer tiempo quirúrgico, manteniéndose los puntos de sutura en buen estado. En este caso, en la observación de la VR no se evidenciaron fugas de FITC-Dextran. Tras la retirada de los puntos sobre el lecho quirúrgico, se comprobó la adecuada localización del dispositivo, así como el estado de los tejidos circundantes, prestando especial atención a la existencia de posibles fugas de FITC-Dextran y a la generación de fibrosis en el área intervenida. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. Por medio de los tubos capilares, se obtuvieron un total de 10 muestras de perilinf-FITC-Dextran, sin evidenciar fugas a este nivel ni desplazamiento del *silicon cup* previamente creado. El volumen medio extraído en cada muestra fue de  $1.02 \pm 0.06 \mu\text{L}$ , con un rango que osciló entre 1 y  $1.2 \mu\text{L}$ . El tiempo total requerido para la toma del total de muestras fue de 35 minutos.

**4.2.2.5.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** El desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos tuvo lugar sin incidencias ni complicaciones. La duración total del procedimiento fue de 1565 minutos: 90 minutos se requirieron para la culminación del primer tiempo quirúrgico, las 24 horas posteriores fueron destinadas al proceso de liberación del FITC-Dextran y los restantes 35 minutos se correspondieron con el procedimiento de toma de muestras.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.77).

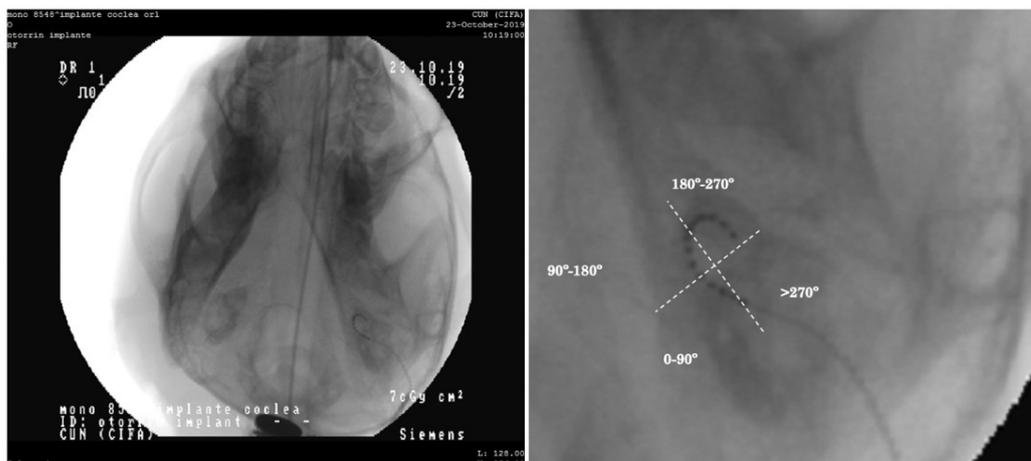


Figura 4.77: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf5-24h. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf5-24h tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de 180-270° (tercer cuadrante).

#### 4.2.2.5.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

La Figura 4.49 muestra las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas a partir de cada una de las muestras. En este caso, se observa una tendencia a la estabilidad de las concentraciones, con un valor de M1 de 1779.99  $\mu\text{M}$ , y un valor de M10 de 1494.68  $\mu\text{M}$ , constituyendo el valor mínimo. La concentración máxima se observa en M4, con un valor de 2020.00  $\mu\text{M}$ .

#### 4.2.2.5.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a 180-270° (tercer cuadrante). La puntuación obtenida en la clasificación de Eshraghi fue de 1 (Tabla 4.14).

Tabla 4.14: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf5-24h. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	1
90-180°	0
180-270°	0
>270°	0

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, en este caso los cortes histológicos verificaron la correcta localización a nivel de la región más apical de la ET, con unas dimensiones de  $214.03 \mu\text{m}$ . No se evidenciaron signos de fibrosis ni osificación, si bien pudieron apreciarse restos de cianoacrilato en la ET, en la región próxima a la VR. Igualmente se analizó en los cortes histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET, sin evidenciar, en este espécimen, compromiso del mismo.

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figura 4.78).

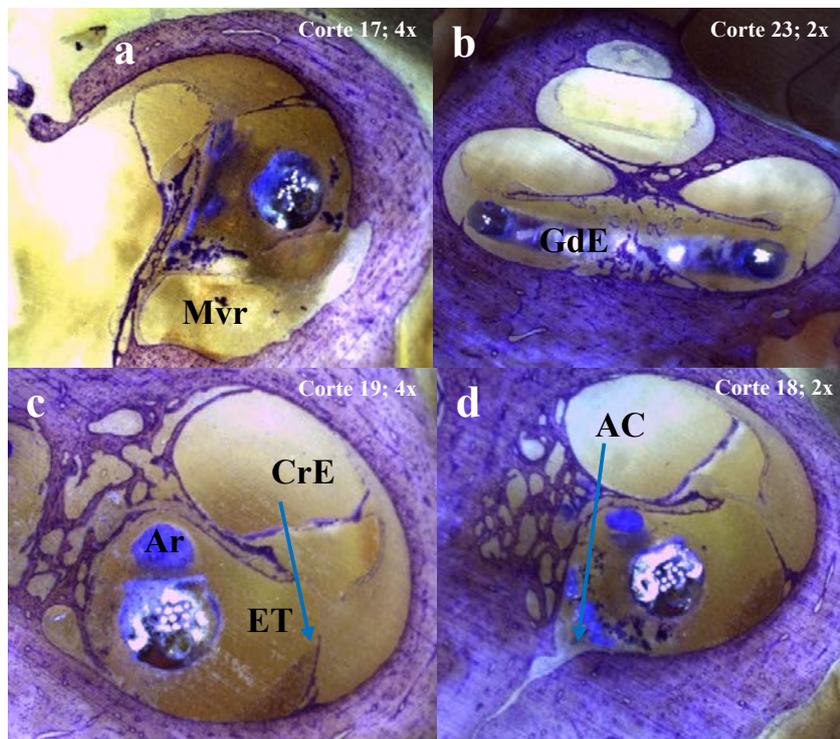


Figura 4.78: Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf5-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf5-24h. a. Nicho de la VR, pudiendo apreciarse su membrana (Mvr). b. Adecuado estado de la guía de electrodos (GdE) a nivel de la primera espira de la cóclea, en la ET. Ausencia de reacciones biológicas secundarias a la inserción. c. Crack en Epoxi (CrE) en torno a la GdE y artefacto de tinción (Ar). d. AC permeable, en su apertura a nivel de la ET.

2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.79).

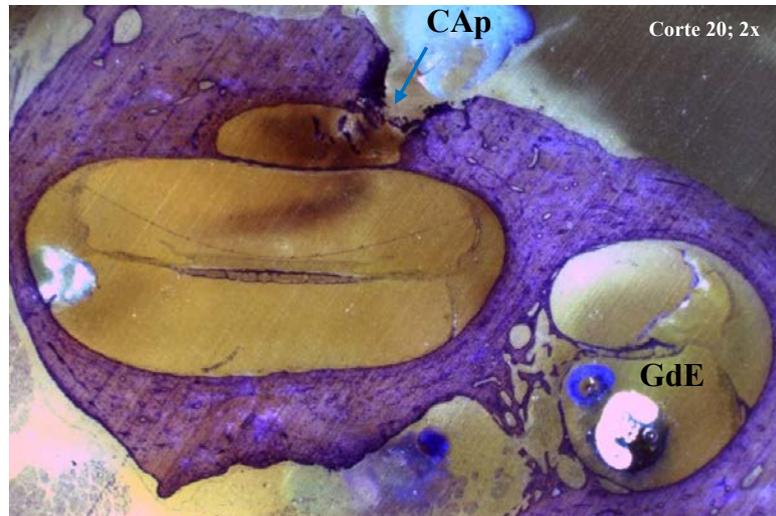


Figura 4.79: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf5-24h. Corte histológico correspondiente al oído derecho del espécimen Mf5-24h. Visión general de la cóclea que permite la comprobación de la adecuada localización de la guía de electrodos (GdE) a nivel de la ET, así como de la cocleostomía apical (CAp), con acceso a la región intracoclear para la toma de muestras.

3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.80).



Figura 4.80: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf5-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf5-24h. a. Visión general de la cóclea que permite valorar el trauma generado por la inserción. b. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la primera espira coclear. c. Detalle del trauma generado a nivel de la espira basal, evidenciándose igualmente elevación de la membrana basilar (flecha roja). Clasificación de Eshraghi: 1.

## 4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.81 y 4.82).

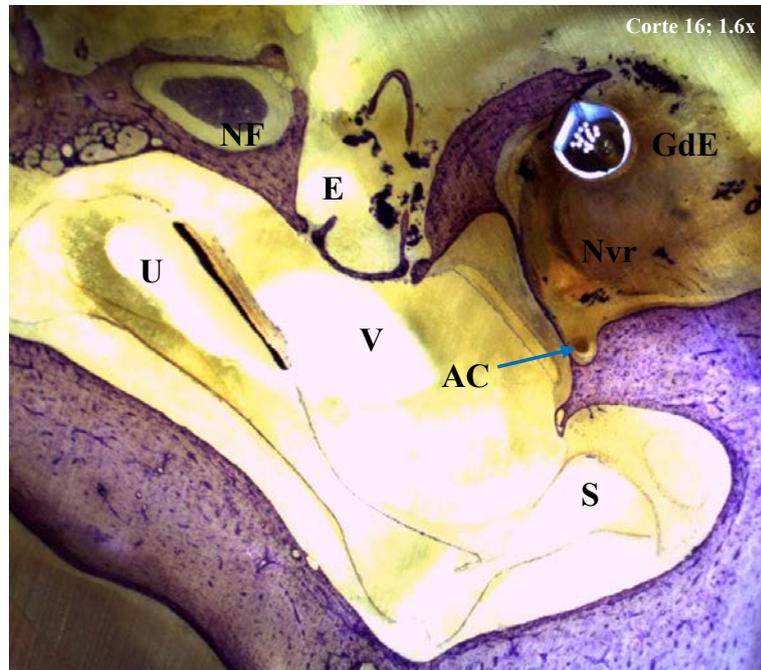


Figura 4.81: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf5-24h. Corte histológico correspondiente al oído derecho del espécimen Mf5-24h. a. Visión general del vestíbulo (V), el sáculo (S) y el utrículo (U), el estribo (E) y el nervio facial (NF), el nicho de la VR (Nvr) con la guía de electrodos (GdE) y el AC.

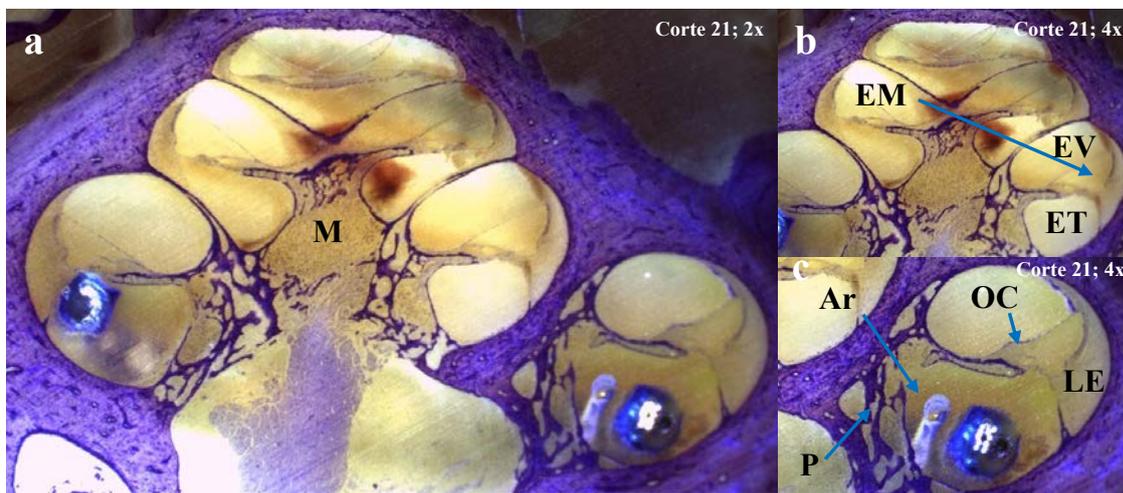


Figura 4.82: Visión general de la cóclea en el Mf5-24h. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf5-24h. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM. c. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar, así como el buen estado del ligamento espiral (LE) y el Órgano de Corti (OC). Artefacto de tinción (Ar) a nivel de la espira basal.

### 4.2.3. Grupo 7 días

Los resultados referentes al Grupo 7 días se resumen en la Tabla 4.15. De igual forma, en la Figura 4.83 se representan las concentraciones obtenidas de cada espécimen en cada muestra, junto con la concentración media y su intervalo de confianza al 95 %.

Tabla 4.15: Resumen de los resultados obtenidos en el Grupo 7 días.

	Mf1-7d*	Mf2-7d	Mf3-7d	Mf4-7d	Mf5-7d
<b>Procedim. quirúrgico</b>	Ok	Ok	Ok	Ok	Ok
<b>Función dispositivo</b>	Fallo	Ok	Ok	Ok	Ok
<b>Inserción dispositivo</b>	VR (Fr)	VR (Fr)	VR (Fr)	VR (Fr)	VR (Fr)
<b>Sellado ventana</b>	Fascia + G	Fascia + G	Fascia + G	Fascia + G	Fascia + G
<b>Fugas</b>	No	No	No	No	No
<b>Nº muestras (min)**</b>	11 (78)	10 (64)	13 (45)	10 (70)	10 (76)
<b>Clasificación Eshraghi</b>	1	0	1	1	1
<b>Localización GdE</b>	ET	ET	ET	ET	ET
<b>Ángulo inserción</b>	>270º	180-270º	180-270º	180-270º	180-270º
<b>Long. inserción (mm)</b>	11	11	11	11	11
<b>Lugar cocleostomía</b>	Ápex	2ª Espira	2ª Espira	Ápex + Espira basal	Ápex
<b>D. cocleostomía (µm)</b>	-	-	-	-	-
<b>Hallazgos histológicos</b>					
- <b>GdE</b>	OK	OK	OK	OK	OK
- <b>VR</b>	Esquirlas óseas	G	G	Fascia + G	OK
- <b>Ápex coclear</b>	Esquirlas óseas + fractura inter-escalar	OK	OK	Fractura inter-escalar	Esquirlas óseas + fractura inter-escalar
- <b>2ª Espira</b>	-	OK	Esquirlas óseas	-	-

OD: oído derecho; OI: oído izquierdo; VR: ventana redonda; Fr: fresado del nicho de la ventana redonda; G: cianoacrilato; GdE: guía de electrodos; ET: escala timpánica; D.: diámetro mayor.

\*Los resultados obtenidos para el Mf1-7d no fueron valorables dada la accidental desconexión de la cánula de liberación.

\*\*Duración total del proceso de extracción de muestras en minutos.

En la Figura 4.83 puede observarse que las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas permanecen relativamente estables, con tendencia a disminuir a lo largo de la toma de muestras. Los valores obtenidos en el Grupo 7 días son claramente superiores a aquellos obtenidos en el Grupo 2 horas, siendo las concentraciones de este grupo similares, aunque levemente inferiores, a las que habían sido observadas en el Grupo 24 horas. En este grupo, la media de concentración máxima se alcanzó en torno a las muestras 1-2.

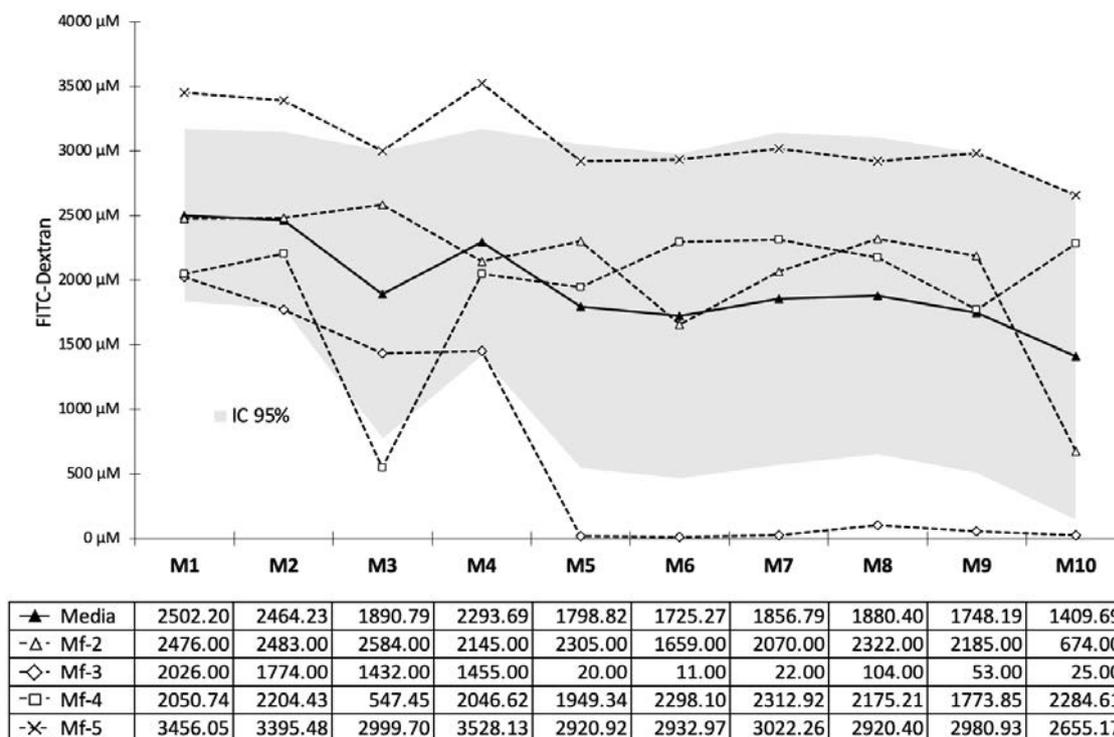


Figura 4.83: Concentraciones de FITC-Dextran obtenidas en el Grupo 7 días. Todos los valores de la Figura se expresan en  $\mu\text{M}$ . El espécimen Mf1-7d ha sido excluido dada la accidental desconexión de la cánula de liberación.

A continuación se detallan los resultados específicos obtenidos para cada espécimen.

#### 4.2.3.1. *Macaca fascicularis* 1 (Mf1-7d)

##### 4.2.3.1.1. Datos demográficos

Mf codificado con el número #1468. Macho, de 2506 g de peso.

##### 4.2.3.1.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos

**4.2.3.1.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído derecho, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Material y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, requiriendo fresado previo del nicho de la misma, y siendo tras esto su membrana sellada con la asociación de F y cianoacrilato, dispuestos sobre la misma en ese orden. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital.

**4.2.3.1.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico se lograron igualmente sin incidencias ni complicaciones. En este espécimen no se evidenció dehiscencia de la herida resultante del primer tiempo quirúrgico, manteniéndose los puntos de sutura en buen estado. En este caso, en la observación de la VR no se evidenciaron fugas de FITC-Dextran. Tras la retirada de los puntos sobre el lecho quirúrgico, se comprobó la adecuada localización del dispositivo, así como el estado de los tejidos circundantes, prestando especial atención a la existencia de posibles fugas de FITC-Dextran y a la generación de fibrosis en el área intervenida. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. Por medio de los tubos capilares, se obtuvieron un total de 10 muestras de perilinf-FITC-Dextran, sin evidenciar fugas a este nivel ni desplazamiento del *silicon cup* previamente creado. El volumen medio extraído en cada muestra fue de  $0.98 \pm 0.03 \mu\text{L}$ , con un rango que osciló entre 0.93 y  $1 \mu\text{L}$ . El tiempo total requerido para la toma del total de muestras fue de 78 minutos. Cabe remarcar que en este espécimen, durante la toma de muestras, si bien se evidenció el característico color de la fluoresceína a través de los tubos capilares a medida que se iban recogiendo las muestras, la intensidad de éste era mucho menor a la observada en otros especímenes previamente realizados. A pesar de ello, se continuó el procedimiento para la obtención de las muestras y su posterior comprobación y medición espectro-fluorométrica. Se decidió en el momento tomar una muestra más, siendo por tanto un total de 11, dado el cambio de coloración evidenciado en las 10 muestras previas, sin obtener cambios en el mismo con la toma de esta última.

**4.2.3.1.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** El desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos tuvo lugar sin incidencias ni complicaciones. La duración total del procedimiento fue de 10223 minutos: 65 minutos se requirieron para la culminación del primer tiempo quirúrgico, los 7 días posteriores fueron destinados al proceso de liberación del FITC-Dextran y los restantes 78 minutos se correspondieron con el procedimiento de toma de muestras.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.84).



Figura 4.84: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf1-7d. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf1-7d tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de  $>270^\circ$  (cuarto cuadrante).

#### 4.2.3.1.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

Las muestras de perilinfá obtenidas en este espécimen no se consideraron valorables, dadas las bajas concentraciones obtenidas. La Figura 4.85 muestra las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas a partir de cada una de las muestras. Como puede observarse, en el caso del espécimen Mf1-7d, el rango de valores se encuentra limitado en un intervalo de  $3\text{--}27\ \mu\text{M}$ . El valor mínimo se corresponde con la muestra M9, mientras que el valor máximo se alcanza en las muestras M7 y M8.

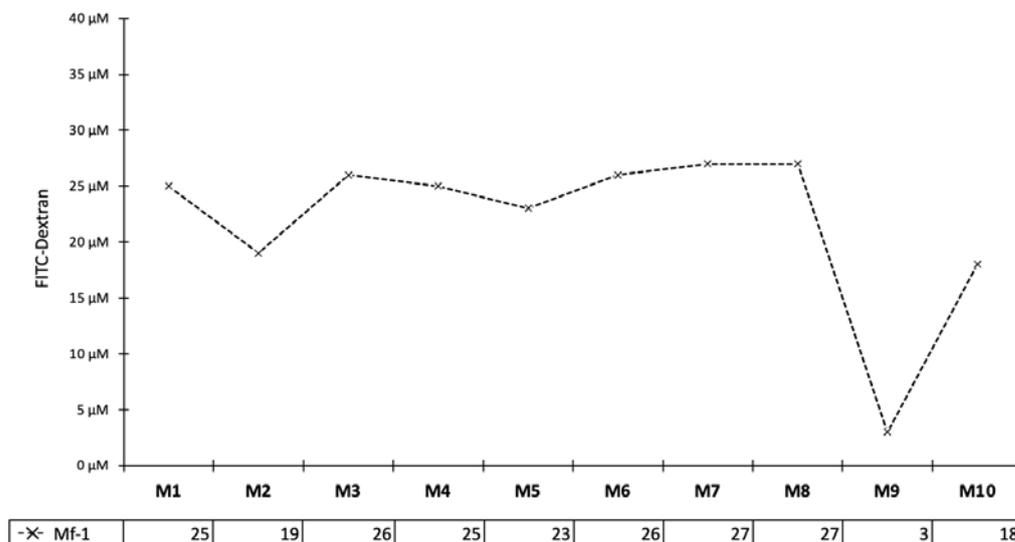


Figura 4.85: Concentraciones de FITC-Dextran obtenidas en el Mf1-7d. Todos los valores de la Figura se expresan en  $\mu\text{M}$ . Se ha reducido la escala en un factor de 100, con respecto a la gráfica de concentraciones del grupo, para mejorar la visualización.

#### 4.2.3.1.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a  $>270^\circ$  (cuarto cuadrante). La puntuación obtenida en la clasificación de Eshraghi fue de 1 (Tabla 4.16).

Tabla 4.16: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf1-7d. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	0
90-180°	1
180-270°	0
$>270^\circ$	0

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, en este caso los cortes histológicos realizados verificaron signos indirectos de la correcta localización a nivel de la región más apical de la ET, sin embargo poder llegar a realizar una valoración de las dimensiones exactas de la misma. No se evidenciaron signos de fibrosis ni osificación, si bien pudieron apreciarse esquirlas óseas a nivel de la cocleostomía apical y fractura interescalar. Igualmente se analizó en los cortes histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET, sin evidenciar, en este espécimen, compromiso del mismo.

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figura 4.86).

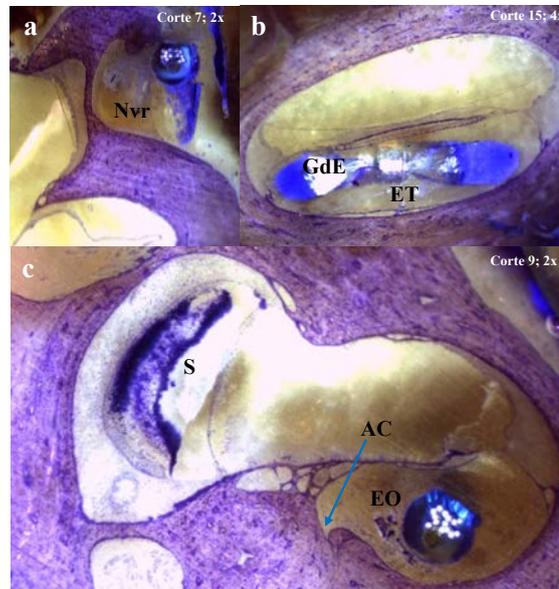


Figura 4.86: Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf1-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf1-7h. a. Nicho de la VR (Nvr). b. Adecuado estado de la guía de electrodos (GdE) a nivel de la primera espira de la cóclea, en la ET. c. Dispositivo a nivel de la espira basal de la cóclea, en la ET. Esquirlas óseas (EO) en torno a la GdE. AC permeable, en su apertura a nivel de la ET. Este corte histológico permite igualmente visualizar la mácula del sáculo (S).

2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.54).

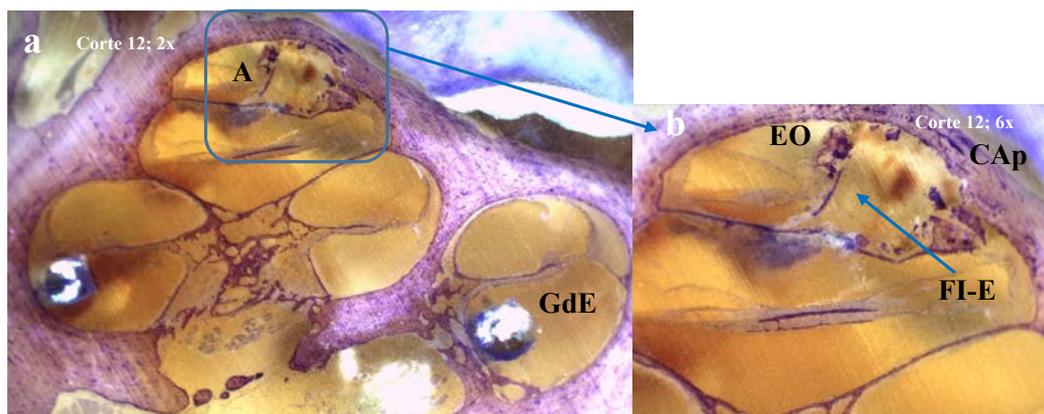


Figura 4.87: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf1-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf1-7d. a. Visión general de la cóclea que permite la comprobación de la adecuada localización de la guía de electrodos (GdE) a lo largo de la ET, así como de la cocleostomía a nivel del ápex (A). b. Detalle de la cocleostomía apical (CAp). Esquirlas óseas (EO) en el interior de la cóclea, a nivel del A, con evidencia de fractura inter-escalar (FI-E).

3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.55).

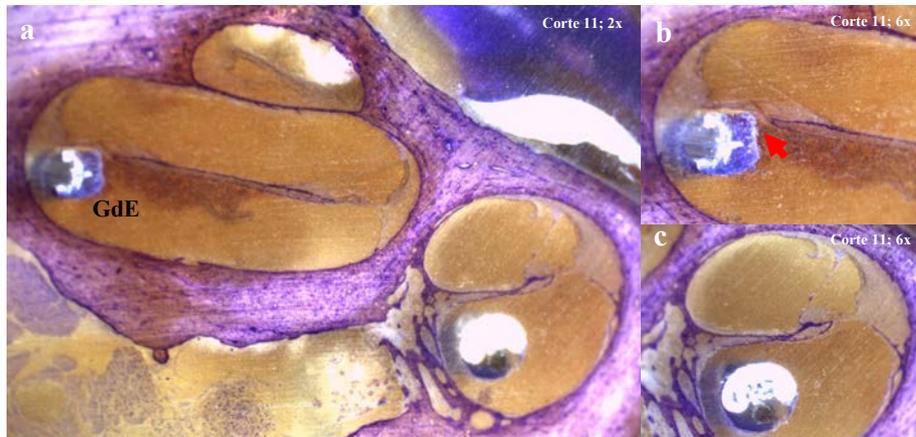


Figura 4.88: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf1-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf1-7d. a. Visión general de la cóclea que permite valorar el trauma generado por la inserción. b. Detalle del trauma generado a nivel de la primera espira, evidenciándose elevación de la membrana basilar (flecha roja). c. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la espira basal. Clasificación de Eshraghi: 1.

4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.89 y 4.90).

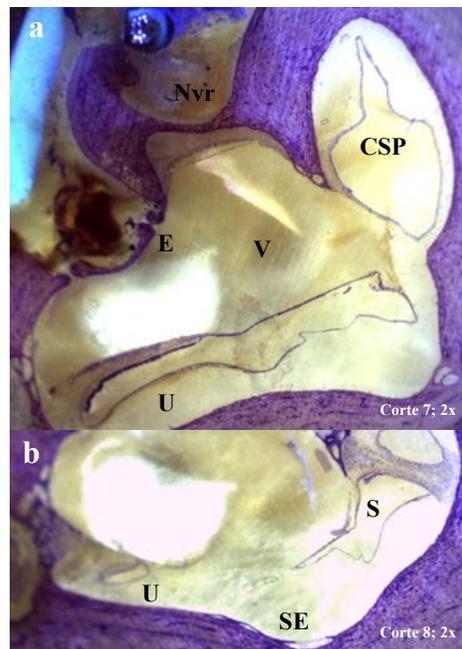


Figura 4.89: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf1-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf1-7d. a. Visión general del vestíbulo (V), el CSP y el utrículo (U), el estribo (E), el nervio facial (NF) y el nicho de la VR (Nvr) con la guía de electrodos (GdE). b. Detalle del seno endolinfático (SE), junto con el U y el S.

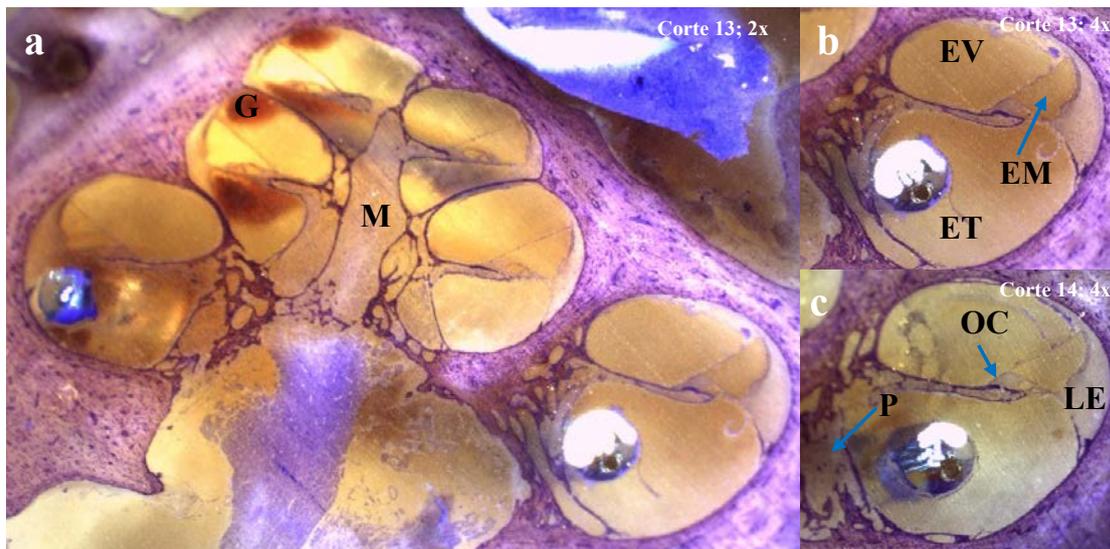


Figura 4.90: Visión general de la cóclea en el Mf1-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf1-7d. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). Se evidencian restos de cianoacrilato (G) en ET y EV. b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM. c. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar, así como el buen estado del ligamento espiral (LE) y el Órgano de Corti (OC).

#### 4.2.3.2. *Macaca fascicularis* 2 (Mf2-7d)

##### 4.2.3.2.1. Datos demográficos

Mf codificado con el número #0255. Macho, de 3112 g de peso.

##### 4.2.3.2.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos

**4.2.3.2.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído derecho, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Material y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, requiriendo fresado previo del nicho de la misma, siendo tras esto su membrana sellada con la asociación de F y cianoacrilato, dispuestos sobre la misma en ese orden. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital. Sin embargo, en este espécimen, durante el procedimiento de disección para la elaboración de este bolso subperióstico a nivel occipital, se evidenciaron fugas de LCR sobre la zona. Estas fugas cedieron progresivamente durante el transcurso de la cirugía, sin producirse nueva evidencia de pérdida de LCR durante los 7 días de

liberación posterior ni durante el segundo tiempo quirúrgico, destinado a la toma de muestras. El espécimen permaneció asintomático en todo momento.

**4.2.3.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico se lograron igualmente sin incidencias ni complicaciones. En este espécimen no se evidenció dehiscencia de la herida resultante del primer tiempo quirúrgico, manteniéndose los puntos de sutura en buen estado. En este caso, en la observación de la VR no se evidenciaron fugas de FITC-Dextran. Tras la retirada de los puntos sobre el lecho quirúrgico, se comprobó la adecuada localización del dispositivo, así como el estado de los tejidos circundantes, prestando especial atención a la existencia de posibles fugas de FITC-Dextran y a la generación de fibrosis en el área intervenida. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. Por medio de los tubos capilares, se obtuvieron un total de 10 muestras de perilinf-FITC-Dextran, sin evidenciar fugas a este nivel ni desplazamiento del *silicon cup* previamente creado. El volumen medio extraído en cada muestra fue de  $1.01 \pm 0.02 \mu\text{L}$ , con un rango que osciló entre 1 y  $1.067 \mu\text{L}$ . El tiempo total requerido para la toma del total de muestras fue de 64 minutos.

**4.2.3.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** El desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos tuvo lugar sin incidencias ni complicaciones. La duración total del procedimiento fue de 10218 minutos: 74 minutos se requirieron para la culminación del primer tiempo quirúrgico, los 7 días posteriores fueron destinados al proceso de liberación del FITC-Dextran y los restantes 64 minutos se correspondieron con el procedimiento de toma de muestras.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.91).

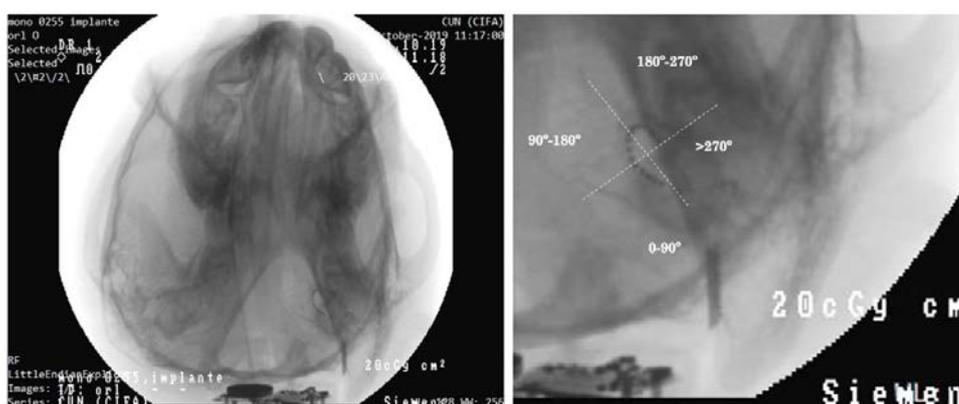


Figura 4.91: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf2-7d. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf2-7d tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de 180-270° (tercer cuadrante).

#### 4.2.3.2.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

La Figura 4.49 muestra las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas a partir de cada una de las muestras. En este caso, se observa una tendencia a la estabilidad de las concentraciones, con un valor de M1 de 2476.00  $\mu\text{M}$  y un valor de M10 de 674.00  $\mu\text{M}$ , correspondiente a la concentración mínima. La concentración máxima se observó en M3, alcanzando 2584.00  $\mu\text{M}$ .

#### 4.2.3.2.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a 180-270° (tercer cuadrante). No se produjeron daños a nivel histológico en la estructura coclear, obteniendo una puntuación en la clasificación de Eshraghi de 0 (Tabla 4.17).

Tabla 4.17: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf2-7d. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	0
90-180°	0
180-270°	0
>270°	0

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, en este caso los cortes histológicos verificaron la localización en la ET, a nivel de la segunda espira, sin embargo poder llegar a realizar una valoración de las dimensiones exactas de la misma. No se evidenciaron signos de fibrosis ni osificación, si bien pudieron apreciarse restos de cianoacrilato en la ET, en la región próxima a la VR. Igualmente se analizó en los cortes histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET, sin evidenciar, en este espécimen, compromiso del mismo.

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figura 4.92).

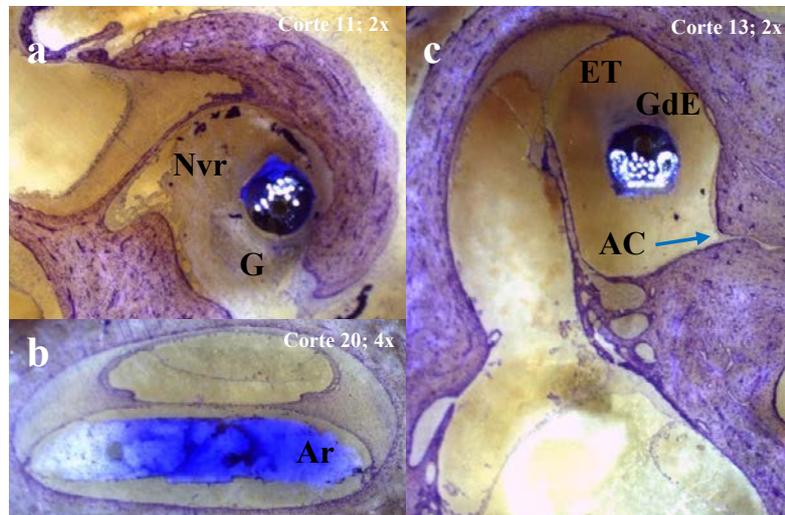


Figura 4.92: Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf2-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf2-7d. a. Nicho de la VR (Nvr), con restos de cianoacrilato (G) en la zona. b. Los cortes histológicos no permiten la adecuada visualización del estado de la guía de electrodos (GdE), debido a un artefacto (Ar) de tinción. c. Dispositivo a nivel de la espira basal de la cóclea, en la ET. Ausencia de reacciones biológicas secundarias a su inserción. AC permeable, en su apertura a nivel de la ET.

2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.93).

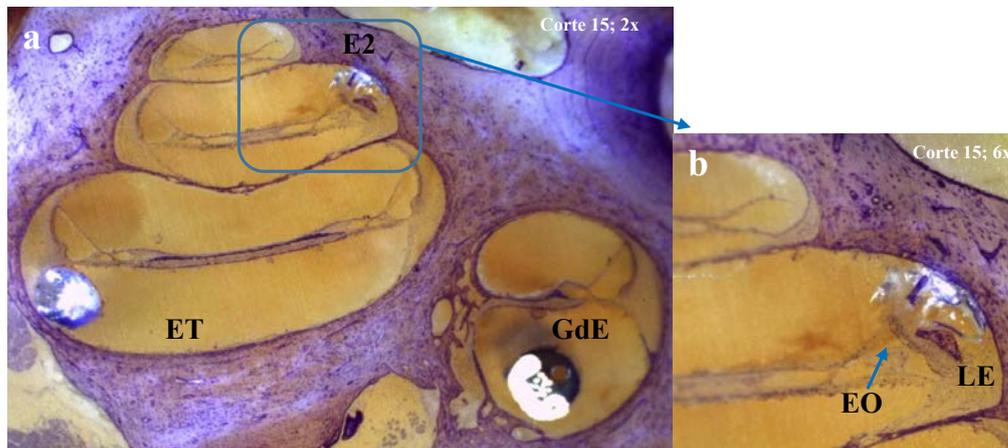


Figura 4.93: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf2-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf2-7d. a. Visión general de la cóclea que permite la comprobación de la adecuada localización de la guía de electrodos (GdE) a lo largo de la ET, así como signos indirectos de la localización de la cocleostomía, en este caso a nivel de la segunda espira (E2). b. Detalle de la cocleostomía. Esquirlas óseas (EO) en el interior de la cóclea, a nivel de E2, con evidencia de probable daño al ligamento espiral (LE) a este nivel.

## 3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.94).

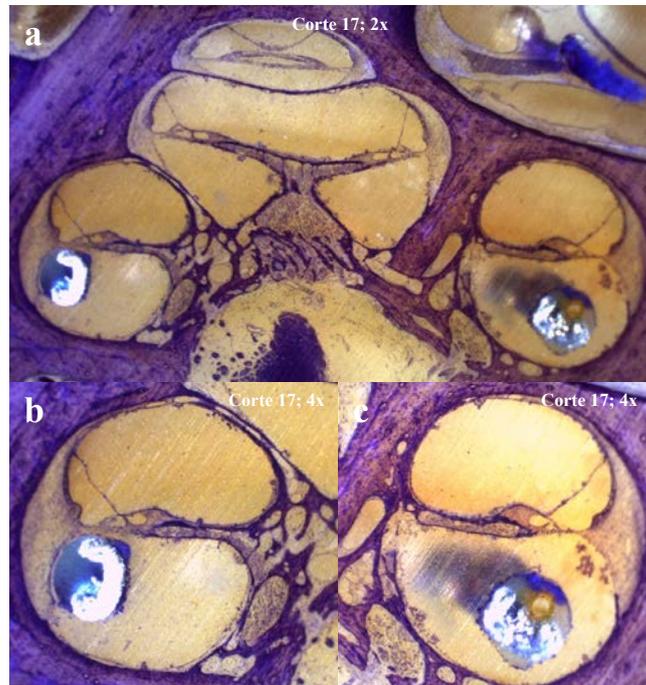


Figura 4.94: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf2-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf2-7d. a. Visión general de la cóclea que permite valorar la ausencia de trauma generado por la inserción. b. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la primera espira coclear. c. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la espira basal. Clasificación de Eshraghi: 0.

## 4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.95 y 4.96).

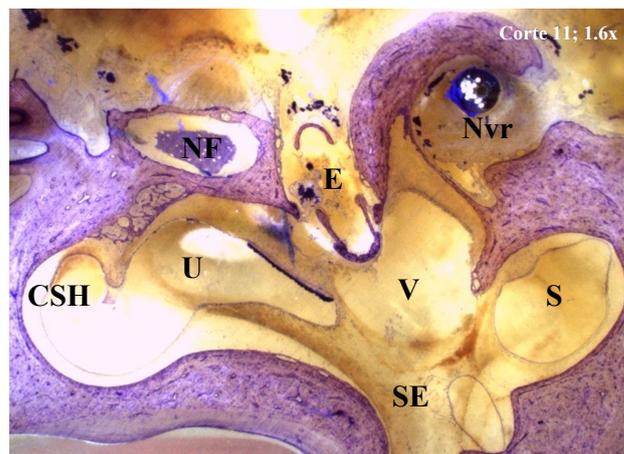


Figura 4.95: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf2-7d. Corte histológico correspondiente al oído derecho del espécimen Mf2-7d. a. Visión general del vestíbulo (V), el sáculo (S) y el utrículo (U), el seno endolinfático (SE), la región ampular del CSH, el estribo (E) y el nervio facial (NF), así como el nicho de la ventana redonda (Nvr).



Figura 4.96: Visión general de la cóclea en el Mf2-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf2-7d. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM. Verificación del adecuado estado del ligamento espiral (LE). c. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar. Buen estado del Órgano de Corti (OC). Crack en Epoxi (CrE) en torno a la guía de electrodos.

#### 4.2.3.3. *Macaca fascicularis* 3 (Mf3-7d)

##### 4.2.3.3.1. Datos demográficos

Mf codificado con el número #2081. Macho, de 3059 g de peso.

##### 4.2.3.3.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos

**4.2.3.3.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído derecho, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Material y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, requiriendo fresado previo del nicho de la misma, siendo tras esto su membrana sellada con la asociación de F y cianoacrilato, dispuestos sobre la misma en ese orden. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital. A pesar del correcto desarrollo de este procedimiento, el sistema bomba-cánula tuvo que ser reemplazado por una nueva previo a la implantación por un fallo en la conexión de la misma con la guía de electrodos.

**4.2.3.3.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico se lograron igualmente

sin incidencias ni complicaciones. En este espécimen no se evidenció dehiscencia de la herida resultante del primer tiempo quirúrgico, manteniéndose los puntos de sutura en buen estado. En este caso, en la observación de la VR no se evidenciaron fugas de FITC-Dextran. Tras la retirada de los puntos sobre el lecho quirúrgico, se comprobó la adecuada localización del dispositivo, así como el estado de los tejidos circundantes, prestando especial atención a la existencia de posibles fugas de FITC-Dextran y a la generación de fibrosis en el área intervenida. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. Por medio de los tubos capilares, en este caso y con el objetivo de evidenciar la tendencia al mantenimiento de la estabilidad en las concentraciones durante la toma de un número mayor de 10 muestras, se obtuvieron un total de 13 muestras de perilinf-FITC-Dextran, sin evidenciar fugas a este nivel ni desplazamiento del *silicon cup* previamente creado. El volumen medio extraído en cada muestra fue de  $1.11 \pm 0.29 \mu\text{L}$ , con un rango que osciló entre 0.93 y  $2.13 \mu\text{L}$ . El tiempo total requerido para la toma del total de muestras fue de 45 minutos, correspondiéndose el mismo con 34 minutos para las 10 primeras muestras y 11 minutos para las 3 restantes.

**4.2.3.3.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** El desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos tuvo lugar sin incidencias ni complicaciones. La duración total del procedimiento fue de 10265 minutos: 140 minutos se requirieron para la culminación del primer tiempo quirúrgico, los 7 días posteriores fueron destinados al proceso de liberación del FITC-Dextran y los restantes 45 minutos se correspondieron con el procedimiento de toma de muestras.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.97).



Figura 4.97: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf3-7d. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf3-7d tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de 180-270° (tercer cuadrante).

#### 4.2.3.3.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

La Figura 4.49 muestra las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas a partir de cada una de las muestras. En este caso, la concentración en M1 adquirió un valor de 2026.00  $\mu\text{M}$ , correspondiéndose esta cifra con la concentración máxima, y manteniendo una tendencia a la estabilidad hasta M4. En M5 se produjo una caída brusca de concentración, obteniendo valores de 20.00  $\mu\text{M}$ . Las concentraciones en M10 alcanzan valores de 25.00  $\mu\text{M}$ . Si bien en M13 se vuelve a obtener un pico de concentración similar a las primeras muestras obtenidas (1234  $\mu\text{M}$ ), el rango de concentraciones entre M5 y M12 se correspondió con 9-104  $\mu\text{M}$ . El conjunto de las 13 muestras obtenidas abarcó por tanto un rango de concentraciones muy variado, oscilando entre 9  $\mu\text{M}$  y 2026  $\mu\text{M}$ .

#### 4.2.3.3.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a 180-270° (tercer cuadrante). La puntuación obtenida en la clasificación de Eshraghi fue de 1 (Tabla 4.18).

Tabla 4.18: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf3-7d. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	1
90-180°	1
180-270°	0
>270°	0

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, en este caso los cortes histológicos verificaron la localización en la ET, a nivel de la segunda espira, sin embargo poder llegar a realizar una valoración de las dimensiones exactas de la misma. No se evidenciaron signos de fibrosis ni osificación, si bien pudieron apreciarse esquirlas óseas a nivel de la segunda espira coclear. Igualmente se analizó en los cortes histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET, sin poder visualizarlo en ninguno de los cortes obtenidos.

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figuras 4.98 y 4.99).

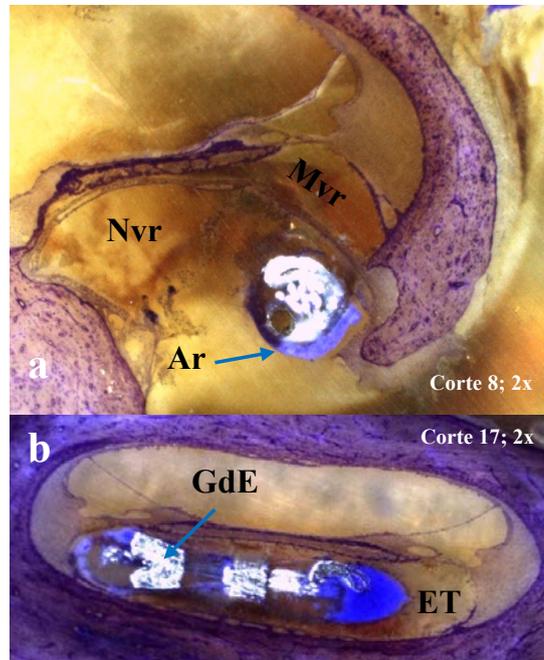


Figura 4.98: Guía de electrodos implantada y estado de la ventana redonda en el Mf3-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-7d. a. Nicho de la VR (Nvr). Este corte permite la visualización de la membrana de la VR (Mvr). Artefacto (Ar) de tinción en torno a la guía de electrodos (GdE). b. GdE a nivel de la primera espira de la cóclea, en la ET. Ausencia de reacciones biológicas secundarias a su inserción.

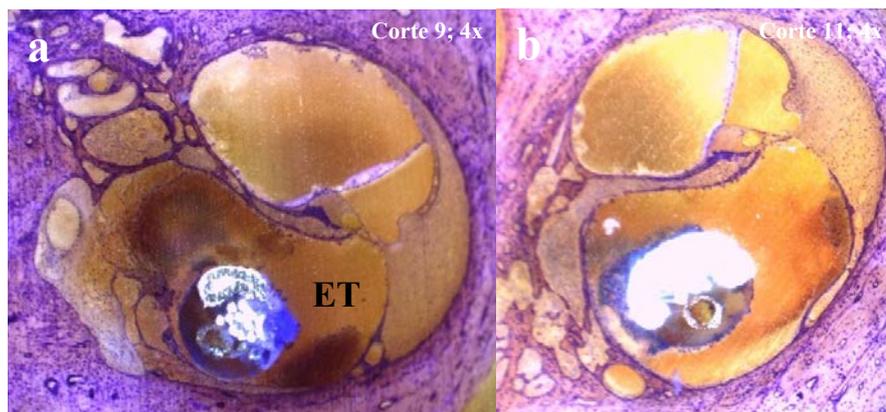


Figura 4.99: Guía de electrodos implantada y estado del acueducto coclear en el Mf3-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-7d. Dispositivo a nivel de la espira basal de la cóclea, en la ET. Ausencia de reacciones biológicas secundarias a su inserción. Ninguno de los cortes histológicos obtenidos permite evidenciar al apertura del AC a nivel de la ET.

2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.100).

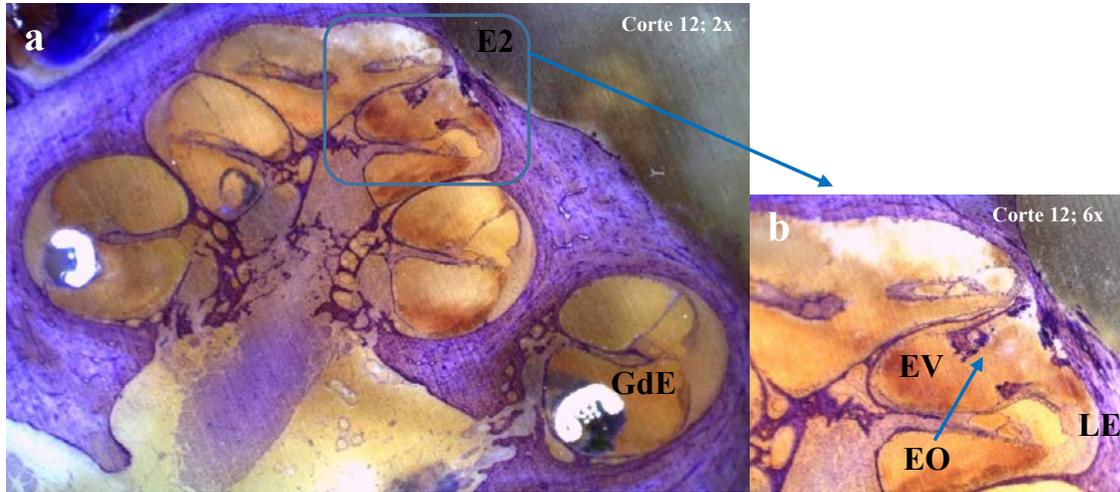


Figura 4.100: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf3-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-7d. a. Visión general de la cóclea que permite la comprobación de la adecuada localización de la guía de electrodos (GdE) a lo largo de la ET, así como signos indirectos de la localización de la cocleostomía, en este caso a nivel de la segunda espira (E2). b. Detalle de la cocleostomía. Esquirlas óseas (EO) en el interior de la cóclea, a nivel de E2, en la escala vestibular (EV), con evidencia de probable daño al ligamento espiral (LE) a este nivel.

3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.101).

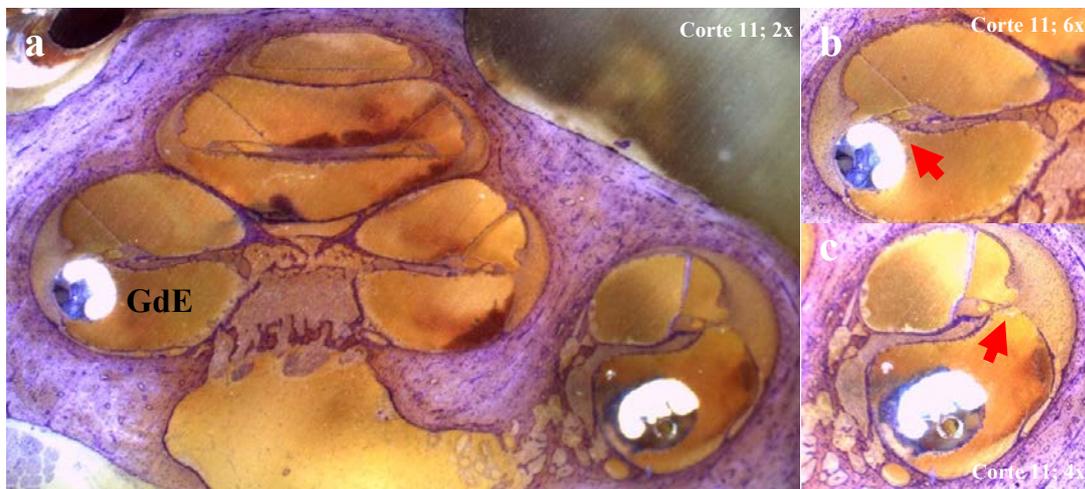


Figura 4.101: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf3-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-7d. a. Visión general de la cóclea que permite valorar el trauma generado por la inserción. b. Detalle del trauma generado a nivel de la primera espira, evidenciándose elevación de la membrana basilar (flecha roja). c. Detalle del trauma generado a nivel de la espira basal, evidenciándose elevación de la membrana basilar (flecha roja). Clasificación de Eshraghi: 1.

## 4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.102 y 4.103).

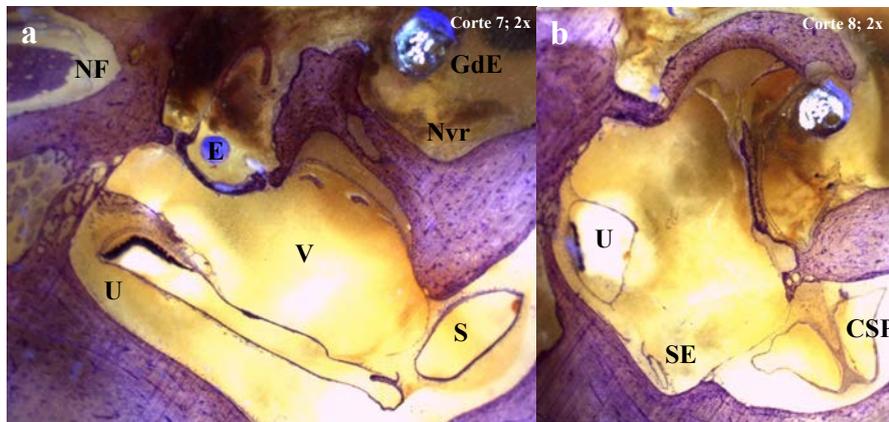


Figura 4.102: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf3-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-7d. a. Visión general del vestíbulo (V), el sáculo (S) y el utrículo (U), el estribo (E) y el nervio facial (NF) y el nicho de la VR (Nvr) con la guía de electrodos (GdE). b. Detalle del seno endolinfático (SE), del U y de la región ampular del CSP.

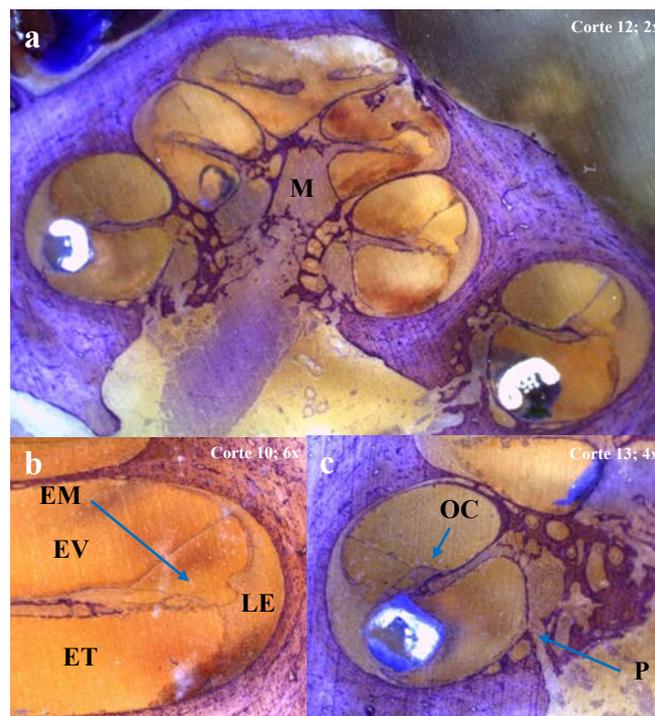


Figura 4.103: Visión general de la cóclea en el Mf3-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf3-7d. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM. Verificación del adecuado estado del ligamento espiral (LE). c. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar. Buen estado del Órgano de Corti (OC).

#### 4.2.3.4. *Macaca fascicularis* 4 (Mf4-7d)

##### 4.2.3.4.1. Datos demográficos

Mf codificado con el número #7051. Macho, de 3064 g de peso.

##### 4.2.3.4.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos

**4.2.3.4.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído derecho, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Material y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, requiriendo fresado previo del nicho de la misma, siendo tras esto su membrana sellada con la asociación de F y cianoacrilato, dispuestos sobre la misma en ese orden. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital.

**4.2.3.4.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico se lograron igualmente sin incidencias ni complicaciones. En este espécimen no se evidenció dehiscencia de la herida resultante del primer tiempo quirúrgico, manteniéndose los puntos de sutura en buen estado. En este caso, en la observación de la VR no se evidenciaron fugas de FITC-Dextran. Tras la retirada de los puntos sobre el lecho quirúrgico, se comprobó la adecuada localización del dispositivo, así como el estado de los tejidos circundantes, prestando especial atención a la existencia de posibles fugas de FITC-Dextran y a la generación de fibrosis en el área intervenida. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. Por medio de los tubos capilares, se obtuvieron un total de 10 muestras de perilinf-FITC-Dextran, sin evidenciar fugas a este nivel ni desplazamiento del *silicon cup* previamente creado. Durante el proceso de apertura de la cocleostomía, se produjo rotura accidental del *pick angle*, que condicionó la apertura de una segunda área de cocleostomía. Finalmente, las muestras se obtuvieron de la porción coclear más apical, una vez habían sido retirados los restos metálicos del *pick angle*. Este incidente no condicionó los resultados obtenidos durante la toma de muestras. El volumen medio extraído en cada muestra fue de  $1.01 \pm 0.02 \mu\text{L}$ , con un rango que osciló entre 1 y  $1.067 \mu\text{L}$ . El tiempo total requerido para la toma del total de muestras fue de 70 minutos.

**4.2.3.4.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** El desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos tuvo lugar sin incidencias ni complicaciones. La duración total del procedimiento fue de 10220 minutos: 70 minutos se requirieron para la culminación del primer tiempo quirúrgico, los 7 días posteriores fueron destinados al

proceso de liberación del FITC-Dextran y los restantes 70 minutos se correspondieron con el procedimiento de toma de muestras.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.104).

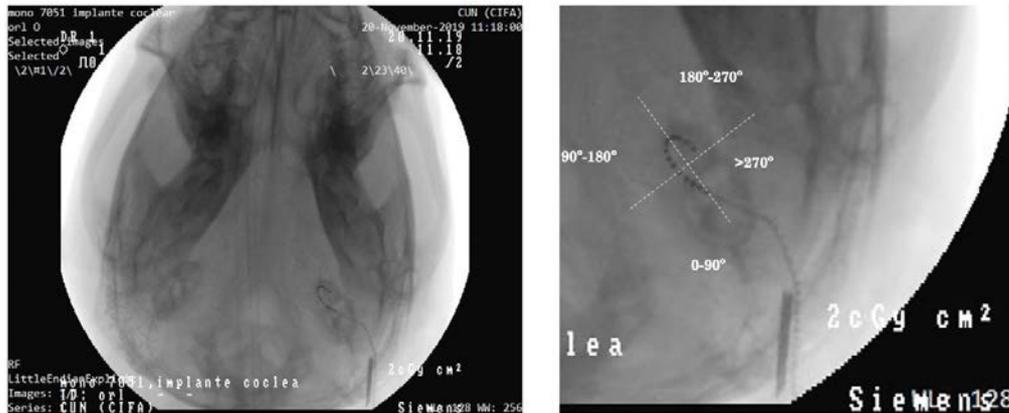


Figura 4.104: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf4-7d. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf4-7d tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de 180-270° (tercer cuadrante).

#### 4.2.3.4.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

La Figura 4.49 muestra las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas a partir de cada una de las muestras. En este caso, se observa una tendencia a la estabilidad de las concentraciones, con un valor de M1 de 2050.74  $\mu\text{M}$  y un valor de M10 de 2284.61  $\mu\text{M}$ . En M3 se evidenció una caída brusca de concentración, 547.45  $\mu\text{M}$ , coincidiendo con el valor mínimo. La concentración máxima se observó en M7, alcanzando 2312.92  $\mu\text{M}$ .

#### 4.2.3.4.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a 180-270° (tercer cuadrante). La puntuación obtenida en la clasificación de Eshraghi fue de 1 (Tabla 4.19).

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, los cortes histológicos objetivaron la presencia de dos localizaciones de cocleostomía: 1) a nivel apical; 2) a nivel de la espira basal. Esta primera región se correspondió con el área de toma de muestras en este espécimen. La valoración de las dimensiones exactas del área de cocleostomía no pudo ser estimada en este caso. No se evidenciaron signos de fibrosis ni osificación, si bien pudo evidenciarse restos de F y cianoacrilato en la ET, en la región próxima a la VR, así como fractura inter-escalar a nivel del ápex coclear. Igualmente se analizó en los cortes

Tabla 4.19: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-7d. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	1
90-180°	1
180-270°	0
>270°	0

histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET, sin evidenciar compromiso del mismo.

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figura 4.105).

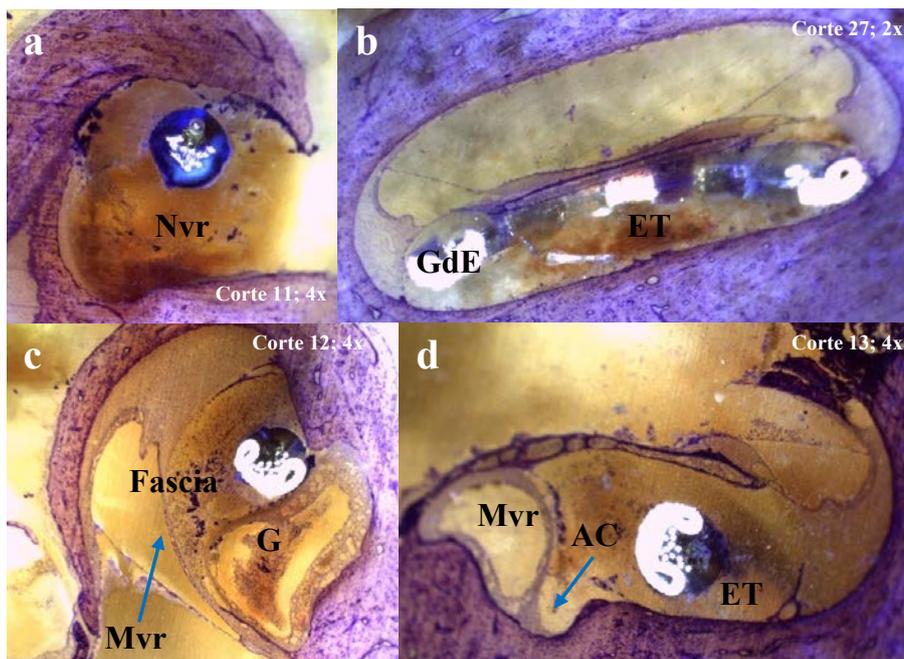


Figura 4.105: Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf4-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-7d. a. Nicho de la VR (Nvr). b. Adecuado estado de la guía de electrodos (GdE) a nivel de la primera espira de la cóclea, en la ET. c. Dispositivo a nivel del nicho de la VR (VR), junto con la GdE dentro de la espira basal de la cóclea. Fascia de sellado y restos de cianoacrilato (G) en torno a la GdE. Buen estado de la membrana de la ventana redonda (Mvr). d. GdE localizada en la ET en la espira basal. Ausencia de reacciones biológicas secundarias a su inserción. AC permeable, en su apertura a nivel de la ET.

## 2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.106).

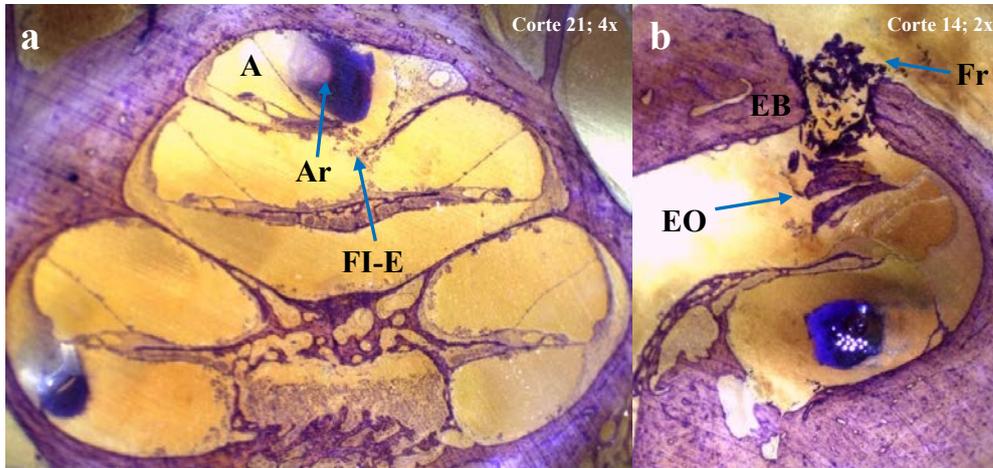


Figura 4.106: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf4-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-7d. a. Visión general de la cóclea que permite la comprobación de la localización de la cocleostomía a nivel del ápex (A). Signos indirectos de la cocleostomía apical: Fractura inter-escalar (FI-E) y artefacto (Ar) de tinción sobre la zona. b. Detalle de un segundo punto de cocleostomía, a nivel de la espira basal (EB). Hueso fresado (Fr). Esquirlas óseas (EO) en el interior de la cóclea a este nivel.

## 3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.107).

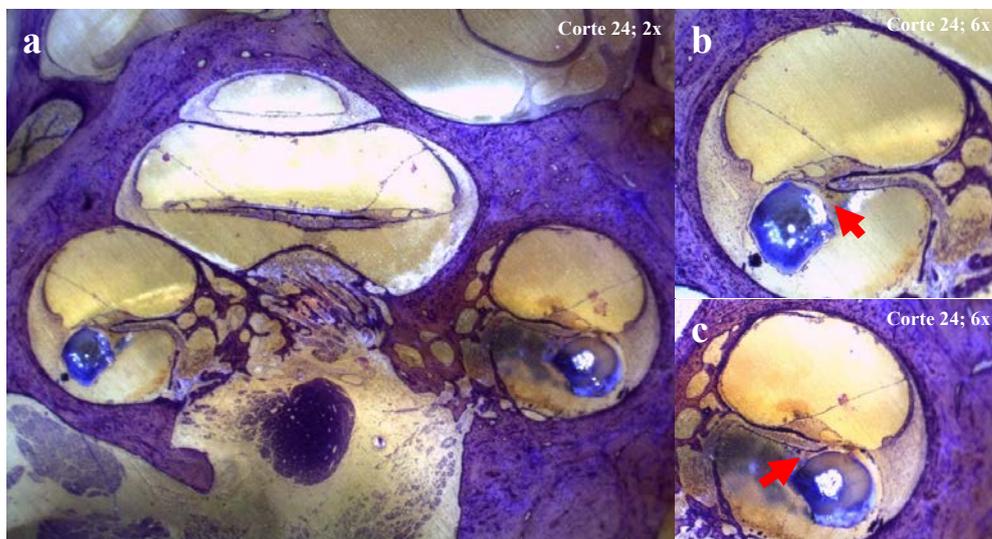


Figura 4.107: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf4-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-7d. a. Visión general de la cóclea que permite valorar el trauma generado por la inserción. b. Detalle del trauma generado a nivel de la primera espira, evidenciándose elevación de la membrana basilar (flecha roja). c. Detalle del trauma generado a nivel de la espira basal, evidenciándose igualmente elevación de la membrana basilar (flecha roja). Clasificación de Eshraghi: 1.

4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.108 y 4.109).

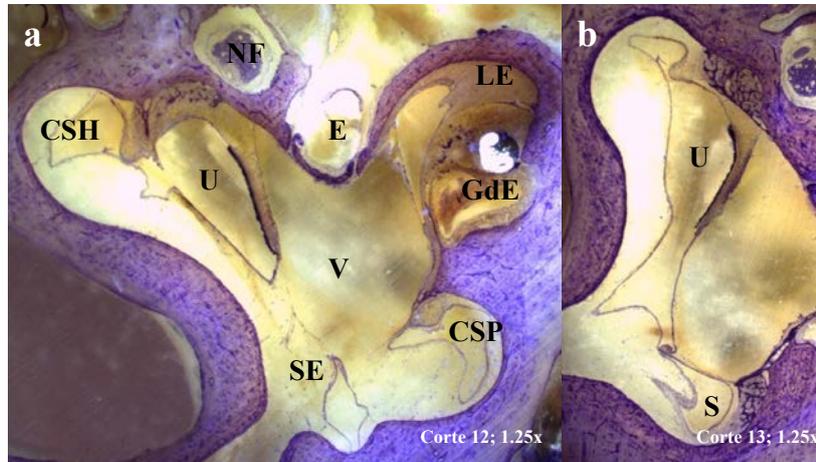


Figura 4.108: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf4-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-7d. a. Visión general del vestíbulo (V), el sáculo (S), el utrículo (U) y el seno endolinfático (SE). El estribo (E), el nervio facial (NF) y el nicho de la VR con la guía de electrodos (GdE). b. Detalle del U y el S.

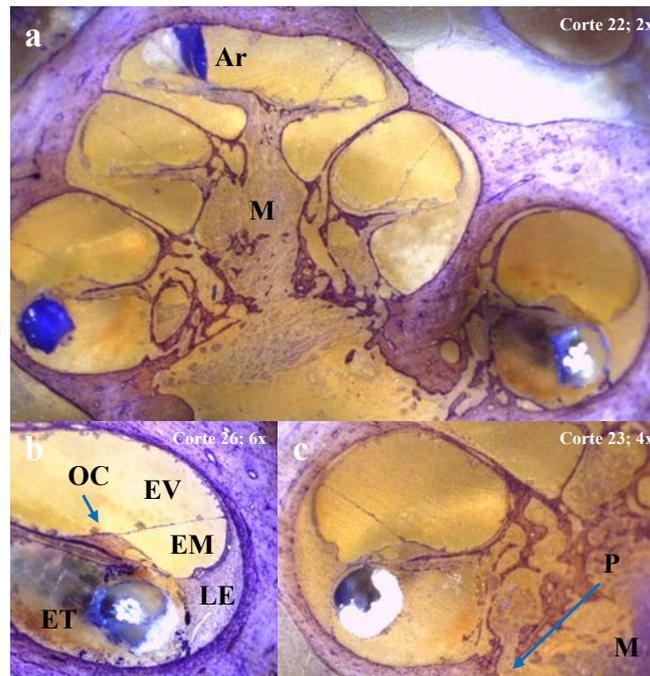


Figura 4.109: Visión general de la cóclea en el Mf4-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf4-7d. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). Artefacto de tinción (Ar) en región apical. b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM. Buen estado del ligamento espiral (LE) y el Órgano de Corti (OC). c. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar (M).

#### 4.2.3.5. *Macaca fascicularis* 5 (Mf5-7d)

##### 4.2.3.5.1. Datos demográficos

Mf codificado con el número #1337. Macho, de 2639 g de peso.

##### 4.2.3.5.2. Procedimientos y hallazgos quirúrgicos

**4.2.3.5.2.1. Implantación.** Se realizó la cirugía de implantación del dispositivo sobre el oído derecho, siguiendo los pasos previamente expuestos en el apartado: *Material y métodos*. Tanto el abordaje quirúrgico como el funcionamiento del dispositivo y su adecuada colocación se llevaron a cabo sin incidencias. La implantación se realizó a través de la VR, requiriendo fresado previo del nicho de la misma, siendo tras esto su membrana sellada con la asociación de F y cianoacrilato, dispuestos sobre la misma en ese orden. La bomba de liberación se colocó y fijó, sin incidencias, en el bolso subperióstico previamente generado a nivel occipital.

**4.2.3.5.2.2. Cocleostomía apical y toma de muestras.** Los objetivos propuestos para la consecución de este segundo tiempo quirúrgico se lograron igualmente sin incidencias ni complicaciones. En este espécimen no se evidenció dehiscencia de la herida resultante del primer tiempo quirúrgico, manteniéndose los puntos de sutura en buen estado. En este caso, en la observación de la VR no se evidenciaron fugas de FITC-Dextran. Tras la retirada de los puntos sobre el lecho quirúrgico, se comprobó la adecuada localización del dispositivo, así como el estado de los tejidos circundantes, prestando especial atención a la existencia de posibles fugas de FITC-Dextran y a la generación de fibrosis en el área intervenida. Manteniendo en funcionamiento la bomba de liberación del IC y tras asegurar una adecuada creación y fijación del *silicon cup*, la cocleostomía se realizó en el centro de dicho nicho de silicona, área estimada correspondiente a la región coclear más apical. Por medio de los tubos capilares, se obtuvieron un total de 10 muestras de perilinf-FITC-Dextran, sin evidenciar fugas a este nivel ni desplazamiento del “silicon cup” previamente creado. El volumen medio extraído en cada muestra fue de  $1.01 \pm 0.02 \mu\text{L}$ , con un rango que osciló entre 1 y  $1.067 \mu\text{L}$ . El tiempo total requerido para la toma del total de muestras fue de 76 minutos.

**4.2.3.5.2.3. Particularidades observadas durante los procedimientos.** El desarrollo de estos procedimientos quirúrgicos tuvo lugar sin incidencias ni complicaciones. La duración total del procedimiento fue de 10299 minutos: 143 minutos se requirieron para la culminación del primer tiempo quirúrgico, los 7 días posteriores fueron destinados al proceso de liberación del FITC-Dextran y los restantes 76 minutos se correspondieron con el procedimiento de toma de muestras.

La Rx realizada permitió verificar la correcta localización de la guía de electrodos tras la consecución de los procedimientos quirúrgicos (Figura 4.110).

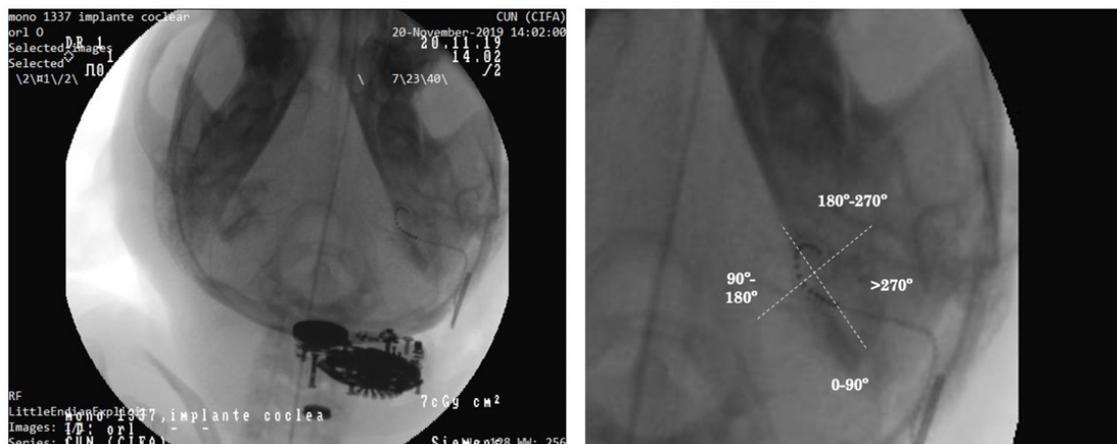


Figura 4.110: Valoración radiológica tras la implantación en el Mf5-7d. La imagen corresponde con la Rx de cráneo realizada al espécimen Mf5-7d tras la implantación del dispositivo. En la Rx se observa la guía de electrodos en posición correcta, con un ángulo de inserción de 180-270° (tercer cuadrante).

#### 4.2.3.5.3. Cuantificación de las concentraciones de FITC-Dextran

La Figura 4.49 muestra las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas a partir de cada una de las muestras. En este caso, se observa una tendencia a la estabilidad de las concentraciones, con un valor de M1 de 3456.05  $\mu\text{M}$  y un valor de M10 de 2655.17  $\mu\text{M}$ , coincidente con la concentración mínima. La concentración máxima se observó en M4, alcanzando 3528.13  $\mu\text{M}$ .

#### 4.2.3.5.4. Análisis histológico

Una vez sacrificado el animal, se realizó un detallado análisis histológico, corroborándose la adecuada localización de la guía de electrodos y la cánula a lo largo de la ET. Se logró llevar a cabo una inserción completa, 11 mm, con un ángulo de inserción correspondiente a 180-270° (tercer cuadrante). La puntuación obtenida en la clasificación de Eshraghi fue de 1 (Tabla 4.20).

Tabla 4.20: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf5-7d. Daños generados a nivel intracoclear, según la clasificación de Eshraghi [91], en función de cada uno de los cuatro cuadrantes en los que se divide la estructura coclear [159].

Cuadrantes de la estructura coclear	Clasificación de Eshraghi
0-90°	1
90-180°	0
180-270°	0
>270°	0

En relación con la revisión de la cocleostomía apical, en este caso los cortes histológicos verificaron signos indirectos de la correcta localización a nivel de la región más apical, sin embargo poder llegar a realizar una valoración de las dimensiones exactas de la misma. No se evidenciaron signos de fibrosis ni osificación, si bien pudieron apreciarse esquirlas óseas, con fractura inter-escalara a nivel de la cocleostomía apical. Igualmente se analizó en los cortes histológicos el estado y permeabilidad del AC, especialmente en su desembocadura a nivel de la ET, sin evidenciar compromiso del mismo.

A continuación, se exponen los cortes histológicos correspondientes a las áreas de mayor interés analizadas:

1. Estado de la guía de electrodos y reacciones biológicas secundarias a su inserción. Identificación y estado del acueducto coclear y de la ventana redonda (Figura 4.111).

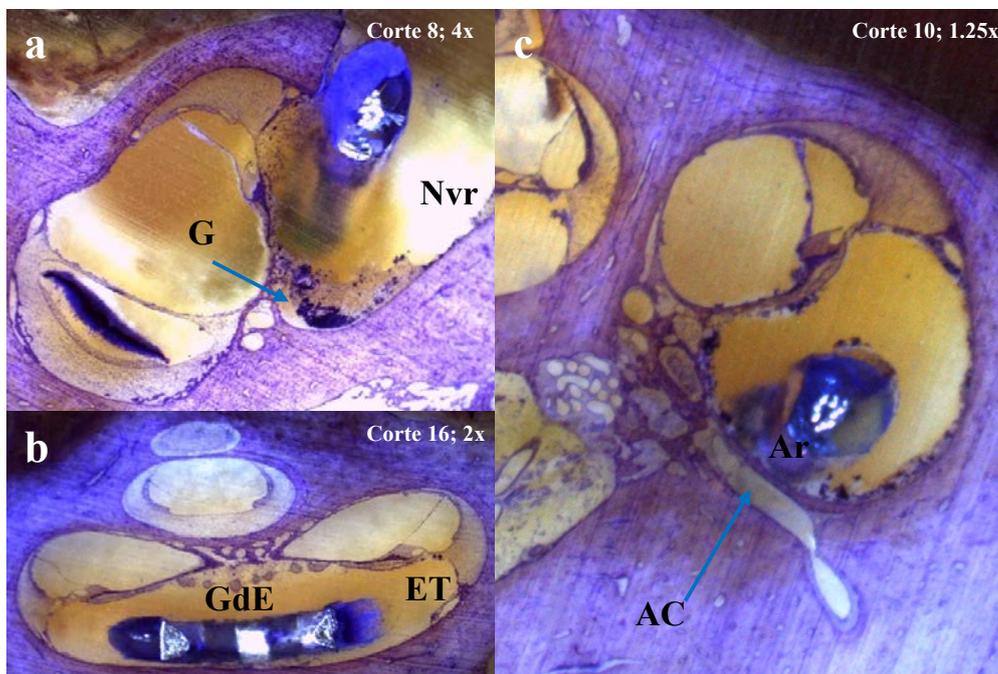


Figura 4.111: Guía de electrodos implantada, estado de la ventana redonda y del acueducto coclear en el Mf5-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf5-7d. a. Nicho de la VR (Nvr), con la guía de electrodos (GdE) en su entrada a la espira basal de la cóclea. Restos de cianoacrilato (G) en la zona. b. Adecuado estado de la GdE a nivel de la primera espira de la cóclea, en la ET. c. Ausencia de reacciones biológicas secundarias a la inserción. Artefacto (Ar) de tinción en torno a la GdE. AC en su apertura a nivel de la ET.

2. Cocleostomía apical. Localización y hallazgos postquirúrgicos (Figura 4.112).

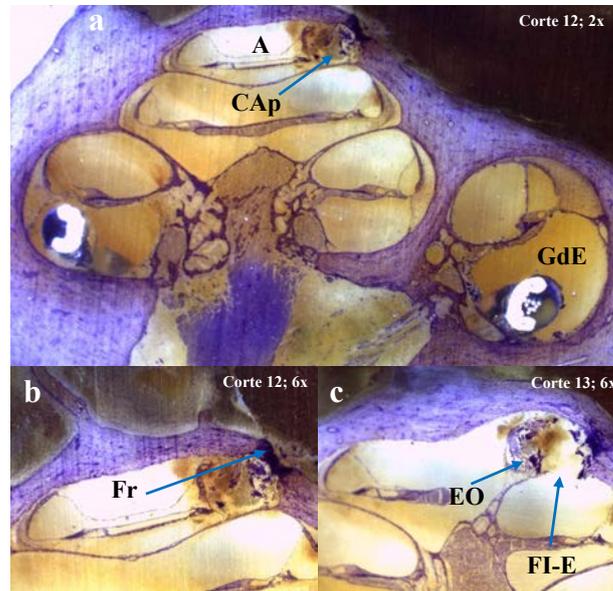


Figura 4.112: Estado y localización de la cocleostomía apical en el Mf5-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf5-7d. a. Visión general de la cóclea que permite la comprobación de la adecuada localización de la guía de electrodos (GdE) a lo largo de la ET, así como de la cocleostomía a nivel del ápex (A). Signos indirectos de la cocleostomía apical (CAp). b. Detalle de la cocleostomía, con el hueso apical fresado (Fr). c. Detalle de la CAp, con esquirlas óseas (EO) en el interior de la cóclea a este nivel. Fractura inter-escalar (FI-E).

3. Trauma generado por la inserción (Figura 4.113).

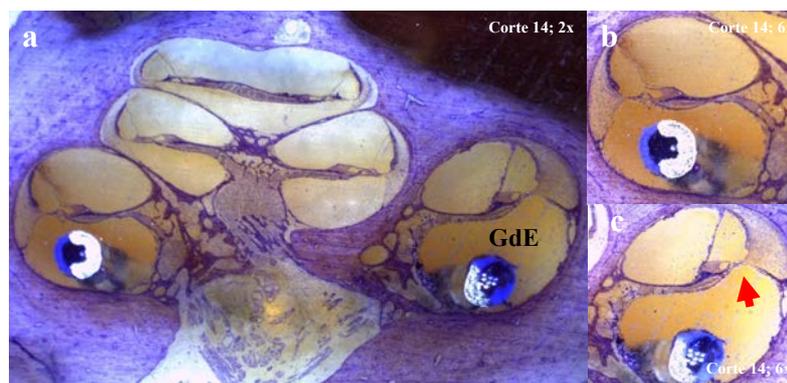


Figura 4.113: Valores de la clasificación de Eshraghi para el Mf5-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf5-7d. a. Visión general de la cóclea que permite valorar la ausencia de trauma generado por la inserción. b. Detalle de la ausencia de trauma a nivel de la primera espira coclear, si bien los cortes histológicos obtenidos no permiten la visualización de la guía de electrodos (GdE) a este nivel. c. Detalle del trauma a nivel de la espira basal, evidenciándose elevación de la membrana basilar (flecha roja). Clasificación de Eshraghi: 1.

## 4. Otros hallazgos reseñables (Figuras 4.114 y 4.115).

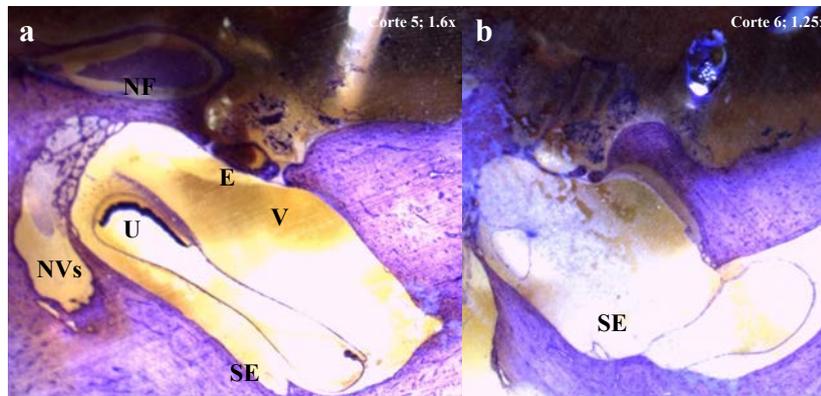


Figura 4.114: Visión general de las estructuras vestibulares en el Mf5-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf5-7d. a. Visión general del vestíbulo (V), el utrículo (U), el nervio vestibular superior (NVs) y el seno endolinfático (SE). El estribo (E) y el nervio facial (NF). b. Detalle del SE.

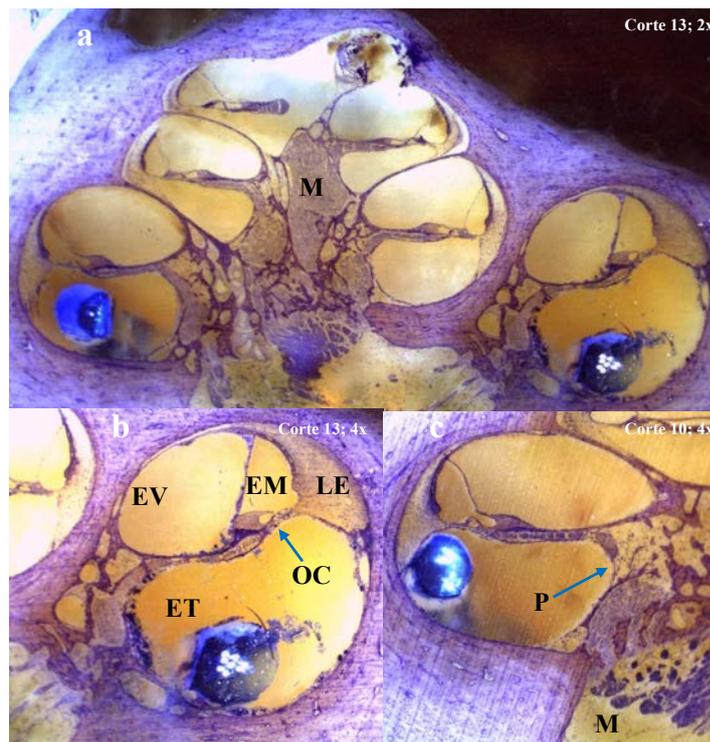


Figura 4.115: Visión general de la cóclea en el Mf5-7d. Cortes histológicos correspondientes al oído derecho del espécimen Mf5-7d. a. Visión general de la cóclea, permitiendo una adecuada visualización de la región modiolar (M). b. Detalle de las tres escalas que componen la cóclea: ET, EV y EM, así como el buen estado del ligamento espiral (LE) y el Órgano de Corti (OC). c. Conexión directa por medio de porosidades (P) existente entre estas áreas y la región modiolar (M).

### 4.3. Comparación y análisis de los resultados obtenidos en el conjunto de los tres grupos

Las Figura 4.116 muestra las concentraciones medias de FITC-Dextran obtenidas en los tres grupos analizados: Grupo 2 horas, Grupo 24 horas y Grupo 7 días.

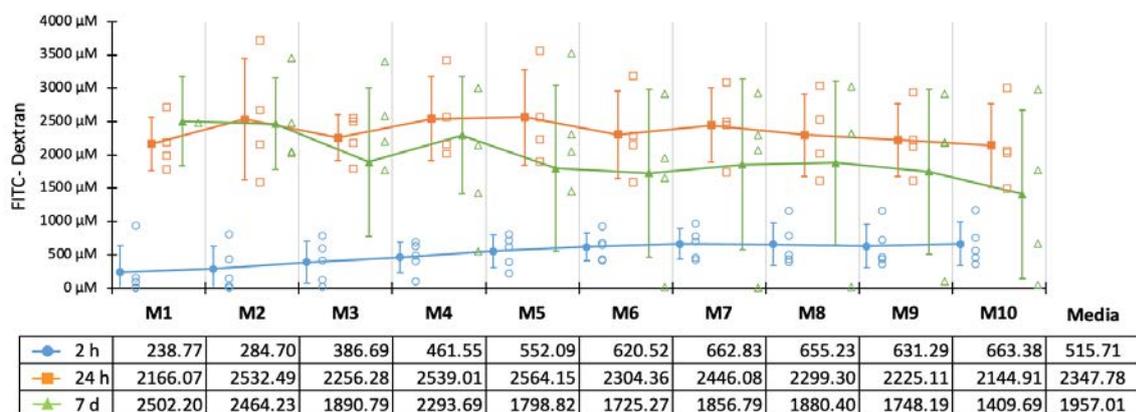


Figura 4.116: Comparación de las concentraciones medias de cada muestra de FITC-Dextran entre los 3 grupos de estudio: Grupo 2 horas, Grupo 24 horas, y Grupo 7 días. Todos los valores de la Figura se expresan en  $\mu\text{M}$ .

El ANOVA factorial mixto determinó que el comportamiento de las concentraciones de cada Muestra (M1, M2, ..., M10) fue significativamente distinto entre Grupos (Grupo 2 horas, Grupo 24 horas y Grupo 7 días), ya que demostró una interacción estadísticamente significativa entre la Muestra y el Grupo ( $F(18;90) = 2.29$ ;  $p = 0.006$ ;  $\eta^2 = 0.31$ ) (Tabla 4.21).

Los contrastes *post-hoc* intra-grupo dos a dos (LSD) de cada Muestra (M1, ..., M10) con el resto de Muestras de su mismo Grupo, no reveló diferencias estadísticamente significativas en el Grupo 2 horas, es decir, no hubo diferencias entre las concentraciones obtenidas para cada Muestra en este Grupo (Apartado 8.2: Tabla 8.2). Sin embargo, tal y como se aprecia en las Figuras 4.10 y 4.116, las concentraciones del soluto administrado parecieron seguir una leve tendencia ascendente hasta la Muestra M7, con una posterior estabilidad hasta M10.

En el caso del Grupo 24 horas, prácticamente tampoco se observaron diferencias, únicamente entre las muestras M1-M4 ( $DM = -372.94$ , 95 %CI [-686.07, -59.81];  $p = 0.024$ ), M5-M8 ( $DM = 264.84$ , %CI [3.92, 525.76];  $p = 0.047$ ), M5-M9 ( $DM = 339.04$ , %CI [53.43, 624.65];  $p = 0.025$ ) y M7-M9 ( $DM = 220.97$ , 95 %CI [2.27, 439.67];  $p = 0.048$ ) (Apartado 8.2: Tabla 8.3), por lo tanto, globalmente también se observaron concentraciones similares entre todas las Muestras. Estos resultados son coherentes con lo observado en las Figuras 4.49 y 4.116.

Tabla 4.21: Resultados del ANOVA factorial mixto.

	<i>F</i> -score (df1;df2)	$\eta^2$	<i>p</i> - valor
<b>Efectos intra-especímenes</b>			
Muestras	1.20 (9:90)	0.11	0.307
Muestras*Grupo	2.29 (18:90)	0.31	0.006*
<b>Efectos inter-especímenes</b>			
Grupo	10.61 (2:10)	0.68	0.003*

df = grados de libertad.

\*Efecto estadísticamente significativo para  $\alpha = 0.05$ .

Por el contrario, en el Grupo 7 días se evidenció una disminución progresiva de las concentraciones desde las primeras obtenidas, especialmente desde M1 y M2, hasta las últimas obtenidas, especialmente M10, siendo la mayor diferencia la observada entre M1-M10 (DM = 1092.50, 95 %CI [373.05, 1811.95];  $p = 0.07$ ). Las diferencias calculadas entre las muestras de este grupo se reportan en el Apartado 8.2 (Tabla 8.4), donde puede constatar la tendencia decreciente descrita en las concentraciones a lo largo del proceso de toma. De igual forma, esta tendencia queda representada también en las gráficas de las Figuras 4.83 y 4.116.

En cuanto a la comparación de cada Muestra con las mismas Muestras de los otros Grupos, el análisis reveló concentraciones mayores en el Grupo 24 horas que en el Grupo 2 horas, siendo todas ellas (de M1 a M10) estadísticamente significativas. Además el Grupo 7 días también presentó concentraciones mayores que el Grupo 2 horas, volviendo a ser todas ellas excepto M6, M9 y M10, estadísticamente significativas. Por último, aunque como puede verse en la gráfica de la Figura 4.116 las concentraciones de FITC-Dextran parecieron ser más altas en el Grupo 24 horas que en el Grupo 7 días, estas diferencias no alcanzaron la significación estadística (Apartado 8.2: Tabla 8.1).

Por otro lado, las concentraciones medias totales también difirieron significativamente entre Grupos (Grupo 2 horas, Grupo 24 horas, Grupo 7 días) ( $F(2;10) = 10.61$ ;  $p = 0.003$ ;  $\eta^2 = 0.68$ ) (Tabla 4.21). Los contrastes *post-hoc* (DMS) realizados posteriormente confirmaron lo apreciado en la comparación de las Muestras una a una entre Grupos: el Grupo 24 horas presentó concentraciones mayores que el Grupo 2 horas, de forma estadísticamente significativa (DM = 1832.07, 95 %CI [883.58, 2780.56,];  $p = 0.002$ ); el Grupo 7 días presentó concentraciones mayores de forma estadísticamente significativa que el Grupo 2 horas (DM = 1441.30, 95 %CI [492.81, 2389.79, ];  $p = 0.007$ ); y, aunque se apreciaron concentraciones mayores en el Grupo 24 horas que en el Grupo 7 días, estas no alcanzaron la significación estadística (DM = 390.77, 95 %CI [-609.03, -1390.57];  $p = 0.404$ ) (Tabla 4.22).

Tabla 4.22: Pruebas de contraste *post-hoc* (DMS) entre Grupos.

Diferencia entre Grupos	DM	<i>p</i> - valor
24h-2h	1832.07 (883.58, 2780.56)	0.002*
24h-7d	390.77 (-609.03, 1390.57)	0.404
7d-2h	1441.30 (492.81, 2389.79)	0.007*

DM = diferencia de concentraciones medias ( $\mu\text{M}$ ).

Entre paréntesis se reporta el intervalo de confianza 95 % para la DM.

\*Efecto estadísticamente significativo para  $\alpha = 0.05$ .

Para el análisis estadístico se excluyeron las concentraciones obtenidas en especímenes donde se produjeron errores en el proceso de toma de muestras. Estos especímenes fueron: el Mf4-2h-OD, el Mf1-24h, y el Mf1-7d.

5

Discusión



## 5.1. Consideraciones generales

La hipoacusia, con más de 400 millones de afectados en todo el mundo, equivalente a más del 5 % de la población mundial, y siendo la más común de las alteraciones sensoriales en los seres humanos, es un grave problema de salud pública, condicionando un gran impacto en el desarrollo cognitivo, social y emocional de la persona afectada, y suponiendo un elevado coste en los sistemas sanitarios [2]. Así, y si bien la prevención siempre es el objetivo fundamental a alcanzar, una vez instaurada la pérdida auditiva, su tratamiento presenta una serie de dificultades.

A día de hoy, los tratamientos existentes para la hipoacusia neurosensorial son meramente paliativos, y no curativos. Dada la dificultad para obtener una adecuada dosificación en la remota localización del oído interno, una de las principales prioridades en la investigación otológica actual es el tratamiento local, a nivel del oído interno, destacando, entre otros posibles abordajes, la administración intracoclear [82].

Los nuevos enfoques para el tratamiento de la patología auditiva y vestibular tienen como objetivo preservar la función y la estructura del oído, con resultados prometedores [1][168]. La aplicación de oscilaciones de presión a nivel del CAE ha demostrado ser una herramienta eficaz en la distribución del fármaco a lo largo de toda la longitud de la cóclea, sin alterar las barreras fisiológicas [169]. Sin embargo, se ha demostrado que las sustancias aplicadas a la VR o a la perilinfa del oído interno no se distribuyen de manera uniforme a través de estas estructuras [103]. Por ello, no es posible asumir que la distribución del fármaco en los compartimentos perilinfáticos sea homogénea en toda la cóclea. En este estudio, la liberación de FITC-Dextran se produce directamente a nivel intracoclear. Si bien el procedimiento se realiza de la forma más atraumática posible, la técnica quirúrgica conlleva invariablemente una cierta alteración de las estructuras que conforman el oído. Así, la administración local de fármacos en la cóclea requiere de un análisis detallado, no solo de la anatomía de la cóclea, sino también de la propia sustancia inyectada y de su comportamiento una vez alcanzada la estructura objetivo.

Dado el desconocimiento actual y las dificultades existentes a la hora de profundizar en el tratamiento del oído interno, en los últimos años se han realizado diversos estudios para conocer los medios más adecuados y precisos para el análisis de la farmacocinética coclear. Estos estudios han utilizado múltiples métodos, entre ellos los directos, como la toma de muestras de perilinfa a diferentes niveles del oído interno, y los indirectos, como el análisis de las otoemisiones acústicas del producto de la distorsión (DPOAE) y la respuesta auditiva del tronco cerebral (ABR), o los realizados mediante pruebas de imagen, analizando tanto la resonancia magnética como la tomografía microcomputarizada [170]. En el campo de la farmacocinética del oído interno, la gran mayoría de las investigaciones han tenido lugar en el Gp [84][120]. Sin embargo, y aunque es un modelo útil para establecer los principios fisiológicos básicos que rigen la farmacocinética de la cóclea, no está clara la posible extrapolación de la farmacocinética del oído interno en los roedores a los seres humanos.

El conjunto de resultados obtenidos en este estudio supone grandes avances en el conocimiento de la farmacocinética del oído interno, siendo los primeros estudios de este

ámbito llevados a cabo en un modelo experimental animal no humano: Mf.

Este trabajo parte de la hipótesis de que el estudio de la farmacocinética coclear en el Mf, siendo una especie muy próxima al humano en la escala filogenética, permitiría alcanzar un adecuado conocimiento de los líquidos cocleares, así como de los posibles factores que pueden condicionar el tratamiento local, a nivel del oído interno. La anatomía coclear del Mf ha sido descrita previamente en diversos estudios [97][153][154]. La similitud anatómica y fisiológica existente entre este mamífero y el ser humano permite extrapolar algunos de estos resultados de uno a otro [12][50]. Sin embargo, y a pesar de su proximidad filogenética, siempre es importante tener en cuenta que aún podrían existir algunas diferencias particulares entre ambos especímenes.

Este estudio experimental muestra que un modelo de liberación de fármaco y farmacocinética coclear, usando una bomba activa conectada a una guía de electrodos, es factible en Mf. La metodología empleada en este trabajo, adecuada para el espécimen Mf, reproduce aquella descrita por el grupo de trabajo de Salt en Gp [84]. Así, siguiendo sus principios metodológicos tanto en los procedimientos quirúrgicos como en la técnica de análisis de concentración de muestras, se inyectó la misma sustancia, FITC-Dextran, en la ET de la cóclea del Mf a través de la VR, tomando muestras de perilinfa en el ápex.

## **5.2. Respecto al espécimen a estudio**

Los especímenes más empleados habitualmente en el ámbito de la investigación otológica son las ratas, las cobayas, los gatos y los macacos. El empleo de estos últimos aporta una serie de ventajas, debido a su proximidad a los humanos en la escala filogenética. Este hecho implica un salto desde la investigación básica a la aplicada para una gran variedad de patologías médicas [171].

El uso de macacos para la experimentación se fundamenta en aspectos anatómicos, histológicos y fisiológicos. En primer lugar, la similitud anatómica, siendo las estructuras idénticas, pero de menor tamaño, posibilita una reproducibilidad de la técnica quirúrgica en las mismas condiciones que en humanos, permitiendo llevar a cabo los mismos tiempos quirúrgicos [50][172]. Únicamente cabe destacar el menor desarrollo de la punta mastoidea y la ubicación de la línea temporal, más inferior en el macaco que en los humanos. Así, el procedimiento quirúrgico llevado a cabo en este modelo experimental animal, Mf, presenta pequeñas variaciones con respecto a aquel empleado en Gp por el grupo de trabajo de Salt [84], habiendo sido todos los pasos adaptados a la anatomía del Mf, con el fin de lograr alcanzar los objetivos de este estudio con la mayor fiabilidad posible. En segundo lugar, el análisis histológico muestra cómo la cóclea tiene las mismas referencias anatómicas que en los humanos, pudiendo aplicarse la misma metodología de evaluación de las lesiones intracocleares empleada en la especie humana, por medio de la clasificación de Eshraghi [91]. Este hecho es de gran relevancia, dado el empleo de este nuevo dispositivo de IC, asociado a una bomba de liberación. La técnica de inclusión en resina epóxica permite mantener la guía de electrodos y la cánula de liberación dentro de la ET, proporcionando más información acerca de su posición y de las lesiones que se pueden generar durante el

procedimiento de implantación y posterior liberación de FITC-Dextran.

Todo lo anterior, junto con la experiencia previa de nuestro grupo en estudios sobre IC e implantes auditivos de tronco cerebral en macacos [154][173], convierte a estos en el animal de experimentación ideal, con la debida reserva a la total extrapolación de animales a humanos, de los hallazgos obtenidos.

Por otro lado, el empleo de esta especie animal siempre obliga a delimitar con exactitud el mínimo número de animales necesario para llegar a conclusiones consistentes. Nuestra muestra está constituida por 15 Mf, divididos en 3 grupos, en función del tiempo de liberación de FITC-Dextran. Así, un total de 5 Mf componen cada uno de los grupos. Si bien esta subdivisión supone un tamaño muestral pequeño para un estudio, cuando se trata de un modelo animal como el macaco, tan próximo en la escala filogenética a los humanos, el tamaño muestral mínimo necesario para probar el objetivo es el tamaño óptimo. Debido al elevado coste y los problemas éticos inherentes a los estudios animales, el número de primates no humanos es menor comparado con otros estudios animales. Como ya se mencionó en el apartado *Material y métodos*, se aplica el principio de las tres Rs: reemplazar, reducir y refinar, de acuerdo a la Directiva del Comité de Ética 86/609/EEC. En este caso no es posible sustituir (reemplazo) el macaco o el órgano en su totalidad, pero experiencias previas justifican el empleo del mínimo número posible, dado que se pretende obtener un resultado que sea fácilmente trasladable a la especie humana. Se han aplicado los conocimientos y experiencias previas para refinar (refinamiento) el estudio, llevando a cabo exclusivamente aquellos experimentos relevantes y productivos. Por tanto, se ha reducido (reducción) el número de especímenes empleados al mínimo necesario para obtener unos resultados estadísticamente válidos.

### 5.3. Respecto al dispositivo implantable

En los últimos años, numerosos estudios de distintos grupos de trabajo han analizado la posibilidad de liberar fármacos asociados a un dispositivo de IC. Los primeros estudios de farmacocinética coclear en los que se estudiaba la distribución de una sustancia a través de la ET de la cóclea tras su liberación por medio de un dispositivo de IC fueron realizados en Gp [84]. Los resultados satisfactorios obtenidos con el uso del *CI Electrode Array HL14*, con un mínimo traumatismo a las estructuras cocleares [150] y las experiencias previas de liberación de FITC-Dextran en Gp [84], llevaron a la elección de este dispositivo, permitiendo con su uso el adecuado desarrollo de este estudio.

Es importante igualmente resaltar que el análisis de los resultados en los 3 grupos a estudio (Grupo 2 horas, Grupo 24 horas y Grupo 7 días) no supuso dificultades reseñables, siendo esta apreciación relativamente diferente a la objetivada por el grupo de trabajo de Salt [84]. En su caso, el Grupo 7 días fue más difícil de analizar debido a los problemas encontrados con el dispositivo, como roturas de la bomba o fallos de la cánula.

Todos los procedimientos llevados a cabo en los 15 especímenes que componen este estudio fueron realizados siguiendo las pautas previamente establecidas. La programación

y activación del dispositivo se realizó con éxito en todos los casos. Sin embargo, se identificaron varias incidencias que se describen a continuación, todas ellas relacionadas con alteraciones en las concentraciones obtenidas, bien por fallo en el dispositivo, bien por complicaciones durante la toma de muestras.

Del total de 15 Mf, en 3 de ellos se obtuvieron concentraciones de FITC-Dextran anormalmente bajas, con respecto al resto de especímenes pertenecientes a su mismo grupo de estudio:

En el caso del Mf4-2h-OD, no se evidenció ningún flujo de perilinfa durante el transcurso del segundo tiempo quirúrgico, por lo que no se pudo obtener ninguna muestra de perilinfa-FITC-Dextran. Se procedió entonces a implantar, en el mismo espécimen, el oído contralateral (Mf4-2h-OI), con el fin de descartar la posibilidad de una lesión a nivel del oído de dicho animal. En este último caso, se obtuvieron concentraciones mayores que aquellas correspondientes al resto de especímenes pertenecientes al Grupo 2 horas (30.07-1177.22  $\mu\text{M}$ ). Una vez analizados todos los datos obtenidos a partir del estudio de este espécimen, Mf4-2h-OD, no se evidenciaron alteraciones del dispositivo implantado. La guía de electrodos junto con la cánula de liberación se encontraba dentro de la ET, en posición correcta. El tubo de silicona estaba igualmente intacto, sin encontrarse posibles pinzamientos ni roturas del mismo. La carga de FITC-Dextran del dispositivo mostraba una adecuada liberación del mismo, sin poder dilucidar el lugar a donde se distribuyó el contenido. Se descartó entonces la posibilidad de que se tratase de una alteración en el funcionamiento del dispositivo implantado. A nivel intraoperatorio, tampoco se evidenciaron hallazgos anatómicos que pudieran explicar la ausencia de flujo de perilinfa. Así, una vez analizados todos los datos obtenidos a partir del estudio de este espécimen, se consideraron dos hipótesis: en primer lugar, la ausencia completa de flujo de perilinfa-FITC-Dextran obtenido durante la toma de muestras, orienta hacia la posibilidad de una patología a nivel de la cóclea de este espécimen. Corroborando este hecho, cabe resaltar que, a pesar de que el sellado de la VR fue idéntico a aquel llevado a cabo en el oído contralateral, Mf4-2h-OI, el Mf4-2h-OD fue el único del Grupo 2 horas en el que no se evidenció fístula a nivel de la VR; en segundo lugar, se planteó igualmente como posible condicionante a la ausencia de muestras obtenidas, la obliteración del flujo intracoclear por abundantes esquizas óseas en el ápex de la cóclea, impidiendo la obtención de muestras de perilinfa en este espécimen (Figura 4.33), tal y como otros autores previamente describieron [12].

A diferencia de este último, el Mf1-24h presentó únicamente algún resto de FITC-Dextran (1-4  $\mu\text{M}$ ) a lo largo de la toma de muestras. Al revisar el dispositivo implantable, así como la presencia de fibrosis en la zona u otras alteraciones que pudieran haber condicionado la liberación, se comprobó que la guía de electrodos junto con la cánula de liberación se encontraba dentro de la ET, en posición correcta, sin daños significativos a las estructuras cocleares (clasificación de Eshraghi [91]: 1). El tubo de silicona estaba igualmente intacto, sin encontrarse pinzamientos ni roturas del mismo. No se evidenciaron fugas de FITC-Dextran a nivel de la VR ni de la región mastoidea. En este espécimen, el procesamiento histológico está artefactado (Figura 4.57), no permitiendo la óptima visualización de las distintas reacciones biológicas generadas tras la implantación. Sin

embargo, tras el análisis detallado de estos factores, la principal hipótesis que podría orientar a la explicación de los resultados obtenidos es la posibilidad de un fallo en el funcionamiento de la bomba de liberación o bien un fallo durante la programación de la misma, que conllevara una interrupción del proceso de liberación de la sustancia inyectada.

Por su parte, en el espécimen Mf1-7d, la liberación de FITC-Dextran se vio igualmente condicionada, no obteniendo concentraciones que superasen los 30  $\mu\text{M}$ . En este caso, cabe resaltar que al comienzo del segundo tiempo quirúrgico se evidenció desconexión de la cánula de liberación a nivel del acoplador de acero inoxidable, permaneciendo la guía de electrodos junto con la porción intracoclear de la cánula de liberación dentro de la ET, en posición correcta. No se evidenciaron fugas de FITC-Dextran a nivel de la VR ni de la región mastoidea. Se estima que la explicación más plausible a esta alteración en el dispositivo viene condicionada por un error manual a la hora de conectar ambos componentes, previo a la programación de la bomba y posterior implantación del dispositivo, asociado a la fibrosis generada sobre la zona de implantación y la propia fuerza ejercida por la misma sobre el dispositivo en el transcurso de los 7 días, entre el primer y el segundo tiempo quirúrgico, habiendo contribuido a la desconexión de ambos componentes del IC. A criterio del cirujano, la cánula se encontraba desconectada del acoplador de acero, previo a la retirada del tejido fibroso generado sobre la zona de implantación.

Las concentraciones obtenidas de estos tres especímenes fueron consideradas como “no valorables”. Sin embargo, esa mínima concentración de FITC-Dextran evidenciada durante la toma de muestras en estos últimos 2 especímenes (Mf1-24h y Mf1-7d) orienta hacia la posibilidad de haberse producido una adecuada liberación inicial, con una interrupción posterior (presumiblemente por una mala programación o un fallo en el funcionamiento del dispositivo en Mf1-24h, y por una desconexión de la cánula a nivel del acoplador de acero inoxidable en Mf1-7d), pero manteniéndose las concentraciones pasadas 24 horas y 7 días, respectivamente, lo que demuestra el escaso “lavado” que se produce a nivel perilinfático en el Mf, independientemente de la liberación prolongada de sustancia.

Por otro lado, se prestó especial atención en evitar alteraciones en las concentraciones obtenidas durante la retirada del dispositivo. De esta forma, una vez finalizada la toma de muestras, la retirada del dispositivo se llevó a cabo siguiendo unos pasos rigurosos, con el fin de evitar no solo daños a nivel intracoclear, por la movilización del mismo, sino también un posible aumento brusco de concentraciones generado por la compresión accidental de la cánula de liberación. Así, en todos los especímenes se procedió al clampaje de la cánula de liberación por medio de un *hemoclip*, previo a la retirada del mismo. Este hecho no se considera que pueda haber condicionado ninguno de los hallazgos histológicos evidenciados, así como ningún posible cambio en las concentraciones obtenidas.

#### **5.4. Respecto al procedimiento quirúrgico y la técnica de toma de muestras**

Todos los procedimientos quirúrgicos, tanto de implantación del dispositivo, como de liberación de sustancia, toma de muestras y posterior retirada de las bombas de liberación,

fueron realizados con éxito en el total de los 15 especímenes que componen este estudio. Sin embargo, y con el fin de obtener las conclusiones más precisas, a continuación se detallan los principales factores implicados en el procedimiento quirúrgico y de toma de muestras que pueden condicionar los resultados obtenidos:

#### **5.4.1. Traumatismo generado por la colocación del implante**

A lo largo de la historia, diversos estudios han buscado conocer el daño que los distintos factores a los que se expone el oído pueden causar a este órgano de los sentidos. Ya en 1978, Moody *et al.* establecen en *Macaca*, incluyendo entre ellos especímenes de la subespecie *fascicularis*, una relación directa entre el daño a la estructura coclear, en este caso por la exposición a ruido intenso, y la alteración de la capacidad auditiva, con cambios en los umbrales a nivel audiométrico, siguiendo la distribución tonotópica de la cóclea [151]. En 2019, Burton *et al.* analizaron el trauma acústico en primates no humanos [174]. Este estudio describía la proximidad existente entre estas especies animales, especialmente entre las subespecies pertenecientes al grupo de los monos del Viejo Mundo (como *Macaca rhesus*, *Macaca fuscata*, *Macaca nigra* o Mf) y los humanos, alcanzando incluso una similitud del 93,5 % de la secuencia genómica, así como los factores específicos que condicionarían la futura extrapolación de los resultados obtenidos a la implementación de estrategias terapéuticas en la práctica clínica. Como exponen estos autores, y aunque existen variaciones entre las especies de primates no humanos, los rangos de frecuencias auditivas son muy similares a los del ser humano. Así, la capacidad auditiva de estos animales estaría comprendida entre un rango de 0.028-38.25 kHz en *Macaca nigra* [175], o de entre 0.25 y 40 kHz en *Macaca rhesus* [176]. En estudios anteriores, Heffner *et al.* describieron un espectro mayor en *Macaca fuscata*, similar al descrito por Moody *et al.* [151], con rangos entre 0.063-32 kHz y 0.063-64 kHz, respectivamente [177]. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la mayor sensibilidad (intensidades en torno a 0 dB) en el audiograma *U-shaped* se registra en frecuencias entre 500-4000 Hz y 1000-16000 Hz en humanos y *macacas* de la familia *Cercopithecidae* (monos del Viejo Mundo) (analizados en este caso en *Macaca rhesus*), respectivamente [174]. Por su parte, el oído humano normo-funcionante es capaz de escuchar sonidos que abarcan un rango de frecuencias comprendido entre 20 kHz y 20 Hz, de la región más basal de la cóclea a la más apical, respectivamente [174][178].

Al igual que la exposición a ruidos intensos, la colocación de un dispositivo auditivo implantable puede condicionar la capacidad auditiva, habiendo sido esto analizado tanto en primates como en el propio ser humano. En la actualidad existe una amplia variedad de IC, clasificados en función de distintas variables, como puede ser, entre otros factores, la longitud, en relación directa con la profundidad de inserción, la rigidez de la guía de electrodos, o su diseño, en relación con su posición respecto al modiolo. La elección del dispositivo de IC más adecuado para cada paciente y/o patología, es fundamental para conseguir obtener los mejores rendimientos del mismo [162][179][180][181].

A pesar de las mejoras en la técnica quirúrgica y en el desarrollo de las guías de electrodos empleadas, la colocación de un IC genera invariablemente un daño al oído

interno, así como un ambiente proinflamatorio, que favorece el aumento de las impedancias eléctricas y el empeoramiento de los niveles auditivos postoperatorios (en torno al 20 % de los casos) [97]. En este estudio los niveles de atraumaticidad fueron aceptables, como demuestran los resultados de los estudios histológicos, donde se apreciaron puntuaciones que no excedieron el grado 1 de la Clasificación de Eshraghi [91]. El diseño de la guía de electrodos empleada [150], así como la adecuada técnica quirúrgica, contribuyeron a ello, teniendo igualmente repercusiones positivas en los procedimientos posteriores: liberación de sustancia, toma de muestras e interpretación de los resultados obtenidos.

#### **5.4.2. Cambio de presiones generado por la alteración de las estructuras que delimitan el oído interno**

El adecuado mantenimiento de la fisiología de los líquidos cocleares depende de un equilibrio muy preciso de los mismos. El procedimiento quirúrgico de implantación del dispositivo de liberación intracoclear requiere de la alteración estructural de la cóclea. Las manipulaciones quirúrgicas han demostrado generar cambios en el flujo de los líquidos cocleares, así como en la posible influencia de la entrada de LCR a través del AC [182]. Así, un error durante los procedimientos, con la consecuente alteración de cualquiera de las estructuras relacionadas con los líquidos laberínticos, condicionaría los resultados obtenidos.

Se analizan, a continuación, aquellos mecanismos que, durante la realización de nuestro estudio, potencialmente podrían haber generado algún daño:

##### **5.4.2.1. Alteración de la cadena de huesecillos, con desarticulación de la platina del estribo**

En los 15 especímenes a estudio, previo a la implantación del dispositivo, se desarticuló el yunque del estribo, con el fin de obtener un mejor control anatómico y una mayor accesibilidad al conjunto de estructuras que componen el oído interno. Esta maniobra fue esencial para abordar el ápex de la cóclea. El daño a nivel de la platina del estribo generaría una fístula entre el oído interno y el oído medio, a nivel del vestíbulo, con la consiguiente pérdida de perilinfa a través de la ventana oval.

La presencia/ausencia de fístulas constituye un factor de gran importancia en el mantenimiento del flujo fisiológico de los líquidos intralaberínticos. En nuestro estudio, este procedimiento se realizó con éxito en todos los Mf, sin alterar en ningún caso la platina del estribo, por lo que los resultados no se vieron condicionados por este aspecto.

##### **5.4.2.2. Cambios generados a nivel de la ventana redonda**

La colocación del dispositivo a través de la membrana de la VR genera invariablemente una comunicación entre el oído medio y la espira basal de la cóclea, más concretamente, la perilinfa de la ET. Feijen *et al.* [99] mencionaron la importancia de la posición de la VR, especialmente en relación con la resistencia del AC al flujo de fluidos. Se cree que

el desplazamiento hacia dentro de la membrana de la VR aumenta la resistencia al paso de fluidos. La colocación del IC en la ET podría producir este cambio en la posición de la membrana de la VR, condicionando el flujo de fluido intracoclear y, por tanto, condicionando las diferencias encontradas entre los dos modelos animales. En nuestro estudio, la incisión llevada a cabo en los 15 Mf se ajustó al tamaño de la guía de electrodos y la inserción del dispositivo se realizó de forma cuidadosa, evitando generar mayores daños en la misma.

Por otro lado, la apertura de la VR para la inserción de la guía de electrodos del IC puede permitir la eliminación parcial de la sustancia inyectada tras su administración a nivel de la espira basal de la cóclea. Estudios previos demostraron la importancia de lograr un correcto sellado de la VR para evitar las corrientes de flujo retrógradas que pueden igualmente verse obstaculizadas por el pequeño tamaño de la zona de inyección. En su análisis establecieron que las fugas que pueden generarse en el lugar de inyección por un incorrecto sellado de la VR, tras la colocación del dispositivo implantado, juegan un papel importante en la farmacocinética coclear, teniendo una gran influencia en los niveles de FITC-Dextran obtenidos a nivel apical [66][84][183]. Así, con el fin de asegurar un correcto sellado de la membrana de la VR, en nuestro modelo animal este sellado se llevó a cabo de tres formas diferentes. Se procedió a la colocación bien de cianoacrilato, bien de F, o bien del conjunto de ambos, sobre la membrana de la VR, en torno a la guía de electrodos y la cánula de liberación, tal y como se detalla previamente para cada espécimen en el apartado: *Resultados en cada uno de los grupos a estudio*. Sin embargo, y a pesar de las distintas técnicas empleadas en los distintos Mf, independientemente del uso de una u otra, 5 especímenes pertenecientes al Grupo 2 horas (Mf1-2h, Mf2-2h, Mf3-2h, Mf4-2h-OI, Mf5-2h) presentaron fugas de FITC-Dextran en torno a la VR (determinadas por la observación del FITC-Dextran a nivel del nicho de la VR), previo a la realización de la cocleostomía apical. En ninguno de los especímenes pertenecientes al Grupo 24 horas se observaron fugas. El propio sellado de la membrana de la VR durante este periodo de tiempo puede explicar estas observaciones, condicionando igualmente el mayor flujo intracoclear en dirección apical evidenciado y la estabilidad en las concentraciones, a lo largo de la toma de muestras. De igual forma, en el Grupo 7 días no se observaron fugas en ningún Mf. Se estima que una cierta reacción tisular de reparación de la membrana de la VR tendría lugar probablemente a partir de las primeras 24 horas, permaneciendo estable durante, al menos, una semana.

En nuestra opinión, y dados los resultados obtenidos, las fugas de FITC-Dextran evidenciadas en los especímenes que componen el Grupo 2 horas no parecen generar alteraciones significativas en las concentraciones obtenidas. Si bien en los 5 Mf que componen este grupo, en los que se obtuvieron concentraciones valorables (Mf1-2h, Mf2-2h, Mf3-2h, Mf4-2h-OI y Mf5-2h), se evidenciaron fugas de FITC-Dextran, la curva de concentraciones obtenida para cada uno de los especímenes sigue una distribución similar a lo largo de la toma de muestras. Si los resultados estuvieran condicionados por dichas fugas, la tendencia no sería tan similar entre los distintos Mf estudiados. Esto produciría alteraciones no sólo en la muestra M1, siendo considerada ésta la más representativa para corroborar este hecho, sino también en el conjunto del esquema LADME, fundamentalmente en la

distribución de la sustancia. Estudios previos demuestran el importante papel que juega la eliminación de una sustancia a la hora de valorar su adecuada distribución [84]. Por otro lado, y dado que estas fugas solo se evidenciaron en el Grupo 2 horas, apareciendo en todos los especímenes analizados a pesar del empleo de distintas técnicas de sellado en cada uno de ellos (Tabla 4.2), este hecho apoya la hipótesis previamente mencionada de que existe una reacción tisular de reparación generada en la membrana de la VR que limita las fugas a largo plazo.

#### **5.4.2.3. Influencia de la presencia del dispositivo de implante coclear a nivel de la escala timpánica**

La colocación de un dispositivo de IC a nivel de la ET, dado que supone una cierta ocupación de dicha estructura, genera invariablemente un cambio en las presiones del oído interno. Una de las claves en la elección del dispositivo de IC es el conocimiento del volumen de la cóclea. Estudios previos demostraron, por medio del análisis de las dimensiones exactas de la ET en un total de 9 huesos temporales humanos, que el diámetro óptimo de un IC debería ser menor de 0.5 mm [184]. Cuanto mayor sea el dispositivo implantado, mayor volumen de la ET estará ocupado, produciendo un aumento de presión intracoclear, perilinfática [185]. Este hecho podría afectar a la velocidad de distribución de la perilinfa hacia la región apical.

La longitud de la guía de electrodos, 11 mm, en el Mf, cubre exclusivamente la espira basal y la región más inicial de la primera espira, por lo que el diámetro de la ET sólo se vería afectado en esta zona. Se estima que la longitud total de la ET en el Mf alcanza un valor de 17.2 mm [51]. En este estudio, el dispositivo implantado es discretamente diferente con respecto a un IC convencional. En el apartado *Material y métodos* se describe en detalle el dispositivo empleado en este estudio. A pesar de la incorporación de la cánula de liberación asociada al dispositivo, ésta se encuentra, a nivel intracoclear, embebida en el mismo “estuche” que la guía de electrodos. Su diámetro máximo, correspondiente a 0.5 x 0.35 mm, no es mayor que el diámetro de los dispositivos de IC convencionales, empleados en la práctica clínica habitual, por lo que se estima que este factor no debería ser un condicionante para los resultados obtenidos en este estudio. Por otro lado, la evidencia de un flujo de sustancia en los tres grupos a estudio (Figura 4.116), corrobora esta hipótesis, no pareciendo condicionar de forma significativa el flujo de líquidos en dirección apical. Finalmente, y de cara a poder emplear en un futuro dispositivos de liberación intracoclear similares en el ser humano, se plantea como hipótesis que, dado que la cóclea del ser humano presenta un mayor tamaño que la del Mf, estimándose que el volumen de la ET en el Mf y en el ser humano es de 7.8 y 40.5  $\mu\text{L}$ , respectivamente [51], estos resultados farmacocinéticos podrían ser extrapolados en un futuro, no estando significativamente condicionados por este factor.

#### **5.4.2.4. Alteración de la estructura anatómica de la cápsula ótica**

En este estudio, la alteración de la cápsula ótica es de gran importancia, pues puede igualmente generar cambios de presiones, condicionando los resultados obtenidos. Así, en

este caso, la técnica quirúrgica llevada a cabo conlleva fundamentalmente el análisis de dos regiones de la cápsula ótica, que a continuación se detallan:

A. A nivel del CSH:

El procedimiento de colocación de un IC requiere de un primer tiempo de fresado de la apófisis mastoideas, con el fin de exponer el antro mastoideo. La consecución de este tiempo quirúrgico conlleva la exposición de la cobertura ósea del CSH. En este espécimen a estudio, la capa ósea que recubre el CSH presenta un menor espesor, así como una orientación más vertical, con respecto al ser humano. Dado que los líquidos cocleares se distribuyen a lo largo del oído interno, comunicándose la perilinfa procedente de la cóclea, a nivel de la EV, con la perilinfa que baña las estructuras vestibulares, la apertura accidental de la capa ósea que cubre el CSH generaría igualmente cambios en el oído interno que condicionarían la farmacocinética coclear y, por tanto, los resultados obtenidos.

La fenestración del CSH fue por primera vez empleada como tratamiento para una patología del oído, la otosclerosis, en 1913, por Jenkins. Años más tarde, en la década de 1930, Lempert demostró beneficios auditivos en más del 50 % de pacientes diagnosticados de otosclerosis, con ganancias auditivas que oscilaban entre 20 y 25 dB [186]. Siguiendo esta línea de investigación, ya en el año 1979 se demostró que la apertura de dicha cobertura ósea, sin alterar la estructura membranosa, supone cambios en la distribución intracoclear de sustancias, con mínimas posibilidades de generar alteraciones en los niveles auditivos, que oscilan entre 1 y 2 % [187]. Además, en 2018, el grupo de trabajo de Yoshimura fue el primero, en el ámbito de la terapia génica, en analizar el comportamiento de la farmacocinética coclear por medio de la administración de vectores virales a través de la VR, asociado a una canalostomía, en ratones. Sus resultados mostraron no solo una mayor difusión de la sustancia inyectada, sino también un distinto patrón del flujo, dependiente de la localización de la canalostomía [188].

En los 15 Mf incluidos en este estudio se llevó a cabo la mastoidectomía sin incidencias, comprobando el correcto sellado del CSH en todos ellos, previo a la realización de la timpanotomía posterior y exposición de la VR.

B. A nivel del ápex coclear:

La apertura de la cocleostomía apical, con la sucesiva toma de muestras, conlleva invariablemente un cambio de presiones a nivel intracoclear, pudiendo contribuir a generar un flujo desde el lugar de inyección (base de la cóclea) hasta el ápex. Así, se valoró que la apertura de la cocleostomía juega un papel fundamental a nivel apical, ya que podría generar un “efecto succión” que condicionase un flujo apical de perilinfa, pudiendo ser inexistente en el caso de no tener esta apertura coclear.

Para evitar estas técnicas invasivas, algunos autores realizaron estudios con el objetivo de determinar métodos de medición indirectos que permitan preservar la integridad estructural del oído interno [170]. En 2013, Haghpanahi *et al.* realizaron un estudio en ratones en el que liberaron perilinfa artificial con contraste en la espira

basal de la ET para, mediante una técnica no invasiva (Micro-CT), poder monitorizar y cuantificar los diferentes espacios cocleares rellenos de líquido, así como la distribución radial y longitudinal que presenta una determinada sustancia cuando se inyecta directamente en el oído interno, sin la alteración que supone la apertura de la cápsula ótica, es decir, la cocleostomía apical. Sus resultados coinciden con los obtenidos por otros autores, mostrando que, independientemente de la apertura de la cocleostomía a nivel apical, la difusión pasiva es el mecanismo dominante en la distribución del fármaco, no sólo a través de la cóclea, sino también hacia los diferentes compartimentos adyacentes [189]. Este estudio fue continuado por el grupo de trabajo de Moudgalya, ampliando esa técnica con el registro de imágenes en 3D y permitiendo entonces una mayor resolución espacial a la hora de extraer las concentraciones [170]. Aunque estas técnicas no invasivas parecen generar una menor alteración de los mecanismos fisiológicos de la cóclea, los resultados obtenidos al analizar las concentraciones son acordes con aquellos obtenidos tras la toma de muestras de perilinfa, por lo que el mencionado “efecto succión” en modelos de roedores puede no tener repercusiones significativas en la farmacocinética coclear [170].

Sin embargo, otros autores afirman que cuando la cóclea está correctamente sellada, el volumen y el flujo intracoclear generado a través del AC es muy bajo, mientras que cuando se perfora la cápsula ótica, la perilinfa es rápidamente sustituida por LCR que entra en la espira basal de la ET a través del AC [9][120]. Por otro lado, también se ha demostrado que los cambios de volumen de la perilinfa producidos al aumentar su osmolaridad (como por ejemplo en este caso, con FITC-Dextran), generan un movimiento del LCR a través del AC hacia la ET para alcanzar presiones hidrostáticas compensatorias [9].

Además, en relación con este cambio de presiones condicionado por el posible “efecto succión” generado por la apertura de la cápsula ótica, otro dato importante a resaltar es el tiempo transcurrido hasta la apertura de la cocleostomía apical y el inicio de la toma de muestras, así como el tiempo transcurrido entre una muestra y otra. En este estudio, la apertura de la cocleostomía no debería suponer grandes cambios en las concentraciones obtenidas en las primeras muestras, pues la creación del *silicon cup* contribuye al mantenimiento de los líquidos cocleares en el oído interno, evitando posibles fugas. Los estudios del grupo de trabajo de Mynatt relacionan cada muestra obtenida con un nivel diferente de la ET [120]. Como afirma este grupo de trabajo, cuando las muestras se toman del ápex coclear, la perilinfa extraída de la cóclea es sustituida por LCR, entrando a la ET a través del AC. Así, la muestra inicial contendría perilinfa de la región más apical, mientras que las muestras sucesivas procederían de regiones cada vez más basales. Se plantea la posibilidad de que el “efecto succión” generado por la apertura de la cápsula ótica pueda condicionar una alteración en la homeostasis coclear, generando un mayor flujo apical y, con ello, un menor tiempo requerido para la toma de muestras.

En nuestro estudio el tiempo de obtención de las 10 muestras fue variable, con una media de  $27.40 \pm 9.07$ ,  $65.60 \pm 38.92$  y  $66.60 \pm 11.86$  minutos para el Grupo

2 horas, Grupo 24 horas y Grupo 7 días, respectivamente. Así, la toma de muestras en el Grupo 2 horas fue más rápida que en el Grupo 24 horas y en el Grupo 7 días. La posible explicación a esta diferencia de tiempos es la homogeneidad de concentraciones alcanzada a lo largo de la cóclea en aquellos especímenes en los que la liberación se produjo durante 24 horas o 7 días. En el Grupo 2 horas, en cambio, las concentraciones fueron menos homogéneas favoreciendo, por tanto, una mayor velocidad de flujo de solutos.

Hasta ahora, los conocimientos sobre la homeostasis del oído interno se basan en la experiencia en el Gp. Nuestros resultados muestran comportamientos diferentes en términos de concentración y tiempo. En 2002, Salt estableció que para que un soluto consiga alcanzar una distancia aproximada de 10 mm por simple difusión pasiva, el tiempo requerido puede alcanzar incluso horas [45]. En nuestro estudio en Mf, en el Grupo 24 horas y Grupo 7 días, desde la primera muestra obtenemos concentraciones máximas. Sin embargo, en el Grupo 2 horas, las concentraciones máximas no se obtienen hasta las muestras 5-7. Esto hace suponer que existen diferencias funcionales en estas especies animales, como la posibilidad de que se requiera más tiempo para que la sustancia, por simple difusión pasiva, llegue al ápex, condicionado por la menor influencia del AC en el Mf, como bien profundizaremos más adelante, en el apartado: *Diferencias entre especies*, siendo igualmente insuficiente la apertura de la cápsula ótica (cocleostomía apical) para conseguir un flujo longitudinal rápido, como sucede en el Gp.

## **5.5. Respecto a los resultados de concentraciones obtenidos de las muestras tomadas. Comparativa con otros estudios previos**

Como se ha ido mencionando a lo largo del texto, distintos autores han profundizado en los últimos años en el conocimiento de la farmacocinética del oído interno en distintos animales de experimentación. La metodología seguida en este estudio se basa en aquella planteada por el equipo de trabajo de Salt [84]. Sin embargo, los resultados obtenidos en el Gp y los aquí mostrados, en Mf, presentan diferencias destacables.

Nuestros resultados difieren en función del tiempo de liberación de FITC-Dextran, es decir, en función de cada uno de los grupos a estudio: Grupo 2 horas, Grupo 24 horas y Grupo 7 días. Así, en el Grupo 2 horas se observó, sin alcanzar la significación estadística, un aumento de las concentraciones de FITC-Dextran a medida que avanzábamos en la toma de muestras, es decir, a lo largo de la ET desde el ápex hacia la base, alcanzando concentraciones máximas en M7, con un valor de 662.83  $\mu\text{M}$ , manteniéndose estable en las muestras sucesivas. Sin embargo, los resultados en el Grupo 24 horas y en el Grupo 7 días describen un comportamiento más estable a lo largo de las 10 muestras obtenidas, alcanzando una meseta con concentraciones medias que oscilan entre 2144.91-2564.15  $\mu\text{M}$  para el Grupo 24 horas, y entre 1409.69-2502.20  $\mu\text{M}$ , para el Grupo 7 días, es decir, más

bajas en este último grupo. Además, las últimas muestras del grupo 7 días presentan una tendencia estadísticamente significativa a la disminución de la concentración media obtenida, en probable relación con el comienzo del “lavado” de sustancia (Figura 4.116).

Dado que nuestro estudio se basa en la metodología descrita en Gp por el grupo de trabajo de Salt [84], se realizó una comparativa entre sus resultados y los aquí obtenidos. Su estudio mostró concentraciones elevadas de FITC-Dextran en las primeras muestras (curva ascendente hasta la muestra 3-4) para los tres grupos a estudio: Grupo 2 horas, Grupo 24 horas y Grupo 7 días. En las muestras sucesivas, en los 3 grupos a estudio se evidenció una caída de las concentraciones obtenidas, más marcada en aquel grupo con mayor tiempo de infusión, es decir, en el Grupo 7 días, seguido del Grupo 24 horas y, finalmente, del Grupo 2 horas, hasta alcanzar un “lavado” completo de la sustancia (Figura 5.1).

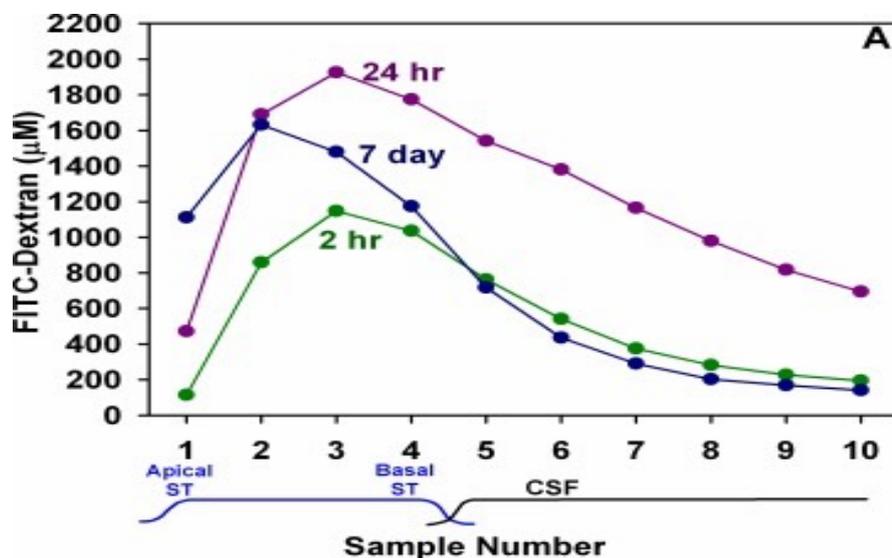


Figura 5.1: Concentraciones de FITC-Dextran en el *Guinea pig*. Gráfica comparativa de la media de concentraciones obtenidas en el Gp a lo largo de la toma de muestras, tras la administración de FITC-Dextran, en función del grupo de liberación a estudio. 2 hr: Grupo 2h, 24 hr: Grupo 24h, 7 day: Grupo 7 días, *Apical ST*: región apical de la ET, *Basal ST*: región basal de la ET, CSF: LCR, *sample number*: número de muestra. Imagen recuperada de: Salt et al. (2017) [84].

Tal y como la Figura 5.1 muestra, la explicación a estos hallazgos estaría en relación con lo expuesto previamente por otros autores [9][120], correspondiéndose así en el Gp la muestra M1 con el ápex (*Apical ST*) y la muestra M4 con la región más basal (*Basal ST*), estando las muestras sucesivas principalmente condicionadas por la entrada del LCR a través del AC y su tendencia a la distribución apical, con el consiguiente “lavado” de la sustancia.

Así, la diferencia de resultados entre las muestras aquí estudiadas y el Gp nos llevó a analizar aquellos posibles condicionantes que afectan a los resultados obtenidos.

### 5.5.1. Esquema LADME

La farmacocinética coclear se rige principalmente por el esquema LADME: Liberación, Absorción, Distribución, Metabolismo y Eliminación de fármacos. A continuación, nos referiremos a cada uno de estos conceptos LADME para contrastar nuestros resultados con los obtenidos por otros autores [64].

- Liberación y absorción:

En este estudio, la liberación se realizó a través de una cánula asociada a un IC, por lo que la liberación se produjo directamente en la ET de la cóclea, a 4 mm de distancia de la VR. A diferencia de los casos en los que la liberación tiene lugar a nivel del oído medio, la administración directa a nivel de la ET evita los factores dependientes de la absorción de la sustancia administrada, no condicionando por tanto los resultados obtenidos en este estudio.

El método de administración elegido también juega un papel importante en la farmacocinética coclear. En 2018, Salt y Plontke recopilaron información sobre las ventajas que ofrece la liberación de una determinada sustancia directamente en los espacios perilinfáticos (disminuyendo las pérdidas a través del oído medio en el caso de la administración intratimpánica, por ejemplo), así como aquellas ventajas derivadas de una liberación constante del fármaco durante un largo periodo de tiempo, con el fin de favorecer los mecanismos farmacocinéticos intrínsecos de la propia estructura coclear, dependientes principalmente de la difusión pasiva, que controla la distribución de la sustancia hacia las regiones más apicales de la cóclea [66]. Los beneficios de este tipo de liberación han sido demostrados en seres humanos en los últimos años [35]. De hecho, esta forma de liberación por medio de un IC, asociado a una cánula y una bomba de liberación asegura una administración constante de sustancia con respecto a otras técnicas, como pueden ser los *coating CI electrode-arrays* [97].

En este estudio, se inyectaron 2  $\mu\text{L/h}$  en un flujo pulsátil en cada uno de los especímenes implantados. Se ha demostrado que este tipo de perfusión, en lugar de un flujo continuo, reduce significativamente las altas concentraciones basales, manteniendo casi las mismas concentraciones apicales. Este hecho se considera especialmente relevante para optimizar las concentraciones dentro de una ventana terapéutica [170].

- Distribución y metabolismo:

Se considera que las muestras más relevantes para la valoración de la distribución y metabolismo de la sustancia inyectada a lo largo de la ET son M1 y M10. Por un lado, M1 es un indicador fiable del grado de difusión del FITC-Dextran a lo largo de la ET hasta alcanzar el ápex, ya que no está influenciado por el posible “efecto succión” generado con los tubos capilares empleados durante la toma de muestras, mencionado en el apartado: *Alteración de la estructura anatómica de la cápsula ótica*. Por otro lado, M10 ofrece una idea de la permanencia o ausencia de la sustancia inyectada, en función no solo del tiempo de liberación, sino también de

su progresivo “lavado”, directamente relacionado con la distribución y eliminación de esta sustancia a lo largo de la estructura coclear.

Tal y como se puede apreciar en la Figura 4.116, el trazado de las curvas de concentración evidenciado muestra un comportamiento diferente según el grupo a estudio. Así, en el Grupo 2 horas, la curva de concentración mostró una tendencia que, aunque no alcanzó la significación estadística, reflejó un incremento progresivo de las concentraciones desde M1 hasta M7, a partir de la cual se estabilizó. Las concentraciones obtenidas en M1 sugieren una concentración baja en el ápex coclear. Estos resultados difieren de aquellos planteados por el grupo de trabajo de Salt, pues en nuestro estudio, en el Grupo 2 horas, no se puede deducir la existencia de un “lavado” de sustancia tras la toma de 10 muestras, dado que no se evidenció una disminución en las concentraciones obtenidas. Salt *et al.* plantean la hipótesis de que el flujo de LCR que entra a través del AC desempeña un papel importante en el “lavado” de FITC-Dextran de la ET [84]. En el Mf, esta tendencia no se observó tampoco en el Grupo 24 horas, donde las concentraciones tendieron a mantenerse estables a lo largo de la toma de muestras, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre las medias de M1 y M10 en este grupo. Por su parte, en el Grupo 7 días, se observó una tendencia decreciente de las concentraciones, estadísticamente significativa, desde M1, correspondiente a la concentración máxima, hasta M10, siendo ésta última la concentración mínima obtenida.

Por otro lado, las concentraciones medias totales también difirieron significativamente entre grupos (Grupo 2 horas, Grupo 24 horas y Grupo 7 días). El Grupo 24 horas presentó concentraciones mayores que el Grupo 2 horas, de forma estadísticamente significativa. Así mismo, el Grupo 7 días también presentó concentraciones mayores que el Grupo 2 horas, estadísticamente significativas. Sin embargo, y aunque se apreciaron concentraciones mayores en el Grupo 24 horas que en el Grupo 7 días, éstas no alcanzaron la significación estadística.

La posible explicación ha estos hechos se detalla a continuación:

- En el Grupo 2 horas, la media de concentraciones mostró una tendencia ascendente, dado que la sustancia no permaneció el tiempo suficiente en la ET para alcanzar concentraciones máximas a nivel del ápex. Las menores concentraciones obtenidas en este grupo, con respecto al Grupo 24 horas y Grupo 7 días, apoyan esta hipótesis.
- En el Grupo 24 horas no se evidenciaron diferencias entre las concentraciones obtenidas, desde M1 hasta M10. Las concentraciones de este grupo fueron mayores que las obtenidas en los otros dos grupos. Esta curva de concentraciones sugiere que pasadas 24 horas de liberación de sustancia en la espira basal de la cóclea, el FITC-Dextran alcanza el ápex en concentraciones máximas. La ausencia de disminución de concentraciones a lo largo de la toma de muestras indica que aún no se ha producido un “lavado” de sustancia o, al menos, que éste no es lo suficientemente marcado como para condicionar las concentraciones obtenidas a nivel del ápex coclear.

- En el Grupo 7 días, las concentraciones a nivel del ápex coclear, representadas por las primeras muestras obtenidas, especialmente M1, fueron menores que aquellas obtenidas en el Grupo 24 horas. Además, el análisis de estas concentraciones mostró una tendencia claramente descendente, representada por una diferencia máxima entre M1 y M10. Este hecho sugiere que pasados 7 días de liberación de sustancia, ésta se habría distribuido a lo largo de la cóclea, incluyendo posibles reservorios que serán detallados más adelante en el apartado: *Diferencias entre especies*, así como el inicio del “lavado” de la sustancia liberada a nivel intracoclear.

Así, las menores concentraciones obtenidas en M1 en el Grupo 2 horas, con respecto al Grupo 24 horas y, aunque en menor medida, al Grupo 7 días (Figura: 4.116) sugieren que el FITC-Dextran en la ET, cuando se administra de la forma descrita, requiere de un periodo de liberación comprendido entre 2 y 24 horas para alcanzar concentraciones apicales máximas, manteniendo posteriormente concentraciones estables. Es decir, este periodo de tiempo, comprendido entre 2 y 24 horas, se corresponde con el tiempo que tarda la sustancia inyectada en distribuirse por toda la longitud cóclea y en alcanzar el ápex coclear. Para determinar con mayor exactitud el tiempo exacto en el que el *FITC-Dextran* tarda en llegar desde la zona basal al ápex debería reproducirse este estudio fragmentando el tiempo de liberación en ese rango de 2 a 24 horas. Por otro lado, se considera que el tiempo de liberación comprendido entre 24 horas y 7 días se corresponde con el tiempo que necesita la sustancia para distribuirse no sólo a lo largo de la ET, sino también hacia compartimentos vecinos, comenzando el periodo de “lavado” de la sustancia administrada.

Por otro lado, al analizar la distribución de una sustancia inyectada intracoclearmente se concluyó que no sólo el flujo de volumen generado por la bomba de infusión del fármaco, sino también la propia difusión pasiva, inherente a la estructura coclear, juega un papel fundamental. Dado que la distribución del fármaco está dominada por la difusión pasiva, ésta se verá fuertemente afectada por las posibles pérdidas hacia compartimentos adyacentes a la escala y otras estructuras descritas en Gp, pero también por las características de la propia sustancia inyectada [9][66]. La difusión está altamente condicionada por la polaridad, la lipofiliidad y el tamaño de la sustancia a estudio [110][111]. Por este motivo, la elección de la sustancia a inyectar debe ser analizada en detalle. Este hecho fue corroborado por medio del estudio de las concentraciones obtenidas tras la liberación de FITC-Dextran en el Gp, en distintas concentraciones, bien 1 mM, bien 10 mM, y a distintos flujos: 100 nL / minuto o 10 nL / minuto, obteniendo variaciones en las curvas de concentración obtenidas [111]. Las propiedades y características del FITC-Dextran aquí empleado, con un peso molecular de en torno a 4000 Dalton, ha demostrado presentar una mayor dificultad para atravesar las barreras fisiológicas, quedando retenido en la perilinfa con mayor facilidad que otras sustancias. La baja tasa de eliminación condiciona una minimización de los gradientes longitudinales a lo largo

de la escala. De esta forma, se deduce que si estos gradientes están presentes en aquellos casos en los que la sustancia empleada es el FITC-Dextran, como en el presente estudio, el empleo de otras sustancias que presenten una mayor eliminación mostrarán gradientes incluso mayores [80][84][103].

Finalmente, las diferencias anatómicas existentes entre especies, que serán detalladas en el apartado: *Diferencias entre especies*, pueden también influir en las diferencias de concentraciones obtenidas en el Mf, en este estudio, y en el Gp [84].

■ **Eliminación:**

Se ha demostrado que la velocidad de eliminación de la sustancia de la ET tiene una gran influencia en las concentraciones alcanzadas a nivel del ápex coclear. Como describe el grupo de trabajo de Salt [84], si la eliminación se produce más rápidamente de lo que difunde la sustancia, ésta no llegará al ápex en concentraciones significativas. Moudgalya *et al.* confirmaron este hallazgo demostrando que los perfiles de concentraciones a nivel de la espira basal de la cóclea son similares a las concentraciones inyectadas, mostrando un descenso significativo a medida que nos acercamos hacia el ápex, limitado en dicha región por los mecanismos de “aclaramiento” de la sustancia, independientemente de un mayor tiempo de infusión [170]. Este hecho también podría estar condicionado por las diferentes dimensiones de la cóclea del Gp y del Mf, suponiendo cambios en el volumen de perilinfa y en el flujo. Por tanto, y dependiendo del espécimen estudiado, se requeriría un tiempo de infusión diferente para alcanzar el ápex a determinadas concentraciones. Además, y como describen Salt *et al.*, cuanto más lenta sea la distribución por la escala, mayor será el impacto de las pérdidas hacia los compartimentos adyacentes, como puede ser la vascularización, la endolinfa, el oído medio y la cápsula ótica [84]. Se ha demostrado que los solutos en la perilinfa se distribuyen hacia la mayoría de los tejidos del oído interno, como pueden ser el ligamento espiral, el ganglio espiral o los canalículos de las paredes óseas del oído, hasta alcanzar la estabilidad [9]. En este caso, se sabe que el FITC-Dextran es bien retenido en la perilinfa y, por lo tanto, se estima que las pérdidas no serían suficientemente importantes como para alterar significativamente la distribución de la sustancia hacia las regiones apicales de la cóclea.

De igual forma, estudios previos demostraron que el grosor de la cápsula ótica puede condicionar la mayor o menor difusión de una determinada sustancia [183]. La cápsula ótica del Gp ha demostrado ser considerablemente más delgada que en otras especies, como el ser humano. Dada la proximidad filogenética entre este último y el Mf, aquí estudiado, así como la permanencia de sustancia en la ET evidenciada en los especímenes Mf1-24h y Mf1-7d, a pesar de la interrupción de la liberación, podrían corroborar el ya mencionado menor “lavado” existente en esta especie animal. Este hecho es de especial importancia al estudiar la posible futura aplicabilidad clínica, debiendo ser considerado a la hora de valorar dosis terapéuticas y posibles efectos tóxicos del fármaco administrado.

En cuanto a estas vías de eliminación, también es importante considerar el espacio extracelular y otros compartimentos como un “volumen adicional” o “depósito” al que los fármacos pueden distribuirse desde la perilinfa [84]. Este volumen adicional podría actuar como un reservorio, lo que llevaría a la obtención de concentraciones estables durante la toma de muestras, particularmente en el caso de largos tiempos de liberación de sustancia y de toma de muestras lentas, como es el caso del Grupo 7 días. Estos reservorios serán detallados en el apartado: *Diferencias entre especies*.

Por último, la posible inserción traumática del IC, con la generación de daños de las estructuras anatómicas implicadas, también puede condicionar la presencia de pérdidas a distintos niveles de la ET. En nuestro estudio, todos los especímenes fueron analizados histológicamente en detalle. La clasificación de Eshraghi [91] no superó en ninguno de ellos el valor de 1. La histología no mostró signos de dislocación de la guía de electrodos de la ET a la EV, ni otras lesiones relevantes en ninguno de los casos realizados, por lo que estimamos que nuestros resultados estén mínimamente influenciados por este factor.

### **5.5.2. Diferencias entre especies**

Las explicaciones a las principales diferencias encontradas entre el Gp y el Mf pueden ser resumidas y agrupadas en dos grupos, que a continuación se detallan:

#### **5.5.2.1. Influencia de la entrada de líquido cefalorraquídeo a través del acueducto coclear**

En 1979, se llevó a cabo un estudio en el que se demostró la influencia que el LCR tiene, entrando a la ET a través del AC, a la hora de analizar la farmacocinética coclear. En dicho estudio se demostró que la apertura de la cisterna magna conllevaba un vaciamiento del LCR, con una subsecuente disminución del flujo de fluidos cocleares, estando por tanto el flujo endococlear en el Gp condicionado en gran medida por la entrada de LCR a la ET. A pesar de la influencia que esto tiene, este mismo estudio permitió concluir, gracias a la evidencia de que el “lavado” (de K<sup>+</sup>, en ese caso) comienza antes de que se pueda medir la entrada de LCR a la ET, que existe un cierto lavado de sustancias, independientemente de la entrada de LCR, aunque “más lento y menos eficaz”, en probable relación con la pérdida de la sustancia inyectada a través de las distintas vías de eliminación demostradas y previamente detalladas en el apartado: *Respecto a los resultados de concentraciones obtenidos de las muestras tomadas. Comparativa con otros estudio previos*, como son las porosidades de la cápsula ótica o las pérdidas hacia compartimentos sanguíneos adyacentes [190].

Analizando el conjunto de los resultados en función del espécimen a estudio, en el Gp, la liberación durante 2 horas, 24 horas y 7 días presenta una tendencia rápidamente ascendente en las primeras tomas de muestras, para posteriormente disminuir hasta alcanzar un “lavado” prácticamente completo en las muestras finales [84]. Este hecho se cree que está principalmente condicionado por dos factores. En primer lugar, la cocleostomía apical

generaría un cambio de presiones que favorecería el rápido aumento de concentraciones a nivel del ápex y, en segundo lugar, la entrada de LCR a través del AC condicionaría igualmente no solo este aumento de la difusión hacia las regiones más apicales, favorecido por los cambios de presión, especialmente condicionados por la apertura de la cápsula ótica, sino también el “lavado” de las muestras. Sin embargo, este hecho no se observa en el Mf. A diferencia del Gp, el Mf muestra un flujo más lento, con un aumento más progresivo de las concentraciones en las sucesivas tomas de muestras, sin alcanzar un “lavado” completo de la sustancia inyectada. Analizando estos datos, se valoró la posibilidad de que el AC en el Mf, siendo más largo y estrecho en los *Macaca* que en los roedores, no tuviera tanta influencia como en el Gp, existiendo por tanto un mayor flujo de entrada de LCR a través del mismo a la ET en este último espécimen. En 1991, estudios afirmaron que para que la entrada de LCR influyese sobre la farmacocinética coclear se requería un flujo de entrada de al menos 20 nL / minuto [67][68]. En este estudio, la inyección se realizó a un flujo de 2  $\mu\text{L}$  / h (equivalente a 33.3 nL / minuto), por lo que esta influencia del LCR también debe ser considerada.

Desglosando los resultados obtenidos en el Mf, en función de los grupos a estudio, en el Grupo 2 horas, el pico de concentración máxima se obtuvo en torno a M7, manteniéndose posteriormente estable a medida que avanzábamos en la toma de muestras. El pico máximo de concentración obtenido por el grupo de Salt [84] en el Grupo 2 horas se alcanzó entre las muestras 2 y 4 y fue descendiendo hasta alcanzar un “lavado” completo. Este hecho se produce principalmente por la influencia de la entrada de LCR a través del AC, como se mencionaba previamente. Los resultados obtenidos en Mf en este estudio alcanzan una media total de concentraciones menor y en muestras más tardías (en torno a la muestra 7), en comparación con aquellas concentraciones obtenidas en Gp en el Grupo 2 horas (en torno a 600-700  $\mu\text{M}$  frente a 1000-1200  $\mu\text{M}$ ). El hecho de que en el Grupo 2 horas no se evidencie un descenso en las concentraciones de las muestras finales, como sucede en el Gp, puede ser explicado por la diferente influencia y las diferentes dimensiones anatómicas del AC, entre otros factores.

Por su parte, en relación con el Grupo 24 horas, el promedio de concentraciones obtenidas a lo largo de la toma de muestras tanto en Mf en este estudio, como en Gp [84], acaban siendo equiparables, alcanzando unos valores medios de en torno a 2000-2500  $\mu\text{M}$ . El grupo de trabajo de Salt [84] concluye que pasadas 24 horas, las concentraciones dibujan una curva similar a aquella obtenida en el Grupo 2 horas en Gp, si bien las concentraciones máximas en el primer grupo alcanzan valores más elevados, coincidiendo estos con aquellos obtenidos en Mf en el presente estudio (pico máximo en torno a la M3 en el Gp y a las M4 y M5 en el Mf). Aunque estos resultados son consistentes entre ambos especímenes, en el Mf, a pesar de la sucesiva toma de muestras, no se evidencia un descenso en las concentraciones. La menor entrada de LCR es considerada como uno de los principales factores que condicionan los resultados aquí obtenidos.

Finalmente, las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas en el Grupo 7 días muestran un descenso en las concentraciones a lo largo de la toma de muestras, desde M1 hasta M10, diferente de la obtenida en Gp [84]. La media de las concentraciones obtenidas en este grupo es algo menor que en el Grupo 24 horas (en torno a 2000  $\mu\text{M}$ ). La entrada de

LCR a través del AC condicionaría cambios en la homeostasis coclear. Dada la tendencia a la disminución de concentraciones en este grupo, sin alcanzar un “lavado” completo de la sustancia inyectada, se deduce la posible existencia de un cierto flujo de entrada de LCR a través del AC, siendo la cantidad de entrada de éste menor que la cantidad de FITC-Dextran inyectado por medio de la bomba de liberación (flujo  $2 \mu\text{L/h}$ ). Este hallazgo también sugiere que cuando la sustancia es liberada por un mayor periodo de tiempo, una vez alcanzada la concentración máxima, ésta tiende a mantenerse estable en momentos iniciales (Grupo 24 horas), distribuyéndose posteriormente a los distintos compartimentos y estructuras vecinas, y comenzando su proceso de “lavado” (Grupo 7 días). Este estudio plantea la posibilidad de que se produjese un “lavado” completo de la sustancia inyectada en esta especie animal, Mf, si la toma de muestras se realizase en un periodo de tiempo mayor de 7 días.

Se realizó una detallada revisión bibliográfica para encontrar las posibles relaciones anatómicas entre el Gp y el Mf. Sin embargo, hasta donde sabemos, no hay muchos documentos que detallen una comparación anatómica del oído interno de estos dos especímenes animales. En 1968, Neiger realizó un estudio experimental, con el fin de conocer en profundidad la anatomía del oído interno del *Macaca rhesus*, con especial énfasis en la comprensión de la dimensión y función del AC. La posible oclusión accidental de la *membrana limitans*, tal y como ha sido descrito [24], podría condicionar la adecuada permeabilidad del AC, dificultando la entrada de LCR a la ET de la cóclea a través del mismo. Es importante destacar que Mf y *Macaca rhesus* están estrechamente emparentados, perteneciendo a la familia *Cercopithecidae* (suborden *Arthropoidea*), con características morfológicas muy similares entre ellos y compartiendo orden y suborden con el ser humano. Así, Neiger concluyó, calculando el cociente de la longitud y el diámetro del AC de cada una de estas especies, que el AC del Gp es mayor (0.1) con respecto al *Macaca rhesus* y al ser humano (0.019-0.005 y 0.016-0.006, respectivamente). Esta afirmación puede ser coherente con los resultados obtenidos en este estudio, explicando la menor influencia que el AC podría tener en la farmacocinética coclear en Mf.

#### **5.5.2.2. Existencia de posibles reservorios que condicionen la tendencia a la estabilidad de las muestras obtenidas en el *Macaca fascicularis***

La existencia de una comunicación fluida libre entre el espacio perilinfático y el modiolar, así como las comunicaciones entre la ET (perilinfia) y la EM (endolinfia), y con otras estructuras cercanas como el ligamento espiral, ya fueron descritas por otros autores, junto con la posible existencia de distintos reservorios donde la sustancia inyectada podría quedar retenida [9][23][80][170][189]. Esta difusión pasiva hacia otros compartimentos que actuaran como reservorios podría ser mayor en nuestro modelo animal, amortiguando una reducción de las concentraciones obtenidas a lo largo del proceso de toma de muestras.

La descripción realizada en 2018 por Salt y Plonkte sobre la existencia de un proceso de redistribución de sustancias de un compartimento con mayor a otro con menor concentración, nos lleva a valorar la existencia de posibles reservorios donde quedaría retenido el FITC-Dextran tras su distribución, fluyendo en un primer momento de la zona de mayor

concentración (las distintas localizaciones dentro de la ET, en este caso) a otra de menor concentración [66]. Durante la toma de muestras, la concentración de la ET se ve reducida, por lo que se generaría un “flujo inverso” que permitiría la extracción de FITC-Dextran de aquellas zonas con mayor concentración (a los que aquí hacemos referencia como reservorios), pudiendo así explicar la falta de “lavado” de FITC-Dextran a lo largo de las 10 muestras obtenidas en el Mf, así como su tendencia a la estabilidad de concentraciones.

Esta hipótesis basada en la distribución de sustancia hacia la región modiolar, entre otras, junto con la influencia de otros posibles factores determinantes mencionados anteriormente, como la menor influencia del LCR en esta especie animal, podría explicar la falta de un “lavado” completo del FITC-Dextran de la ET durante la toma de muestras. En este estudio, únicamente en el Grupo 7 días se evidencia disminución de las concentraciones a lo largo de la toma de muestras. Entendemos que un tiempo de liberación prolongado del FITC-Dextran favorecería el llenado de los citados reservorios y podría explicar las diferencias entre grupos que, aunque no fueron estadísticamente significativas, sí tendieron a ser menores en el Grupo 7 días, donde más cantidad de FITC-Dextran pudo diseminarse a estos reservorios.

La revisión bibliográfica llevada a cabo, junto con las diferencias evidenciadas al comparar las curvas de concentración obtenidas en Gp [84] y en Mf, en este estudio, nos han llevado a establecer las dos áreas que, bajo nuestro punto de vista, podrían actuar como principales reservorios:

#### 1. Modiolo

Por medio del análisis de microscopía electrónica de la estructura coclear en huesos temporales humanos macerados, el grupo de trabajo de Rask-Andersen [23] demostró la alta probabilidad de la existencia de una libre comunicación de fluidos entre el modiolo y el espacio perilinfático (Figura 5.2).

Las porosidades óseas (malla trabecular) que existen principalmente a nivel de la ET, pero también de la EV [7][191], condicionan un posible flujo de salida de las sustancias inyectadas a nivel perilinfático. Estas microestructuras porosas, descritas por primera vez en 1963 [192], de un tamaño máximo de 40  $\mu\text{m}$  a nivel de la ET, han sido observadas a lo largo de toda la estructura modiolar y la región de la lámina espiral ósea y el ligamento espiral, rodeadas por numerosas estructuras vasculares, conformando el plexo modiolar [193], y nerviosas, el canal de Rosenthal y el ganglio espiral, que favorecen el intercambio de fluidos [7]. Estudios previos que datan de los años 30 ya planteaban que los espacios perivascuales del modiolo podían ser los responsables de la compensación que habitualmente realiza el AC en el oído interno del ser humano, en aquellos casos en los que dicha estructura no se encuentre patente [194]. Igualmente se ha descrito un espacio retrocolumnar en el modiolo, delimitado únicamente por trabéculas óseas y por una fina capa celular, cuya transición con la porción central del modiolo también supone una zona de libre comunicación para los líquidos provenientes del espacio perilinfático, pudiendo ser también considerada esta zona como un posible reservorio [7].

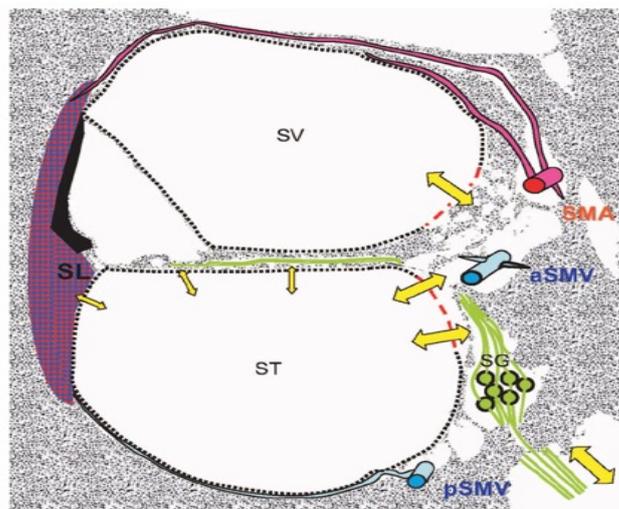


Figura 5.2: Vías de comunicación entre la cóclea y las principales estructuras vecinas. Esquema gráfico que muestra como la perilinfa de la ET (ST) se distribuye (flechas amarillas) hacia el ligamento espiral (SL), la región de la membrana basilar y el conjunto de la región modiolar. Esta comunicación también está presente a nivel de la EV (SV). SG: Ganglio espiral; aSMV: vena modiolares espiral anterior; pSMV: vena modiolares espiral posterior; SMA: arteria modiolares espiral; SG: ganglio espiral. Imagen recuperada de Rask-Andersen *et al.* (2006) [23].

Otra estructura que favorecería el libre flujo de sustancias desde la ET a la región modiolar es la TCL, siendo más prominente en regiones más apicales de la cóclea. Su alta capacidad en el transporte de fluidos interviene ampliamente en el “lavado” de la luz de la ET. Además, los *Stomata* (3-12  $\mu\text{m}$ ) que la componen y que permiten acceso directo de fluidos al área del modiolo, contribuyen a la posible eliminación de sustancias a través de ellos. En concreto, la espira basal es la zona donde se puede apreciar una mayor conexión con el modiolo [7]. Las conclusiones alcanzadas por estos últimos autores, junto con los resultados aquí obtenidos, nos podrían conducir a la hipótesis de que parte de las muestras que estamos tomando se mantuvieran tan estables porque el “efecto succión” generado por la toma de muestras, hace que el FITC-Dextran, que aún está en la base, alcance más rápidamente el ápex, siguiendo un camino directo a través del modiolo.

Finalmente, y si bien la región modiolar también podría actuar como reservorio en el Gp, el hueso temporal en esta especie animal es más fino que en humanos [7], pudiendo condicionar esto que dicho “reservorio modiolar” sea mayor en el humano y en el Mf y, por tanto, que la sustancia se quede más tiempo retenida en la ET. Además, en el Gp el nervio coclear accede al modiolo sin restricciones óseas, a diferencia de en el ser humano, especie filogenéticamente más próxima con el Mf. Estudios previos establecen este espacio como otra posible vía de entrada de LCR, que podría igualmente favorecer el “mayor lavado” de sustancia. A su vez, esta “falta de restricción”, podría favorecer la pérdida de la sustancia inyectada (recordemos que las sustancias tienden a difundir de la zona de mayor concentración a la de

menor concentración), creando un “camino reverso”, alcanzando el cerebro [7].

## 2. Seno endolinfático

Si bien en 1991, mediante el estudio de la distribución del TMPA, se concluyó que no parecía existir una comunicación patente entre la perilinfa y la endolinfa, especialmente a nivel del ápex coclear [67][68], estudios posteriores demuestran la existencia de una ruta de comunicación perineural y perivascular entre la perilinfa de la ET y la membrana basilar, a nivel del túnel de Corti, por donde discurre la Cortilnfa [23][195]. Esta comunicación, en mamíferos, podría ser especialmente patente en la región apical [196], estando este paso condicionado por el tamaño y la carga de la sustancia inyectada [7]. De igual forma, estudios previos realizados en gatos demostraron que el saco endolinfático es capaz de transmitir cambios en la presión del LCR a la endolinfa, con el fin de igualar presiones transmitidas a la perilinfa a través del AC. Sin embargo, esta regulación es menor y más lenta, que aquella generada por el AC [21].

Para poder comprender la importancia de esta estructura en la farmacocinética coclear es fundamental tener un adecuado conocimiento anatómico de la misma, así como la influencia que los cambios en los fluidos del oído interno generan sobre ella. De esta forma, el saco endolinfático, ubicado en la fosa craneal posterior, en un desdoblamiento de la duramadre, con un diámetro aproximado de 1-2 cm y un grosor de 0.5-2 mm, es considerado el punto final donde se unifica el conjunto de la endolinfa procedente de las regiones vestibulares y cocleares. El ducto endolinfático surge de la confluencia de los conductos sacular y utricular, procedentes del sáculo (cara posterior) y del utrículo (cara interna), respectivamente. Se encuentra embebido en un canal óseo: el acueducto vestibular, con una longitud aproximada de 3.5 mm y un diámetro de 0.05 mm en huesos temporales humanos [7][197]. Cabe resaltar igualmente la existencia de otra estructura anatómica, la válvula de Bast's, que controla el flujo de endolinfa en respuesta a los cambios de presión entre el conjunto del utrículo y los canales semicirculares, y el ducto endolinfático [18][163][198]. Gracias al importante tejido conjuntivo altamente vascularizado que rodea al saco endolinfático, su principal función es la regulación de presión de la endolinfa [7]. La endolinfa ha demostrado ser hiperosmótica con respecto a la perilinfa y al plasma. Sin embargo, la alta complianza presentada por las estructuras que delimitan las áreas rellenas de perilinfa y las de endolinfa, permiten el mantenimiento de una presión prácticamente idéntica en condiciones fisiológicas. Además, esta alta capacidad regulatoria también permite alcanzar esta igualdad de presiones, con el fin de mantener un adecuado funcionamiento del oído interno, al inducirse cambios en la presión de los líquidos intralaberínticos por medio, por ejemplo, de tratamientos que puedan condicionar las presiones de los líquidos en condiciones fisiológicas.

De igual forma, la existencia de un gradiente osmótico ápico-basal, mayor en las regiones más basales de la cóclea, y la existencia, por tanto, de un flujo longitudinal, similar al observado para la perilinfa, incluso algo aumentado gracias a la menor concentración de proteínas que componen la endolinfa, no sólo hacia estas regiones más apicales, sino también hacia el sáculo y, de ahí, al saco endolinfático,

fue demostrado en estudios previos, especialmente condicionado por manipulaciones en la presión perilinfática [197][199][200][201]. El detallado examen anatómico de la región del saco endolinfático permitió evidenciar la existencia de una estructura con una función que podría ser considerada como valvular, el seno endolinfático (Figura 5.3), que actuaría como barrera para el intercambio de fluidos, produciéndose su apertura al aumentar la presión endolinfática y su cierre, con el consecuente colapso del saco endolinfático, al aumentar la presión perilinfática [200].

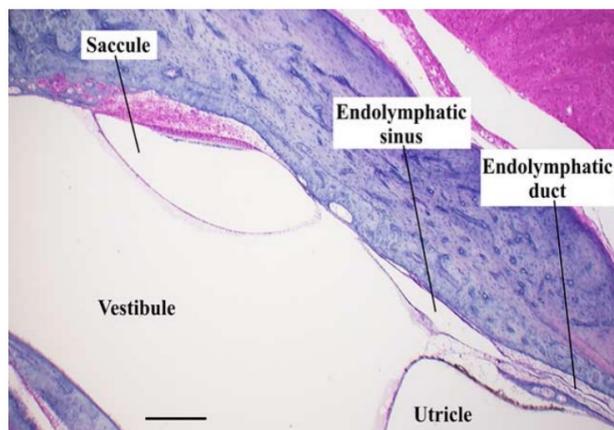


Figura 5.3: Seno endolinfático en el *Guinea pig*. Corte histológico a nivel vestibular en el Gp, que muestra la existencia del seno endolinfático, en estrecha relación con el conducto endolinfático, así como sus relaciones con el resto de estructuras del oído interno. Imagen recuperada de: Salt & Rask-Andersen (2004) [200]. *Saccule*: sáculo, *Utricule*: utrículo, *Vestibule*: vestíbulo, *Endolymphatic sinus*: seno endolinfático, *Endolymphatic duct*: ducto endolinfático

Los importantes avances en las técnicas diagnósticas en los últimos años han permitido profundizar más en el estudio de estas estructuras, obteniendo imágenes muy precisas, incluso en 3D, del conjunto de estructuras anatómicas que componen este sistema del ducto endolinfático. Además, la comparación entre los resultados obtenidos en animales de experimentación, Gp, y en huesos temporales humanos, demuestran las importantes similitudes encontradas entre ambos, pudiendo, por tanto, asumir la existencia y dimensiones de estas estructuras en el Mf [18][198][202]. Además, en 2019 el grupo de trabajo de Hedjoudje obtuvo imágenes tridimensionales del oído interno del primate, que corroboraban esta afirmación [203].

Se ha demostrado que tanto el saco como el ducto endolinfático son estructuras muy permeables al intercambio de agua y de iones, teniendo una alta capacidad fagocítica [7]. Además, la existencia de una respuesta bidireccional del saco endolinfático en respuesta a los cambios anatómicos y fisiológicos que se van produciendo (reabsorción de la endolinfa a través del saco endolinfático en casos de exceso de volumen y secreción en caso de déficit [200]) también supone una gran importancia en el estudio de la farmacocinética coclear.

Por otro lado, en el Gp, el saco endolinfático está constituido por una luz única,

a diferencia de en el hombre, donde ésta misma estructura está compuesta de un sistema de tabulaciones epiteliales interconectadas, a través de las cuales circula la endolinfa. Así, la endolinfa del saco endolinfático en el Gp se distribuye de forma homogénea, a diferencia de en el ser humano, donde se ha demostrado que algunas de estas tabulaciones estarían rellenas de endolinfa, mientras que otras se encontrarían vacías [27]. Estos hechos podrían contribuir a la posible mayor retención de FITC-Dextran en el Mf o en el ser humano, ayudando así a explicar nuestros resultados, en Mf, con un pico de concentración máximo en muestras más tardías y un menor “lavado” de sustancia.

Así, consideramos el seno endolinfático como otra estructura importante a analizar en los estudios de farmacocinética coclear, ya que como se mencionaba previamente, cuando se incrementa la presión perilinfática por la inyección de una sustancia, esta estructura puede colapsar contra la pared ósea, actuando entonces como barrera para que la endolinfa entre en el saco endolinfático [200]. De esta forma, y tal y como estos autores demuestran, la distribución del FITC-Dextran desde la perilinfa hacia la endolinfa produciría un aumento de la presión a nivel del vestíbulo, colapsando el seno endolinfático y creando entonces un “pseudo-reservorio” donde el FITC-Dextran podría quedar retenido. Posteriormente, una vez realizada la cocleostomía apical y con los cambios generados por la toma de muestras, se produciría una disminución de la presión perilinfática, generándose una nueva diferencia de presiones entre la perilinfa y la endolinfa. El aumento de la presión endolinfática condicionaría entonces la reapertura el seno endolinfático (Figura 5.4).

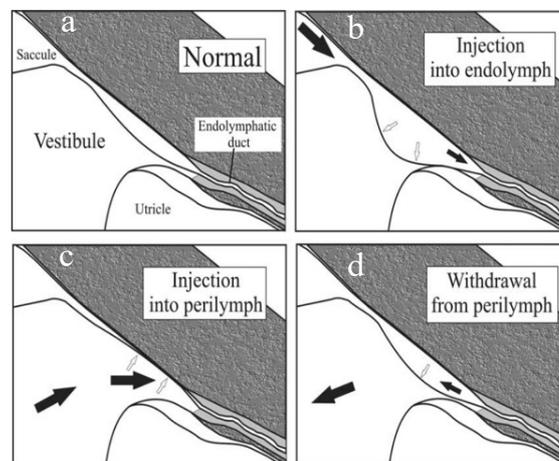


Figura 5.4: Regulación de presiones por medio del seno y el saco endolinfático. Influencia de los cambios de presión de la perilinfa y la endolinfa en el seno endolinfático. a. Ducto endolinfático en un estado basal, sin cambios de presiones. b. Las inyecciones en la endolinfa provocarían una dilatación de la estructura, aumentando el volumen del seno. c. Las inyecciones en perilinfa, con su correspondiente incremento de presión, producirían un colapso en esta estructura, limitando la cantidad de endolinfa que alcanza el saco. d. Disminuciones en la presión de perilinfa permitirían la movilización endolinfa desde el saco al seno, produciendo, por tanto, cambios de presión a nivel del saco. Imagen obtenida de: Salt & Rask-Andersen (2004) [200].

## **5.6. Respecto al análisis histológico**

Los análisis histológicos demostraron el adecuado desarrollo de todos los procesos llevados a cabo en este estudio. En ninguno de los casos se produjo desplazamiento del dispositivo durante los dos tiempos quirúrgicos, evidenciando en los 15 especímenes la adecuada colocación de la guía de electrodos y la cánula de liberación a través de la membrana de la VR, a nivel de la ET. Únicamente se evidenció extrusión de la guía de electrodos en dos especímenes, Mf1-2h y Mf3-2h, total y parcial, respectivamente, producido durante el análisis histológico, sin repercusión, por tanto, sobre el proceso de liberación y toma de muestras.

Las profundidades de inserción variaron entre 180-270° y >270°. Estos valores son considerados adecuados, no condicionando en ninguno de los casos los resultados obtenidos. Dado que la inserción del dispositivo siempre fue completa, se estima que estas variaciones guardan relación con cambios en la orientación de la cóclea del espécimen durante la obtención de la Rx de control.

Desglosando los principales factores a destacar en el análisis histológico, cabe remarcar:

### **5.6.0.1. Afectación de las estructuras a nivel de la espira basal. Cocleostomía a nivel del ápex**

Histológicamente, se comprobó que la cocleostomía se realizó en el lugar previsto en todos los casos, a nivel de la ET, en el ápex coclear, excepto en cinco casos donde la cocleostomía se realizó a nivel de la segunda espira (Mf5-2h, Mf2-24h, Mf3-24h, Mf2-7d y Mf3-7d) y en otro caso en el que la cocleostomía además de realizarse a nivel apical se realizó en otra localización adicional (espira basal en Mf4-7d), en los Mf restantes se verificó la correcta localización de la cocleostomía apical.

Al analizar los hallazgos histológicos en relación con las concentraciones obtenidas, cabe resaltar el aumento de concentraciones con respecto al resto de especímenes pertenecientes a su mismo grupo, en aquellos Mf, Mf4-2h-OI, Mf2-24h y Mf5-7d, en los que se produjo accidentalmente una fractura inter-escalar durante el proceso de realización de la cocleostomía apical y la toma de muestras (Figuras 4.39, 4.60 y 4.112, respectivamente). Revisando dichos cortes histológicos, estimamos que estas altas concentraciones podrían deberse a la obtención de muestras de dos niveles cocleares, ápex y segunda espira, al mismo tiempo.

El tamaño de la cocleostomía no parece haber condicionado los resultados obtenidos. Sin embargo, es importante resaltar que estas mediciones, habiendo sido tomadas a partir de los cortes histológicos seriados realizados cada 100  $\mu\text{m}$ , no pudieron ser estimadas para todos los especímenes. Además, este valor de corte no permite la completa visualización de toda el área de la cocleostomía, debiendo ser por tanto estimado el tamaño a partir de las imágenes que se consideraban mostraban el mayor diámetro de la misma.

En alguno de los especímenes se evidenciaron restos de cianoacrilato o esquirlas óseas, detectados histológicamente, a nivel del ápex o la espira basal, sin aparentemente generar una obstrucción de la luz coclear y, por tanto, condicionar las concentraciones de

---

FITC-Dextran obtenidas. Finalmente, se considera que la presencia de estos hallazgos histológicos patológicos, así como el previamente mencionado tamaño de la cocleostomía, podrían influir en la duración del tiempo de muestreo.

### 5.6.0.2. Acueducto coclear

Por otro lado, se valoró la posible relación existente entre la localización del dispositivo a nivel intracoclear y la desembocadura del AC a nivel de la ET. Como se mencionaba previamente, Salt *et al.* demostraron que uno de los principales condicionantes del flujo coclear es la entrada de LCR a la espira basal a través del AC, lo que generaría un efecto de mezcla (*mixing effect*) que aumentaría la distribución hacia el ápex [84]. Los resultados obtenidos en nuestro estudio pueden estar condicionados por las características anatómicas de esta estructura en Mf, tal y como se detalló en el apartado: *Diferencias entre especies*.

La revisión histológica llevada a cabo en los 15 Mf implantados en este estudio, demostró la permeabilidad del AC en todos ellos, salvo en un espécimen, Mf3-7d, donde no pudo ser valorado, dado que esta estructura no fue visible en los cortes histológicos analizados. Cabe destacar que, en este Mf, la curva de concentraciones obtenidas fue diferente a las del resto de especímenes de este grupo. Así, las cuatro primeras muestras siguieron el mismo patrón que los otros especímenes. Sin embargo, después de M4, el flujo comenzó a ser mucho menor. En este caso, se obtuvieron un total de 13 muestras. Las concentraciones de FITC-Dextran disminuyeron de la muestra 5 a la 12, obteniendo una concentración media de 33  $\mu\text{M}$ , y posteriormente aumentaron en M13, hasta alcanzar valores de en torno a 1234  $\mu\text{M}$ . Se repitió el análisis de las muestras para garantizar que no hubiera ningún fallo en esta parte del proceso. En nuestra opinión, la revisión de los cortes histológicos permitió establecer dos hipótesis principales que podrían explicar esta observación. En primer lugar, la presencia de esquiras óseas en la segunda espira de la cóclea, así como la presencia de cianoacrilato dentro de la ET, a nivel de la VR, podrían haber condicionado tanto la toma de muestras como la distribución apical de la perilinfa con FITC-Dextran, entrando en concordancia con hallazgos similares descritos previamente por otros autores [12]. Esta existencia de esquiras óseas o de algún resto de cianoacrilato podría haber causado una obstrucción temporal del flujo, con el posterior posible desplazamiento de los mismos por el propio flujo intracoclear y el “efecto succión” generado por la toma de muestras, con la consiguiente obtención de altas concentraciones en M13. En segundo lugar, el requerimiento del cambio de la cánula de liberación previo a la implantación pudo también condicionar la adecuada liberación del FITC-Dextran, en el caso de que el fallo pudiese encontrarse en la propia bomba del dispositivo y no en el área de conexión de la cánula.

El engrosamiento del vaso del AC, evidenciado en Mf4-24h, no parece haber condicionado la permeabilidad del AC ni tampoco cambios significativos en las concentraciones de FITC-Dextran obtenidas.

### **5.6.0.3. Clasificación de Eshraghi**

Este estudio demuestra que la colocación de la guía de electrodos, asociada a la cánula de liberación, no supone un daño mayor al oído interno. Basándonos en la clasificación de Eshraghi, se evidenció un leve daño, grado 1, en un total de 9 especímenes: Mf4-2h-OI, Mf5-2h, Mf1-24h, Mf3-24h, Mf5-24h, Mf1-7, Mf3-7d, Mf4-7d y Mf5-7d. Se estima que este hallazgo no es suficiente para alterar las concentraciones obtenidas y representa un importante resultado positivo de la técnica quirúrgica que también repercutiría positivamente en el proceso de liberación, toma de muestras e interpretación de los datos.

El dispositivo implantado en este estudio supone un primer paso de cara a avanzar en el tratamiento local, a nivel del oído interno. La atraumaticidad con la que se realicen los procedimientos supondrá grandes beneficios, no solo a la hora de analizar la farmacocinética coclear, alterando el estado fisiológico del oído interno lo menos posible, sino también buscando obtener un mejor rendimiento de la estimulación eléctrica del IC, especialmente de cara a poder en un futuro extrapolar estos resultados al ser humano.

### **5.6.0.4. Hidrops endolinfático**

El análisis histológico llevado a cabo permitió igualmente valorar la posible generación de hidrops en la EM, condicionada por la colocación del dispositivo de IC, así como por la administración intracoclear de FITC-Dextran.

El hidrops endolinfático es un hallazgo patológico, determinado por el aumento de volumen endolinfático y la distensión del espacio endolinfático, pudiendo ser considerado primario, asociado a una alteración anatómica embriológica, por ejemplo, o secundario, en relación con la alteración en la reabsorción de la endolinfa de diversas etiologías: traumática, iatrogénica, inflamatoria... Dentro de las causas iatrogénicas, investigaciones recientes mostraron la posibilidad de generar un hidrops endolinfático en relación con la colocación de un IC, alcanzando una incidencia de 42-59 % [162]. Estos hallazgos estarían directamente relacionados con el grado de trauma generado durante la inserción del mismo, si bien también se ha evidenciado hidrops endolinfático en ausencia de trauma, siendo más prevalente en las primeras semanas post-implantación [204]. En nuestro estudio, este hallazgo, sumado a los cambios de presión generados por la liberación de FITC-Dextran asociado al dispositivo de IC, supondrían aún más riesgo para la generación de esta condición patológica.

Si bien el desarrollo de secuencias de resonancia magnética de alta resolución para la valoración de los realces tardíos de contraste paramagnético en el estudio del oído interno (RM Hidrops) ha demostrado ser una herramienta eficaz para valorar la presencia y el grado de hidrops endolinfático [205][206], la histología también ha jugado un papel fundamental en la profundización de esta patología a lo largo de los años. Los primeros estudios que describen hallazgos histológicos relacionados con hidrops endolinfático como posibles marcadores de la enfermedad de Meniere datan de 1938 [207][208]. Si bien antiguamente se planteó la posibilidad de que no existiese una relación exacta entre la presencia de hidrops endolinfático y el desarrollo de sintomatología compatible con enfermedad de

---

Meniere, en los últimos años este hallazgo ha sido definitivamente considerado como marcador de la enfermedad [209][210]. Así mismo, nuevos estudios se centran en la valoración de otros hallazgos, como pueden ser la evidencia de realce perilinfático o la herniación del CSH valorados por medio de exploraciones radiológicas, como nuevos marcadores de la enfermedad de Meniere y de su posible repercusión clínica [211][212][213][214].

En nuestro estudio, la revisión del análisis histológico llevado a cabo para cada espécimen permitió valorar la posible existencia de hidrops endolinfático por medio de la observación de la distensión de la membrana de Reissner (Tabla 5.1). Se evidenció hidrops únicamente en 3 de los 16 especímenes analizados. En otros 3 especímenes, la preservación tisular no fue considerada suficiente para valorar el hidrops endolinfático en los cortes histológicos obtenidos. A pesar de ello, la ausencia de evidencia de hidrops endolinfático en 10 de los 16 oídos estudiados apoya la técnica mínimamente traumática llevada a cabo, así como la existencia de la libre comunicación y distribución de la sustancia a lo largo de las distintas estructuras que componen el oído interno, corroborando la capacidad de regulación de los líquidos laberínticos al producirse un cambio de presión en la perilinfa tras la administración del FITC-Dextran. Se estima que la ausencia de esta rápida regulación, principalmente mediada por el saco endolinfático [215][200], generaría un hidrops a este nivel, con la subsecuente alteración del adecuado funcionamiento del oído interno. Alteraciones a nivel del saco endolinfático, como pueden ser tumores o focos otoscleróticos sobre la zona, se encuentran relacionadas con el desarrollo de síntomas de hidrops endolinfático [163][216].

Esta conclusión es especialmente importante de cara a la futura extrapolación de los resultados obtenidos al ser humano, pues indica que la colocación de un dispositivo de IC, asociado a una cánula de liberación, junto con la administración de una determinada sustancia a nivel de la espira basal, con unas propiedades físicas concretas y a un flujo previamente establecido [66], no generarían de forma sistemática un hidrops endolinfático iatrogénico, con las futuras repercusiones clínicas que ello conllevaría.

Tabla 5.1: Valoración histológica de la presencia de hidrops endolinfático. Resumen de los resultados obtenidos para cada uno de los especímenes participantes en el estudio.

Especímen	Hidrops endolinfático		Artefacto histológico*
	Presencia	Ausencia	
Grupo 2 horas			
Mf1		X	
Mf2	X		
Mf3			X
Mf4-OD		X	
Mf4-OI	X		
Mf5			X
Grupo 24 horas			
Mf1		X	
Mf2		X	
Mf3	X		
Mf4		X	
Mf5		X	
Grupo 7 días			
Mf1		X	
Mf2		X	
Mf3		X	
Mf4		X	
Mf5			X

\*La preservación tisular no es óptima para valorar el hidrops en los cortes histológicos obtenidos.

## 5.7. Nuevas vías de investigación. Perspectivas de futuro

Los resultados de esta tesis doctoral muestran que la administración de sustancias a nivel intracoclear por medio de un dispositivo de IC es factible. Estos hallazgos, así como los importantes avances recientes en las técnicas de imagen, promueven nuevas vías de investigación, aplicando estos hallazgos a otras regiones del oído interno. El desarrollo de nuevas técnicas terapéuticas, mínimamente invasivas y basadas en la administración local de fármacos, permitirían el tratamiento de la patología del oído interno, a nivel local, desde un punto de vista tanto auditivo como vestibular.

El tratamiento de las patologías que afectan al sistema vestibular supone un gran reto

en la actualidad, ya que a pesar de afectar de forma sustancial a la calidad de vida de los pacientes que las padecen, en muchos casos se carece actualmente de tratamientos suficientemente efectivos [217][218]. En los últimos 50 años, se han realizado grandes esfuerzos por avanzar en el conocimiento de la anatomía, la fisiología y la fisiopatología del sistema vestibular. Distintas técnicas histológicas han profundizado en el estudio del oído interno. Sin embargo, las estructuras del laberinto posterior aún no se conocen en detalle. En esta línea, el desarrollo de la tomografía computerizada, entre otras técnicas de imagen, ha abierto nuevas vías de investigación que han permitido, no solo contribuir a mejorar el conocimiento de las estructuras implicadas en dichos trastornos que afectan al sistema vestibular [219], sino también a plantear nuevas vías de abordaje mínimamente invasivas del laberinto posterior, evitando daños a estructuras circundantes y manteniendo los niveles auditivos del paciente.

Teniendo en cuenta esta última idea y el hilo argumental de nuevas perspectivas de tratamiento de la patología del oído interno, así como de nuevas vías de administración local de fármaco, se promovió un nuevo proyecto de investigación, como continuación de esta tesis doctoral, llevado a cabo en el centro *NKO Sint-Augustinus Antwerpen - European Institute for ORL*, en la ciudad de Amberes (Bélgica). Este proyecto, denominado *Atraumatic surgical approaches to the posterior labyrinth, allowing for drug delivery, cochleo-vestibular implants, and other new surgical applications*, tenía por objetivo la identificación de nuevas vías de abordaje del laberinto posterior. Estos nuevos abordajes permitirían no sólo ampliar el conocimiento en la administración local de fármacos, directamente a nivel del oído interno, sino también establecer nuevos tratamientos, como el empleo de implantes cócleo-vestibulares, que permitiesen un abordaje completo del conjunto de patologías que pueden comprometer la adecuada funcionalidad de este órgano de los sentidos, tanto a nivel auditivo como vestibular.

Cabe resaltar que, además de esta tesis doctoral, otra de las principales bases sobre las que se desarrolló este estudio fue la línea de investigación del proyecto *BionicVEST: European development of bionics vestibular implant for bilateral vestibular dysfunction*. *BionicVEST* es un proyecto de investigación que comenzó en el año 2020 y que se desarrolla con la participación de varios centros europeos: Fundación Canaria de Investigación Sanitaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Servicio de Otorrinolaringología de la Clínica Universidad de Navarra, NKO Sint-Augustinus Antwerpen - European Institute, Sapienza-Università di Roma, y la empresa Cochlear Research and Development Ltd.. Su objetivo es el tratamiento de aquellos pacientes candidatos a la colocación de un IC y diagnosticados de vestibulopatía bilateral, según los criterios del *Consensus document of the Classification Committee of the Barany Society* [220], por medio de la sustitución de la función coclear y vestibular, a través de la colocación de un nuevo dispositivo implantable de estimulación eléctrica. Este dispositivo se trata de un implante cócleo-vestibular que cuenta con dos guías de electrodos que se disponen una a nivel de la ET, al igual que un IC convencional, y la otra a nivel vestibular, en contacto con el sáculo, por su estrecha relación con el nervio vestibular inferior.

De esta forma, para realizar este proyecto, se planteó la posibilidad de crear modelos 3D del oído interno de pacientes pertenecientes al proyecto *BionicVEST*, intervenidos

quirúrgicamente para la colocación de implantes cócleo-vestibulares, a partir de imágenes de tomografía computerizada. Estos modelos permitirían localizar de forma precisa la ubicación de la guía de electrodos y su posición con respecto a los órganos otolíticos, lo que también posibilitaría la correcta evaluación de los posibles daños generados durante el abordaje quirúrgico sobre las estructuras vestibulares.

Posteriormente, siguiendo el patrón de generar modelos tridimensionales, se propusieron y estudiaron en huesos temporales humanos otras dos nuevas vías de abordaje al laberinto posterior:

- el espacio comprendido entre el nervio facial y los canales semicirculares posterior y horizontal.
- el espacio comprendido entre los canales semicirculares superior y horizontal.

La posibilidad de crear un modelo 3D generado a partir de la segmentación del oído interno, con la interposición de imágenes obtenidas a partir de tomografía computarizada de pacientes intervenidos quirúrgicamente para la colocación de implantes cócleo-vestibulares demostró ser factible, permitiendo obtener resultados precisos sobre la ubicación exacta de la guía de electrodos, principalmente con respecto a los órganos otolíticos, así como evidenciar los posibles daños generados en las estructuras vestibulares. De igual forma, el análisis de los pacientes pertenecientes al proyecto *BionicVEST* muestra resultados prometedores, valorándose en reconstrucciones 3D la adecuada localización de la guía de electrodos en la región más anterior del vestíbulo, en contacto con el sáculo y, por tanto, con el nervio vestibular inferior.

En cuanto a las dos nuevas vías de abordaje propuestas, las reconstrucciones 3D demuestran su viabilidad, con resultados preliminares prometedores en la administración local de fármacos y/o en la estimulación eléctrica de estos órganos a través de estos nuevos abordajes.

Este estudio puede ser considerado como el inicio de nuevas vías de investigación, promoviendo la consecución de futuros estudios que corroboren los hallazgos aquí presentados. En nuestra opinión, estas predicciones son suficientemente precisas y podrían extrapolarse a un mayor número de pacientes, en el caso del proyecto *BionicVEST*, y/o a un mayor número de huesos temporales, con valoraciones adicionales de las dos nuevas vías de abordaje propuestas, por medio de reconstrucciones 3D y verificación histológica posterior.

## **5.8. Limitaciones del estudio**

Los resultados de este estudio deben considerarse a la luz de algunas limitaciones. Hemos identificado tres limitaciones principales que podrían abordarse en futuras investigaciones.

En primer lugar, se ha observado un rango amplio de tiempo en los procedimientos de toma de muestras. Se podría plantear la posibilidad de que el tiempo de toma pudiera afectar a las concentraciones finales obtenidas. Este hecho no ha sido específicamente

abordado en este trabajo debido a que el pequeño tamaño muestral de cada grupo (5 especímenes) no permitió realizar comparaciones intragrupo obteniendo conclusiones fiables. De esta forma se plantea la posibilidad de estudiar en un futuro el tiempo de toma de muestras como potencial agente de interacción en las concentraciones obtenidas.

En segundo lugar, la comparación entre nuestros resultados y los obtenidos en otros estudios anteriores requiere una interpretación cautelosa debido a la diferencia de las especies utilizadas. El presente estudio parte de la base de que, basándose en la toma de muestras de fluidos apicales, la distribución de solutos en el *Macaca* sería la misma que en el Gp. La comparación con otros modelos animales está fuera de los objetivos de nuestro estudio. Podría tenerse en cuenta en futuros proyectos de investigación.

Por último, siempre es importante tener en cuenta que, a pesar de la proximidad filogenética y la similitud anatómica y fisiológica entre el espécimen aquí estudiado, el Mf, y el ser humano, aún podrían existir algunas diferencias significativas entre ambos especímenes. Los resultados obtenidos en este estudio deben ser interpretados en este contexto a la hora de ser extrapolados de uno a otro.



**6**

**Conclusiones - Conclusions**



## 6.1. Conclusiones (en castellano)

Las conclusiones de este trabajo se detallan a continuación:

1. El modelo experimental animal utilizado en este estudio, *Macaca fascicularis*, podría ser considerado, a priori, como un modelo viable para el estudio de la farmacocinética coclear. Las similitudes anatómicas entre la cóclea del *Macaca fascicularis* y la cóclea humana, permitieron llevar a cabo una técnica quirúrgica y una valoración histológica similar a la practicada en seres humanos.
2. Los perfiles de concentración objetivados para *Macaca fascicularis* en este estudio difirieron de los reportados en la literatura para *Guinea pig*. Se estima que en *Macaca fascicularis* el flujo y el movimiento del fármaco no están dominados por el acueducto coclear.
3. La administración local, directamente a través de una cánula incorporada al dispositivo de implante coclear, es factible y puede suponer importantes ventajas con respecto a las alternativas empleadas hasta la fecha en la práctica clínica habitual, ya que proporciona una liberación más estable y uniforme del fármaco, lo que se considera podría favorecer la acción farmacológica de la sustancia administrada.
4. La aplicación de técnicas mínimamente traumáticas en la cirugía de implante coclear y el diseño del dispositivo de implante coclear, asociado a una bomba de liberación, permite la administración intracoclear de sustancia, sin conllevar, considerando el análisis histológico y los parámetros establecidos en la clasificación de Eshraghi, daños a las estructuras cocleares.
5. El tiempo de liberación de sustancia requerido para alcanzar concentraciones máximas a nivel del ápex coclear juega un papel fundamental en su distribución a través del oído interno y varía en función de la especie a estudio. El periodo correspondiente al tiempo de liberación comprendido entre 2 y 24 horas es crucial para alcanzar concentraciones máximas en el ápex coclear en el *Macaca fascicularis*.
6. En el *Macaca fascicularis*, una vez transcurrido al menos un periodo de tiempo de liberación de sustancia comprendido entre 24 horas y 7 días, el perfil de concentración obtenido comienza a disminuir, correspondiéndose con el inicio del periodo de "lavado" de la sustancia administrada a nivel intracoclear.
7. La administración intracoclear de una determinada sustancia a nivel de la espira basal demuestra la existencia de un gradiente de concentración intracoclear en dirección apical.
8. El intercambio de sustancias desde la escala timpánica a los espacios extracelulares y otros compartimentos, como el espacio modiolar, o su relación con estructuras como el seno endolinfático, podrían condicionar la actuación de estos espacios como depósitos o reservorios donde la sustancia permaneciese, proporcionando un perfil de concentración uniforme, estable, en la distribución de la sustancia desde la base hasta el ápex coclear.

## 6.2. Conclusions (en inglés)

The conclusions of this work are listed below:

1. The experimental animal model used in this study, *Macaca fascicularis*, can be considered, a priori, a viable model to study cochlear pharmacokinetics. The anatomical similarities between the *Macaca fascicularis* cochlea and the human cochlea allowed for a surgical technique and histological assessment similar to those performed in humans.
2. The concentration profiles obtained for *Macaca fascicularis* in this study differed from those reported in the literature for *Guinea pigs*. It is estimated that the cochlear aqueduct does not dominate the flow and movement of the drug in *Macaca fascicularis*.
3. Local drug delivery, directly through a cannula incorporated into a cochlear implant device, is feasible and may involve significant advantages versus the alternatives used to date in routine clinical practice, as it provides a more stable and uniform release of the drug, which is thought to enhance the pharmacological action of the substance administered.
4. The application of minimally traumatic techniques in cochlear implant surgery and the design of the cochlear implant device, associated with a release pump, makes intracochlear delivery of the substance possible, without incurring damage to the cochlear structures, based on histological analysis and the parameters established in the Eshraghi classification.
5. The release time required to achieve peak concentrations at the cochlear apex is a major factor in the distribution of the substance throughout the inner ear and varies depending on the species studied. The release time of 2 to 24 hours is decisive to reach maximum concentrations in the cochlear apex in *Macaca fascicularis*.
6. After at least 24 hours to 7 days of release time in *Macaca fascicularis*, the concentration profile obtained begins to decline, corresponding to the beginning of the “washout” period of the substance administered intracochlearly.
7. Intracochlear administration of a given substance at the level of the basal turn demonstrates the existence of an intracochlear concentration gradient in the apical direction.
8. The exchange of substances from the *scala tympani* to the extracellular spaces and other compartments, such as the modiolar space, or their relationship with structures such as the endolymphatic sinus, might condition how these spaces act as reservoirs where the substance remains, providing a uniform, stable concentration profile in the distribution of the substance from the base to the cochlear apex.

7

## Bibliografía



1. Brown CS, Emmett SD, Robler SK y Tucci DL. Global Hearing Loss Prevention. *Otolaryngol Clin North Am.* 2018; 51(3):575-92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.otc.2018.01.006>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0030666518300069>
2. Organización Mundial de la Salud. Sordera y pérdida de la audición [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2021 [updated 2021 Mar 2; cited 2022 May 21]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/deafness-and-hearing-loss>
3. Makary CA, Shin J, Kujawa SG, Liberman MC y Merchant SN. Age-Related Primary Cochlear Neuronal Degeneration in Human Temporal Bones. *J Assoc Res Otolaryngol.* 2011; 12(6):711-7. DOI: 10.1007/s10162-011-0283-2. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10162-011-0283-2>
4. FIAPAS - Confederación española de familias de personas sordas. La detección precoz de la sordera en el origen de la planificación de todas las políticas en relación con las personas sordas [Internet]. FIAPAS - Confederación española de familias de personas sordas. 2021 [updated 2021 Mar 3; cited 2022 May 21]. Available from: <http://www.fiapas.es/actualidad-y-agenda/nota-de-prensa/la-deteccion-precoz-de-la-sordera-en-el-origen-de-la>
5. National Institute on Deafness and Other Communication Disorders (NIH). Quick Statistics About Hearing. 2021. Available from: <https://www.nidcd.nih.gov/health/statistics/quick-statistics-hearing>
6. Nieman CL y Oh ES. Hearing Loss. *Ann Intern Med.* 2020; 173(11):ITC81-ITC96. DOI: 10.7326/AITC202012010. Available from: <https://doi.org/10.7326/AITC202012010>
7. Glueckert R, Johnson Chacko L, Rask-Andersen H, Liu W, Handschuh S y Schrott-Fischer A. Anatomical basis of drug delivery to the inner ear. *Hear Res.* 2018; 368:10-27. DOI: 10.1016/j.heares.2018.06.017. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378595518300133>
8. Nyberg S, Abbott NJ, Shi X, Steyger PS y Dabdoub A. Delivery of therapeutics to the inner ear: The challenge of the blood-labyrinth barrier. *Sci Transl Med.* 2019; 11(482):eaa0935. DOI: 10.1126/scitranslmed.aao0935. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30842313>
9. Salt AN e Hirose K. Communication pathways to and from the inner ear and their contributions to drug delivery. *Hear Res.* 2018; 362:25-37. DOI: 10.1016/j.heares.2017.12.010. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378595517304574>
10. Eustachi B, Albinus BS, Langerak JA y Verbeek JH. Bernardi Siegfried Albini ... *Explicatio tabularum anatomicarum. Leidae Batavorum [Leyden] : Apud Joannem Arnoldum Langerak, et Joannem Hermannum Verbeek, bibliop., 1744*

11. Corti A. Recherches sur l'organe de l'ouïe des mammifères. *Z wiss Zool.* 1851; 3:109-69
12. Rask-Andersen H, Liu W, Erixon E, Kinnefors A, Pfaller K, Schrott-Fischer A y Glueckert R. Human cochlea: anatomical characteristics and their relevance for cochlear implantation. *Anat Rec (Hoboken).* 2012; 295(11):1791-811. DOI: 10.1002/ar.22599. Available from: <https://doi.org/10.1002/ar.22599>
13. Sanverdi SE, Ozgen B, Dolgun A y Sarac S. Incomplete endochondral ossification of the otic capsule, a variation in children: evaluation of its prevalence and extent in children with and without sensorineural hearing loss. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2015; 36:171-5. DOI: 10.3174/ajnr.A4128. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25234034>
14. Hardy M. The length of the organ of Corti in man. *Am J Anat.* 1938; 62:291-311
15. Martinez-Monedero R, Niparko JK y Aygun N. Cochlear Coiling Pattern and Orientation Differences in Cochlear Implant Candidates. *Otol Neurotol.* 2011; 32(7). Available from: [https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2011/09000/Cochlear\\_Coiling\\_Pattern\\_and\\_Orientation.9.aspx](https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2011/09000/Cochlear_Coiling_Pattern_and_Orientation.9.aspx)
16. Sterkers O, Ferrary E y Amiel C. Production of inner ear fluids. *Physiol Rev.* 1988; 68(4):1083-128. DOI: 10.1152/physrev.1988.68.4.1083. Available from: <https://doi.org/10.1152/physrev.1988.68.4.1083>
17. Bruss DM y Shohet JA. Neuroanatomy, Ear. [Updated 2022 Apr 9]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551658/>
18. Li H, Rajan GP, Shaw J, Rohani SA, Ladak HM, Agrawal S y Rask-Andersen H. A Synchrotron and Micro-CT Study of the Human Endolymphatic Duct System: Is Meniere's Disease Caused by an Acute Endolymph Backflow? *Front Surg.* 2021; 8:662530. DOI: 10.3389/fsurg.2021.662530
19. Rask-Andersen H, Stahle J y Wilbrand H. Human Cochlear Aqueduct and its Accessory Canals. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1977; 86(5 Pt 2 Suppl. 42):1-16. DOI: 10.1177/00034894770860S501. Available from: <https://doi.org/10.1177/00034894770860S501>
20. Das Kleinhirn, seine Hirnhanträume, die Verbindungen des 4. Ventrikels mit den Subarachnoidalräumen sowie der Aquaeductus cochleae beim menschlichen Fötus. *Acta Otolaryngol.* 1924; 6 Suppl. 4:9-24. DOI: 10.3109/00016482409120849. Available from: <https://doi.org/10.3109/00016482409120849>
21. Carlborg BI y Farmer JC. Transmission of cerebrospinal fluid pressure via the cochlear aqueduct and endolymphatic sac. *Am J Otolaryngol.* 1983; 4(4):273-82. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0196-0709\(83\)80071-4](https://doi.org/10.1016/S0196-0709(83)80071-4). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196070983800714>
22. Palva T y Dammert K. Human cochlear aqueduct. *Acta Otolaryngol (Stockh).* 86(5 Pt 2 Suppl. 42):1-58

23. Rask-Andersen H, Schrott-Fischer A, Pfaller K y Glueckert R. Perilymph/Modiolar Communication Routes in the Human Cochlea. *Ear Hear.* 2006; 27(5). Available from: [https://journals.lww.com/ear-hearing/Fulltext/2006/10000/Perilymph\\_Modiolear\\_Communication\\_Routes\\_in\\_the.2.aspx](https://journals.lww.com/ear-hearing/Fulltext/2006/10000/Perilymph_Modiolear_Communication_Routes_in_the.2.aspx)
24. Neiger M. Zur Morphologie und Physiologie des Aquaeductus cochleae. *Bibliotheca Oto-Rhino-Laryngologica.* 1968; 15:113-226
25. Friberg U, Bagger-Sjöbäck D y Rask-Andersen H. The Lateral Intercellular Spaces in the Endolymphatic Sac. A Pathway for Fluid Transport? *Acta Otolaryngol.* 1985; 100 Suppl. 426:3-17. DOI: 10.3109/00016488509121608. Available from: <https://doi.org/10.3109/00016488509121608>
26. Portmann G. Le traitement chirurgical des vertiges par l'ouverture du sac endolymphatique. *Presse Med.* 1926; 104:1635-7
27. Couloigner V, Sterkers O, Rask-Andersen H, Teixeira M y Ferrary E. Le sac endolymphatique : ses fonctions au sein de l'oreille interne. *Med Sci (Paris).* 2004; 20(3):304-10. DOI: 10.1051/medsci/2004203304. Available from: <https://doi.org/10.1051/medsci/2004203304>
28. Cooper MW y Kaylie DM. Is Endolymphatic Sac Surgery Beneficial For Meniere's Disease? *Laryngoscope.* 2020; 130(12):2738-9. DOI: <https://doi.org/10.1002/lary.28647>. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/lary.28647>
29. Mei X, Atturo F, Wadin K, Larsson S, Agrawal S, Ladak HM, Li H y Rask-Andersen H. Human inner ear blood supply revisited: the Uppsala collection of temporal bone-an international resource of education and collaboration. *Ups J Med Sci.* 2018; 123(3):131-42. DOI: 10.1080/03009734.2018.1492654. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30204028>
30. Schwalbe E. Ein Beitrag zur Kenntnis der Zirkulationsverhältnisse in der Gehörsehnecke. *Beiträge zur Physiologie. Festschrift.* Ed. por C L. F. C. W. Vogel, 1887 :200-20
31. Bui H, Friberg U, Wackym P, Linthicum F, Hofman F, Bagger-Sjöbäck D y Rask-Andersen H. Human endolymphatic sac: Morphologic evidence of immunologic function. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1987; 96(3):276-81. DOI: 10.1177/000348948709600308
32. Kämpfe Nordström C, Danckwardt-Lillieström N, Laurell G, Liu W y Rask-Andersen H. The Human Endolymphatic Sac and Inner Ear Immunity: Macrophage Interaction and Molecular Expression. *Front Immunol.* 2019; 9. DOI: 10.3389/fimmu.2018.03181. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2018.03181>

33. Liu W, Kämpfe Nordström C, Danckwardt-Lillieström N y Rask-Andersen H. Human Inner Ear Immune Activity: A Super-Resolution Immunohistochemistry Study. *Front Neurol.* 2019; 10. DOI: 10.3389/fneur.2019.00728. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fneur.2019.00728>
34. Wang Y y Ren D. Mechanism of aseptic inflammation upon the inner ear injury. *J bio-x res.* 2020; 3(2). Available from: [https://journals.lww.com/jbioxresearch/Fulltext/2020/06000/Mechanism\\_of\\_aseptic\\_inflammation\\_upon\\_the\\_inner.5.aspx](https://journals.lww.com/jbioxresearch/Fulltext/2020/06000/Mechanism_of_aseptic_inflammation_upon_the_inner.5.aspx)
35. Briggs R, O'Leary S, Birman C, Plant K, English R, Dawson P, Risi F, Gavrilis J, Needham K y Cowan R. Comparison of electrode impedance measures between a dexamethasone-eluting and standard Cochlear™ Contour Advance® electrode in adult cochlear implant recipients. *Hear Res.* 2020; 390:107924. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heares.2020.107924>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378595519303910>
36. Okano T. Immune system of the inner ear as a novel therapeutic target for sensorineural hearing loss. *Front Pharmacol.* 2014; 5. DOI: 10.3389/fphar.2014.00205. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2014.00205>
37. Yimtae K, Song H, Billings P, Harris J y Keithley E. Connection between the inner ear and the lymphatic system. *Laryngoscope.* 2001; 111(9):1631-5. DOI: 10.1097/00005537-200109000-00026. Available from: <https://doi.org/10.1097/00005537-200109000-00026>
38. Carricondo Orejana F, Romero Gómez B, Iglesias Moreno M y Poco Broto J. Anatomía funcional del oído interno y vía auditiva. Fenómenos mecánicos y bioeléctricos endococleares. Transmisión del influjo nervioso auditivo. Fisiología de las áreas auditivas corticales y subcorticales. *Audiología. Manrique, M., Marco, J.* Ed. por CYAN Proyectos Editoriales S. 2014 :23-43
39. Jako G, Weille FL, Palmer PE e Irwin JW. LII An Experimental Study of the Dynamic Circulation of the Labyrinthine Fluids. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1959; 68(3):733-9. DOI: 10.1177/000348945906800310. Available from: <https://doi.org/10.1177/000348945906800310>
40. Huangfu M, Komune S y Snow James B. J. Dynamics of the Flow of Perilymph in the Cochlea of the Guinea Pig. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1982; 108(9):535-8. DOI: 10.1001/archoto1.1982.00790570001001. Available from: <https://doi.org/10.1001/archoto1.1982.00790570001001>
41. Gil-Loyaga P y Pujol R. Fisiología del receptor y la vía auditiva. *Fisiología Humana.* Ed. por Tresguerres JA. McGraw-Hill Interamericana de España S.L., 2010 :227-38
42. Allen GW. Endolymphatic sac and cochlear aqueduct. *Arch Otolaryngol.* 1964; 79:322-7

43. Kimura RS y Schuknecht HF. Membranous Hydrops in the Inner Ear of the Guinea Pig after Obliteration of the Endolymphatic Sac. *Pract Otorhinolaryngol (Basel)* 1965; 27(7):343-54. DOI: 10.1159/000274693. Available from: <https://www.karger.com/DOI/10.1159/000274693>
44. Thorne M, Salt AN, DeMott JE, Henson MM, Henson Jr. OW y Gewalt SL. Cochlear Fluid Space Dimensions for Six Species Derived From Reconstructions of Three-Dimensional Magnetic Resonance Images. *Laryngoscope*. 1999; 109(10):1661-8. DOI: <https://doi.org/10.1097/00005537-199910000-00021>. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1097/00005537-199910000-00021>
45. Salt AN. Simulation of methods for drug delivery to the cochlear fluids. *Adv Otorhinolaryngol*. 2002; 59:140-8. DOI: 10.1159/000059251
46. Shinomori Y, Jones D, Spack DS y Kimura RS. Volumetric and Dimensional Analysis of the Guinea Pig Inner Ear. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2001; 110(1):91-8. DOI: 10.1177/000348940111000117. Available from: <https://doi.org/10.1177/000348940111000117>
47. Tanaka K y Motomura S. Permeability of the labyrinthine windows in guinea pigs. *Arch Otorhinolaryngol*. 1981; 233(1):67-75. DOI: 10.1007/BF00464276. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF00464276>
48. Binhammer RT. CSF Anatomy with Emphasis on Relations to Nasal Cavity and Labyrinthine Fluids. *Ear Nose Throat J*. 1992; 71(7):292-9. DOI: 10.1177/014556139207100703. Available from: <https://doi.org/10.1177/014556139207100703>
49. Goycoolea M y Lundman L. Round window membrane. Structure function and permeability: a review. *Microsc Res Tech*. 1997; 36(3):201-11. DOI: 10.1002/(sici)1097-0029(19970201)36:3<201::aid-jemt8>3.0.co;2-r. Available from: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0029\(19970201\)36:3<201::AID-JEMT8>3.3.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0029(19970201)36:3<201::AID-JEMT8>3.3.CO;2-F)
50. Wysocki J. Topographical anatomy and morphometry of the temporal bone of the macaque. *Folia Morphol*. 2009; 68(1):13-22
51. Salt AN. Alec Salt's Perilymph World [Internet]. 2022 [updated 2022 Jun 9; cited 2022 May 18]. Available from: <https://www.alecsalt.com/index.php/drug-delivery/size-and-diffusion-in-the-ear>
52. Zulueta-Santos C. Efecto de la implantación y reimplantación de un implante coclear en un modelo animal experimental in vivo (Macaca fascicularis). Tesis doct. Universidad de Navarra, 2019
53. Staecker H. Broadening the Spectrum of Treatment Options for SNHL. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2005; 131:734-4. DOI: 10.1001/archotol.131.8.734. Available from: <https://doi.org/10.1001/archotol.131.8.734>

54. Himeno C, Komeda M, Izumikawa M, Takemura K, Yagi M, Weiping Y, Doi T, Kuriyama H, Miller JM y Yamashita T. Intra-cochlear administration of dexamethasone attenuates aminoglycoside ototoxicity in the guinea pig. *Hear Res.* 2002; 167(1-2):61-70. DOI: 10.1016/S0378-5955(02)00345-3. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0378-5955\(02\)00345-3](https://doi.org/10.1016/S0378-5955(02)00345-3)
55. Daldal A, Odabasi O y Serbetcioglu B. The protective effect of intratympanic dexamethasone on cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007; 137(5):747-52. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.otohns.2007.05.068>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S019459980700650X>
56. Takemura K, Komeda M, Yagi M, Himeno C, Izumikawa M, Doi T, Kuriyama H, Miller JM y Yamashita T. Direct inner ear infusion of dexamethasone attenuates noise-induced trauma in guinea pig. *Hear Res.* 2004; 196(1-2):58-68. DOI: 10.1016/j.heares.2004.06.003. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heares.2004.06.003>
57. Braun S, Ye Q, Radloff A, Kiefer J, Gstoettner W y Tillein J. Protection of Inner Ear Function after Cochlear Implantation: Compound Action Potential Measurements after Local Application of Glucocorticoids in the Guinea Pig Cochlea. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 2011; 73(4):219-28. DOI: 10.1159/000329791. Available from: <https://www.karger.com/DOI/10.1159/000329791>
58. Eshraghi A, Adil E, He J, Graves R, Balkany T y Van De Water T. *Am J Otolaryngol.* 2007; 28(6):842-9. DOI: 10.1097/MAO.0b013e31805778fc
59. Eshraghi AA, Dinh CT, Bohorquez J, Angeli S, Abi-Hachem R y Water TRVD. Local drug delivery to conserve hearing: mechanisms of action of eluted dexamethasone within the cochlea. *Cochlear Implants International.* 2011; 12 Suppl. 1:S51-S53. DOI: 10.1179/146701011X13001035753254. Available from: <https://doi.org/10.1179/146701011X13001035753254>
60. James DP, Eastwood H, Richardson RT y O'Leary SJ. Effects of Round Window Dexamethasone on Residual Hearing in a Guinea Pig Model of Cochlear Implantation. *Audiol Neurotol.* 2008; 13(2):86-96. DOI: 10.1159/000111780. Available from: <https://www.karger.com/DOI/10.1159/000111780>
61. Vivero R, Joseph D, Angeli S, He J, Chen S, Eshraghi A, Balkany T y Van De Water T. *Laryngoscope.* 2008; 118(11):2028-35. DOI: 10.1097/MLG.0b013e31818173ec
62. Hao J y Li SK. Inner ear drug delivery: Recent advances, challenges, and perspective. *Eur J Pharm Sci.* 2019; 126:82-92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.05.020>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928098718302392>
63. Salt AN y Plontke SKR. Local inner-ear drug delivery and pharmacokinetics. *Drug Discov Today.* 2005; 10(19):1299-306. DOI: 10.1016/S1359-6446(05)03574-9

64. Salt AN y Plontke SK. Principles of local drug delivery to the inner ear. *Audiol Neurotol.* 2009; 14(6):350-60. DOI: 10.1159/000241892
65. Diccionario del catálogo sectorial de productos farmacéuticos. 2014
66. Salt AN y Plontke SK. Pharmacokinetic principles in the inner ear: Influence of drug properties on intratympanic applications. *Hear Res.* 2018; 368:28-40. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heares.2018.03.002>
67. Salt AN, Ohyama K y Thalmann R. Radial communication between the perilymphatic scalae of the cochlea. I: Estimation by tracer perfusion. *Hear Res.* 1991; 56(1):29-36. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(91\)90150-8](https://doi.org/10.1016/0378-5955(91)90150-8). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378595591901508>
68. Salt AN, Ohyama K y Thalmann R. Radial communication between the perilymphatic scalae of the cochlea. II: Estimation by bolus injection of tracer into the sealed cochlea. *Hear Res.* 1991; 56(1):37-43. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(91\)90151-X](https://doi.org/10.1016/0378-5955(91)90151-X). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037859559190151X>
69. Mikulec AA, Plontke SK, Hartsock JJ y Salt AN. Entry of Substances Into Perilymph Through the Bone of the Otic Capsule After Intratympanic Applications in Guinea Pigs: Implications for Local Drug Delivery in Humans. *Otol Neurotol.* 2009; 30(2). Available from: [https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2009/02000/Entry\\_of\\_Substances\\_Into\\_Perilymph\\_Through\\_the\\_1.aspx](https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2009/02000/Entry_of_Substances_Into_Perilymph_Through_the_1.aspx)
70. King EB, Salt AN, Kel GE, Eastwood HT y O'Leary SJ. Gentamicin administration on the stapes footplate causes greater hearing loss and vestibulotoxicity than round window administration in guinea pigs. *Hear Res.* 2013; 304:159-66. DOI: 10.1016/j.heares.2013.07.013. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23899413>
71. Kang WS, Nguyen K, McKenna CE, Sewell WF, McKenna MJ y Jung DH. Intracochlear Drug Delivery Through the Oval Window in Fresh Cadaveric Human Temporal Bones. *Otol Neurotol.* 2016; 37(3):218-22. DOI: 10.1097/MAO.0000000000000964. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26859540>
72. Herraiz C, Miguel Aparicio J y Plaza G. Via intratimpánica en el tratamiento de patología de oído interno. *Acta Otorrinolaringológica Española.* 2010; 61(3):225-32. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.otorri.2009.03.008>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001651909000685>
73. Sircoglou J, Gehrke M, Tardivel M, Siepmann F, Siepmann J y Vincent C. Trans-oval-window implants, a new approach for drug delivery to the inner ear: Extended dexamethasone release from silicone-based implants. *Otol Neurotol.* 2015; 36:1572-9

74. Kelso CM, Watanabe H, Wazen JM, Bucher T, Qian ZJ, Olson ES, Kysar JW y Lalwani AK. Microperforations significantly enhance diffusion across round window membrane. *Otol Neurotol*. 2015; 36(4):694-700. DOI: 10.1097/MAO.0000000000000629. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25310125>
75. Rahmani S, Ross AM, Park TH, Durmaz H, Dishman AF, Prieskorn DM, Jones N, Altschuler RA y Lahann J. Dual Release Carriers for Cochlear Delivery. *Adv Healthc Mater*. 2016; 5(1):94-100. DOI: 10.1002/adhm.201500141. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26178272>
76. Ross AM, Rahmani S, Prieskorn DM, Dishman AF, Miller JM, Lahann J y Altschuler RA. Persistence, distribution, and impact of distinctly segmented microparticles on cochlear health following in vivo infusion. *J Biomed Mater Res A*. 2016; 104(6):1510-22. DOI: 10.1002/jbm.a.35675. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26841263>
77. Wise AK, Tan J, Wang Y, Caruso F y Shepherd RK. Improved Auditory Nerve Survival with Nanoengineered Supraparticles for Neurotrophin Delivery into the Deafened Cochlea. *PLoS One*. 2016; 11(10):1-17. DOI: 10.1371/journal.pone.0164867. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164867>
78. Fransson A, Tornøe J, Wahlberg LU y Ulfendahl M. The feasibility of an encapsulated cell approach in an animal deafness model. *J Control Release*. 2018; 270:275-81. DOI: 10.1016/j.jconrel.2017.12.014. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29269144>
79. Chin OY y Diaz RC. State-of-the-art methods in clinical intracochlear drug delivery. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2019; 27(5). Available from: [https://journals.lww.com/co-otolaryngology/Fulltext/2019/10000/State\\_of\\_the\\_art\\_methods\\_in\\_clinical\\_intracochlear.12.aspx](https://journals.lww.com/co-otolaryngology/Fulltext/2019/10000/State_of_the_art_methods_in_clinical_intracochlear.12.aspx)
80. Salt AN, Hartsock JJ, Gill RM, Piu F y Plontke SK. Perilymph pharmacokinetics of markers and dexamethasone applied and sampled at the lateral semi-circular canal. *J Assoc Res Otolaryngol*. 2012; 13(6):771-83. DOI: 10.1007/s10162-012-0347-y. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22968908>
81. Lichtenhan JT, Hartsock J, Dornhoffer JR, Donovan KM y Salt AN. Drug delivery into the cochlear apex: Improved control to sequentially affect finely spaced regions along the entire length of the cochlear spiral. *J Neurosci Methods*. 2016; 273:201-9. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2016.08.005. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27506463>
82. Borenstein JT. Intracochlear drug delivery systems. *Expert Opin Drug Deliv*. 2011; 8(9):1161-74. DOI: 10.1517/17425247.2011.588207. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21615213>

83. Fiering J, Mescher MJ, Leary Swan EE, Holmboe ME, Murphy BA, Chen Z, Peppi M, Sewell WF, McKenna MJ, Kujawa SG y Borenstein JT. Local drug delivery with a self-contained, programmable, microfluidic system. *Biomed Microdevices*. 2009; 11(3):571-8. DOI: 10.1007/s10544-008-9265-5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19089621>
84. Salt A, Hartsock J, Gill R, Smyth D, Kirk J y Verhoeven K. Perilymph pharmacokinetics of marker applied through a cochlear implant in guinea pigs. *PLoS One*. 2017; 12(8):1-20. DOI: 10.1371/journal.pone.0183374. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183374>
85. Gehrke M, Sircoglou J, Gnansia D, Turrel G, Willart JF, Danede F, Lacante E, Vincent C, Siepmann F y Siepmann J. Ear Cubes for local controlled drug delivery to the inner ear. *Int. J. Pharm.* 2016; 509(1-2):85-94. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2016.04.003. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.04.003>
86. Hendricks JL, Chikar JA, Crumling MA, Raphael Y y Martin DC. Localized cell and drug delivery for auditory prostheses. *Hear Res*. 2008; 242(1-2):117-31. DOI: 10.1016/j.heares.2008.06.003. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18573323>
87. Forouzandeh F y Borkholder DA. Microtechnologies for inner ear drug delivery. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2020; 28(5):323-8. DOI: 10.1097/moo.0000000000000648. Available from: <https://europepmc.org/articles/PMC7645730>
88. Birman CS y Sanli H. Cochlear Implant Outcomes in Patients With Severe Compared With Profound Hearing Loss. *Otol Neurotol*. 2020; 41(4). DOI: 10.1097/MAO.0000000000002574. Available from: [https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2020/04000/Cochlear\\_Implant\\_Outcomes\\_in\\_Patients\\_With\\_Severe.13.aspx](https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2020/04000/Cochlear_Implant_Outcomes_in_Patients_With_Severe.13.aspx)
89. Sharma SD, Cushing SL, Papsin BC y Gordon KA. Hearing and speech benefits of cochlear implantation in children: A review of the literature. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2020; 133:109984. DOI: 10.1016/j.ijporl.2020.109984. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2020.109984>
90. Wilson B y Dorman M. Cochlear implants: Current designs and future possibilities. *J Rehabil Res Dev*. 2008; 45:695-730. DOI: 10.1682/JRRD.2007.10.0173
91. Eshraghi AA, Yang NW y Balkany TJ. Comparative Study of Cochlear Damage With Three Perimodiolar Electrode Designs. *Laryngoscope*. 2003; 113(3):415-9. DOI: <https://doi.org/10.1097/00005537-200303000-00005>. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1097/00005537-200303000-00005>

92. Ishiyama A, Doherty J, Ishiyama G, Quesnel AM, Lopez I y Linthicum FH. Post Hybrid Cochlear Implant Hearing Loss and Endolymphatic Hydrops. *Otol Neurotol.* 2016; 37(10):1516-21. DOI: 10.1097/MAO.0000000000001199. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27608418>
93. Linthicum F, Fayad J, Otto S, Galey F y House W. Inner ear morphologic changes resulting from cochlear implantation. *Am J Otol.* 1991; 12 Suppl. 8-10; discussion 18-21. Available from: <http://europepmc.org/abstract/MED/2069194>
94. O'Leary S, Monksfield P, Kel G, Connolly T, Souter M, Chang A, Marovic P, O'Leary J, Richardson R y Eastwood H. Relations between cochlear histopathology and hearing loss in experimental cochlear implantation. *Hear Res.* 2013; 298:27-35. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heares.2013.01.012>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378595513000269>
95. Venail F, Mura T, Akkari M, Mathiolon C, Menjot de Champfleury S, Piron JP, Sicard M, Sterkers-Artieres F, Mondain M y Uziel A. Modeling of Auditory Neuron Response Thresholds with Cochlear Implants. *Biomed Res. Int.* 2015; 2015:394687. DOI: 10.1155/2015/394687. Available from: <https://europepmc.org/articles/PMC4506832>
96. De Ceulaer G, Johnson S, Yperman M, Daemers K, Offeciers FE, O'Donoghue GM y Govaerts PJ. Long-term evaluation of the effect of intracochlear steroid deposition on electrode impedance in cochlear implant patients. *Otol Neurotol.* 2003; 24(5):769-74. DOI: 10.1097/00129492-200309000-00014. Available from: <https://doi.org/10.1097/00129492-200309000-00014>
97. Manrique-Huarte R, Zulueta-Santos C, Calavia D, Linera-Alperi MAd, Gallego MA, Jolly C y Manrique M. Cochlear Implantation With a Dexamethasone Eluting Electrode Array: Functional and Anatomical Changes in Non-Human Primates. *Otol Neurotol.* 2020; 41(7):e812-e822. DOI: 10.1097/mao.0000000000002686. Available from: <https://doi.org/10.1097/MAO.0000000000002686>
98. Ramos BF, Tsuji RK, Bento RF, Goffi-Gomez MVS, Ramos HF, Samuel PA y Brito R. Hearing preservation using topical dexamethasone alone and associated with hyaluronic acid in cochlear implantation. *Acta Otolaryngol.* 2015; 135(5):473-7. DOI: 10.3109/00016489.2014.995831. Available from: <https://doi.org/10.3109/00016489.2014.995831>
99. Feijen RA, Segenhout JM, Albers FWJ y Wit HP. Cochlear aqueduct flow resistance depends on round window membrane position in guinea pigs. *J Assoc Res Otolaryngol.* 2004; 5(4):404-10. DOI: 10.1007/s10162-004-5001-x. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15682510>
100. Radeloff A, Unkelbach MH, Mack MG, Settevendemie C, Helbig S, Mueller J, Hagen R y Mlynski R. A coated electrode carrier for cochlear implantation reduces insertion forces. *Laryngoscope.* 2009; 119. DOI: 10.1002/lary.20206.

101. Roemer A, Köhl U, Majdani O, Klöß S, Falk C, Haumann S, Lenarz T, Kral A y Warnecke A. Biohybrid cochlear implants in human neurosensory restoration. *Stem Cell Res Ther.* 2016; 7(1):148. DOI: 10.1186/s13287-016-0408-y. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13287-016-0408-y>
102. Manrique-Huarte R, Linera-Alperi MA de, Parilli D, Rodriguez J, Borro D, Dueck W, Smyth D, Salt A y Manrique M. Inner ear drug delivery through a cochlear implant: Pharmacokinetics in a Macaque experimental model. *Hear Res.* 2021; 404:108228. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heares.2021.108228>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378595521000629>
103. Salt AN, Gill RM y Hartsock JJ. Perilymph Kinetics of FITC-Dextran Reveals Homeostasis Dominated by the Cochlear Aqueduct and Cerebrospinal Fluid. *J Assoc Res Otolaryngol.* 2015; 16(3):357-71. DOI: 10.1007/s10162-015-0512-1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25801074>
104. Salt AN y Thalmann R. New concepts regarding the volume flow of endolymph and perilymph. *Advances in oto-rhino-laryngology.* 1987; 37:11-7
105. Ohyama K, Salt AN y Thalmann R. Volume flow rate of perilymph in the guinea-pig cochlea. *Hear Res.* 1988; 35(2):119-29. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(88\)90111-6](https://doi.org/10.1016/0378-5955(88)90111-6). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0378595588901116>
106. Borkholder DA, Zhu X, Hyatt BT, Archilla AS, Livingston William J 3 y Frisina RD. Murine intracochlear drug delivery: reducing concentration gradients within the cochlea. *Hear Res.* 2010; 268(1-2):2-11. DOI: 10.1016/j.heares.2010.04.014. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20451593>
107. Angelborg C. Distribution of macromolecular tracer particles (Thorotrast-r) in the cochlea. An electron microscopic study in guinea pig. Part I. The organ of Corti, the basilar membrane and the tympanic covering layer. *Acta Otolaryngol.* 1974; 77(319):19-41
108. Goycoolea MV. Clinical Aspects of Round Window Membrane Permeability Under Normal and Pathological Conditions. *Acta Otolaryngol.* 2001; 121(4):437-47. DOI: 10.1080/000164801300366552. Available from: <https://doi.org/10.1080/000164801300366552>
109. Zehnder AF, Kristiansen AG, Adams JC, Kujawa SG, Merchant SN y McKenna MJ. Osteoprotegerin Knockout Mice Demonstrate Abnormal Remodeling of the Otic Capsule and Progressive Hearing Loss. *Laryngoscope.* 2006; 116(2):201-6. DOI: <https://doi.org/10.1097/01.mlg.0000191466.09210.9a>. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1097/01.mlg.0000191466.09210.9a>

110. Hobbie RK y Chonacky N. Intermediate Physics for Medicine and Biology. Am J Phys. 1979; 47(12):1105-6. DOI: 10.1119/1.11585. Available from: <https://doi.org/10.1119/1.11585>
111. Salt AN y Plontke SK. Steroid Nomenclature in Inner Ear Therapy. Otol Neurotol. 2020; 41(6). Available from: [https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2020/07000/Steroid\\_Nomenclature\\_in\\_Inner\\_Ear\\_Therapy.2.aspx](https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2020/07000/Steroid_Nomenclature_in_Inner_Ear_Therapy.2.aspx)
112. El Kechai N, Mamelie E, Nguyen Y, Huang N, Nicolas V, Chaminade P, Yen-Nicolaÿ S, Gueutin C, Granger B, Ferrary E, Agnely F y Bochot A. Hyaluronic acid liposomal gel sustains delivery of a corticoid to the inner ear. J Control Release. 2016; 226:248-57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.02.013>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365916300657>
113. Dai J, Long W, Liang Z, Wen L, Yang F y Chen G. A novel vehicle for local protein delivery to the inner ear: injectable and biodegradable thermosensitive hydrogel loaded with PLGA nanoparticles. Drug Dev Ind Pharm. 2018; 44(1):89-98. DOI: 10.1080/03639045.2017.1373803. Available from: <https://doi.org/10.1080/03639045.2017.1373803>
114. Dormer N, Nelson-Brantley J, Staecker H y Berkland C. Evaluation of a transtympanic delivery system in Mus musculus for extended release steroids. Eur J Pharm Sci. 2018; 126. DOI: 10.1016/j.ejps.2018.01.020
115. Yu D, Sun C, Zheng Z, Wang X, Chen D, Wu H, Wang X y Shi F. Inner ear delivery of dexamethasone using injectable silk-polyethylene glycol (PEG) hydrogel. Int. J. Pharm. 2016; 503. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2016.02.048
116. Berglin CE, Pierre PV, Ekborn A, Bramer T, Edsman K, Hultcrantz M y Laurell G. Local treatment of the inner ear: A study of three different polymers aimed for middle ear administration. Acta Otolaryngol. 2015; 135(10):985-94. DOI: 10.3109/00016489.2015.1058534. Available from: <https://doi.org/10.3109/00016489.2015.1058534>
117. Ramaswamy B, Roy S, Apolo AB, Shapiro B y Depireux DA. Magnetic Nanoparticle Mediated Steroid Delivery Mitigates Cisplatin Induced Hearing Loss. Front Cell Neurosci. 2017; 11:268-8. DOI: 10.3389/fncel.2017.00268. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28955202>
118. Lavigne P, Lavigne F y Saliba I. Sustained Inner Ear Steroid Delivery via Bioabsorbable Stent: A Tolerability and Feasibility Study on Guinea Pigs. Otolaryngol Head Neck Surg. 2016; 155(4):649-53. DOI: 10.1177/0194599816651262. Available from: <https://doi.org/10.1177/0194599816651262>
119. Salt AN, King EB, Hartsock JJ, Gill RM y O'Leary SJ. Marker entry into vestibular perilymph via the stapes following applications to the round window niche of guinea pigs. Hear Res. 2012; 283(1-2):14-23. DOI: 10.1016/j.heares.2011.11.012. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22178981>

120. Mynatt R, Hale SA, Gill RM, Plontke SK y Salt AN. Demonstration of a longitudinal concentration gradient along scala tympani by sequential sampling of perilymph from the cochlear apex. *J Assoc Res Otolaryngol.* 2006; 7(2):182-93. DOI: 10.1007/s10162-006-0034-y. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16718612>
121. Salt AN, Hale SA y Plonkte SKR. Perilymph sampling from the cochlear apex: a reliable method to obtain higher purity perilymph samples from scala tympani. *J Neurosci Methods.* 2006; 153(1):121-9. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2005.10.008. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16310856>
122. Rauch SD. Ménière's disease: damaged hearing but reduced vertigo. *Lancet.* 2016; 388(10061):2716-7
123. Schoo DP, Tan GX, Ehrenburg MR, Pross SE, Ward BK y Carey JP. Intratympanic (IT) Therapies for Ménière's Disease: Some Consensus Among the Confusion. *Curr Otorhinolaryngol Rep.* 2017; 5(2):132-41. DOI: 10.1007/s40136-017-0153-5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29568697>
124. Oghan F, Erdim I, Çeliker M, Topuz MF, Uluat A, Erdogan O y Aksoy S. Intratympanic Steroid Treatment in Ménière Disease. *Up to Date on Meniere's Disease.* Ed. por Jr FB. Rijeka: IntechOpen, 2017. Cap. 14. DOI: 10.5772/intechopen.69665. Available from: <https://doi.org/10.5772/intechopen.69665>
125. Lange G. Gentamicin and other ototoxic antibiotics for the transtympanic treatment of Ménière's disease. *Arch Otolaryngol.* 1989; 246(5):269-70. DOI: 10.1007/BF00463571. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF00463571>
126. Greco A, Gallo A, Fusconi M, Marinelli C, Macri G y de Vincentiis M. Meniere's disease might be an autoimmune condition? *Autoimmun Rev.* 2012; 11(10):731-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2012.01.004>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568997212000092>
127. Patel M. Intratympanic corticosteroids in Ménière's disease: A mini-review. *J Otol.* 2017; 12(3):117-24. DOI: 10.1016/j.joto.2017.06.002. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29937846>
128. Herrera M, Garcia-Berrocal J, Arumi A, Lavilla M y Plaza G. Actualización del consenso sobre el diagnóstico y tratamiento de la sordera súbita idiopática. *Acta Otorrinolaringológica Española.* 2018; 70. DOI: 10.1016/j.otorri.2018.04.010
129. Chau J, Lin JRJ, Atashband S, Irvine R y Westerberg B. Systematic Review of the Evidence for the Etiology of Adult Sudden Sensorineural Hearing Loss. *Laryngoscope.* 2010; 120:1011-21. DOI: 10.1002/lary.20873
130. Chu CH, Chiou SR, Wang MC, Shiao AS, Tu TY, Lin LY, Huang CY y Liao WH. The Efficacy of Concurrent or Sequential Intravenous and Intratympanic Steroid for Idiopathic Sudden Sensorineural Hearing Loss. *Audiol Neurotol.* 2018; 23(5):277-84. DOI: 10.1159/000494966. Available from: <https://www.karger.com/DOI/10.1159/000494966>

131. Singh A y Kumar Irugu DV. Sudden sensorineural hearing loss - A contemporary review of management issues. *J Otol.* 2020; 15(2):67-73. DOI: 10.1016/j.joto.2019.07.001. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32440269>
132. O'Connell BP, Hunter JB y Haynes DS. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery 2016; 24(5). Available from: [https://journals.lww.com/co-otolaryngology/Fulltext/2016/10000/Current\\_concepts\\_in\\_the\\_management\\_of\\_idiopathic.9.aspx](https://journals.lww.com/co-otolaryngology/Fulltext/2016/10000/Current_concepts_in_the_management_of_idiopathic.9.aspx)
133. Rauch S, Halpin C, Antonelli P, Babu S, Carey J, Gantz B, Goebel J, Hammerschlag P, Harris J, Isaacson B, Lee D, Linstrom C, Parnes L, Shi H, Slattery W, Telian S, Vrabec J y Reda D. Oral vs intratympanic corticosteroid therapy for idiopathic sudden sensorineural hearing loss: A randomized trial. *JAMA.* 2011; 305(20):2071-9. DOI: 10.1001/jama.2011.679
134. Hong SM, Park CH y Lee JH. Hearing outcomes of daily intratympanic dexamethasone alone as a primary treatment modality for ISSHL. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2009; 141(5):579-83. DOI: 10.1016/j.otohns.2009.08.009. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.otohns.2009.08.009>
135. Garavello W, Galluzzi F, Gaini RM y Zanetti D. Intratympanic Steroid Treatment for Sudden Deafness: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Otol Neurotol.* 2012; 33(5). Available from: [https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2012/07000/Intratympanic\\_Steroid\\_Treatment\\_for\\_Sudden.7.aspx](https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2012/07000/Intratympanic_Steroid_Treatment_for_Sudden.7.aspx)
136. Liebau A, Pogorzelski O, Salt AN y Plontke SK. Hearing Changes After Intratympanic Steroids for Secondary (Salvage) Therapy of Sudden Hearing Loss: A Meta-Analysis Using Mathematical Simulations of Drug Delivery Protocols. *Otol Neurotol.* 2018; 39(7):803-15. DOI: 10.1097/MAO.0000000000001872. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29995001>
137. Parnes LS, Sun AH y Freeman DJ. Corticosteroid Pharmacokinetics in the Inner Ear Fluids: An Animal Study Followed by Clinical Application. *Laryngoscope.* 1999; 109(S91):1-17. DOI: <https://doi.org/10.1097/00005537-199907001-00001>. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1097/00005537-199907001-00001>
138. Si Y, Jiang HL, Chen YB, Chu YG, Chen SJ, Chen XM, He WH, Zheng YQ y Zhang ZG. Round Window Niche Drilling with Intratympanic Steroid Is a Salvage Therapy of Sudden Hearing Loss. *Audiol Neurotol.* 2018; 23(6):309-15. DOI: 10.1159/000493086. Available from: <https://www.karger.com/DOI/10.1159/000493086>
139. McCabe BF. Autoimmune Sensorineural Hearing Loss. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1979; 88(5):585-9. DOI: 10.1177/000348947908800501. Available from: <https://doi.org/10.1177/000348947908800501>

140. Buniel MC, Geelan-Hansen K, Weber PC y Tuohy VK. Immunosuppressive therapy for autoimmune inner ear disease. *Immunotherapy*. 2009; 1(3):425-34. DOI: 10.2217/imt.09.12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19885385>
141. Lopez-Escamez JA y Amanat S. Heritability and Genetics Contribution to Tinnitus. *Otolaryngol Clin North Am*. 2020; 53(4):501-13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.otc.2020.03.003>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0030666520300396>
142. Salvi R, Lobarinas E y Sun W. Pharmacological Treatments for Tinnitus: New and Old. *Drugs Future*. 2009; 34(5):381-400. DOI: 10.1358/dof.2009.034.05.1362442
143. Makar S, Mukundan G y Gore G. Treatment of Tinnitus: A Scoping Review. *Int Tinnitus J*. 2017; 21. DOI: 10.5935/0946-5448.20170027
144. Kleinjung T y Langguth B. Pharmacotherapy of Tinnitus. *The Behavioral Neuroscience of Tinnitus*. Ed. por Searchfield GD y Zhang J. Cham: Springer International Publishing, 2021 :193-212. DOI: 10.1007/7854\_2020\_169. Available from: [https://doi.org/10.1007/7854\\_2020\\_169](https://doi.org/10.1007/7854_2020_169)
145. Meyer T. Intratympanic treatment for tinnitus: a review. *Noise Health*. 2013; 15(63):83-90
146. Staecker H, Morelock M, Kramer T, Chrbolka P, Ahn JH y Meyer T. Safety of Repeated-Dose Intratympanic Injections with AM-101 in Acute Inner Ear Tinnitus. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2017; 157(3):478-87. DOI: 10.1177/01945998177111378. Available from: <https://doi.org/10.1177/01945998177111378>
147. Maxwell KS, Robinson JM, Hoffmann I, Hou HJ, Searchfield G, Baguley DM, McMurry G, Piu F y Anderson JJ. Intratympanic Administration of OTO-313 Reduces Tinnitus in Patients With Moderate to Severe, Persistent Tinnitus: A Phase 1/2 Study. *Otol Neurotol*. 2021; 42(10). Available from: [https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2021/12000/Intratympanic\\_Administration\\_of\\_OTO\\_313\\_Reduces.51.aspx](https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2021/12000/Intratympanic_Administration_of_OTO_313_Reduces.51.aspx)
148. Cawthon Lang KA. Primate Factsheets: Long-tailed macaque (*Macaca fascicularis*) Taxonomy, Morphology, Ecology. 2006. Available from: [http://pin.primate.wisc.edu/factsheets/entry/long-tailed\\_macaque](http://pin.primate.wisc.edu/factsheets/entry/long-tailed_macaque)
149. Cawthon Lang KA. Primate Factsheets: Rhesus macaque (*Macaca mulatta*) Taxonomy, Morphology, Ecology. 2005. Available from: [http://pin.primate.wisc.edu/factsheets/entry/rhesus\\_macaque](http://pin.primate.wisc.edu/factsheets/entry/rhesus_macaque)
150. Shepherd R, Verhoeven K, Xu J, Risi F, Fallon J y Wise A. An improved cochlear implant electrode array for use in experimental studies. *Hear Res*. 2011; 277(1):20-7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heares.2011.03.017>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378595511001079>
151. Moody DB, Stebbins WC, Hawkins JE y Johnsson LG. Hearing loss and cochlear pathology in the monkey (*Macaca*) following exposure to high levels of noise. *Arch Otolaryngol*. 1978; 220:47-72

152. Panadero A, Saiz-Sapena N, Cervera-Paz F y Manrique M. [General intubation anesthesia in primates for experimental otoneurologic surgery]. *Rev Med Univ Navarra*. 2000; 44(4):12-8
153. De Abajo J, Manrique R, Sanhueza I, Álvarez-Gómez L, Zulueta-Santos C, Calavia D, Ramirez F y Manrique M. Effects of Implantation and Reimplantation of Cochlear Implant Electrodes in an In Vivo Animal Experimental Model (*Macaca fascicularis*). *Ear Hear*. 2016; 38:1. DOI: 10.1097/AUD.0000000000000350
154. Manrique-Huarte R, Calavia D, Gallego MA y Manrique M. Cochlear Implant Electrode Array From Partial to Full Insertion in Non-Human Primate Model. *J Int Adv Otol*. 2018; 14:5-9. DOI: 10.5152/iao.2018.5233. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29764773>
155. Marx M, Girard P, Escude B, Barone P, Fraysse B y Deguine O. Cochlear Implantation Feasibility in Rhesus Macaque Monkey: Anatomic and Radiologic Results. *Otol Neurotol*. 2013; 34. DOI: 10.1097/MAO.0b013e31829411b4
156. Schuknecht HF. Temporal bone removal at autopsy. Preparation and uses. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1968; 87(2):129-37
157. Manrique M, Picciafuoco S, Manrique R, Sanhueza I, Dominguez P, Pérez N, Zubieta J y Abajo J de. Atraumaticity Study of 2 Cochlear Implant Electrode Arrays. *Otol Neurotol*. 2014; 35(4). Available from: [https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2014/04000/Atraumaticity\\_Study\\_of\\_2\\_Cochlear\\_Implant.8.aspx](https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2014/04000/Atraumaticity_Study_of_2_Cochlear_Implant.8.aspx)
158. Kennedy DW. Multichannel intracochlear electrodes: Mechanism of insertion trauma. *Laryngoscope*. 1987; 97:42-9. DOI: <https://doi.org/10.1288/00005537-198701000-00011>. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1288/00005537-198701000-00011>
159. Marx M, Risi F, Escude B, Durmo I, James C, Lauwers F, Deguine O y Fraysse B. Reliability of cone beam computed tomography in scalar localization of the electrode array: A radio histological study. *European Arch Otolaryngol*. 2013; 271. DOI: 10.1007/s00405-013-2448-6
160. Ruding PR, Veldman JE, Deelen GW van, Smoorenburg GF y Huizing EH. Histopathological study of experimentally induced endolymphatic hydrops with emphasis on Reissner's membrane. *Arch Otolaryngol*. 2004; 244:174-9
161. Yoon TH, Schachern PA, Paparella MM y Le CT. Cellular Changes in Reissner's Membrane in Endolymphatic Hydrops. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1991; 100(4):288-93. DOI: 10.1177/000348949110000405. Available from: <https://doi.org/10.1177/000348949110000405>
162. Ferster A, Cureoglu S, Keskin N, Paparella M e Isildak H. Secondary Endolymphatic Hydrops. *Am. J. Otolaryngol*. 2017; 38(5):774-9. DOI: 10.1097/MAO.0000000000001377

163. Cureoglu S, Costa Monsanto R da y Paparella MM. Histopathology of Meniere's Disease. *Oper Tech Otolayngol Head Neck Surg.* 2016; 27(4):194-204. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.otot.2016.10.003>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043181016300501>
164. Lopez-Escamez J, Carey J, Chung W, Goebel J, Magnusson M, Mandalà M, Newman-Toker D, Strupp M, Suzuki M, Trabalzini F y Bisdorff A. Diagnostic criteria for Menière's disease. *J Vestib Res.* 2015; 25(1):1-7. DOI: 10.3233/VES-150549
165. Festing MFW y Altman DG. Guidelines for the Design and Statistical Analysis of Experiments Using Laboratory Animals. *ILAR J.* 2002; 43(4):244-58. DOI: 10.1093/ilar.43.4.244. Available from: <https://doi.org/10.1093/ilar.43.4.244>
166. Hubrecht RC y Carter E. The 3Rs and Humane Experimental Technique: Implementing Change. *Animals (Basel).* 2019; 9(10):754. DOI: 10.3390/ani9100754. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31575048>
167. IBM Corp. IBM SPSS Statistics for Windows. Ver. 22.0. Armonk, NY: IBM Corp, 2013. Available from: <https://hadoop.apache.org>
168. Simoni E, Gentilin E, Candito M, Borile G, Romanato F, Chicca M, Nordio S, Aspidistria M, Martini A, Cazzador D y Astolfi L. Immune Response After Cochlear Implantation. *Front Neurol.* 2020; 11. DOI: 10.3389/fneur.2020.00341. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fneur.2020.00341>
169. Lukashkin A, Sadreev I, Zakharova N, Russell I y Yarin Y. Local Drug Delivery to the Entire Cochlea without Breaching Its Boundaries. *iScience.* 2020; 23:100945. DOI: 10.1016/j.isci.2020.100945
170. Moudgalya SS, Wilson K, Zhu X, Budzevich MM, Walton JP, Cahill ND, Frisina RD y Borkholder DA. Cochlear pharmacokinetics - Micro-computed tomography and learning-prediction modeling for transport parameter determination. *Hear Res.* 2019; 380:46-59
171. Sibal LR y Samson KJ. Nonhuman primates: a critical role in current disease research. *ILAR J.* 2001; 42(2):74-84
172. Wysocki J. Dimensions of the vestibular and tympanic scalae of the cochlea in selected mammals. *Hear Res.* 2001; 161(1-2):1-9. DOI: 10.1016/s0378-5955(01)00314-8. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0378-5955\(01\)00314-8](https://doi.org/10.1016/s0378-5955(01)00314-8)
173. Manrique M, Cervera-Paz FJ, Insausti AM y Nevison B. Effects of Cochlear Nuclei Electrical Stimulation with Surface Brain Stem Implants in Nonhuman Primates. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2008; 117(3):212-20. DOI: 10.1177/000348940811700309. Available from: <https://doi.org/10.1177/000348940811700309>
174. Burton JA, Valero MD, Hackett TA y Ramachandran R. The use of nonhuman primates in studies of noise injury and treatment. *J Acoust Soc Am.* 2019; 146(5):3770-0. DOI: 10.1121/1.5132709

175. Kirk EC y Gosselin-Ildari AD. Cochlear Labyrinth Volume and Hearing Abilities in Primates. *Anat Rec (Hoboken)*. 2009; 292(6):765-76. DOI: <https://doi.org/10.1002/ar.20923>. Available from: <https://anatomypubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ar.20923>
176. Dylla M, Hrnicek A, Rice C y Ramachandran R. Detection of tones and their modification by noise in nonhuman primates. *J Assoc Res Otolaryngol*. 2013; 14:547-60. DOI: 10.1007/s10162-013-0384-1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23515749>
177. Heffner HE y Heffner RS. Hearing loss in Japanese macaques following bilateral auditory cortex lesions. *J Neurophysiol*. 1986; 55(2):256-71. DOI: 10.1152/jn.1986.55.2.256. Available from: <https://doi.org/10.1152/jn.1986.55.2.256>
178. Greenwood DD. A cochlear frequency-position function for several species—29 years later. *J Acoust Soc Am*. 1990; 87(6):2592-605. DOI: 10.1121/1.399052. Available from: <https://doi.org/10.1121/1.399052>
179. Dhanasingh A y Jolly C. An overview of cochlear implant electrode array designs. *Hear Res*. 2017; 356:93-103. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heares.2017.10.005>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378595517302940>
180. Rask-Andersen H, Erixon E, Kinnefors A, Löwenheim H, Schrott-Fischer A y Liu W. Anatomy of the human cochlea – implications for cochlear implantation. *Cochlear Implants Int*. 2011; 12 Suppl. 1:S8-S13. DOI: 10.1179/146701011X13001035752174. Available from: <https://doi.org/10.1179/146701011X13001035752174>
181. Rebscher S. Considerations for design of future cochlear implant electrode arrays: Electrode array stiffness, size. *J Rehabil Res Dev*. 2008; 45:731-48. DOI: 10.1682/JRRD.2007.08.0119
182. Sadreev II, Burwood GWS, Flaherty SM, Kim J, Russell IJ, Abdullin TI y Lukashkin AN. Drug Diffusion Along an Intact Mammalian Cochlea. *Front Cell Neurosci*. 2019; 13. DOI: 10.3389/fncel.2019.00161. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2019.00161>
183. Szeto B, Chiang H, Valentini C, Yu M, Kysar JW y Lalwani AK. Inner ear delivery: Challenges and opportunities. 2020; 5(1):122-31. DOI: <https://doi.org/10.1002/lho2.336>. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/lho2.336>
184. Gnansia D, Demarcy T, Vandersteen C, Raffaelli C, Guevara N, Delingette H y Ayache N. Optimal electrode diameter in relation to volume of the cochlea. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*. 2016; 133 Suppl. 1:S66-S67. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anorl.2016.04.013>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879729616300722>

185. Mittmann P, Mittmann M, Ernst A y Todt I. Intracochlear Pressure Changes due to 2 Electrode Types: An Artificial Model Experiment. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2016; 156(4):712-6. DOI: 10.1177/0194599816684104. Available from: <https://doi.org/10.1177/0194599816684104>
186. Nazarian R, McElveen J y Eshraghi A. History of Otosclerosis and Stapes Surgery. *Otolaryngol Clin North Am.* 2018; 51(2):275-90. DOI: 10.1016/j.otc.2017.11.003
187. Shambaugh Jr GE y Wiet RJ. The fenestration operation in 1979. *Am J Otolaryngol.* 1979; 1(1)
188. Yoshimura H, Shibata SB, Ranum PT y Smith RJH. Enhanced viral-mediated cochlear gene delivery in adult mice by combining canal fenestration with round window membrane inoculation. *Sci Rep.* 2018; 8(1):2980. DOI: 10.1038/s41598-018-21233-z. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21233-z>
189. Haghpanahi M, Gladstone MB, Zhu X, Frisina RD y Borkholder DA. Noninvasive Technique for Monitoring Drug Transport Through the Murine Cochlea using Micro-Computed Tomography. *Ann. Biomed. Eng.* 2013; 41(10):2130-42. DOI: 10.1007/s10439-013-0816-4. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10439-013-0816-4>
190. Salt AN y Stopp PE. The Effect of Cerebrospinal Fluid Pressure on Perilymphatic Flow in the Opened Cochlea. *Acta Otolaryngol.* 1979; 88(3-4):198-202. DOI: 10.3109/00016487909137160. Available from: <https://doi.org/10.3109/00016487909137160>
191. Küçük B, Abe K, Ushiki T, Inuyama Y, Fukuda S e Ishikawa K. Microstructures of the Bony Modiolus in the Human Cochlea: A Scanning Electron Microscopic Study. *J Electron Microsc (Tokyo).* 1991; 40(3):193-7
192. Schuknecht HF y Seifi AE. LII Experimental Observations on the Fluid Physiology of the Inner Ear. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1963; 72(3):687-712. DOI: 10.1177/000348946307200308. Available from: <https://doi.org/10.1177/000348946307200308>
193. Jahnke K y Gorgas K. The permeability of blood vessels in the guinea pig cochlea. *Anat. Embryol.* 1974; 146:21-31
194. Holmgren G y Meurman Y. Referate: Zur Anatomie des Aquaeductus cochleae nebst einigen Bemerkungen iiber dessen Physiologie. *Acta Otolaryngol.* 1931; 16(4):571-2. DOI: 10.3109/00016483109125772. Available from: <https://doi.org/10.3109/00016483109125772>
195. Nomura Y, Kimura Y y Kobayashi H. Hydrops of the organ of Corti. *Acta Otolaryngol.* 2016; 136:1-3. DOI: 10.1080/00016489.2016.1185541
196. Cabezudo LM. The ultrastructure of the basilar membrane in the cat. *Acta Otolaryngol.* 1978; 86:160-75

197. Arruñada F. Anatomía del aparato vestibular. Revista FASO Año 22. Suplemento vestibular 1<sup>a</sup> parte. 2015 :47-56
198. Misra S, Cheng K, Curthoys I, Wong C y Mukherjee P. 3D-reconstructions of Bast's Valve and Membranous Labyrinth: Insights for Vestibular Implantation and Meniere's Disease. *Otol Neurotol.* 2021; 42(10). Available from: [https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2021/12000/3D\\_reconstructions\\_of\\_Bast\\_s\\_Valve\\_and\\_Membranous.59.aspx](https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2021/12000/3D_reconstructions_of_Bast_s_Valve_and_Membranous.59.aspx)
199. Eckhard A, Müller M, Salt AN, Smolders J, Rask-Andersen H y Löwenheim H. Water permeability of the mammalian cochlea: functional features of an aquaporin-facilitated water shunt at the perilymph–endolymph barrier. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology.* 2014; 466(10):1963-85. DOI: 10.1007/s00424-013-1421-y. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00424-013-1421-y>
200. Salt AN y Rask-Andersen H. Responses of the endolymphatic sac to perilymphatic injections and withdrawals: Evidence for the presence of a one-way valve. *Hear Res.* 2004; 191(1-2):90-100. DOI: 10.1016/j.heares.2003.12.018
201. Sterkers O, Ferrary E y Amiel C. Inter- and intracompartamental osmotic gradients within the rat cochlea. *Am J Physiol.* 1984; 247(4 Pt 2):F602-6. DOI: 10.1152/ajprenal.1984.247.4.F602. Available from: <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1984.247.4.F602>
202. Hofman R, Segenhout J, Buytaert J y Wit H. Morphology and function of Bast's valve: Additional insight in its functioning using 3D-reconstruction. *European Arch Otolaryngol.* 2008; 265:153-7. DOI: 10.1007/s00405-007-0424-8
203. Hedjoudje A, Hayden R, Dai C, Ahn J, Rahman M, Risi F, Zhang J, Mori S y Della Santina C. Virtual Rhesus Labyrinth Model Predicts Responses to Electrical Stimulation Delivered by a Vestibular Prosthesis. *J Assoc Res Otolaryngol.* 2019; 20(4):313-39. DOI: 10.1007/s10162-019-00725-3
204. Smeds H, Eastwood H, Hampson A, Sale P, Campbell L, Arhatari B, Mansour S y O'Leary S. Endolymphatic hydrops is prevalent in the first weeks following cochlear implantation. *Hear Res.* 2015; 327:48-57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heares.2015.04.017>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378595515001094>
205. Dominguez P, Manrique-Huarte R, Suárez-Vega V, López-Laguna N, Guajardo C y Pérez-Fernández N. Endolymphatic Hydrops in Fluctuating Hearing Loss and Recurrent Vertigo. *Front Surg.* 2021; 8. DOI: 10.3389/fsurg.2021.673847. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fsurg.2021.673847>
206. Pyykkö I, Nakashima T, Yoshida T, Jing Z y Naganawa S. Meniere's disease: a reappraisal supported by a variable latency of symptoms and the MRI visualisation of endolymphatic hydrops. *BMJ Open.* 2013; 3(2). DOI: 10.1136/bmjopen-2012-001555

- 
207. Hallpike CS y Cairns H. Observations on the Pathology of Ménière's Syndrome: (Section of Otolology). Proc R Soc Med. 1938; 31(11):1317-36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19991672>
208. Paparella MM, Morizono T y Matsunaga T. Kyoshiro Yamakawa, MD, and Temporal Bone Histopathology of Meniere's Patient Reported in 1938. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1992; 118(6):660-2
209. Gluth MB. On the Relationship Between Ménière's Disease and Endolymphatic Hydrops. Otol Neurotol. 2020; 41(2). Available from: [https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2020/02000/On\\_the\\_Relationship\\_Between\\_Meni\\_re\\_s\\_Disease\\_and.28.aspx](https://journals.lww.com/otology-neurotology/Fulltext/2020/02000/On_the_Relationship_Between_Meni_re_s_Disease_and.28.aspx)
210. Zhang W, Hui L, Zhang B, Ren L, Zhu J, Wang F y Li S. The Correlation Between Endolymphatic Hydrops and Clinical Features of Meniere Disease. Laryngoscope. 2021; 131(1):E144-E150. DOI: <https://doi.org/10.1002/lary.28576>. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/lary.28576>
211. Bernaerts A, Vanspauwen R, Blaivie C, Dinther J van, Zarowski A, Wuyts FL, Vanden Bossche S, Offeciers E, Casselman JW y De Foer B. The value of four stage vestibular hydrops grading and asymmetric perilymphatic enhancement in the diagnosis of Ménière's disease on MRI. Neuroradiology. 2019; 61(4):421-9. DOI: 10.1007/s00234-019-02155-7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30719545>
212. Gürkov R, Flatz W, Louza J, Strupp M, Ertl-Wagner B y Krause E. Herniation of the membranous labyrinth into the horizontal semicircular canal is correlated with impaired caloric response in Ménière's disease. Otol Neurotol. 2012; 33(8):1375-9. DOI: 10.1097/mao.0b013e318268d087. Available from: <https://doi.org/10.1097/MAO.0b013e318268d087>
213. Sugimoto S, Yoshida T, Teranishi M, Kobayashi M, Shimono M, Naganawa S y Sone M. Significance of Endolymphatic Hydrops Herniation Into the Semicircular Canals Detected on MRI. Otol Neurotol. 2018; 39(10):1229-34. DOI: 10.1097/mao.0000000000002022. Available from: <https://doi.org/10.1097/MAO.0000000000002022>
214. Steekelenburg JM van, Weijnen A van, Pont LMH de, Vijlbrief OD, Bommelé CC, Koopman JP, Verbist BM, Blom HM y Hammer S. Value of Endolymphatic Hydrops and Perilymph Signal Intensity in Suspected Ménière Disease. AJNR Am J Neuroradiol. 2020; 41(3):529-34. DOI: 10.3174/ajnr.A6410. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32029469>
215. Salt AN y Plontke SK. Endolymphatic hydrops: pathophysiology and experimental models. Otolaryngol Clin North Am. 2010; 43(5):971-83. DOI: 10.1016/j.otc.2010.05.007. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20713237>

216. Butman JA, Nduom E, Kim HJ y Lonser RR. Imaging detection of endolymphatic sac tumor-associated hydrops. *J Neurosurg.* 2013; 119(2):406-11. DOI: 10.3171/2013.2.JNS12608. Available from: <https://thejns.org/view/journals/j-neurosurg/119/2/article-p406.xml>
217. Mira E. Improving the quality of life in patients with vestibular disorders: the role of medical treatments and physical rehabilitation. *Int J Clin Pract.* 2008; 62(1):109-14. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2006.01091.x>. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1742-1241.2006.01091.x>
218. Mueller M, Schuster E, Strobl R y Grill E. Identification of aspects of functioning, disability and health relevant to patients experiencing vertigo: A qualitative study using the International Classification of Functioning, Disability and Health. *Health Qual Life Outcomes.* 2012; 10:75. DOI: 10.1186/1477-7525-10-75
219. David R, Stoessel A, Berthoz A, Spoor F y Bennequin D. Assessing morphology and function of the semicircular duct system: Introducing new in-situ visualization and software toolbox. *Sci Rep.* 2016; 6:32772. DOI: 10.1038/srep32772
220. Strupp M, Kim JS, Murofushi T, Straumann D, Jen JC, Rosengren SM, Della Santina CC y Kingma H. Bilateral vestibulopathy: Diagnostic criteria Consensus document of the Classification Committee of the Bárány Society. *J Vestib Res.* 2017; 27(4):177-89. DOI: 10.3233/VES-170619

8

**Anexos**



## 8.1. Anexo 1: Informe del comité de ética

GOBIERNO DE NAVARRA  
R.S.(Unidad: 10002014)

Nafarroako Osasun  
Publikoaren eta Lan  
Osasunaren Institutua



DEPARTAMENTO DE SALUD  
ISPLN: SECCION DE SEGURIDAD ALIMENTARIA  
Instituto de Salud  
Pública y Laboral  
de Navarra

20/09/2018 - 10:31

**Doc.:2018/633462**

Leire, 15 • Leyre, 15  
31003 PAMPLONA/IRUÑA  
Tel. 848 42 34 40  
Faxe-Fax 848 42 34 74

Universidad de Navarra-CIMA  
Avda. Pío XII, 55  
31008 PAMPLONA/IRUÑA

LA DIRECTORA GERENTE DEL INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA Y LABORAL DE NAVARRA ha dictado la siguiente Resolución:

"RESOLUCION 281/2018, de 17 de septiembre, de la Directora Gerente del Instituto de Salud Pública y Laboral de Navarra, por la que se autoriza al centro usuario Universidad de Navarra-CIMA, el proyecto "Farmacocinética en cócleas de primates no humanos implantados".

La Resolución 647/2006, de 7 de abril, del Director General de Salud, autorizó el funcionamiento como centro usuario para la utilización de animales de experimentación y otros fines científicos del establecimiento, titularidad Universidad de Navarra, NIF R3168001J, con domicilio en Pío XII, 55, 31008 Pamplona y código de identificación ES312010000132.

El día 27 de agosto de 2018, Don Manuel Manrique Rodríguez de la Universidad de Navarra, presentó la documentación Técnica del proyecto de experimentación animal "Farmacocinética en cócleas de primates no humanos implantados", procedimiento dirigido por Don Manuel Manrique Rodríguez responsable de su ejecución. La documentación incluye los elementos del Anexo X del Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia. En la documentación se incluye la descripción y el diseño experimental del proyecto de investigación aplicada, las actividades a realizar, un análisis del balance de daño y beneficio, la justificación de que la finalidad del procedimiento no puede conseguirse utilizando animales diferentes de los propuestos, la aplicación de los principios de reemplazo, reducción y refinamiento incluyendo métodos de eutanasia, anestesia y analgesia, las referencias bibliográficas de referencia en la aplicación de dichos principios y que avalan el fundamento científico del proyecto y el "Resumen no técnico del proyecto".

El proyecto ha sido revisado, corregido y finalmente evaluado y aprobado, por el Comité de Ética para la Experimentación Animal del centro Universidad de Navarra, en su reunión del 10 de agosto de 2018. Se acompaña certificado de la Secretaria del Comité de los acuerdos adoptados en relación con el proyecto. Este Comité dispone de habilitación para la evaluación de proyectos a partir del 15 de octubre de 2013, de acuerdo con lo dispuesto en Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero.

La Sección de Seguridad Alimentaria del Instituto de Salud Pública y Laboral de Navarra informa favorablemente la realización del procedimiento solicitado por cumplirse los requisitos mínimos establecidos en el Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero.

En el ejercicio de las competencias que el Decreto Foral 196/1996, 29 de abril, por el que se asignan, a los Departamentos de Medio Ambiente, Ordenación del Territorio y Vivienda y al Departamento de Salud, las derivadas del desarrollo de la Ley Foral 7/1994, de 31 de mayo, de protección de los animales, atribuye al Departamento de Salud en cuanto al control de la utilización de animales con fines de investigación.

De conformidad con lo expuesto, en ejercicio de las atribuciones conferidas en el artículo 22.1., de la Ley Foral 15/2004, de 3 de diciembre, de la Administración de la Comunidad Foral de Navarra y de las competencias delegadas por la Resolución 1496/2012, de 29 de agosto, de la Directora General de Salud,

**RESUELVO:**

1. Autorizar por un periodo máximo de cinco años el proyecto "Farmacocinética en cócleas de primates no humanos implantados", a los efectos de lo dispuesto en el artículo 33 Real Decreto 53/2013 de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia, con las siguientes condiciones:

- Usuario que llevará a cabo el proyecto: Don Manuel Manrique Rodríguez
- Responsable del Proyecto: Don Manuel Manrique Rodríguez

El órgano habilitado deberá hacer una evaluación retrospectiva del proyecto en base a la preceptiva documentación presentada por el usuario y se evaluará los resultados del proyecto que se relacionan en el apartado 3 del artículo 35 del Real Decreto 53/2013.

El procedimiento se realizará en las instalaciones del centro registrado con número ES312010000132, de titularidad Universidad de Navarra y autorizado mediante Resolución 647/2006, de 7 de abril, del Director General de Salud.

Cualquier cambio del proyecto que pueda tener un impacto negativo en el bienestar de los animales implicará una nueva evaluación y, cuando proceda, autorización del proyecto.

Las condiciones generales del desarrollo del proyecto serán las que se determinan en el Real Decreto 53/2013.

2. Se asigna al proyecto el código de identificación 083-18  
3. Trasladar esta Resolución a la Sección de Seguridad Alimentaria del Instituto de Salud Pública y Laboral de Navarra, a los efectos oportunos.

4. Notificar esta Resolución a la Universidad de Navarra, advirtiéndole que contra la misma, que no agota la vía administrativa, se podrá interponer recurso de alzada ante al Consejero de Salud, en el plazo de un mes a contar desde el día siguiente al de su notificación.

Pamplona, diecisiete de septiembre de dos mil dieciocho LA DIRECTORA GERENTE DEL INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA Y LABORAL DE NAVARRA, M<sup>a</sup> José Pérez Jarauta."

Lo que traslado a Vd. para su conocimiento y demás efectos

Pamplona, 19 de septiembre de 2018.

EL JEFE DEL SERVICIO DE SEGURIDAD ALIMENTARIA  
Y SANIDAD AMBIENTAL

Nafarroako Osasun | Instituto de Salud  
Publikoaren eta Lan | Pública y Laboral  
Osasunaren Institutua | de Navarra

Elikagaien Segurtasunaren eta  
Ingurumen Osasunaren Zerbitzua  
Servicio de Seguridad Alimentaria

Javier Aldaz Berrueto

## 8.2. Anexo 2: Resultados de los contrastes *post-hoc* (LSD) entre Muestras

Tabla 8.1: Pruebas de contraste *post-hoc* (LSD) Muestra a Muestra entre Grupos.

Diferencia entre Muestras	DM	<i>p</i> - valor
<b>M1</b>		
24h-2h	1927.30 (1188.03, 2666.56)	<0.001*
24h-7d	-336.13 (-1115.38, 443.13)	0.359
7d-2h	2263.43 (1524.16, 3002.69)	<0.001*
<b>M2</b>		
24h-2h	2247.79 (1262.24, 3233.34)	<0.001*
24h-7d	68.26 (-970.60, 1107.12)	0.887
7d-2h	2179.53 (1193.98, 3165.08)	0.001*
<b>M3</b>		
24h-2h	1869.59 (867.00, 2872.18)	0.002*
24h-7d	365.49 (-691.34, 1422.31)	0.459
7d-2h	1504.10 (501.51, 2506.69)	0.007*
<b>M4</b>		
24h-2h	2077.46 (1165.66, 2989.26)	<0.001*
24h-7d	245.32 (-715.80, 1206.44)	0.582
7d-2h	1832.140 (920.34, 2743.94)	0.001*
<b>M5</b>		
24h-2h	2012.06 (809.41, 3214.70)	0.004*
24h-7d	765.33 (-502.37, 2033.03)	0.208
7d-2h	1246.73 (44.08, 2449.37)	0.044*
<b>M6</b>		
24h-2h	1683.85 (506.31, 2861.39)	0.010*
24h-7d	579.10 (-662.14, 1820.33)	0.323
7d-2h	1104.75 (-72.80, 2282.29)	0.063
<b>M7</b>		
24h-2h	1783.25 (615.65, 2950.83)	0.007*
24h-7d	589.28 (-641.47, 1820.03)	0.311
7d-2h	1193.96 (26.37, 2361.56)	0.046*
<b>M8</b>		
24h-2h	1644.08 (477.86, 2810.30)	0.010*
24h-7d	418.91 (-810.40, 1648.21)	0.465
7d-2h	1225.17 (58.96, 2391.40)	0.041*
<b>M9</b>		
24h-2h	1593.82 (445.11, 2742.53)	0.011*
24h-7d	476.91 (-733.93, 1687.76)	0.401
7d-2h	1116.90 (-31.81, 2265.61)	0.056
<b>M10</b>		
24h-2h	1481.52 (288.85, 2674.20)	0.020*
24h-7d	1832.07 (665.13, 2999.01)	0.004*
7d-2h	735.21 (-521.98, 1992.40)	0.222

DM = diferencia de concentraciones medias ( $\mu\text{M}$ ).

Entre paréntesis se reporta el intervalo de confianza 95 % para la DM.

\*Efecto estadísticamente significativo para  $\alpha = 0.05$ .

Tabla 8.2: Pruebas de contraste *post-hoc* (LSD) entre Muestras del Grupo 2 horas.

Diferencia entre Muestras	DM	<i>p</i> - valor
M1-M2	-45.92 (-389.10, 297.25)	0.772
M1-M3	-147.92 (-624.71, 328.88)	0.505
M1-M4	-222.78 (-502.84, 57.29)	0.107
M1-M5	-313.32 (-870.94, 244.30)	0.239
M1-M6	-381.75 (-970.25, 206.76)	0.179
M1-M7	-424.06 (-1012.44, 164.32)	0.139
M1-M8	-416.46 (-997.16, 164.25)	0.141
M1-M9	-392.52 (-934.52, 149.48)	0.138
M1-M10	-424.61 (-1068.11, 218.89)	0.172
M2-M3	-101.99 (-734.77, 530.78)	0.727
M2-M4	-176.85 (-496.17, 142.46)	0.245
M2-M5	-267.39 (-750.89, 216.11)	0.246
M2-M6	-335.82, (-856.99, 185.34)	0.182
M2-M7	-378.14 (-916.62, 160.35)	0.149
M2-M8	-370.53 (-946.74, 205.68)	0.182
M2-M9	-346.60 (-865.97, 172.77)	0.168
M2-M10	-378.69 (-978.92, 221.55)	0.190
M3-M4	-74.86 (-675.27, 525.55)	0.787
M3-M5	-165.40 (-928.29, 597.49)	0.639
M3-M6	-233.83 (-1104.29, 636.63)	0.563
M3-M7	-276.14 (-1083.26, 530.97)	0.463
M3-M8	-268.54 (-1067.94, 530.86)	0.471
M3-M9	-244.60 (-971.89, 482.68)	0.471
M3-M10	-276.69 (-1270.66, 717.27)	0.549
M4-M5	-90.54 (-482.18, 301.10)	0.618
M4-M6	-158.97 (-570.37, 252.43)	0.409
M4-M7	-201.28 (-652.71, 250.15)	0.344
M4-M8	-193.68 (-647.54, 260.18)	0.364
M4-M9	-169.74 (-592.11, 252.63)	0.392
M4-M10	-201.83 (-694.03, 290.36)	0.382
M5-M6	-68.43 (-332.20, 195.34)	0.576
M5-M7	-110.74 (-350.09, 128.61)	0.327
M5-M8	-103.14 (-336.51, 130.23)	0.348
M5-M9	-79.20 (-334.66, 176.26)	0.505
M5-M10	-111.29 (-628.76, 406.17)	0.642
M6-M7	-42.31 (-188.48, 103.85)	0.533
M6-M8	-34.71 (-270.63, 201.21)	0.750
M6-M9	-10.77 (-276.84, 255.30)	0.930
M6-M10	-42.86 (-314.43, 228.70)	0.732
M7-M8	7.60 (-180.18, 195.39)	0.930
M7-M9	31.54 (-164.07, 227.15)	0.727
M7-M10	-0.55 (-378.81, 377.71)	0.997
M8-M9	23.94 (-152.45, 200.33)	0.769
M8-M10	-8.15 (-465.13, 448.83)	0.969
M9-M10	-32.09 (-502.12, 437.94)	0.882

DM = diferencia de concentraciones medias ( $\mu\text{M}$ ).

Entre paréntesis se reporta el intervalo de confianza 95 % para la DM.

\*Efecto estadísticamente significativo para  $\alpha = 0.05$ .

Tabla 8.3: Pruebas de contraste *post-hoc* (LSD) entre Muestras del Grupo 24 horas.

Diferencia entre Muestras	DM	<i>p</i> - valor
M1-M2	-366.42 (-750.10, 17.27)	0.059
M1-M3	-90.21 (-623.28, 442.87)	0.714
M1-M4	-372.94 (-686.07, -59.81)	0.024*
M1-M5	-398.08 (-1021.51, 225.36)	0.185
M1-M6	-138.29 (-796.26, 519.67)	0.650
M1-M7	-280.01 (-937.83, 377.82)	0.365
M1-M8	-133.24 (-782.48, 516.01)	0.657
M1-M9	-59.04 (-665.02, 546.94)	0.833
M1-M10	21.17 (-698.29, 740.62)	0.949
M2-M3	276.21 (-431.25, 983.68)	0.405
M2-M4	-6.52 (-363.53, 350.48)	0.968
M2-M5	-31.66 (-572.23, 508.91)	0.899
M2-M6	228.13 (-354.56, 810.81)	0.403
M2-M7	86.41 (-515.64, 688.46)	0.756
M2-M8	233.18 (-411.04, 877.40)	0.439
M2-M9	307.38 (-273.29, 888.05)	0.266
M2-M10	387.58 (-283.50, 1058.67)	0.227
M3-M4	-282.74 (-954.01, 388.54)	0.370
M3-M5	-307.87 (-1160.81, 545.06)	0.440
M3-M6	-48.09 (-1021.29, 925.12)	0.915
M3-M7	-189.80 (-1092.18, 712.58)	0.649
M3-M8	-43.03 (-936.79, 850.73)	0.917
M3-M9	31.17 (-781.96, 844.30)	0.934
M3-M10	111.37 (-999.92, 1222.66)	0.828
M4-M5	-25.14 (-463.01, 412.73)	0.901
M4-M6	234.65 (-225.31, 694.60)	0.282
M4-M7	92.93 (-411.78, 597.65)	0.690
M4-M8	239.70 (-267.73, 747.14)	0.317
M4-M9	313.90 (-158.32, 786.13)	0.169
M4-M10	394.11 (-156.18, 944.39)	0.142
M5-M6	259.79 (-35.12, 554.69)	0.078
M5-M7	118.07 (-149.53, 385.67)	0.349
M5-M8	264.84 (3.92, 525.76)	0.047*
M5-M9	339.04 (53.43, 624.65)	0.025*
M5-M10	419.24 (-159.30, 997.78)	0.137
M6-M7	-141.72 (-305.13, 21.70)	0.082
M6-M8	5.06 (-258.71, 268.82)	0.967
M6-M9	79.26 (-218.22, 376.73)	0.566
M6-M10	159.46 (-144.16, 463.07)	0.269
M7-M8	146.77 (-63.18, 356.72)	0.150
M7-M9	220.97 (2.27, 439.67)	0.048*
M7-M10	301.17 (-121.73, 724.08)	0.144
M8-M9	74.20 (-123.01, 271.41)	0.421
M8-M10	154.40 (-356.52, 665.32)	0.516
M9-M10	80.20 (-445.31, 605.72)	0.741

DM = diferencia de concentraciones medias ( $\mu\text{M}$ ).

Entre paréntesis se reporta el intervalo de confianza 95 % para la DM.

\*Efecto estadísticamente significativo para  $\alpha = 0.05$ .

Tabla 8.4: Pruebas de contraste *post-hoc* (LSD) entre Muestras del Grupo 7 días.

Diferencia entre Muestras	DM	<i>p</i> - valor
M1-M2	37.97 (-345.71, 421.65)	0.830
M1-M3	611.41 (78.34, 1144.48)	0.029*
M1-M4	208.51 (-104.62, 521.64)	0.169
M1-M5	703.38 (79.94, 1326.82)	0.031*
M1-M6	776.93 (118.96, 1434.90)	0.025*
M1-M7	645.40 (-12.42, 1303.23)	0.054
M1-M8	621.80 (-27.45, 1271.04)	0.059
M1-M9	754.00 (148.02, 1359.98)	0.020*
M1-M10	1092.50 (373.05, 1811.96)	0.007*
M2-M3	573.44 (-134.02, 1280.90)	0.101
M2-M4	170.54 (-186.47, 527.55)	0.312
M2-M5	665.41 (124.84, 1205.98)	0.021*
M2-M6	738.96 (156.28, 1321.64)	0.018*
M2-M7	607.43 (5.39, 1209.48)	0.048*
M2-M8	583.83 (-60.40, 1228.05)	0.071
M2-M9	716.03 (135.37, 1296.71)	0.021*
M2-M10	1054.53 (383.45, 1725.620)	0.006*
M3-M4	-402.90 (-1074.180, 268.38)	0.211
M3-M5	91.97 (-760.96, 944.91)	0.815
M3-M6	165.52 (-807.68, 1138.72)	0.713
M3-M7	34.00 (-868.39, 936.37)	0.935
M3-M8	10.39 (-883.37, 904.14)	0.980
M3-M9	142.59 (-670.53, 955.72)	0.704
M3-M10	481.09 (-630.19, 1592.38)	0.357
M4-M5	494.87 (57.00, 932.74)	0.030*
M4-M6	568.42 (108.46, 1028.38)	0.020*
M4-M7	436.90 (-67.82, 941.61)	0.083
M4-M8	413.29 (-94.15, 920.72)	0.100
M4-M9	545.49 (73.27, 1017.72)	0.028*
M4-M10	883.99 (333.71, 1434.28)	0.005*
M5-M6	73.55 (-221.36, 368.45)	0.591
M5-M7	-57.98 (-325.58, 209.62)	0.64
M5-M8	-81.59 (-342.51, 179.33)	0.502
M5-M9	50.62 (-235.00, 336.23)	0.701
M5-M10	389.12 (-189.42, 967.66)	0.165
M6-M7	-131.53 (-294.94, 31.89)	0.103
M6-M8	-155.14 (-418.90, 108.63)	0.219
M6-M9	-22.91 (-320.40, 274.55)	0.867
M6-M10	315.57 (11.96, 619.18)	0.043*
M7-M8	-23.61 (-233.55, 186.34)	0.807
M7-M9	108.60 (-110.10, 327.30)	0.294
M7-M10	447.10 (24.19, 870.01)	0.040*
M8-M9	132.21 (-65.00, 329.42)	0.166
M8-M10	470.71 (-40.21, 981.63)	0.067
M9-M10	338.5 (-187.01, 864.01)	0.182

DM = diferencia de concentraciones medias ( $\mu\text{M}$ ).

Entre paréntesis se reporta el intervalo de confianza 95 % para la DM.

\*Efecto estadísticamente significativo para  $\alpha = 0.05$ .

## 8.3. Anexo 3: Difusión de los resultados

### 8.3.1. Artículos científicos

#### 8.3.1.1. Artículo principal

Manrique-Huarte R, **Linera-Alperi MA**, Parilli D, Rodriguez JA, Borro D, Dueck WF, Smyth D, Salt A, Manrique M. Inner ear drug delivery through a cochlear implant: Pharmacokinetics in a Macaque experimental model. *Hear Res.* 2021 May;404:108228. doi: 10.1016/j.heares.2021.108228.

Factor de impacto ISI JCR 2021: 3.208 (HEARING RESEARCH, P-ISSN 0378-5955). Q1 (11/44) Otorhinolaryngology; Q1 (Top 3; 3/27) Audiology & Speech-Language Pathology.

Disponible para su descarga de cara a la evaluación de este trabajo en:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378595521000629?via%3Dihub>

#### 8.3.1.2. Artículos complementarios

**Alvarez de Linera-Alperi M**, Sismono F, Sluydts M, de Foer B, Manrique-Huarte R, Manrique M, Zarowski A. Atraumatic surgical approaches to the posterior labyrinth allowing for drug delivery, cochleo-vestibular implants, and other new surgical applications. Artículo sometido.

Manrique-Huarte R, Zulueta-Santos C, Garaycochea O, **Alvarez Linera-Alperi M**, Manrique M. Correlation between High-Resolution Computed Tomography Scan Findings and Histological Findings in Human Vestibular End Organs and Surgical Implications. *Audiol Neurotol.* 2020;25(1-2):42-49. doi: 10.1159/000504594.

Manrique-Huarte R, Zulueta-Santos C, Calavia D, **Linera-Alperi MÁ**, Gallego MA, Jolly C, Manrique M. Cochlear Implantation With a Dexamethasone Eluting Electrode Array: Functional and Anatomical Changes in Non-Human Primates. *Otol Neurotol.* 2020 Aug;41(7):e812-e822. doi: 10.1097/MAO.0000000000002686.

Garaycochea O, Manrique-Huarte R, Lazaro C, Huarte A, Prieto C, **Alvarez de Linera-Alperi M**, Manrique M. Comparative study of two different perimodiolar and a straight cochlear implant electrode array: surgical and audiological outcomes. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2020 Jan;277(1):69-76. doi: 10.1007/s00405-019-05680-6.

### 8.3.2. Comunicaciones en congresos

**Alvarez de Linera-Alperi M**, Sismono F, Manrique-Huarte R, Manrique M, Zavorski A. Definición de abordajes quirúrgicos atraumáticos del laberinto posterior, que permitan la administración de fármacos, implantes cocleovestibulares y otras nuevas aplicaciones quirúrgicas. Ponencia presentada en: 73 Congreso Nacional de la Sociedad Española de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello (SEORL-CCC); 2022 Oct 13-15; Las Palmas de Gran Canaria, España.

**Alvarez de Linera-Alperi M**, Garaycochea O, Perez-Fernandez N, Manrique M, Manrique-Huarte R. Reacción histopatológica en el vestíbulo tras la implantación coclear en *Macaca fascicularis*. Ponencia presentada en: 73 Congreso Nacional de la Sociedad Española de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello (SEORL-CCC); 2022 Oct 13-15; Las Palmas de Gran Canaria, España.

### 8.3.3. Premios

Primer premio a la mejor comunicación de la IV Jornada de Investigación de Residentes CUN. Comisión de Docencia/Investigación Médica Clínica Universidad de Navarra - Fundación Mutual Médica. Marzo 2021. Farmacocinética coclear. **Marta Alvarez de Linera-Alperi**, Raquel Manrique-Huarte, Daniella Parilli, Diego Calavia, Maria Antonia Gallego, Manuel Manrique Rodríguez.

Premio Fórum de Investigación. 71 Congreso Nacional de la Sociedad Española de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello (SEORL-CCC). Octubre 2020. Farmacocinética coclear. **Marta Alvarez de Linera-Alperi**, Raquel Manrique-Huarte, Daniella Parilli, Diego Calavia, Maria Antonia Gallego, Manuel Manrique Rodríguez.

### 8.3.4. Proyectos de investigación

Investigador colaborador en el proyecto “Promote Personalized Medicine Based on Diagnostic Genomic Tools in Order to Innovate in the Early Detection of Child Deafness in the SUDOE Space (European International Project)”. Miembros colaboradores del proyecto Interreg SUDOE.

Investigador colaborador en el proyecto “Audición y equilibrio para un envejecimiento saludable”. Servicio de Otorrinolaringología de la Clínica Universidad de Navarra.

Investigador colaborador en el proyecto “European development of bionics vestibular implant for bilateral vestibular dysfunction (BionicVEST)”. Fundación Canaria de Investigación Sanitaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Servicio de Otorrinolaringología de la Clínica Universidad de Navarra, NKO Sint-Augustinus Antwerpen

- European Institute, Sapienza-Università di Roma, compañía Cochlear Research and Development Ltd.

Investigador colaborador en el proyecto “Minimally-invasive trans-canal approach for drug delivery and pharmacokinetic studies in the macaque”. Servicio de Otorrinolaringología de la Clínica Universidad de Navarra, Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA), compañía Cochlear Research and Development Ltd.

Investigador colaborador en el proyecto “Seguridad y eficacia de transducción y expresión del trasgén tras la administración de Adeno-Associated Virus (AAV) en primates no-humanos”. Servicio de Otorrinolaringología de la Clínica Universidad de Navarra, compañía Decibel Therapeutics.



