

Efecto de un tratamiento ototóxico en la ultraestructura coclear

Sandra Rodríguez Salgueiro, Odelsa Ancheta Niebla, Rosa María Coro Antich*, Tania Valdés Prieto, Yahima Harvey Pedroso, Armando Alvaré Jaramillo, Pavel Prado Gutiérrez** y Valia Rodríguez Rodríguez**.**

Laboratorio de Microscopía Electrónica, Dirección de Biotecnología, Centro Nacional de Investigaciones Científicas. * Departamento de Anatomía Patológica, Instituto de Neurología y Neurocirugía. ** Departamento de Neurociencias Básicas, Centro de Neurociencias de Cuba.

Recibido: 21 de julio de 2006. Aceptado: 11 de diciembre de 2006.

Palabras clave: células ciliadas cocleares, células de sostén, órgano de Corti, neuronas del ganglio espiral, procesos periféricos, ototoxicidad.
Key words: cochlear hair cells, supporting cells, organ of Corti, spiral ganglion neurons, peripheral processes, ototoxicity.

RESUMEN. La sordera es una de las discapacidades más comunes mundialmente, con una incidencia en Cuba de 2,1 por cada 1 000 habitantes. La mayoría de las sorderas son de origen sensorineural, debido a la muerte de las células ciliadas cocleares, localizadas en el órgano de Corti, lo que conduce a la degeneración de las neuronas del ganglio espiral. En un trabajo previo por Microscopía Óptica, usando un modelo de ototoxicidad en ratas, el órgano de Corti se afectó a partir de las 2 semanas de sordera, mientras que la densidad de neuronas del ganglio espiral disminuyó significativamente solo a partir de las 8 semanas. Con el objetivo de precisar el comienzo de los cambios degenerativos inducidos por ototoxicidad, se estudiaron por Microscopía Electrónica las células del órgano de Corti y las neuronas del ganglio espiral en cócleas de ratas sordas, tomadas a las 2, 4, 8 y 16 semanas de sordera y cócleas de ratas sanas. Se produjeron alteraciones en las células de sostén del órgano de Corti desde las 2 semanas. Las neuronas tipo I del ganglio espiral sufrieron cambios degenerativos que fueron aumentando con el tiempo de sordera a partir de las 4 semanas, hasta su sustitución por neuronas patológicas (tipo III) a las 16 semanas. La banda de mielina de los procesos periféricos que inervan el órgano de Corti presentó signos de degeneración desde las 4 semanas. Los resultados indican que el daño ultraestructural de las neuronas del ganglio espiral y sus procesos periféricos, inducido por el deterioro del órgano de Corti, comienza antes de que disminuya la densidad de estas neuronas y sus dendritas.

ABSTRACT. Deafness is one of the most widespread disabilities in the world. Its incidence in Cuba is 2.1 per 1 000 inhabitants. The origin of deafness is mainly sensorineural. This kind of hearing loss is caused by death of cochlear hair cells (located in the organ of Corti), which induces degeneration of spiral ganglion neurons. In a previous light microscopy study using a rat model of ototoxicity, it was observed that the organ of Corti was damaged since the second week of deafness, whereas the loss of spiral ganglion neurons was not significant until the eighth week of deafness. In order to define the onset of degenerative changes, a study by Transmission Electron Microscopy of the organ of Corti and spiral ganglion neurons was carried out. Rat cochleae sampled after 2, 4, 8 and 16 weeks of deafness and healthy controls were analyzed. The supporting cells of the organ of Corti were damaged since the second week. Type I spiral ganglion neurons showed progressive degenerative changes since the fourth week. Myelin sheaths of the peripheral processes innervating the organ of Corti showed signs of degeneration since the fourth week of deafness. Most of the remaining neurons exhibited complete demyelination at sixteen weeks of deafness, resulting in the pathological type III spiral ganglion neurons. The above results indicate that the injury of the organ of Corti induces ultrastructural degenerative

changes of the spiral ganglion neurons before the significant loss of these cells and their dendrites.

INTRODUCCION

La sordera es una de las discapacidades más comunes a nivel mundial. En Cuba esta enfermedad tiene una incidencia de 2,1 por cada 1 000 habitantes.¹ La causa primaria de pérdida auditiva es la afectación o muerte de las células receptoras sensoriales del oído interno, las células ciliadas (CC) de la cóclea, localizadas en el órgano de Corti (OC).² Las CC de los mamíferos no tienen la capacidad de regenerarse después que se han dañado,³ por lo que su pérdida lleva a una sordera permanente. En humanos la mayoría de las sorderas son de origen sensorineural, caracterizadas por la pérdida de CC y la degeneración retrógrada de las neuronas del ganglio espiral.

En pacientes con sordera sensorineural, los implantes cocleares representan una importante vía para recuperar la audición.⁴ El funcionamiento de estos dispositivos está basado en la estimulación de los axones de las neuronas tipo I del ganglio espiral.⁵ Aunque actualmente se han desarrollado implantes cocleares que permiten escuchar con

Correspondencia:

M.C. Sandra Rodríguez Salgueiro

Laboratorio de Microscopía Electrónica, Dirección de Biotecnología, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Avenida 25 y 158, Playa, Apartado Postal 6412. Ciudad de La Habana, Cuba.

Correo electrónico: sandra.rodriguez@cnic.edu.cu

solo el 10 % de la población original de neuronas del ganglio espiral, el grado de preservación de estas se considera de importancia crucial para el reconocimiento del lenguaje después del implante coclear. La degeneración neuronal del ganglio podría ser un factor limitante para el aprovechamiento óptimo de implantes cocleares más avanzados.

La aplicación potencial de terapias basadas en drogas o en células para la protección⁶ o regeneración de CC⁷ y neuronas del ganglio espiral⁸ como vías para resolver la sordera, ha motivado el interés por estudiar la ultraestructura de estas células.

En un trabajo anterior se comprobó por Microscopía Óptica la degeneración progresiva del OC a partir de las 2 semanas y la disminución de la densidad neuronal del ganglio espiral a partir de las 8 semanas de inducida la sordera por kanamicina y furosemida en ratas adultas.⁹

El objetivo del presente trabajo fue estudiar por Microscopía Electrónica (ME) los tipos celulares del OC y las neuronas del ganglio espiral en cócleas de ratas sanas y sordas, a fin de precisar el comienzo de los cambios degenerativos inducidos por ototoxicidad.

MATERIALES Y METODOS

Animales

Se utilizaron ratas machos Wistar adultas, entre 250 y 300 g de peso, con audición normal (Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, Ciudad de La Habana). Al inicio del experimento, se comprobó la normalidad funcional de la vía auditiva de todos los animales mediante técnicas electrofisiológicas de potenciales evocados transientes de tallo encefálico (PEATC) y potenciales evocados de estado estable (PEAEE).

Los animales se dividieron en cinco grupos de dos animales cada uno: uno de ratas no tratadas (grupo control) y cuatro de ratas tratadas con ototóxicos que fueron sacrificadas a las 2, 4, 8 y 16 semanas de sordera.

Inducción de la sordera

Al inicio del experimento se administró una dosis de los ototóxicos kanamicina (400 mg/kg) y furosemida (150 mg/kg) simultáneamente, por vía intraperitoneal, a los cuatro grupos tratados, siguiendo el modelo de Prado y col.¹⁰ Una semana después, se comprobó la instauración de la sordera mediante PEATC y PEAEE. Se consideraron sordos los animales que no presentaron respuesta a la intensidad de 105 dB psp para PEATC y de 105 dB spl para PEAEE.

Procesamiento de las muestras

Los animales se fijaron por perfusión vascular en formalina 10 %. Se extrajeron las cócleas (una de cada animal) e inmediatamente, se fijaron por perfusión perilinfática en paraformaldehído 2 % y glutaraldehído 2 % (en disolución reguladora estabilizadora fosfato de sodio 0,1 mol/L, pH 7,4). Las cócleas se descalcificaron en EDTA 8,3 %, se post-fijaron en tetróxido de osmio 1 % (en la misma disolución reguladora estabilizadora), se deshidrataron en acetona y se incluyeron en bloques de resina Spurr. Las muestras se cortaron con un ultramicrotomo Ultratome III (LKB) según el plano horizontal de la cóclea. Se obtuvieron cortes semifinos para la localización de las zonas de interés al microscopio óptico (Fig. 1). Los cortes se tiñeron con azul de Stevenel¹¹ y se montaron en láminas de vidrio.¹²

Los estudios por ME se realizaron en la vuelta media coclear, ya que en esa zona fue donde se produjeron las mayores pérdidas neuronales en los animales sordos respecto al control.⁹

Se obtuvieron cortes ultrafinos a nivel de la vuelta media de la cóclea. Los cortes se contrastaron con acetato de uranilo y citrato de plomo y se analizaron en un Microscopio Electrónico de Trasmisión Jeol JEM 100S.

El OC se estudió en animales controles y a las 2 y 4 semanas de sordera. Los cortes se montaron sobre rejillas de 200 mallas con membrana de Formvar. En este trabajo se seleccionaron OC que presentaban células desorganizadas (de 2 y 4 semanas de sordera), en los que la degeneración no era total.

Las neuronas del ganglio espiral y sus procesos periféricos (dendritas de las neuronas del ganglio espiral que se proyectan radialmente desde los cuerpos celulares hasta el OC) se estudiaron en animales controles y a las 2, 4, 8 y 16 semanas de sordera. Los cortes se colocaron sobre rejillas de 400 mallas.

RESULTADOS

Órgano de Corti

En el OC de los animales controles se observaron tres filas de CC externas, una fila de CC internas, separadas entre sí por un espacio conocido como túnel de Corti y varios tipos de células de sostén (Fig. 1). Todas estas células están organizadas como un epitelio en mosaico, que se desorganiza a partir de las 2 semanas de sordera.

Las CC en los animales controles se presentaron conservadas. Las CC

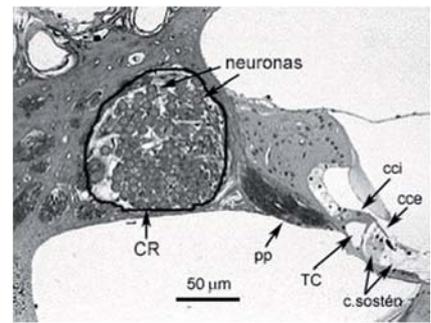


Fig. 1. Vista al microscopio óptico de un corte semifino de la vuelta media coclear. Animal control. Canal de Rosenthal (CR), procesos periféricos (pp), células ciliadas internas (cci), Túnel de Corti (TC), células ciliadas externas (cce), células de sostén (c.sostén).

internas presentaban forma de pera con un núcleo redondeado central. Las CC externas presentaron forma cilíndrica, con el extremo apical aplanado y el núcleo redondeado, localizado en la porción basal. En las CC internas y en las externas se presentaron penachos de estereocilios en la superficie apical (Fig. 2A). En la superficie apical de las CC externas se observaron microvellosidades cortas y estereocilios, los cuales se afinaban hacia los puntos de inserción en la zona densa ubicada hacia el ápice de la célula (Fig. 2B). En el citoplasma se encontraron abundantes mitocondrias bien conservadas y concentradas hacia el ápice de la célula. Rodeando las mitocondrias se observaron numerosas vesículas del retículo endoplásmico liso y rugoso, predominando el liso y vesículas del complejo de Golgi (Fig. 2C). En los cortes de los animales sordos no se identificaron CC.

Las células de sostén que colindan con las ciliadas presentaron gran densidad de microvellosidades muy largas en los animales controles. El citoplasma presentó elevada concentración de organelos y las zonas de unión presentaban sinuosidades y desmosomas hacia el ápice (Fig. 3A). En la segunda semana de sordera, se observó escasez de organelos citoplasmáticos en estas células y las microvellosidades, en menor densidad, eran más cortas; las zonas de unión no presentaban sinuosidades, aunque sí desmosomas (Fig. 3B). En algunas células de sostén, a las 4 semanas, había grandes vacuolas citoplasmáticas características de edema (Fig. 3C).

Neuronas del ganglio espiral

En los animales controles se observó la ultraestructura normal de las neuronas tipo I, caracterizada por

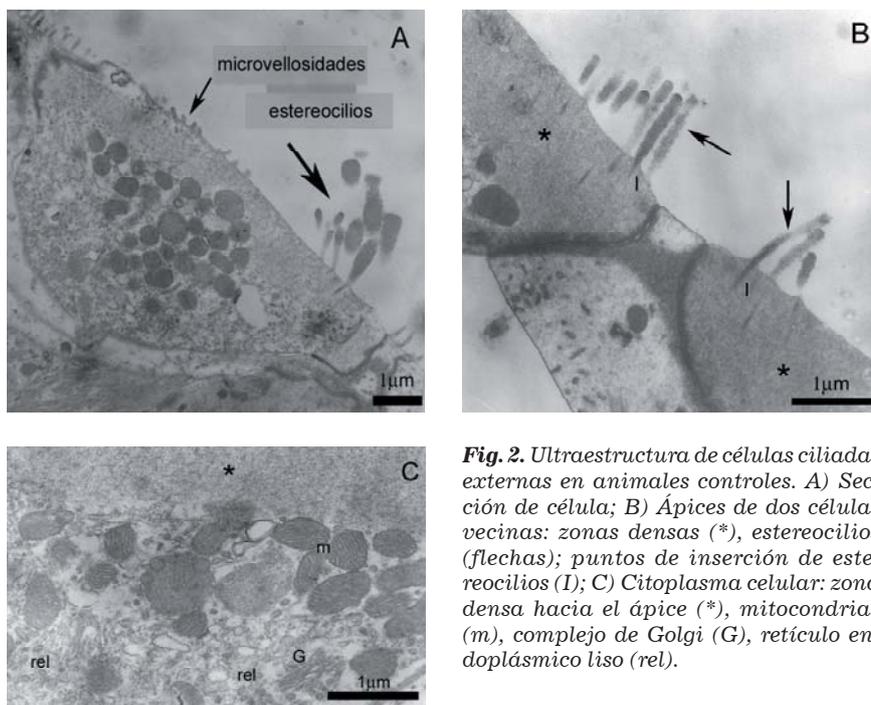


Fig. 2. Ultraestructura de células ciliadas externas en animales controles. A) Sección de célula; B) Ápices de dos células vecinas: zonas densas (*), estereocilios (flechas); puntos de inserción de estereocilios (I); C) Citoplasma celular: zona densa hacia el ápice (*), mitocondrias (m), complejo de Golgi (G), retículo endoplásmico liso (rel).

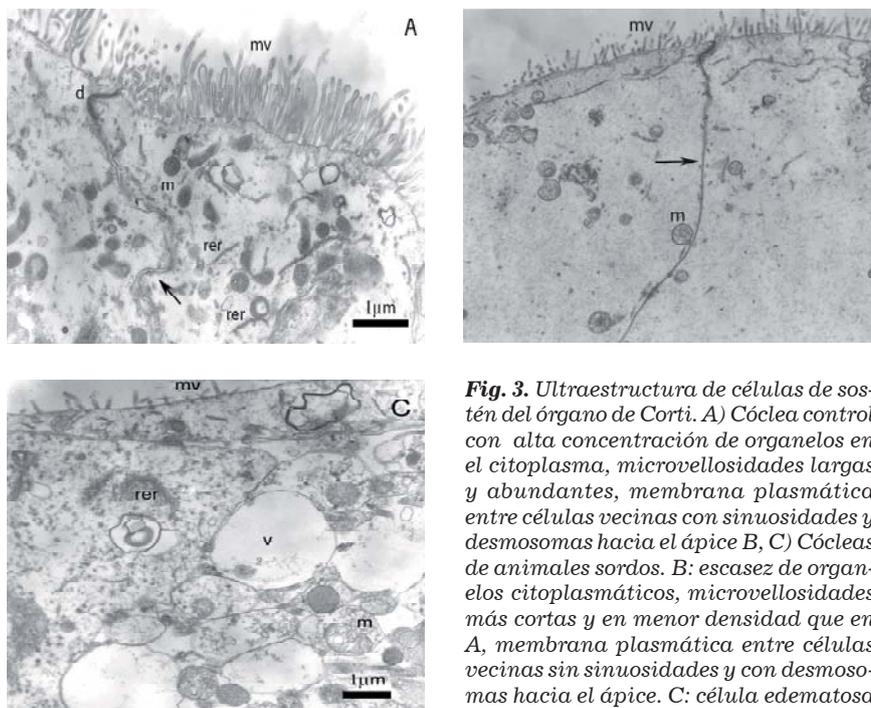


Fig. 3. Ultraestructura de células de sostén del órgano de Corti. A) Cóclea control con alta concentración de organelos en el citoplasma, microvellosidades largas y abundantes, membrana plasmática entre células vecinas con sinuosidades y desmosomas hacia el ápice B, C) Cócleas de animales sordos. B: escasez de organelos citoplasmáticos, microvellosidades más cortas y en menor densidad que en A, membrana plasmática entre células vecinas sin sinuosidades y con desmosomas hacia el ápice. C: célula edematosa con grandes vacuolas citoplasmáticas.

Microvellosidades (mv), desmosomas (d), retículo endoplásmico rugoso (rer), mitocondrias (m), membrana plasmática entre dos células vecinas (flecha), vacuolas (v).

abundante retículo endoplasmático rugoso (cuerpos de Nissl) de canales estrechos, mitocondrias con crestas normales y vainas de mielina normales (Fig. 4A). Desde la cuarta semana de sordera se observaron irregularidades prominentes, tanto en las vainas de mielina como en la envoltura nuclear (Fig. 4B), rarefacción de la matriz citoplasmática y escasez de cuerpos de Nissl (Fig. 4C). En la octava semana de sordera las neuronas tipo I que quedaban en el canal de Rosenthal mostraron re-

tracción del citoplasma con respecto a la vaina de mielina, inclusiones citoplasmáticas prominentes (Fig. 4D), invaginaciones de la envoltura nuclear, dilatación de los cuerpos de Nissl y vacuolización citoplasmática (Fig. 4E). A las 16 semanas de sordera, la mayoría de las neuronas tipo I que quedaban en el canal de Rosenthal mostraron una completa desmielinización, resultando en las neuronas patológicas tipo III (Fig. 4F), con mitocondrias densas y escasos cuerpos de Nissl.

Procesos periféricos

En los animales controles, los procesos periféricos mielinizados mostraron vainas de mielina íntegras y abundante citoplasma de las células de Schwann rodeando las dendritas (Fig. 5A). A las 4 semanas de sordera, se observaron zonas de separación entre las capas que forman las vainas de mielina y puntos de rotura de las vainas (Fig. 5B). A las 8 semanas de sordera se observaron discontinuidades en las vainas de mielina, con salida de axoplasma, y zonas de interrupción de las células de Schwann (Fig. 5C). A las 16 semanas de sordera también se observaron discontinuidades en las vainas de mielina con salida de axoplasma y retracción del citoplasma de las células de Schwann (Fig. 5D). A partir de la cuarta semana de sordera se observó disminución progresiva de la densidad de los procesos periféricos (Figuras 5B, C y D).

DISCUSION

El aminoglicósido kanamicina induce sordera sensorineural al provocar la pérdida de CC y posteriormente, la degeneración de las neuronas del ganglio espiral, lo que ha sido comprobado en varios modelos animales.¹³⁻¹⁷ La furosemida provoca daño ototóxico temporal de poca relevancia clínica,¹⁸ pero al igual que otros diuréticos, potencia la acción ototóxica de los aminoglicósidos.¹⁹ La efectividad del modelo de sordera empleado en esta investigación se ha comprobado en estudios anteriores^{10,20} y se confirma con los resultados del presente trabajo.

La morfología del OC de los animales controles siguió el patrón de normalidad: las CC y células de sostén estaban organizadas como un epitelio en mosaico.²¹ Por Microscopía Óptica se encontró que el tratamiento ototóxico indujo la pérdida de este patrón de organización celular del OC, pudiendo llegar a estar constituido solamente por una capa de células aplanadas.⁹ En las muestras de animales sordos estudiadas por ME en este trabajo, se observaron las células de sostén del OC, pero no se identificaron CC. Sin embargo, en un muestreo más amplio estudiado al microscopio óptico, sí se distinguieron algunas CC externas e internas en algunos animales sordos, aunque había una disminución del número de filas de CC externas.²²

Recientemente, se ha demostrado que las células de sostén del OC desempeñan un papel crucial en el mantenimiento de la estructura y función de las células ciliadas.²³ En el presente trabajo se encontraron cambios morfológicos en las células de sostén del OC desde las 2 semanas de sordera. La disminución observada en las sinuosidades de la membrana plasmática de las células de sostén pudiera estar acompañada de una reducción en el transporte activo celular por pérdida de superficie de membrana. El acortamiento de las microvellosidades y la menor densidad de estas con respecto a los controles pudiera indicar una reducción del intercambio con la endolinfa.²⁴

Las neuronas del ganglio espiral llevan información desde la cóclea hacia el sistema auditivo central. Se han descrito dos tipos de estas neuronas dentro del canal de Rosenthal: tipo I y tipo II.²¹ En el presente trabajo se estudiaron las neuronas tipo I, las cuales representan aproximadamente el 95 % de las neuronas del ganglio espiral en las cócleas de ratas²⁵ y son más susceptibles al daño que las del tipo II.²⁶ Además, estas células son importantes en la aplicación de los implantes cocleares.²⁷

En este trabajo, se detectaron cambios degenerativos en las neuronas del ganglio espiral desde la cuarta semana de sordera, 4 semanas antes de que la pérdida de esas células se observara al microscopio óptico.⁹ Los cambios degenerativos progresivos de las neuronas tipo I del ganglio espiral después de la sordera dieron lugar al surgimiento de neuronas tipo III, exclusivas de condiciones patológicas. De acuerdo con los hallazgos por Microscopía Óptica, la octava semana de sordera fue un momento clave en el que la reducción de la densidad neuronal se hizo significativa.⁹ Sin embargo, en este trabajo, desde la cuarta semana se detectaron ultraestructuralmente cambios patomorfológicos que dieron lugar al daño ulterior más severo.

En humanos, la mayoría de las sorderas son de origen sensorineural²⁸ y se plantea que el daño neuronal del ganglio espiral se debe a la pérdida del efecto trófico que ejercen las células ciliadas sobre esas neuronas.²⁹ El estado de las células de sostén del OC afecta también la supervivencia neuronal.³⁰ En este trabajo se observaron cambios degenerativos en las células de

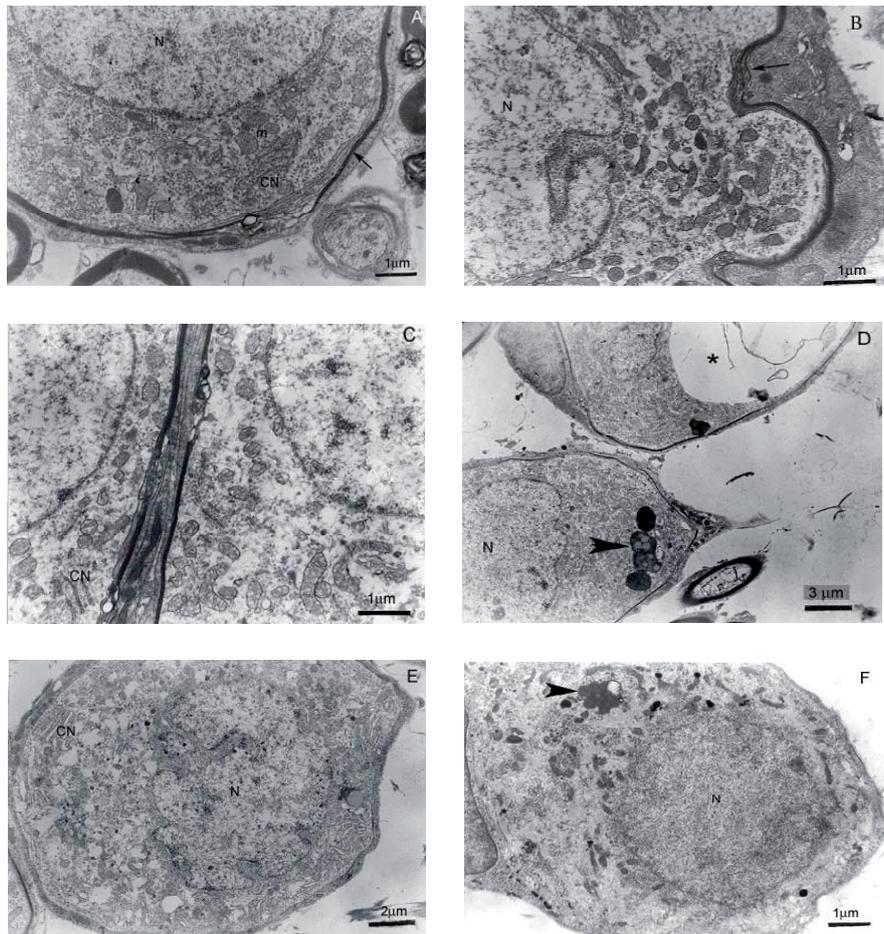


Fig. 4. Ultraestructura de neuronas del ganglio espiral. A-E) Neuronas tipo I, A) Control; B, C) Sordera de 4 semanas; D, E) Sordera de 8 semanas; F) Sordera de 16 semanas. Neurona tipo III. Núcleos (N), cuerpos de Nissl (CN), mitocondrias (m), bandas de mielina (flechas), inclusiones citoplasmáticas (cabezas de flechas), retracción citoplasmática (*).

sostén antes de que se afectaran las neuronas del ganglio espiral.

La escasez de los procesos periféricos que inervan el OC, conjuntamente con la pérdida de somas neuronales del ganglio espiral en animales sordos, se había demostrado por Microscopía Óptica.⁹ En este trabajo se encontró por ME que las dendritas que quedan experimentan degeneración progresiva desde las 4 semanas de sordera, coincidiendo con los hallazgos obtenidos por Microscopía Óptica.⁹ Se ha reportado que la pérdida de dendritas tiene implicaciones para la aplicación de los implantes cocleares porque el sitio de generación de potenciales de acción tiene que trasladarse hacia el soma de las neuronas del ganglio espiral o al axón central.³¹

CONCLUSIONES

En este trabajo se detectaron, por Microscopía Electrónica, cambios degenerativos en las neuronas del ganglio espiral 4 semanas antes de que la pérdida de esas células se observara al microscopio óptico. El

daño neuronal puede atribuirse no solo a la afectación de las CC, sino también, a los cambios morfológicos observados en las células de sostén del OC en el presente estudio. Estos resultados pueden tener implicaciones para la efectividad de los implantes cocleares.

Los implantes cocleares, aunque son la mejor opción en el tratamiento de la sordera, no restablecen totalmente la audición, por lo que actualmente, se están estudiando diferentes estrategias terapéuticas para tratar esta afección. Entre ellas está la prevención de la muerte de las CC, los intentos por regenerarlas y la regeneración de neuronas que inervan las nuevas CC. Estos enfoques para resolver la sordera demuestran la importancia que tiene la comprensión de los cambios morfológicos que ocurren en la cóclea. La marcada similitud de los cambios patológicos del oído interno entre roedores y humanos³² permite aplicar los conocimientos obtenidos en modelos animales de sordera a los pacientes afectados por drogas ototóxicas.

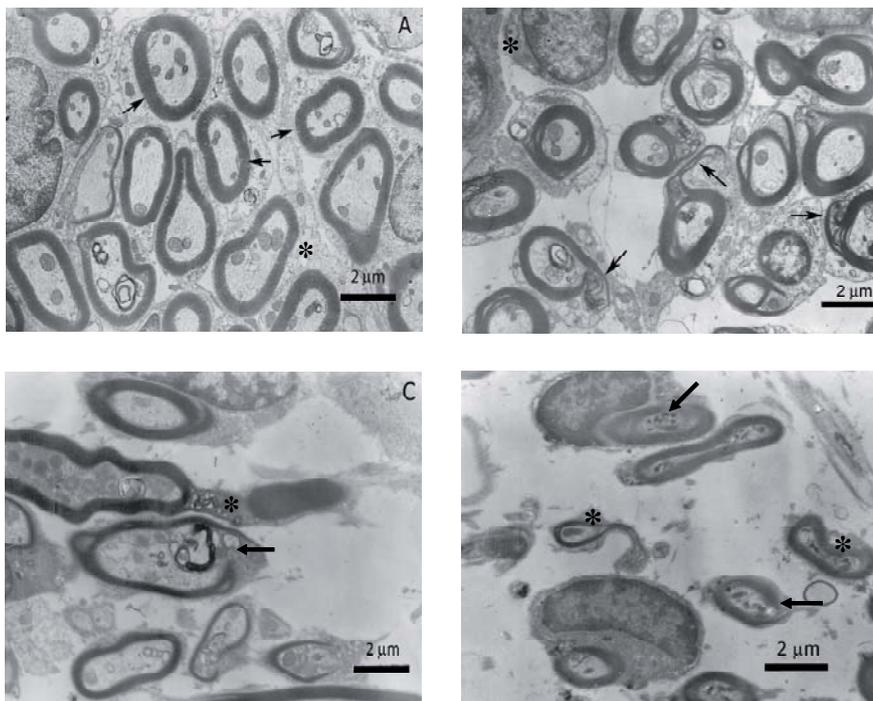


Fig. 5. Ultraestructura de los procesos periféricos que inervan el órgano de Corti. A) Control: vainas de mielina intactas (flechas), abundante citoplasma de las células de Schwann rodeando las dendritas (*); B) Sordo de 4 semanas: separación entre las capas que forman las vainas de mielina y puntos de rotura (flechas), células de Schwann conservadas (*); C) Sordo de 8 semanas: discontinuidades en las vainas de mielina, con salida del axoplasma (flecha), zonas de disrupción de las células de Schwann (*); D) Sordo de 16 semanas: discontinuidades en las vainas de mielina, con salida del axoplasma (flechas), retracción del citoplasma de las células de Schwann (*). Nótese la disminución progresiva de la densidad de los procesos periféricos en B, C y D.

AGRADECIMIENTOS

A los técnicos Oilime Prego y Teresa Diez del Centro de Neurociencias de Cuba, por el cuidado de los animales.

Al colectivo del Laboratorio de Microscopía Electrónica del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, por su cooperación durante la observación de gran parte de las muestras al microscopio electrónico.

A Celso Pérez, por la corrección de la versión en inglés del resumen.

BIBLIOGRAFIA

1. Pérez-Abalo M.C., Gaya J., Savio G., Ponce de León M., Perera M., Reigosa V. Diagnóstico e intervención temprana de los trastornos de la audición. Una experiencia cubana de 20 años. **Revista de Neurología**, **41**, 556, 2005.
2. Holley M.C. The auditory system, hearing loss and potential targets for drug development. **Drug Discovery Today**, **10**, 1269, 2005.
3. Matsui J.I., Parker M.A., Ryals B.M. and Comanche D.A. Regeneration and replacement in the vertebrate inner ear. **Drug Discovery Today**, **10**, 1307, 2005.
4. Seligman P.M., Shepherd R.K. Neuroprosthetics: Theory and Practice, Chapter 6.3. Cochlear implants,

Horch K.W. & Dhillon G.S., eds., Singapur: World Scientific Publishing; 1-27, 2002.

5. Shepherd R.K., Hardie N.A. Deafness-Induced Changes in the Auditory Pathway: Implications for Cochlear Implants. **Audiol. Neuro-Otol.**, **6**, 305, 2001.
6. Atar O. and Avraham K.B. Therapeutics of hearing loss: expectation vs. reality. **Drug Discovery Today**, **10**, 1323, 2005.
7. Minoda R., Izumikawa M., Kawamoto K., Raphael Y. Strategies for replacing lost cochlear hair cells. **Neuroreport**, **15**, 1089, 2004.
8. Roehm P.C., Hansen M.R. Strategies to preserve or regenerate spiral ganglion neurons. **Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery**, **13**, 294-300, 2005.
9. Rodríguez S., Ancheta O., Coro R.M., Valdés T., Harvey Y., Rodríguez V., Alvaré A., Prado P. y Rodríguez V. Cambios histológicos inducidos por ototoxicidad en ratas. Citoarquitectura del OC y del ganglio espiral. *Revista Ecuatoriana de Neurología*, **14**, 13, 2005.
10. Prado P., Alvaré A., Rodríguez V. Efecto de la sordera sensorineural sobre el ganglio espiral de ratas adultas: Desarrollo de un biomodelo. **Revista CENIC Ciencias Biológicas**, **35**, en prensa, 2004.
11. Del Cerro M., Cogen J., Del Cerro C. Stevenel's Blue, an excellent stain

for optical microscopical study of plastic embedded tissue. **Microsc. Acta**, **83**, 117, 1980.

12. Rodríguez S., Valdés T., Harvey Y., Ancheta O., Rodríguez V., Alvaré A., Coro R.M., Prado P., Gutiérrez F., Valmaña C., Feston M. Preparación histológica de cócleas de ratas y su aplicación a estudios de sordera. **Revista CENIC Ciencias Biológicas**, **35**, en prensa, 2004.
13. Lim D.J. Ultrastructural cochlear changes following acoustic hyperstimulation and ototoxicity. **Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.**, **35**, 740, 1976.
14. Xu S.A., Shepherd R.K., Chen Y., Clark G.M. Profound hearing loss in the cat following the single co-administration of kanamycin and ethacrynic acid. **Hear. Res.**, **70**, 205, 1993.
15. Wu W.J., Sha S.H., McLaren, J.D., Kawamoto K., Raphael Y., Schacht J. Aminoglycoside ototoxicity in adult CBA, C57BL and BALB mice and the Sprague Dawley rat. **Hear. Res.**, **158**, 165, 2001.
16. Illinskaya E.V., Atamanova N.V. Ultrastructural study of the organ of Corti in animals given kanamycin and ceruloplasmin. **Vestn. Otorinolaringol.**, **4**, 24, 1997.
17. Hellier W.P.L., Wagstaff S.A., O'Leary S.J., Shepherd R.K. Functional and morphological response of the stria vascularis following a sensorineural hearing loss. **Hear. Res.**, **172**, 127, 2002.
18. Bourke B. Frusemide, Bumetanide and Ototoxicity. **The Lancet**, **307**, 917, 1976.
19. Yamane H., Nakai Y., Konishi K. Furosemide-induced alteration of drug pathway to cochlea. **Acta Otolaryngol.**, **447**, 28, 1988.
20. Rodríguez S., Valdés T., Harvey Y., Ancheta O., Coro R.M., Rodríguez V. Effects of an induced deafness in the spiral ganglion cells' density: a morphometric study. **Restor. Neurol. Neurosci.**, **21**, 300, 2003.
21. Shepherd R.K. Neuroprosthetics: Theory and Practice. Chapter 1.8. The auditory system, Horch KW & Dhillon GS, eds. Singapur: World Scientific Publishing, 1-23, 2002.
22. Rodríguez S., Coro R.M., Ancheta O., Valdés T., Harvey Y. Morfología del órgano de Corti en ratas. Cambios inducidos por ototoxicidad. 8 Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica. Disponible en: <http://conganat.cs.urjc.es/> [Consultado: mayo 2005].
23. Ramírez Camacho R., García Berrocal J. R., Trinidad A., González-García JA., Verdaguer J. M., Ibañez A., Rodríguez A., Sanz R. Central role of supporting cells in cochlear homeostasis and pathology. **Med. Hypotheses**, **67**, 550, 2006.
24. Glueckert R., Pfaller K., Kinnefors A., Schrott-Fischer A, Rask-Andersen H. High resolution scanning electron microscopy of the human organ of Corti. A study using freshly fixed surgical specimens. **Hear. Res.**, **199**, 40, 2005.

25. Keithley E.M., Ryan A. F., Feldman M. L. Cochlear degeneration in aged rats of four strains, **Hear. Res.**, **59**, 17, 1992.
26. Leake P.A., Hradek G.T., Rebscher S.J. y Snyder R.L. Chronic intracochlear electrical stimulation induces selective survival of spiral ganglion neurons in neonatally deafened cats. **Hear. Res.**, **54**, 251, 1991.
27. Leake P.A., Hradek G.T., and Snyder R.L. Chronic electrical stimulation by a cochlear implant promotes survival of spiral ganglion neurons after neonatal deafness. **J. Comp. Neurol.**, **412**, 543, 1999.
28. Lefebvre P.P., Staecker H., Van de Water T., Moonen G., Malgrange B. Pharmacologic treatment of inner ear: from basic science to the patient. **Acta Otorhinolaryngol. Belg.**, **56**, 45, 2002.
29. Kopke R., Staecker H., Lefebvre P., Malgrange B., Moonen G., Ruben R.J., Van de Water T.R. Effect of neurotrophic factors on the inner ear: clinical implications. **Acta Otolaryngol.**, **116**, 248, 1996.
30. Sugawara M., Corfas G., Liberman M.C. Influence of supporting cells on neuronal degeneration after hair cell loss. **J. Assoc. Res Otolaryngol.**, **6**, 136, 2005.
31. Shepherd R.K., Baxi J.H., Hardie N.A. Electrical stimulation of the auditory nerve: single neuron strength-duration functions in deafened animals. **Ann. Biomed. Eng.**, **29**, 195, 2001.
32. Forge A., Schacht J. Aminoglycoside Antibiotics. **Audiol. Neurootol.**, **5**, 3, 2000.



CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Ministerio de Educación Superior de la República de Cuba

OFERTAS DOCENTES

El Departamento de Postgrado del Centro Nacional de Investigaciones Científicas atiende las solicitudes docentes específicas que necesite un cliente relacionadas con los temas siguientes:

- 📖 *Tecnologías para la fabricación de equipos médicos de última generación.*
- 📖 *Tecnología láser en cirugía.*
- 📖 *Equipos médicos para el diagnóstico de enfermedades.*
- 📖 *Equipos médicos para el diagnóstico microbiológico.*
- 📖 *Aspectos generales sobre la ozonoterapia. Equipos médicos para ozonoterapia.*
- 📖 *Equipos para el tratamiento de agua y aguas residuales de las instalaciones hospitalarias y farmacéuticas.*
- 📖 *Gestión ambiental.*
- 📖 *Control de la calidad en laboratorios de ensayo.*
- 📖 *Bioética: un puente sobre educación y diversidad.*
- 📖 *Condiciones generales acerca de la metodología en la investigación científica.*
- 📖 *La Didáctica y sus componentes: herramienta para la formación de investigadores.*

Los cursos pueden negociarse en forma de Seminario-Taller (con una duración promedio de 1 semana). Se incluye en la cuota de inscripción la entrega de información sobre el Seminario-Taller en formato digital y recorridos por centros de investigación y producción relacionados con los temas del curso contratado.

Los idiomas de trabajo pueden ser: Español, Inglés, Francés o Ruso.

El programa contempla visitas opcionales preseleccionadas a lugares turísticos, históricos y económicos de Cuba con un módico costo adicional.

El transporte aéreo, el alojamiento, la alimentación y el transporte interno se contratan a través de una económica oferta para este tipo de estudiantes y depende del destino hacia Cuba y el número de estudiantes.

El pago es en efectivo en el momento de la matrícula en pesos convertibles cubanos (CUC) o su equivalente en dólares norteamericanos. Al profesor o estudiante que organice o venga al frente de un grupo, se le exige de cuota de inscripción.

Al iniciar la solicitud de un curso o su prematrícula es necesario enviar mensaje electrónico con los datos siguientes: Nombre y apellidos, especialidad, institución de trabajo, dirección del lugar de trabajo, código postal, ciudad y país de residencia. Además, teléfonos, fax y correo electrónico.

Para mayor información:

Dr. Pável Díaz González de Mendoza, Director de Capital Humano.
Teléfonos: (53) 7 208 2553; Fax: (53) 7 208 0497. Correo electrónico: pavel.diaz@cnic.edu.cu

Lic. Luis Delgado Pérez, Jefe de Departamento de Relaciones Internacionales.
Teléfono (53) 7 208 5277. Correo electrónico: rrii@cnic.edu.cu

Dra. Gisela M. Cañedo Iglesias, Jefa del Departamento de Docencia.
Teléfono (53) 7 208 5277. Correo electrónico: dpto.postgrado@cnic.edu.cu

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Avenida 25 No.15202 esquina a Calle 158, Playa, Apartados Postales 6412 y 6414, Código Postal 11600, Ciudad de La Habana, Cuba.