

Implantes cocleares ópticos: una herramienta promisorio de tratamiento para la hipoacusia

Optical cochlear implants: a promising treatment tool for hearing loss

Valeria Sepúlveda C.^{1,2}, Jaime Osorio M.^{1,2,3}

Resumen

La hipoacusia afecta a más de 1.500 millones de personas mundialmente. Los principales medios de rehabilitación usados son los audífonos e implantes cocleares (IC). El IC eléctrico convierte el sonido en impulsos eléctricos que estimulan, directamente, a las neuronas del ganglio espiral para proveer sensación auditiva. Tiene como desventaja una amplia dispersión espacial de la corriente, limitando la resolución espectral y el rango dinámico de codificación sonora, lo que conduce a una mala comprensión del habla en entornos ruidosos y mala apreciación de la música. En los últimos años se ha estudiado utilizar estimulación óptica en vez de eléctrica, pues emite estímulos con mayor selectividad espacial. Se han descrito IC ópticos usando luz infrarroja y otros con métodos de optogenética, estos últimos requieren de la expresión de proteínas fotosensibles inducidas por virus adenoasociados. Se ha visto que la selectividad espectral de la estimulación optogenética es indistinguible de la acústica, y permitió tasas de disparo casi fisiológicas con buena precisión temporal hasta 250 Hz de estimulación. Estudios que compararon un sistema de IC óptico con uno eléctrico concluyen que el uso de optogenética permitiría una restauración de la audición con una selectividad espectral mejorada en comparación con un IC eléctrico.

Palabras clave: implante coclear, hipoacusia, optogenética, LED, luz infrarroja

Abstract

Hearing loss affects more than 1.5 billion people worldwide. The main means of rehabilitation used are hearing aids and cochlear implants (CI). The electrical CI converts sound into electrical impulses that directly stimulate neurons in the spiral ganglion to provide auditory sensation; it has the disadvantage of a wide spatial dispersion of the current, limiting the spectral resolution and the dynamic range of sound coding, which leads to a poor understanding of speech in noisy environments and a poor appreciation of music. In recent years, the use of optical stimulation instead of electrical stimulation have been studied since it emits stimuli with greater spatial selectivity. Optical CIs have been described using infrared light and others using optogenetic methods, the latter requiring the expression of photosensitive proteins induced by adeno-associated viruses. The spectral selectivity of optogenetic stimulation has been found to be indistinguishable from acoustic stimulation and allowed near-physiological firing rates with good temporal accuracy up to 250 Hz stimulation. Studies comparing an optical and an electrical CI system conclude that the use of optogenetics would allow hearing restoration with improved spectral selectivity compared to an electrical CI.

Keywords: cochlear implant, hearing loss, optogenetics, LED, infrared-light.

¹Servicio de Otorrinolaringología, Hospital Barros Luco Trudeau, Servicio de Salud Metropolitano Sur, Santiago, Chile.

²Departamento de Otorrinolaringología. Universidad de Chile, Santiago, Chile.

³Departamento de Otorrinolaringología, Clínica INDISA, Santiago, Chile.

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

El presente estudio no requirió financiamiento.

Recibido el 04 de diciembre de 2022. Aceptado el 03 de abril de 2023.

Correspondencia:

Jaime Osorio Mallea
Gran Avenida José Miguel Carrera 3204. San Miguel.
Santiago de Chile.
Email: osorio.ori@gmail.com

Hipoacusia

La hipoacusia es el déficit sensorial más prevalente en la población, según el reporte de la Organización Mundial de la Salud en 2021. Afecta a más de 1.500 millones de personas

en todo el mundo, de las cuales 430 millones sufren una pérdida auditiva discapacitante¹, principalmente, como resultado de defectos genéticos, infecciones intrauterinas o a lo largo de la vida, el envejecimiento, o factores externos como sonidos nocivos, antibióticos

ARTÍCULO DE REVISIÓN

ototóxicos y agentes quimioterapéuticos, entre otros^{1,2}. La hipoacusia reduce las oportunidades en el mercado laboral, provoca aislamiento social, aumenta los riesgos de depresión y deterioro cognitivo, y representa un costo global anual de \$750 mil millones de dólares¹.

Los principales medios actuales de rehabilitación para la hipoacusia son los audífonos y los implantes cocleares (IC).

Implante coclear eléctrico

El implante coclear eléctrico (ICe) es una neuro-prótesis que tiene indicación en algunos casos de hipoacusia neurosensorial severa a profunda, y permite a sus usuarios entender el habla en ambientes tranquilos. Consta de un componente externo, que incluye un micrófono y un procesador, así como de un componente interno que contiene un conjunto de 12 a 24 electrodos lineales que se insertan en la escala timpánica de la cóclea³. El ICe convierte el sonido en impulsos eléctricos que estimulan, directamente, a las NGE para proveer una sensación de audición en la ausencia de células ciliadas funcionales. El ICe aprovecha la organización tonotópica de la cóclea, con el objetivo de reclutar diferentes NGE a lo largo del eje tonotópico, lo que permite distinguir diferentes canales de frecuencia. Sin embargo, la amplia dispersión espacial de la corriente durante la estimulación eléctrica debido al líquido conductor en la escala timpánica, limita la resolución espectral y el rango dinámico de codificación de sonido, produciendo una diafonía entre canales^{3,4}. Debido a lo anterior, el número máximo de canales de estimulación, perceptualmente diferentes en el implante se reduce a menos de 10, lo que conduce a una mala comprensión del habla en entornos ruidosos y una mala apreciación de la música^{3,5}.

Estimulación óptica de la cóclea

Una estrategia alternativa para reducir la propagación de la excitación neuronal y aumentar el número de canales de estimulación independientes, es utilizar la estimulación óptica en vez de la eléctrica, pues la luz se puede confinar, convenientemente, en el espacio y permite estimular a las NGE con una mayor selectividad espacial.

Estimulación infrarroja

Un estudio de Izzo y cols. comparó la estimulación eléctrica con la estimulación infrarroja de la cóclea, reportando que la estimulación eléctrica condujo a una activación de las NGE espectralmente más amplia que la estimulación infrarroja, es decir, menos selectiva⁶. Similar a Littlefield y cols.⁷, Richter y cols. utilizaron láseres infrarrojos pulsados para estimular las NGE y su estudio indicó que este estímulo produce una respuesta excitatoria de las NGE con una pequeña dispersión espacial, siendo comparable a la estimulación acústica de tonos puros⁸. Wang y cols. describen un método de estimulación de los nervios auditivos con láser infrarrojo en forma de haz. Realizaron experimentos *in vivo* con cuatro cobayos adultos sordos. Reportan que la estimulación infrarroja en forma de haz provoca un aumento superior al 13% en las amplitudes de los potenciales evocados en comparación a la fibra desnuda⁹.

Sin embargo, el requerimiento de energía por pulso para la estimulación infrarroja es elevado, entre 16 y 160 μ J. Además, en algunos estudios en modelos animales con pérdida auditiva neurosensorial no pudo verificarse la activación de la vía auditiva con este método, por lo que la utilidad de la estimulación infrarroja directa de las NGE ha sido cuestionada¹⁰.

Proteínas fotosensibles

Si bien la estimulación infrarroja sigue siendo controvertida, varios estudios reportan el uso de proteínas fotosensibles, llamadas opsinas, que median la conversión de un fotón en una señal electroquímica. Las opsinas tipo I (opsinas microbianas), en contraste con las opsinas tipo II (opsinas animales), pueden realizar la detección de luz y conducción de iones en un sistema de un solo componente. Las rodopsinas animales también se conocen como un subconjunto especializado de receptores acoplados a proteína G que pueden detectar señales extracelulares¹¹. Hasta el momento, se pueden distinguir tres clases de genes de opsina de tipo I¹²: bacteriorodopsina, una bomba de protones activada por la luz; halorodopsina, una bomba de cloruro activada por luz; y canalrodopsina (ChR), un canal iónico activado por la luz¹³.

La ChR-1 es selectiva para los protones, en vez de otros cationes, pero a valores de pH fisiológico pasa un bajo número de protones, lo que no despolariza la neurona bajo del umbral de disparo. Por otra parte, la ChR-2 es permeable, tanto a los cationes monovalentes como divalentes, sobre todo al Ca^{2+} . Como las corrientes despolarizantes son lo suficientemente altas como para excitar de manera selectiva las neuronas que han sido genéticamente programadas para expresar esta opsina, la ChR-2 se ha convertido en una herramienta muy amplia utilizada en neurociencia^{14,15}.

Se ha reportado que las proteínas ChR-2 (del alga verde *C. reinhardtii*) y halorodopsina (de la *archaebacterium N. pharaonis*), al ser expresadas en neuronas modificadas genéticamente, permitirían que las neuronas se exciten e inhiban de forma segura, precisa y reversible mediante pulsos de luz azul y amarilla, respectivamente¹⁶.

Dentro del grupo de las ChR, se ha descrito la opsina *Chronos*, la cual es sensible a luz azul y verde con una cinética más rápida que cualquier ChR anterior. También existe la opsina *Chrimson* que es sensible a luz roja¹⁷, esta luz tiene una dispersión más baja y una fototoxicidad marginal en los tejidos¹⁸.

Estas moléculas pueden dirigirse a las neuronas por cualquiera de los medios disponibles en la biotecnología moderna, incluido el uso de virus o métodos transgénicos^{11,16}. Las ventajas específicas, en comparación con la excitación infrarroja, son un menor consumo de energía por un factor de 7 a 70 y, por lo tanto, una reducción del potencial daño tisular¹⁹.

Optogenética

Para la manipulación genética, a nivel de oído interno, se ha descrito el uso de vectores virales, tales como, virus de herpes simple tipo I, lentivirus, adenovirus y virus adenoasociados (VAA), entre otros, con el fin de que proteínas fotosensibles sean expresadas^{3,20}.

La replicación de los vectores de virus herpes simple es, altamente, tóxica para las células infectadas y se pueden usar para atacar a células en proliferación, sin embargo, no son deseables para administrar genes terapéuticos. Los vectores derivados del herpes virus son prometedores como herramientas para la entrega de genes al, pero todavía están

en desarrollo. Se requiere un mayor progreso en la duración de la expresión transgénica y métodos escalables de producción segura de vectores para competir con otros sistemas vectoriales disponibles²¹.

Los lentivirus son retrovirus ARN que pueden infectar tanto células en división como postmitóticas. El ADN transcrito del ARN viral se integra en el genoma del huésped, lo que conduce a una expresión a largo plazo. Son usados, ampliamente, en experimentos de neurociencia. Si bien son de interés, se requiere mayor optimización y desarrollo^{3,11,21}.

Los adenovirus son virus ADN de doble hebra que infectan una amplia variedad de órganos y tejidos sin requerir división celular activa para su transducción, lo que les permite actuar a nivel de células postmitóticas y diferenciadas del oído interno. Sin embargo, se ha descrito potencial inmunogenicidad, toxicidad celular y posible propagación del virus al sistema nervioso central, por lo que el uso futuro de los adenovirus está siendo investigado aún más, y de momento no se recomienda su uso deliberado^{3,21,22}.

Los VAA son parte de la familia *Parvoviridae*, virus de ADN no patogénico, afectan alrededor del 85% de las personas durante la primera década de vida, no se han asociado con desarrollo tumoral, y pueden permanecer como ADN extracromosómico^{20,21}. Varios serotipos de VAA han demostrado ser exitosos para la transducción de células en la cóclea y la vía auditiva, dejando intacta la función coclear. Éstos se han convertido en el vector viral de elección para la transferencia eficiente de genes a células postmitóticas y NGE, en las que permiten una expresión a largo plazo de los genes²⁰⁻²³. Además de su potencia y especificidad, las terapias génicas con VAA se caracterizan por la evasión de la respuesta inmunológica celular y humoral del hospedador. Si no se desactivan, los VAA se integran en el genoma del hospedador en un sitio específico y seguro. Sin embargo, en la mayoría de los casos, los VAA se arreglan para no integrarse y forman estructuras de ADN episomales^{3,11,21}.

Un equipo de investigadores desarrolló e implantó sondas flexibles con micro diodos emisores de luz (LED, del inglés *light-emitting diodes*) en la escala timpánica de cócleas de ratones transgénicos, a través de la ventana

ARTÍCULO DE REVISIÓN

redonda. Las sondas eran de 230 μm de ancho, con cuatro μLED de $50 \times 50 \mu\text{m}^2$ que emiten 60 μW a 1 mA ¹⁹.

Hernández y cols. utilizaron ratones transgénicos que expresan ChR-2 bajo el promotor Thy1.2 en neuronas auditivas y la variante CatCh (ChR translocadora de calcio) de ChR-2 mediada por virus adenoasociado (VAA) en las NGE, con el fin de caracterizar la estimulación óptica con LED y medir la respuesta auditiva usando potenciales evocados auditivos de tronco cerebral (PEAT). Los ratones transgénicos expresaron ChR-2 en los somas, y en los axones periféricos y centrales de casi todas las NGE. A nivel intracoclear, la expresión de ChR-2 estaba restringida a las NGE, sin expresión a nivel de las células ciliadas. Los autores reportaron que la estimulación optogenética coclear es capaz de evocar potenciales de hasta 2,5 mV de amplitud en ratones sordos, notoriamente mayores en comparación a los potenciales con estímulo auditivo que llegaban a 5 μV ²³.

López de la Morena evaluó la capacidad de dos opsinas de activación rápida, *Chronos-SE/ST* y *f-Chrimson*, para mejorar la fidelidad temporal de la estimulación optogenética de las NGE de ratones *in vivo*. Tras inyecciones posnatales de VAA a través de la ventana redonda, la expresión de ChR bajo el promotor de sinapsina humana provocó que las NGE fueran sensibles a la luz sin efectos perjudiciales en la supervivencia neuronal. La expresión de *Chronos-SE/ST* en la membrana celular de las NGE se produjo a partir del uso de la potente cápside VAA.PHP.B, la cual es una variante del VAA serotipo 9 que atraviesa la barrera hematoencefálica de forma muy eficiente, y a partir de la adición de señales de exportación (SE) de retículo endoplásmico y señales de tráfico (ST) de membrana plasmática al transgén de *Chronos*. Los niveles de expresión altos y homogéneos de *Chronos-SE/ST* en las NGE en toda la cóclea (~70%) permitieron una alta probabilidad de espigas y una precisión temporal de espigas de hasta 1 kHz, con umbrales de energía moderados evaluados mediante PEAT (~7 μJ por pulso)²⁴.

Por otro lado, la expresión de *f-Chrimson*, mediada por los VAA serotipos 2 y 6, fue alta y homogénea en el oído inyectado (~80%), lo que permitió la activación óptica de la vía au-

ditiva con bajos umbrales de energía (hasta un mínimo de 0,5 μJ por pulso) y la restauración de la actividad auditiva a frecuencias de pulso de hasta 250 Hz en ratones con hipoacusia. La caracterización adicional a nivel de una sola neurona reveló una fluctuación temporal de submilisegundos de espigas de pulso de 400 Hz y un mejor rango dinámico promedio de codificación optogenética en comparación con la estimulación eléctrica (~4 dB frente a ~1 dB)²⁴. Tanto Huet y cols.² como Mager y cols. obtuvieron resultados similares, estos últimos concluyen que el uso de *f-Chrimson* permite la estimulación neuronal con conducción de espigas a altas tasas y fidelidad temporal con umbrales bajos para la intensidad y duración del estímulo¹⁸.

Bali y cols. estudiaron la fidelidad temporal de la activación y la codificación de intensidad con referencia a la estimulación acústica, usando las opsinas de respuesta rápida y muy rápida, *f-Chrimson* y *vf-Chrimson*, cuya expresión fue inducida usando VAA. Reportaron que los requisitos de luz fueron mayores para *vf-Chrimson* que para *f-Chrimson*. La codificación optogenética de intensidad y temporal por NGE se comparó con PEAT, donde se vio que *vf-Chrimson* permitió tasas de disparo casi fisiológicas con buena precisión temporal hasta 250 Hz de estimulación²⁵.

Un estudio en gerbillos adultos, sin alteraciones auditivas, reporta que las respuestas de los PEAT con estímulo por luz y sonido mostraron una cinética y una amplitud similares; y que en un grupo de gerbillos adultos sordos, la estimulación óptica generó respuestas auditivas y provocó un comportamiento de evitación que indicaba una restauración parcial de la función auditiva²⁶.

Dieter y cols. compararon la selectividad espectral de la estimulación optogenética, eléctrica y acústica mediante grabaciones multicanal en el colículo inferior de gerbillos. Reportan que al proyectar luz sobre NGE tonotópicamente distintas, observaron la correspondiente actividad del colículo inferior ordenada de forma tonotópica. Al realizar una comparación basada en la actividad, reportan que la selectividad espectral de la estimulación optogenética es indistinguible de la estimulación acústica para intensidades modestas, y que la estimulación optogenética supera a la

estimulación eléctrica en intensidades medias y altas^{26,27}. También evaluaron el uso de ICo basados en 16 μ LED, los que provocaron la activación tonotópica de la vía auditiva con alta selectividad espectral y requisitos de energía modestos tanto en gerbillos sordos como con audición conservada²⁸.

Por otro lado, se han descrito ICo multicanal, que emplean dos estrategias básicas: los ICo activos y los ICo pasivos. Los ICo activos ofrecen la ventaja de acercar los elementos generadores de luz a las NGE, de este modo evitan la pérdida de luz durante el acoplamiento de entrada y salida de las guías de ondas. Los ICo pasivos utilizan guías de ondas para enviar luz desde fuentes externas a la cóclea, tienen ventajas como la estabilidad, biocompatibilidad, menor generación de calor coclear y el tamaño más pequeño de los emisores de luz intracoclear. Sus desventajas son la pérdida de luz durante el acoplamiento en la interfaz de la guía de onda del emisor y a lo largo de las guías de onda, así como la susceptibilidad mecánica potencial de este acoplamiento²⁹.

Keppeler y cols. fabricaron un ICo multicanal basado en matrices de LED, el que luego implantaron en ratas y gerbillos en que se indujo la expresión de ChR-2 usando VAA. Mediante experimentos electrofisiológicos y de comportamiento buscaron caracterizar la estimulación optogenética de las NGE, y concluyen que el uso de un sistema de ICo multicanal basado en LED permitiría una restauración de la audición con una selectividad espectral mejorada en comparación con un ICe³⁰. En otro estudio modelaron la propagación óptica de excitación en la cóclea en un tití mediante la inserción coclear de un ICo de nuevo diseño. La longitud del ICo cubrió, aproximadamente, 51% del mapa tonotópico con el LED más apical frente a la región de 3 kHz de la cóclea. Al estudiar el ICo en cóclea de ratones, reportan que las matrices de μ LED encapsuladas podrían insertarse en la rampa timpánica de la cóclea a través de la ventana redonda durante ~4,6 mm sin daños detectables. Al aproximar el mapa tonotópico del ratón, la inserción cubrió un rango de frecuencia de 2,5 a 72,2 kHz de un rango de audición total de 0,6 a 79,3 kHz, que corresponde a 4,9 de 7,0 octavas, es decir, el 70% aproximadamente³¹.

En un estudio reciente de Khurana y cols., buscaron predecir el resultado de la restauración auditiva optogenética para futuros ICo en humanos. Combinaron la reconstrucción tridimensional de la cóclea humana basado en micro cortes de tomografía computada, y la simulación de trazado de rayos LED o emisores de guía de ondas acoplados por láser del ICo. Los valores de irradiancia alcanzados con las guías de ondas fueron unas 14 veces superiores a los de los LED, al mismo flujo radiante del emisor. Cabe destacar que los ICo con cualquier tipo de emisor mostraron una mayor selectividad espectral en comparación con ICe⁵ (Figura 1).

Conclusión

Al existir el acceso a sensibilizar las NGE a la luz, usando la optogenética, se ha hecho factible una implementación prometedora del ICo. Esto requiere medios eficientes, estables y seguros para expresar las herramientas optogenéticas. Actualmente, la administración local de VAA no patógenos a la cóclea como vectores para la transducción de NGE ha surgido como el método de elección. Se debe tener presente que la transducción viral por sí sola, sin la expresión de la herramienta optogenética, no hace que las NGE sean sensibles a la luz, por lo tanto, la futura restauración de la audición optogenética requiere el desarrollo tanto del dispositivo de ICo como de la manipulación optogenética (Figura 2). La FDA (del inglés, *Food and Drug Administration*) aprobó el uso de terapia génica basada en VAA para el tratamiento de la amaurosis congénita de Leber²⁹, pero aún no existen reportes respecto al uso de estos para el tratamiento de hipoacusia neurosensorial.

Surge el desafío de nuevos estudios que incluyan una fase clínica, es decir, incluyendo estudios en humanos ya que, hasta la fecha, se ha estudiado el uso de ICo solo en animales. El único acercamiento reportado data de 2022 con una simulación de cóclea humana basado en tomografía computada⁸⁵. Los hallazgos en la literatura sugieren que el ICo sería una herramienta valiosa para mejorar la selectividad espectral que se obtiene actualmente con el uso del ICe.

ARTÍCULO DE REVISIÓN

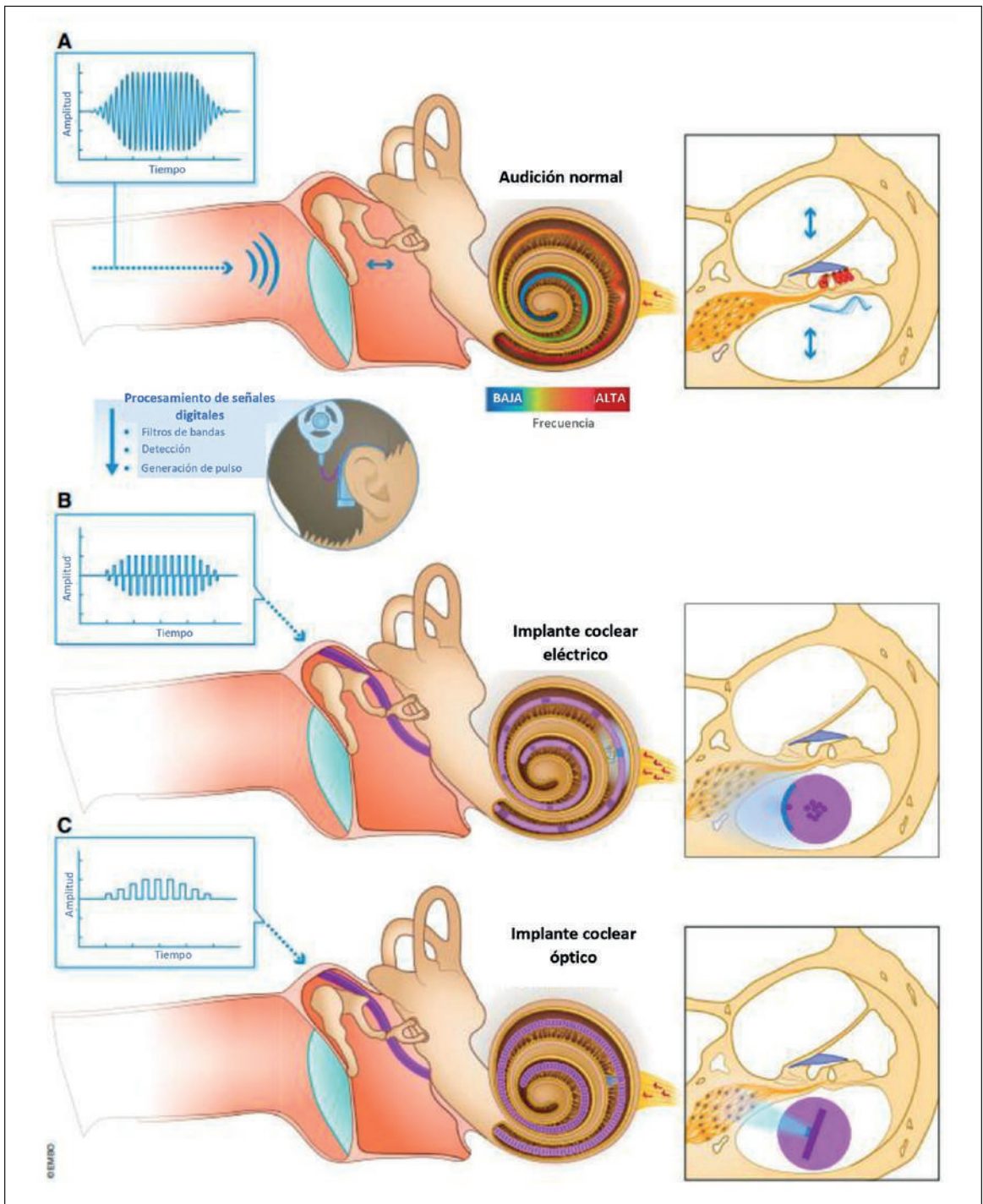


Figura 1. Codificación natural *versus* artificial de sonidos en la cóclea. Figura tomada de Dieter y cols. 2020¹⁰. Los gráficos de amplitud *versus* tiempo representan a las (A) ondas de presión sonora que viajan a través de un sistema auditivo indemne, o (B y C) señales acústicas analizadas por un procesador externo. (A) Se observa en colores la distribución tonotópica en la membrana basilar. (B y C) Si bien las frecuencias se asignan a distintos aparatos de estimulación (electrodos en el ICe o emisores de luz en el ICo) dependiendo de su posición tonotópica, la amplitud de la señal determina la intensidad de la estimulación. Dado que la luz se puede confinar mejor en el espacio que la corriente eléctrica, los ICo activarían al ganglio espiral con mayor precisión espacial.

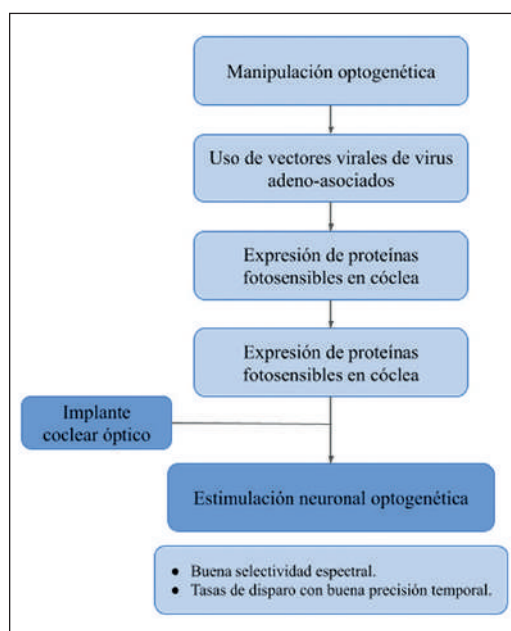


Figura 2. Estimulación optogenética.

Bibliografía

- World Health Organization. *World Report on Hearing*. World Health Organization; 2021.
- Huet AT, Dombrowski T, Rankovic V, Thirumalai A, Moser T. Developing Fast, Red-Light Optogenetic Stimulation of Spiral Ganglion Neurons for Future Optical Cochlear Implants. *Front Mol Neurosci*. 2021;14:635897.
- Dombrowski T, Rankovic V, Moser T. Toward the Optical Cochlear Implant. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2019;9(8). doi:10.1101/cshperspect.a033225
- Fishman KE, Shannon RV, Slaterry WH. Speech recognition as a function of the number of electrodes used in the SPEAK cochlear implant speech processor. *J Speech Lang Hear Res*. 1997;40(5):1201-1215.
- Khurana L, Keppeler D, Jablonski L, Moser T. Model-based prediction of optogenetic sound encoding in the human cochlea by future optical cochlear implants. *Comput Struct Biotechnol J*. 2022;20:3621-3629.
- Izzo AD, Suh E, Pathria J, Walsh JT, Whitlon DS, Richter CP. Selectivity of neural stimulation in the auditory system: a comparison of optic and electric stimuli. *J Biomed Opt*. 2007;12(2):021008.
- Littlefield PD, Vujanovic I, Mundi J, Matic AI, Richter CP. Laser stimulation of single auditory nerve fibers. *Laryngoscope*. 2010;120(10):2071-2082.
- Richter CP, Rajguru SM, Matic AI, et al. Spread of cochlear excitation during stimulation with pulsed infrared radiation: inferior colliculus measurements. *J Neural Eng*. 2011;8(5):056006.
- Wang J, Xia M, Lu J, Li C, Tian X, Tian L. Performance analysis of the beam shaping method on optical auditory neural stimulation in vivo. *Lasers Med Sci*. 2015;30(5):1533-1540.
- Dieter A, Keppeler D, Moser T. Towards the optical cochlear implant: optogenetic approaches for hearing restoration. *EMBO Mol Med*. 2020;12(4):e11618.
- Weiss RS, Voss A, Hemmert W. Optogenetic stimulation of the cochlea-A review of mechanisms, measurements, and first models. *Network*. 2016;27(2-3):212-236.
- Yizhar O, Fenno LE, Davidson TJ, Mogri M, Deisseroth K. Optogenetics in Neural Systems. *Neuron*. 2011;71(1):9-34. doi:10.1016/j.neuron.2011.06.004
- Ernst OP, Lodowski DT, Elstner M, Hegemann P, Brown LS, Kandori H. Microbial and animal rhodopsins: structures, functions, and molecular mechanisms. *Chem Rev*. 2014;114(1):126-163.
- Nagel G, Ollig D, Fuhrmann M, et al. Channelrhodopsin-1: a light-gated proton channel in green algae. *Science*. 2002;296(5577):2395-2398.
- Nagel G, Szellas T, Huhn W, et al. Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(24):13940-13945.
- Bernstein JG, Han X, Henninger MA, et al. Prosthetic systems for therapeutic optical activation and silencing of genetically-targeted neurons. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng*. 2008;6854:68540H.
- Klapoetke NC, Murata Y, Kim SS, et al. Independent optical excitation of distinct neural populations. *Nat Methods*. 2014;11(3):338-346.
- Mager T, Lopez de la Morena D, Senn V, et al. High frequency neural spiking and auditory signaling by ultrafast red-shifted optogenetics. *Nat Commun*. 2018;9(1):1750.
- Goßler C, Bierbrauer C, Moser R, et al. GaN-based micro-LED arrays on flexible substrates for optical cochlear implants. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 2014;47(20):205401. doi:10.1088/0022-3727/47/20/205401
- Duque Afonso CJ. *Development and Application of Tools for the Characterization of the Optogenetics Stimulation of the Cochlea*. Doctor of Philosophy, PhD. Georg-August University School of Science; 2020. doi:10.53846/goediss-8106
- Lentz TB, Gray SJ, Samulski RJ. Viral vectors for gene delivery to the central nervous system. *Neurobiol Dis*. 2012;48(2):179-188.
- Chen X, Zhao X, Hu Y, et al. The spread of adenoviral vectors to central nervous system through pathway of cochlea in mimetic aging and young rats. *Gene Ther*. 2015;22(11):866-875.

ARTÍCULO DE REVISIÓN

23. Hernandez VH, Gehrt A, Reuter K, et al. Optogenetic stimulation of the auditory pathway. *J Clin Invest.* 2014;124(3):1114-1129.
24. López de la Morena D. *Optogenetic Stimulation of the Cochlea*. Doctor rerum naturalium. Georg-August University School of Science; 2019. doi:10.53846/goediss-7546
25. Bali B, Lopez de la Morena D, Mittring A, et al. Utility of red-light ultrafast optogenetic stimulation of the auditory pathway. *EMBO Mol Med.* 2021;13(6):e13391.
26. Wrobel C, Dieter A, Huet A, et al. Optogenetic stimulation of cochlear neurons activates the auditory pathway and restores auditory-driven behavior in deaf adult gerbils. *Sci Transl Med.* 2018;10(449). doi:10.1126/scitranslmed.aao0540
27. Dieter A, Duque-Afonso CJ, Rankovic V, Jeschke M, Moser T. Near physiological spectral selectivity of cochlear optogenetics. *Nat Commun.* 2019;10(1):1962.
28. Dieter A, Klein E, Keppeler D, et al. μ LED-based optical cochlear implants for spectrally selective activation of the auditory nerve. *EMBO Mol Med.* 2020;12(8):e12387.
29. Moser T, Dieter A. Towards optogenetic approaches for hearing restoration. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020;527(2):337-342.
30. Keppeler D, Schwaerzle M, Harczos T, et al. Multichannel optogenetic stimulation of the auditory pathway using microfabricated LED cochlear implants in rodents. *Sci Transl Med.* 2020;12(553). doi:10.1126/scitranslmed.abb8086
31. Keppeler D, Kampshoff CA, Thirumalai A, et al. Multiscale photonic imaging of the native and implanted cochlea. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021;118(18). doi:10.1073/pnas.2014472118