

Estudio de la inervación entre la célula ciliada y la neurona auditiva



# Revista de la Sociedad Otorrinolaringológica de Castilla y León, Cantabria y La Rioja

ISSN 2171-9381

e-mail: [envios@revistaorl.com](mailto:envios@revistaorl.com)

web: [www.revistaorl.com](http://www.revistaorl.com)

Artículo original

**Estudio de la inervación entre la célula ciliada y la neurona auditiva.**

*Rodrigo Martinez Monedero*

**Postdoctoral Fellow Johns Hopkins Hospital  
Baltimore, Maryland**

Contacto:  
[rodrigomartmon@hotmail.com](mailto:rodrigomartmon@hotmail.com)

Recibido: 23/12/2010

Aceptado: 27/12/2010

Publicado: 27/12/2010

Edita: Sociedad Otorrinolaringológica de Castilla y León, Cantabria y La Rioja  
[revistaorl@revistaorl.com](mailto:revistaorl@revistaorl.com)  
web: [www.revistaorl.com](http://www.revistaorl.com)

Director: José Luis Pardo Refoyo (Zamora)  
Comité Editorial:  
Marta Báscones García (Santander)  
Darío Morais Pérez (Valladolid)  
Ángel Muñoz Herrera (Salamanca)  
Manuel Tapia Risueño (Ponferrada)  
Antonio Sánchez del Hoyo (Logroño)  
Jaime Santos Pérez (Valladolid)  
Luis Ángel Vallejo Valdezate (Valladolid)

Estudio de la inervación entre la célula ciliada y la neurona auditiva

**RESUMEN**

El conocimiento de las moléculas encargadas de la formación de una nueva sinapsis entre la célula ciliada interna y la neurona auditiva es importante para el desarrollo de nuevas terapias celulares en el oído interno en la hipoacusia neurosensorial.

**Palabras clave:** oído interno, regeneración, sinapsis, hipoacusia neurosensorial

Innervation of the hair cell and the auditory neuron

**SUMMARY**

The knowledge of the molecular biology of the synapses between the hair cell and the auditory neurons is important for the developing of new strategies in the therapy of the sensorineural hearing loss.

**Keywords:** inner ear, regeneration, synapsis, sensorineural hearing los

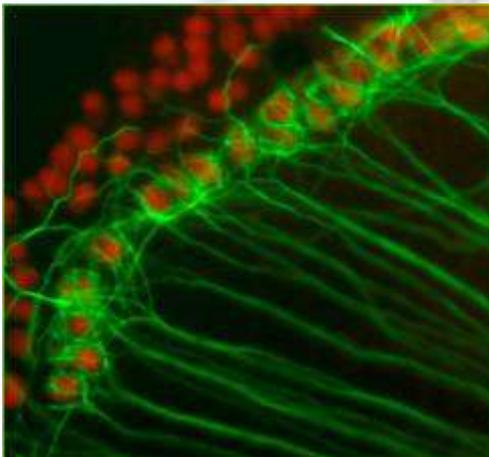
Estudio de la inervación entre la célula ciliada y la neurona auditiva

## INTRODUCCIÓN

El oído interno se encuentra sumergido en la profundidad del hueso temporal. Dentro de su capsula ósea se encuentran unas células muy especializadas en su función y con poca capacidad para su regeneración. Las peculiaridades de este órgano hacen que su tratamiento sea un reto para la medicina actual y un desafío para el estudio experimental. El aislamiento del oído interno del exterior puede suponer un beneficio para la aplicación de terapias locales al evitar un posible efecto sistémico.

La hipoacusia neurosensorial se produce principalmente por patología localizada a nivel del oído interno. Necesitamos desarrollar y perfeccionar las pruebas diagnósticas que nos orienten hacia la búsqueda de etiologías en la patología del oído interno. Además el conocimiento de la biología molecular en la patología de este órgano es limitado.

La sinapsis entre la célula ciliada y la neurona auditiva es uno de los lugares principales donde se produce una lesión tras una excesiva estimulación sonora. Tras la vibración de la membrana basilar se produce una liberación del neurotransmisor glutamato por la célula ciliada (*Fig 1 núcleo celular de la célula ciliada en color rojo*), el cual se une a un receptor en la membrana postsináptica. Este neurotransmisor liberado en grandes cantidades puede llegar a ser tóxico para la terminación de las neuronas auditivas (*Fig 1 color verde*). Así, ante una estimulación sobre la membrana postsináptica repetida, se produce la retracción de la fibra de la neurona auditiva y la posible apoptosis celular. Los fenómenos de retracción y posible regeneración de esta conexión sináptica entre la célula ciliada y la neurona auditiva merecen ser estudiados utilizando técnicas de biología molecular y electrofisiología.



*Figura 1. Órgano de Corti cultivado en un incubador celular. Las neuronas auditivas establecen contactos con las células ciliadas y, de esta manera, transmiten la información de la coclea al área auditiva cerebral. Verde- neuronas (Neurofilamento-H), Rojo- células ciliadas (Math-1),*

Estudio de la inervación entre la célula ciliada y la neurona auditiva

## MATERIAL Y MÉTODO

Utilizamos técnicas de inmunohistoquímica para el estudio de cultivos celulares, y trasplantes celulares *in vitro*. Hemos utilizado animales de laboratorio (ratones wild type, ratones transgénicos *Math1-cGFP*, *Thy-CFP* y *Tau-GFP*) cumpliendo las normas de manejo de animales de laboratorio de la universidad. Para la valoración de los cultivos celulares utilizamos un microscopio confocal. Realizamos un estudio de la expresión de marcadores presinápticos y postsinápticos en la sinapsis entre la célula ciliada y la neurona auditiva. Además hemos utilizado unidades de electrofisiología para el estudio de la expresión de canales y receptores en la membrana de las neuronas auditivas y las células ciliadas del oído interno.



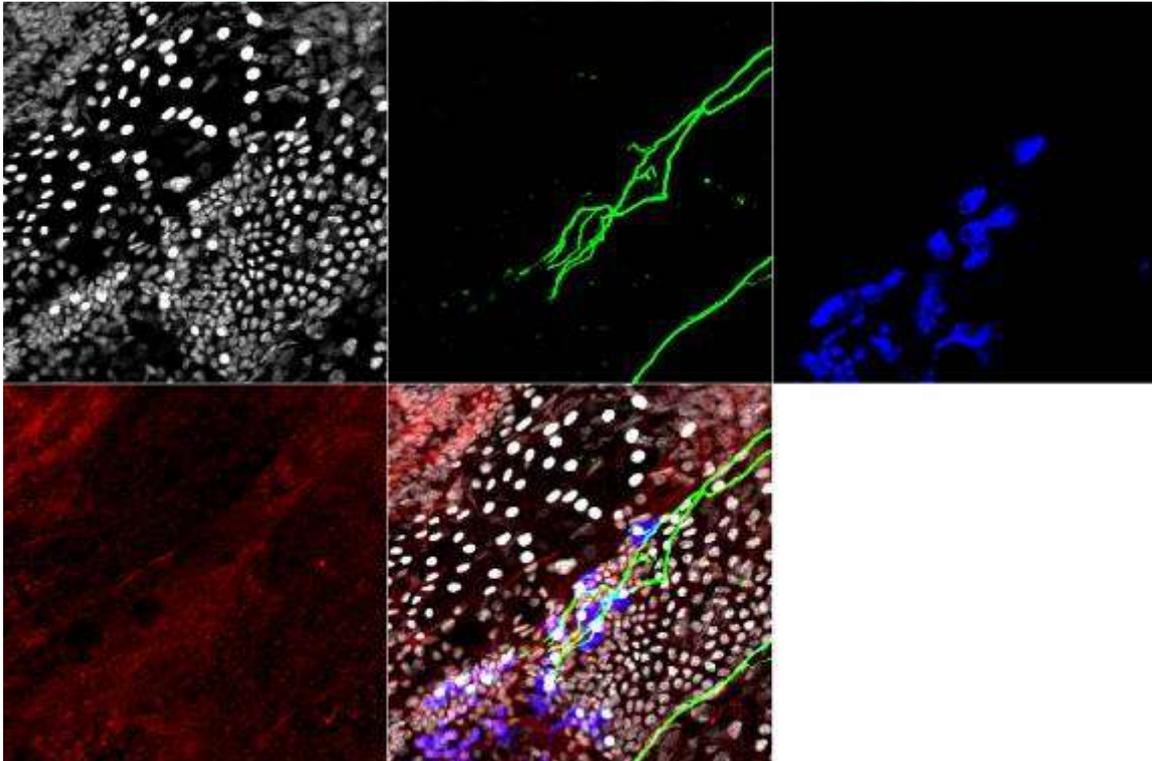
Estudio de la innervación entre la célula ciliada y la neurona auditiva

## RESULTADOS

### 1. Transplantes celulares *in vitro* en el órgano de Corti.

Hemos estudiado la re-innervación de las células ciliadas con las neuronas auditivas y la formación de nuevas sinapsis mediante biología molecular y electrofisiología.

Utilizamos un sistema de cultivo *in vitro* cultivando las células ciliadas aisladas de ratones recién nacidos y posteriormente añadiendo las neuronas auditivas aisladas. Mediante estudios de inmuno-histoquímica hemos comprobado la formación de nuevas prolongaciones y conexiones entre neuronas trasplantadas y las células ciliadas del oído interno (*Figura 2*).



*Figura 2. Órgano de Corti cultivado junto a neuronas auditivas durante 2-3 días in Vitro en un incubador celular. Blanco-DAPI (núcleos celulares), Verde- neuronas (Neurofilament-H), Azul- células ciliadas (Myosina VIIa), Rojo- marcador postsináptico (PSD-95).*

En estos nuevos contactos entre las células ciliadas y las neuronas auditivas se forman

Estudio de la invasión entre la célula ciliada y la neurona auditiva sinapsis que son activas funcionalmente. Realizamos grabaciones del cuerpo neuronal o de la fibra nerviosa en un lugar cercano a la célula ciliada. De esta manera comprobamos si existe actividad sináptica y conocemos la funcionalidad del nuevo contacto entre la célula ciliada y la neurona auditiva (Figura 3).

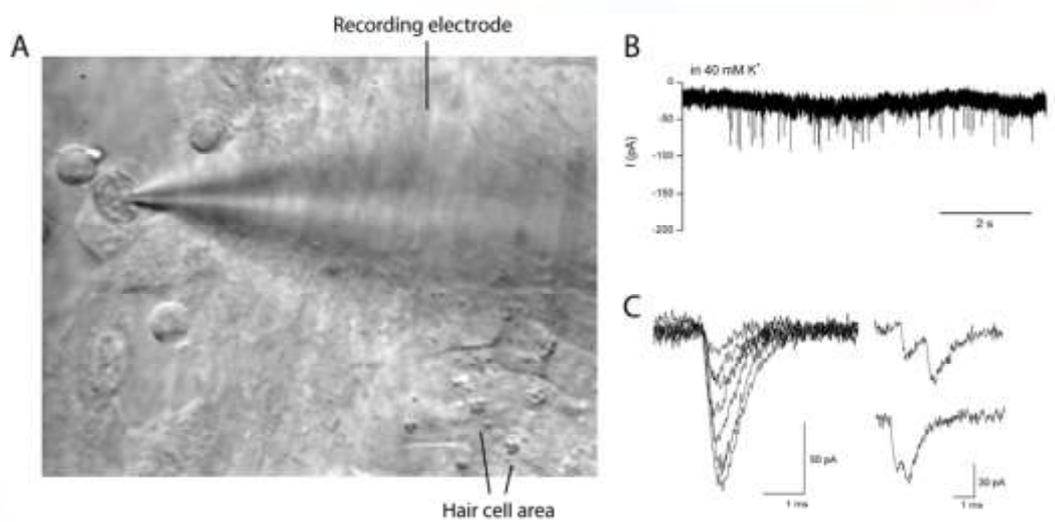


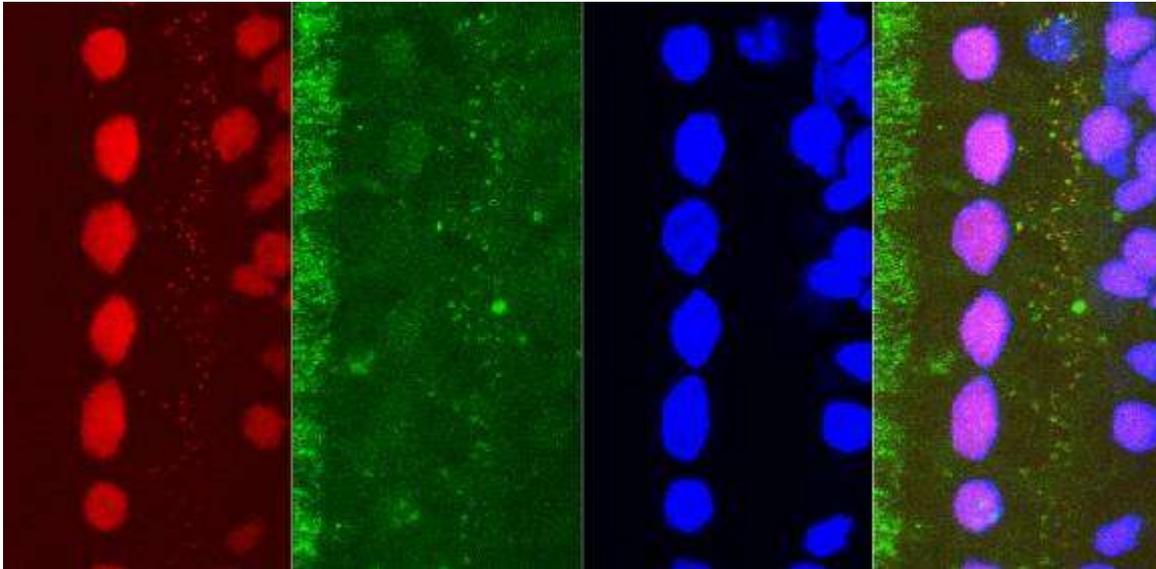
Figura 3: Corrientes sinápticas grabadas en una neurona auditiva transplantada en un órgano de Corti denervado in vitro. A. Localización de la neurona en proximidad a las células ciliadas. B. Las corrientes sinápticas grabadas demuestran que la sinapsis recién formada entre una célula ciliada y una neurona es funcional. C. Las Corrientes sinápticas grabadas se asemejan a las corrientes sinápticas grabadas en un órgano de Corti con una innervación normal.

## 2. Estudio de la expresión de marcadores pre y postsinapticos en la sinapsis auditiva entre la célula ciliada interna y la neurona auditiva.

Se desconocen los tipos de receptores en la membrana postsináptica de la sinapsis entre la célula ciliada y la neurona auditiva. Dependiendo de la madurez y de la actividad de la sinapsis se expresan diferentes subtipos de receptores.

La expresión postsináptica del receptor AMPA GluR2 en la neurona auditiva tiene importancia desde un punto de vista fisio-patológico. El  $Ca^{2+}$  es un importante marcador intracelular en las neuronas y un exceso de  $Ca^{2+}$  intracelular puede producir un daño neuronal. El receptor AMPA GluR2 es impermeable al  $Ca^{2+}$ , lo que hace a la neurona auditiva mas resistente a un daño por exceso de  $Ca^{2+}$  ante una sobre-estimulación acústica. Dicho receptor

Estudio de la innervación entre la célula ciliada y la neurona auditiva se expresa en la sinapsis entre la célula ciliada interna y la neurona auditiva (Fig 4). En el desarrollo del oído interno la expresión del receptor AMPA GluR2 se produce cuando se instaura la estimulación acústica. Esta expresión de este marcador puede ser un mecanismo protector del oído ante una eventual subida del  $Ca^{2+}$  intracelular en un trauma acústico.



*Figura 4. Expresión de marcadores pre y postsinápticos en la sinapsis entre la célula ciliada interna y la neurona auditiva en el oído interno de un mamífero. CTBP2-rojo es una proteína de la vesícula presináptica en la célula ciliada. GluR2-verde es un marcador de receptores AMPA postsináptico en la neurona auditiva. DAPI-azul es un marcador de los núcleos celulares. El receptor GluR2 impermeable al  $Ca^{2+}$  es expresado en las terminaciones de las neuronas auditivas lo que las hace resistentes a un trauma acústico.*

Estudio de la inervación entre la célula ciliada y la neurona auditiva

## DISCUSIÓN

Aquí comienza el texto

La sobre-estimulación acústica produce una liberación excesiva de neurotransmisores (glutamato) que puede producir un cambio en la expresión de marcadores postsinápticos. Para la regeneración de la unión sináptica se cree que la expresión de diferentes proteínas postsinápticas en la membrana postsináptica de la terminación nerviosa es importante para el re-establecimiento de la unión sináptica. Los neurotransmisores y factores de crecimiento liberados por las células ciliadas o por las células de soporte guían el crecimiento de la terminación nerviosa hacia la célula ciliada. La expresión de estos marcadores sinápticos y la actividad eléctrica neuronal hace que la sinapsis se mantenga.

La diferente sensibilidad de la cóclea entre individuos puede ser explicada por la variación en la expresión de las proteínas postsinápticas en la neurona auditiva. Estas moléculas pueden tener un papel en la toxicidad producida en el trauma acústico o en la isquemia del oído interno.

Nuestros resultados muestran que la regeneración de la unión sináptica tras el trasplante celular *in Vitro* se comporta, mediante electrofisiología, de una manera similar a la sinapsis inicial.

Consideramos que el conocimiento de las moléculas encargadas de la formación de una nueva sinapsis entre la célula ciliada interna y la neurona auditiva es importante para el desarrollo de nuevas terapias celulares en el oído interno en la hipoacusia neurosensorial.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

Estudio de la inervación entre la célula ciliada y la neurona auditiva

## BIBLIOGRAFÍA

Glowatzki, E, Fuchs, PA, Transmitter release at the hair cell ribbon synapse. *Nature Neuroscience*. 2002; (5)2:147-154.

Goutman, JD, Glowatzki, E, Time course and calcium dependence of transmitter release at a single ribbon synapse. *PNAS* 2007; 104 (41):16341-16346.

Tritsch, NX, Yi, E, Gale, JE, Glowatzki, E, Bergles, DE. The origin of spontaneous activity in the developing auditory system. *Nature* 2007, 450:50-55.

Martinez-Monedero, R, Yi, E, Oshima, K, Glowatzki, E, Edge, ASB (2008) Differentiation of inner ear stem cells to functional sensory neurons. *Developmental Biology* 68(5):669-84.

Weisz, C, Glowatzki, E, Fuchs, P (2009) The postsynaptic function of type II cochlear afferents. *Nature*, *in press*.