



**Benemérita Universidad  
Autónoma de Puebla**



Facultad de Medicina

Licenciatura en Biomedicina

Instituto de Fisiología

Laboratorio de Neurobiología

**Canales de transducción mecanoeléctrica (MET) en  
células ciliadas del oído interno**

Tesis presentada para obtener el grado de:

**Licenciatura en Biomedicina**

Presenta:

**Trilce Ahtziri Dávila Navarrete**

Directora de Tesis:

**Dra. Amira del Rayo Flores Urbina**

Puebla, Pue. Junio 2021

# ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN	4
I. INTRODUCCIÓN	5
II. JUSTIFICACIÓN	6
III. ESTADO DEL ARTE	
Oído interno	7
Sistema Auditivo: Anatomía y fisiología	9
Células ciliadas cocleares	11
Mecánica coclear	13
Sistema Vestibular: Anatomía y fisiología	15
Células ciliadas vestibulares	16
Mecánica de las crestas ampulares y máculas otolíticas	19
Mecanotransducción	20
Canales MET	22
Propiedades	26
Composición molecular	27
TMC	28
TMHS/LHFPL5	30
TMIE	31
Efecto de los bloqueadores de canales MET	31
IV. CONCLUSIONES	38
V. PERSPECTIVAS	39
VI. BIBLIOGRAFÍA	40
ANEXOS	49

## **AGRADECIMIENTOS**

*A mi familia.*

*A mis amigos.*

*A la Dra. Amira.*

*A mis compañeros de laboratorio.*

*Al comité revisor, la Dra. Evelyn y el Dr. Everardo.*

*A los doctores y profesores.*

*Al Instituto de Fisiología.*

*A todos los involucrados.*

*A lo que me trajo hasta aquí.*

*Y a lo que depare el porvenir.*

## **RESUMEN**

Partiendo de la anatomía y fisiología de dos sistemas especializados coexistentes en el oído interno, el sistema auditivo y el sistema vestibular, se describe el proceso de mecanotransducción, es decir, el proceso de conversión de energía mecánica a señales eléctricas, hasta abordar los canales de transducción mecanoeléctrica sensorial, canales iónicos activados mecánicamente por la deflexión del haz ciliar de las células ciliadas presentes en ambos sistemas. Asimismo, se resaltan algunas de sus propiedades y las proteínas más renombradas que lo conforman (TMC, TMHS y TMIE). Para concluir, se mencionan los resultados de un grupo de investigadores donde destacan los efectos de los bloqueadores de canales MET en las células ciliadas.

## **I. Introducción**

Los sistemas sensoriales están exquisitamente adaptados para detectar información del entorno externo, tal es el caso del sistema auditivo y el sistema vestibular. Ambos sistemas, para poder transmitir su información hacia el sistema nervioso central (SNC), requieren de un proceso de conversión de energía mecánica a energía eléctrica, es decir, un proceso de mecanotransducción.

Estudios han proporcionado evidencia de que las células mecanorreceptoras de estos sistemas sensoriales expresan varios canales iónicos distintos molecularmente con funciones diferentes, uno de ellos es el canal de transducción mecanoeléctrica o canal MET.

Por ello, a lo largo de este proyecto se expondrá cómo se lleva a cabo dicha conversión dónde se logrará apreciar la participación de otros fenómenos anatómicos, fisiológicos, químicos e hidrodinámicos. Asimismo, se profundizará en destacar el papel de los canales MET, sus propiedades biofísicas y su composición molecular conocida hasta la elaboración de este trabajo.

## **II. Justificación**

Para el ser humano, el sistema auditivo y el sistema vestibular son de los sistemas especializados de mayor relevancia cultural y evolutiva. En ambos sistemas están presentes las células ciliadas mecanosensoriales, cuyas proyecciones de estereocilios, interconectados por las uniones de punta, son las encargadas de percibir las vibraciones del medio externo y convertirlas en señales eléctricas a través del control de apertura de los canales de transducción mecanoeléctrica.

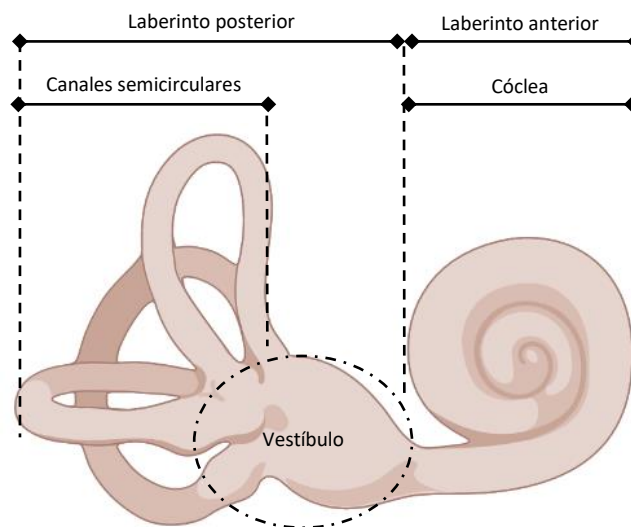
Recientemente se ha logrado un progreso espectacular en la comprensión de los mecanismos moleculares que regulan el desarrollo y la función de los órganos de ambos sistemas, esto ha llevado a la identificación de componentes de la compleja maquinaria de mecanotransducción.

En el Laboratorio de Neurobiología del Instituto de Fisiología, se experimenta tanto con el sistema auditivo como con el sistema vestibular; por ello, me resulta relevante recopilar esta información relacionada con el proceso de mecanotransducción y los canales sensoriales involucrados, esperando sirva como una herramienta de consulta para futuros proyectos.

### III. Estado del arte

#### *Oído interno*

Anatómicamente, el oído interno se compone de una serie de cavidades ubicadas en la región petrosa del hueso temporal. A este espacio se le denomina laberinto óseo y se encarga de proteger en su interior al laberinto membranoso. Este último, es un tubo largo epitelial diferenciado localmente en estructuras sensoriales: la cóclea (laberinto anterior), donde se produce la transformación de la onda sonora en impulsos nerviosos y el análisis de los sonidos; y el laberinto posterior, donde se alojan los órganos del sistema vestibular periférico del sentido del equilibrio (Figura 1) (Sauvage, 2000).



**Figura 1.** Vista lateral del laberinto membranoso (modificado de Sauvage, 2000).

Entre el laberinto óseo y el membranoso se encuentra la perilinfa, un ultrafiltrado sanguíneo que baña la parte basal de las células sensoriales, mientras, en el interior del laberinto membranoso existe otro líquido denominado endolinfa, de composición similar a la del citoplasma neuronal, producido por una estructura llamada estría vascular y que cubre la porción apical de las células. El sistema perilinfático desemboca en el espacio subaracnoideo a través del acueducto coclear, mientras que la endolinfa viaja a lo largo del ducto endolinfático y se reabsorbe en el saco endolinfático, ubicado en el espacio epidural (Correia y Guedry, 1998; Rodríguez, 2006).

La endolinfa es rica en  $K^+$  (150-180 mM) y  $Cl^-$  (~150 mM) y pobre en  $Na^+$  (~1 mM). Estas concentraciones son similares en las distintas partes del sistema endolinfático de diferentes especies (Tabla 1). Entre los otros componentes de la endolinfa (estudiado sobre todo en la cóclea), se observan las siguientes concentraciones:  $Ca^{2+}$  (0.02 mM en cóclea, 0.2 mM en vestíbulo),  $Mg^{2+}$  (0.01 mM en cóclea), proteínas (0.6 g/l en cóclea) y glucosa (<0.6 mM en cóclea), valores mucho más bajos comparados con la perilinfa y el plasma. En cambio, el pH de la endolinfa es parecido al de la perilinfa. Otra peculiaridad de este líquido es que la endolinfa es hiperosmótica (330 mOsm/l) respecto a la perilinfa y al plasma (Ferrary, 2007; Koppl, 2018).

<b>Tabla 1. Concentración iónica de los líquidos laberínticos (mM).</b>						
	<b>Endolinfa</b>			<b>Perilinfa</b>		
	<b><math>Na^+</math></b>	<b><math>K^+</math></b>	<b><math>Ca^{2+}</math></b>	<b><math>Na^+</math></b>	<b><math>K^+</math></b>	<b><math>Ca^{2+}</math></b>
Peces	120	80	5	120	5	3
Anfibios	2.5	101	0.35	100	1.8	3.7
Reptiles	¿?	140	0.30	110	5	2.3
Aves	¿?	141	0.23	144	20	2.3
Mamíferos (vestíbulo)	10	107	0.25	141	20	¿?
Mamíferos (cóclea)	1.3	157	0.023	148	8.3	1.3

En la perilinfa, el catión principal es el  $Na^+$  (140 mM) y el anión principal es el  $Cl^-$  (120 mM), mientras que la concentración de proteínas es baja (~2 g/l). Existen diferencias de composición entre la perilinfa de las rampas vestibular y timpánica: las concentraciones de  $K^+$ , proteínas, aminoácidos y glucosa (~4 mM) son más elevadas en la perilinfa vestibular que en la timpánica. La diferencia de composición iónica entre los líquidos laberínticos resulta en el potencial endococlear, y coadyuva a la despolarización e hiperpolarización de las células sensoriales (Ferrary, 2007).

### *Sistema auditivo: Anatomía y fisiología*

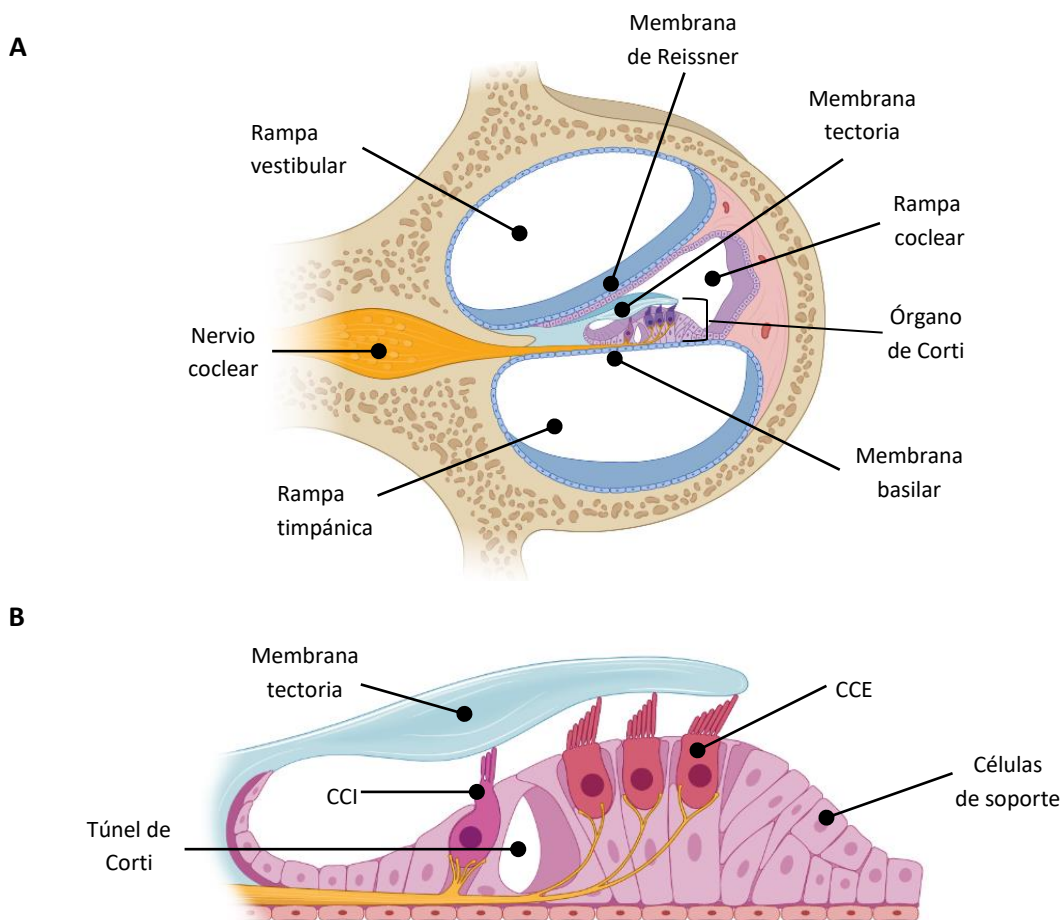
La audición es un proceso sensorial especializado mediante el cual el ser vivo recibe y analiza el sonido, que puede definirse como las ondas sinusoidales producidas por las vibraciones de los cuerpos. Este sentido permite la recepción de los sonidos del medio, da lugar a la comunicación entre los animales y contribuye a la supervivencia del individuo (Gil-Carcedo et al., 2002).

El sistema auditivo se compone por el sistema auditivo periférico (oído externo, oído medio y oído interno) y la vía auditiva. El sonido se transmite mecánicamente desde el oído externo y el medio al oído interno. El oído interno responde a vibraciones inducidas por el sonido de menos de un nanómetro, puede amplificar señales en más de 100 veces y tiene un amplio rango dinámico que permite a los humanos percibir frecuencias de 20 Hz a 20 kHz. Para este proceso, los vertebrados superiores, en particular los mamíferos, han desarrollado un órgano receptor localizado en el oído interno: la cóclea (Gil-Loyzaga y Pujol 2005).

La cóclea es una estructura ósea enrollada en espiral que contiene al receptor auditivo. Su parte más pequeña y prominente se llama ápex, mientras que la más amplia y plana es la base. La cóclea (Figura 2-A) está segmentada en su parte interior por dos membranas que la dividen en tres rampas espirales y paralelas. La rampa central o coclear, bañada por endolinfa, contiene al receptor auditivo, el órgano de Corti. Por encima y debajo de ella se encuentran las rampas vestibular y timpánica, respectivamente, éstas contienen perilinfa y se comunican en el helicotrema del ápex. La rampa coclear tiene forma de triángulo: el receptor auditivo (base), la estría vascular y el ligamento espiral (pared lateral) y la membrana de Reissner (pared superior o interna) (Gil-Loyzaga y Pujol 2005).

El órgano de Corti (Figura 2-B) es un receptor neuroepitelial que alberga alrededor de 16,000 células ciliadas y de soporte situadas a ambos lados del túnel de Corti. Estas células tienen un citoesqueleto muy desarrollado, con microfilamentos y microtúbulos organizados en haces esterociliares. Una matriz extracelular de glucoproteínas, la membrana tectoria, cubre la superficie apical del órgano de

Corti y está adherida a los cilios. Los cuerpos celulares de las células ciliadas forman conexiones estrechas con las células de soporte, que a su vez se adhieren en su superficie basal a una matriz extracelular adicional, la membrana basilar (Rodríguez, 2006; Gil-Loyzaaga y Pujol, 2005).



**Figura 2. (A)** Sección transversal de la cóclea **(B)** Órgano de Corti (modificado de Gil-Loyzaaga y Pujol 2005). CCI: Células ciliadas internas; CCE: Células ciliadas externas.

Debido a los cambios graduales en las características del órgano de Corti, como la altura de los estereocilios y el ancho y el grosor de la membrana basilar, las células ciliadas en diferentes posiciones a lo largo del conducto coclear están sintonizadas a diferentes frecuencias: las células ciliadas en la base del conducto responden a las frecuencias más altas, mientras que las del ápice a las frecuencias más bajas (Ricci, et al., 2003).

### *Células ciliadas cocleares*

Las células ciliadas, tanto cocleares como vestibulares, poseen una especialización morfológica extraordinaria: el haz ciliar. Los estereocilios, poseen un denso citoesqueleto de actina que aporta rigidez y un estrechamiento sobre su inserción en la membrana apical de la célula que funciona como una bisagra, están dispuestos en hileras con una longitud que se incrementa escalonadamente hacia el kinocilio, un cilio verdadero con un arreglo característico de microtúbulos formado por nueve pares periféricos y un par central, y se encuentran unidos entre sí por proteínas denominadas uniones de punta o tip-links (Figura 3), de gran importancia en la activación celular (Pickles et al., 1984; Hudspeth, 2000).

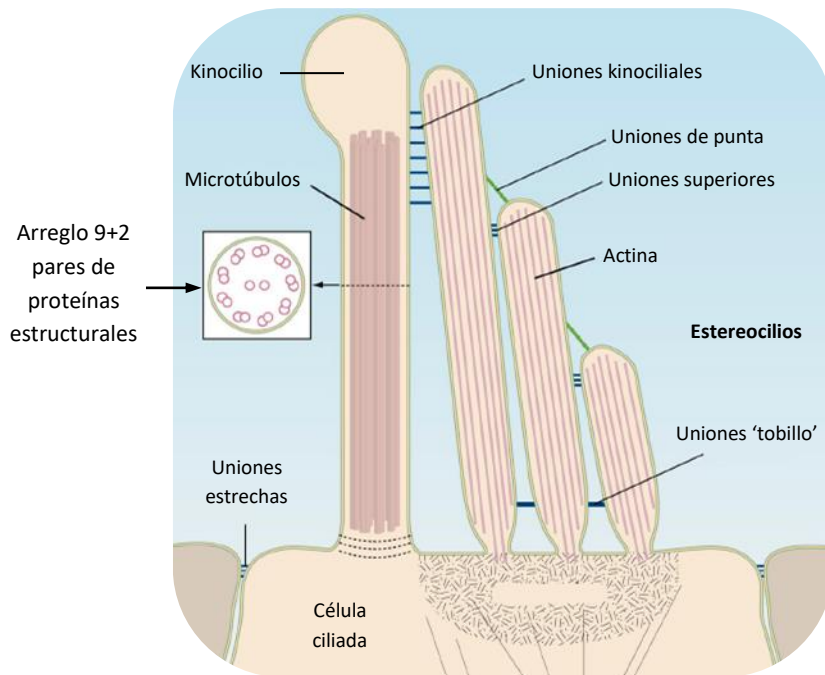
Los mamíferos adultos tienen dos tipos morfológica y funcionalmente distintos de células ciliadas sensoriales cocleares con funciones complementarias en la transducción auditiva:

Células ciliadas internas (CCI): (3,500 en humanos) Células piriformes cuyo polo apical contiene una placa cuticular glucoproteica en la que se anclan un centenar de estereocilios. Una sola fila de estas células forma la estructura sensorial primaria que transmite toda la información sonora a las fibras aferentes. Su potencial de reposo es de -30 a -45 mV.

Células ciliadas externas (CCE): (12,000 en humanos) Tienen forma cilíndrica regular, se disponen en tres hileras a lo largo de la espiral coclear, siendo más cortas en la base que en el ápex. Poseen un potencial de -70 mV.

Particularmente, cuando las CCE se despolarizan se producen dos fenómenos: 1) la generación del potencial microfónico coclear, de muy baja latencia, que reproduce y amplifica la onda sonora recibida, y 2) su contracción, que influye en la micromecánica del receptor. Además, tras su estimulación, las CCE se contraen y alargan su cuerpo gracias a la presencia en su cara basolateral de la proteína motora prestina; hasta el momento, se considera que esta electromotilidad

coadyuve a la amplificación coclear (Hudspeth, 2000; Robles y Ruggero, 2001; Johnson, 2021).



**Figura 3.** Sección transversal de la superficie apical de una célula ciliada. Se destacan el kinocilio, estereocilios y algunas de las uniones del haz ciliar (modificado de Schwander, 2010).

En cuanto a su sinapsis, las fibras aferentes provenientes de las neuronas del ganglio espiral o de Corti (NGS, 30 000 en el ser humano) se clasifican en dos tipos: las fibras de tipo I y tipo II (Gil-Loyzaga y Pujol, 2005).

Las fibras de tipo I constituyen el 95 % de las NGS que inervan la cóclea y entran en contacto con las CCI desde el nacimiento en los ratones, mostrando un patrón altamente ramificado haciendo sinapsis con varias CCI y también con CCE. Este patrón de cableado inicial sufre un refinamiento progresivo durante los primeros días posnatales hasta alcanzar la configuración neuronal bipolar característica durante la segunda semana posnatal. En la cóclea adulta, cada CCI está inervada por varias NGS de tipo I, y cada neurona forma un único contacto en forma de botón yuxtapuesto a una única cinta presináptica, cada célula ciliada es el destino de aproximadamente 10-30 botones terminales dendríticos de las aferentes tipo I, aunque cada neurona solo contacta a una CCI. Está bien establecido que las NGS

que inervan una CCI determinada varían considerablemente en sus umbrales, tasas de disparo espontáneo y rangos de operación. Se cree que tal diversidad facilita la codificación temporal precisa de los estímulos acústicos en un amplio rango de intensidades de sonido (Johnson, 2021).

Las CCE hacen alrededor de 3 a 5 contactos sinápticos con las fibras aferentes de tipo II que, en contraste con las de tipo I, son fibras amielínicas de pequeño calibre y forman arborizaciones extensas con docenas de CCE. Su función aún se desconoce debido a su escasez (constituyen el 5 % de las NGS que inervan la cóclea) y a que son difíciles de identificar y registrar. Sin embargo, con base en datos experimentales recientes, la función más probable parece ser como nociceptores cocleares (Johnson, 2021).

Por otro lado, las fibras eferentes, procedentes de las neuronas del complejo olivar superior, viajan a través de dos fascículos, el eferente lateral o el eferente medial. Las fibras del eferente lateral son amielínicas y establecen sinapsis axodentríticas con las fibras aferentes tipo I, bajo las CCI. En los botones terminales, que tienen vesículas claras y granulosas, coexisten neurotransmisores como: acetilcolina (ACh), ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), dopamina y neuropéptidos (encefalinas, dinorfinas y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina [CGRP]). El eferente medial lo constituyen fibras mielínicas que forman sinapsis axosomáticas con el polo basal de las CCE. Los botones terminales tienen muchas vesículas claras que contienen ACh y CGRP, aunque en el ápex coclear también se ha identificado GABA. Las fibras serotoninérgicas que alcanzan la cóclea parecen tener su origen en neuronas propias de tronco del encéfalo y proyectan sobre las CCI y las CCE (Gil-Loyzaga y Pujol, 2005).

### *Mecánica coclear*

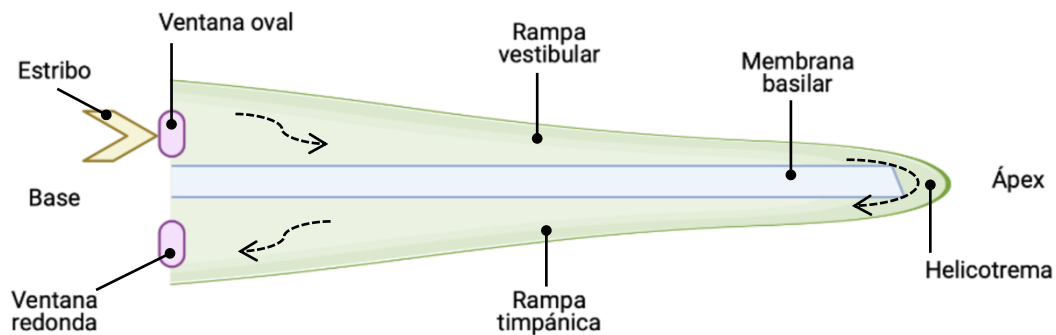
La cóclea tiene como papel fundamental la transformación de las vibraciones mecánicas, transmitidas por la cadena de huesecillos del oído medio a la membrana de la ventana oval, en un mensaje neuronal auditivo destinado al SNC (Figura 4). La cóclea realiza un primer análisis de la frecuencia y de la intensidad

(hasta 130 dB) del sonido, con una discriminación temporal de 1 ms (Dallos, 1981).

Las vibraciones de la membrana oval se transmiten en forma de una onda de presión que se propaga por la perilinfa haciendo oscilar las membranas basilar y de Reissner y el receptor auditivo. El movimiento ondulatorio producido es sincrónico con la frecuencia del estímulo sonoro. La ondulación de la membrana basilar viaja desde la ventana oval hasta el helicotrema (Rodríguez, 2006).

Con la vibración de la membrana basilar, el órgano de Corti se ve desplazado sucesivamente de arriba hacia abajo. Este movimiento es más amplio cuanto más externo es el punto de la membrana que se considera. Con estos movimientos, los cilios, en contacto íntimo con la membrana tectoria, se angulan recuperando luego su posición (Uribe, 2005).

La membrana de las células ciliadas, al recibir el estímulo mecánico producido por el movimiento de los cilios y de la placa cuticular, varía su permeabilidad al paso de iones. La permeabilidad de la membrana celular en las zonas apicales de las células se modifica en relación directa con la deflexión de los cilios. Es decir, cuando se angulan los cilios varía la resistencia eléctrica de la membrana celular, conduciendo a una modificación del potencial de reposo de las células ciliadas (Dallos, 1981).



**Figura 4.** Esquema de la mecánica coclear. Las flechas punteadas indican la dirección de la onda viajera.

### *Sistema Vestibular: Anatomía y fisiología*

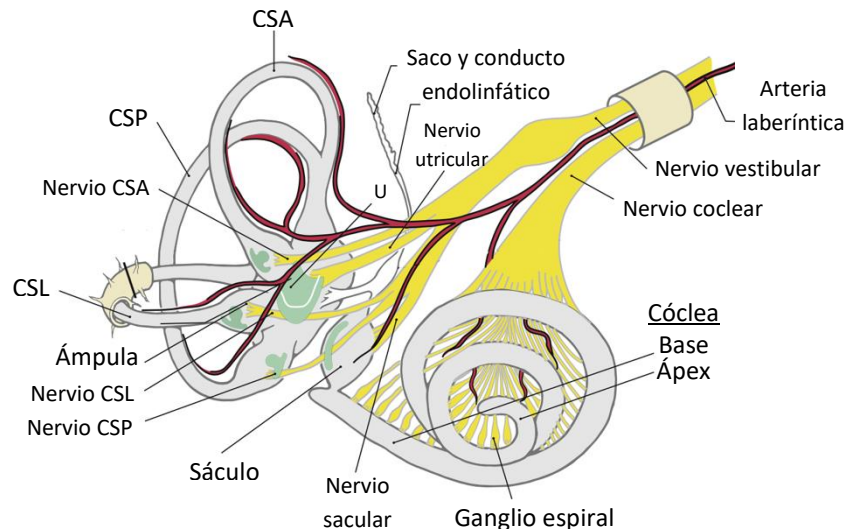
El movimiento, entendido como la capacidad de los animales de cambiar de posición en relación con su entorno inanimado, requiere del conocimiento continuo de la situación postural del individuo respecto al espacio. Para ello, existen distintos sistemas sensoriales, algunos más complejos que otros, que gracias a sus estructuras específicas y funciones integradoras nos garantizan el equilibrio estático y dinámico (Escudero y Delgado, 2005).

De entre los sistemas sensoriales, el sistema vestibular (Figura 5), inmerso en las estructuras óseas que rodean el cerebro, es el encargado de proporcionar la información que el SNC requiere para determinar la posición de la cabeza con relación a la fuerza de gravedad, así como la velocidad de los desplazamientos lineales y angulares de la misma (Flores et al., 2001).

Clásicamente dentro del sistema vestibular se diferencia una parte periférica, compuesta por los receptores periféricos y la vías aferentes y eferentes primarias, y otra central formada por los núcleos vestibulares y sus conexiones secundarias con el córtex cerebral y otras regiones encefálicas (Bartual, 1980).

El laberinto membranoso posterior está conformado por los órganos otolíticos, el utrículo y el sáculo, que tienen como función el mantenimiento de la posición de la cabeza y del cuerpo en el espacio y se activan principalmente por la dirección y magnitud de la aceleración lineal de la cabeza, incluyendo la producida por la fuerza de la gravedad, y los conductos semicirculares (anterior, posterior y lateral), dispuestos de manera ortogonal entre sí, detectan la aceleración angular del movimiento producido por la rotación de la cabeza en cualquier plano del espacio (Dickman et al., 2017).

Al extremo anterior de cada conducto se presenta una dilatación denominada ámpula. En las ámpulas se forman las crestas, neuroepitelio donde descansan las células ciliadas sensoriales de este sistema, cuyos cilios protruyen en una masa gelatinosa, la cúpula, extendida hasta el techo del ámpula actuando como un sello hermético (Dickman et al., 2017).



**Figura 5.** Anatomía del sistema vestibular periférico de mamíferos (modificado de Dickman, 2017). CSA: Conducto semicircular anterior; CSP: Conducto semicircular posterior; CSL: Conducto semicircular lateral; U: Utrículo.

Por otro lado, al interior utrículo-sacular, tenemos al neuroepitelio denominado máculas del utrículo y el sáculo, sobre ellas descansan las células sensoriales. Encima de éstas se disponen la otoconia (cristales inorgánicos de carbonato cálcico) englobada en una masa gelatinosa para formar la membrana otolítica (Vidal et al., 2015).

Los conductos utricular y sacular dan origen al conducto endolímfático, el cual se prolonga hasta el saco endolímfático. El saco endolímfático es considerado una estructura de regulación y protección, ya que puede reabsorber y secretar sustancias, por ejemplo, es capaz de reabsorber la endolinfa y secretar macromoléculas; en cuanto a la protección, se encarga de regular a las células del sistema inmunológico (Bartual, 1980).

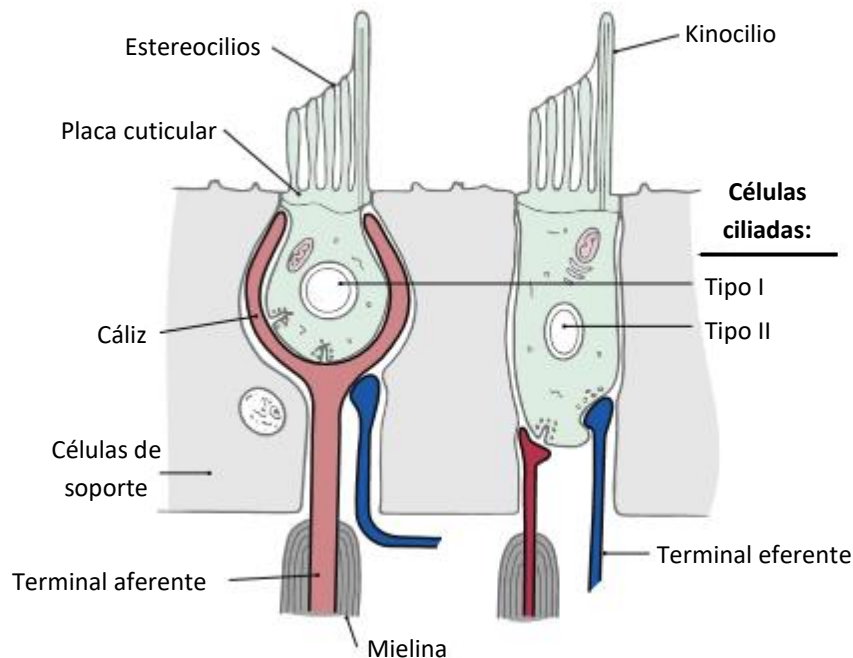
### *Células ciliadas vestibulares*

Las células ciliadas (Figura 6) hacen sinapsis con neuronas aferentes de tipo bipolar, están mielinizadas, tienen su soma en el ganglio de Scarpa y establecen sinapsis con los núcleos vestibulares a nivel del tallo cerebral o directamente con el cerebelo. En su zona apical se insertan de 80 a 100 estereocilios (Schwander et al., 2010; Chabbert, 2016).

Se diferencian dos tipos de células ciliadas en las aves y los mamíferos:

**Tipo I:** Tiene forma de ánfora griega y su núcleo se localiza en su porción basal. Su polo basal está rodeado por una terminación nerviosa aferente primaria en cáliz.

**Tipo II:** Se consideran filogenéticamente más antiguas que las de tipo I. Son células cilíndricas con el núcleo en posición medial que contactan por sus superficies basales con terminaciones nerviosas en botón aferentes y eferentes.



**Figura 6.** Representación morfológica de las células ciliadas vestibulares (modificado de Dickman, 2017).

En el vestíbulo de los vertebrados superiores, coexisten dos tipos de sinapsis, similares a los observados en la cóclea, con una morfología y funcionamiento especiales. Los axones periféricos de estas neuronas pierden su envoltura miélnica antes de penetrar la base del neuroepitelio e inervan a las células. Las sinapsis denominadas en cáliz se caracterizan por la aposición de una terminación nerviosa única en toda la parte basolateral de la célula ciliada tipo I, mientras que las sinapsis en botón están formadas por la aposición de varias terminaciones nerviosas homónimas sobre las células de tipo II. También existen fibras aferentes

en botones que hacen sinapsis sobre la aferente calicial (Lévêque, 2009, Chabbert, 2016).

Registros electrofisiológicos realizados en la terminación en cáliz de las crestas ampulares de rata demostraron que la estimulación de la célula ciliada tipo I provoca una acumulación progresiva de glutamato en la cisterna sináptica. Esta acumulación induce una despolarización lenta que aumenta la descarga de las terminaciones en cáliz. Este fenómeno permite explicar las diferencias de actividad de descarga observadas entre las fibras en botón y en cáliz. Las fibras que poseen terminaciones en botón presentan actividades de tipo regular y las fibras que poseen terminaciones en cáliz presentan actividades de tipo irregular. Las fibras dimórficas, es decir, que tienen a la vez terminaciones en botón y en cáliz, presentan actividades intermedias. Este equipamiento sináptico, asociado a esta amplia gama de actividad de descarga, permite al vestíbulo codificar todas las aceleraciones a las que está sometida la cabeza en el entorno terrestre (Lévêque, 2009, Chabbert, 2016).

En la etapa sináptica se han encontrado otras moléculas, como GABA y la sustancia P. El GABA aumenta la descarga de las fibras aferentes de las células de tipo I, pero no tendría ningún efecto sobre los tipos II. La sustancia P también aumentaría la producción de los potenciales de acción sobre la fibra aferente. Las propiedades biofísicas de cada una de las etapas de la neurotransmisión impactan sobre la codificación de la información sensorial, en términos de amplitud, frecuencia y duración de las descargas eléctricas en el nervio vestibular (Lévêque, 2009, Chabbert, 2016).

Las fibras eferentes, procedentes del tronco del encéfalo y de las células de Purkinje situadas en el cerebelo, liberan principalmente acetilcolina, que interactúa con los receptores nicotínicos y muscarínicos expresados por las células ciliadas de tipo II, así como por las terminaciones nerviosas en cáliz. Su efecto es variable en función de la localización y del estado de excitación de la célula, está mediada por dos tipos de receptor, nicotínicos (efecto inhibitor) y muscarínicos (efecto

excitador). De forma general, permitiría pasar de un modo posicional a uno dinámico. También liberan otros neuromedidores, como la sustancia P, las encefalinas y CGRP (Lévêque, 2009, Chabbert, 2016).

La actividad del sistema eferente depende de varios sistemas sensoriales. La actividad vestibular aferente regula las eferencias a varios niveles, además del control de las vías eferentes por las aferencias visuales y propioceptivas (Lévêque, 2009, Chabbert, 2016).

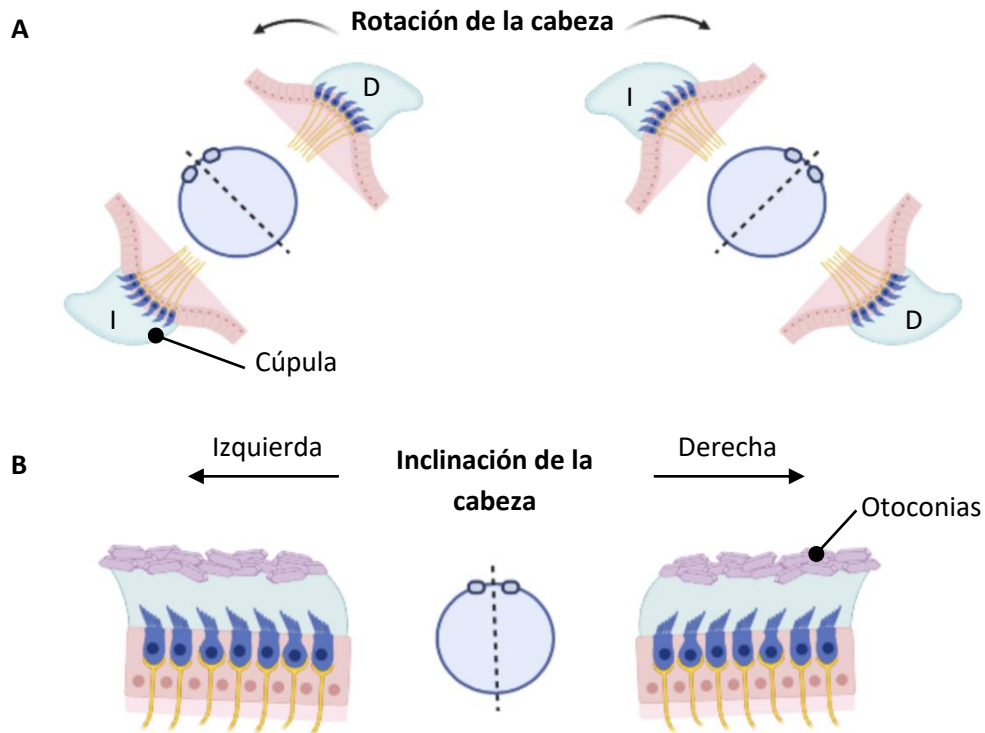
### *Mecánica de las crestas ampulares y de máculas otolíticas*

Las células ciliadas de la cresta ampular de cada conducto están polarizadas en la misma dirección. Por una parte, las células ciliadas del conducto semicircular lateral presentan los kinocilios orientados hacia el utrículo, mientras que las de los conductos verticales los presentan orientados en la dirección contraria (Holt, 2000).

Al girar la cabeza en el plano de uno de los conductos, el conducto gira con la cabeza, pero la endolinfa tiende a permanecer estacionaria debido a que su viscosidad es muy baja, a excepción de la que se encuentra en contacto íntimo con las paredes del conducto, que sí se desplaza con el mismo. Este movimiento relativo produce un abombamiento de la cúpula en dirección contraria a la del movimiento de la cabeza, modificando la inclinación de los cilios embebidos en la cúpula (Figura 7-A) (Precht, 1979).

La otoconia o estatoconio de las máculas posee una gravedad específica mayor que la de los elementos que lo sustentan. Esto hace que, cuando la cabeza se inclina o se somete a aceleración lineal, las otoconias se deslicen paralelamente en el plano del neuroepitelio, por lo que la matriz gelatinosa se inclina, sirviendo como estímulo específico para las células ciliadas (Figura 7-B). La constante de tiempo de la interacción entre las otoconias y el neuroepitelio es de unos 10 ms, por lo que la frecuencia de respuesta puede alcanzar hasta los 400 Hz en mamíferos. En situación fisiológica, los órganos otolíticos y conductos

semicirculares son estimulados conjuntamente durante cada desplazamiento de la cabeza. Esto determina la alta eficacia del sistema vestibular en la detección de cualquier tipo de movimiento (Precht, 1979; Holt, 2000).



**Figura 7. (A)** Respuesta de los canales semicirculares laterales a la rotación de la cabeza en el plano horizontal. Con la rotación hacia la izquierda, la presión de la endolinfa en el canal izquierdo provoca una deflexión positiva, lo que aumenta la activación de las fibras aferentes; al mismo tiempo, en el canal derecho, la presión de la endolinfa causa una deflexión negativa que disminuye de la activación de las fibras aferentes. Con un giro hacia la derecha, se observa todo lo contrario. Las aferentes de las células ciliadas del lado derecho muestran un aumento de la activación, mientras que los aferentes de las células ciliadas del lado izquierdo disminuyen su velocidad de activación. **(B)** Respuesta de las máculas utriculares a la inclinación de la cabeza. Con la inclinación hacia la izquierda o hacia la derecha, las células ciliadas y sus aferentes se excitan o inhiben; el peso de las otoconias hace que los estereocilios se desvíen.

### *Mecanotransducción*

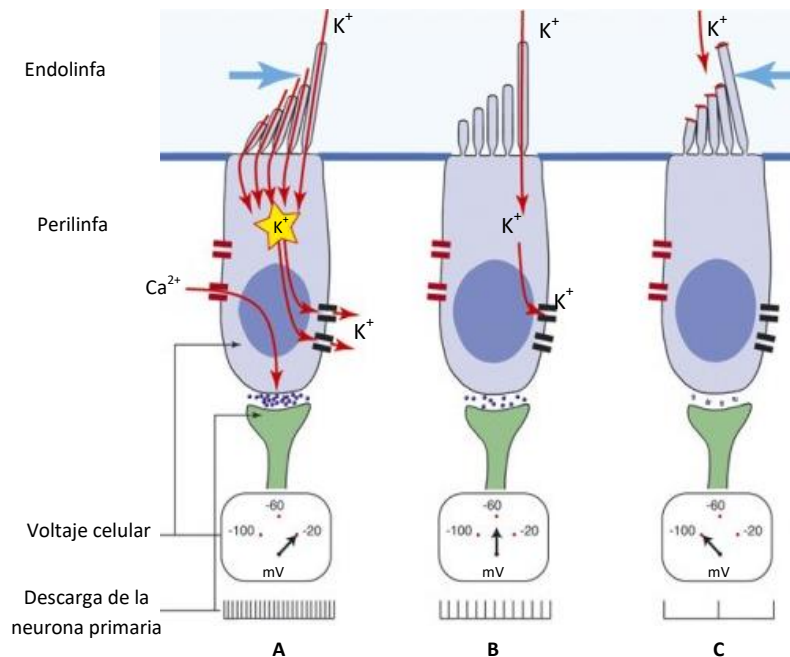
Aunque el mecanismo exacto de la transducción no se conoce totalmente, se puede ofrecer una explicación razonable del proceso fisiológico que va desde la

deformación mecánica de la célula receptora hasta la producción de potenciales de acción en la rama distal de la neurona vestibular primaria. Específicamente, la mecanotransducción en el sistema auditivo y vestibular (Figura 8) consiste en la conversión de la energía mecánica del sonido, la atracción gravitatoria y los movimientos de la cabeza en cambios eléctricos dentro de las células sensoriales del oído interno (Hudspeth, 2000).

La conversión del desplazamiento del haz ciliar en potenciales eléctricos ocurre en 10  $\mu$ s, velocidad de respuesta necesaria para la transducción de estímulos de altas frecuencias (20 KHz en humanos y hasta 100 KHz en otros animales) y para la localización de fuentes de sonido. A su vez, esta velocidad descarta la mediación de segundos mensajeros, como ocurre en las vías auditiva y visual, y supone la activación directa de canales iónicos, voltaje dependientes y de compuerta mecánica (Hudspeth, 2000).

El estado final de este proceso es la liberación de un neurotransmisor desde la base de las células ciliadas tras el cambio provocado en los canales iónicos; estos canales no selectivos permiten el paso de  $K^+$  y  $Ca^{2+}$ , de modo que la célula se despolariza y provoca la apertura de canales de  $Ca^{2+}$  que, al igual que en la mayoría de las sinapsis, promueve la adhesión de las vesículas sinápticas a la membrana celular y la exocitosis de las mismas al espacio sináptico. Si el desplazamiento del haz ciliar es en dirección de inactivación, se produce un acortamiento de las uniones proteicas y disminución del influjo de  $K^+$ . Esto lleva a la hiperpolarización celular y consecuente disminución de la liberación de vesículas sinápticas y de la actividad de las fibras aferentes (Uribe, 2005).

La sensibilidad de la célula ciliada al sonido, la aceleración u otro estímulo no debe ser considerada una propiedad intrínseca, sino que un estímulo adecuado se convierte, mediante un enlace mecánico e hidrodinámico, en fuerza aplicada sobre el haz ciliar (Dallos, 1981).



**Figura 8.** Esquema que ilustra el principio de transducción mecánica y el patrón de descarga de las neuronas primarias. **A:** Despolarización; **B:** Reposo; **C:** Hiperpolarización (modificado de Chabbert, 2016).

### *Canales MET*

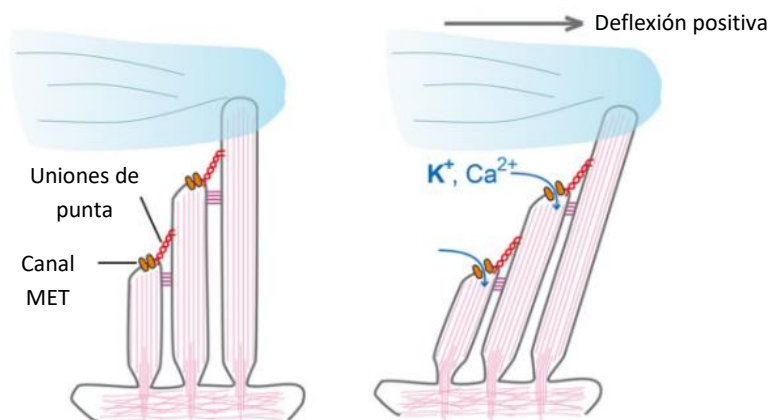
Recientes investigaciones han proporcionado evidencia de que las células ciliadas expresan diferentes canales iónicos activados mecánicamente. Uno de ellos es el canal de transducción mecanoeléctrica sensorial (MET). Este se localiza en la base de las uniones de punta, en las puntas de los estereocilios (Pickles et al., 1984; Beurg et al., 2009)

Estudios in-vitro han permitido observar que las células ciliadas mantienen su potencial receptor de -60 mV. Este potencial de reposo se ve alterado por el desplazamiento de los estereocilios hacia el kinocilio (deflexión positiva) (Figura 9), provocando la apertura de un mayor número de canales MET y la consecuente despolarización de la célula (-20 mV). Por el contrario, las desviaciones en la dirección opuesta (deflexión negativa) disminuyen la cantidad de canales abiertos y la célula se hiperpolariza (-100 mV) (Hudspeth y Corey, 1977).

La apertura de los canales MET activa los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  dependientes de voltaje de tipo L ubicados a nivel presináptico, en las zonas activas del polo basal de la célula. La entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  desencadena la fusión de vesículas sinápticas, liberando glutamato en los botones postsinápticos de las NGS. En las células ciliadas cocleares, las vesículas sinápticas están unidas a orgánulos densos en electrones llamados cintas (Matthews y Fuchs, 2010; Grant et al., 2010).

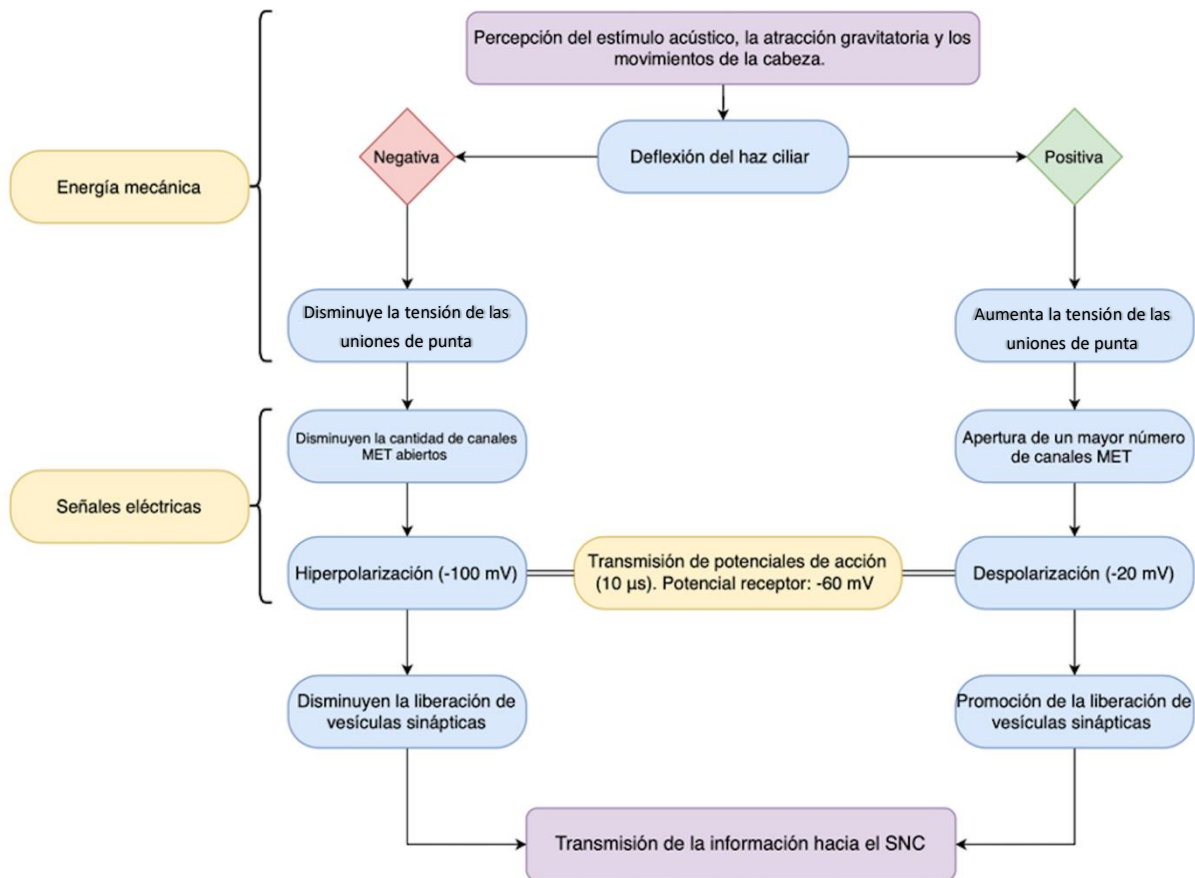
Esta organización parece ser característica de las sinapsis de células sensoriales que responden a estímulos sostenidos y graduados, como las sinapsis de los fotorreceptores y neuronas bipolares en el sistema visual. Debido a que una fracción de los canales MET está normalmente abierta en ausencia de estimulación sonora, la corriente MET despolarizante hacia el interior resultante conduce a la liberación espontánea de glutamato en las sinapsis de la cinta CCI. La liberación de neurotransmisores en reposo modula la tasa de potenciales de acción espontáneos en las aferentes de tipo I que muestran umbrales y sensibilidad variables en respuesta al sonido (Matthews y Fuchs, 2010; Grant et al., 2010).

Asimismo, la microscopía electrónica ha revelado que las uniones de punta juegan un papel esencial en la generación de potenciales eléctricos en las células mecanorreceptoras. Puesto que, ante un estímulo positivo o negativo, estas uniones aumentan o disminuyen su tensión, afectando la probabilidad de apertura y cierre de los canales, respectivamente (Hudspeth, 2000).



**Figura 9.** Ilustración de la estimulación en el haz ciliar (modificado de Michalski, 2014).

Por esta razón, se ha propuesto que las uniones de punta transmiten fuerza mecánica al canal MET y posiblemente actúen como el resorte que regula su función. Las deflexiones inducidas por el sonido modulan la tensión de las uniones de punta, que controlan la apertura de los canales (Figura 10). De acuerdo con este modelo, la transducción se pierde cuando se interrumpen las uniones de punta y la tracción directa en el enlace de punta abre el canal MET (Assad et al., 1991)

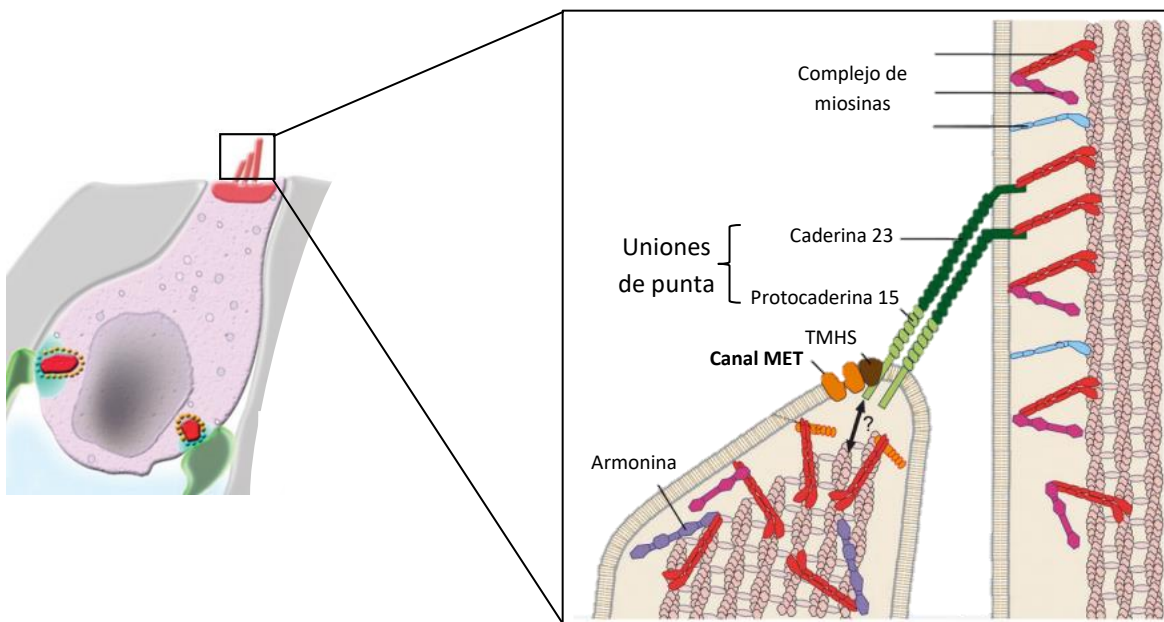


**Figura 10.** Diagrama del proceso de mecanotransducción.

Se han identificado proteínas que regulan la función del canal de mecanotransducción en las células ciliadas. Entre ellas se encuentran la protocadherina-15 (PCDH15) y la cadherina-23 (CDH23), también componentes de las uniones de punta. En las células ciliadas maduras, los dos tercios superiores del tip-link está formada por homodímeros de CDH23 y el tercio inferior por homodímeros de PCDH15 (aunque esta configuración puede variar durante el

desarrollo o la reparación); las dos cadherinas interactúan en sus extremos N-terminal para formar un filamento de unión de punta (Kazmierczak et al., 2007).

Otra proteína, la armonina, que puede unirse a CDH23 y PCDH15 (Figura 11), se distribuye ampliamente en los estereocilios en desarrollo; sin embargo, sólo se concentra en haces ciliares maduros. En los ratones que expresan la armonina con una mutación en su dominio de unión a la actina, la cinética de activación y adaptación de la corriente del transductor en las células ciliadas cocleares se ralentiza, la activación de los canales en diferentes estereocilios dentro de un haz ciliar parece estar menos coordinada. Se han informado observaciones similares para las células ciliadas cocleares de ratones con un alelo de armonina diferente; a diferencia de las células ciliadas cocleares, la adaptación en las células ciliadas vestibulares se aceleró (Michalski et al., 2009).



**Figura 11.** Esquema de la maquinaria en interacción con los canales MET (modificado de Johnson, 2021).

Estos hallazgos relacionan la armonina con la mecanotransducción y sugieren que las mutaciones en su gen pueden afectar a las células ciliadas cocleares y vestibulares de diferentes formas. Aunque todavía debe determinarse el

mecanismo por el cual la armonina afecta la adaptación y la compuerta del canal (Grillet et al., 2009).

### *Propiedades*

Distintos estudios en animales han evidenciado la rápida cinética de activación de los canales MET. Corey y Hudspeth (1983), trabajando con células ciliadas del sáculo de rana toro, demostraron que el canal MET se abre aproximadamente en 40  $\mu$ s. En tortugas, la activación se da en el rango de los microsegundos y varía tonotópicamente. Mientras que, en células ciliadas cocleares de mamíferos, la cinética es tan rápida que ha sido difícil determinarla con precisión mediante sondas de fuerza convencionales (Ricci et al., 2005).

Este canal no es selectivo para cationes, pero tiene una mayor selectividad por  $\text{Ca}^{2+}$  en comparación con otros iones. En condición fisiológica, los estereocilios están sumergidos en la endolinfa, por lo tanto, la mayor parte de la corriente iónica es transportada por  $\text{K}^+$ . Sin embargo, el  $\text{Ca}^{2+}$  afecta directamente la función del canal, puesto que la actividad del canal aumenta cuando el  $\text{Ca}^{2+}$  externo disminuye de una concentración mM a una  $\mu$ M (Corey y Hudspeth, 1983; Ricci et al., 2003; Ricci y Fettiplace, 1998).

Se cree que el canal de transducción está cerrado por un elemento elástico, como un resorte que se estira en respuesta a estímulos mecánicos. Después de la apertura del canal, las células ciliadas se adaptan para mantener su sensibilidad a la estimulación. La adaptación progresa en una escala de tiempo rápida y lenta y está regulada por  $\text{Ca}^{2+}$  que ingresa a los estereocilios tras la estimulación (Cheung y Corey, 2006).

La adaptación a estímulos mecánicos conduce a una disminución de la corriente durante un estímulo constante, pero la estimulación adicional vuelve a aumentar la corriente. En células ciliadas de tortugas, ranas y mamíferos, se observaron dos formas de adaptación, rápida y lenta. Se ha propuesto que la rápida se debe a la unión del  $\text{Ca}^{2+}$  con el propio canal MET. Por otro lado, se cree que la adaptación

lenta está regulada por un complejo motor de miosina en el sitio de inserción superior de las uniones de punta (Cheung y Corey, 2006).

Considerando el trabajo de Assad et al.; durante el estado de reposo, el complejo motor de miosinas es quien genera la tensión en el resorte de la compuerta. Sin embargo, durante la activación, el aumento de la tensión en el resorte se transmite al motor de miosinas de una manera dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$ . Posteriormente, el motor de miosinas se desliza por los filamentos de actina y restaura la tensión hacia el estado de reposo (LeMasurier y Gillespie, 2005; Gillespie y Müller, 2009).

Autores indican que la rápida adaptación en las células ciliadas cocleares es independiente tanto de la entrada como del voltaje del  $\text{Ca}^{2+}$ , mientras que la probabilidad de apertura del canal está modulada por iones divalentes que interactúan con el entorno lipídico local. Sin embargo, otros autores han concluido que la adaptación, incluso en las células ciliadas cocleares, depende del influjo de  $\text{Ca}^{2+}$  (Peng et al., 2013, Corns et al., 2014).

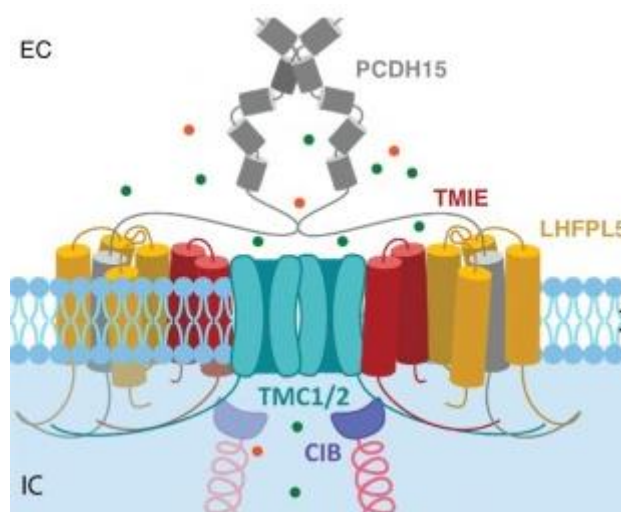
Existe un debate considerable sobre el mecanismo de adaptación y el papel del  $\text{Ca}^{2+}$  en su regulación. Hasta el momento, las posibles explicaciones radican en la variabilidad de especies de estudio y tipos de células ciliadas, así como la forma en que se estimularon estereocilios, por ejemplo, si se emplearon sondas rígidas o chorros de líquido (Peng et al., 2013).

Por último, cabe mencionar la importancia del entorno lipídico en la regulación de los canales MET. Por ejemplo, la modulación de fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP2) en los estereocilios provoca cambios en las propiedades del canal, tales como la pérdida de adaptación rápida, aumento de probabilidad de apertura de canales en reposo, reducción de la conductancia y reducción de la selectividad de  $\text{Ca}^{2+}$ . Otros factores, como el adenosín monofosfato cíclico (AMPc), también pueden contribuir a la activación y adaptación del canal, lo que sugiere múltiples vías de regulación (Effertz et al., 2017; Ricci y Fettiplace, 1998).

### *Composición molecular*

Utilizando imágenes de  $\text{Ca}^{2+}$  de alta velocidad, se demostró que el canal MET sensorial se localiza cerca del extremo inferior de las uniones de punta. De igual forma, mediante el análisis de ratones con mutaciones genéticas causantes de sordera, identificaron varias proteínas con múltiples dominios transmembrana (Figura 12) esenciales para el canal de mecanotransducción sensorial concentradas cerca del extremo inferior de las uniones de punta (Beurg et al., 2009).

Otras proteínas, como CIB2 (Calcium and integrin-binding-2) y TOMT (Transmembrane and O-Methyltransferase), también son esenciales para la mecanotransducción pero no poseen múltiples dominios transmembrana y, por lo tanto, no se considera que sean componentes que contribuyan al poro del canal MET (Erickson et al., 2017; Giese et al., 2017; Michel et al., 2017).



**Figura 12.** Esquema de la composición molecular de los canales sensoriales de mecanotransducción (modificado de Marcovich, 2020).

### *TMC*

Las proteínas transmembranales TMC (Transmembrane channel-like proteins), en particular la TMC1 y TMC2 son consideradas las subunidades formadoras del poro. Esto se sustenta en estudios realizados con ratones modificados

genéticamente que demuestran que ambas proteínas contribuyen al canal MET en células ciliadas cocleares en edades postnatales tempranas. Otros autores han señalado que las mutaciones en el gen codificante de TMC1 provocan pérdida auditiva, dominante o recesiva, en ratones y humanos (Corey y Holt, 2016; Kawashima et al., 2011; Pan et al., 2013; Kurima et al., 2002).

Estudios inmunohistoquímicos con anticuerpos y de fluorescencia han confirmado que las proteínas TMC1/2 están localizadas en las puntas de los estereocilios de células ciliadas tanto cocleares como vestibulares. Otros experimentos han proporcionado evidencia de que TMC1/2 se une a PCDH15 (Maeda et al., 2014; Beurg et al., 2015)

Sin embargo, TMC2 no se expresa en células ciliadas adultas, muestra poca colocalización con TMC1 en células ciliadas y las mutaciones de TMC2 no parecen afectar la función auditiva. Estudios recientes también han demostrado que los cambios en las propiedades de la corriente MET para ratones con mutaciones en *Tmc1* y *Tmc2* pueden ser causados por la modulación de la concentración de PIP2 en el haz ciliar, lo que indica que estos cambios no están directamente relacionados con el poro del canal (Kawashima et al., 2011; Kurima et al., 2015; Effertz et al., 2017).

Además, hasta ahora no se ha encontrado en invertebrados ninguna función de detección mecánica para TMC; en gusanos, se le relaciona con canales sensibles a  $\text{Na}^+$  para la detección de sales y pH; en *Drosophila*, TMC tiene una función de proporcionar retroalimentación sensorial para la locomoción larval; y en *C. elegans*, se ha mostrado una función sexual y metabólica para TMC1. Otras hipótesis alternativas sugieren que las TMC podrían funcionar durante el desarrollo para transportar otras proteínas del canal a su ubicación correcta, o bien, pueden ser componentes estructurales del complejo de transducción, quizás como proteínas enlazadoras que transmiten fuerza al canal pero no son parte de él (Wang et al., 2016; Chatzigeorgiou et al., 2013; Zhang et al., 2016; Zhang et al., 2015; Corey y Holt, 2016).

Por lo anterior, aunque TMC1/2 son candidatos para contribuir al poro del canal MET, se necesitan más estudios para determinar su papel en el complejo de transducción (Pan et al., 2013; Maeda et al., 2014; Kurima et al., 2015; Corey y Holt, 2016).

#### *TMHS/LHFPL5*

TMHS (Tetraspan Membrane protein of Hair cell Stereocilia), también conocida como LHFPL5 (Lipoma HMGIC Fusion Partner-Like 5), es miembro de una pequeña subfamilia dentro de la gran superfamilia de proteínas con cuatro dominios transmembrana. Es la segunda proteína que ha sido implicada como un componente integral del canal MET (Xiong et al., 2012; Mahendrasingam et al., 2017).

Estudios inmunohistoquímicos han demostrado que se localiza en las células ciliadas adultas y en desarrollo cerca del extremo inferior de las uniones de punta, donde se localiza el canal de transducción. Mientras que, experimentos bioquímicos han demostrado que se une al extremo C-terminal de PCDH15, pero hasta ahora no se han podido demostrar interacciones con TMC1/2 (Xiong et al., 2012; Mahendrasingam et al., 2017; Beurg et al., 2015).

Registros han demostrado que, en ausencia de esta proteína, ciertas propiedades del canal se ven alteradas, tales como su conductancia, cinética de activación y adaptación. En cuanto a pruebas genéticas, las mutaciones en *Tmhs/Lhfp15* causan sordera y conducen a una drástica reducción de las corrientes de mecanotransducción en células ciliadas cocleares de ratones (Xiong et al., 2012).

Otros estudios demostraron que TMHS regula el transporte de PCDH15 y TMC1 en los estereocilios de las células ciliadas, lo que afecta el ensamblaje de las uniones de punta y el complejo de transducción. Sin embargo, TMHS no es absolutamente esencial para el transporte de proteínas, ya que el 30% de los estereocilios es capaz de ensamblarse con las uniones de punta en ausencia de TMHS (Beurg et al., 2015; Xiong et al., 2012).

Los hallazgos sugieren que TMHS es un componente integral del complejo MET. Pero, dado que queda algo de corriente residual en las células ciliadas que carecen de TMHS, es poco probable que esta proteína por sí sola forme el poro del canal MET (Xiong et al., 2012).

### *TMIE*

Esta proteína transmembranal del oído interno (Transmembrane Inner Ear), conformada por dos dominios transmembrana, se localiza en las puntas de los estereocilios, cerca de la maquinaria de transducción y se une a una variante de empalme de PCDH15 (PCDH15-CD2) que está directamente implicada en la regulación del canal MET y contiene el dominio de unión que media las interacciones con PCDH15 y TMHS (Zhao et al., 2014).

En las células ciliadas cocleares deficientes en *Tmie*, no se detectan corrientes MET, a pesar de que las uniones de punta permanecen intactas y todos los componentes conocidos de la maquinaria MET se encuentren en los estereocilios. De manera similar, la transducción se interrumpe por la expresión de un fragmento de proteína PCDH15 que perturba las interacciones entre PCDH15 y TMIE (Naz et al., 2002).

En conjunto, estos resultados sugieren que PCDH15, TMIE y TMHS forman un complejo crítico para el canal MET. Sin embargo, aún no se ha establecido la función precisa de TMIE en el complejo de transducción (Zhao et al., 2014).

### *Efecto de los bloqueadores de canales MET*

En la última década se han realizado diversas investigaciones sobre el efecto del bloqueo de los canales sensoriales de mecanotransducción, considerando la funcionalidad de los haces esterociliares, sus variaciones en longitud y diámetro, su recuperación y/o regeneración, así como el papel del calcio en el núcleo de actina de los estereocilios.

Indzhukulian et al. (2013) utilizaron explantes del órgano de Corti de ratones postnatales jóvenes para analizar el bloqueo de los canales con amilorida y

benzamil a concentraciones de 100  $\mu\text{M}$  y 30  $\mu\text{M}$ , respectivamente. También cultivaron explantes en presencia de benzamil durante 24 horas. A estas concentraciones, se espera que los bloqueadores inhiban en un 75% (amilorida) y 90% (benzamil) la corriente MET inducida por las desviaciones del haz de pelo (Rusch et al., 1994).

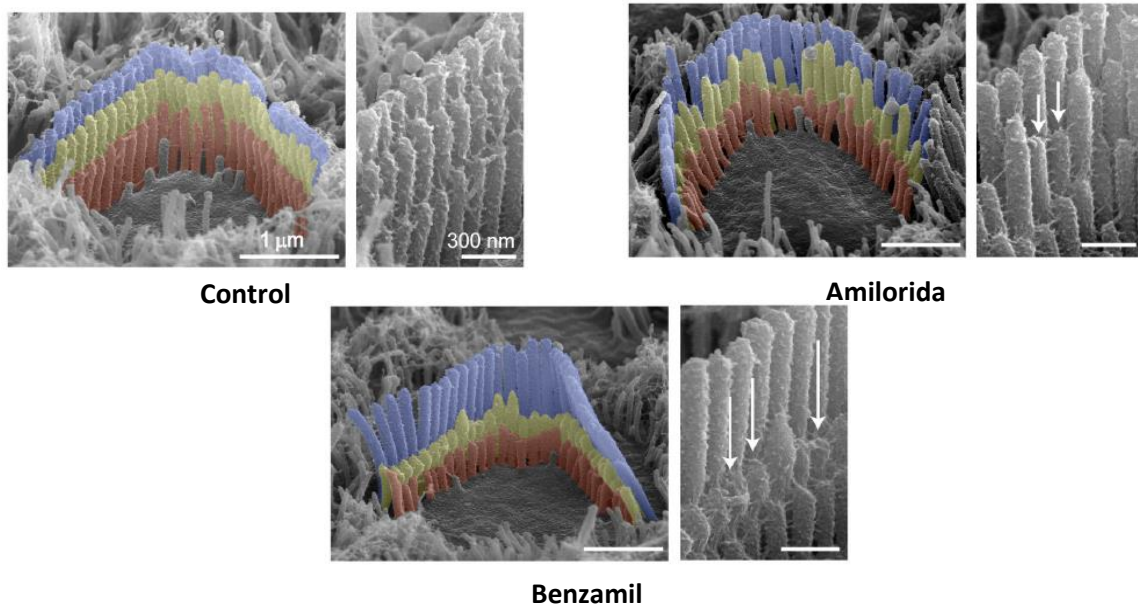
Mediante imágenes de microscopía electrónica de barrido, descubrieron que ambos agentes causaron cambios dramáticos en la morfología escalonada de los haces de las CCE; además se confirmó que, después de un bloqueo MET a largo plazo, los canales MET permanecen inhibidos pero siguen siendo funcionales (Indzhukulian et al., 2013).

Ninguno de los bloqueadores afectó la longitud de los estereocilios más altos de las CCE. En contraste, los estereocilios de la segunda y tercera fila exhibieron cambios en su morfología después de la incubación; especialmente en respuesta al benzamil, muchos estereocilios se acortaron (Figura 13). Estos resultados indican la retracción o desmontaje del núcleo de actina. El efecto de la amilorida fue similar, pero produjo una mayor variabilidad de las alturas de los estereocilios. El efecto del bloqueo de la corriente MET sobre la altura de los estereocilios transductores fue dependiente de la dosis (Indzhukulian et al., 2013).

Los efectos de los bloqueadores MET en la morfología de escalera de los haces de las CCI fueron similares a los observados en las CCE. Sin embargo, las CCI demostraron una disminución menor en las alturas de los estereocilios en comparación con las CCE de los mismos explantes. Al igual que en las CCE, el bloqueo a largo plazo en las CCI no provocó la pérdida de las uniones de punta. Esto puede indicar que estos estereocilios expresan canales MET funcionales o bien que su regulación depende de la concentración de calcio intracelular, que se espera disminuya después del bloqueo del canal (Indzhukulian et al., 2013).

Por otro lado, al explorar si el acortamiento de los estereocilios observado era permanente, tras un periodo de recuperación de los fármacos, los estereocilios de la segunda y tercera fila volvieron a crecer hasta alcanzar las mismas alturas que

en los explantes control. Estos datos sugieren que los efectos de los bloqueadores MET sobre los estereocilios transductores son reversibles y que es probable que la corriente MET regule dinámicamente la altura de los mismos (Indzhukulian et al., 2013).



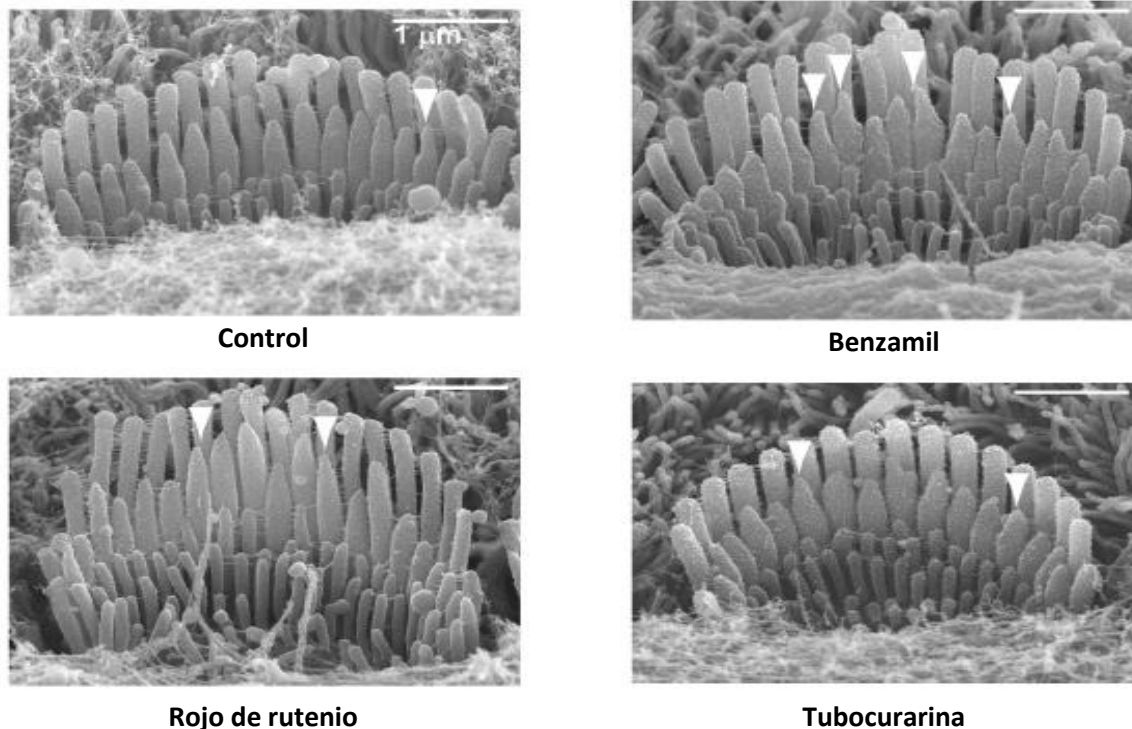
**Figura 13.** Se puede apreciar el efecto de los bloqueadores en la longitud de los estereocilios (modificado de Vélez-Ortega et al., 2017).

En otras publicaciones, se compararon los efectos de tres bloqueadores a distintas concentraciones, el benzamil (30 mM), rojo de rutenio (10 mM) y tubocurarina (30 mM), previamente se ha demostrado que bloquean el 80-90% de la corriente MET. Las muestras fueron incubadas durante 5 horas, lo que condujo a una retracción más pequeña, pero significativa (Figura 14), de los cilios de las filas más cortas en CCE de ratón. Aunque estos fármacos tienen diferentes efectos secundarios, el hecho de que todos produzcan un acortamiento similar, indica que es probable que dicho acortamiento se deba a su acción común: el bloqueo de los canales MET (Rusch et al., 1994; Farris et al., 2004; Vélez-Ortega et al., 2017).

Hasta el momento, todos los bloqueadores de canales MET probados producen adelgazamiento de las puntas de los estereocilios en las CCE (efecto menos notable en las CCI). Así pues, varios investigadores concluyen que dicho

adelgazamiento es causado por la remodelación del núcleo de actina. De hecho, sugieren que los filamentos de actina ubicados en la circunferencia del núcleo de los estereocilios más lejos del canal son más susceptibles al bloqueo de la corriente (Vélez-Ortega et al., 2017).

Además, distintos investigadores se han enfocado en exponer el papel del  $\text{Ca}^{2+}$  en la fisiología de estos canales. En este sentido, Vélez et al. (2017) cargaron explantes de órganos de Corti de rata con derivado de éster acetoximetil junto con BAPTA, un ácido aminopolicarboxílico específico de calcio, (BAPTA-AM). Este tratamiento dio como resultado la acumulación de BAPTA en la célula, aumentando la amortiguación del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular y limitando cualquier efecto dependiente del ion. La integridad de las uniones entre estereocilios no se vio afectada, ya que la concentración  $\mu\text{M}$  de BAPTA-AM extracelular no fue suficiente para disminuir la concentración  $\text{mM}$  de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular. Esto demostró que el aumento de la amortiguación de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular puede iniciar la remodelación y acortamiento de los estereocilios transductores en las células (Peng et al., 2013).



**Figura 14.** Efecto de los bloqueadores en la morfología de punta de los estereocilios (modificado de Vélez-Ortega et al., 2017).

Tanto en CCE como en CCI, el BAPTA reveló la aparición de puntas anormalmente delgadas en los estereocilios de la segunda fila, pero no en la más alta. De igual manera, los efectos de BAPTA intracelular sobre la altura promedio de los estereocilios fueron más notorios en CCE que en CCI. Este efecto, después de BAPTA-AM, no puede atribuirse a la pérdida de corriente MET, porque el BAPTA intracelular no bloquea esta corriente ni cambia la probabilidad de apertura en reposo de los canales MET en las células ciliadas. Cabe destacar que este efecto también se obtiene en presencia de concentraciones casi saturantes de bloqueadores MET (Peng et al., 2013).

Para estudiar si la remodelación de los estereocilios transductores podría iniciarse por cambios en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular, se cultivaron explantes del órgano de Corti a 37 °C durante 1 h en medios con diferentes concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$ . Los autores observaron un acortamiento de estereocilios en CCE cultivadas con  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular bajo y engrosamiento de las puntas de los cilios de la segunda fila en CCI cultivadas con  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular alto. Con estas breves incubaciones, no se destacaron efectos estadísticamente significativos; debido a que incubaciones prolongadas dañan las células, se ha concluido que la remodelación de los estereocilios puede iniciarse no sólo por cambios en la amortiguación del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, sino también por cambios en su concentración extracelular circundante de los haces (Kennedy et al., 2003; Beurg et al., 2010).

Los estudios ya mencionados se han centrado en las puntas de los estereocilios, dejando sin investigar el posible acortamiento de los estereocilios. De modo que, Vélez-Ortega et al. (2017) examinaron los efectos de la rotura del tip-link en la forma de los estereocilios. Rompieron las uniones de punta con un medio extracelular libre de  $\text{Ca}^{2+}$  suplementado con BAPTA durante 15 min. Después del tratamiento, se observó un acortamiento del haz ciliar en las células auditivas cocleares.

Tras la recuperación, las mediciones revelaron una disminución en la altura de los cilios de filas más cortas. Sin embargo, no se observaron puntas anormalmente

delgadas; esto es de esperarse porque la interrupción del tip-link con BAPTA elimina la corriente MET completamente, en contraste con los experimentos con concentraciones no saturantes de bloqueadores MET que pueden resultar en un gradiente de  $\text{Ca}^{2+}$  a través del diámetro del estereocilio y la remodelación preferencial de los filamentos de actina periféricos (Indzhykulian et al., 2013).

Además, los autores señalan que la regeneración de las uniones de punta condujo a la regeneración de los estereocilios más cortos en 6 horas, es decir, cuando ~70% de la corriente MET ha reaparecido. También se observó un acortamiento paralelo pero disminuido en los estereocilios tras su recuperación del tratamiento con BAPTA extracelular (Indzhykulian et al., 2013).

Esta evidencia sugiere que la remodelación de estereocilios se inicia por la reducción (o pérdida completa) de la corriente MET en reposo. La reproducción de estos fenómenos con los cambios intra y extracelulares de  $\text{Ca}^{2+}$  sugiere que el influjo del ion podría representar un componente esencial de la corriente MET que controla la estabilidad del cilio transductor. Sin embargo, se necesita más experimentación para determinar el papel exacto del  $\text{Ca}^{2+}$  en esta remodelación (Indzhykulian et al., 2013).

Es probable que los mecanismos de remodelación del núcleo de actina dependientes de  $\text{Ca}^{2+}$  operen en las puntas próximos a los canales MET y a las proteínas que regulan el crecimiento de los estereocilios. Todos los experimentos dirigidos a reducir el  $\text{Ca}^{2+}$  intraestereociliar resultaron en el acortamiento de los estereocilios transductores o su adelgazamiento en las puntas, mientras que los experimentos diseñados para recuperar o aumentar el  $\text{Ca}^{2+}$  intraestereociliar provocaron el crecimiento de los estereocilios transductores o su engrosamiento en las puntas (Delling et al., 2016).

Considerando lo anterior, el mayor flujo de  $\text{Ca}^{2+}$  en reposo esperado a través de los canales MET en CCE, debería ser extruido de manera efectiva por PMCA2, expresada a una densidad más alta en CCE que en CCI. Ante esto, se espera que el bloqueo de los canales en las CCE produzca una caída mayor en la

concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en reposo, provocando una remodelación más acentuada. Además, el diámetro más grueso de los estereocilios en las CCI puede promover un gradiente de  $\text{Ca}^{2+}$  sobresaliente a través del diámetro del estereocilio y, consecuentemente, producir cambios en la forma de las puntas. Esto ha sido demostrado tanto en células ciliadas de mamíferos y de no mamíferos (Dumont et al., 2001; Beurg et al., 2010; Chen et al., 2012).

Desafortunadamente, las técnicas disponibles actualmente para la obtención de imágenes de los transitorios de  $\text{Ca}^{2+}$  en los estereocilios de células ciliadas cocleares se limitan a imágenes no radiométricas (que no pueden determinar la concentración real de  $\text{Ca}^{2+}$  libre) y son demasiado torpes para resolver gradientes de  $\text{Ca}^{2+}$  a través del estereocilio (Delling et al., 2016).

La limitada comprensión del mantenimiento de los estereocilios aún no permite la propuesta de un mecanismo molecular particular para su remodelación dependiente de MET. Primero, el influjo de  $\text{Ca}^{2+}$  a través de los canales puede tener un efecto variable sobre diferentes isoformas de la actina. Segundo, algunas proteínas que controlan la dinámica de la actina en los estereocilios son sensibles al  $\text{Ca}^{2+}$ . Tercero, el influjo de  $\text{Ca}^{2+}$  puede afectar a varios motores de miosina expresados en el estereocilio; particularmente la miosina-15a y la miosina-3, ambas involucradas en la regulación de la longitud de los estereocilios. Es tentador especular que la fuerza de los motores de miosina puede eventualmente determinar la arquitectura de escalera de los haces, uno de los problemas más enigmáticos de la biología de las células ciliadas (Fang et al., 2015; Delling et al., 2016; Vélez-Ortega et al., 2017).

## IV. Conclusiones

Son notables los avances en la comprensión anatómica, morfológica, fisiológica, biofísica, farmacológica, genética y molecular del fenómeno de transducción mecanoeléctrica llevado a cabo por las células ciliadas de los sistemas auditivo y vestibular. No obstante, también queda claro que hace falta realizar más investigaciones a fin de esclarecer todos los componentes involucrados en este proceso.

Uno de esos componentes, y foco de distintas investigaciones, es el canal de transducción mecanoeléctrica sensorial. Durante las dos últimas décadas, la principal labor ha sido identificar las proteínas que conforman la maquinaria de este canal. Varias proteínas se han considerado candidatas, sin embargo, cada una se ha desvanecido por falta de pruebas adicionales, hasta convenir con las que se abordaron a lo largo de este proyecto (TMC1/2, TMHS y TMIE).

Estas proteínas son mencionadas por todas las publicaciones consultadas y relacionadas a la mecanotransducción, pero también han sido señaladas por diferentes autores por jugar un papel ajeno a la mecanotransducción en distintas especies. Por ello, también es necesario investigar las otras funciones de estas proteínas y determinar si intervienen con la mecanotransducción, o bien no están involucradas.

Respecto al efecto de los bloqueadores de canales MET, las obras consultadas se enfocan en analizar la longitud y diámetro de los estereocilios, la morfología de punta de los mismos, la integridad de las uniones de punta, su recuperación y/o remodelación y el papel del  $\text{Ca}^{2+}$ . Destacando distintos resultados para las filas de estereocilios tanto para CCE como para CCI.

Toda la organización anteriormente mencionada, nos ha permitido una codificación sensorial especializada. Y es esta diversidad de elementos la que nos asegura la descomposición de grandes cantidades de información mecánica en componentes manejables para las vías de los sistemas auditivo y vestibular.

## V. Perspectivas

- La mayoría de las investigaciones consultadas para la elaboración de este proyecto, están enfocadas en el haz ciliar de células ciliadas cocleares, justificando su papel en la recepción de estímulos sonoros y posterior conversión a potenciales de acción. Aun así, se debe hacer hincapié en las células ciliadas vestibulares, puesto que, aunque no están involucradas con la vía auditiva, se encuentran bajo estímulos mecánicos constantes derivados de los movimientos posturales y de la fuerza de gravedad.
- Así también, investigar si los efectos de los bloqueadores de canales MET en células ciliadas vestibulares serían los mismos que en células ciliadas cocleares, a qué concentraciones y durante cuánto tiempo, si se da una recuperación y si existen diferencias entre células tipo I y tipo II.
- Como se mencionó anteriormente, hace falta esclarecer la estructura molecular de la maquinaria de los canales de mecanotransducción eléctrica sensorial, ya que en diversos artículos se les ha atribuido funciones alejadas de la mecanotransducción que pudieran o no afectar el proceso.
- Para limitaciones de este proyecto, sólo se abordaron los canales sensoriales, sin embargo, cabe recalcar la importancia de los demás canales de mecanotransducción conocidos hasta ahora, tales como los canales de polaridad inversa y los canales basolaterales.
- Por último, debido a que la mayoría de los oídos internos de vertebrados contienen alrededor de diez mil células ciliadas y no se han desarrollado líneas celulares que se propaguen a gran escala, además de que el número de moléculas de transducción para cada célula es bastante pequeño, los estudios fisiológicos estiman entre 50 y 200 canales de transducción funcionales por célula, ha sido difícil identificar con total claridad los eventos por los que atraviesa la composición y funcionalidad del canal MET a lo largo del neurodesarrollo.

## VI. Bibliografía

Assad, J. A., Shepherd, G. M., and Corey, D. P. (1991). Tip-link integrity and mechanical transduction in vertebrate hair cells. *Neuron*. 7:985-944. DOI: 10.1016/0896-6273(91)90343-X

Bartual J. P. (1980). Anatomía macro y microscópica del aparato vestibular. Líquidos laberínticos. En: Bartual J. P. *Semiología vestibular* (9-28). Cádiz, España: Unimed.

Beurg, M., Fettiplace, R., Nam, J.-H., & Ricci, A. J. (2009). Localization of inner hair cell mechanotransducer channels using high-speed calcium imaging. *Nature Neuroscience*, 12(5), 553–558. DOI:10.1038/nn.2295

Beurg, M., Goldring, A. C., & Fettiplace, R. (2015). The effects of Tmc1 Beethoven mutation on mechanotransducer channel function in cochlear hair cells. *The Journal of General Physiology*, 146(3), 233–243. DOI:10.1085/jgp.201511458

Beurg, M., Goldring, A. C., Ricci, A. J., & Fettiplace, R. (2016). Development and localization of reverse-polarity mechanotransducer channels in cochlear hair cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(24), 6767–6772. DOI:10.1073/pnas.1601067113

Beurg, M., Kim, K. X., & Fettiplace, R. (2014). Conductance and block of hair-cell mechanotransducer channels in transmembrane channel-like protein mutants. *The Journal of General Physiology*, 144(1), 55–69. DOI:10.1085/jgp.201411173

Beurg, M., Xiong, W., Zhao, B., Muller, U. y Fettiplace, R. (2015). Subunit determination of the conductance of hair-cell mechanotransducer channels. *PNAS*, 112(6), 1589-1594. DOI: 10.1073/pnas.1420906112

Cagov, H., Chichova, M., y Mladenov, M. (2018). Endolymph Composition: Paradigm or Inevitability? *Physiol. Res.*, 67, 175-179. DOI: 10.33549/physiolres.933684

Chabbert, C. (2016). Anatomía y fisiología del vestíbulo. EMC–Otorrinolaringología. E-20-021-A-10. DOI: 10.1016/S1632-3475(16)79683-4.

Chatzigeorgiou, M., Bang, S., Hwang, S. W., & Schafer, W. R. (2013). Tmc-1 encodes a sodium-sensitive channel required for salt chemosensation in *C. elegans*. *Nature*, 494(7435), 95–99. DOI: 10.1038/nature11845

Chen, Z., Das, B., Nakamura, Y., DiGregorio, D. A., Young, S. M. Jr. (2015).  $Ca^{2+}$  channel to synaptic vesicle distance accounts for the readily releasable pool kinetics at a functionally mature auditory synapse. *J Neurosci*, 35, 2083-2100. DOI: 10.1523/jneurosci.2753-14.2015

Cheung, E. L., and Corey, D. P. (2006).  $Ca^{2+}$  changes the force sensitivity of the hair-cell transduction channel. *Biophys. J.* 90, 124–139. DOI: 10.1142/9789812773456\_0047

Corey, D. P., & Holt, J. R. (2016). Are TMCs the Mechanotransduction Channels of Vertebrate Hair Cells? *Journal of Neuroscience*, 36(43), 10921–10926. DOI:10.1523/jneurosci.1148-16.2016

Corey, D., & Hudspeth, A. (1983). Kinetics of the receptor current in bullfrog saccular hair cells. *The Journal of Neuroscience*, 3(5), 962–976. DOI:10.1523/jneurosci.03-05-00962.1983

Corns, L. F., Johnson, S. L., Kros, C. J., and Marcotti, W. (2014). Calcium entry into stereocilia drives adaptation of the mechano-electrical transducer current of mammalian cochlear hair cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 111, 14918–14923. DOI: 10.1073/pnas.1409920111

Correia, M.J., Guedry, F.E. (1998). The vestibular system: basic biophysical and physiological mechanisms. En: Masterson, R. B. *Handbook of Behavioral Neurobiology. Sensory integration* (311-351). Nueva York, EEUU: Plenum Press.

Dallos, P. (1981). Cochlear Physiology. *Annual Review of Psychology*, 32(1), 153–190. DOI:10.1146/annurev.ps.32.020181.001101

Delling, M., Indzhykulian, A. A., Liu, X., Li, Y., Xie, T., Corey, D. P., Clapham, D. E. (2016). Primary cilia are not calcium responsive mechanosensors. *Nature*, 531, 656-660. DOI: 10.1038/nature17426, PMID: 27007841

Dickman, J. D. (2017). The vestibular System. En Haines, D. E. y Mihailoff, G. A. (5ª Ed), *Fundamental Neuroscience for Basic and Clinical Applications* (320-333). Philadelphia, EEUU: ELSEVIER.

Effertz, T., Becker, L., Peng, A. W., & Ricci, A. J. (2017). Phosphoinositol-4, 5-Bisphosphate Regulates Auditory Hair-Cell Mechanotransduction-Channel Pore Properties and Fast Adaptation. *The Journal of Neuroscience*, 37(48), 11632–11646. DOI:10.1523/jneurosci.1351-17.2017

Erickson, T., Morgan, C. P., Olt, J., Hardy, K., Busch-Nentwich, E., Maeda, R. (2017). Integration of Tmc1/2 into the mechanotransduction complex in zebra fish hair cells is regulated by Transmembrane O-methyltransferase (Tomt). *Elife* 6:e1993. DOI: 10.7759/cureus.1993

Escudero, G. M., y Delgado, G. J. M., (2005). Sistema vestibular. En J. A. F. Tresguerres. (3ª Ed), *Fisiología Humana* (229-240). Madrid, España: Mc Graw Hill.

Fang, Q., Indzhykulian, A. A., Mustapha, M., Riordan, G. P., Dolan, D. F., Friedman, T. B., Belyantseva, I. A., Frolenkov, G. I., Camper, S. A., Bird, J. E. (2015). The 133-kDa N-terminal domain enables myosin 15 to maintain mechanotransducing stereocilia and is essential for hearing. *ELife*, 4:e08627. DOI: 10.7554/eLife.08627

Farris, H. E., LeBlanc, C. L., Goswami, J., & Ricci, A. J. (2004). Probing the pore of the auditory hair cell mechanotransducer channel in turtle. *The Journal of Physiology*, 558(3), 769–792. DOI:10.1113/jphysiol.2004.061267

Ferrary, E., Couloigner, V. y Sterkers, O. (2007). Fisiología de los líquidos laberínticos. *EMC - Otorrinolaringología*, 36(4), 1–8. DOI: 10.1016/s1632-3475(07)70314-

Flores, A., Galicia, S. y Gómez, G. (2001). El sistema vestibular: aspectos generales y neurodesarrollo. *Temas Selectos de Neurociencias II*. UAM – PUIS. pp. 180-208.

Giese, A. P. J., Tang, Y.-Q., Sinha, G. P., Bowl, M. R., Goldring, A. C., Parker, A., Ahmed, Z. M. (2017). CIB2 interacts with TMC1 and TMC2 and is essential for mechanotransduction in auditory hair cells. *Nature Communications*, 8(1). DOI:10.1038/s41467-017-00061-1

Gil-Carcedo, E., Ortega, C., Vallejo, L. A. y Gil-Carcedo, M. (2002). ¿Por qué oímos los sonidos? *Fisiología de la audición*. Seminario Médico, 54(2), 73-88.

Gil-Loyzaga, P. y Pujol, R. (2005). Fisiología del receptor y la vía auditiva. En J. A. F. Tresguerres. (3ª Ed), *Fisiología Humana* (217-228). Madrid, España: Mc Graw Hill.

Gillespie, P.G., and U. Müller. 2009. Mechanotransduction by hair cells: models, molecules, and mechanisms. *Cell*. 139:33–44. DOI:10.1016/j.cell .2009.09.010

Grant, L., Yi, E., Glowatzki, E. (2010). Two models of release shape the postsynaptic response at a single ribbon synapse. *Proc Natl Acad Sci*, 104, 16341-16346. DOI: 10.1073/pnas.0705756104

Holt, R. J., y Corey, D. P. (2000). Two mechanisms for transducer adaptation in vertebrate hair cells. *Proc Natl Acad Science*, 97: 11730-11735

Hudspeth, A. (1983) Mechanoelectrical transduction by hair cells in the acousticolateralis sensory system. *Ann. Rev. Neurosc.* 6: 187-215.

Hudspeth, A. J. (2000). Hearing. E. Kandel; J. H. Schwartz; T. M. Jessell (Eds.). *Principles of Neural Science*. 4a ed. McGraw-Hill, Nueva York, NY, EE. UU. pp. 590-613.

Hudspeth, A. J. y Corey, D. P. (1977). Sensitivity, polarity, and conductance change in the response of vertebrate hair cells to controlled mechanical stimuli. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 74:2407-2411. DOI: 10.1073/pnas.74.6.2407

Indzhykulian, A. A., Stepanyan, R., Nelina, A., Spinelli, K. J., Ahmed, Z. M., Belyantseva, I. A., Friedman, T. B., Barr-Gillespie, P. G. and Frolenkov, G. I. (2013). Molecular Remodeling of Tip Links Underlies Mechanosensory Regeneration in Auditory Hair Cells. *PLoS Biol* 11(6): e1001583. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001583

Johnson, S. L., Safieddine, S., Mustapha, M. y Marcotti, W. (2021). Hair Cell Afferent Synapses: Function and Dysfunction. *Cold Spring Harb Perspect Med*. DOI: 10.1101/cshperspect.a033175

Kawashima, Y., Géléoc, G. S., Kurima, K., Labay, V., Lelli, A., Asai, Y., et al. (2011). Mechanotransduction in mouse inner ear hair cells requires transmembrane channel-like genes. *J. Clin. Invest.* 121, 4796–4809. DOI: 10.1172/JCI60405

Kazmierczak, P., Sakaguchi, H., Tokita, J., Wilson-Kubalek, E. M., Milligan, R. A., Müller, U., & Kachar, B. (2007). Cadherin 23 and protocadherin 15 interact to form tip-link filaments in sensory hair cells. *Nature*, 449(7158), 87–91. DOI: 10.1038/nature06091

Koppl, C., Wilms, V., Russell, I. J. and Northwang, H. G. (2018). Evolution of Endolymph Secretion and Endolymphatic Potential Generation in the Vertebrate Inner Ear. *Brain Behav Evol*, 92:1-31. DOI: 10.1159/000494050

Kurima, K., Ebrahim, S., Pan, B., Sedlacek, M., Sengupta, P., Millis, B. A., Kachar, B. (2015). TMC1 and TMC2 Localize at the Site of Mechanotransduction in Mammalian Inner Ear Hair Cell Stereocilia. *Cell Reports*, 12(10), 1606–1617. DOI:10.1016/j.celrep.2015.07.058

Kurima, K., Peters, L. M., Yang, Y., Riazuddin, S., Ahmed, Z. M., Naz, S., Griffith, A. J. (2002). Dominant and recessive deafness caused by mutations of a novel gene, TMC1, required for cochlear hair-cell function. *Nature Genetics*, 30(3), 277–284. DOI: 10.1038/ng842

LeMasurier, M., and Gillespie, P. G. (2005). Hair-cell mechanotransduction and cochlear amplification. *Neuron* 48, 403–415. DOI: 10.1016/j.neuron.2005.10.017

Lévêque, M., Seidermann, L., Ulmer, E., Chays, A. (2009). Fisiología vestibular: bases anatómicas, celulares, inmunohistoquímicas y electrofisiológicas. EMC – Otorrinolaringología. E – 20-198-A-10.

Maeda, R., Kindt, K. S., Mo, W., Morgan, C. P., Erickson, T., Zhao, H., Nicolson, T. (2014). Tip-link protein protocadherin 15 interacts with transmembrane channel-like proteins TMC1 and TMC2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(35), 12907–12912. DOI:10.1073/pnas.1402152111

Mahendrasingam, S., Fettiplace, R., Alagramam, K. N., Cross, E., & Furness, D. N. (2017). Spatiotemporal changes in the distribution of LHFPL5 in mice cochlear hair bundles during development and in the absence of PCDH15. *PLOS ONE*, 12(10), e0185285. DOI:10.1371/journal.pone.0185285

Marcovich, I., and Holt, J. R. (2020). Evolution and function of Tmc genes in mammalian hearing. *Current Opinion in Physiology*. Elsevier. DOI: 10.1016/j.cophys.2020.06.011

Matthews, G. y Fuchs, P. A. (2010). The diverse roles of ribbon synapses in sensory neurotransmission. *Nat Rev Neurosci*, 11, 812-822. DOI: 10.1038/nrn2924

Michalski, N. y Petit, C. (2014). Genetics of auditory mechano-electrical transduction. *Pflugers Arch-Eur J Physiol*. DOI: 10.1007/s00424-014-1552-9

Michalski, N., V. Michel, E. Caberlotto, G.M. Lefèvre, A.F. van Aken, J.Y. Tinevez, E. Bizard, C. Houbron, D. Weil, J.P. Hardelin. (2009). Harmonin-b, an actin-binding scaffold protein, is involved in the adaptation of mechano-electrical transduction by sensory hair cells. *Pflugers Arch*. 459:115–130. DOI: 10.1007/s00424-009-0711-x

Michel, V., Booth, K. T., Patni, P., Cortese, M., Azaiez, H., Bahloul, A., et al. (2017). CIB2, defective in isolated deafness, is key for auditory hair cell

mechanotransduction and survival. *EMBO Mol. Med.* 9, 1711–1731. DOI: 10.15252/emmm.201708087

Naz, S., Giguere, C. M., Kohrman, D. C., Mitchem, K. L., Riazuddin, S., Morell, R. J., Wilcox, E. R. (2002). Mutations in a Novel Gene, TMIE, Are Associated with Hearing Loss Linked to the DFNB6 Locus. *The American Journal of Human Genetics*, 71(3), 632–636. DOI: 10.1086/342193

Pan, B., Géléoc, G. S., Asai, Y., Horwitz, G. C., Kurima, K., Ishikawa, K., Holt, J. R. (2013). TMC1 and TMC2 Are Components of the Mechanotransduction Channel in Hair Cells of the Mammalian Inner Ear. *Neuron*, 79(3), 504–515. DOI:10.1016/j.neuron.2013.06.019

Peng, A. W., Effertz, T., and Ricci, A. J. (2013). Adaptation of mammalian auditory hair cell mechanotransduction is independent of calcium entry. *Neuron* 80, 960–972. DOI: 10.1016/j.neuron.2013.08.025

Pickles, J. O., Comis, S. D., & Osborne, M. P. (1984). Cross-links between stereocilia in the guinea pig organ of Corti, and their possible relation to sensory transduction. *Hearing Research*, 15(2), 103–112. DOI: 10.1016/0378-5955(84)90041-8

Precht, W. (1979). Vestibular mechanism. *Ann Rev Neurosci*, 2: 265-289

Ricci, A. J., and Fettiplace, R. (1998). Calcium permeation of the turtle hair cell mechanotransducer channel and its relation to the composition of endolymph. *J. Physiol.* 506, 159–173. DOI: 10.1111/j.1469-7793.1998.159bx.x

Ricci, A. J., Crawford, A. C., and Fettiplace, R. (2003). Tonotopic variation in the conductance of the hair cell mechanotransducer channel. *Neuron* 40, 983–990. DOI: 10.1016/s0896-6273(03)00721-9

Ricci, A. J., Kennedy, H. J., Crawford, A. C., and Fettiplace, R. (2005). The transduction channels filter in auditory hair cells. *J. Neurosci.* 25, 7831–7839. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1127-05.2005

Robles, L. y Ruggero, M, A. (2001). Mechanics of the mammalian cochlea. *Physiol Rev* 81: 1305-1352.

Rodríguez, M, R. y A'Gaytán, R., P. (2006). Manual de audioprotésismo. Blauton. Soluciones Auditivas. Jalisco, México.

Sauvage, J.-P., Puyraud, S., Roche, O., & Rahman, A. (2000). Anatomía del oído interno. *EMC - Otorrinolaringología*, 29(1), 1–19. DOI: 10.1016/s1632-3475(00)71947-3

Schwander, M., Kachar, B. y Müller, U. (2010). The cell biology of hearing. *The Journal of cell biology*. *J. Cell Biol.* Vol. 190 No. 1, pp. 9-20.

Uribe, E. R. y Durand, R. J. A. (2005). Bases técnicas y fisiológicas de las emisiones otoacústicas transitorias. *An Orl*, 50(4), 103-111

Vélez-Ortega, A. C., Freeman, M. J., Indzhykulian, A. A., Grossheim, J. M. y Frolenkov, G. I. (2017). Mechanotransduction current is essential for stability of transducing stereocilia in mammalian auditory hair cells. *eLIFE*. DOI: 10.7554/eLife.24661

Vidal, P.P., Cullen, K., Curthoys, I.S., Du Lac, S., Holstein, G., Idoux, E., Lysakowski, A., Peusner, K., Sans, A., Smith, P. (2015). *The Vestibular System. The Rat Nervous System, Fourth Edition*. DOI: 10.1016/B978-0-12-374245-2.00028-0

Wang, X., Li, G., Liu, J., Liu, J., & Xu, X. Z. S. (2016). TMC-1 Mediates Alkaline Sensation in *C. elegans* through Nociceptive Neurons. *Neuron*, 91(1), 146–154. DOI:10.1016/j.neuron.2016.05.023

Xiong, W., Grillet, N., Elledge, H. M., Wagner, T. F. J., Zhao, B., Johnson, K. R., Müller, U. (2012). TMHS Is an Integral Component of the Mechanotransduction Machinery of Cochlear Hair Cells. *Cell*, 151(6), 1283–1295. DOI:10.1016/j.cell.2012.10.041

Zhang, L., Gualberto, D. G., Guo, X., Correa, P., Jee, C., & Garcia, L. R. (2015). TMC-1 attenuates *C. elegans* development and sexual behavior in a chemically defined food environment. *Nature Communications*, 6(1). DOI:10.1038/ncomms7345

Zhang, Y. V., Aikin, T. J., Li, Z., & Montell, C. (2016). The Basis of Food Texture Sensation in *Drosophila*. *Neuron*, 91(4), 863–877. DOI: 10.1016/j.neuron.2016.07.013

Zhao, B., Wu, Z., Grillet, N., Yan, L., Xiong, W., Harkins-Perry, S., & Müller, U. (2014). TMIE Is an Essential Component of the Mechanotransduction Machinery of Cochlear Hair Cells. *Neuron*, 84(5), 954–967. DOI: 10.1016/j.neuron.2014.10.041

# ANEXOS



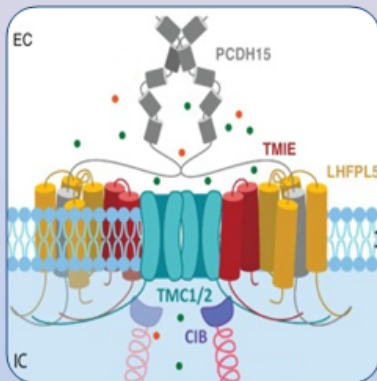
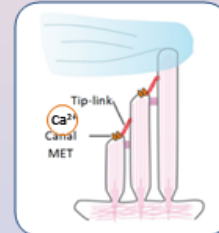
**Benemérita Universidad Autónoma de Puebla**

Facultad de Medicina | Licenciatura en Biomedicina  
 Instituto de Fisiología | Laboratorio de Neurobiología



## Canales de transducción mecanoeléctrica (MET) en células ciliadas del oído interno

En el oído interno coexisten el sistema auditivo y el sistema vestibular, encargados de la audición y del equilibrio, respectivamente. Ambos sistemas, cuentan con células ciliadas mecanosensibles, las cuales, debido a su morfología especializada (el haz ciliar), son las responsables de llevar a cabo el proceso de **mecanotransducción**, es decir, la conversión de estímulos mecánicos a señales eléctricas que viajan hacia el sistema nervioso central.



### Canal MET

Las células ciliadas expresan diferentes canales iónicos activados mecánicamente. Uno de ellos es el canal MET. Se localiza en las puntas de los estereocilios, exactamente en la base de los tip-links. Tras una deflexión positiva del haz ciliar, aumenta la tensión de los tip-links, causa la apertura de los canales MET y la consecuente despolarización de la célula desencadena la fusión de vesículas sinápticas. Ocurre lo contrario en caso de una deflexión negativa.

Utilizando diversos métodos bioquímicos, se han identificado distintas proteínas transmembranales asociadas a PCDH15, una proteína formadora del tip-link, esenciales para el canal:

- TMC (isoformas 1 y 2)
- TMHS/LHFPL5
- TMIE

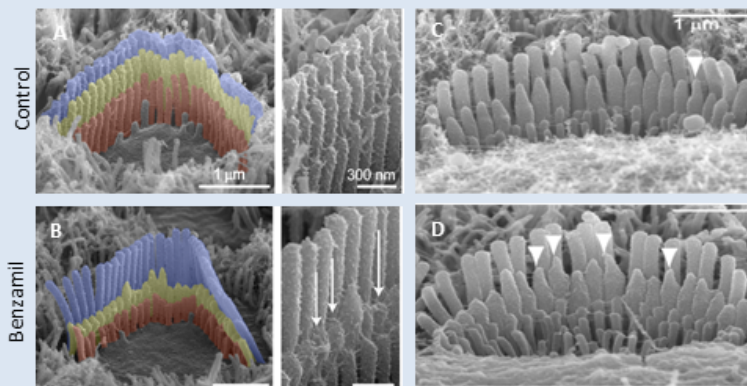
Marcovich, 2020; Johnson, 2021

### Conclusiones

A pesar de los avances en la comprensión biofísica, fisiológica, anatómica, morfológica, molecular y farmacológica hace falta realizar más estudios a fin de esclarecer la maquinaria de mecanotransducción y de la sinapsis en los sistemas auditivo y vestibular.

Por último, se resalta la importancia de indagar en el papel de otros canales mecanosensibles, así como los fenómenos por los que atraviesan las células ciliadas durante el neurodesarrollo.

### Efecto del bloqueador de canales MET (benzamil, 30µM y 30mM) en los estereocilios



Después de la incubación, los estereocilios de la 2<sup>da</sup> y 3<sup>ra</sup> fila se acortaron (B), así como cambios en su morfología de punta (D). Hasta el momento, ningún bloqueador ha afectado la longitud de los estereocilios más altos de las CCE.

Vélez-Ortega, 2017