

Registro de los potenciales microfónicos cocleares en la rata Wistar y en el pollo (*Gallus gallus*).

Mar Sanjuán Martínez-Conde¹. Bárbara Romero Gómez². Beatriz Plaza Marcos³.

- (1) Licenciada en Veterinaria por la Universidad Alfonso X El Sabio. Estudiante de Enfermería (3º de Grado) de la Escuela de Enfermería, Fisioterapia y Podología de la Universidad Complutense de Madrid.
- (2) Estudiante de Biología (5º curso) de la Facultad de Biología de la Universidad Complutense de Madrid.
- (3) Estudiante de Enfermería (4º de Grado) de la Escuela de Enfermería, Fisioterapia y Podología de la Universidad Complutense de Madrid.

Laboratorio de Neurobiología de la Audición, Dpto. de Oftalmología y Otorrinolaringología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.

marsanjuan@gmail.com

Francisco Carricondo Orejana. Pablo Gil- Loyzaga.

Laboratorio de Neurobiología de la Audición, Dpto. de Oftalmología y Otorrinolaringología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.

fcarricondo@gmail.com

loyzaga@gmail.com

Abstract

La prevalencia de las enfermedades auditivas en el perro es muy alta, solo en el caso de la otitis externa su incidencia es del 5-20% de la población canina¹ sin embargo existen muy pocos estudios electrofisiológicos realizados sobre el deterioro de la función auditiva a nivel clínico, bien en estados patológicos o por envejecimiento.

El objetivo de este estudio es la obtención del perfil audiométrico normal y de referencia en dos especies animales, la rata Wistar y en el pollo (*Gallus gallus*), basado en el registro del potencial microfónico coclear (PMC).

Los PMC son un método de diagnóstico auditivo electrofisiológico objetivo, pudiendo ser de elección en el estudio del perfil audiométrico en la clínica veterinaria. En medicina humana, se ha encontrado una correlación entre la audiometría subjetiva tonal y el PMC. En veterinaria no podemos realizar esta comparación, sin embargo, sí podemos estimar el perfil audiométrico medio normal para distintos modelos animales. Asentando así la base para la detección estados patológicos en dichas especies.

Para expresar los resultados se han considerado iguales oído izquierdo y derecho, al no existir diferencias significativas entre ambos. Los resultados se expresan en medias y desviaciones típicas.

Ante la imposibilidad de realizar una audiometría tonal convencional en animales, la audiometría microfónico coclear supone una valiosa herramienta diagnóstica.

Palabras clave: potencial microfónico coclear, audiometría objetiva, pollo, rata, células ciliadas externas.

INTRODUCCIÓN. POTENCIALES MICROFÓNICOS COCLEARES (PMC)

Los PMC fueron registrados por primera vez en el gato hace 79 años.² Cinco años después se obtuvieron los primeros registros en humanos.³

Esta técnica fue descrita por Lempert como electrococleografía.⁴ Consistía en la colocación de un electrodo en la ventana oval, al mismo tiempo que se estimula con un clic acústico. El carácter invasivo de la técnica limitó mucho su uso a nivel clínico.

En 1989 se consiguió su registro a través de electrodos de contacto, gracias a una nueva técnica que utiliza como estímulo tonos puros ^{5, 6} esta se ha utilizado desde entonces en el diagnóstico precoz de la sordera en neonatos⁷ y para la valoración de toxicidad inducida por fármacos sobre las células ciliadas externas (CCE). Por estas causas los PMC son una herramienta que aporta valiosa información sobre la fisiología coclear ^{8,9}.

Se han desarrollado estudios que demuestran la existencia de una correlación entre el registro del PMC y la audiometría subjetiva humana, lo cual hace de esta técnica un método objetivo para la valoración de la audición ^{10,11}.

A pesar de haber sido inicialmente estudiados en el gato esta técnica no ha tenido desarrollo la clínica veterinaria.

La teoría de la onda viajera define a la membrana basilar como un “selector de frecuencias” ^{12,13}. Los tonos más agudos estimulan la base de la cóclea y los sonidos mas graves la región del apex¹⁴.

De esta forma, la membrana basilar, sería capaz de seleccionar las CCE que entran en acción produciéndose la “traducción mecánico-eléctrica” de la ondas de presión sonora.

La diferencia de potencial entre la endolinfa y la perilinfa, juega un papel fundamental. Se trata de un potencial estático de entre 100-120 mV que denominamos: potencial endococlear.

Gracias a este potencial y al movimiento de los cilios, se produce en las CCE la apertura de canales iónicos poco selectivos. El ión K^+ que esta en mayor concentración en la endolinfa, entra despolarizando la célula ciliada. Tras la despolarización se reestablece el equilibrio iónico debido a la apertura de los canales de Ca^{2+} voltodependientes. Así las CCE son las responsables de generar el potencial microfónico coclear que es el primer potencial producido después del estímulo acústico.

OBJETIVOS

- Se han citado trabajos en los que la rata ha servido de modelo animal para el registro de PMC, por lo que ya existen protocolos establecidos para esta especie. No es así para el registro en aves, en las cuales es necesario establecer un protocolo de registro.
- Determinación del perfil audiométrico objetivo normal en el pollo y la rata, que servirá como curva patrón para la determinación de alteraciones auditivas en futuros estudios clínicos.

MATERIAL Y MÉTODO

Material.

El estudio se ha realizado en 10 ratas macho Wistar adultas y 10 pollos macho.

El equipo empleado para la medida de los PMC es el modelo PM-08 de la empresa Electrónica General Española S.L. Su calibración en dB se realizó mediante un amplificador de medida Brüel Kjaer modelo 2.607 y una cavidad estándar de acoplamiento al tubo acústico.

En el equipo se pueden diferenciar dos sistemas, compuestos por varias unidades: uno de estimulación y otro de amplificación.

Sistema de estimulación.

El generador de estímulo que dispone de un selector de frecuencias y de un decibelímetro calibrado hasta 120 dB por reciprocidad con un audiómetro clínico. Este produce también el trigger.

El sistema de estimulación consta de un transductor blindado. Este es el encargado de traducir la señal eléctrica en sonido que llegará al paciente a través un tubo de conducción acústica. El material del tubo, debe de un material plástico "rígido", nunca de silicona, ya que esta al ser mas elástica amortigua el sonido, atenuándolo.

Sistema de amplificación.

El sistema de amplificación esta formado por un preamplificador diferencial con un paso de banda de 250 a 4.000 Hz y una ganancia 40 dB. De el salen los tres electrodos, a través de los cuales recogemos la respuesta (agujas hipodérmicas). A continuación la señal se aplica a un amplificador con filtros, sintonizado a la frecuencia que estemos explorando.

Finalmente y gracias al trigger el ordenador efectúa el promediado de la señal recibida. Así obtendremos el PMC para las distintas frecuencias y podremos visualizar los resultados en la pantalla de trabajo.

Método de registro.

Anestesia:

- Ratas: fueron anestesiadas mediante inyección intraperitoneal con una solución de hidrato del cloral al 8%.
- Pollos: se utilizó una combinación de ketamina 30-40 mg/kg y xilacina 1.35 mg/kg mediante administración intramuscular.

Colocación de los electrodos:

- Ratas: un electrodo en la región parietal, longitudinal a la cresta sagital a nivel del pabellón auricular, y dos ambos lados de la cabeza en el área de proyección de la bulla timpánica.

- Pollos: un electrodo longitudinal a la cresta sagital, y dos a ambos lado de la cabeza posteriores a la apertura circular del conducto auditivo externo, ya que carecen de pabellón auricular.

Una vez colocados los electrodos se registra la impedancia entre ellos, que debe ser lo más baja posible y equivalente a ambos lados.

A continuación se coloca el tubo de conducción acústica. En las ratas fue acoplado al CAE, mediante una oliva. En los pollos se aplica el estímulo colocando en la punta del tubo una campana con el diámetro de la entrada al CAE. Se recortaron las plumas que cubren la apertura del CAE para facilitar el acoplamiento del tubo.

Se realiza el registro de las diferentes respuestas, utilizando como estímulo las frecuencias 250, 500, 1000, 2000 y 4000 Hz. Antes de realizar el registro del PMC para cada frecuencia debemos de calcular el ruido existente que el equipo tomara como valor cero.

Los resultados se almacenan en la memoria del ordenador y son impresos para su posterior interpretación.

RESULTADOS

Para expresar los resultados se han considerado iguales oído izquierdo y derecho, al no existir diferencias significativas entre ambos. El tamaño muestral por tanto será 20 para ambas especies.

Los resultados obtenidos, expresados como la media y la desviación estándar se presentan en forma de gráfica audiométrica (ilustración 1 y 2).

En la ilustración 3 se comparan las curvas obtenidas para ambas especies.

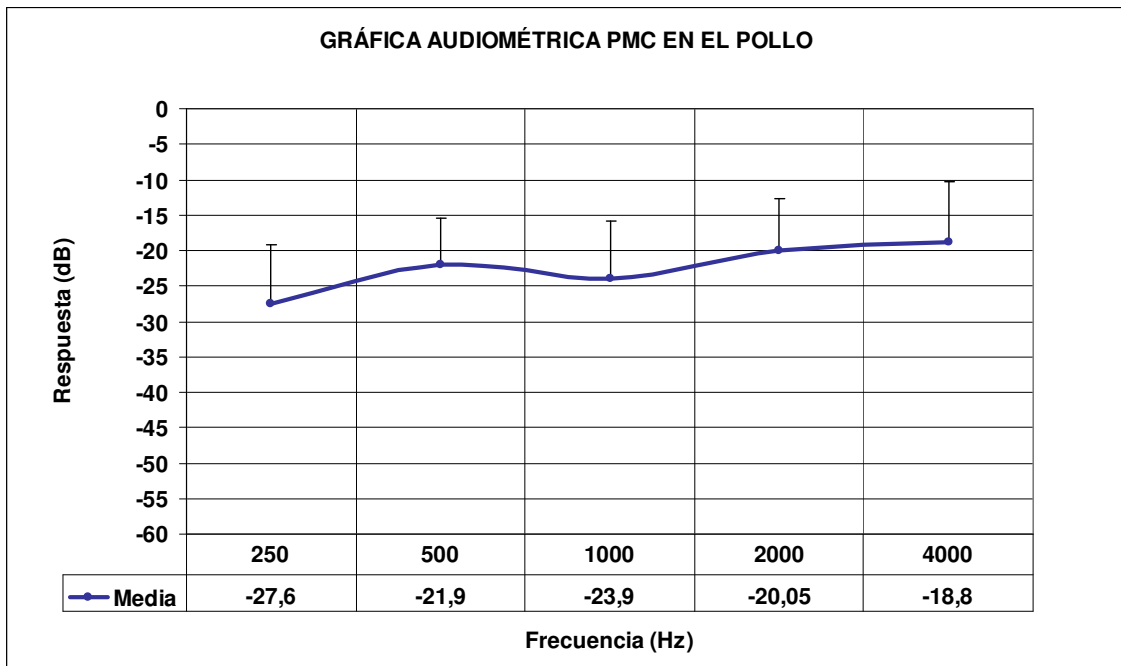


Ilustración 1 Gráfica audiométrica PMC para el pollo. Tamaño de la muestra = 20. Media y desviación estándar para cada frecuencia.

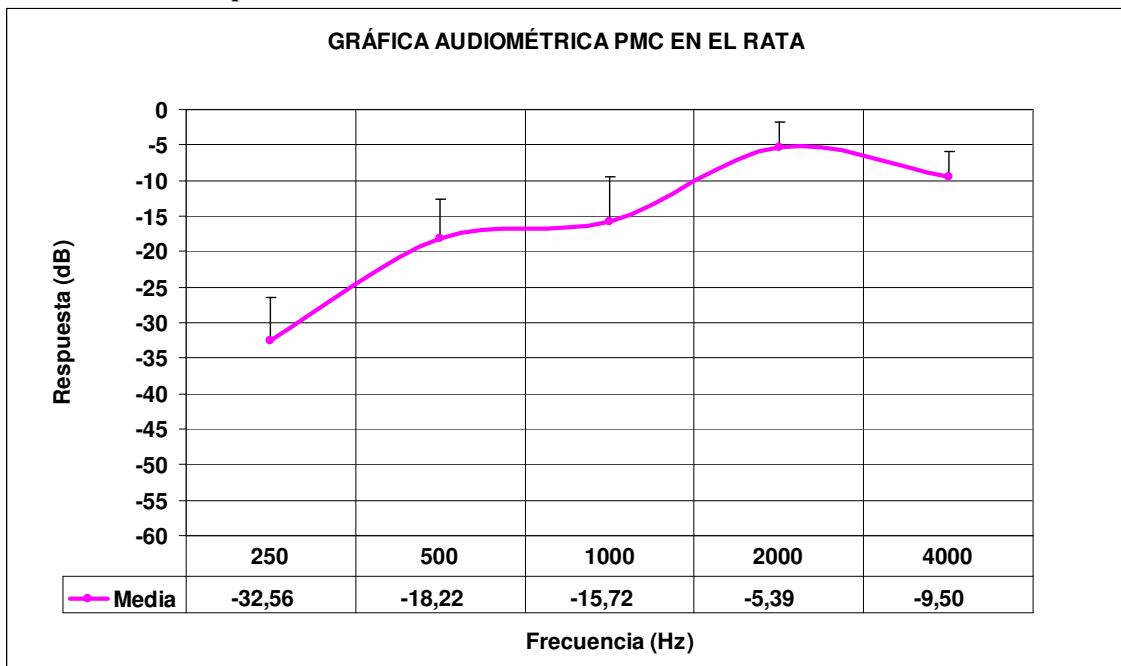


Ilustración 2 Gráfica audiométrica PMC para la rata. Tamaño de la muestra =20. Media y desviación estándar para cada frecuencia.

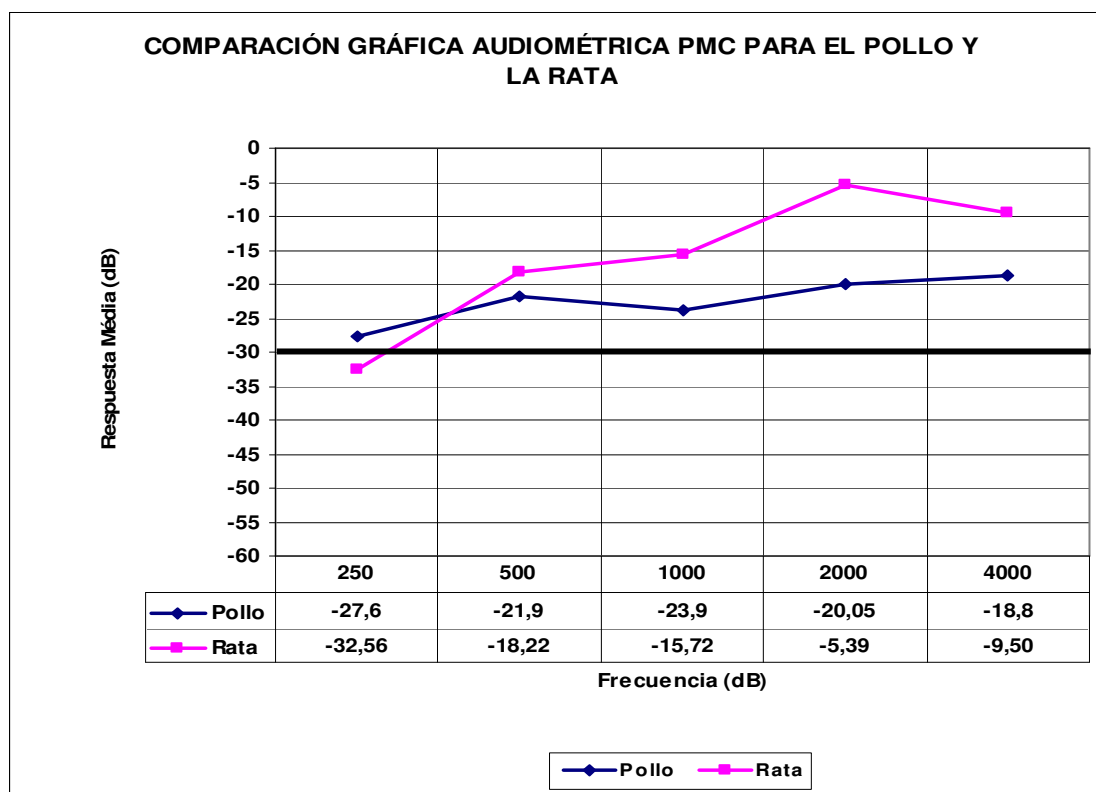


Ilustración 3 Comparación de la gráfica audiométrica PMC para el pollo y la rata. Media obtenida en las frecuencias 250, 500 1000, 2000 y 4000 Hz. Tamaño muestral = 20.

DISCUSIÓN

El correcto acoplamiento del tubo de conducción acústica requiere futuros estudios, dada la gran variedad de morfológica del pabellón auditivo en las especies a estudiar en la clínica veterinaria.

Las características del equipo no permiten explorar todo el rango de frecuencias que pueden detectar estas especies. Especialmente en la rata, explorar un rango más amplio de frecuencias, en lo que respecta a las más agudas sería lo ideal. Sin embargo, de cara a la aplicación en clínica de pequeños animales, las frecuencias que nos permite explorar el equipo corresponden a la voz humana, algo por debajo y algo por encima de la misma. Y estas son las frecuencias que el propietario utiliza en la vida cotidiana para dar órdenes al animal. En un futuro se podría ampliar el sistema llegando así a los 32.000Hz.

El equipo de PMC permite el registro del recruitment ¹⁶, que es el poder diferencial de amplitud auditiva. En futuros estudios su determinación puede contribuir a establecer con mayor exactitud el umbral auditivo y aportar mas información para el diagnóstico.

CONCLUSIONES

- Los PMC pueden ser una alternativa para el estudio de la vía auditiva en la clínica veterinaria.
- Creemos que esta técnica puede ser de utilidad en la práctica clínica dado que el coste económico del aparataje es menor y la interpretación de los resultados es mas sencilla comparativamente que en otras técnicas de electrodiagnóstico.
- Es necesario establecer los perfiles audiométricos normales en distintos modelos animales para el estudio clínico de la función auditiva.

BIBLIOGRAFIA

1. Macy DW, (1989). *Diseases of the ear*. In Ettinger SJ (Ed): *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Philadelphia, WB Saunders: 246-262.
2. Weber EG, Bray CW (1930). Action currents in the auditory nerv in response of acoustical stimulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 16: 334-350.
3. Fromm B, Nylen CO, Zotterman Y (1935). Studies in the mechanism of the Wever and Bray effect. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 22: 477-486.
4. Lempert J, Weber EG, Lawrence M (1947). The cochleogram and its clinical application. A preliminary report. *Ach Otolaryngol* 45: 61-67.
5. Sanjuán J (1989). Cochlear microphonic potentials in audiometry. *Head & Neck Surgery. Proceedings of the XIV World Congress of Otorhinolaryngology, Madrid, Spain*: 1107-1114.
6. Sanjuán J (1998). Study of hearing in premature infants. Evoked cochlear microphonics. *Acta Otorrinolaring ESP* 49:525-523.
7. De los Santos G, Sanjuan J, Gavilán J (1999). Cochlear microphonic potentials with surface electrodes in the diagnosis of sensorineural hearing loss. *Acta Otorrinolaring Esp*. 50 (5): 359-65.
8. Carricondo F (2000). Tesis Doctoral UCM. Facultad de ciencias biológicas. Departamento de Biología Celular. El receptor auditivo de la rata adulta y en desarrollo. Estudio electrofisiológico de lesiones neurotóxicas y ototóxicas.
9. Carricondo F, Gil-Loyzaga P, Sanjuán J, Poch-Broto J (2001). Cochlear microphonic potentials: a new recording technique. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 110: 565-73.
10. Sanjuán J (2007). Audiometría convencional comparada con la audiometría microfonicococlear. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 58 (4):143-50.
11. Gil-Loyzaga P (2008). Coclear microfónico audiometry: a new hearing test for objective diagnosis of deafness. *Acta otorrinolaring Esp* 5:1-6.
12. Guyton AC & Hall JE (2008). *Tratado de fisiología médica. Undécima edición. Capítulo 5: El sentido de la audición*. Editorial Elsevier Saunders. pp. 651-660.
13. Von Békésy (1970). Travelin waves as frequency analysers in the cochlea. *Nature*. 28; 225(5239):1207-9.
14. Von Békésy (1956). Simplified model to demonstrate the energy flow and formation of the travelin waves similar to those found in the cochlea. *Proc Natl Acad Sci U S A Dec*; 42 (12):930-44.
15. Pariente JA (1995). *Fisiología Veterinaria. Parte II Sistema Nervioso. Capítulo 9, Fisiología de la audición*. Editorial McGraw-Hill Interamericana de España: 132-141.
16. Sanjuan J (2008). A procedure to obtain the recruitment using cochlear microphonic potentials. *Acta otorrinolarig Esp*. Mar; 59(3):102-7.