

ARTÍCULO ORIGINAL

Latencia de los microfónicos cocleares



Julio Sanjuán Juaristi* y Mar Sanjuán Martínez-Conde

Unidad de Neurofisiología Experimental, Hospital Ramón y Cajal, Madrid, España

Recibido el 26 de septiembre de 2013; aceptado el 12 de enero de 2014

Disponible en Internet el 19 de junio de 2014

PALABRAS CLAVE

Potenciales
microfónicos
cocleares;
Tiempo de latencia;
Células ciliadas
externas;
Transducción
mecanosensitiva

Resumen

Introducción y objetivo: Empleando la instrumentación adecuada, venimos constatando que los microfónicos cocleares (MC) evocados adelantan o retrasan su aparición en función de la presión sonora que los genera. Esta variación en el tiempo es del orden de microsegundos. No hemos encontrado referencia alguna de este comportamiento, razón por la cual damos conocer el hallazgo.

Material y método: Se emplea instrumentación específica para el estudio de los MC. El método se basa en el desplazamiento de fase de los MC en función de la intensidad del estímulo.

Resultados: Se constata la latencia en los MC y se observa que la misma disminuye a medida que se incrementa la intensidad del estímulo.

Conclusiones: Desde el estímulo sonoro a la traducción en potencial bioeléctrico encontramos un periodo de tiempo en microsegundos, menor a mayor potencia. Esto sugiere que traducción mecano-eléctrica no es un simple proceso de naturaleza mecánica.

© 2013 Elsevier España, S.L. y Sociedad Española de Otorrinolaringología y Patología Cérvico-Facial. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Cochlear microphonic
potentials;
Response latency;
Outer auditory hair
cell;
Mechanosensory
transduction

Cochlear microphonic latency

Abstract

Introduction and objective: By using appropriate instrumentation, we have found that cochlear microphonics (CM) advance or delay their appearance, depending on the sound pressure that generates them. This time variation is on the order of microseconds. We have not found any reference to this behaviour, which is why we make the finding known.

Material and method: We used the standard instrumentation specified for the study of CM. The method was based on the phase shift function of the CM according to the intensity of the stimulus.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: marsanjuan@gmail.com (J. Sanjuán Juaristi).

Results: Latency was observed in CM, and we determined that latency time diminishes as the intensity of the stimulus increases.

Conclusions: From the sound stimulus to the bioelectric potential transduction, there is a time period of microseconds, the shorter the more powerful the stimulus. This suggests that electromechanical transduction is not a simple mechanical process.

© 2013 Elsevier España, S.L. y Sociedad Española de Otorrinolaringología y Patología Cérvico-Facial. All rights reserved.

Introducción

Transcurren aproximadamente 300 milisegundos desde la estimulación del el órgano de Corti hasta la llegada al córtex de la información acústica.

Se considera que este tiempo es la latencia total de la percepción auditiva. Dependiendo del tramo que se estudie, se pueden situar los potenciales evocados en la zona correspondiente.

En función de esta latencia Davis¹ clasifica los resultados en:

- a. Microfónicos cocleares (MC): representan la actividad eléctrica coclear, con latencia 0.
- b. Electrocoqueografía: 1-4 ms²⁻⁵.
- c. Potenciales evocados auditivos del tronco cerebral: 2-12 ms.
- d. Potenciales de estado estable: 2-12 ms.
- e. Potenciales de latencia media: 15-50 ms.
- f. Potenciales de latencia larga: 50-300 ms.

Davis concluye que: «las células ciliadas externas como transductoras de la presión sonora en potencial bioeléctrico carecen de latencia». Hipótesis que desestimamos en este trabajo.

La electrocoqueografía estudia la respuesta microfónica de forma global, no selectiva como en nuestro procedimiento. La onda λ refleja la despolarización del nervio auditivo provocada por la estimulación mediante clic, estímulo de compleja composición armónica y en consecuencia carente de selectividad tonotópica.

La [figura 1A](#) corresponde al primer trazado MC en el ser humano obtenido de forma incruenta, con solo electrodos de contacto en el año 1985 (Hospital Ramón y Cajal). El trazado discontinuo se debe al empleo de un plotter de la época. Puede observarse cómo la respuesta MC se va adelantando para estímulos entre 60, 70 y 80 dB. En la [figura 1B](#) con un rango entre 40-90 dB se aprecia el adelanto de la respuesta para cada incremento. El estudio se realizó en un cobaya.

En nuestros primeros trabajos no valoramos el desplazamiento de fase de los MC en función de la intensidad del estímulo. Perseguíamos tan solo la posibilidad de determinar un perfil audiométrico de forma objetiva. En la actualidad, lograda la audiometría objetiva microfónico coclear, hemos abordado otros temas, como el estudio ya alcanzado del reclutamiento, de forma objetiva⁶, la determinación del efecto de enmascaramiento y la fatiga auditiva, pendientes

de publicación, más la latencia de los receptores sensoriales que hoy nos ocupan. La falta de referencias sobre el comportamiento de las células ciliadas externas probablemente se deba a que el procedimiento que empleamos ha sido muy poco difundido y al desinterés sobre el estudio de los MC, instaurado cuando se determinaron las dificultades para su obtención y consecuentemente para su aplicación en la clínica.

A esta latencia, extremadamente corta, medida en microsegundos, la denominamos microlatencia. El objetivo de esta aportación es demostrar que los receptores sensoriales auditivos son activos bioeléctricamente. Su actividad funcional es hoy cuestión admitida, como factor esencial para la comprensión de la extraordinaria selectividad frecuencial de la audición, frente al simple análisis de filtro pasivo según las teorías de von Békésy⁷⁻¹⁰. El criterio de participación activa de otras estructuras, en la agudeza selectiva es seguido actualmente por numerosos investigadores^{11,12}.

Material y método

Material

Utilizamos un equipo especialmente diseñado para el estudio de los MC ya descrito ampliamente en otros artículos¹³⁻¹⁷. En la [figura 2](#) el equipo queda enmarcado dentro del recuadro blanco.

Disponemos de un estimulador ([fig. 2-1](#)) que genera los tonos audiométricos: 250, 500, 1.000, 2.000 y 4.000 Hz y además el estímulo para el proceso de promediado, con un pulso cada ciclo de onda del estímulo. En otra unidad ([fig. 2-2](#)) tenemos el sistema amplificador sintonizado muy estrechamente sobre las frecuencias utilizadas. El ordenador ([fig. 2-3](#)) dispone del programa adecuado para promediar la señal y presentar los resultados.

El estímulo generado ha de ser necesariamente un tono puro para que la respuesta MC sea una fiel copia senooidal sobre la cual se pueda estudiar la fase. Esta forma de estímulo permite utilizar un amplificador estrechamente sintonizado a cada frecuencia y rechazar así las perturbaciones laterales.

Utilizamos los animales de experimentación que actualmente empleamos: ratas, cobayas y pollos. Esta aportación se ha centrado especialmente en ratas wistar y solo se han realizado controles en cobayas y pollos.

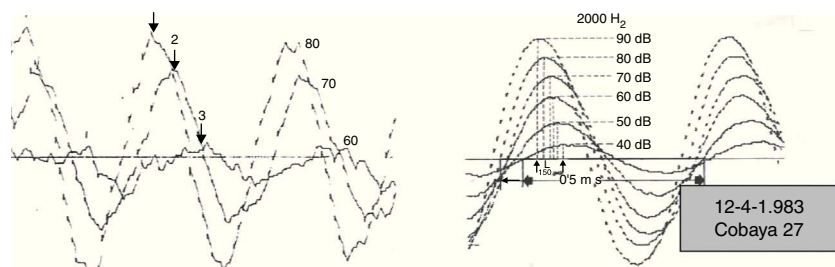


Figura 1 A.- Primer trazado MC en humanos. B.- Trazado en cobaya. En ambos se manifiesta el desplazamiento de fase.

Método

Trabajamos en campo acústico cerrado, única forma de estimular separadamente ambos oídos. En campo libre la más mínima alteración de la distancia o ángulo invalida la medida del desplazamiento de fase.

Enviamos la presión sonora a través un tubo que acoplamos al pabellón auditivo. Cada especie requiere una adaptación adecuada. En las ratas y cobayas, que tienen conducto auditivo, el tubo se acopla mediante una pieza de tamaño y forma específica que se introduce en el CAE. En las aves, que carecen de pabellón y de conducto, hacemos el acoplamiento mediante un tubo de base plana, que se adhiere al entorno exterior del mismo. Utilizamos para ello una mínima cantidad de adhesivo en el reborde plano que asienta en la piel alrededor del orificio y que termina en el tímpano.

Antes de realizar el estudio comprobamos que el conjunto de la instrumentación no introduce nunca alteraciones de fase. Verificamos su comportamiento utilizando un simulador de MC compuesto por un micrófono dinámico y una red de resistencias que sitúan su respuesta al nivel de los MC (fig. 3).

En los trazados procedentes del simulador, a diferentes intensidades sonoras, no se registra el más mínimo desplazamiento de fase. En consecuencia la variación de fase observada en los animales, es de naturaleza biológica, no electrónica ni mecánica.



Figura 2 Laboratorio y equipo para MC.

El tubo acústico de un metro puede introducir cambios de retardo o adelanto en la fase del estímulo si su longitud se altera. Durante la exploración ha de tenerse en cuenta esta crítica circunstancia. Para comprobar que no ha cambiado la distancia entre el transductor y el tímpano, se repite la primera determinación, que ha de dar idéntico resultado.

Ejecución:

Anestesia:

- Ratas: hidrato de cloral al 8% vía intraperitoneal.
- Aves: ketamina 30mg/kg de peso y xilacina 1,35 mg/kg vía intramuscular.

Colocación de electrodos:

Se colocan 3 electrodos, uno en vertex y los otros 2 frente a ambas mastoides. Utilizamos agujas, con un tope de penetración de 3mm. Puede realizarse la prueba con electrodos de contacto, pero alargáramos el proceso al tener que rasurar la zona de contacto. Si se traslada esta técnica a humanos puede hacerse con solo electrodos de contacto.

Una vez dormido el animal, conectadas las piezas de acoplamiento al tubo acústico y colocados los electrodos, procedemos a realizar el estudio.

1. Elegimos como frecuencia de trabajo 4.000 Hz, máxima en nuestro equipo actual para obtener mayor precisión en la medida del tiempo de latencia. Téngase en cuenta que realizamos el promediado de cada onda del estímulo. En consecuencia realizamos el estudio de 4.000 ondas completas por segundo.
2. Damos el estímulo menor y suficiente, generalmente 70 dB para obtener una respuesta microfónica evidente.
3. Guardamos la respuesta.
4. Damos nuevos estímulos a niveles más elevados, 80, 90, 100 y 110 dB.
5. Medimos los desplazamientos de fase en cada incremento y calculamos el tiempo total de adelanto de la fase del MC. La medida se hace a partir del cruce de la gráfica por la línea de «0» correspondiente trazado a 110 dB. A 4.000 Hz el tiempo que estimamos para una onda completa es de 250 microsegundos.

Realizamos el cálculo sobre media onda, que corresponde a un tiempo de 125 microsegundos. Las respuestas microfónicas a 70, 80, 90, 100 y 110 dB van desplazando su posición.

Los desplazamientos de tiempo por adelanto de fase se miden sobre las gráficas correspondientes.

En la figura 4 presentamos los resultados obtenidos en una de las ratas utilizadas.

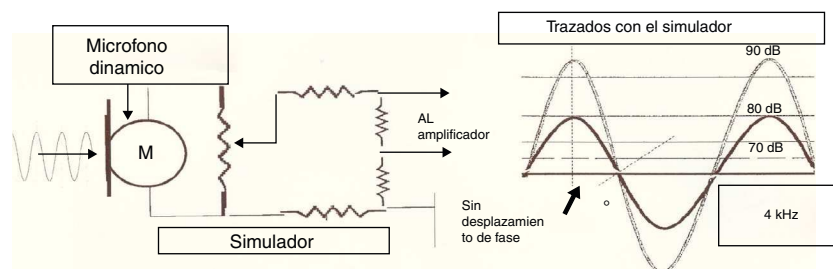


Figura 3 Esquema simplificado del simulador de MC y trazados sin desplazamiento de fase con el mismo.

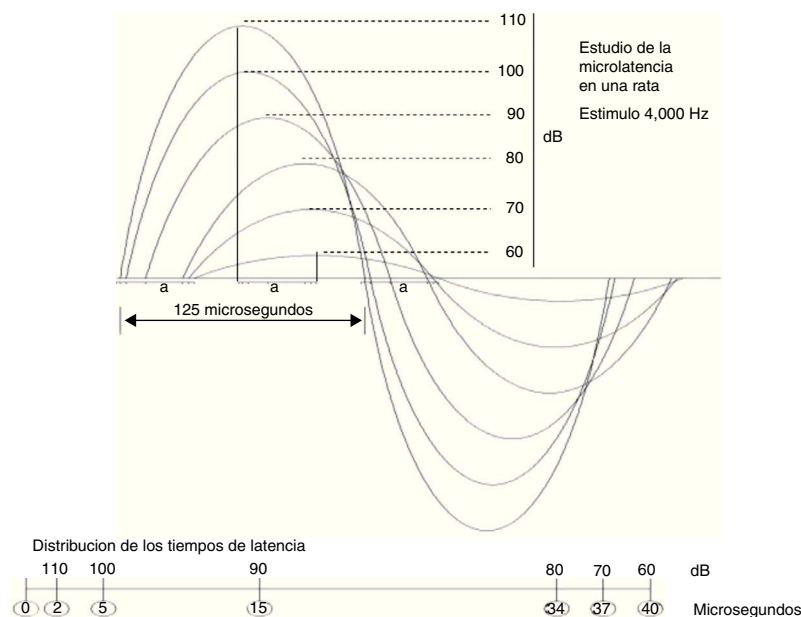


Figura 4 Trazado que muestra el desplazamiento de fase.

Los intervalos señalados con «a» corresponden al total del desplazamiento de fase, que puede medirse al comienzo o salida de la media onda o en su punto de máxima elongación.

La velocidad del sonido en diferentes medios varía. En el aire 340 m/s y en el agua 1.500 m/s. También se altera con la temperatura y en el agua con la concentración de solutos. En consecuencia la determinación del tiempo real de microlatencia depende de la velocidad de propagación del sonido que se estime dentro de la cóclea. Los valores obtenidos para

cualquier medio pueden matemáticamente extrapolarse a otras velocidades de propagación sin que pierda validez la constatación de la latencia de los MC.

Solo consideramos el desplazamiento de fase y no los incrementos de amplitud del MC. Se ha empleado una técnica de compresión dinámica de la amplitud que no afecta a la fase de la respuesta.

En los trazados se observa claramente la variación de la fase ante los cambios de presión sonora.

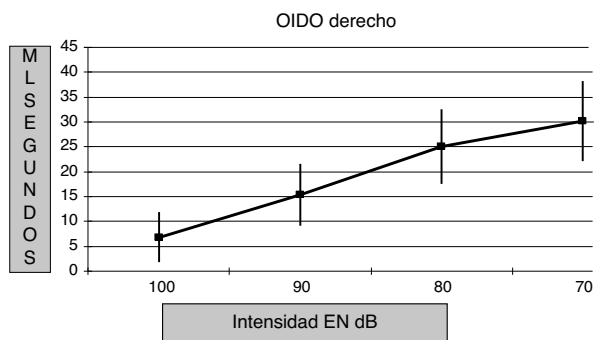


Figura 5 Gráfica del oído derecho de la microlatencia correspondiente a la media de 10 ratas.

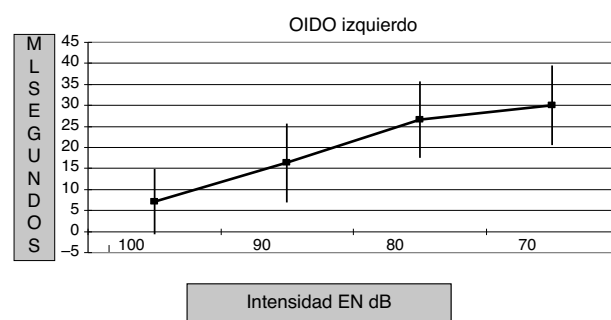


Figura 6 Gráfica del oído izquierdo de la microlatencia correspondiente a la media de 10 ratas.

Tabla 1 Estadísticos descriptivos de ambos oídos a distintas intensidades sonoras (70-100 dB) frente al tiempo (microsegundos)

Intensidad*	Oído	N	Media	Desv. típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
100 dB	Derecho	10	6,81	5,06	1,60	3,19	10,42	0,90	15,66
	Izquierdo	10	7,14	7,78	2,46	1,57	12,71	-0,90	24,1
	Ambos	20	6,97	6,39	1,43	3,98	9,96	-0,90	24,1
90 dB	Derecho	10	15,36	6,26	1,98	10,88	19,84	9,64	26,2
	Izquierdo	10	16,33	9,39	2,97	9,61	23,04	5,42	34,34
	Ambos	20	15,84	7,78	1,74	12,20	19,48	5,42	34,34
80 dB	Derecho	10	25,02	7,45	2,36	19,69	30,35	13,55	36,75
	Izquierdo	10	26,57	9,09	2,88	20,06	33,07	15,96	44,88
	Ambos	20	25,79	8,13	1,82	21,99	29,60	13,55	44,88
70 dB	Derecho	10	30,18	8,04	2,54	24,43	35,93	17,47	44,58
	Izquierdo	10	30,02	9,54	3,02	23,19	36,85	19,88	49,4
	Ambos	20	30,10	8,59	1,92	26,08	34,12	17,47	49,4

Resultados

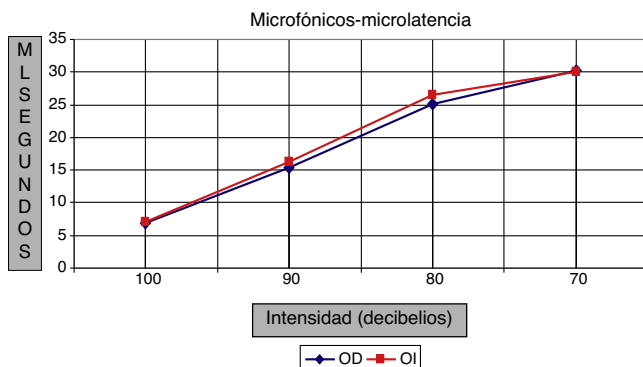
Estadística descriptiva:

La [tabla 1](#) representa los diferentes estadísticos descriptivos de las distintas intensidades sonoras entre 70-100 dB frente al tiempo (microsegundos).

Se toma como referencia (punto 0 o de origen) la intensidad de 110 dB de mínima latencia estudiada y a partir de esta se toman las menores diferencias de tiempo del resto de los estímulos.

Las [figuras 5 y 6](#) representan las diferentes intensidades (en dB) frente al tiempo (en microsegundos) para cada uno de los oídos correspondientes a la media de 10 ratas. Podemos observar cómo en la gráfica «oído derecho» las desviaciones típicas son menores que en la gráfica «oído izquierdo». Esto puede ser debido a:

1. Que el estudio inicial de los microfónicos al oído derecho influya en el estudio posterior del oído izquierdo. Cuestión descartada en nuestros trabajos sobre fatiga auditiva.
2. Que los acopladores al CAE estén dispuestos de manera diferente en ambos oídos e influya en la obtención de los datos.

**Figura 7** Gráfica correspondiente a ambos oídos.

Por otro lado, al aplicar los test estadísticos paramétricos para comprobar si los resultados del oído derecho e izquierdo son independientes obtenemos que:

1. A partir del test de Levene implica que las varianzas son iguales.
2. A partir de la T de student implica que las medias son iguales.

Asumiendo las premisas anteriores y utilizando la ANOVA de un factor podemos tomar ambos oídos como iguales y no independientemente.

La [figura 7](#) «ambos oídos» representa la intensidad (decibelios) frente al tiempo (microsegundos).

Observamos de una manera visual cómo ambos oídos pueden tomarse como si fueran una única muestra a efectos estadísticos.

A partir de aquí utilizaremos una única muestra (OD + OI) de $n=20$. Para la estadística descriptiva, utilizaremos los datos de la columna oído (ambos) que se exponen en la [tabla 2](#).

La gráfica 4 representa las diferentes intensidades (decibelios) frente al tiempo (microsegundos) para ambos oídos.

Se puede observar cómo a intensidades menores el tiempo de respuesta es mayor, siguiendo una proporcionalidad a medida que disminuimos dicha intensidad (100-80 dB), así como las desviaciones típicas (en microsegundos) son más grandes al ir disminuyendo la intensidad sonora (en decibelios). Aplicando pruebas paramétricas específicas, ANOVA* de

Tabla 2 Muestra (OD + OI) de $n=20$. Para la estadística descriptiva

Intensidad	n	Media	Desv. típica
100 dB	20	6,97	6,39
90 dB	20	15,84	7,78
80 dB	20	25,79	8,13
70 dB	20	30,10	8,59

un factor complementado con test posthoc de Bonferroni, las comparaciones entre las diferentes medias son significativas ($p < 0,01$) para 100-90 dB; 90-80 dB; pero no para 80-70 dB. A intensidades bajas el ruido del aparato (ruido de fondo) podría influir en las mediciones y por esto la diferencia entre 80-70 dB no es significativa. Se ha constatado el fenómeno con otras frecuencias inferiores. Presentamos los resultados solamente en las ratas, si bien en pollos y cobayas, también se aprecia microlatencia aunque de diferente magnitud.

Discusión

No hemos encontrado referencias respecto a la latencia de los MC, tan solo la afirmación de Davis sobre la no existencia en los receptores sensoriales. Esta afirmación, actualmente aceptada, supone un error que afecta a conceptos básicos de fisiología auditiva.

Davis establece su conclusión con metodología diferente, correspondiente a 1976 y en consecuencia no procede realizar una crítica comparativa.

En los trabajos revisados sobre latencia auditiva se considera a los potenciales auditivos obtenidos en electrocoqueografía como los de latencia más corta, entre 1-10 milisegundos, mientras que la latencia que encontramos para las células ciliadas, se mide en microsegundos.

En estudios sobre el cierre de los canales iónicos en experimentación animal mediante micropipetas se obtienen también tiempos de apertura y cierre muy cortos, unos 40 microsegundos, que varían con la temperatura, no con la intensidad del estímulo. No obstante, los trabajos al respecto, pueden tener alguna relación con la microlatencia MC y mantener una concordancia con lo requerido para la percepción de las frecuencias más altas.

El procedimiento utilizado para la medición de tiempo por desplazamiento de fase es de utilidad solo en aplicaciones físicas¹⁸.

Es comprensible que no se utilice en biología, las mediciones han de realizarse sobre señales senoidales de propagación longitudinal, sobre las cuales puede medirse la frecuencia y velocidad de desplazamiento, según el medio. Estas condiciones solo se dan en la respuesta de la transducción mecanoeléctrica de las células ciliadas externas.

Esta excepcional circunstancia nos está abriendo expectativas de desarrollo instrumental y nuevas líneas de investigación.

La mayoría de los estudios revisados utilizan siempre clic y amplificadores de paso de banda ancha, adecuados a las respuestas que se buscan, pero inadecuados para la respuesta microfónica de las células ciliadas externas.

Conclusiones

Los MC no son producto de un simple proceso electro mecánico de transducción. Intervienen otros factores biológicos que modulan su presentación. Resulta evidente la diferencia de tiempo en la aparición de los potenciales microfónicos, en función de la intensidad del estímulo. Condición común a todos los procesos de latencia biológica. En la actualidad no debemos arriesgar ningún aspecto funcional a la microlatencia de los receptores auditivos, si bien parece que refuerzan

las teorías sobre la contribución funcional activa de la selectividad frecuencial. El estudio de los tiempos de latencia a niveles supracocleares es de importancia para el diagnóstico audiológico. Puede que en su día, la latencia de los receptores sensoriales auditivos, aporte datos significativos respecto a la delicada y compleja función coclear.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Davis H. Principles of electric response audiometry. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1976;85 Suppl 283 Pt3:1-96.
2. Portmann M. Electrocochleography. *Jour Laryng.* 1977;91:665-77.
3. Portmann M, Aran JM, Lebert GL. Gélecochleogramme humain sans intervention chirurgique. *Acta ORL Laryng.* 1968;65:105-9.
4. Lempert J, Meltzer PE, Wever EG, Lawrence M. The cochleogram and its clinical applications: Concluding observations. *Arch Otolaryngol.* 1950;51:30711.
5. Peake WT, King NYS. Cochlear responses to condensation and rarefaction clicks. *Biophys J.* 1962;2:23-34.
6. Sanjuán J. Recruitment y microfónicos cocleares. *Acta Otorrinolaringológica Esp.* 2009;54:102-50.
7. Békésy G. Experiments in hearing. New York - Toronto - Londres: Mc Graw-Hill; 1960. p. 745.
8. Evans RB. "Georg von Békésy: Visualization of hearing". *Am Psychol.* 2003;58:742-6, <http://dx.doi.org/10.1037/0003-066X.58.9.742>. PMID 14584991.
9. Raju TN. The Nobel chronicles 1961: Georg von Békésy (1899-1972). *Lancet.* 1999;354:80, [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)75353-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(05)75353-8). PMID 10406402.
10. Hampo MA, Kyle RA. Georg von Békésy-audiology and the cochlea. *Mayo Clin Proc.* 1993;68:706. PMID 8350644.
11. With C. W. Bray. The nature of acoustic response: The relation between sound frequency and frequency of impulses in the auditory nerve. *J Exp Psychol.* 1949;XIII:373-87.
12. With C. W. Bray. Action currents in the auditory nerve in response to acoustical stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;16:344-50.
13. Carricondo F, Gil-Loyaga P, Sanjuan-Juaristi J, Poch-Broto J. Cochlear microrhonic potentials: A new recording technique. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2001;110:565-73.
14. De los Santos G, Sanjuán J, Gavilán J. Nuevo método de registro de potenciales microfónicos cocleares en seres humanos. *Acta Otorinolaryngol Esp.* 1998;49:341-5.
15. De los Santos G, Sanjuán J, Gavilán J. Potenciales microfónicos cocleares con electrodos de superficie en el diagnóstico de hipoacusias neurosensoriales. *Acta Otorinolaryngol Esp.* 1999;50:359-65.
16. Sanjuán J. Cochlear microphonic potentials in audiometry. *Otorhinolaryngology, Head Otorinolaryngol Iber Am.* 1962;13:26-53. *Neck Surgery.* pp. 1107-14 September 10-15, 1989.
17. Sanjuán J. Estudio de la audición en prematuros. Microfónicos cocleares evocados. *Acta Otorinolaryngol Esp.* 1998;49:525-31.
18. Gueuning F, Varlan M, Eugene C, Dupuis P. Accurate distance measurement by an autonomous ultrasonic system combining time-of-flight and phase-shift methods. En: *Instrumentation and Measurement Technology Conference, 1996. IMTC-96. Conference Proceedings. 'Quality Measurements: The Indispensable Bridge between Theory and Reality', IEEE, vol. 1. IEEE; 1996. p. 399-404.*