

## Simulación de la dinámica de secreción en células ciliadas internas

Jessica A. Soto Bear<sup>1</sup>, Virginia González-Vélez<sup>2</sup>, Amparo Gil-Gómez<sup>3</sup>, Norma Castañeda-Villa<sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup> Estudiante de la Maestría en Ingeniería de Procesos, UAM Azcapotzalco, México

<sup>2</sup> Depto. Ciencias Básicas, UAM Azcapotzalco, México

<sup>3</sup> Depto. Matemática Aplicada y Ciencias de la Computación, Universidad de Cantabria, España

<sup>4</sup> Depto. Ingeniería Eléctrica, Área de Ingeniería Biomédica, UAM Iztapalapa, México

\* ncv@xanum.uam.mx

*Resumen*— La liberación del neurotransmisor glutamato en las células ciliares internas es un paso fundamental en la decodificación de la información de los estímulos acústicos en la vía auditiva. Con el fin de simular la dinámica de secreción de las células ciliadas internas —a escalas de tiempo de milisegundos— en respuesta a pulsos despolarizantes de diferentes duraciones y amplitudes, se propone un modelo de una zona activa resuelto con algoritmos tipo Monte Carlo. Se discute cómo estas células modulan su respuesta ante la variación de frecuencia e intensidad de un estímulo, mostrando el potencial de nuestro modelo para estudiar sensibilidad, umbrales y rango dinámico de esta etapa de la vía auditiva.

*Palabras clave*—Ca<sup>2+</sup>, Células ciliadas internas, Modelado, Otoferlina.

### I. INTRODUCCIÓN

A través del sentido del oído se obtiene la información de la presencia, ubicación y relevancia de los sonidos en el entorno. Para que el cerebro pueda descifrar entre una amplia gama de sonidos, la información de los estímulos acústicos debe ser preservada a lo largo de la vía auditiva, desde la detección inicial del sonido en las células ciliadas internas (IHC, por sus siglas en inglés) ubicadas en la cóclea hasta su interpretación en el cerebro [1].

Existen diferentes modelos computacionales que simulan la codificación del sonido a lo largo de la vía auditiva a partir de mediciones fisiológicas en especies animales, principalmente en roedores [2-4]. Estos incluyen tres etapas principales: 1) un filtro pasa banda de primer orden que modela el comportamiento del oído externo y medio, 2) la etapa que modela la exocitosis controlada por Ca<sup>2+</sup> en las IHC y 3) la etapa que modela la tasa de disparo por parte del nervio auditivo [3, 4]. Todas estas etapas son necesarias para entender cómo se generan las formas de onda de los Potenciales Evocados Auditivos de Tallo Cerebral, utilizados para determinar objetivamente los umbrales de audición humana [5].

Hablando específicamente de las IHCs -células sensoriales del oído- que constituyen la etapa presináptica de la primera sinapsis del trayecto auditivo, se sabe que el control de la secreción del neurotransmisor glutamato es fundamental en la codificación del sonido [6] y que la deficiencia en el funcionamiento de la otoferlina, el sensor de

Ca<sup>2+</sup> de las vesículas secretoras de las IHC, está relacionado con la hipoacusia genética [7-9].

El estímulo de las IHC proviene de la transducción del sonido en cambios en el potencial de membrana de estas células, lo cual estimula la liberación de glutamato proveniente de las vesículas secretoras. Esto es controlado por la activación graduada de los canales de Ca<sup>2+</sup> ubicados muy cerca de las vesículas en la región denominada zona activa. Una IHC presenta en promedio 15 zonas activas [10], teniendo cada zona activa un aproximado de 90 canales de Ca<sup>2+</sup> y 30 vesículas adosadas a la membrana plasmática [11].

En este trabajo se presentan simulaciones —a escalas de tiempo de milisegundos— de la dinámica de secreción de las IHCs, a partir del funcionamiento conjunto de un modelo cinético del sensor otoferlina y de un modelo de estados para los canales de Ca<sup>2+</sup> que activan al sensor. Se presentan dinámicas donde los iones Ca<sup>2+</sup> disparan la secreción de glutamato en respuesta a la despolarización de la célula, con diferentes duraciones y amplitudes, para analizar cómo responde la IHC ante la variación de frecuencia e intensidad de un sonido.

### II. METODOLOGÍA

A partir de datos experimentales de corriente de Ca<sup>2+</sup> obtenidas en IHC de ratón bajo diferentes pulsos de despolarización [12], se propone un modelo tipo Markov para los canales de Ca<sup>2+</sup> tipo L. Este modelo es de tres estados: abierto, cerrado e inactivo (Fig. 1), siendo el estado abierto el único estado conductor. El modelo calcula de forma estocástica, usando un algoritmo tipo Monte Carlo, la probabilidad de apertura de cada uno de los 90 canales de Ca<sup>2+</sup> en cada paso de tiempo e incluye los dos casos de inactivación que presentan este tipo de canales: la inactivación dependiente de voltaje y la inactivación dependiente de Ca<sup>2+</sup> [13]. Los valores de las cuatro velocidades de transición se estimaron mediante mínimos cuadrados utilizando datos experimentales reportados en [14].



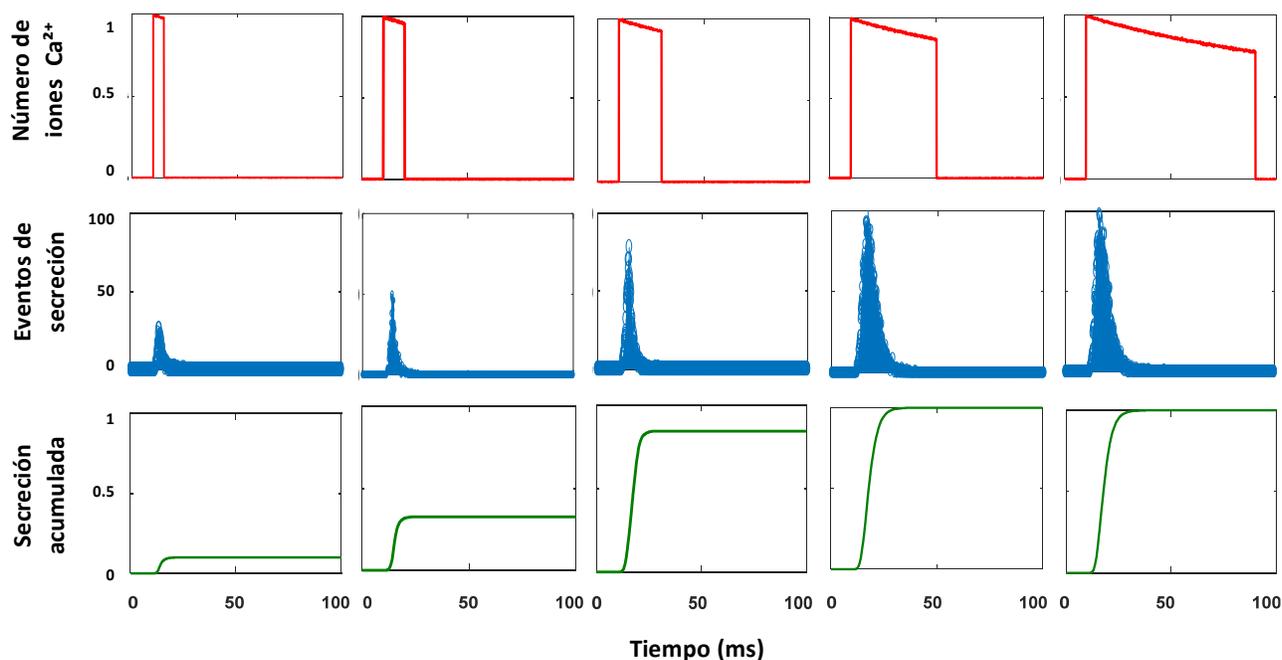


Fig. 4. Dinámicas de Ca<sup>2+</sup> y secreción para pulsos despolarizantes con amplitud de 65 mV en respuesta a diferentes duraciones. Se muestra el flujo de Ca<sup>2+</sup> (primera fila), eventos de secreción (segunda fila) y secreción acumulada (tercera fila), para cinco pulsos con duraciones de 5, 10, 20, 40 y 80 ms (de izquierda a derecha). El flujo de Ca<sup>2+</sup> y la secreción acumulada se normalizaron con el máximo.

mayor (supraumbral), la respuesta es intensa y rápida, es decir muy eficiente; y si es muy intenso, probablemente llegando a un segundo umbral, la respuesta se inhibe por protección (en [16] se hace una revisión de la importancia del Ca<sup>2+</sup> en las características de las respuestas de las IHCs ante diferentes estímulos).

Como se observa en las Fig. 3 y Fig. 4, se han simulado las secreciones dinámicas y acumuladas, ya que las secreciones dinámicas permiten destacar la modulación de la respuesta de la IHC, en cantidad y en temporalidad, en función de la intensidad (Fig. 3) y de la duración (Fig. 4) del estímulo. Por otro lado, las secreciones acumuladas permiten observar el efecto de la cooperatividad positiva o negativa del Ca<sup>2+</sup> en la respuesta de la IHC.

Se sugiere en [11] que la exocitosis está bajo control de nanodominios de Ca<sup>2+</sup> durante la codificación del sonido es decir, las vesículas adosadas en la membrana están acopladas a varios canales presinápticos de Ca<sup>2+</sup>. Este fenómeno se puede observar como una dependencia no lineal del voltaje de membrana y la corriente de Ca<sup>2+</sup>. Estudios previos en IHC han demostrado que: 1) la apertura de unos pocos canales de Ca<sup>2+</sup> son suficientes para la exocitosis de una vesícula [11], 2) se tiene inicialmente un aumento lineal en la exocitosis

bajo concentraciones de Ca<sup>2+</sup> bajas (micromolar) [15], y que 3) mayores corrientes de Ca<sup>2+</sup> provocan la saturación de la exocitosis debido al agotamiento de las vesículas adosadas o que el Ca<sup>2+</sup> en los sitios de liberación ya han conducido la exocitosis a la máxima velocidad, de modo que un aumento de Ca<sup>2+</sup> no causaría un cambio importante en la exocitosis [11]. Todos estos fenómenos son relevantes para entender cómo se interpretan los sonidos a nivel cerebral. Nuestras simulaciones siguen estas observaciones experimentales en IHC y los resultados aquí mostrados permiten acercarnos al funcionamiento de esta primera etapa de la vía auditiva.

#### IV. CONCLUSIÓN

La codificación de sonido implica varias etapas de procesamiento a lo largo de la vía auditiva. Específicamente las IHCs, actúan como receptores sensoriales y transducen información acústica –frecuencia, intensidad y duración del estímulo– en señales neuronales. En este trabajo se simuló la dinámica de secreción de las IHCs, observándose la capacidad de estas células de modular su respuesta con respecto a las características del estímulo mencionadas

anteriormente, mostrando el potencial de este modelo para estudiar la sensibilidad, los umbrales y el rango dinámico de las IHCs.

- synapse. *Neuron* 29: 681–690. 2001. DOI: 10.1016/S0896-6273(01)00243-4
- [16] Ceriani F, Mammano F. Calcium signaling in the cochlea – Molecular mechanisms and physiopathological implications. *Cell Communication and Signaling* 10(20): 1-12. 2012. DOI: 10.1186/1478-811X-10-20

#### RECONOCIMIENTOS

J. A. S. B. agradece a CONACyT por la Beca de Posgrado y por el apoyo de Becas Mixtas para realizar una estancia de investigación con A. G. G.

#### BIBLIOGRAFÍA

- [1] Yu WM, Goodrich LV. Morphological and physiological development of auditory synapses. *Hearing Research* 311: 3-16, 2014. DOI: /10.1016/j.heares.2014.01.007
- [2] Russell IJ, Cody AR, Richardson GP. The responses of inner and outer hair cells in the basal turn of the guinea-pig cochlea and in the mouse cochlea grown in vitro. *Hear. Res.* 22(1–3): 199–216, 1986.
- [3] Meddis, R. Simulation of mechanical to neural transduction in the auditory receptor. *J. Acoust. Soc. Am.* 79(3): 702–711, 1986. DOI: 10.1121/1.393460
- [4] Zilany MS, Bruce IC, Carney LH. Updated parameters and expanded simulation options for a model of the auditory periphery. *J. Acoust. Soc. Am.* 135(1): 283–286, 2014. DOI: 10.1121/1.4837815
- [5] Röhne FM, Dau T, Harte J, Elberling C. Modeling auditory evoked brainstem responses to transient stimuli. *J. Acoust. Soc. Am.* 131(5): 3903, 2012. DOI: 10.1121/1.3699171
- [6] T. Nicolson, “The hair cell synapse” en *Synaptic mechanisms in the auditory system*, L. O. Trussell, A. N. Popper, R. R. Fay, Ed. Springer, 2012, ch. 3, pp. 43-60.
- [7] Roux I, Safieddine S, Nouvian R, Grati M, Simmler MC, Bahloul A, Perfettini I, Le Gall M, Rostaing P, Hamard G, Triller A, Avan P, Moser T, Petit C. Otoferlin, Defective in a human deafness form, is essential for exocytosis at the auditory ribbon synapse. *Cell* 127(2): 277–289, 2006. DOI: 10.1016/j.cell.2006.08.040
- [8] Seal RP, Akil O, Yi E, Weber CM, Grant L, Yoo J, Clause A, Kandler K, Noebels JL, Glowatzki E, Lustig LR, Edwards RH, Sensorineural deafness and seizures in mice lacking vesicular glutamate transporter 3. *Neuron* 57(2): 263–275, 2008. DOI: 10.1016/j.neuron.2007.11.032
- [9] Moser T, Predoehl F, Starr A, Review of hair cell synapse defects in sensorineural hearing impairment. *Otol. Neurotol* 34: 995–1004, 2013. DOI: 10.1097/MAO.0b013e3182814d4a
- [10] Zampini V, Johnson SL, Franz C, Lawrence ND, Munkner S, Engel J, Knipper M, Magistretti J, Massetto S, Marcotti W. Elementary properties of CaV1.3 Ca<sup>2+</sup> channels expressed in mouse cochlear inner hair cells. *J Physiol* 588(1): 187–199, 2010. DOI: 10.1113/jphysiol.2009.181917
- [11] Brandt A, Khimich D, Moser T. Few CaV1.3 channels regulate the exocytosis of a synaptic vesicle at the hair cell ribbon synapse. *J Neurosci* 25: 11577–11585. 2005. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3411-05.2005
- [12] Brandt A, Khimich D, Moser T, Few CaV1.3 channels regulate the exocytosis of a synaptic vesicle at the hair cell ribbon synapse. *J Neurosci* 25(50): 11577–11585. 2005. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3411-05.2005
- [13] Zamponi G. Voltage-gated calcium channels. Landes Bioscience. KluwerAcademic/Plenum Publishers, New York. 2005.
- [14] González-Vélez V. Mathematical models and multiscale simulations of cellular secretion processes. Doctorado en Ingeniería Biomédica, Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona, 2011.
- [15] Beutner D, Voets T, Neher E, Moser T. Calcium dependence of exocytosis and endocytosis at the cochlear inner hair cell afferent