

Receptores olfativos: El perfume del éxito

M.^a TERESA MIRAS PORTUGAL

Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

RESUMEN

El Premio Nobel de Fisiología y Medicina del año 2004 ha sido concedido a los doctores Richard Axel, de la Universidad de Columbia en Nueva York, y Linda B. Buck, investigadora del Fred Hutchinson Cancer Research Center de la Universidad de Washington, en Seattle, ambos miembros del Howard Hughes Medical Institute. La doctora Linda B. Buck es la séptima mujer galardonada con el Premio Nobel en Fisiología y Medicina. En el año 1991 ambos investigadores descubren la amplia familia de receptores olfativos y su pertenencia a los siete hélices transmembranares. Su trabajo pionero ha permitido identificar hasta mil genes en roedores y hoy día se conoce el número de genes olfativos en la mayoría de los mamíferos y otros animales de experimentación, además han demostrado que cada neurona olfativa expresa sólo un tipo de receptor. Posteriormente, con sus respectivos grupos y de modo independiente han establecido el modo en que los axones se organizan y siguen caminos prefijados para establecer las conexiones en los glomérulos específicos del bulbo olfativo, así como las bases para que un receptor olfativo reconozca una sustancia olorosa, los aspectos moleculares de su estructura y la relación con la captación del olor. Estas etapas son indispensables para diferenciar las características del aroma específico y permitir la formación y consolidación de la memoria olfativa.

Palabras clave: Receptores olfativos.—Epitelio olfativo.—Receptores siete hélices.—Memoria olfativa.—Vías olfativas.

ABSTRACT

The Nobel Prize in Physiology and Medicine of the year 2004, has been awarded to two neuroscientists, Dr. Richard Axel from Columbia University in New York

and Dr. Linda B. Buck from the Fred Hutchinson Cancer Research Center at the Washington University in Seattle, both are members of the Howard Hughes Medical Institute. It is to notice that Dr. Linda B. Buck is only the 7^a woman ever to win the Nobel Prize in Physiology and Medicine. In 1991 both scientists discovered the multigenic family of olfactory receptors, which belong to the seventh helix transmembrane receptors. Their work has allowed to identify about 1000 different olfactory receptors, in rat and mouse, as also in other animal species, on the other hand they have shown that each neuron expresses only one type of the olfactory receptor family. In separate work with their respective groups they showed how identical olfactory axons organise and follow a specific pathway to reach one single glomerulus in each olfactory bulb moiety. On the other hand they showed that any receptor can be activated by a group of similar scents, and also that a specific odour can activate several sensitive neurons. The researchers revealed that a combinatorial code is necessary to recognize more than 10000 different odours. All these steps are necessary to establish our memories, at the olfactory cortex.

Key words: Olfactory receptors.—Olfactory epithelium.—Seventh helix receptors.—Olfactory memory.—Olfactory tract.

INTRODUCCIÓN

Los galardonados con el Premio Nobel de Fisiología y Medicina del año 2004 han sido el doctor Richard Axel, profesor de la Universidad de Columbia en Nueva York, y la doctora Linda B. Buck, investigadora del Fred Hutchinson Cancer Research Center de la Universidad de Washington, en Seattle, ambos son miembros del Howard Hughes Medical Institute. La doctora Linda B. Buck es la séptima mujer galardonada con el Premio Nobel en Fisiología y Medicina. El galardón les ha sido concedido por sus descubrimientos en el campo de los receptores olfativos, desde los aspectos moleculares de su estructura y la relación con la captación del olor al modo como los axones se organizan y siguen caminos prefijados para establecer las conexiones en los glomérulos del bulbo olfativo. Estas etapas son indispensables para diferenciar las características del aroma específico y permitir la formación y consolidación de la memoria olfativa.

Gracias a sus hallazgos podemos explicar cómo un aroma determinado o un perfume específico nos lleva a evocar tiempos y situaciones pasadas de especial significado en nuestras vidas, recordemos

solamente el aroma de la magdalena en la taza de té que sirvió de excusa a Marcel Proust para ir *en busca del tiempo perdido*.

Antes de entrar definitivamente en la materia, permítaseme recordar una de las anécdotas referentes al doctor Axel y que aparece recogida en la información digital de la Universidad de Columbia. Al parecer, el doctor Axel era un excelente estudiante, pero volcado desde siempre en la investigación y el laboratorio. Cuando se examinó para obtener su título de médico, el comité de la Universidad le concedió el título con la condición de que nunca tocaría a un paciente, al menos mientras estuviera vivo (el paciente). Cierto o no, nos indica la gran perspicacia y carencia de dogmatismo de los miembros del comité y la temprana vocación del galardonado.

En los sistemas sensoriales de los vertebrados, las neuronas periféricas reciben información del entorno y la transmiten al cerebro donde es procesada para obtener una representación interna del mundo exterior. La mayor parte de los sistemas sensoriales separan espacialmente los impulsos aferentes procedentes de las neuronas sensoriales para construir un mapa topográfico que define la localización de un estímulo sensorial dentro del entorno, así como las características propias del estímulo. Esta característica no es compartida por el sistema olfativo, ya que el procesamiento del estímulo oloroso no da ninguna información sobre la localización espacial del estímulo olfativo.

Los seres humanos se encuentran entre los peor dotados de los mamíferos para la detección y discriminación de olores, y a pesar de ello pueden distinguir miles de compuestos distintos a través del olfato. La mayor parte de las sustancias olorosas son compuestos orgánicos de bajo peso molecular y con suficiente volatilidad para ser transportados como vapores hasta las fosas nasales. Las neuronas olfativas tienen gran sensibilidad y especificidad, pudiendo incluso diferenciar los isómeros especulares de algunos compuestos aromáticos. Existe una amplia variabilidad en la capacidad de discriminar olores entre humanos, desde los que pueden diferenciar varios miles a los que carecen total o parcialmente del sentido del olfato consciente. Esta carencia se conoce como *anosmia*, que puede ser total o para un grupo específico de sustancias olorosas, en cuyo caso se habla de *anosmias específicas*, características que suelen ser

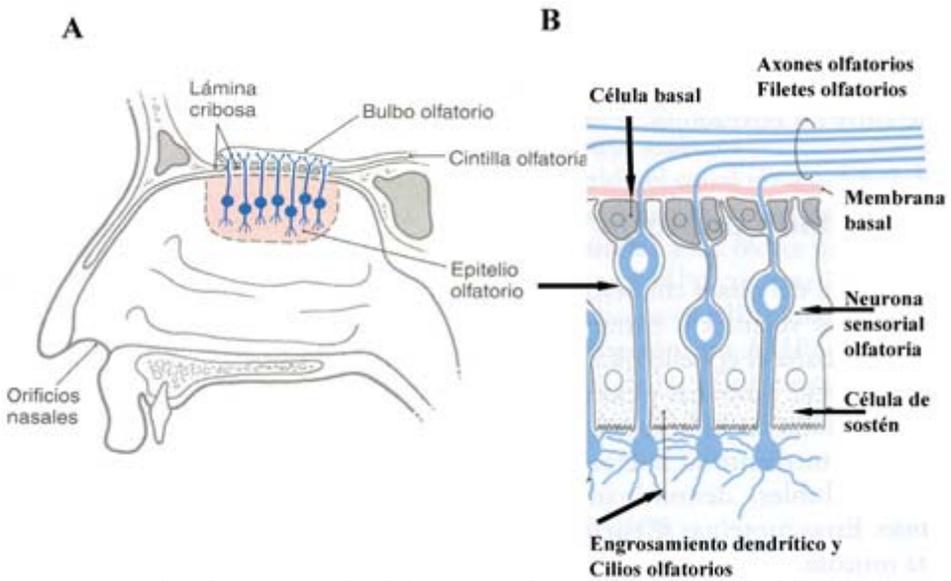
hereditarias. Uno de los ejemplos de anosmias específicas es la pérdida de capacidad olfativa para el almizcle, sustancia segregada por las glándulas del ciervo y que se emplea en perfumes, hasta un 12 por 100 de la población americana analizada en uno de los estudios era incapaz de «olerla».

Antes de analizar la estructura y propiedades de los receptores olfativos y la señal que generan, así como los requerimientos para que los axones se reconozcan entre sí y lleguen al glomérulo específico, analizaremos desde un punto de vista general las estructuras soporte y las células que constituyen el lugar físico donde reside el olfato.

ASPECTOS GENERALES DE ORGANIZACIÓN DEL SISTEMA OLFATIVO

Las etapas iniciales de percepción del olor tienen lugar en las neuronas olfativas localizadas en el epitelio olfativo, superficie de unos 5 cm² en los humanos, que se encuentra situada en la parte posterior de las fosas nasales. Dejaré que sea don Santiago Ramón y Cajal (1904) quien describa las neuronas olfativas, cito texto: «Según es notorio, la impresión o recepción de los olores se efectúa en la porción superior de la mucosa olfativa, cuya dermis se espesa y ofrece un tono ligeramente amarillento. A este nivel, también el epitelio de células alargadas se modifica, perdiendo sus pestañas y un nuevo corpúsculo aparece: la célula bipolar u olfativa, que representa el verdadero órgano de recepción del impulso o estímulo oloroso. ...Como su nombre anuncia, tratase de corpúsculos nerviosos provistos de dos expansiones: recia la periférica que se termina en la superficie libre por un cabo del cual parte un penacho de finísimas pestañas móviles... La expansión descendente representa al cilindro-eje o axón, lo que da carácter de neurona a la célula bipolar... esta fibrilla recorre indivisa y sin anastomarse una parte del dermis, reúne luego con otras en apretados hacecillos, sube luego, conservando siempre su individualidad, a través de la lámina cribosa del etmoides y asalta, en fin, el bulbo olfatorio, para terminar arborizándose en el espesor de un glomérulo de este órgano nervioso central». Sorprende a cualquier estudioso del sistema nervioso la precisión y exactitud de la descripción, realizada

hace más de 100 años, de la neurona olfativa y su prolongación hasta llegar a uno de los glomérulos del bulbo olfativo.



Corte sagital a través de las fosas nasales humanas y epitelio olfativo.

FIGURA 1. Sistema olfativo estructuras generales.

A) Se muestra un corte sagital a través de las fosas nasales humanas, donde se puede observar la situación del epitelio olfatorio en relación a la lámina cribosa que permite el paso de los haces de axones sensoriales para alcanzar el bulbo olfativo.

B) Se muestra un esquema del epitelio olfatorio con los tipos de células más relevantes y su ubicación. Los cilios suelen variar entre 10 y 30 y están protegidos por el mucus, que contiene las mucinas que son segregadas por las glándulas de Bowman, que no se muestran en este esquema.

La dendrita periférica de la neurona olfativa está rematada con los cilios y suele contener entre 10 y 30. Estos cilios es donde se encuentran los receptores olfativos en mayor densidad y están cubiertos por el mucus, lo que evita su desecación y facilita la interacción con los estímulos olorosos, ya que también contiene proteínas capaces de interaccionar con las moléculas olorosas y de concentrar los estímulos de esta naturaleza. El epitelio olfatorio contiene además las células de soporte, que son de naturaleza glial o asimilable, y su

función es la de aislar y asegurar el mantenimiento y la independencia de la dendrita periférica de cada neurona olfativa.

Lo mismo que ocurre con todas las células de las mucosas y epitelios tapizantes, las células del epitelio olfativo están sometidas a una rápida renovación, lo que garantiza su funcionalidad a pesar de las agresiones físicas o químicas a las que están sometidas. Existen aproximadamente un millón de neuronas olfativas en nuestro epitelio y su vida media suele ser de 30 a 60 días. Este hecho plantea la necesidad de disponer de células madre progenitoras para poder hacer frente a la renovación neural, esta función la realizan las células basales, situadas en la parte más interna del epitelio olfativo, que pueden dividirse y diferenciarse en neuronas olfativas adultas. Esta renovación obliga a que los nuevos axones reconozcan los haces en los que han de converger para así atravesar la lámina cribosa del cráneo hasta alcanzar su glomérulo en el bulbo olfativo. Este hecho, que parece lógico y simple, plantea sin embargo uno de los retos de más difícil abordaje en el desarrollo y mantenimiento del sistema nervioso: *¿Cómo se reconocen los axones entre sí y qué señales median en la migración y alargamiento de los axones hasta alcanzar la neurona con la que han de establecer la conexión sináptica específica?* Si además pensamos que todo eso ocurre en un cerebro plenamente desarrollado y con las conexiones ya establecidas, nos damos cuenta del valor que necesitaron los hoy día galardonados para enfrentarse al problema, y la importancia de sus descubrimientos.

LAS PREGUNTAS PARA CONSEGUIR EL PREMIO NOBEL

Los galardonados con el Premio Nobel de Fisiología y Medicina de este año, junto con sus equipos de investigación, se plantearon una serie de preguntas para tratar de comprender el funcionamiento de las neuronas olfativas y los mecanismos para captar y diferenciar los estímulos olorosos. Linda Buck y Richard Axel habían trabajado conjuntamente en muchos temas importantes, entre ellos los mecanismos de la memoria y el procesamiento alternativo de algunos RNA mensajeros en *aplysia* y otros invertebrados, pero no es hasta 1991 en que publican conjuntamente el primer artículo describiendo la naturaleza de los receptores olfativos y la existencia de una amplia

familia, lo que abrió las puertas para comprender el mecanismo de la olfacción. Algunos de los aspectos que se analizarán en esta revisión no se corresponden con los trabajos de los galardonados, pero han sido incluidos para dar mayor coherencia y facilitar la comprensión de lo expuesto. Trataremos, pues, de presentar el conocimiento actual del tema, según el esquema siguiente:

1. ¿Cómo es la estructura molecular de los receptores olfativos: familias de receptores?
2. ¿Cómo es la distribución de los receptores en el epitelio olfativo y cómo se selecciona su expresión?
3. ¿Cómo es la transducción de la señal olfativa? Mecanismos implicados.
4. ¿Cómo se reconocen entre sí y llegan al glomérulo los axones específicos?
5. ¿Cuáles son las vías del olfato consciente en el sistema nervioso central?

No se desarrollarán en este artículo los aspectos del olfato inconsciente, también denominada nariz sexual, ya que en los modelos de mamíferos estudiados, sus alteraciones implican cambios en la conducta de apareamiento, defensa del territorio y agresividad. Son varias las preguntas relacionadas con este apartado que, debido a su importancia, necesitan un desarrollo específico.

6. El olfato consciente *versus* el olfato inconsciente: feromonas.
7. ¿Cómo son los receptores de feromonas y cuántos hay? Órgano vomeronasal.
8. ¿Cómo es la transducción de la señal de los receptores de feromonas?

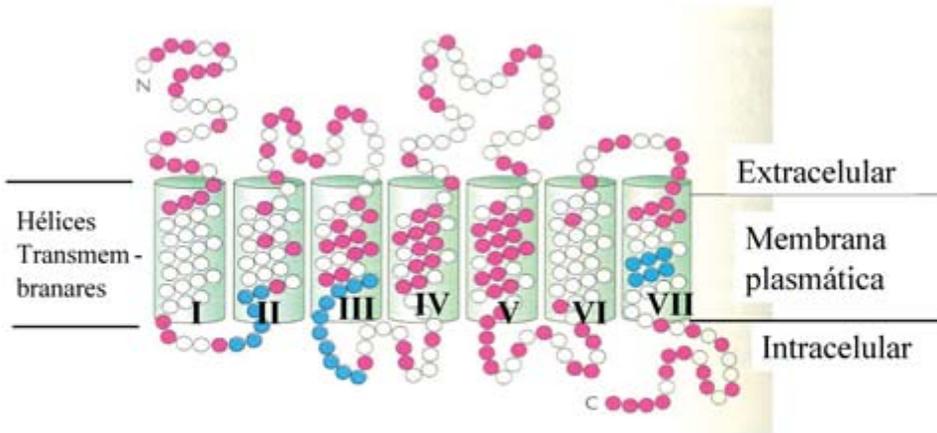
ESTRUCTURA DE LOS RECEPTORES OLFATIVOS

Buck y Axel en 1991 identificaron por vez primera una familia de genes pertenecientes a los receptores acoplados a proteínas G en el epitelio olfativo de rata. La tarea no fue fácil, pues durante mucho

tiempo se especuló con la posible existencia de receptores que de modo análogo a las inmunoglobulinas tuvieran una zona constante y otra variable para responder a la gran variedad de compuestos aromáticos existentes en el entorno. Esta especulación se demostró falsa pero requirió mucho esfuerzo y retrasó considerablemente el abordaje exitoso del problema. Al mismo tiempo, otros estudios bioquímicos sugerían que los receptores deberían pertenecer a la familia de los de siete hélices transmembranares, pues los cilios del epitelio olfativo incrementaban los niveles de AMPc, cuando eran estimulados con sustancias olorosas en presencia de GTP, lo que sugería un receptor acoplado a una proteína G. La estrategia seguida por Buck y Axel consistió en realizar una librería de cDNA de rata y buscar aquellos cDNA que se expresaran principalmente en el epitelio olfativo y codificaran para receptores, mostrando analogía con el β -adrenérgico, que es el modelo de partida para clonar la mayoría de receptores de la familia de siete hélices transmembranares. Además deberían de existir múltiples variantes de estos receptores para dar cuenta de la gran variedad en la percepción de la señal olfativa.

Sus trabajos dieron como resultado el descubrimiento de un primer grupo de 18 receptores olfativos en la rata, que resultaron ser miembros de una familia multigénica extremadamente amplia, que codifica para receptores del tipo de siete hélices transmembranares, tal y como habían supuesto, y cuya expresión está restringida al epitelio olfativo. Trabajos posteriores demostraron que los receptores olfativos representan la mayor familia conocida de receptores en roedores, la rata con unos 1.000 miembros aproximadamente, lo que representa casi un 1 por 100 de su genoma y en ratón hasta 1.500 receptores olfativos. Este porcentaje parece ser incluso mayor en el gusano nematodo *Caenorhabditis elegans*, en el cual aproximadamente un 3-5 por 100 del genoma codifica receptores implicados en la olfacción y quimiosensores (Bargmann and Kaplan, 1998).

Receptores olfativos: familia de siete hélices transmembranares



En rata hay 1000 genes diferentes activos
 Contienen unos 300-350 aminoácidos.
 La mayor variabilidad en la secuencia está en las hélices
 IV y V, donde se reconoce la sustancia olorosa.

FIGURA 2. Estructura molecular de los receptores olfativos.

Los receptores olfativos pertenecen a los de siete hélices transmembranares acoplados a proteínas G. Los aminoácidos más variables están representados en rojo, siendo de destacar la zona transmembranar de las hélices IV y V, que es importante en el reconocimiento de la molécula olorosa. Los residuos marcados en azul son los más conservados y son importantes en el reconocimiento de la proteína $G\alpha_{(olf)}$.

Dentro de esta familia de genes existen varias subfamilias, según la conservación de la secuencia, es importante señalar que sólo conservan un 20 por 100 de homología con el receptor de partida, el β -adrenérgico, y que entre sí la homología oscila entre un 30 y un 95 por 100, según los miembros de las subfamilias. Las zonas más variables de estos receptores se encuentran en las hélices transmembranares, sobre todo en las IV y V. Estos residuos, altamente variables, podrían indicar que es el sitio donde las moléculas olorosas establecen su contacto con el receptor. Algunos miembros de los receptores olfativos contienen residuos ácidos en estas posiciones, lo que sugiere que son receptores para compuestos con grupos

aminérgicos, mientras que otros los tienen de naturaleza hidrofóbica. De todos modos, el hecho de que la mayor variabilidad ocurra en los segmentos transmembranares hace que se puedan incluir en el grupo A de los receptores de siete hélices, ya que todos ellos tienen el sitio de unión para el ligando en la zona que queda dentro de la membrana plasmática. Este grupo es el más numeroso y pertenecen entre otros los receptores α y β adrenérgicos, dopaminérgicos, de serotonina, histamina, etc..., y la propia rodopsina y otros pigmentos visuales.

Los genes de los receptores olfativos existen en los vertebrados inferiores y también en los invertebrados. Ya hemos citado que en rata y ratón son aproximadamente 1.000 genes y todos ellos son funcionales, lo que también ocurre en otros mamíferos no primates. El genoma humano codifica entre 500 y 750 genes de receptores olfativos, pero contrariamente a otras especies más de la mitad son pseudogenes. Quiere esto decir que cuando uno de estos receptores se expresa no es funcional y su presencia en nuestro genoma es un recuerdo del pasado de la especie y de su evolución.

Se ha tratado de explicar la pérdida de capacidad olfativa en los humanos por la menor necesidad y dependencia de este sentido para la supervivencia y por la adquisición de ftopigmentos que hacían más sensibles y más ricas las sensaciones visuales. Curiosamente, esta hipótesis se ha visto avalada por el hecho de que los monos americanos que sólo tienen dos ftopigmentos, uno para el azul y otro para el verde, pero no para el rojo, conservan activos el 100 por 100 de sus receptores olfativos. Como la separación de los continentes ocurrió hace unos 30-35 millones de años, la aparición del ftopigmento que capta el rojo, que es la luz con menor energía, debe de ser posterior a ese evento y por ello sólo aparece en los grandes monos y primates que evolucionaron en África y Eurasia. El beneficio de cubrir un rango cromático mucho más amplio les ha hecho menos susceptibles a la pérdida de calidad olfativa y, por ejemplo, en el gorila, el 50 por 100 de los genes de sus receptores olfativos no son funcionales, son pseudogenes, lo mismo que ocurre en el chimpancé. La máxima pérdida se alcanza en los humanos donde los genes olfativos funcionales alcanzan un escaso 30 por 100, es decir, que tenemos unos 200-300 genes funcionales, pero somos capaces de detectar más de mil olores diversos y algunos miembros de nuestra

especie pueden llegar a diferenciar unos 10.000, si son convenientemente entrenados, como los perfumistas. *Este hecho implica que no existen pares inamovibles de olor específico asignado a un receptor específico*, lo que analizaremos en apartados posteriores.

La existencia de múltiples genes plantea el problema de su expresión para poder explicar la especificidad y diversidad de la señal olfativa, aspectos que serán analizados en los epígrafes siguientes.

Distribución de los receptores en el epitelio olfativo y selección de su expresión

El primer aspecto relevante, referente a la distribución de los receptores olfativos, es que cada neurona olfativa expresa un único gen de receptor olfativo. Este descubrimiento fue efectuado por el grupo de Axel en 1993.

Los experimentos de hibridación *in situ* del RNAm, con pruebas para un gran número de receptores olfativos diferentes, demostraron que las neuronas sensibles a un estímulo definido están topológicamente segregadas en un pequeño número de zonas, que aunque amplias están circunscritas dentro del epitelio olfativo. No obstante, dentro de una zona dada, las neuronas que expresan un receptor específico parecen estar distribuidas al azar, más que espacialmente localizadas. El complejo sistema olfativo de mamíferos podría compartimentalizar el epitelio en diversas unidades anatómico-funcionales, de tal modo que cada zona exprese sólo un subgrupo del repertorio total de receptores. El número total de neuronas olfativas no excede de un millón y el de neuronas que expresan un receptor olfativo específico no sobrepasa un par de miles en el mejor de los casos, pues no todos los receptores se expresan con igual eficiencia (Vassar et al., 1993).

La cuestión es cómo conseguir la diversidad y mantener la estabilidad del receptor expresado una vez elegido. El primer aspecto relevante es la inactivación cromosómica para así poder jugar solamente con el grupo de alelos paternos o maternos. Esta inactivación cromosómica se realiza durante la embriogénesis temprana, resultando que unas células expresarán solamente los alelos maternos y otras los paternos.

Otro aspecto importante es que los genes de los receptores olfativos no se reorganizan durante la vida del individuo y la expresión de unos u otros depende de la activación de las zonas previas al mensajero que codifica la proteína del receptor. Este tipo de control se denomina elementos en cis y se sitúa en la secuencia promotora (Chess y col., 1994). Una confirmación un tanto espectacular de que no hay alteraciones somáticas en el DNA en las neuronas olfativas maduras la ha aportado recientemente el grupo de Axel al clonar un ratón a partir del núcleo de una célula olfativa madura (Eggan y col., 2004). La clonación mediante trasplante nuclear ha sido realizada con éxito en diversos mamíferos, desde la oveja al ratón. No obstante, hasta la publicación de este trabajo no había referencias a ratones clonados a partir de células post-mitóticas y en este caso específico es a partir de neuronas que han alcanzado su máximo grado de diferenciación. Para realizar el clonaje tuvieron que salvar múltiples problemas, el primero era generar un ratón en el que todas las neuronas olfativas se diferenciaran expresando una proteína fluorescente verde, la GFP (Green fluorescent protein), para así estar seguros de la procedencia del núcleo, de este ratón modificado genéticamente es del que se extrae el núcleo a una neurona olfativa, cuyas células descendientes estarán marcadas en verde. Los clones fértiles derivados de transferir el núcleo de las neuronas olfativas post-mitóticas en ovocitos son los que se emplearon para generar el ratón, que a parte de ser verde, contenía intacto todo el genoma y sin alteraciones en los genes que expresan los receptores olfativos.

Más allá del éxito de obtener un ratón verde derivado de las neuronas olfativas, lo que es realmente relevante en este trabajo es que demuestra: 1) que el genoma de una neurona post-mitótica con diferenciación terminal puede re-entrar en el ciclo celular y ser reprogramada hasta un estado de totipotencia después del trasplante nuclear. 2) que el patrón de expresión y la organización de los genes de los receptores olfativos en el ratón clonado es indistinguible del de los animales silvestres, indicando que la elección de genes que expresan las neuronas olfativas no implica cambios irreversibles en el DNA.

Una vez que tenemos la neurona olfativa con su receptor específico, éste tiene que ser capaz de captar la señal y después deben de existir mecanismos que la transmitan a lo largo del axón hasta el

bulbo olfativo, de estos dos aspectos, la transducción de la señal olorosa y la señalización hasta el glomérulo específico nos ocuparemos en los siguientes epígrafes.

Reconocimiento e interacción de las sustancias olorosas con los receptores

El número de receptores olfativos en cualquier genoma de mamífero es muy inferior al número de sustancias cuyo olor puede discriminar, esto implica que los receptores olfativos tienen que poder reconocer varias sustancias olorosas, pero la afinidad con que son reconocidas es muy variable. De igual modo sabemos que una sustancia olorosa determinada puede ser reconocida por varios receptores, pero con diferente afinidad por cada uno de ellos. Hoy día, gracias a los trabajos de numerosos grupos, aplicando técnicas eficaces y novedosas, tenemos un amplio conocimiento del tema, pero lo que nos interesa aquí es conocer un poco de *como fue el camino para asignar receptores a un olor, y olores a un receptor*.

Como tantas otras veces el primer par sustancia química (olor)/receptor se estableció para un organismo muy sencillo, el *C. Elegans*. Curiosamente los receptores de este gusano nemátodo permanecieron huérfanos al menos cinco años desde su descubrimiento, hasta que Segunpta y col. (1996) demostraron que estos gusanos cuando sufrían mutaciones en uno de estos genes, el denominado odr-10, perdían su quimiotaxis hacia el diacetilo. Una confirmación definitiva de que el receptor odr-10 del gusano, era un receptor olfativo, la aportó el hecho de que células HEK humanas transfectadas con este receptor respondían al diacetilo, permitiendo la entrada del ión calcio, mientras que las no transfectadas eran incapaces de responder (Wellerdiek y col., 1997). Una vez encontrado el primer par de moléculas odorante/receptor, otros grupos describieron estrategias similares o más sofisticadas, tratando de correlacionar un olor específico y las neuronas olfativas portadoras del correspondiente receptor.

La interacción de los compuestos olorosos con el receptor olfativo activa una cascada de segundos mensajeros que lleva a la despolarización de la neurona sensorial olfativa con entrada de calcio. Esta cascada será analizada en detalle más adelante, pero aquí nos

sirve para ponernos en antecedentes de las estrategias metodológicas empleadas. Uno de los grupos midió las respuestas electrofisiológicas en rata que había sido infectada con adenovirus para dirigir la expresión de un receptor olfativo recombinante (Zhao et al., 1998). Otra aproximación a la funcionalidad de los receptores consistió en diseñar una librería de expresión basada en la heterogeneidad de la región transmembrana de los receptores olfativos y entonces usar la imagen de calcio para identificar los clones que responden a olores particulares (Krautwurst et al., 1998).

Sin duda, la aproximación más exitosa fue la diseñada por el grupo de Linda Buck (Malnic et al., 1999), que utilizó la imagen de calcio para identificar las neuronas que respondían a un determinado olor y después aislar mediante una micropipeta el RNAm de cada una de las células que respondían, ampliando los mensajeros mediante la reacción en cadena de la polimerasa, a esta técnica se la conoce en inglés como single cell PCR. De este modo consiguió clonar específicamente los receptores olfativos que respondían a cada uno de los compuestos químicamente definidos ensayados. Este amplísimo trabajo confirmó el hecho de que las neuronas olfativas son funcionalmente distintas, ya que cada una de ellas expresa un único receptor olfativo. También permitió confirmar que la zona transmembrana, sobre todo de las hélices IV y V, que es altamente variable, es el sitio de unión del ligando olfativo y que cambios en un único aminoácido de esta región cambian la especificidad del receptor. Usando diferentes aproximaciones se demostró que cada receptor olfativo individual reconoce múltiples moléculas aromáticas que tengan cadenas de similar longitud, por ejemplo, que difieran solamente en dos o cuatro carbonos, y con similares grupos alifáticos. Otro aspecto importante es que algunas moléculas olorosas son reconocidas por múltiples receptores y que existe una correlación positiva entre la longitud de la cadena carbonada y el número de receptores olfativos que es capaz de estimular. Así pues, el sistema olfativo emplea un código combinatorio, como ha sido demostrado por el grupo de L. Buck (Malnic et al., 1999).

Si una sustancia olorosa interacciona con más de un receptor y además un receptor puede ser estimulado por más de una sustancia olorosa, ¿qué es lo que define un olor característico?: La respuesta a esta compleja situación fisiológica y sensorial reside en que es la com-

binación exclusiva de receptores olfativos activados lo que permite distinguir las sustancias olorosas entre sí.

Una vez que los receptores olfativos son activados, y como cada neurona expresa solamente un tipo de receptor, los axones correspondientes a cada patrón de estimulación olfativa envían la señal al cerebro. Pero antes de que la señal viaje hacia el sistema nervioso central, es necesario comprender cómo es la transducción de la señal hasta conseguir despolarizar la membrana y lograr un potencial de acción.

Transducción de la señal olfativa

La sustancia olorosa, al unirse al receptor olfativo, induce un cambio de configuración que permite la interacción entre el receptor y una proteína G heterotrimérica. Esta proteína puede ahora intercambiar el nucleótido asociado, GDP, por el GTP, que se encuentra alojado en la subunidad α . La proteína G específica del epitelio olfativo, que además se encuentra casi exclusivamente en esta localización es la $G_{\alpha_{olf}}$ la cual se parece a la G_{α_s} por su capacidad de estimular la adenilato ciclasa. La unión de la $G_{\alpha_{olf}}$ con el GTP hace que se libere del trímero que forma con las subunidades β y γ y active la adenilato ciclasa. La falta de $G_{\alpha_{olf}}$ produce la pérdida total del sentido del olfato, conocida como anosmia, como demostró el grupo de Axel al crear un ratón carente de dicha proteína, el $G_{\alpha_{olf}}^{-/-}$, esto confirma la importancia de la etapa de transducción en la señalización olfativa (Belluscio y col., 1998).

La $G_{\alpha_{olf}}$ se une a la adenilato ciclasa de membrana que al ser activada produce un incremento de los niveles de AMPcíclico en los cilios. Existen nueve isoformas conocidas de la adenilato ciclasa y la que se encuentra en las neuronas olfativas es la denominada de tipo III, que también se encuentra localizada preferentemente en los cilios (Balkalyar y Reed, 1990). Comparada con las otras adenilato ciclasas, esta isoforma parece tener una actividad basal muy reducida.

Experimentos de patch-clamp realizados en 1987, demostraron que cuando el AMPc se aplicaba en la cara citosólica de los parches procedentes de los cilios olfativos, se evocaba una conductancia eléctrica similar a la que había sido previamente descrita en los fotore-

ceptores de la retina. Pero todavía no se conocía el mecanismo que permitía al AMPc iniciar el potencial de acción en la neurona olfativa. El descubrimiento de canales catiónicos operados por nucleótidos cíclicos (CNG) en los conos y bastoncillos de la retina, permitió con posterioridad identificar los canales presentes en las neuronas olfativas. Los canales operados por nucleótidos cíclicos, presentes en la neurona olfativa, son oligómeros compuestos de subunidades α y β (Liu y col., 1996). Cada subunidad tiene seis hélices transmembranares, un dominio aminoterminal altamente variable y una zona carboxilo terminal de unos 130 aminoácidos, cuya secuencia es análoga a la del dominio de unión de los nucleótidos cíclicos en la proteína quinasa A (PKA) y la proteína quinasa G (PKG). Los canales se abren y se cierran espontáneamente en ausencia del nucleótido cíclico, pero la unión del AMPc a la zona carboxilo terminal hace que se establezca la configuración abierta del canal, permitiendo la entrada de iones Na^+ y Ca^{2+} .

No podemos olvidar que los cilios del epitelio olfativo están localizados hacia la luz del conducto nasal y por lo tanto el medio que los baña no es idéntico ni en concentración ni composición al líquido extracelular del medio interno, por esta razón y en previsión de que los cationes, sobre todo el calcio estén en concentraciones mínimas disponibles, la neurona olfativa ha tratado de amplificar la posible señal y hacerla más eficaz desde el punto de vista de la despolarización. Para este fin existe, muy próximo al canal activado por nucleótidos cíclicos, otro canal en este caso de cloruro que se activa por calcio, incluso a concentraciones intracelulares muy reducidas de este ión. Su activación permite la salida de cloruro hacia la luz nasal y por consiguiente menor carga negativa en el interior. La salida de iones negativos y la entrada previa de los positivos redundan en una mayor despolarización y transmisión de la señal de modo eficaz, aunque la cantidad del compuesto oloroso sea escasa o de poca afinidad. Se genera así el potencial de acción que va a propagarse a través de la dendrita y el soma hasta llegar al axón de la neurona olfativa, siendo el modo de propagación idéntico o similar al de otras neuronas sensitivas y en general de cualquier neurona, entrando en juego los canales de Na^+ y de K^+ voltaje dependientes.



Transducción de la señal olfativa

FIGURA 3. Transducción de la señal olfativa. Cascadas de señalización asociadas al olfato.

La unión de la sustancia olorosa a los receptores olfativos activa una cascada de señales similar a la de otros receptores acoplados a la producción de AMPc.

El receptor, al unirse a la molécula olorosa, sufre un cambio conformacional que induce a la proteína trimérica G(olf) (subunidades α , β y γ), a intercambiar el GDP por GTP. Lo cual induce la disociación de las subunidades y la subunidad $G\alpha_{(olf)}$ con el GTP unido activa la adenilato ciclasa. Este enzima tiene una isoforma específica que está presente solamente en el epitelio olfativo, la adenilato ciclasa tipo III, la cual sintetiza AMPc a partir de ATP. El incremento en los niveles del nucleótido cíclico activa los canales sensibles a AMPc, induciendo la entrada masiva de los iones Ca^{2+} y Na^{+} , lo que induce la despolarización de la célula y la generación de un potencial de acción que viaja a través del axón hasta las estructuras del bulbo olfativo y después al cortex.

La llegada de la señal olfativa a la zona sináptica localizada en el glomérulo permite establecer contacto a las neuronas olfativas con las dendritas de las células mitrales allí localizadas. El neurotransmisor utilizado es el glutamato que sale excitóticamente de la zona presináptica de la neurona olfativa.

La vida media de la neurona olfativa es de 30-90 días, según las especies, y se renuevan continuamente. Como tenemos una serie de pseudogenes que tienen idénticas probabilidades que los genes funcionales de ser seleccionados, una pregunta importante en el funcionamiento de la neurona olfativa es: ¿Qué sucede si el receptor escogido estocásticamente (al azar) es un pseudo-gen, carente de fun-

cionalidad? Es decir, *¿se requiere que la neurona sea funcional para que se mantenga viva y se proceda a la diferenciación terminal?* El grupo de Axel ideó una extrategia genética para examinar la estabilidad del receptor elegido y observaron que las neuronas olfativas inmaduras que expresan un receptor olfativo pueden cambiar la expresión de sus receptores, aunque con muy baja frecuencia. No obstante, las neuronas que expresan un receptor mutado no funcional cambian el gen transcrito con mayor probabilidad, sugiriendo que la expresión de un receptor funcional implica una retro-sígnal que finaliza el cambio de genes. Este proceso de cambio de receptor asegura que cada neurona puede finalmente expresar un receptor funcional y que la elección de este receptor permanecerá estable durante la vida de la célula (Shykind y col., 2004).

Otro ejemplo importante que muestra la necesidad de que la neurona sea funcional para sobrevivir, se debe a los estudios realizados con el canal catiónico operado por AMPc (CNG), que es esencial en la primera etapa de la transducción de la señal olfativa. La subunidad alfa- está codificada en el gen denominado OCNC1 (olfatory cyclic nucleotide channel tipo 1), que se encuentra en el cromosoma X. En animales genéticamente modificados, que sean hembras, tendremos dos cromosomas X, uno paterno y otro materno, y sabemos que en todas las hembras de mamíferos sus células son mosaicos para el cromosoma X, pues sólo uno es funcional y el otro es inactivo. Los ratones hembra homocigóticos en los que se ha alterado este gen, para inactivarlo y al mismo tiempo permitir su visualización, carecen del sentido del olfato. Cuando se obtiene una hembra heterocigótica unas neuronas olfativas tendrán el cromosoma con el gen activo y otras con el gen inactivo. Si tapamos la nariz del ratón la ausencia de estímulo hace que las neuronas olfativas no tengan cometido y por lo tanto sobreviven en el epitelio tanto las células con el gen intacto, como las células con el gen alterado. Pero cuando el ratón está sometido a todo tipo de estímulos olfativos y se requiere la funcionalidad de las neuronas, sólo las que son portadoras del cromosoma con el gen activo permanecen y colonizan todo el epitelio nasal. *Esto sugiere que las sustancias olfativas y la actividad que evocan son críticas para la supervivencia de la neurona en un ambiente competitivo y también que esa actividad es necesaria en el mantenimiento y la organización del sistema olfativo* (Zhao and Reed, 2001).

Hemos completado la etapa de reconocer el olor y transformar la señal química en una señal eléctrica que viaja por el axón hasta el glomérulo. *Pero si hemos tenido que diversificar para poder reconocer los diferentes olores, ¿cómo podemos enviar una señal diferencial para que el cerebro en su cortex sensorial sepa y se entere de que está percibiendo olores diferentes?*

De la diversificación de la señal olfativa y su mantenimiento y memoria nos ocuparemos en el epígrafe siguiente.

Organización topográfica de las proyecciones de las neuronas sensoriales al bulbo olfativo: El apasionante viaje de los axones olfativos a su destino y el reconocimiento de los compañeros de viaje

Como si de *La Odisea* se tratase, este doble título intenta reflejar la gran aventura científica que supuso buscar y descubrir los mecanismos moleculares que permiten la organización de las conexiones en el bulbo olfativo y el mantenimiento de su identidad.

El primer gran hallazgo en este área fue el descubrimiento de que las neuronas sensoriales del epitelio olfativo que expresan el mismo tipo de receptor, aunque se encuentren dispersas, envían sus axones al mismo glomérulo. El trabajo fue realizado por el grupo de Axel, utilizando las técnicas de hibridación *in situ* para el RNAm de un tipo de receptor específico (Vassar et al., 1994). Curiosamente y contra todo pronóstico, estos RNAm también se detectaron dentro de las terminales axónicas de las neuronas sensitivas, donde no hay constancia de síntesis de proteínas, y que se encuentran ya localizadas en el bulbo olfativo, dentro del cerebro. Mediante esta técnica pudieron demostrar que las neuronas que expresan un receptor específico dado, proyectan sus axones a un glomérulo común dentro del bulbo olfativo y que los axones convergen hasta alcanzarlo. La posición de los glomérulos específicos es bilateral y muestran simetría, siendo constante en diferentes individuos dentro de una especie. Estos datos apoyan un modelo en el cual la exposición a un odorante puede resultar en la estimulación de un conjunto de glomérulos espacialmente restringidos, que a su vez pueden ser asociados con áreas específicas de patrones topográficos de actividad en el bulbo olfativo.

Para confirmar que las neuronas olfativas que expresan un receptor específico proyectan con precisión a dos de los 1.800 glomérulos dentro del bulbo olfativo (uno a cada lado) para crear un mapa topográfico de la calidad del olor, el mismo grupo de Axel planeó una serie de experimentos en el ratón, en los cuales inducían la expresión de genes olfativos a los que se había añadido un gen reportero, el cual al expresarse permite la visualización bien directa o indirecta. La visualización directa se hace generalmente añadiendo un gen fluorescente GFP (green fluorescent protein, etc...), y la indirecta añadiendo el gen de la β -galactosidasa, que en contacto con un sustrato artificial produce un depósito de tinción. El grupo de Axel demostró, en estos estudios, que los axones de las neuronas olfativas idénticas convergían a lo largo de la zona interna del epitelio olfativo, eran capaces de atravesar la placa cribosa en pequeños haces y de llegar a su glomérulo específico como un amplio penacho (Mombaerts et al., 1996). Estudios posteriores utilizando la misma metodología, e introduciendo genes olfativos modificados, y combinaciones de otros existentes, conocidas como quimeras, permitieron definir los aminoácidos necesarios para llegar a los respectivos glomérulos y como alterar la trayectoria de los axones. En algunos casos conseguían que los axones anduvieran errantes sin conseguir converger en el glomérulo específico. Pero lo más espectacular lo obtuvieron en los experimentos en que reemplazaban la región codificadora de un gen de receptor olfativo por otro, consiguiendo que la neurona olfativa dirigiera sus axones hacia el glomérulo del gen sustituyente. Estos datos indican que el receptor olfativo desempeña un papel instructor en el establecimiento del mapa topográfico (Wang et al., 1998).

Si los axones de neuronas que expresan el mismo receptor convergen en el mismo glomérulo, la cuestión es conocer los mecanismos moleculares mediante los cuales los axones se reconocen entre sí.

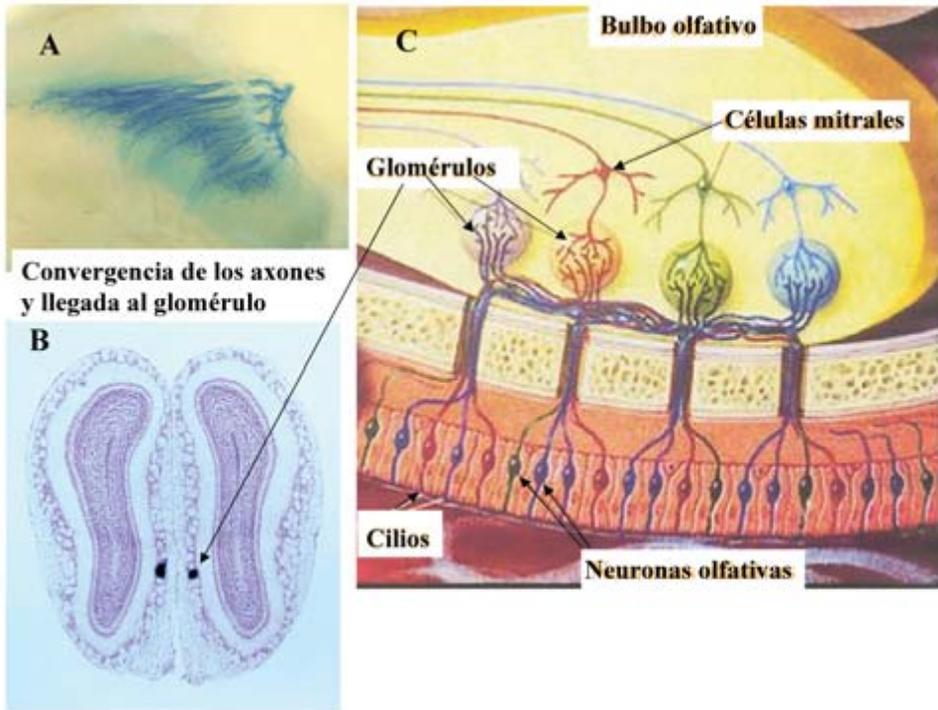


FIGURA 4. Proyecciones de los axones olfativos al glomérulo.

- A) Expresión de un receptor olfativo al que se ha insertado el gen de la β -galactosidasa, para visualizar la trayectoria de los axones de las neuronas olfativas que lo expresan. Se observa que los axones idénticos convergen para alcanzar el mismo punto del bulbo olfativo.
- B) Corte perpendicular del bulbo olfativo donde se observan los dos glomérulos simétricos, uno por cada parte, donde convergen los axones específicos para un tipo dado de receptor (basado en Mombaerts et al., 1996).
- C) Esquema donde puede observarse como las neuronas que expresan el mismo receptor envían sus axones de modo convergente al mismo glomérulo, donde conectan con las dendritas de las células mitrales.

Puesto que la presencia de un receptor olfativo diferente hace que los axones migren a un glomérulo distinto, la información de la migración debería de estar presente en los propios receptores olfativos, pero el problema era descifrar cómo se llevaba a la práctica. Un gran avance se consigue empleando técnicas inmunohistoquímicas cuando el grupo de Axel descubre que la respuesta a este enigma viene dada por la propia naturaleza de los receptores olfativos, los cuales se expresan no sólo en los cilios de las dendritas apicales, sino

también en los axones y la terminal axónica que hace conexión en el bulbo con la célula mitral específica. Los propios receptores sirven de moléculas de guía que reconocen las claves posicionales elaboradas por el bulbo. *La neurona olfativa, por lo tanto, está provista de una identidad que dicta ambos, los olores que reconoce y la diana glomerular que inerva* (Barnea et al., 2004).

Las técnicas inmunohistoquímicas descritas rendían cuentas de una situación, pero no explicaban cómo eran las etapas moleculares del proceso. Para aclarar los detalles surge el magnífico trabajo de Feinstein y Mombaerts (2004), en donde detallan que parte del receptor olfativo contiene la señal de reconocimiento entre axones iguales. Estos autores señalan que ningún modelo, hasta el momento, explica satisfactoriamente como los receptores olfativos funcionan para dirigir los axones de las neuronas olfativas hacia los glomérulos específicos situados en el bulbo olfativo. No obstante empleando la técnica de mutagénesis dirigida, para modificar los genes, formando quimeras y mutaciones puntuales en ratón, demostraron que los receptores olfativos contienen secuencias que les permite reconocerse y llegar de modo coincidente a un glomérulo prefijado. Escogieron para los estudios, entre otros, un par de genes de receptores olfativos que se parecían mucho entre sí, el M71 y el M72 (Mouse 71 y 72), que contienen 309 aminoácidos y solamente 11 diferentes, lo que supone un 96 por 100 de homología. A pesar de esta gran similitud, estos receptores van cada uno a un glomérulo distinto y constituían un modelo asequible para formar todas las posibilidades de mutaciones entre ellos y así identificar los aminoácidos responsables de la llegada al glomérulo específico. A las construcciones de receptores modificados se les añadió un gen reportero, el gen de la β -galactosidasa o la GFP, para poder visualizar su expresión. Las sustituciones que realizaron entre las regiones codificantes de los receptores M71 y M72 de los receptores olfativos de ratón, permitieron intercambiar el destino de ambos axones pudiendo, de este modo, conocer exactamente qué aminoácidos de la secuencia estaban implicados en el reconocimiento de los axones idénticos, en este caso concreto de los 11 aminoácidos diferentes, siete de ellos podían alterar la llegada a la diana glomerular. Esta serie de híbridos de los receptores olfativos M71 y M72 han desvelado un espectro de fenotipos glomerulares que llevan al concepto de que la identidad de los axones es detectada por otros axones donde

está presente el mismo receptor. Los polimorfismos naturales de otros receptores olfativos también generan diferentes identidades axonales.

Cambios en el glomérulo de destino generados mediante mutagénesis dirigida, entre los receptores olfativos M71 y M72.

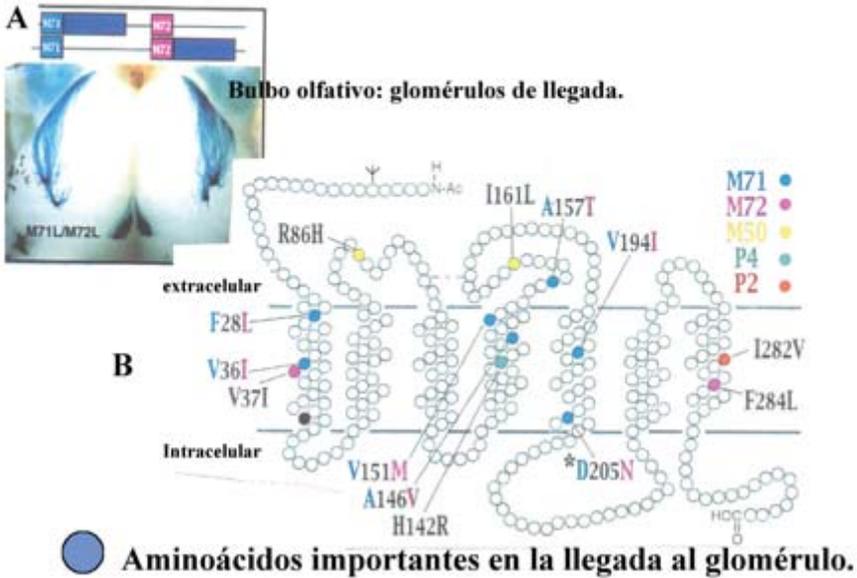


FIGURA 5. Bases moleculares para el reconocimiento y especificidad de las proyecciones olfativas.

A) Llegada al bulbo olfativo de los axones M71 y M72 a su glomérulo, después de realizar cambios en alguno de los 11 aminoácidos en que difieren ambos. Se realizan las construcciones con marcadores que permiten visualizar el recorrido y estudiar sus cambios cuando se induce la expresión del receptor modificado.

B) Indica, de los 11 aminoácidos diferentes, los que son más importantes para cambiar la dirección del axón. Siete aminoácidos pueden alterar la dirección de los axones al glomérulo, los más importantes y por este orden son: En primer lugar, el cambio de ácido aspártico por asparagina en la posición 205 (D205N), señalado por un encuadramiento azul que se encuentra al final de la hélice V es la modificación que causa el cambio más acusado en la dirección de los axones del glomérulo M71 al del M72. Otro cambio que ha resultado muy importante es el de la valina por isoleucina en la posición 194 (V194I) en el inicio de la hélice V. Otros importantes son los cambios en la hélice IV de alanina por valina en la posición 146 (A146V) y de valina por metionina en la posición 151 (V151M). Finalmente, aunque con efectos menores en la direccionalidad de los axones están los cambios en A157T, F28L y V151M (de los datos de Feinstein y Mombaerts, 2004).

Los resultados derivados de la expresión de receptores olfativos híbridos entre dos similares reservaban muchas sorpresas, en primer lugar que el simple cambio de un aminoácido puede alterar el destino glomerular del axón. En segundo lugar, parecía lógico esperar que los cambios en los aminoácidos situados hacia fuera de la membrana jugaran un papel predominante en el reconocimiento, pero fue justo lo contrario, los aminoácidos críticos para el reconocimiento se encuentran distribuidos a lo largo de la proteína y fundamentalmente en los dominios transmembranares.

Ya sabemos cómo llegan al glomérulo los axones y ahora nos planteamos cómo viaja la señal eléctrica generada hasta el neocortex.

Desde el bulbo olfativo al neocortex: la memoria olfativa

Cuando estimulamos las neuronas olfativas con sustancias olorosas podemos examinar las respuestas que se producen en todo el cerebro mediante las técnicas de obtención de imágenes por resonancia magnética funcional (fMRI). El principio bioquímico funcional reside en que las zonas más activas tienen mayor flujo de sangre para que funcionen los tejidos y el mayor consumo de oxígeno redundante en una mayor proporción de oxihemoglobina. El hierro de la deoxihemoglobina, al tener dos electrones desapareados, funciona como un fuerte imán, lo que no ocurre en la oxihemoglobina. Las técnicas de resonancia magnética nuclear permiten diferenciar estas dos formas a través de su interacción con los protones de la molécula de agua y relacionarlas con el consumo de oxígeno y por lo tanto la actividad cerebral.

Imágenes obtenidas en voluntarios mediante esta técnica no invasiva han permitido conocer las regiones cerebrales en que se procesa la señal olfativa, que implica tanto el cortex olfativo primario, como de modo secundario áreas de la corteza frontal y del hipocampo. Esta llegada al cortex implica un largo viaje desde el bulbo olfativo que aquí veremos de modo somero.

La primera etapa del viaje al cortex se inicia en el bulbo olfativo, que también puede denominarse olfatorio, pues así lo denomina Cajal, aunque actualmente es una denominación menos usada. El

bulbo olfativo es una estructura pareada que reside justo detrás de la cavidad nasal, consta de cinco capas de células y fibras bien delimitadas y tiene una estructura laminar. En la rata y ratón el bulbo olfativo tiene unos 1.800-2.000 glomérulos, y cada semiparte unos 900 a 1.000 diferentes. La situación de los glomérulos que reciben la señal eléctrica correspondiente a un olor, origina un mapa olfatorio que guarda su posición con la llegada de los axones a nivel cortical, de este modo la información de una sustancia olorosa está codificada espacialmente en el bulbo olfativo.

La pregunta es: ¿Cómo consiguen los axones del bulbo olfativo establecer las conexiones adecuadas en el cortex olfativo, cuál es su naturaleza, qué factores de crecimiento necesitan?

Las repuestas requieren un completo conocimiento del desarrollo del sistema nervioso, lo que estamos muy lejos de conocer y quizá en el futuro un Premio Nobel se conceda al conocimiento exacto de formación de alguno de estos circuitos neurales. Veremos aquí algunos aspectos y datos relevantes, aunque parciales.

Los axones sensoriales son excitadores, de naturaleza glutamatérgica y en el glomérulo establecen las conexiones sinápticas con tres tipos de neuronas: las mitrales, las empenachadas y las periglomerulares. Las neuronas mitrales y empenachadas son de naturaleza excitadora, glutamatérgica, y sus axones se proyectan directamente al cortex olfativo, excepto la diferencia en la morfología, parecen asumir funciones y proyecciones similares. Las neuronas periglomerulares envuelven y conectan los glomérulos entre sí, son de naturaleza inhibitoria, GABAérgica, y evitan la sobre estimulación por exceso de señal olorosa.

La dendrita principal de cada célula mitral y/o empenachada solamente conecta con un glomérulo, el número de células mitrales que conecta con un glomérulo es de entre 20 y 50, y no olvidemos que en cada glomérulo convergen los axones de varios miles de neuronas olfativas, lo que supone 100 veces menos en el número de neuronas que llevan la señal al cortex olfativo.

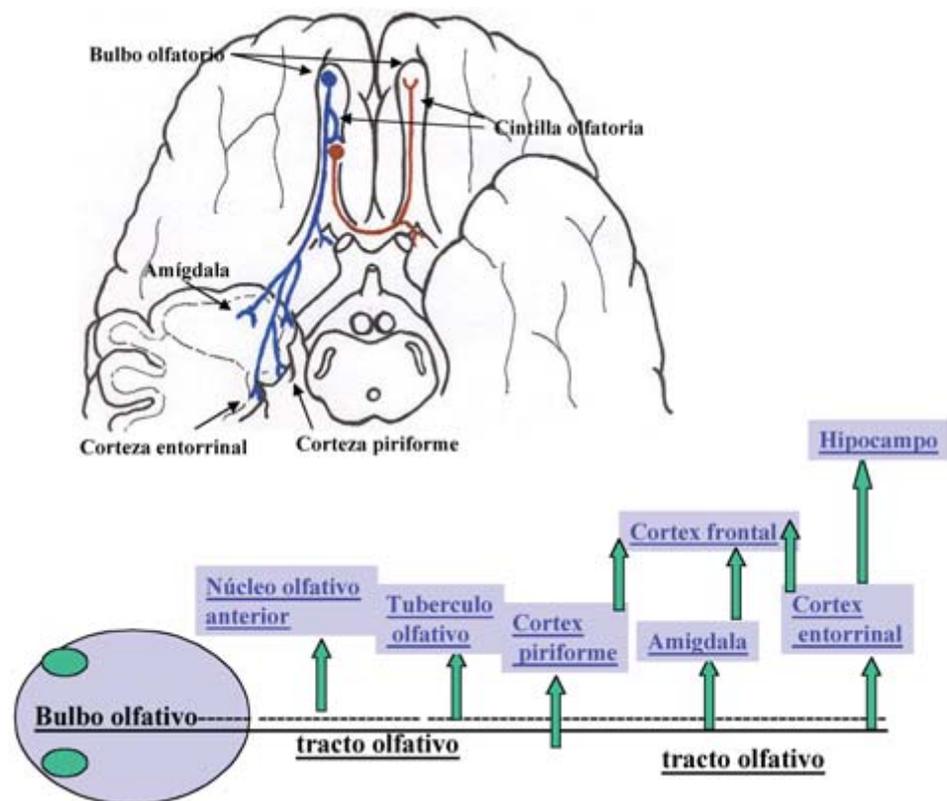


FIGURA 6. Vías centrales de la señal olfativa.
Esquema general de las conexiones olfativas y localización cerebral de las principales proyecciones eferentes del bulbo olfativo.

Los axones de las células mitrales tienen que llegar al cortex olfativo y esta conexión en la rata se suele establecer entre el día 15 y el 17 de desarrollo fetal. Es decir, que a partir de ese día la señalización olfativa desde el bulbo hasta el cortex sería funcional. Se han buscado factores de crecimiento neuronal, del tipo del NGF (Nerve growth factor), para estudiar el desarrollo *in vitro* de este sistema, pero la búsqueda fue infructuosa hasta que, rebuscando en viejos papeles, los investigadores se encontraron con un artículo de Maestre de San Juan (1856, no es un error, mil ochocientos cincuenta y seis) en que este histólogo español describe la falta total de

nervios olfatorios con anosmia en un individuo en quien existía una atrofia congénita de los testículos y miembro viril, publicado en *Siglo Médico*, 131, 211. Hoy día se conoce que el hipogonadismo se debe a que las neuronas que liberan la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), no forman sus axones correctamente. Pues bien, sucede lo mismo en la formación de ramas colaterales en los axones de las células mitrales que forman el tracto olfatorio, lo que origina anosmia. La anomalía genética que cursa con estos déficits está ligada al cromosoma X y se conoce como síndrome de Kallman. Este gen codifica una proteína a la que se denominó anosmina-1 y hoy día se conoce que su función es promover el crecimiento fundamentalmente de los axones del tracto olfatorio y la formación de ramas colaterales que establezcan las conexiones una vez que llegan al cortex. En ausencia de este gen, o en animales con el gen bloqueado, el bulbo olfativo se atrofia y desaparece el camino al cortex. *La importancia de este descubrimiento es que la anosmina-1 es el primer factor de crecimiento, o quimio-atractivo que se conoce que es capaz de producir la arborización del axón para formar las conexiones en su lugar de destino, en este caso el cortex olfativo* (Soussi-Yanicostas et al., 2002).

Tenemos los axones del tracto olfatorio que pueden conectar con la corteza olfativa conocida como cortex piriforme y la corteza entorrinal lateral, desde esta última pueden ir al hipocampo, paso esencial en la consolidación de la memoria a largo plazo y también al cortex frontal donde tendremos las áreas de asociación y donde realmente podremos evocar las sensaciones olfativas conscientes que sean más entrañables o repulsivas en nuestra vida.

En contraposición, las vías que salen del órgano vomeronasal, donde están los receptores de feromonas, no llegan al cortex piriforme, sino a la amígdala, y de ahí alguna vez al cortex frontal. Por este motivo «no olemos» las feromonas, pero pueden activar todas las vías de agresividad y defensa (Dulac and Axel, 1995, 1998). Esta es otra historia, la de la nariz sexual, conocida también como olfato inconsciente, y que sin duda será tan apasionante como la del olfato consciente.

BIBLIOGRAFÍA

1. BALKALYAR, H. A., AND REED, R. R. (1990). Identification of a specialized adenylyl cyclase that may mediate odorant detection. *Science* 250: 1403-6.
2. BARGMANN, C. I., AND KAPLAN, J. M. (1998). Signal transduction in the Caenorhabditis elegans nervous system. *Annu. Rev. Neurosci.* 21, 279-308.
3. BARNEA, G.; O'DONNELL, S.; MANCIA, F.; SUN, X.; NEMES, A.; MENDELSON, M., AND AXEL, R. (2004). Odorant receptors on axon termini in the brain. *Science* 304, 1468.
4. BELLUSCIO, L.; GOLD, G. H.; NEMES, A., AND AXEL, R. (1998). Mice deficient in G(olf) are anosmic. *Neuron*, 20: 69-81.
5. BUCK, L. AND AXEL, R. (1991). A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* 65, 175-187. **Este es el artículo histórico y punto de partida.**
6. CHESSE, A.; SIMON, I.; CEDAR, H., AND AXEL, R. (1994). Allelic inactivation regulates olfactory receptor gene expression. *Cell* 78, 823-834.
7. DULAC, C., AND AXEL, R. (1995). A novel family of genes encoding putative pheromone receptors in mammals. *Cell* 83, 195-206.
8. DULAC, C., AND AXEL, R. (1998). Expression of candidate pheromone receptor genes in vomeronasal neurons. *Chem. Senses* 23, 467-475.
9. EGGAN, K.; BALDWIN, K.; TACKETT, M.; OSBORNE, J.; GOGOS, J.; CHESSE, A.; AXEL, R. AND JAENISCH, R. (2004). Mice cloned from olfactory sensory neurons. *Nature* 428, 44-49.
10. FEINSTEIN, P., AND Mombaerts, P. (2004). A contextual model for axonal sorting into glomeruli in the mouse olfactory system. *Cell* 117, 817-831.
11. KRAUTWURST, D.; YAU, K. W., AND REED, R. R. (1998). Identification of ligands for olfactory receptors by functional expression of a receptor library. *Cell* 95, 917-26.
12. LIU, D. T., TIBBS, G. R., AND SIEGELBAUM, S. A. (1996). Subunit stoichiometry of cyclic nucleotide-gated channels and effects of subunit order on channel function. *Neuron* 16, 983-90.
13. MAESTRE DE SAN JUAN, A. (1856). Falta total de nervios olfatorios con anosmia en un individuo en quien existía una atrofia congénita de los testículos y miembro viril. *Siglo Medico* 131, 211.
14. MALNIC, B.; HIRONO, J.; SATO, T. AND BUCK, L. (1999). Combinatorial receptor codes for odors. *Cell* 96, 713-723.
15. Mombaerts, P.; WANG, F.; DULAC, C.; CHAO, S. K.; NEMES, A.; MENDELSON, M.; EDMONDSON, J., AND AXEL, R. (1996). Visualizing an olfactory sensory map. *Cell*, 87, 675-686.
16. RAMÓN Y CAJAL, S. (1904). *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados*. Tomo II, segunda parte, Imprenta y librería de Nicolás Moya, versión francesa de 1904. Capítulo XLI, Corteza olfativa. Versión española en edición de 1992, ISBN: 84-604-4778-2.
17. SEGUNPTA, P.; CHOU, J. H., BARGMANN, C. I. (1996). Odr-10 encodes a seven transmembrane domain olfactory receptor required for responses to the odorant diacetyl. *Cell* 84, 899-909.

18. SHYKIND, B. M.; ROHANI, S. C.; O'DONNELL, S.; NEMES, A.; MENDELSON, M.; SUN, Y.; AXEL, R., AND BARNEA, G. (2004). Gene switching and the stability of odorant receptor gene choice. *Cell* 117, 801-8015.
19. SOUSSI-YANICOSTAS, N.; DE CASTRO, F.; JULLIARD, E. K.; PERFECTINI, I.; CHÉDOTAL, A., AND PETIT, C. (2002). Anosmin-1, defective in the X-linked form of Kallmann syndrome, promotes axonal Branch formation from olfactory bulb output neurons. *Cell* 109, 217-228.
20. VASSAR, R.; NGAI, J. AND AXEL, R. (1993). Spatial segregation of odorant receptor expression in the mammalian olfactory epithelium. *Cell* 74, 309-318.
21. VASSAR, R.; CHAO, S. K.; SITCHERAN, R.; NÚÑEZ, J. M.; VOSSHALL, L. B., AND AXEL, R. (1994). Topographic organization of sensory projections to the olfactory bulb. *Cell* 79, 981-991.
22. WANG, F.; NEMES, A.; MENDELSON, M., AND AXEL, R. (1998). Odorant receptors govern the formation of a precise topographic map. *Cell* 93, 47-60.
23. WELLERDIEK, C.; OLES, M.; POTT, L.; KORSCHING, S.; GISSWELMANN, G., AND HATT, H. (1997). Functional expression of odorant receptors of the zebrafish *Danio rerio* and of the nematode *C. elegans* in HEK293 cells. *Chem. Senses* 22, 467-76.
24. ZHAO, H.; IVIC, L.; OTAKI, J. M.; HASHIMOTO, M.; MIKOSHIBA, K., AND FIRESTEIN, S. (1998). Functional expression of a mammalian odorant receptor. *Science*. 279, 237-242.
25. ZHAO, H., AND REED, R. R. (2001). X inactivation of the OCNC1 channel gene reveals a role for activity-dependent competition in the olfactory system. *Cell*, 104, 651-660.