

**RED
OLFATIVA
ESPAÑOLA**

**PRIMERAS JORNADAS
OLFATIVAS**

5-7 DE MAYO DE 2006

Lugar de celebración

**Casona de Verines
Pendueles
Asturias**

ÍNDICE

COMITÉ ORGANIZADOR	3
ENTIDADES COLABORADORAS.....	4
PROGRAMA.....	5
RESUMENES DE LAS PONENCIAS	10
INDICE DE AUTORES	49
PALABRAS CLAVE.....	51

COMITÉ ORGANIZADOR

Coordinadores

Esther Alcorta (Universidad de Oviedo)
José Ramón Alonso (Universidad de Salamanca)
Fernando de Castro (Hospital de Paraplégicos de Toledo)
Laura López-Mascaraque (Instituto Cajal, CSIC)

Colaboradores

Carmen Airado Cerrato
Ana Benito González
María Laura Ceci
Maria Coelho
Jorge García Marqués
Carmela Gómez Rodríguez
Jorge Valero Gómez-Lobo
María Vidal García

ENTIDADES COLABORADORAS

AYUNTAMIENTO DE LLANES
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
INSTITUTO CAJAL
PRINCIPADO DE ASTURIAS
RED CIEN (CENTRO DE INVESTIGACION EN ENFERMEDADES NEUROLOGICAS)
UNIVERSIDAD DE OVIEDO
UNIVERSIDAD DE SALAMANCA



CONSEJO SUPERIOR
DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS



PROGRAMA

VIERNES, 5 DE MAYO

16:00

**APERTURA DE LAS JORNADAS POR EL PRESIDENTE DE LA
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NEUROCIENCIA**

PROFESOR JOSÉ MARIA DELGADO
**“Técnicas electrofisiológicas y de fenotipaje en ratones silvestres
y transgénicos”.**

16:30-18:30 PRESENTACIONES ORALES

- **Acebes A. y Ferrús, A.** Número de sinapsis y percepción olfativa en *Drosophila*. Instituto Cajal, CSIC, Madrid.
- **Alcorta, E., Martín, F., Riverón, J., Boto, T. y Gómez-Díaz, C.** La percepción olfatoria en *drosophila melanogaster*: contribución de la información periférica y cambios asociados a un entorno dinámico. Universidad de Oviedo.
- **Pardo, I., Montoliu, S., Marco.** Introducción a las narices electrónicas. Universitat de Barcelona
- **Lozano, J., Santos, JP., Aleixandre, M., Gutiérrez, J. y Horrillo, M.C.** Nariz electrónica para el control de calidad de vinos. Instituto de Física aplicada. Madrid.
- **Salazar I., Sánchez Quinteiro P.** El bulbo olfativo accesorio del ratón como modelo de estudio del sistema vomeronasal en mamíferos. Universidad de Santiago de Compostela.
- **Agustín-Pavón, C., Martínez-Ricós' J., Martínez-García' F. y Lanuza, E.** Regulación dopaminérgica de la olfacción y vomerolfacción en ratones Universitat de València.

18:30-19:00 CAFÉ

19:00-21:30 PRESENTACIONES ORALES

- **Úbeda Bañón, I., Mohedano Moriano, A., Pro Sistiaga, P., y Martínez Marcos, A.** Nuevos aspectos sobre las proyecciones olfativas y vomeronasales. Universidad de Castilla-La Mancha,
- **Martínez-Ricós, J., Agustín-Pavón C., Lanuza E. y Martínez-García, F.** Comunicación intraespecífica mediada por feromonas en hembras de ratón: propiedades reforzantes de las feromonas sexuales. Universitat de València.
- **Airado C, Briñón JM, Baltanás FC, Vilanova-Larena D, Vidal M, Alonso JR.** Proyecciones zincérgicas al bulbo olfatorio desde el núcleo olfatorio anterior en el ratón mutante *pcd* y control. Universidad de Salamanca.
- **Baltanás FC, Weruaga E, Airado C, Recio JS, Vilanova-Larena D, Alonso JR.** Heterogeneidad neuroquímica de las células periglomerulares del ratón mutante *Sey^{dey}*. Universidad de Salamanca.
- **Murias AR, Weruaga E, Curto GG, Gómez C, Valero J, Alonso JR.** Expresión de la óxido nítrico sintasa en el bulbo olfatorio del ratón. Universidad de salamanca.
- **Vilanova-Larena D, Weruaga E, Vidal M, Valero J, Murias A, Alonso JR.** Distribución del péptido cart en el bulbo olfatorio del ratón universidad de salamanca.

21:30: CENA

SÁBADO, 6 DE MAYO

8:30-9:20 DESAYUNO

9:30-11:30 PRESENTACIONES ORALES

- **Moreno, N., Morona, R., López, J.M., Domínguez, L., Muñoz, M. y González, A.** El sistema olfativo en anuros: evidencias de un patrón común de organización en tetrápodos. Univ. Complutense de Madrid.
- **García-Moreno, F. y De Carlos, JA.** Rutas de migración neuronal temprana con trayecto o destino en la corteza piriforme. Instituto Cajal, CSIC, Madrid.

- **Blanchart, A., García-Marqués, J., Salvador, N. y López-Mascaraque.** Construyendo un bulbo olfativo. Instituto Cajal, CSIC, Madrid.
- **Vicario-Abejón, C., Otaegi, G., Vergaño-Vera, E., Méndez-Gómez, H.R., Hurtado-Chong, A., De la Rosa, E.J. y De Pablo, F.** Regulación de la neurogénesis en el bulbo olfatorio. ¹Instituto Cajal y ²Centro de Investigaciones Biológicas, Madrid.
- **Weruaga E, Valero J, Vilanova-Larena D, Vidal M, Díez D, Alonso JR.** Papel de las células mitrales en la migración radial y supervivencia de precursores neuronales en el bulbo olfatorio de roedores adultos. Universidad de Salamanca.
- **De Castro, F.^{1,2} y Coelho, M.¹** Papel de la anosmina-1 en la formación de la corriente migratoria rostral durante el desarrollo. ¹: Hospital Nacional de Parapléjicos de Toledo. ²: Instituto de Neurociencias de Castilla y León-INCyL, Universidad de Salamanca

11:30-12:00 CAFÉ

12:00 CONFERENCIA PLENARIA:

“REGIONALIZACIÓN DE LA CAPA GERMINAL SUBVENTRICULAR Y MECANISMOS DE MIGRACIÓN AL BULBO OLFATORIO”

ARTURO ALVÁREZ-BUYLLA

PROFESOR DE NEUROCIRUGÍA Y ANATOMÍA
UNIVERSIDAD DE CALIFORNIA EN SAN FRANCISCO

13:00-14:30 SESIÓN DE PANELES

- **T. Boto, C. Gómez-Díaz, E. Alcorta.** Efectos en comportamiento de la alteración de genes relacionados con la transducción en neuronas receptoras olfatorias de *drosophila melanogaster*. Universidad de Oviedo.
- **M.L. Ceci, A. Benito, J.A. De Carlos y L. López-Mascaraque.** Expresión espacio-temporal de calretinina y calbindina durante el desarrollo del bulbo olfativo. Instituto Cajal, CSIC. Madrid.
- **C. Gomez-Diaz y E. Alcorta.** Coexpresión de distintas rutas de transducción en la recepción olfatoria de *drosophila melanogaster*: análisis inmunohistoquímico. Universidad de Oviedo.
- **S. González-Granero, E. Desfilis y J.M. García-Verdugo.** ¿Existe migración tangencial al bulbo olfatorio en lagartos? Universidad de Valencia.

- **J. Gracia-Llanes, C. Crespo, M. Gutiérrez-Mecinas, J.M. Blasco-Ibáñez, A. I. Marqués-Marí y F.J. Martínez-Guijarro.** Localización de los receptores de serotonina 1a, 2a, 2c y 3 en el bulbo olfatorio de la rata. Universidad de Valencia.
- **Hurtado-Chong¹, M. J. Yusta-Boyo², E. Vergaño-Vera¹, F. de Pablo², C. Vicario-Abejón¹.** Funciones de IGF-I en la migración y diferenciación de neuronas del bulbo olfatorio. ¹Instituto Cajal, ²Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC).
- **J. Martínez-Hernández¹, E. Lanuza² y F. Martínez-García¹.** Gustación y vomerolfacción: ¿los distintos sistemas quimiosensoriales utilizan diferentes sistemas cerebrales del refuerzo? Universitat de Valencia.
- **Pardo, J. Bosch, L. Cámara, I. Montoliu, S. Marco.** Narices electronicas basadas en el estandar IEEE1451. Universitat de Barcelona.
- **J. Riverón; T. Boto; E. Alcorta.** Modificaciones de la percepción olfatoria de *drosophila melanogaster* asociadas a cambios de la temperatura ambiental. Universidad de Oviedo.
- **Toledano Muñoz, A.** Desarrollo de un instrumento de medida del olfato: test de connecticut. Fundación Hospital Alcorcón, Madrid

14:30-16:30 COMIDA

16:30-18:30 PRESENTACIONES ORALES

- **Blanchart, A. y López-Mascaraque, L.** Migración y diferenciación de las células del bulbo olfativo. Instituto Cajal-CSIC (Madrid)
- **Méndez-Gómez, H.R.¹Jose L. Abad³, Flora de Pablo², Carlos Vicario-Abejón¹.** Efectos de Tbr1 durante la formación de neuronas y glía y la maduración neuronal. ¹Instituto Cajal, ²Centro de Investigaciones Biológicas, ³Genetrix S.L., Madrid.
- **Curto G.G., Weruaga E., Gómez C., Baltanás F.C., Airado C., Alonso J.R.** Formación de nuevas neuronas en ratones adultos heterocigotos para Pax6. Universidad de Salamanca.
- **Vergaño-Vera, E.¹, Bernad, A.², De Pablo, F.³, Vicario-Abejón, C.¹** Generación de interneuronas gabaérgicas y dopaminérgicas a partir de células madre/precursoras de bulbo olfatorio. ¹Instituto Cajal, ²Centro Nacional de Biotecnología; ³Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC Madrid.
- **Nieto-Sampedro, M., Doncel, E. y Martín López.** Instrumentos de reparación del trauma del sistema nervioso central. Instituto Cajal, CSIC, Madrid y Hospital

Nacional de Paraplégicos de Toledo.

18:30-19:00 CAFÉ

19:00-22:00 PRESENTACIONES ORALES

- **Gómez C, Briñón JG, Baltanás FC, Airado C, Weruaga E, Alonso JR.** La privación sensorial olfatoria produce cambios en el contenido de catecolaminas (locales y centrífugas) en el bulbo olfatorio de la rata. Universidad de Salamanca.
- **Recio JS, Weruaga E, Murias AR, Curto GG, Gómez C, Alonso JR.** Efecto de la degeneración de las células mitrales en la llegada de células madre de la médula ósea al bulbo olfatorio principal del ratón. Universidad de Salamanca.
- **Valero J, Weruaga E, Recio JS, Murias AR, Curto GG, Alonso JR.** Neurodegeneración y pre-neurodegeneración de las células mitrales en el ratón mutante PCD. Universidad de Salamanca.
- **Vidal M, Briñón JG, Valero J, Recio JS, Barbado MV, Alonso JR.** Efectos de la privación sensorial sobre la maquinaria de incorporación de nuevas neuronas al bulbo olfatorio y su patrón de diferenciación. Universidad de Salamanca.
- **Toledano Muñoz, A.** Alteraciones del olfato en la consulta ORL. Fundación Hospital Alcorcón

22:00 ESPICHA

DOMINGO, 7 DE MAYO

8:30-9:20 DESAYUNO

9:30-11:00

- **DISCUSIÓN CONJUNTA.**
- **ACUERDOS Y CONCLUSIONES**

- **CLAUSURA**

SALIDA PARA RIBADESELLA A VISITAR “LA CUEVA DE TITO BUSTILLO”.

RESUMENES DE LAS **PRESENTACIONES**

**LA PERCEPCIÓN OLFATORIA EN *DROSOPHILA MELANOGASTER*:
CONTRIBUCIÓN DE LA INFORMACIÓN PERIFÉRICA Y CAMBIOS
ASOCIADOS A UN ENTORNO DINÁMICO
(Olfactory perception: Contribution of the peripheral information and
responses to a changing environment)**

Esther ALCORTA, Fernando MARTÍN, Jacob RIVERÓN, Tamara BOTO y Carolina GÓMEZ-DÍAZ

Universidad de Oviedo. Facultad de Medicina. Departamento de Biología Funcional (Área de Genética) c/ Julian Clavería s/n. 33006 Oviedo (Asturias)

Nuestro grupo estudia las bases de la función olfatoria. Observaciones iniciales en poblaciones naturales de *Drosophila melanogaster* demostraron la existencia de variación en respuesta a los estímulos olorosos, medida en organismos vivos e intactos. A partir de estos resultados intentamos valorar las componentes genética y ambiental de dicha variación en la naturaleza. A) Por una parte se trata de disecar, en condiciones fijas de laboratorio, los componentes de la percepción olfatoria, para lo que iniciamos un estudio de los genes implicados en la recepción. B) Por otra parte, tratamos de evaluar, en individuos de fenotipo salvaje, los efectos producidos por cambios controlados de variables ambientales como la temperatura en la percepción olfatoria, deducida de pruebas de comportamiento.

A) La descripción de los genes codificantes para proteínas intermediarias en la recepción olorosa así como el estudio de su expresión a nivel celular ha permitido plantear las bases del código sensorial olfatorio. La posibilidad de modificar dichos genes o alterar su expresión en individuos vivos e intactos nos permite además estimar sus efectos a nivel funcional en la percepción olfatoria.

Gracias a las herramientas genéticas disponibles en *Drosophila* obtuvimos mutantes dominantes por expresión dirigida de genes en grupos de neuronas receptoras olfatorias, mediante el sistema Gal-4/UAS (que nos permite no sólo expresar y sobreexpresar genes, sino también obtener mutantes nulos usando RNAs de interferencia, además de permitir el control temporal de dichas modificaciones en el desarrollo). En estos individuos observamos los cambios de comportamiento.

Nuestros resultados muestran la participación del gen *dunce*, que codifica para la fosfodiesterasa del AMPc, y el gen *IP₃Kinasa1* en la generación de la señal periférica. Estos datos sugieren la participación de las cascadas del AMPc y del IP₃ en la transducción olfatoria. La coexistencia de ambas rutas de transducción en las mismas neuronas receptoras olfatorias y, en tal caso, sus consecuencias funcionales para generar mensajes diferentes está siendo abordada actualmente en nuestro grupo.

B) El funcionamiento del sistema olfatorio no es inalterable, sino que debe sufrir cambios, para preservar así la capacidad de obtención de información relevante del ambiente. Estos ajustes se producen en función del contexto ambiental que rodea al individuo, de su estado interno y de su experiencia previa. Algunos estudios han demostrado que existen ritmos circadianos en la sensibilidad olfatoria. También se ha estudiado la influencia de la experiencia olorosa previa en la percepción. Sin embargo, no existen muchos estudios sobre la influencia de los factores climáticos previos en la respuesta posterior de los individuos. Un trabajo de nuestro grupo muestra diferencias en sensibilidad olfatoria de individuos probados a la misma temperatura pero sometidos previamente a choques de frío o calor.

Palabras clave: Olfacción, recepción olfatoria, transducción, percepción olfatoria, *Drosophila*.

NÚMERO DE SINAPSIS Y PERCEPCIÓN OLFATIVA EN *DROSOPHILA*. (Synapse number and olfactory perception in *Drosophila*)

Angel ACEBES y Alberto FERRÚS

Instituto Cajal (CSIC), Avda. Dr. Arce 37, 28002 Madrid

Nuestro interés se basa en conocer la relación entre el cambio en el número de sinapsis *in vivo* y la magnitud de la respuesta comportamental. Estudios previos con el gen *gigas/TSC2* mostraron que el aumento en el número de sinapsis sensoriales aumentaba la percepción olfativa. En nuestro laboratorio se han generado dos nuevas herramientas sinaptogénicas: a) la sobre-expresión del gen de la fosfoinosítido-3-kinasa (*PI3K*) en grupos neuronales específicos produce un aumento de un 300% en el número de sinapsis y b) la sobre-expresión del gen de la glicógeno sintasa kinasa-3 (*GSK3*) induce una pérdida de sinapsis cercana al 30% en estos mismos tipos celulares.

Líneas: líneas GAL4 de neuronas centrales olfativas: a) la línea *GH298* (en interneuronas locales) y b) la línea *GHI46* (neuronas de proyección). Estas líneas han sido cruzadas con las líneas UAS-*PI3K* y UAS-*Sgg* (*Shaggy*, el gen homólogo en *Drosophila* de los genes *GSK3 α* y *β* de mamíferos) para permitir la sobre-expresión de ambas proteínas en esas neuronas exclusivamente. Además se han usado las líneas UAS-*CD8-GFP* (para visualizar de terminales axonales y dendríticos) y UAS-*GFPnls* (en el conteo de núcleos celulares). *Histoquímica:* utilizamos el anticuerpo primario anti-GFP (1/500, Molecular Probes, USA) y el anticuerpo secundario Alexa 568 (Molecular probes) en preparaciones de cerebro de *Drosophila*. *Comportamiento:* se emplearon laberintos olfativos en T. Entre 250 y 300 individuos controles y experimentales fueron expuestos a cada dilución en las curvas dosis-respuesta (olores diluidos vol./vol. en aceite de parafina, pureza >95%, Sigma). *Estadística:* en las pruebas de comportamiento se ha empleado la prueba T de Student.

Nuestros datos muestran un aumento (sobrexpresión del gen *PI3K*) o una disminución (sobrexpresando el gen *Sgg/GSK3*) en la señal sináptica y en el número de procesos dendríticos y ramificaciones axonales en ambos tipos neuronales. Sin embargo, no se han observado cambios ni en el número ni en el patrón de proyección neuronal. Funcionalmente, las pruebas comportamentales indican diferencias significativas en las curvas dosis-respuesta para varios olores en a) individuos en los cuales hay una reducción en el número de sinapsis establecidas por las neuronas locales inhibitorias y b) un incremento del número de contactos sinápticos de las neuronas de proyección excitatorias.

En individuos *GAL4-GH298/UAS-Sgg/GSK3*, la disminución de ramificaciones axonales y de sinapsis inhibitorias en un subgrupo definido (30%) de neuronas locales del lóbulo antenal es capaz de producir un aumento de la respuesta repulsiva que es independiente del olor empleado y se extiende sobre un amplio abanico de concentraciones. Sin embargo, en individuos *GAL4-GHI46/UAS-PI3K* el aumento de ramificaciones axonales y el aumento de sinapsis en las áreas diana de un grupo de neuronas de proyección (aprox. 50%) produce cambios dependientes de la naturaleza química y de la concentración del olor empleado. Esta diferencia indica que la percepción a los olores puede ser modificada de manera diferencial al actuar sobre distintos tipos neuronales en distintas áreas cerebrales.

En su conjunto, nuestros experimentos muestran que la modificación del número de sinapsis *in vivo* produce cambios notables en el comportamiento olfativo de los individuos modificados genéticamente.

Cambio en el número de sinapsis, Drosophila, comportamiento, PI3K, GSK3.

EFFECTOS EN COMPORTAMIENTO DE LA ALTERACIÓN DE GENES RELACIONADOS CON LA TRANSDUCCIÓN EN NEURONAS RECEPTORAS OLFATORIAS DE *DROSOPHILA MELANOGASTER*.
(Behavioral consequences of overexpressing transduction cascade genes in olfactory receptor neurons of *Drosophila melanogaster*)

Tamara BOTO, Carolina GÓMEZ-DÍAZ, Esther ALCORTA.

Universidad de Oviedo. Facultad de Medicina. Departamento de Biología Funcional (Área de Genética). C/ Julián Clavería s/n, 33006 Oviedo.

Se han descrito dos cascadas de transducción principales que utilizan IP₃ y AMPc, respectivamente, como segundos mensajeros en la recepción olfatoria, tanto en vertebrados como en invertebrados. Esto se ha deducido mediante pruebas moleculares, electrofisiológicas y de comportamiento. La presencia de estas dos cascadas se ha interpretado como un posible mecanismo de codificación para generar mensajes diferentes por una misma neurona receptora olfatoria (ORN). Algunos estudios en vertebrados han sugerido que las dos cascadas de transducción coexisten, al menos en algunas ORN y se comunican.



Or83b-Gal4/UAS-lacZ

En este estudio se trata de determinar si la alteración de dichas cascadas en ORNs afecta a la percepción olfatoria. Para ello vamos a utilizar pruebas de comportamiento olfatorio en laberintos en Y con 4 olores distintos de distinta naturaleza química, utilizando *Drosophila melanogaster* como organismo modelo. Los cambios en las rutas de señalización serán dirigidos a aquellas neuronas que expresan el receptor molecular generalizado Or83b, que se encuentra en más del 75% de las ORN, mediante el sistema Gal-4/UAS. Este sistema de expresión dirigida consiste en la generación de híbridos de una línea Gal-4, que determina el “dónde” y el “cuándo” de la expresión de un gen, y una línea UAS-gen que determina “qué gen” expresar. De esta manera se consiguen sobreexpresar genes intermediarios de las rutas del AMPc e IP₃ (*dunce* e *IP3Kinasa* respectivamente) en individuos vivos e intactos, para comparar su efecto en percepción con el de la expresión de genes que interrumpen la transmisión sináptica inducida (gen de la cadena ligera de la toxina tetánica).

En individuos con bloqueo de la información olfatoria recibida a través del 75% de las ORN observamos una pérdida generalizada de la sensibilidad por los olores para cada uno de compuestos probados. El índice olfatorio se mantiene cercano al nivel de indiferencia. La sobreexpresión de genes intermediarios de las principales rutas de transducción, *dnc* e *IP3K*, produce cambios en diferente medida en el comportamiento olfatorio de los individuos frente a los olores. Sin embargo, no se observa en ningún caso correlación entre un olor determinado y una sola ruta de transducción.

Estos datos nos permiten deducir, por una parte, la participación de ambas rutas en la recepción sensorial olfatoria, aunque no nos dan información sobre la existencia o no de coexpresión de ambas rutas en las mismas o en distintas neuronas olfatorias. Este punto es directamente abordado en otros trabajos de nuestro grupo.

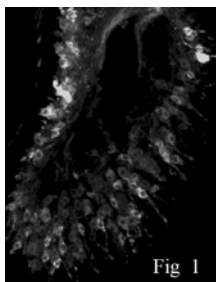
Palabras clave: Transducción, Recepción, Or83b, Comportamiento, *Drosophila*.

COEXPRESIÓN DE DISTINTAS RUTAS DE TRANSDUCCIÓN EN LA RECEPCIÓN OLFATORIA DE *DROSOPHILA MELANOGASTER*: ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO
(Coexpression of different transduction cascades in the olfactory reception of *Drosophila melanogaster*: an immunohistochemical approach)

Carolina GOMEZ-DIAZ; Esther ALCORTA

Universidad de Oviedo. Facultad de Medicina. Departamento de Biología Funcional (Área de Genética) c/ Julian Clavería s/n. 33006 Oviedo (Asturias)

En la transducción olfatoria, participan principalmente dos rutas de segundos mensajeros, tanto en vertebrados como en invertebrados, la del inositol 1,4,5-trifosfato (IP3) y la del adenosín monofosfato cíclico (AMPc). Esto ha sido probado a nivel estructural, mediante la expresión de genes que codifican para productos intermedios de ambas rutas en neuronas de órganos receptores olfatorios y, a nivel funcional, mediante mediciones electrofisiológicas en respuesta a estímulos olfatorios. Estudios de RT-PCR en vertebrados han propuesto que ambas rutas de transducción coexisten al menos en algunas neuronas receptoras olfatorias (ORNs) y que existe "cross-talk" entre ellas. Para emprender el estudio de coexpresión en *Drosophila melanogaster* como paso previo al estudio de su significado funcional, hemos iniciado un análisis inmunohistoquímico. Utilizando como marcador para cada ruta la expresión de genes codificantes para productos intermediarios, como son *dunce* (*dnc*) que codifica para la fosfodiesterasa del AMPc e *Itpr* para el receptor del IP3, se pretende describir si ambas rutas existen en las ORNs y si se expresan en todas ellas, solo en algunas o en ninguna, para finalmente abordar su coexpresión.



Se utilizaron líneas transgénicas en las que la expresión del gen de interés iba asociada a la del gen reportero *lacZ*: *dnc-lacZ* e *Itpr-lacZ*, así como una línea *Gal4-elav/UAS-GFP* en la que la expresión de la proteína panneuronal ELAV se manifestaba por la presencia de GFP. Se empleó un anticuerpo primario anti-b-galactosidasa para revelar la expresión génica en cortes de antena realizados en criostato a partir de tejido fresco y observados por microscopía confocal.

Se detectó fluorescencia intensa y generalizada de la superficie antenal en la línea *Gal4-elav/UAS-GFP* (Fig.1), como es de esperar de una presencia generalizada de ORNs. Se aprecia la estructura neuronal con dendritas, cuerpo celular y axón gracias a la localización de la fluorescencia en la membrana celular, al estar la proteína GFP de la línea fusionada con la proteína de membrana mCD8. La expresión del gen *dnc* también es abundante aunque menor que *elav*. La morfología celular se observa más imprecisa. La localización de ITPR es mucho menos abundante, estando tan sólo algunos núcleos teñidos.

Las pruebas de colocalización presentan dificultades de interpretación al estar los marcadores en distinta localización celular, membrana (ELAV), citoplasma (en *dnc-lacZ*) o núcleo (en *Itpr-lacZ*). Por otra parte, para la ruta del IP3, dada la escasa expresión de *Itpr* se plantea el estudio de la expresión de otro gen intermediario, como por ejemplo, *IP3 kinasa*

Aunque el primer dato observable sería que ambas rutas ni aparecen en todas las ORNs ni se expresan a la vez, los resultados son sólo preliminares. Se plantea como próximo trabajo el estudio de expresión génica de distintos elementos de ambas rutas mediante hibridación "in situ" con mRNA en antenas de moscas de genotipo salvaje.

Palabras clave: transducción, recepción, AMPc, IP3, inmunohistoquímica, *Drosophila*

MODIFICACIONES DE LA PERCEPCIÓN OLFATORIA DE *Drosophila melanogaster* ASOCIADAS A CAMBIOS DE LA TEMPERATURA AMBIENTAL. (Modifications in olfactory perception of *Drosophila melanogaster* due to changes in environmental temperature)

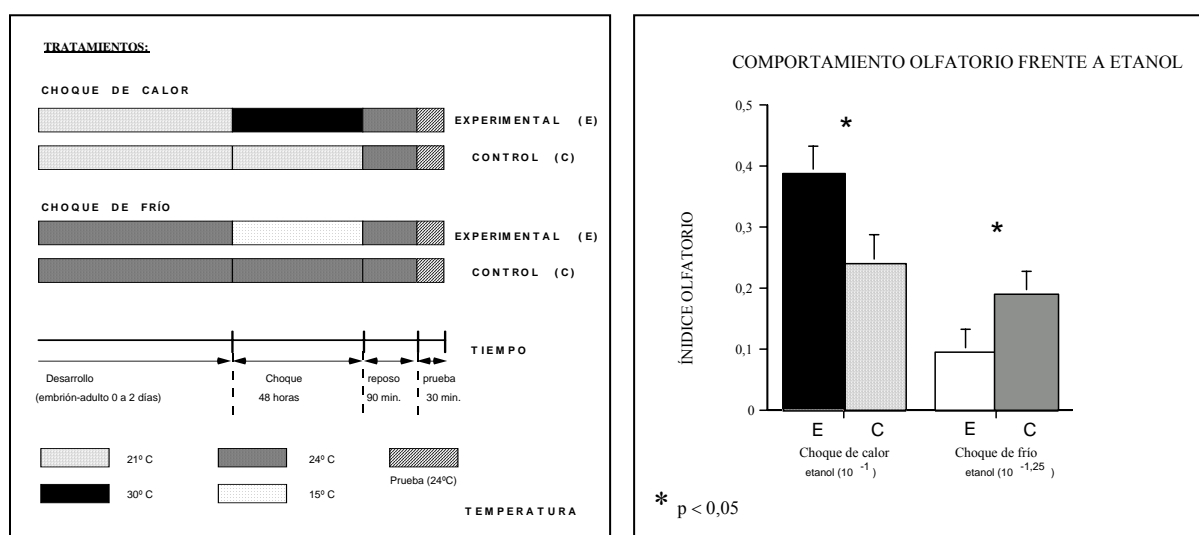
Jacob RIVERÓN; Tamara BOTO; Esther ALCORTA

Universidad de Oviedo. Facultad de Medicina. Departamento de Biología Funcional (Área de Genética) c/ Julian Clavería s/n. 33006 Oviedo (Asturias)

Para que una determinada especie pueda sobrevivir, necesita obtener información del medio que la rodea. El sentido del olfato es la fuente de información del medio externo más importante para insectos y otros invertebrados, gracias a la cual pueden buscar alimento, pareja y un hábitat propicio. El funcionamiento del sistema olfatorio no es inalterable, sino que debe sufrir cambios, para preservar así la capacidad de obtención de información relevante del ambiente. Estos ajustes se producen en función del contexto ambiental que rodea al individuo, de su estado interno y de su experiencia previa. En este estudio intentamos determinar los cambios de percepción olfatoria producidos por las fluctuaciones previas de la temperatura ambiente, directamente relacionada con la intensidad del universo oloroso.

Para ello hacemos pruebas de comportamiento en respuesta a estímulos olorosos usando la población estándar Canton-S de *Drosophila melanogaster* como material experimental.

Los experimentos realizados indican la existencia de diferencias significativas de respuesta olfatoria entre grupos de individuos medidos simultáneamente y a la misma temperatura, pero que han sido sometidos a distintos tratamientos térmicos previos. Datos preliminares sugieren que se trata de un efecto reversible aunque se mantiene durante un tiempo tras cesar las diferencias ambientales de temperatura. A continuación se muestran los resultados obtenidos frente a etanol a concentraciones elevadas para los tratamientos de “choque de frío” y “choque de calor”.



Los cambios en la percepción olfatoria observados pueden ser debidos a procesos activos de adaptación o a respuestas pasivas relacionadas con cambios metabólicos al ser *Drosophila* un organismo de sangre fría. Esta cuestión será abordada en estudios posteriores.

Palabras clave: percepción olfatoria, temperatura, adaptación, comportamiento *Drosophila*.

**FUNCIONES DE IGF-I EN LA MIGRACION Y DIFERENCIACIÓN
DE NEURONAS DEL BULBO OLFATORIO**
(Role of IGF-I in the migration and differentiation of olfactory bulb neurons)

Anahí HURTADO-CHONG¹, María José YUSTA-BOYO², Eva VERGAÑO-VERA¹, Flora DE PABLO², Carlos VICARIO-ABEJÓN¹

¹Instituto Cajal (CSIC, Madrid), ²Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC)

IGF-I es un factor trófico de la familia de la insulina que se sintetiza principalmente en el hígado y en menor cantidad, a nivel local en distintos tejidos. En cerebro, se expresa en cerebelo, hipocampo, zona subventricular (ZSV) y en el bulbo olfatorio (BO) predominantemente en la capa mitral. Resultados previos de nuestro grupo indicaron la importancia de IGF-I en la diferenciación de neuronas y glía así como en el correcto posicionamiento de las neuronas mitrales en su capa (Vicario-Abejón et al 2003; Pichel et al 2003). En este estudio nos propusimos analizar en profundidad la influencia del IGF-I en la estructuración del bulbo olfatorio, así como dilucidar los posibles mecanismos implicados en el fenotipo observado.

Se analizaron en paralelo los BO de ratones knock out (KO) y salvajes de tres edades postnatales distintas: P5, P21 y P49. Se fijaron por perfusión intracardiaca con PFA 4%, se decapitaron y las cabezas fueron postfijadas, crioprotegidas en sacarosa al 30% y congeladas. Se hicieron cortes coronales de BO en criostato. Las secciones, previo bloqueo, se incubaron con distintos anticuerpos primarios que fueron revelados con el anticuerpo secundario fluorescente correspondiente. Se realizaron contajes de las células Dab1⁺ y TH⁺. La falta de IGF-I produjo una disminución en el tamaño y elongación del BO que fue haciéndose más notorio conforme avanzaba la edad de los ratones. Se evidenció también un ensanchamiento de la ZSV probablemente por acumulación de progenitores neurales. A pesar de que las estructuras del BO estaban conservadas, se observó una desorganización de los distintos elementos que conforman las capas del BO, que comenzó desde el desarrollo embrionario y se mantuvo hasta la edad adulta. En la capa mitral, se observaron neuronas dispersas, fuera de lugar y con alteraciones de organización. Algo similar ocurrió con las interneuronas gabaérgicas de la capa granular. No se encontraron diferencias en el número de glomérulos pero sí se evidenciaron alteraciones en su tamaño y organización. En la capa periglomerular del ratón KO se observó una disminución tanto de células migratorias como gabaérgicas y dopaminérgicas. El grosor de la capa plexiforme externa fue más pequeño en el KO. Asimismo, también hubo una disminución del 79-86% de células Dab1⁺, proteína adaptadora de la ruta de señalización de relina.

Estos resultados sugieren que el IGF-I no es esencial en la formación de las distintas capas y tipos celulares del BO, pero sí es necesario para su correcta organización. Las anomalías estructurales que se evidencian por la falta de IGF-I, pueden deberse tanto a alteraciones de posicionamiento final de las neuronas, como a una alteración en la migración de precursores neuronales. Éstos últimos parecen quedar retenidos en la ZSV, siendo parcialmente incapaces de migrar radialmente. Actualmente estamos estudiando la posibilidad de que IGF-I regule la ruta de señalización de relina, un importante factor relacionado con migración y posicionamiento, secretado por las células mitrales.

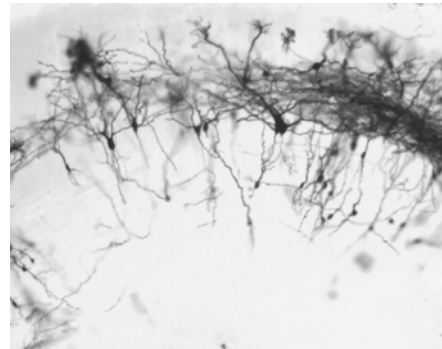
Palabras clave: IGF-I, migración, bulbo olfatorio, neuronas mitrales, interneuronas

Financiado por el Plan Nacional (MEC) y la Comunidad de Madrid

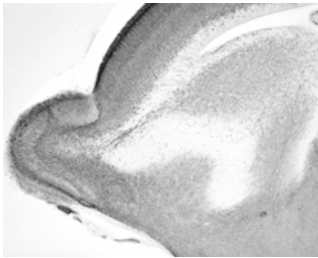
MIGRACIÓN Y DIFERENCIACIÓN DE LAS CÉLULAS DEL BULBO OLFATIVO (Migration and differentiation of the Olfactory Bulb neurons)

Albert BLANCHART y Laura LÓPEZ-MASCARAQUE (blanchart@cajal.csic.es)
Instituto Cajal-CSIC (Madrid)

Durante el desarrollo del bulbo olfativo las primeras células en generarse son las células de proyección. A diferencia de éstas, las interneuronas tienen un periodo de generación que abarca desde estadios embrionarios tempranos hasta la edad adulta. Aunque ambos tipos celulares se generan en la zona ventricular del bulbo olfativo, las interneuronas, también son generadas en otros lugares como la eminencia ganglionar lateral durante la etapa embrionaria y la zona subventricular durante periodos postnatales y en adulto. Sin embargo, aunque no se ha descrito que las células de proyección migren distancias tan grandes como las interneuronas, se ven sometidas a una serie de procesos de cambios de orientación y morfogénesis condicionados por la llegada de los axones de las células sensoriales olfativas situadas en el epitelio olfativo.



Para el estudio de los cambios morfogénicos de las células de proyección se emplearon técnicas de trazadores, inmunohistoquímica y cultivos en redes tridimensionales de colágeno. El uso de marcadores neurogénicos (BrdU) se ha empleado para estudiar como es la generación de los diversos tipos celulares en la zona ventricular del bulbo olfativo. Por otro lado se está caracterizando inmunohistoquímicamente la ruta de migración rostral en las etapas embrionarias con los marcadores típicos de la ruta de migración rostral (RMS) de adulto.



Las células de proyección del bulbo olfativo del ratón se generan en oleadas, desde E10 hasta E13, siendo las primeras en generarse, las primeras en madurar. Los cambios morfogenéticos desarrollados por estas células hasta su maduración dependen de la llegada de los axones de las neuronas sensoriales del epitelio olfativo. Sin embargo este no es un proceso uniforme en el bulbo olfativo, sino que se establece un gradiente espacio-temporal en la maduración de dichas células. Además la influencia de la llegada de los axones desde el epitelio olfativo es muy significativa durante una etapa muy concreta del desarrollo (E14-E16). Por otro lado las interneuronas que se generan durante estas etapas se incorporan al bulbo olfativo bien desde la zona subventricular o bien desde la eminencia ganglionar lateral, siguiendo una ruta de migración. Esta ruta aparece muy definida con los distintos marcadores inmunohistoquímicos que caracterizan la RMS en adulto, apareciendo a nivel dorso-anterior de la eminencia ganglionar lateral y extendiéndose a lo largo del eje caudo-rostral hacia la zona subependimaria del bulbo olfativo. (Financiado por el proyecto BF1203-00139 del MCYT y beca FPU).

Palabras claves: Mitrals, neurogénesis, reorientación, morfogénesis, interneurona

**EXPRESIÓN ESPACIO-TEMPORAL DE CALRETININA Y CALBINDINA
DURANTE EL DESARROLLO DEL BULBO OLFATIVO
(Spatio-temporal expression of calretinin and calbindin during the olfactory bulb
development)**

M. LAURA CECI, ANA BENITO, JUAN A. DE CARLOS Y LAURA LÓPEZ-MASCARAQUE
Instituto Cajal, CSIC. Madrid. España

El calcio es uno de los mensajeros más importantes dentro del microambiente celular. Alteraciones en la concentración de este ión puede influenciar diversos procesos celulares. Sin embargo, el calcio no actúa solo, sino unido a proteínas citoplasmáticas entre las que destacan la calbindina (CB) y calretinina (CR). Durante el desarrollo se ha relacionado a CR con procesos de crecimiento dendrítico, remodelación, elongación axonal y sinaptogénesis, mientras que CB estaría involucrada en migración neuronal, procesos de extensión y supervivencia celular. Dada la gran importancia de estas proteínas en el funcionamiento celular, y que su detección inmunohistoquímica permite identificar las células que las expresan, hemos analizado de forma comparativa su expresión durante el desarrollo del sistema olfativo.

Se emplearon embriones (E11 a P0), y ratones postnatales (P1 y, P4, P12, P15, P24 y P35) de la cepa silvestre B6tgN. Se consideró como E0 el día en que se observó el tapón vaginal. Los animales empleados se anestesiaron con equitesin (3 mg/Kg) y perfundieron con paraformaldehído 4%. Los cerebros se cortaron en vibratomo a 50 µm, y los cortes se procesaron en flotación para inmunohistoquímica con rabbit-anti-calbindin-D-28K (1:10000; Swant) o rabbit-anti-calretinin (1:2000; Swant). Para analizar los patrones de expresión de CB y CR a lo largo del desarrollo se asignaron valores cualitativos en relación al número de células CB o CR positivas observadas por campo visual.

El análisis de CR durante el desarrollo del sistema olfativo muestra un claro marcaje, en fases muy tempranas del desarrollo (E11), siendo particularmente abundante e intenso en el polo rostral de la vesícula telencefálica donde protusionará el bulbo olfativo. Dicha expresión se mantiene, de forma constante y elevada, a lo largo del desarrollo del bulbo olfativo, hasta la segunda semana postnatal, donde comienza a disminuir. CB se expresa desde E11 en las capas más externas del bulbo, aunque no es tan abundante como CR. Se observa un ligero incremento en E13 que se mantiene constante hasta E17. Desde E18 se detecta un marcado y paulatino incremento en la expresión de CB hasta alcanzar, en P4, los niveles requeridos durante el periodo postnatal.

A lo largo del desarrollo prenatal, la relación calretinina- calbindina permanece elevada por lo que CR podría jugar un papel fundamental durante el estadio embrionario, mientras que CB cobraría más importancia durante estadios postnatales. En resumen, el resultado de la expresión de estas dos proteínas ligadoras de calcio a lo largo del desarrollo pre- y postnatal temprano, se corresponde en gran medida con los papeles que se les atribuyen, por lo que se sugiere una función importante en el desarrollo y diferenciación del sistema olfativo. Financiado por el Proyecto BFI203-00139 del MCYT y Beca I3P (L.C.) del MEC.

Proteínas ligadoras de calcio, prenatal, postnatal, ratón.

**FORMACIÓN DE NUEVAS NEURONAS EN RATONES ADULTOS
HETEROCIGOTOS PARA PAX6
(New neurons generation in adult Pax6 heterozygous mice)**

CURTO GG, WERUAGA E, GÓMEZ C, BALTANÁS FC, AIRADO C, ALONSO JR
Universidad de Salamanca. Instituto de Neurociencias de Castilla y León.
Lab. de Plasticidad Neuronal y Neuroreparación.
Avda. Alfonso X el Sabio 1. 37007 Salamanca. España.

Pax6 es un factor de transcripción que controla la expresión de moléculas implicadas en la migración y adhesión celular y a otros factores de transcripción que regulan la proliferación y diferenciación de las células progenitoras en el Sistema Nervioso Central. En ausencia de Pax6 se produce una desviación en la formación de neuronas hacia oligodendrocitos, puesto que Pax6 actúa como determinante neurogénico. Por otra parte, Pax6 regula el ciclo celular tanto de forma directa como indirecta. Los ratones adultos heterocigotos para Pax6 presentan una reducción en el tamaño del bulbo olfatorio y en el número de algunos tipos de interneuronas, principalmente de células periglomerulares y granos. Las células progenitoras de la zona subventricular (ZSV) y de la Corriente Migratoria Rostral (CMR) se diferencian precisamente en esos dos tipos celulares.

Se inyectaron animales mutantes y control con BrdU para identificar las células proliferativas. Realizamos una estimación del número total de células BrdU⁺ en la mitad rostral del encéfalo tras 15 días de supervivencia después de la inyección de BrdU y un análisis estadístico del número y la distribución rostro-caudal de las células BrdU⁺ tras 15 días de supervivencia a la inyección de BrdU así como un análisis de la tasa proliferativa en animales mutantes y control. Para caracterizar las células de nueva generación llevamos a cabo inmunofluorescencia triple para Pax6, BrdU y marcadores neuronales, gliales, de diferenciación, migración y proliferación como proteínas ligantes de calcio, tirosina hidroxilasa, PCNA, GFAP, Sox10, PSA-NCAM y Dab1.

Los animales mutantes muestran una desorganización de los tubos gliales que forman la CMR y una mayor dispersión de células gliales BrdU⁺ en zonas rostrales del encéfalo. En el bulbo olfatorio de los animales mutantes existe una disminución en el número total de células BrdU⁺, tanto en las capas inframitral como en la capa glomerular, pero no existen variaciones en su distribución rostro-caudal en esta región. Además, la tasa proliferativa es mayor en la ZSV de los animales mutantes.

Pax6 está implicado en la proliferación y diferenciación de los progenitores de la ZSV y la CMR y su haploinsuficiencia produce variaciones en la tasa proliferativa y distribución de las células BrdU⁺, además de variaciones en las poblaciones de interneuronas del bulbo olfatorio.

Financiado por: DGI (BFI2003-03719), Junta de Castilla y León, Fundación "FMM".

Palabras clave: Pax6, bulbo olfatorio, corriente migratoria rostral, zona subventricular, progenitores, diferenciación, proliferación, oligodendrocitos.

GENERACIÓN DE INTERNEURONAS GABAÉRGICAS Y DOPAMINÉRGICAS A PARTIR DE CÉLULAS MADRE/PRECURSORAS DE BULBO OLFATORIO

(Generation of gabaergic and dopaminergic interneurons from olfactory bulb stem/precursor cells)

Eva VERGAÑO-VERA¹, Antonio BERNAD², Flora DE PABLO³, Carlos VICARIO-ABEJÓN¹

¹Instituto Cajal (CSIC). Madrid. ²Centro Nacional de Biotecnología (CSIC). Madrid.

³Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC). Madrid.

El bulbo olfatorio (BO), junto con el giro dentado del hipocampo, son las principales regiones del sistema nervioso central (SNC) de los mamíferos, donde se mantiene la neurogénesis durante toda la vida del individuo. Se sabe que muchas interneuronas del BO proceden de la eminencia ganglionar lateral (EGL), la corriente migratoria rostral y la zona subventricular (Lledó *et al*, 2006). Sin embargo, se desconoce, la contribución de los precursores locales a la generación de interneuronas del BO.

Con objeto de estudiar los diversos fenotipos neuronales y gliales generados a partir de las células madre/precursoras de BO, se realizaron experimentos en cultivo e *in vivo*. Para ello, se realizó por un lado, la siembra de células madre de BO (CMBO) y de precursores sobre sustrato adherente sin factores de crecimiento, en cultivo. Y por otro lado, la inyección únicamente de precursores procedentes de ratones EGFP, en rodajas de BO embrionario (E13,5), así como su trasplante en BO neonatal (P5-P7).

Se estudió, por una parte, la diferenciación de células madre neurales de BO, es decir, células que poseen capacidad de autorrenovación y multipotencialidad (Vicario-Abeljón *et al*, 2003; Yusta-Boyo *et al*, 2004). Estas células generaron los diferentes fenotipos neuronales del SNC: neuronas, astrocitos y oligodendrocitos, tanto en cultivo como *in vivo*, manteniéndose algunas de ellas como precursores neuroepiteliales. Las CMBO transplantadas presentaron una escasa migración desde el lugar de inyección. En cultivo, las CMBO generaron un 60% de neuronas gabaérgicas, un 20% de dopaminérgicas y un 11% de mitrales, lo cual junto a la generación de neuronas gabaérgicas a partir de un clon, indica la capacidad de las CMBO para la generación de las distintas poblaciones neuronales maduras. Los precursores celulares de BO E13,5, aislados e inmediatamente transplantados o sembrados en cultivo, también dieron lugar a los diferentes fenotipos del BO: interneuronas gabaérgicas y dopaminérgicas, y neuronas mitrales, tanto en cultivo, como en rodajas y en animales neonatales. También se transplantaron células de la EGL en el BO neonatal, con el objeto de caracterizar los precursores de BO y EGL como poblaciones distintas. En ambos casos, las células migraron a las distintas capas del BO, siendo mayor el porcentaje de células de BO que alcanzaron la capa mitral y plexiformes, mientras que las células de EGL alcanzaron, en mayor número, la capa glomerular. Asimismo, las células de BO y EGL adquirieron morfologías distintas y expresaron diferentes marcadores tras el trasplante. Estos resultados sugieren la existencia de precursores locales en el BO embrionario, que generan interneuronas además de neuronas mitrales. Algunos de estos precursores presentan características de células madre neuronales en cultivo. .Financiado por el Plan Nacional (MEC), Fundación la Caixa y Comunidad de Madrid.

PALABRAS CLAVE: bulbo olfatorio, interneuronas, células madre, progenitores, trasplante

PAPEL DE LA ANOSMINA-1 EN LA FORMACIÓN DE LA CORRIENTE MIGRATORIA ROSTRAL DURANTE EL DESARROLLO.

FERNANDO DE CASTRO^{1,2} Y MARIA COELHO¹

¹: Grupo de Neurobiología del Desarrollo, Unidad de Neurología Experimental, Hospital Nacional de Paraplégicos de Toledo. ²: Instituto de Neurociencias de Castilla y León-INCyL, Universidad de Salamanca

La zona subventricular del telencéfalo (SVZ) es una de las regiones del cerebro que muestra el fenómeno de neurogénesis activo durante más tiempo. En el desarrollo embrionario, precursores neurales generados en la SVZ migran, entre otros destinos, hasta el bulbo olfativo (BO). Este proceso de neurogénesis sigue siendo muy importante en las primeras semanas postnatales y se conserva en el individuo adulto. La migración desde la SVZ hasta el BO se produce a lo largo de la denominada vía migratoria rostral (RMS), formada por canales de astrositos especializados por los que discurren los precursores neuronales. Una vez en el BO, estos precursores completarán su diferenciación a interneuronas (periglomerulares y granos).

Se conoce algunas de las moléculas que modulan y determinan esta migración celular: moléculas que actúan por contacto, como PSA-NCAM o laminina, bien moléculas secretadas, como Slit-2 ó Netrina-1. La Anosmina-1 es una molécula de la matriz extracelular, parcialmente difusible, que está involucrada en diferentes eventos del desarrollo del sistema nervioso central de los Mamíferos: en la migración de neuronas GnRH, en la de precursores de oligodendrocitos y en la orientación del crecimiento axonal y la formación de colaterales a partir del axón primario. En este trabajo hemos estudiado la relevancia de la Anosmina-1 en la migración celular a lo largo de la RMS en diferentes etapas del desarrollo.

Palabras clave: Migración, Anosmina-1, oligodendrocitos, RMS, SVZ, ratón.

RUTAS DE MIGRACIÓN NEURONAL TEMPRANA CON TRAYECTO O DESTINO EN LA CORTEZA PIRIFORME **(Early neuronal migratory routes throughout the piriform cortex)**

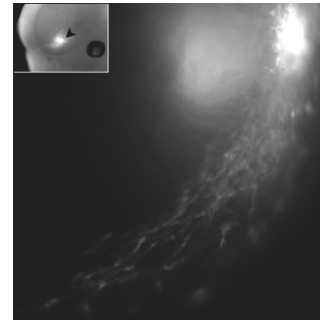
Fernando GARCÍA-MORENO, Juan A. DE CARLOS

Departamento de Neurobiología del Desarrollo. Instituto Cajal (CSIC), Madrid.

La corteza piriforme (CP) es una estructura cerebral laminada en tres capas claramente diferenciadas. Sus neuronas constituyentes se originan en los estadios más tempranos del desarrollo telencefálico desplazándose mediante migración radial, utilizando la glía radial existente en el área limítrofe entre el *pallium* y el *subpallium*. Sin embargo, y como regla general, durante el desarrollo temprano del telencéfalo existen numerosas poblaciones neuronales que deben alcanzar su lugar de asentamiento, a menudo situado a largas distancias de su lugar de origen, mediante un proceso de migración no asociado a células gliales. A esta forma de desplazamiento se la conoce como migración tangencial. Así, algunas interneuronas de la corteza piriforme podrían alcanzar su destino final mediante este tipo de migración.

Para comprobar el lugar de generación y el potencial migratorio de las neuronas formadas en los primeros estadios del desarrollo telencefálico del ratón (E10-E12), inyectamos diferentes trazadores en distintos puntos de la zona ventricular proliferativa del telencéfalo. Acto seguido, cultivamos los embriones completos, en suero de rata inactivado, mediante un sistema de tubos rotatorios con gaseo permanente. Tras 24 horas de cultivo estudiamos inmunohistoquímicamente el linaje celular trazado desde el lugar de inyección.

Hemos hallado diferentes zonas proliferativas telencefálicas que generan neuronas tempranas implicadas en el sistema olfativo. Así, desde la porción rostral de la eminencia ganglionar lateral migra una población celular en sentido rostral. Estas células alcanzan la región más anterior del telencéfalo, a nivel del futuro bulbo olfativo (BO), mediante una migración tangencial que transcurre por la región rostral de la CP. Su caracterización inmunohistoquímica, nos induce a pensar que esta migración constituye la primera llegada de interneuronas al BO. Por otra parte, existen varios puntos del telencéfalo que generan neuronas que pueblan la CP, alcanzándola mediante diferentes rutas migratorias tangenciales. Así, el área rostral y el muro medio-rostral del telencéfalo generan neuronas que migran hacia la CP. Estas migraciones pueden transcurrir en ambos sentidos del eje rostro-caudal de esta corteza, pero también alcanzan su destino atravesando los muros medial y lateral del telencéfalo. Alcanzada la CP, las neuronas se separan de la superficie pial. Este hecho, unido a su tiempo de generación, nos hace pensar que estas neuronas conforman alguna población de la capa 3 de la CP. Por otra parte, su caracterización inmunohistoquímica nos indica que estas células podrían pertenecer a la población de interneuronas con morfología multipolar.



En conclusión, nos gustaría proponer el origen múltiple de las primeras neuronas del sistema olfativo. Puesto que este sistema es el primero en organizarse en el telencéfalo durante el desarrollo embrionario, sería lógico pensar que en estos primeros estadios, diferentes puntos del cerebro generasen principalmente neuronas de dicho sistema, las cuales alcanzarán sus destinos finales mediante migración tangencial, siguiendo diferentes rutas. (Financiado por el proyecto BFI203-00139 del MCYT y beca FPI).

Migración, Interneuronas, Desarrollo embrionario, ratón, neurogénesis

**¿EXISTE MIGRACIÓN TANGENCIAL AL BULBO OLFATORIO EN
LAGARTOS?
(Does tangential migration to olfactory bulb exist in lizards?)**

González-Granero S., Desfilis E. and García-Verdugo J.M.

Itto. Cavanilles de Bioversidad y Biología Evolutiva, Universidad de Valencia (Spain)

En lagartos, la neurogénesis adulta tiene lugar en las principales áreas telencefálicas. Las neuronas generadas se producen en las paredes de los ventrículos laterales, principalmente en los sulci, desde donde migran hasta su destino final. Las nuevas neuronas se generan en la porción de zona ventricular localizada adyacente a cada área telencefálica y migran radialmente hasta su ubicación final. Para dicha migración, los neuroblastos son guiados por los tallos de las células de glía radial. Pero a esta norma existe una excepción, el caso de la migración a los bulbos olfatorios (BO), ya que parece que los neuroblastos recién formados no son producidos en las paredes de los ventrículos ubicadas en los bulbos olfatorios, sino que se generan en niveles más caudales del telencéfalo y migran tangencialmente sobre la zona ventricular hasta ellos. Ese hecho ya se había sugerido para otras especies de reptiles, y está bien establecido para el caso de la neurogénesis en BO de mamíferos.

Estudiando cortes longitudinales del BO y pedúnculo de *Podarcis hispanica*, hemos observado cadenas de células migradoras a lo largo de todo el pedúnculo, las cuales aparecen dispuestas de forma paralela a la superficie del ventrículo y sobre las células de glía radial que lo tapizan. La naturaleza de estas células migradoras ha sido demostrada mediante la realización de inmunocitoquímicas contra marcadores propios de neuroblastos como son Dcx, Tuj1 y PSA-N-CAM. Además, hemos demostrado que dichas células aún mantienen la capacidad de división ya que aparecen marcadas con timidina tritiada después de 1.5 h de supervivencia tras la inyección.

Por tanto nuestros resultados concuerdan con lo que ocurre con la neurogénesis en BO en mamíferos, salvo que no aparecen envueltas en gliotubos constituidos por astrocitos.

Neurogénesis adulta, lagartos, bulbo olfatorio, migración tangencial, zona ventricular.

EFECTOS DE TBR1 DURANTE LA FORMACIÓN DE NEURONAS Y GLÍA Y LA MADURACIÓN NEURONAL

Efects of Tbr-1 during neuronal and glial cell formation and neuronal maturation

Héctor R. MÉNDEZ-GÓMEZ¹, Jose L. ABAD³, Flora DE PABLO², Carlos VICARIO-ABEJÓN¹.

¹Instituto Cajal, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid.

²Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC), Madrid. ³Genetrix S.L., Madrid.

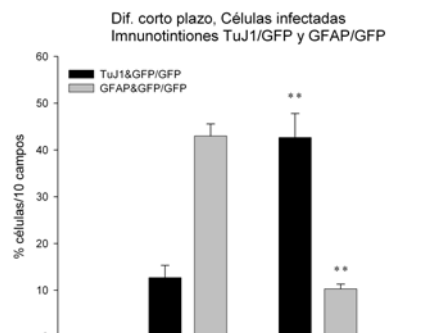
Tbr-1 es un factor de transcripción que parece clave durante el desarrollo de la corteza cerebral y bulbo olfatorio (BO). Se expresa en precursores corticales y de BO durante el desarrollo embrionario y se mantiene su expresión en algunas células del cerebro de ratón adulto (Englund y cols., 2005; Hevner y cols., 2001; Bulfone y cols., 1998). El ratón mutante para Tbr-1 presenta anomalías en la organización laminar de la corteza y en la guía de aferencias y eferencias corticales axónicas (Hevner y cols., 2001). Más concretamente, en el BO aparece una pérdida de la mayoría de sus neuronas de proyección (neuronas mitrales y empenachadas) (Bulfone y cols., 1998). Se desconoce aún qué papel específico juega Tbr-1 en el desarrollo de la corteza y en esta pérdida de neuronas de proyección en el BO.

Para intentar averiguarlo, usamos un vector retroviral (Retrofect[®], Genetrix S.L.) que sobreexpresa GFP (= infección GFP, infección control) (Otaegi y cols., en revisión) en las células que infecta y otro que sobreexpresa a la vez Tbr1 y GFP (= infección Tbr1). Con dichos vectores, infectamos células madre neurales obtenidas de BO (CMNBO) de embriones de ratón de E13.5 y observamos si la sobreexpresión de Tbr1 comparada con el control (que no lo sobreexpresa) afecta a la proliferación de las CMNBO o a su diferenciación en los distintos tipos neurales.

Células con sobreexpresión de hTbr1 (que se comprobó por inmunotinción y RT-PCR) adquieren preferencialmente fenotipo neuronal (TuJ1+) en vez de astroglial (GFAP+) (Fig. 1), en diferenciación a corto plazo (permitimos que las células madre se diferencien durante 3-4 días retirando los factores mitógenos que las mantenían en estado indiferenciado). A los 6 días en diferenciación, también hemos observado un mayor número de oligodendrocitos (O4+) en las células que sobreexpresan Tbr-1. A los 15-17 días en diferenciación, se sigue observado un mayor número de TuJ1+ y aparece un mayor número de V-Glut+ (marcador de neuronas glutamatérgicas) en las células que sobreexpresan Tbr-1. No hemos observado cambios en la proliferación de las CMNBO.

Nuestros primeros datos parecen indicar que, en nuestras condiciones, Tbr-1 está jugando un papel importante en la elección del destino celular que toman los precursores neurales de BO a la hora de diferenciarse a uno de los fenotipos neurales más generales: neurona, oligodendrocito o astrocito. Así mismo, Tbr-1 podría promover específicamente la formación y maduración de neuronas glutamatérgicas en el BO.

Palabras clave: Tbr-1, células madre neurales, destino celular, diferenciación neuronal, neuronas glutamatérgicas.



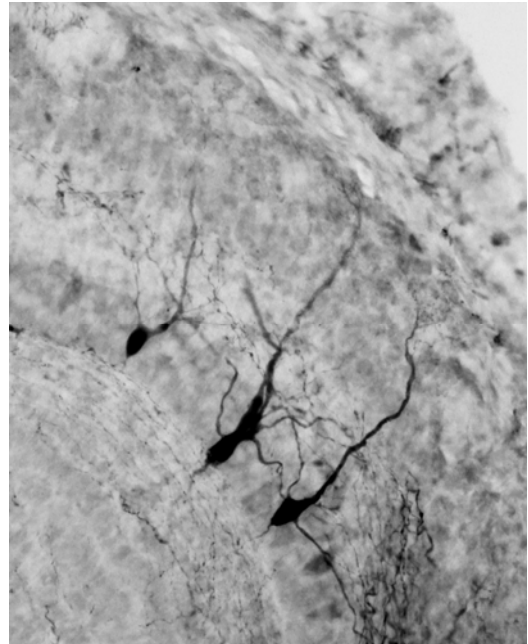
Financiado por el Plan Nacional (MEC) y la Comunidad de Madrid.

CONSTRUYENDO UN BULBO OLFATIVO (Building an olfactory bulb)

Albert BLANCHART, Jorge GARCÍA-MARQUÉS, Nieves SALVADOR and
Laura LOPEZ-MASCARAQUE

Departamento de Neurobiología del Desarrollo. Instituto Cajal -CSIC, Madrid,
mascaraque@cajal.csic.es

Uno de los aspectos más interesantes en el campo de la neurobiología es la generación de los circuitos/mapas neurales durante el desarrollo del sistema nervioso. El sistema olfativo implica el establecimiento de conexiones entre diferentes tipos neuronales que se generan y se diferencian en diversas estructuras. Las primeras células en generarse son las neuronas sensoriales olfativas localizadas en el epitelio olfativo de la cavidad nasal, y cuyos axones se unen formando el primer nervio craneal, que atravesando la lamina cribosa del etmoides proyectan al bulbo olfativo. Durante este proceso de proyección axonal, las células de proyección del bulbo olfativo se generan y se diferencian, de este modo la llegada de los axones procedentes de las neuronas sensoriales olfativas conectan con las células de proyección e interneuronas generadas en el bulbo olfativo comenzando el establecimiento del circuito sensorial olfativo. Este establecimiento de conexiones entre los diversos tipos neuronales es fundamental para la formación y correcto desarrollo del bulbo olfativo pero no para la especificación de los diversos tipos neurales. Por otro lado el sistema olfativo constituye un perfecto ejemplo de plasticidad e integración neuronal, dado el aporte celular que sufre desde otras regiones del telencéfalo durante el desarrollo embrionario y a lo largo de la etapa adulta. Por todo ello el sistema olfativo tiene la capacidad única dentro del sistema nervioso de integrar nuevos componentes a un circuito de transmisión de información ya establecido y adaptar ese aporte externo a los estímulos de quimiocepción del animal. (Financiado por el MCYT- BF1203-00139 y beca FPU).



Migración, Interneuronas, ratón, neurogénesis, mitrales

REGULACIÓN DE LA NEUROGÉNESIS EN EL BULBO OLFATORIO (The regulation of neurogenesis in the olfactory bulb)

Carlos VICARIO-ABEJÓN¹, Gaizka OTAEGI², Eva VERGAÑO-VERA¹, Héctor R. MÉNDEZ-GÓMEZ¹, Anahí HURTADO-CHONG¹, Enrique J. DE LA ROSA², Flora DE PABLO²
¹Instituto Cajal, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid (CSIC); ²Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), CSIC, Madrid.

En función de la etapa del desarrollo del SNC, proporciones variables de precursores neuroepiteliales, poseen características de células madre neurales (CMN), es decir, autorrenovación y potencialidad de diferenciarse en neuronas, astrocitos y oligodendrocitos. La colaboración entre diversas señales y mecanismos de acción, controla tanto la proliferación de los precursores como restringe su diferenciación en fenotipos neuronales o gliales específicos. Aunque en los últimos años se han producido avances notables, los mecanismos que regulan el número de CMN, así como la generación y diferenciación de distintos tipos de neuronas no son bien conocidos. En la reunión, se discutirá el papel de factores extracelulares (factor de crecimiento relacionado con la insulina, IGF-I) y factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), y de sus mecanismos de acción en la autorrenovación y diferenciación de CMN.

En estudios previos, se aislaron y caracterizaron en el laboratorio poblaciones de precursores de bulbo olfatorio (BO) con características de células madre (CMBO) en cultivo (Vicario-Abejón y cols., 2003; Yusta-Boyo y cols., 2004). IGF-I promovió la proliferación celular y la formación de neuroesferas a partir de CMBO, mientras que BDNF no tuvo efecto en proliferación. IGF-I promovió, asimismo, la diferenciación de neuronas y glía en cultivo. Este último efecto de IGF-I, se vio corroborado por la observación de un menor número de neuronas y glía formadas a partir de neuroesferas de CMBO procedentes de un ratón nulo (“knockout”) para IGF-I, en comparación con las CMBO silvestres. IGF-I y BDNF produjeron un efecto sinérgico en el aumento del número de oligodendrocitos. IGF-I estimuló notablemente la fosforilación de AKT en CMBO en fases de proliferación y diferenciación e, in vivo, la falta de IGF-I en el ratón “knockout”, causó una reducción significativa de los niveles de P-AKT. Para estudiar la implicación de la ruta bioquímica de PI3K/AKT en la regulación del mantenimiento y diferenciación de CMBO, se inhibió, parcialmente, esta ruta mediante la sobreexpresión de la fosfatasa PTEN. El aumento de 2-3 veces en la cantidad de PTEN, no afectó a la proliferación ni supervivencia de las CMBO. En cambio, PTEN produjo una disminución del número de neuronas y astrocitos (en ausencia de un efecto notable en supervivencia) que se acompañó de una reducción en los niveles basales de P-AKT.

Estos resultados indican que el IGF-I endógeno ejerce un importante papel durante la diferenciación de CMBO y progenitores neuronales en el bulbo olfatorio. Los resultados sugieren, asimismo, que el control de los niveles de P-AKT es un punto crítico en la regulación de la proliferación y diferenciación de CMBO.

PALABRAS CLAVE: células madre neurales, IGF-I, BDNF, autorrenovación, diferenciación.

Financiado por el Plan Nacional (MEC), Fundación la Caixa y Comunidad de Madrid.

**PAPEL DE LAS CÉLULAS MITRALES EN LA MIGRACIÓN RADIAL Y
SUPERVIVENCIA DE PRECURSORES NEURONALES EN EL BULBO
OLFATORIO DE ROEDORES ADULTOS**
**(Role of mitral cells in radial migration and survival of neuronal precursors in the
olfactory bulb of adult rodents)**

WERUAGA E, VALERO J, VILANOVA-LARENA D, VIDAL M, DÍEZ D, ALONSO JR
Universidad de Salamanca. Instituto de Neurociencias de Castilla y León. Lab. de
Plasticidad Neuronal y Neuroreparación.
Avda. Alfonso X el Sabio 1. 37007 Salamanca, España.

A lo largo de la vida adulta, las células progenitoras de la corriente migratoria rostral migran hasta el bulbo olfatorio y se diferencian en interneuronas que van a modular la actividad de las neuronas de proyección, principalmente las células mitrales. En el presente trabajo se han estudiado tanto la incorporación como la supervivencia de estas células progenitoras en el ratón mutante *pcd* (*Purkinje cell degeneration*), que pierde de forma natural las células mitrales.

Se emplearon ratones control y mutantes *pcd* de 90 días de edad a los que se les inyectó 5-bromo-2'-deoxiruidina (BrdU) mezclada con 5-fluoro-2'-deoxiuridina (30/3 µg/g de peso del animal). Los animales fueron inyectados con BrdU 2 semanas antes del sacrificio para estudiar la incorporación de neuroblastos al bulbo olfatorio, o 2 meses antes del sacrificio para analizar la supervivencia de las neuronas de nueva generación; en todos los casos se realizaron 3 pinchazos a intervalos de 3 h. Se llevó a cabo la inmunodetección del antígeno nuclear de células proliferativas (PCNA), BrdU, los marcadores neuronales Tuj1, NeuN y calretinina (CR), la proteína glial fibrilar ácida (GFAP) y las moléculas implicadas en la migración de precursores neuronales reelina y Dab1.

El porcentaje de células positivas para PCNA en diversas regiones de la corriente migratoria rostral fue similar en ratones control y mutantes. Además, no se observaron cambios en la organización de la corriente migratoria rostral usando el marcador de neuroblastos Tuj1 y el marcador de astrocitos GFAP. No existieron diferencias significativas en el número total de células BrdU positivas en el bulbo olfatorio de ratones control y mutantes. Sin embargo, las capas inframitrales del mutante *pcd* presentaron menos células BrdU positivas que las de los animales control, mientras que en las capas supramitrales el resultado fue al contrario. Los patrones de expresión de reelina y Dab1 no estaban afectados en los animales mutantes, salvo por la pérdida de las células mitrales. No obstante, se observó un aumento en la densidad de los elementos reelina positivos en la capa de los glomérulos. La mayoría de las células marcadas con BrdU expresaban NeuN, calretinina o ambos marcadores, no existiendo diferencias entre animales control y mutantes en el porcentaje de colocalización. Además, dos meses después de la administración de BrdU, las capas inframitrales del bulbo olfatorio de animales mutantes presentaban muchas menos células BrdU positivas que las de animales control, no siendo así en la capa glomerular.

En conclusión, podemos afirmar que las células mitrales juegan un papel fundamental en la migración radial y supervivencia de las células progenitoras que llegan al bulbo olfatorio, aunque el sistema molecular específico que dirige este proceso está aún por determinar.

Palabras clave: BrdU, corriente migratoria rostral, neurogénesis, proliferación, mutante *pcd*.
Financiado por DGI (BFI2003-03719), Junta de Castilla y León y Fundación FMM.

EL SISTEMA OLFATIVO EN ANUROS: EVIDENCIAS DE UN PATRÓN COMÚN DE ORGANIZACIÓN EN TETRÁPODOS.

(The olfactory system in anurans: evidences for a common pattern in tetrapods).

MORENO, N., MORONA, R., LÓPEZ, J.M., DOMÍNGUEZ, L., MUÑOZ, M. Y GONZÁLEZ, A.
Dpto. Biología Celular. F. Biología. Univ. Complutense de Madrid.

Durante el desarrollo temprano en anuros como consecuencia de la evaginación de las paredes laterales del telencéfalo rostral se produce la formación de lo que posteriormente dará lugar a los bulbos olfativos principal y accesorio. Las poblaciones neuronales de ambas estructuras se organizan en capas concéntricas de neuronas de proyección e interneuronas, con un patrón de organización muy comparable al de amniotas.

En este estudio hemos estudiado el origen embriológico de los distintos componentes celulares del bulbo olfativo de anuros, así como sus principales características neuroquímicas y hodológicas, con el fin de analizar el grado de conservación que presenta este sistema en la evolución. Para ello, se han utilizado como marcadores de neuronas de origen palial los genes *x-Pax6*, *x-Eomes* y *x-Lhx5*, y la expresión de GABA y tiroxina hidroxilasa como marcadores de interneuronas subpaliales, demostrando que en anuros, al igual que en amniotas, las neuronas de proyección tienen un origen palial, mientras que las interneuronas son de origen subpalial.

Además, hemos analizado las conexiones olfativas comparables a las de amniotas, en particular las subdivisiones de la amígdala que están directamente relacionadas con los sistemas olfativo y/o vomeronasal, mediante inyecciones de dextranaminas en los bulbos accesorio, principal, o en distintas regiones amigdalinas. Estos resultados nos muestran que, 1) las proyecciones desde el bulbo principal claramente inervan la amígdala lateral en el pallium ventral, y en menor medida la porción rostral de la amígdala medial, 2) inyecciones en el bulbo accesorio revelan exclusivamente proyecciones a la amígdala medial y que 3) existe un gran flujo de información olfativa y vomeronasal en el telencéfalo, que no mantiene una segregación estricta, dado que las zonas que reciben información olfativa proyectan a la amígdala medial, el único destino de la información vomeronasal.

Todas las características, embriológicas, neuroquímicas y hodológicas observadas en nuestro estudio ponen de manifiesto el alto grado de conservación que presenta este sistema en la evolución, existiendo un patrón común de desarrollo y organización al menos en tetrápodos. Ministerio de Ciencia y Tecnología. BFI2003-0375.

Palabras clave: Evolución, amígdala, homología, palio, subpalio.

PROYECCIONES ZINCÉRGICAS AL BULBO OLFATORIO DESDE EL NÚCLEO OLFATORIO ANTERIOR EN EL RATÓN MUTANTE *PCD* Y CONTROL (Olfactory bulb ZEN projections originated in the anterior olfactory nucleus of *pcd* mutant mouse vs. wild type)

AIRADO C, BRIÑÓN JM, BALTANÁS FC, VILANOVA-LARENA D, VIDAL M, ALONSO JR
Universidad de Salamanca. Instituto de Neurociencias de Castilla y León. Lab. de Plasticidad Neuronal y Neuroreparación.
Avda. Alfonso X el sabio 1. 37007 Salamanca, España.

Las neuronas zincérgicas o neuronas ZEN (*Zinc Enriched Neurons*) son aquellas que muestran abundantes iones zinc incluidos en las vesículas sinápticas. Los iones zinc son liberados en la exocitosis del transmisor actuando como moduladores de la sinapsis. En el bulbo olfatorio (BO), la información olfativa saliente es modulada por gran cantidad de aferencias centrífugas. Buena parte de las mismas procede del núcleo olfatorio anterior (NOA) que envía sus proyecciones, glutamatérgicas y en parte zincérgicas a la capa de los granos del (BO). En este trabajo hemos estudiado el patrón de distribución de las neuronas ZEN y de sus terminales ZEN en el NOA y el BO, respectivamente, en el ratón mutante *pcd* (*Purkinje Cell Degeneration*), que pierde las células mitrales a lo largo de su vida postnatal. Se emplearon animales controles y homocigotos para la mutación *pcd*. Realizamos el método del selenio en sus dos variantes: para el marcaje de terminales ZEN, mediante inyecciones intraperitoneales de selenito sódico 1 h antes del sacrificio; y para el marcaje de somas ZEN, mediante inyecciones intracerebrales de selenito sódico en el BO derecho, 24 h antes del sacrificio. Tras el procesamiento del tejido, todas las secciones se revelaron autometalográficamente para poner de manifiesto los iones zinc como precipitados de plata metálica.

La distribución de los terminales ZEN en el BO de los ratones mutantes *pcd* no mostró diferencias significativas con respecto al descrito para los animales control. Así, en ambos casos se encontró la mayor densidad e intensidad de marcaje en la capa de los granos. Tras el análisis cuantitativo de los somas ZEN que proyectan al BO en los animales control, las proyecciones ipsilaterales fueron siempre superiores en número a las del NOA contralateral a la inyección. Además el patrón de distribución del NOA ipsilateral varió en los distintos niveles rostrocaudales analizados, apareciendo la mayor densidad de somas ZEN positivos en las subdivisiones lateral y ventral del NOA para los niveles más rostrales, y en la subdivisión medial para los más caudales.

En los ratones *pcd*, a diferencia de los silvestres, no encontramos somas positivos en el NOA contralateral a la inyección, hecho que podría estar relacionado con la degeneración de la comisura anterior en estos animales. El patrón de distribución de somas ZEN del NOA ipsilateral de animales *pcd* tampoco fue homogéneo. Además, la cantidad de somas positivos en el NOA ipsilateral de estos animales fue significativamente superior al presentado por la misma estructura en los animales control en las subdivisiones dorsal, medial, y lateral en 3 de los 4 niveles analizados. Estos cambios demostraron la capacidad plástica del sistema moduladorio centrífugo tras la pérdida de las células mitrales en los animales mutantes *pcd*.

Palabra clave: glutamato, neuromodulación, *pcd*, selenio, zinc, ZEN

Financiado por DGI (BFI2003-03719), Junta de Castilla y León y Fundación FMM.

**HETEROGENEIDAD NEUROQUÍMICA DE LAS CÉLULAS
PERIGLOMERULARES DEL RATÓN MUTANTE *SEY^{DEY}*
(Neurochemical heterogeneity of periglomerular cells of mutant *Sey^{Dey}* mice)**

BALTANÁS FC, WERUAGA E, AIRADO C, RECIO JS, VILANOVA-LARENA D, ALONSO JR

Universidad de Salamanca. Instituto de Neurociencias de Castilla y León.
Laboratorio de Plasticidad Neuronal y Neuroreparación.
Avda. Alfonso X el Sabio 1. 37007 Salamanca. España.

Las células periglomerulares (PG) son interneuronas que modulan la transmisión de información sensorial en el bulbo olfatorio (BO). Muchos estudios han demostrado que las PG exhiben una extraordinaria heterogeneidad neuroquímica en la rata, pero en el ratón los estudios son escasos. El ratón mutante *Sey^{Dey}* presenta una pérdida de interneuronas en el BO debido a que presenta una mutación en el gen *Pax6*. Este déficit produce una reducción en el tamaño y una estructura anormal del BO, con un menor número de PG. Se ha demostrado que existe una pérdida específica de PG que coexpresan tirosina hidroxilasa y *Pax6*, pero se desconoce si esta alteración genética afecta de igual modo a otras subpoblaciones de neuronas yuxtglomerulares y si estas alteraciones neuroquímicas afectan a la supervivencia de las neuronas. El propósito de este trabajo es analizar las características neuroquímicas de las PG del ratón control y mutante *Sey^{Dey}*.

Para ello utilizamos ratones machos, adultos, de 3 meses de edad que se perfundieron con solución de Somogyi sin glutaraldehído. Sobre cortes coronales de 30 μ m de grosor se realizó la técnica de doble inmunofluorescencia con una amplia batería de marcadores: las proteínas ligantes de calcio calbindina, calretinina, neurocalcina y parvalbúmina, los enzimas tirosina hidroxilasa, óxido nítrico sintasa neuronal y ácido glutámico descarboxilasa, el neuropéptido colecistoquinina y la proteína *Pax6*.

Los resultados obtenidos demuestran que: 1) todas las subpoblaciones analizadas de PG disminuyen en el animal mutante, incluso aquellas que no expresan *Pax6*; 2) las subpoblaciones más afectadas son la catecolaminérgica, la GABAérgica y aquellas que expresan parvalbúmina, neurocalcina y colecistoquinina; 3) la subpoblación de PG que expresa CR es la menos afectada por la mutación.

Estos resultados demuestran que la mutación *Pax6* provoca una pérdida de distintas subpoblaciones de PG en el ratón, incluso de aquellas que no contienen *Pax6*. Esto podría indicar que la mutación afecta a un precursor común de PG, afectando por ello a todas las subpoblaciones de PG neuroquímicamente diferenciadas.

Palabras clave: bulbo olfatorio, células periglomerulares, neuroquímica, *Pax6*.

Este trabajo ha sido financiado por DGI (BFI2003-03719), Junta de Castilla y León, y Fundación FMM.

LOCALIZACIÓN DE LOS RECEPTORES DE SEROTONINA 1A, 2A, 2C y 3 EN EL BULBO OLFATORIO DE LA RATA

(Localization of 1A, 2A, 2C and 3 serotonin receptors in the rat olfactory bulb)

JAVIER GRACIA-LLANES, CARLOS CRESPO, MARÍA GUTIÉRREZ-MECINAS, JOSÉ MIGUEL BLASCO-IBÁÑEZ, ANA ISABEL MARQUÉS-MARÍ Y FRANCISCO JOSÉ MARTÍNEZ-GUIJARRO
Departamento de Biología Celular, Universidad de Valencia. C/ Dr. Moliner 50.
46100 Burjassot (Valencia)

El bulbo olfatorio (BO) de la rata recibe inervación serotoninérgica desde los núcleos dorsal y medial del rafe. Se sabe que la serotonina originada en estos núcleos puede ser liberada a nivel sináptico y a nivel extrasináptico, interactuando con distintos tipos de receptores en sus dianas.

En los últimos años se han caracterizado un número importante de receptores de serotonina contabilizándose 15 subtipos diferentes. Excepto el receptor 5-HT₃ que forma un canal iónico, todos los demás receptores de serotonina pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G. Nosotros hemos analizado mediante técnicas inmunohistoquímicas al microscopio óptico y electrónico la localización de los principales tipos de receptores de serotonina en el BO.

El receptor 5-HT_{1A} se encuentra en una población de células periglomerulares inmunopositivas para la proteína ligante de calcio calretinina. Estas células pertenecen, por tanto, a la subpoblación de células periglomerulares no GABAérgicas de tipo 2 que se encuentran en los glomérulos. Este receptor también se expresa en parte de los axones del nervio olfatorio que inervan a algunos glomérulos olfatorios.

El receptor 5-HT_{2A} lo encontramos en los somas de células granulares y en los somas y dendritas de las células principales del BO (células mitrales y empenachadas).

El receptor 5-HT_{2C} aparece en fibras que recorren las capas inframitrales del BO, especialmente la capa plexiforme interna donde se encuentran los axones de una subpoblación de células empenachadas que forman el sistema de asociación intrabulbar. Los axones marcados con el receptor 5-HT_{2C} realizan contactos sinápticos asimétricos pero no colocalizan con la colecistoquinina, marcador de las células del sistema de asociación intrabulbar.

El receptor 5-HT₃ esta presente en una subpoblación de células superficiales y profundas de axón corto de morfología fusiforme situadas en el borde de la capa plexiforme externa con la capa de los glomérulos y en las capas inframitrales respectivamente. En la región inframitral se encuentran también gran cantidad de terminales axónicos que realizan contactos sinápticos simétricos y son por tanto inhibidores.

Nuestros resultados indican que la modulación subcortical ejercida por la serotonina en el BO se realiza a través de células principales y de interneuronas, implicando la participación de diferentes tipos de receptores.

Este trabajo ha sido financiado por MCYT-FEDER: BFI2001-3186; MEC, BFU2004-00931 y BFI2003-01254; y por la Generalitat Valencia, GV04A-076, GV04A-134 y Grupos 03/119.

Palabras claves: serotonina, receptores, sistema de asociación intrabulbar, periglomerulares, microscopía electrónica.

EXPRESIÓN DE LA ÓXIDO NÍTRICO SINTASA EN EL BULBO OLFATORIO DEL RATÓN

(Nitric oxide synthase expression in the mouse olfactory bulb)

MURIAS AR, WERUAGA E, CURTO GG, GÓMEZ C, VALERO J, ALONSO JR.
Universidad de Salamanca. Instituto de Neurociencias de Castilla y León. Lab. de Plasticidad Neuronal y Neuroreparación.
Avda. Alfonso X el Sabio 1. 37007. Salamanca.

El óxido nítrico (NO) es una molécula gaseosa que se produce por la acción enzimática de la óxido nítrico sintasa (NOS), mediante la transformación de L-arginina en L-citrulina. Una vez sintetizado puede pasar rápidamente a elementos celulares vecinos donde actúa sobre diversas dianas moleculares. Se han aislado tres isoformas principales de la NOS que se denominan dependiendo del tejido en el que se localizan principalmente o el orden cronológico en que se aislaron: NOS neuronal (NOS 1=NOS_n), NOS endotelial (NOS 3=NOS_e), ambas de expresión constitutiva, y NOS inducible o inmunológica (NOS 2=NOS_i). Todas ellas tienen las mismas propiedades catalíticas pero difieren en sus secuencias primarias, en la localización cromosómica de sus genes y en su regulación. A pesar de que hay numerosos estudios sobre la localización de la isoforma neuronal de la NOS tanto en el bulbo olfatorio (BO) como en el resto del encéfalo, no ocurre lo mismo con la NOS 2 y la NOS 3. El objetivo de nuestro trabajo es estudiar la localización de las diferentes isoformas de la NOS en el BO en animales silvestres y comprobar los cambios de expresión de las mismas en animales que carecen genéticamente de la NOS 1.

Se emplearon ratones machos silvestres y *knock-out* para la NOS 1 de 90 días de edad postnatal. Todos los animales se mantuvieron, manipularon y sacrificaron según lo establecido en la directiva del Consejo de las Comunidades Europeas (86/609/EEC) y la legislación española (RD 1201/2005) vigentes para el uso y cuidado de animales de laboratorio. Los animales se fijaron por perfusión con Somogyi sin glutaraldehído, se diseccionaron los encéfalos, se crioprotegieron y se realizaron secciones de 30 µm de grosor. A continuación se realizaron dos técnicas inmunofluorescentes consecutivas. En la primera de ellas se emplearon anticuerpos para detectar NOS 1 y seguidamente se realizó la inmunofluorescencia contra la NOS 2 o la NOS 3, contrastándolas con yoduro de propidio.

En el BO de los animales silvestres, la inmunodetección de la NOS 1 muestra que ésta se localiza en numerosas neuronas yuxtglomerulares. Además, en las capas inframitrales, la enzima está presente en los somas de granos y en otras interneuronas además de en gran cantidad de neuropilo. Los estudios preliminares muestran que en el BO la NOS 2 se localiza fundamentalmente en el neuropilo, mientras que la NOS 3 se encuentra en los vasos sanguíneos, en el soma de una subpoblación de células yuxtglomerulares así como en gran parte de las células mitrales.

La realización de las técnicas inmunofluorescentes consecutivas nos permitirá determinar si la NOS 2 y la NOS 3 colocalizan en las mismas células que la NOS 1. Además, el empleo de los ratones *knock-out* que carecen de la NOS 1 permitirá conocer si las otras isoformas de la NOS compensan o no la carencia de ésta.

Palabras clave: Óxido nítrico sintasa, NOS 1, NOS 2, NOS 3, ratón, knock-out.

Financiado por DGI (BFI2003-03719), Junta de Castilla y León y Fundación FMM

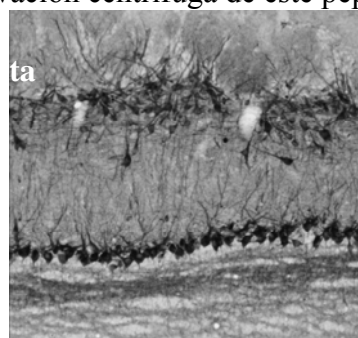
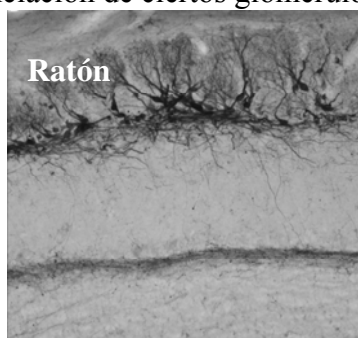
DISTRIBUCIÓN DEL PÉPTIDO CART EN EL BULBO OLFATORIO DEL RATÓN *(Distribution of the CART peptide in the mouse olfactory bulb)*

VILANOVA-LARENA D, WERUAGA E, VIDAL M, VALERO J, MURIAS A, ALONSO JR
Universidad de Salamanca. Instituto de Neurociencias de Castilla y León. Laboratorio de Plasticidad Neuronal y neuroreparación. Av. Alfonso X el Sabio 1, 37007 Salamanca.

Los péptidos CART son neurotransmisores implicados en los sistemas de recompensa y refuerzo, y de control de la alimentación y la saciedad. En un principio se observó que un mRNA hipotalámico aumentaba después de la administración aguda de cocaína y de anfetamina, al que se denominó CART (Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript). CART se expresa en áreas específicas del cerebro como el núcleo arcuato, hipotálamo lateral y núcleo paraventricular (control de la alimentación), área tagmental ventral y núcleo accumbens (sistema mesolímbico-dopaminérgico) y bulbo olfatorio (sistema sensorial químico).

Aunque la distribución de este péptido está descrita en la rata, el marcaje en el ratón se desconoce, por lo que nos hemos planteado como objetivo determinar los elementos neuronales que expresan CART en el bulbo olfatorio (BO) del ratón. Para ello hemos utilizado 6 ratones de la estirpe 139, perfundidos con fijador Somogyi sin glutaraldehído. La localización del péptido se ha realizado con técnicas inmunohistoquímicas y con fluorescencia para doble inmunolocalización con otros marcadores olfatorios específicos.

En el BO la capa plexiforme interna muestra una densidad elevada de fibras CART+. Del mismo modo, en la zona yuxtglomerular y en la capa glomerular hay marcaje para CART que corresponde principalmente a células empenachadas (CE) superficiales y, en menor grado, a células de axón corto y células periglomerulares. La diferencia principal con el patrón de la rata se encuentra en la capa de las células mitrales, donde apenas se expresa en el modelo murino y el marcaje es muy fuerte en las principales neuronas de proyección en la rata. Además, en la rata también se marcan CE medias y externas, pero los penachos de este tipo celular están mejor definidos en el ratón. Las CE externas y superficiales también se pueden diferenciar en el ratón cuando se analiza la distribución de CART conjuntamente con la colecistoquinina. Otra característica del patrón de marcaje de CART en el ratón es la diferenciación de ciertos glomérulos con una fuerte inervación centrífuga de este péptido.



En conclusión, CART se expresa principalmente en CE del ratón, y con los anticuerpos empleados se puede emplear como una herramienta neuroanatómica muy útil en el BO de roedores.

Palabras clave: recompensa, control alimentación, neuropéptido, neuroanatomía.

Financiado por DGI (BFI2003-03719), Junta de Castilla y León y Fundación FMM.

REGULACIÓN DOPAMINÉRGICA DE LA OLFACCIÓN Y VOMEROLFACCIÓN EN RATONES

(Dopaminergic modulation of olfaction and vomerolfaction in mice)

Carmen AGUSTÍN-PAVÓN¹, Joana MARTÍNEZ-RICÓS², Fernando MARTÍNEZ-GARCÍA², Enrique LANUZA¹.

Universitat de València, Facultat de Biologia, Depts. de Biologia Cel·lular¹ y Biologia Funcional². C/Dr Moliner, 50. 46100 Burjassot (València). M.Carmen.Agustin@uv.es

La comunicación intra-específica en el ratón se basa en señales químicas, fundamentalmente feromonas. Las feromonas sexuales de macho constituyen, además, un estímulo reforzante para las hembras de ratón, desencadenando en éstas una exploración muy intensa y preferente frente a feromonas de hembras. Existe una gran controversia sobre el papel que juegan el sistema olfativo y vomeronasal en el procesado de estas señales químicas. La dopamina, clave para los procesos de refuerzo, ejerce también de modulador de la función olfativa, siendo su papel en el sistema vomeronasal menos conocido. Por tanto, quisimos comprobar el efecto de diversos agonistas de la dopamina sobre la investigación de feromonas de congéneres en hembras de ratón, comparándolo con el efecto sobre la detección de olores neutros.

Para ello, desarrollamos dos experimentos: a) “Test de doble elección”: se presenta un recipiente con viruta usada por congéneres a cada lado de una caja rectangular, donde los animales pueden moverse libremente y explorar estos estímulos. Registramos el efecto de agonistas indirectos (Anfetaminas) y directos (SKF 38390, Quinpirole) de la dopamina en hembras adultas sobre el tiempo dedicado a la exploración de viruta de hembras (presentada en ambos lados) y la preferencia por la viruta de machos (presentada frente a viruta de hembras). b) “Test de habituación-deshabituación”: es una prueba estándar de función olfativa. Comprobamos el efecto de los fármacos sobre la detección de dos olores comerciales (Geraniol y Citralva). En ambos experimentos utilizamos animales tratados con solución salina como control.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla adjunta:

Tratamiento (mg/kg)		Exploración de viruta de hembras	Preferencia por viruta de machos	Test de habituación-deshabituación	Actividad locomotora
Agonista indirecto	Anf 0.5	No afecta	No	Mayor discriminación	No afecta
	Anf 2	No afecta	No	Anosmia funcional	Incrementada
Agonista D1	SKF 10	Disminuída	No	Peor discriminación	Disminuída
	SKF 20	Disminuída	No	-	Muy disminuída
Agonista D2	Quin 0.2	No afecta	Sí	Anosmia funcional	Disminuída
	Quin 1	No afecta	No	-	Muy disminuída

Los agonistas de la dopamina provocan, en general, una inhibición de la quimioinvestigación. Sin embargo, se aprecia una modulación distinta de la preferencia por feromonas de macho y la sensibilidad olfativa. La dosis baja de anfetaminas, que provoca mayor discriminación entre los olores neutros, elimina la preferencia por feromonas de macho, mientras que animales funcionalmente anósmicos, debido al tratamiento con la dosis baja de quinpirole, muestran una preferencia normal. Proponemos, por tanto, que estos resultados son una prueba indirecta de que el procesado de la información de señales químicas de congéneres y olores neutros se da en distintos sistemas, concluyendo que, al menos las feromonas sexuales de macho atractivas para las hembras, han de ser detectadas por el órgano vomeronasal.

Palabras clave: Olfacción; vomerolfacción; feromonas; refuerzo; dopamina.

GUSTACIÓN Y VOMEROLFACCIÓN: ¿LOS DISTINTOS SISTEMAS QUÍMIOSENSORIALES UTILIZAN DIFERENTES SISTEMAS CEREBRALES DEL REFUERZO?

(Gustatory and vomerolfactory: Do the different chemosensory systems use different brain systems of reinforcement?)

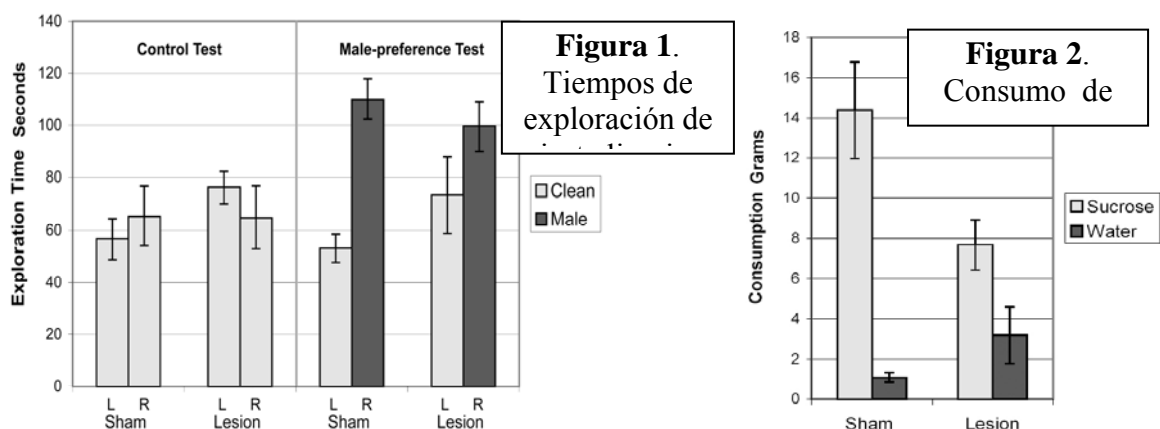
JOSÉ MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ¹, ENRIQUE LANUZA² Y FERNANDO MARTÍNEZ-GARCÍA¹
Universitat de Valencia; 1 Dept. Biología Funcional, 2 Dept. Biología Celular.

Los vertebrados terrestres poseen dos sistemas de detección de moléculas químicas a corta distancia, el gusto y la vomerolfacción, con funciones y sistemas neurales diferentes. En el caso del gusto, la entrada de la información se produce a nivel del rombencéfalo, al núcleo del tracto solitario, por medio de tres nervios craneales diferentes. Mientras que desde el órgano vomeronasal la información entra directamente en telencéfalo, al bulbo olfatorio accesorio. Desde ambos sistemas llegan estímulos apetitivos naturales que son reforzantes, como el sabor dulce o las feromonas sexuales. Nos preguntamos si estímulos tan dispares utilizan un mismo sistema del refuerzo o poseen sistemas del refuerzo diferentes.

Clásicamente se ha asociado el refuerzo a la proyección dopaminérgica tegmento-estriatal. Para comprobar la implicación de esta vía en ambos comportamientos apetitivos estudiamos el efecto de lesiones de las neuronas dopaminérgicas del área ventral tegmental en hembras de ratón sobre su preferencia por feromonas sexuales de macho y por una solución de sacarosa 0.1 M. Para ello realizamos inyecciones de 6-OHDA (grupo lesionado: n = 16) o de vehículo (grupo control: n = 8) en hembras de ratón sin experiencia con feromonas masculinas ni sacarosa.

Los animales control mostraron una clara preferencia por ambos estímulos como era esperable, pero el grupo lesionado mostró resultados dispares. Mientras que su preferencia por feromonas de macho fue similar a la del grupo control ($F_{1,12} = 0.93$; $p > 0.3$; Fig. 1), la preferencia por sacarosa del grupo lesionado se vio reducida ($F_{1,12} = 5.93$; $p < 0.05$; Fig.2).

Esto nos indica que, independientemente del papel de la dopamina, existe una diferencia



en el señalización de las propiedades reforzantes de los estímulos de ambos estímulos. El refuerzo producido del sabor dulce (o de los efectos postingestivos del consumo de sacarosa) depende de la integridad de la vía dopaminérgica tegmento-estriatal, mientras que la exploración de feromonas sexuales es independiente de esta vía. Financiado por el MEC y FEDER (BFU2004-04272).

Palabras clave: Gusto, feromonas, dopamina, refuerzo, 6-OHDA

NUEVOS ASPECTOS SOBRE LAS PROYECCIONES OLFATIVAS Y VOMERONASALES (New aspects on olfactory and vomeronasal projections)

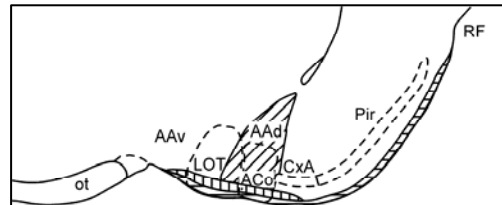
Isabel ÚBEDA BAÑÓN, Alicia MOHEDANO MORIANO, Palma PRO SISTIAGA, Alino MARTÍNEZ
MARCOS

Universidad de Castilla-La Mancha, Facultad de Medicina, Centro Regional de
Investigaciones Biomédicas

Las proyecciones desde los bulbos olfatorios principal y accesorio se describieron en la década de los setenta sobre áreas adyacentes, aunque a priori no solapantes, del telencéfalo basal. Las descripciones originales, sin embargo, ya dejaban entrever zonas dónde se podía producir cierto solapamiento. En los noventa se describió la heterogeneidad del sistema vomeronasal. Se descubrieron dos tipos diferentes de receptores vomeronasales situados apical y basalmente en el epitelio. Éstos expresaban diferentes proteínas G y receptores vomeronasales, y proyectaban, respectivamente a las porciones anterior y posterior de bulbo olfatorio accesorio. Los datos sobre las proyecciones diferenciales desde estas dos porciones del bulbo accesorio a la amígdala son contradictorios.

En el presente trabajo se han utilizado ratas para reinvestigar tanto las proyecciones olfativas como las vomeronasales bajo nuevas perspectivas. Se han usado como trazadores anterógrados los amino-dextranos. En una primera tanda de experimentos, se han realizado inyecciones de amino-dextrano marcado con biotina en el bulbo principal y en el accesorio de diferentes animales. Además, se han realizado inyecciones de amino-dextrano marcado con fluoresceína y con rodamina, respectivamente, en el bulbo principal y accesorio del mismo animal. En un segundo grupo experimental, se han realizado inyecciones de diferentes amino-dextranos en las porciones anterior y posterior del bulbo accesorio. Además, se han corroborado las proyecciones diferenciales halladas, mediante inyecciones en la amígdala de trazadores retrógrados (subunidad B de la toxina colérica y fluoro gold).

Las inyecciones en los bulbos principal y accesorio revelan que existe solapamiento de ambas proyecciones en un total de seis estructuras (núcleo del tracto olfatorio lateral, amígdala cortical anterior, zona de transición amígdalo-cortical, amígdala ventral anterior, núcleo profundo del tracto olfatorio accesorio y amígdala medial antero-ventral). Las inyecciones en ambas porciones del bulbo accesorio revelan una proyección diferencial desde la división posterior de éste a la amígdala anterior dorsal.



Nuestros datos indican que el telencéfalo basal se debería reclasificar en áreas olfatorias, vomeronasales y mixtas. Por otro lado, hemos descrito proyecciones diferenciales a la amígdala que provienen, exclusivamente del bulbo accesorio posterior. Estas proyecciones, además, acaban sobre áreas profundas que nunca se habían descrito como vomeronasales.

Existe, por tanto, un solapamiento parcial de proyecciones olfativas y vomeronasales en el telencéfalo basal. La porción posterior del bulbo accesorio proyecta a zonas profundas de la amígdala.

Amígdala, bulbo olfatorio accesorio, bulbo olfatorio principal, olfativo, vomeronasal

COMUNICACIÓN INTRAESPECÍFICA MEDIADA POR FEROMONAS EN HEMBRAS DE RATÓN: PROPIEDADES REFORZANTES DE LAS FEROMONAS SEXUALES

(Intraspecific communication through pheromones in female mice. Reinforcing properties of male sexual pheromones)

Joana Martínez-Ricós¹, Carmen Agustín-Pavón², Enrique Lanuza², and Fernando Martínez-García¹.

Departamentos de Biología Funcional i Antropología Física (1) y Biología Celular (2),
Facultat de Ciències Biològiques. Universitat de València. C. Dr. Moliner, 50; 46100
Burjassot, València, España.

En roedores, la comunicación intersexual depende de estímulos olfativos y vomeronasales, aunque parece ser que es el órgano vomeronasal (VNO) el que juega un papel crítico en la respuesta comportamental innata frente a posibles parejas sexuales, o sus feromonas. En ratón, se ha demostrado que las feromonas sexuales de macho innatamente atractivas para las hembras son no volátiles y son detectadas por este mismo órgano. Por otra parte, se ha sugerido que la detección de estímulos vomeronasales tenga propiedades reforzantes. De hecho, se ha demostrado que la detección de dichas feromonas no volátiles e innatamente atractivas para hembras de ratón activa los centros neurales del refuerzo (amígdala basolateral y el shell del núcleo accumbens). Por todo ello, sugerimos que las feromonas sexuales de macho de ratón detectadas por el VNO podrían tener propiedades reforzantes para hembras.

Para comprobarlo analizamos la habituación, a lo largo de tests sucesivos, del comportamiento de investigación de las señales químicas contenidas en la viruta utilizada por otras hembras, machos y machos castrados, y hacia un odorante artificial, la citralva. A continuación examinamos la capacidad de la viruta utilizada por los diferentes congéneres para producir Preferencia de Lugar, un paradigma apropiado para testar las propiedades reforzantes de las señales químicas en ellas contenidas.

Los resultados mostraron que sólo las feromonas contenidas en la viruta utilizada por machos es capaz de inducir Preferencia de Lugar, además de ser las únicas que generan un comportamiento de investigación no sometido a habituación a lo largo de los tests.

Este resultado constituye la primera demostración de las propiedades reforzantes de una feromona sexual.

Nosotros proponemos que, como reforzante primario, dichas feromonas (no volátiles-detectadas por el órgano Vomeronasal) podrían asociarse con volátiles (previamente neutrales-detectados por el sistema olfativo principal) transfiriéndoles valor atractivo. Así, ambos sistemas quimiosensoriales actuarían conjuntamente en la detección de señales y en la elaboración de la respuesta adecuada. El sistema vomeronasal detectaría estímulos no volátiles (y por tanto requeriría de un contacto directo para percibirlos) pero de valor emocional innato. El sistema olfativo detectaría sustancias volátiles (a larga distancia, y además un amplio espectro) pero de valor neutro.

Preferencia de Lugar; Comportamiento sexual; Refuerzo; Sistema Vomeronasal; Sistema Olfativo.

EL BULBO OLFATIVO ACCESORIO DEL RATÓN COMO MODELO DE ESTUDIO DEL SISTEMA VOMERONASAL EN MAMÍFEROS

(The accessory olfactory bulb in mice as a model for the study of the vomeronasal system in mammals)

SALAZAR I, SÁNCHEZ QUINTEIRO P

Universidad de Santiago de Compostela, Facultad de Veterinaria, Departamento de Anatomía y Producción Animal, Unidad de Anatomía y Embriología, 27002 Lugo

En la actualidad estamos estudiando en nuestro laboratorio el sistema vomeronasal (SVN) de la oveja, una especie animal en la que su bulbo olfativo accesorio (BOA) presenta algunas particularidades morfológicas interesantes. Para abordar con garantías de éxito el trabajo programado pensamos que es imprescindible disponer de un patrón consistente del BOA y, lógicamente, el modelo idóneo es del ratón. Sin embargo, hay varias cuestiones de la morfología básica de esa estructura en esa especie que todavía no están aclaradas. Con la finalidad de contribuir a completar, al menos parcialmente, esas lagunas del conocimiento se ha realizado el presente estudio, del cual se ofrecen algunos resultados preliminares.

Se utilizaron encéfalos de fetos (E15-E19), animales recién nacidos (P0-P14) y ratonas adultas, fijados en Bouin o en paraformaldehído, incluidos en parafina o cortados directamente en congelación. Preferentemente se realizaron cortes sagitales seriados que se destinaron a: tinción con la técnica de Nissl, histoquímica (lectinas, UEA-I y LEA) e inmunohistoquímica (OMP, GAP-43, MAP2 y GFAP). Con posterioridad, algunas secciones se contratiñeron con cresil-violeta.

Antes el nacimiento, E15-P0, en el BOA del ratón destaca una importante población celular, que se convertirá en las presuntas células mitrales, circunscrita por dos zonas acelulares, superficial y profunda. Externamente, a manera de recubrimiento, se disponen la llegada de los axones vomeronasales y células gliales, futura capa nerviosa, en tanto que en profundidad un importante número de células proliferativas se disponen alrededor de la cavidad ventricular; a partir de ellas se organizará la capa granular. Durante los primeros días de vida, P1-P6, las capas nerviosa y granular se diferencian definitivamente; del resto del bulbo solo es posible independizar la capa granular y el tracto olfativo lateral, ya que la dispersión de las presuntas células mitrales impide marcar límites para las capas plexiformes. En el ratón adulto, las capas nerviosa y glomerular, el tracto olfativo y la capa granular son evidentes, mientras que entre la capa glomerular y el tracto olfativo existe una zona, de anchura considerable, que denominamos zona o banda central. Es esa zona estarían hipotéticamente las capas plexiformes y de las células mitrales.

Aunque la estructura de los bulbos olfativos principal y accesorio tiene un patrón de organización similar, en el BOA no hay referencias fiables para establecer límites entre las capas centrales, por lo que no es demasiado aventurado sugerir que los estratos plexiformes no existen o, en su caso, están “camuflados”. Todavía hoy, existe controversia sobre si las células de mayor tamaño del accesorio son mitrales, empenachadas o mezclas de ambas, de ahí el uso de *presuntas* células mitrales.

Palabras clave: bulbo olfativo accesorio, morfología, estratificación

LA DEPRIVACIÓN SENSORIAL OLFATORIA PRODUCE CAMBIOS EN EL CONTENIDO DE CATECOLAMINAS (LOCALES Y CENTRÍFUGAS) EN EL BULBO OLFATORIO DE LA RATA
(Unilateral olfactory deprivation causes changes in catecholamines content, both local and centrifugal, in the main olfactory bulb of the rat)

GÓMEZ C, BRIÑÓN JG, BALTANÁS FC, AIRADO C, WERUAGA E, ALONSO JR.
Universidad de Salamanca. Instituto de Neurociencias de Castilla y León. Lab. de Plasticidad Neuronal y Neuroreparación.
Avda. Alfonso X el Sabio 1. 37007 Salamanca. España

El sistema catecolaminérgico tiene una importancia esencial en la regulación funcional de la vía olfatoria. Esta regulación es llevada a cabo a través de dos vías: el locus coeruleus envía axones noradrenérgicos centrífugos a distintas capas del bulbo olfatorio y por otra parte, una población de células bulbares sintetiza dopamina.

Dados los conocidos efectos de la privación olfatoria en los elementos intrínsecos de la vía olfatoria primaria, que incluyen cambios citoarquitectónicos, neuroquímicos y fisiológicos, nos planteamos estudiar la respuesta del sistema catecolaminérgico a la ausencia de estimulación aferente. Este estudio se llevó a cabo mediante HPLC para noradrenalina, dopamina, DOPAC y HVA e inmunohistoquímica para la detección de tirosina hidroxilasa y dopamina- β -hidroxilasa e histoquímica para acetilcolinesterasa en ratas privadas unilateralmente durante los 60 primeros días de vida postnatal.

Nuestros resultados indican que el proceso de privación olfatoria tiene un claro efecto sobre el contenido, distribución y densidad de los elementos catecolaminérgicos en el bulbo olfatorio ipsilateral a la narina ocluida. Los cambios más llamativos, en cuanto a las aferencias noradrenérgicas centrífugas, se resumen en el aumento del contenido de noradrenalina, en el aumento de densidad de fibras noradrenérgicas en las capas infraglomerulares y en la aparición de fibras en glomérulos específicos. El análisis de dichos glomérulos muestra que todos ellos pertenecen al grupo de glomérulos atípicos, caracterizados por un intenso marcaje acetilcolinesterasa-positivo. Respecto a los elementos catecolaminérgicos bulbares, en condiciones normales existe un dimorfismo sexual en cuanto a la cantidad de dopamina y de sus metabolitos de degradación (DOPAC y HVA). En machos la cantidad de estas tres sustancias es superior a la encontrada en hembras. Estas diferencias sexuales se reducen tras la privación sensorial. Además, machos y hembras reaccionan de manera diferente ante la pérdida de señales olfatorias. En machos, tanto el contenido de dopamina como DOPAC y HVA disminuye tras 60 días de privación. Sin embargo, el contenido de DOPAC en hembras no varía tras los cambios de estimulación aferente periférica.

Estos datos demuestran, por una parte, un dimorfismo sexual en el contenido de catecolaminas y de sus metabolitos en el bulbo olfatorio y por otra, la existencia de plasticidad por parte del sistema modulador catecolaminérgico, tanto local como centrífugo al sistema olfatorio, como respuesta adaptativa a la reducción de estimulación sensorial.

PALABRAS CLAVE: Catecolaminas, privación sensorial olfatoria, dopamina, DOPAC, HPLC, HVA, noradrenalina.

Financiado por DGI (BFI2003-03719), Junta de Castilla y León y Fundación FMM

INSTRUMENTOS DE REPARACIÓN DEL TRAUMA DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

MANUEL NIETO-SAMPEDRO, ERNESTO DONCEL PÉREZ Y EDUARDO MARTÍN LÓPEZ

Grupo de Plasticidad Neural, Instituto Cajal, CSIC, Madrid y
Unidad de Neurología Experimental, Hospital Nacional de Paraplégicos de Toledo.

Las lesiones del sistema nervioso central (SNC, cerebro y médula espinal) están adquiriendo una importancia socioeconómica creciente. El trauma accidental de varias clases es la causa principal de muerte de niños y adultos jóvenes en los países desarrollados, solamente superado por las enfermedades cardíacas y el cáncer y, si examinamos el número de años de trabajo potencial perdidos, las lesiones sobrepasan todas los demás problemas. La mayoría de las lesiones del SNC causan incapacidad crónica y ocurren frecuentemente a individuos menores de 45 años. Sabemos tratar eficazmente el edema y otros problemas agudos de las lesiones del SNC, por lo que éstas son raramente mortales, pero aún no sabemos curarlas. El resultado final de una lesión del SNC depende del área dañada y de la extensión de la lesión y lo mejor que las terapias disponibles pueden ofrecer es alivio sintomático y rehabilitación. En este trabajo revisamos los instrumentos para la reparación de lesiones del SNC disponibles actualmente y otros que están siendo desarrollados en nuestro laboratorio.

Glía, reparación.

**EFFECTO DE LA DEGENERACIÓN DE LAS CÉLULAS MITRALES EN LA
LLEGADA DE CÉLULAS MADRE DE LA MÉDULA ÓSEA AL BULBO
OLFATORIO PRINCIPAL DEL RATÓN**
(Effect of the mitral cells degeneration on the arrival of bone marrow stem cells to the
mouse main olfactory bulb)

RECIO JS, WERUAGA E, MURIAS AR, CURTO GG, GÓMEZ C, ALONSO JR

Universidad de Salamanca. Instituto de Neurociencias de Castilla y León.
Laboratorio de Plasticidad Neuronal y Neuroreparación.
Avda. Alfonso X el Sabio 1. 37007 Salamanca. España.

En los últimos años han proliferado gran cantidad de trabajos que ponen de manifiesto la llegada de células de la médula ósea (BMSC) al cerebro adulto. En ellos se demuestra la contribución de estas células al aporte de nuevos elementos, bien mediante transdiferenciación o bien mediante fusión celular. Además, se ha sugerido que la neurodegeneración pueda tener un efecto en la modulación tanto de la capacidad de estas células para migrar al cerebro, como de la regulación de su destino celular final. La mayoría de estos estudios se han centrado en el cerebelo, y el análisis del bulbo olfatorio principal (BO) está aún por realizar, pese a tratarse de una de las principales dianas de la neurogénesis adulta. Con nuestro estudio pretendemos demostrar la existencia de este proceso en el BO y, en el caso de producirse de manera fisiológica, clarificar el efecto que la neurodegeneración selectiva tiene sobre este proceso de migración de células desde la médula ósea al BO.

Para ello, se han empleado tanto animales silvestres como mutantes *PCD*, que sufren degeneración postnatal de poblaciones neuronales específicas a distintas edades. Específicamente, en este animal se pierden las células de Purkinje en el cerebelo y de las células mitrales en el BO. Las primeras empiezan a degenerar a las dos semanas postnatales, mientras que las células mitrales inician su desaparición alrededor de P50. Los trasplantes se han realizado a P20, con el objeto de poder analizar el desarrollo de las BMSC en dos estadios temporales de un proceso degenerativo: en pleno proceso, en el cerebelo, y antes de que comience a producirse, en el BO.

Antes de llevar a cabo el trasplante, los animales receptores se sometieron a una radiación de 7.5 Gy en todo el cuerpo, consiguiendo la ablación de la práctica totalidad de su médula ósea. Las BMSC se extrajeron de animales silvestres machos y fueron trasplantadas tanto a hembras mutantes *PCD*, como a hembras silvestres. Se inyectaron intraperitonealmente alrededor de 7×10^6 células por animal.

La identificación de las BMSC en el cerebro de los animales trasplantados se está llevando a cabo mediante hibridación *in situ* fluorescente (FISH) del cromosoma Y. Paralelamente, se están poniendo a punto técnicas de doble marcaje fluorescente que permitan conjugar el FISH de cromosoma Y con la identificación inmunoquímica de diferentes marcadores, tanto neuronales como gliales.

Los resultados nos permitirán ampliar el estudio de este fenómeno al BO, analizando además su relación con la corriente migratoria rostral. Más aún, las posibles diferencias entre cerebelo y BO nos darán a conocer la capacidad de modulación de un proceso degenerativo continuado en la llegada y diferenciación de BMSC al cerebro adulto. Este estudio está siendo financiado por: DGI (BFI2003-03719), Junta de Castilla y León y Fundación FMM.

Palabras clave: Células madre, células mitrales, FISH, neurodegeneración, *Purkinje Cell Degeneration*, trasplante.

NEURODEGENERACIÓN Y PRE-NEURODEGENERACIÓN DE LAS CÉLULAS MITRALES EN EL RATÓN MUTANTE *PCD*
(Neurodegeneration and pre-neurodegeneration of mitral cells in the *pcd* mutant mice)

VALERO J, WERUAGA E, RECIO JS, MURIAS AR, CURTO GG, ALONSO JR

Universidad de Salamanca. Instituto de Neurociencias de Castilla y León. Laboratorio de plasticidad neuronal y neuroreparación
Facultad de Medicina. Avda. Alfonso X el Sabio 1. 37007 Salamanca.

La mutación *pcd* (Purkinje cell degeneration) produce la pérdida de expresión de Nna1, proteína que se supone involucrada en procesos nucleares de neuronas en diferenciación y regeneración. Esta mutación produce la degeneración postnatal y selectiva de las células mitrales del bulbo olfatorio, entre otras.

Se realizaron técnicas inmunocitoquímicas sobre disociados neuronales de células mitrales de animales P70 control y mutantes con el fin de analizar los procesos neurodegenerativos y pre-neurodegenerativos mediante microscopía confocal. Para estudiar la presencia de roturas en el ADN se utilizaron los marcadores γ H2AX, pATM y 53BP1, todos ellos implicados en la señalización de la aparición de roturas en la doble cadena de ADN. Se analizó la actividad transcripcional de las células mitrales mediante métodos indirectos, detectando la ARN polimerasa II y la histona H4 acetilada, y métodos directos basados en la incorporación de fluorouridina a las moléculas de ARN nacientes. El patrón de cromatina se estudió mediante la inmunodetección de la histona H4 tri-metilada, marcador de heterocromatina silente, y la proteína asociada a la cromatina Hp1 α , marcador de heterocromatina pericentromérica. También se analizaron compartimentos nucleares relacionados con el procesamiento de ARN específicos: los cuerpos de Cajal, marcados mediante la inmunodetección de coilina y SMN, y las regiones nucleares de maduración de ARNm, marcadas mediante la inmunodetección de U2B". Además, se realizaron estudios ultraestructurales de las células mitrales tanto de animales control como mutantes.

Las células pre-degenerativas sufren represión transcripcional, procesos de heterocromatinización, segregación nucleolar y cambios en los cuerpos de Cajal y en las regiones de maduración del ARNm. Además, en el citoplasma de las células mitrales de animales mutantes se observa sustitución de las cisternas de retículo endoplasmático rugoso por gran cantidad de ribosomas libres, indicando un fallo en la exportación celular.

Sin embargo, lo más llamativo es que las técnicas empleadas ponen de manifiesto la acumulación de focos de rotura en el ADN de las células mitrales del *pcd*. Este fenómeno provocaría una cascada de cambios nucleares relacionados con el silenciamiento transcripcional que acabaría llevando a la célula a un proceso de muerte neuronal. Las alteraciones descritas se manifiestan en células con una morfología aparentemente normal, sin evidencias claras de neurodegeneración. Por ello, consideramos que estas células se encuentran en una etapa pre-degenerativa. Además, pensamos que los cambios aquí descritos son representativos de la respuesta neuronal normal ante los daños producidos por un amplio rango de desórdenes neurodegenerativos.

Compartimentos nucleares, daño del ADN, heterocromatinización, nucleolo, represión transcripcional.

Financiado por DGI (BFI2003-03719), Junta de Castilla y León y Fundación FMM.

EFFECTOS DE LA DEPRIVACIÓN SENSORIAL SOBRE LA MAQUINARIA DE INCORPORACIÓN DE NUEVAS NEURONAS AL BULBO OLFATORIO Y SU PATRÓN DE DIFERENCIACIÓN
(Effects of sensory deprivation on the machinery for the incorporation of newborn cells to the olfactory bulb and on their differentiation pattern)

VIDAL M, BRIÑÓN JG, VALERO J, RECIO JS, BARBADO MV, ALONSO JR
Universidad de Salamanca. Instituto de Neurociencias de Castilla y León. Lab. de Plasticidad Neuronal y Neuroreparación.
Avda. Alfonso X El Sabio, s/n. 37007 Salamanca.

El bulbo olfatorio es una de las principales dianas de la neurogénesis que tiene lugar en el individuo adulto, ya que mantiene un aporte continuo de neuronas a lo largo de toda la vida postnatal. Las células incorporadas al bulbo olfatorio en la etapa adulta provienen de progenitores situados en la zona subventricular, localizada en la pared de los ventrículos laterales. Estos progenitores neurales se dividen y migran tangencialmente hasta llegar al bulbo, donde migrando radialmente se distribuyen y se diferencian dando lugar a poblaciones neuronales con diferentes características neuroquímicas y fisiológicas.

En este estudio nos proponemos determinar el porcentaje de neuroblastos que se diferencia a cada una de las distintas poblaciones neuronales del bulbo olfatorio y conocer, además, si este patrón es alterado por la ausencia de estimulación sensorial. Para ello se utilizaron animales control y animales deprivados unilateralmente desde P0 a P60. Se realizaron técnicas de inmunohistoquímica simple para la detección de doblecortina (DCX), proteína asociada a microtúbulos utilizada como marcador de neuronas jóvenes; y técnicas de doble inmunofluorescencia combinando la detección de DCX con diferentes marcadores de poblaciones bulbares.

Encontramos diferencias en el número de elementos totales positivos a DCX entre los bulbos ipsilateral y contralateral a la deprivación con respecto a los bulbos control. En los animales de todos los grupos experimentales, encontramos coexpresión de DCX con los marcadores de subpoblaciones de células periglomerulares que no reciben contacto directo con el nervio olfatorio (Calretinina, Calbindina D 28K, Neurocalcina y Colecistoquinina), mientras que no se encontró en el caso de aquellos marcadores propios de células que reciben contactos directos con los axones de las neuronas receptoras olfatorias. Por otro lado, pudimos observar una reducción en los porcentajes de colocalización entre la DCX y las proteínas Calretinina y Calbindina en los bulbos ipsilaterales a la deprivación.

La deprivación unilateral afecta negativamente a la maquinaria de incorporación de nuevas neuronas al bulbo olfatorio, tanto ipsilateral como contralateralmente, como consecuencia el bulbo olfatorio contralateral no puede utilizarse como control de este proceso. Por otra parte, nuestros resultados indican que la mayoría de células generadas en el periodo postnatal darán lugar a granos, a una subpoblación específica de células periglomerulares y a una pequeña población de células empenachadas externas no descrita con anterioridad

Palabras clave: células periglomerulares, DCX, deprivación sensorial, neuroquímica, neurogénesis postnatal.

Financiado por DGI (BFI2003-03719), Junta de Castilla y León y Fundación FMM.

NARIZ ELECTRÓNICA PARA EL CONTROL DE CALIDAD DE VINOS (Electronic nose applied to wine control quality)

J. LOZANO, J. P. SANTOS, M. ALEIXANDRE, J. GUTIÉRREZ, M.C. HORRILLO

Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Instituto de Física Aplicada. Laboratorio de Sensores. C/ Serrano 144. 28006 Madrid.

La capacidad de medir e identificar fiablemente el desarrollo óptimo del aroma, así como las características constantes del sabor, es un punto crucial en el desarrollo de muchos productos. Los encargados de esta difícil tarea siempre han sido los "expertos en olores" o catadores, pero es inevitable que esas personas incluyan en su juicio individual un toque de apreciación personal. De esta forma surge la necesidad de desarrollar un sistema analítico que imite dentro de lo posible el sistema olfativo de los mamíferos pero por otra parte elimine la componente subjetiva y el agotamiento propios de éste.

Una nariz electrónica suele estar constituida por cuatro módulos claramente diferenciados: muestreador de aromas (que va a dirigir los aromas hacia los sensores), la matriz de sensores que va a proporcionar una respuesta frente a los aromas, el sistema de instrumentación y medida que va a medir la señal eléctrica generada por los sensores y a controlar el funcionamiento del sistema, y el sistema de reconocimiento de patrones que realiza tareas de identificación y predicción de muestras.

En la nariz electrónica presentada en este trabajo, se ha utilizado como técnica de extracción el espacio de cabeza estático seguido de una inyección dinámica junto con un array de 16 sensores de óxido de estaño (fabricados con la técnica de sputtering RF sobre un sustrato de alúmina y dopado con cromo e indio) operando a una T^a de 250°C. Para las medidas eléctricas se ha utilizado un multímetro digital Keithley 2700 conectado al PC y controlado mediante la interfaz GPIB. El procesado que se ha realizado a los datos medidos por el sistema consta de una primera fase de extracción de características seguido de un entrenamiento y clasificación con redes neuronales, análisis de componentes principales y/o correlación con PLS.

Se han realizado varios tipos de medidas con el sistema diseñado. En primer lugar se han analizado varios vinos comerciales blancos y tintos para comprobar la capacidad de discriminación del sistema. En segundo lugar se ha querido evaluar la capacidad del sistema diseñado en la determinación del tipo de envejecimiento experimentado por el vino medido. Para ello, se han tomado muestras de un vino antes de introducirlo en bodega y transcurridos 3, 6 y 12 meses de envejecimiento en bodegas de madera de roble americano o francés. A continuación, se ha medido la evolución de un mismo vino de la variedad Malvar en el depósito de acero inoxidable para su almacenaje de bodega. Por último se ha realizado una correlación entre las medidas efectuadas con la nariz electrónica y los resultados de un panel sensorial entrenado para realizar el análisis organoléptico de vinos. En todos estos experimentos se han obtenido valores muy satisfactorios en la clasificación y predicción, que hace que las narices electrónicas una alternativa para los análisis de control de calidad de alimentos, y en especial de vinos.

Palabras clave: olor, alimentos, control de calidad, sensores de gases, reconocimiento de patrones.

INTRODUCCIÓN A LAS NARICES ELECTRONICAS (Introduction to Electronic)

A. Pardo, I. Montoliu, S. Marco.

Departament d'electrònica. Universitat de Barcelona

Una nariz electrónica es un instrumento que se compone, básicamente, de una matriz de sensores de gas no específicos y con selectividad solapada, que proporcionan un conjunto de señales de respuesta y de un sistema de reconocimiento de patrones que ha de extraer la información integrada en el conjunto de señales respuesta.

Existe una relativamente amplia variedad de tecnologías sensoras disponibles para desarrollar matrices de sensores de gas aptas para narices electrónicas. Quizás los más utilizados por su buena relación rendimiento/precio son los sensores de óxido de estaño, que pertenecen a la categoría de los denominados sensores de óxidos metálicos (MOX). Aunque el conocimiento exacto del principio de funcionamiento de este tipo de sensores es difícil, puede decirse que, básicamente, la conductividad de los sensores de óxido de estaño varía ante una gas reductor.

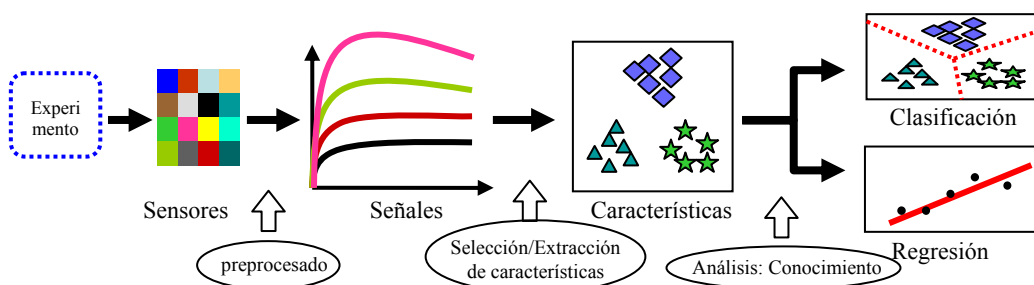
Otro tipo de sensores también utilizados son los sensores electroquímicos, sensores basados de polímeros: microbalanzas de cuarzo (QMB) y surface acoustic wave (SAW), sensores de infrarrojo y pellistores.

Aunque en la actualidad el desarrollo de las matrices de sensores consiste en la aglutinación de los diferentes sensores individuales, las tendencias de futuro apuntan hacia la integración de los sensores en micro-dispositivos que contengan además cierta electrónica de acondicionamiento.

En cuanto al reconocimiento de patrones, es necesario enfatizar la necesidad de involucrar en este proceso muy diferentes conocimientos procedentes de muy variadas disciplinas como estadística, matemáticas, diseño de sistemas, identificación de sistemas, procesado de imágenes, inteligencia artificial, data mining, machine learning, etc.

Dentro del proceso de reconocimiento de patrones pueden distinguirse tres puntos concretos donde se aporta un valor añadido al proceso general de reconocimiento:

- Preprocesado: permite pasar del espacio de las señales crudas de los sensores al espacio de las señales útiles
- Extracción de características: transforma el espacio de las señales útiles en el espacio de las características, donde las clases deben diferenciarse
- Análisis y clasificación donde se aplican los algoritmos de procesado y clasificación que generan los resultados



Palabras Clave: Nariz electrónica, sensores de gas, procesado de señal, reconocimiento de patrones

NARICES ELECTRONICAS BASADAS EN EL ESTANDAR IEEE1451 (Electronic noses based on IEEE145 standard)

A. Pardo, J. Bosch, L. Cámara, I. Montoliu, S. Marco
Departament d'electrònica. Universitat de Barcelona

Una nariz electrónica es un instrumento que se compone, básicamente, de una matriz de sensores de gas que proporcionan un conjunto de señales de respuesta y de un sistema de reconocimiento de patrones que ha de extraer la información integrada en el conjunto de señales respuesta. Los sensores de gas que integran la matriz de sensores de gas son no específicos y presentan selectividad solapada, de tal manera que cada sensor responde a una amplia variedad de estímulos. En la mayoría de ocasiones los diferentes sensores que se han de implementar en una matriz trabajan bajo diferentes condiciones y su respuesta depende de muy diferentes parámetros entre los que se incluyen las condiciones ambientales.

Los diseños tradicionales consisten, por lo tanto, en un conjunto de sensores no específicos con selectividad solapada (mas, a menudo, sensores de temperatura y humedad), conectada a sistemas de adquisición de datos a través de la correspondiente electrónica de acondicionamiento, y a un sistema procesador (Microcontrolador, DSP o PC). El procesador controla la secuencia de la medida y se encarga de procesar los datos de medida apropiadamente. La selección adecuada de la tecnología transductora es de vital importancia para el buen funcionamiento del instrumento.

Sin embargo, en el actual estado de la tecnología, cualquier cambio de el sistema de sensores, implica cambios en el diseño de hardware y software.

Para simplificar la instrumentación en general y obtener diseños más flexibles nació en estándar IEEE1451. Este estándar es una opción muy interesante para el desarrollo de narices electrónicas, propuesto por primera vez por Distant y que está bajo consideración dentro del grupo de estandarización (WG3) dentro del proyecto NOSE-II.

El estándar propone la implementación de sensores/transductores para instrumentación en dos módulos:

El STIM (Smart Transducer Interface Module) encargado de las funciones con los transductores (acondicionamiento, medida, control de actuadores...). Adicionalmente, contiene información sobre los transductores en un formato normalizado dentro de unas tablas denominadas TEDS (Transducer Electronic Data Sheets).

El NCAP (Network Capable Application Processor) tiene diversas funcionalidades: es el procesador fundamental de la información medida por el STIM; es el encargado de las comunicaciones con el STIM a través de un conector estándar TII (Transducer Independent Interface); controla la actividad del STIM y tiene capacidad de comunicación vía red.

El interés en el estándar IEEE1451 se fundamenta en las características que se obtienen de una correcta implementación. Algunas de estas características más destacadas son por ejemplo capacidad de Plug & Play (gracias a las TEDS), conexión caliente a través del conector TII, capacidad de migración hacia diferentes redes de forma fácil...

En definitiva, el diseño de narices electrónicas mediante el estándar IEEE1451 puede beneficiarse de estas ventajas. Por ejemplo, el sistema puede utilizar diferentes tecnologías sensoras sin necesidad de rediseñar todo el sistema. Sólo sería necesario implementar los circuitos apropiados de acondicionamiento y disponer de las TEDS de información en el STIM.

Palabras Clave: Nariz electrónica, IEEE1451, STIM, NCAP, sensores de gas

DESARROLLO DE UN INSTRUMENTO DE MEDIDA DEL OLFATO: TEST DE CONNECTICUT

(The development of a measurement tool for olfaction: the Connecticut test)

ADOLFO TOLEDANO MUÑOZ
Fundación Hospital Alcorcón

Objetivo: cómo se utiliza en la clínica diaria, saber la puntuación del test de olfato (CCCRC) en sujetos sanos, comparar su validez con CC-SIT.

Material y métodos: estudio descriptivo en una muestra de 100 voluntarios sanos. Utilizamos el test de Connecticut (CCCRC) compuesto de: prueba liminar de butanol, prueba supraliminar y la puntuación compuesta (media aritmética de ambos). Analizamos la edad y el sexo mediante una t de Student. El tamaño de la muestra es calculado para un error alfa de 0,05. El estudio de validez lo realizamos en una muestra de 60 enfermos con poliposis nasal. El índice de validez empleado es del 95% y el grado de precisión es del 8% para determinar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo y el valor global del test. Determinamos el coste unitario del test y su reproductibilidad.

Resultados: los sujetos puntuaron el test de butanol con una media de 5,8. El test supraumbral fue puntuado con una media de 7,5. La puntuación compuesta media fue de 6,7. La sensibilidad del test es del 94% y la especificidad es del 81%. El VPP es del 40% y el VPN del 99%. El valor global es del 70%. El coste unitario del test es de 6 euros por prueba. La reproductibilidad de la prueba es del 92%. El 98% de los pacientes lo considera fácil de realizar. **Conclusión:** el test de olfato CCCRC es un test útil para el estudio del olfato.

Palabras clave: olfato, anosmia, hiposmia, pruebas, identificación, umbral.

ALTERACIONES DEL OLFATO EN LA CONSULTA ORL (Olfactory impairment in a dairy ENT office)

ADOLFO TOLEDANO MUÑOZ
Fundación Hospital Alcorcón

Objetivo: revisión de las alteraciones olfatorias de los pacientes de una consulta de ORL en un hospital general. Estudio del olfato en enfermos con poliposis nasal y anosmia viral.

Material y métodos: es un estudio retrospectivo y descriptivo. Incluimos en el estudio todos los pacientes con alteraciones del olfato como principal motivo de consulta. Utilizamos el test de Connecticut para medir el olfato. Definimos las etiologías de las alteraciones del olfato: viral (65 pacientes), idiopática, postraumática, tóxica, medicamentosa e inflamatoria (250 pacientes). Los estudios realizados en cada paciente fueron: anamnesis, endoscopia nasal y exploración de imagen.

Resultados: cuando la anosmia es el principal motivo de consulta, la anosmia viral es la causa más frecuente (55,3%), más en mujeres (2:1) a partir de los 55 años. La endoscopia nasal fue normal en todos los casos. El estudio de imagen más utilizado en nuestra consulta es la TC (68,4%). De forma global la poliposis es la enfermedad que con más frecuencia produce alteraciones del olfato pero este síntoma no es el principal motivo de consulta. Afecta más a mujeres, con asma e intolerancia a la aspirina.

Conclusiones: mientras que la anosmia por poliposis nasal puede tener tratamiento, la anosmia viral no. La recuperación es mayor en pacientes jóvenes y en aquellas lesiones reversibles: virales, tóxicas, medicamentosas. Se deben utilizar pruebas de olfato para valorar este síntoma.

Palabras clave: olfato, pérdida de olfato, quimiosensorial, rinitis, sinusitis

INDICE DE AUTORES

- Abad, JL: 24.
- Acebes, A: 12.
- Agustín-Pavón, C: 34,37.
- Airado, C: 19, 29, 30 ,39.
- Alcorta, E: 11, 13, 14, 15.
- Aleixandre, M: 44.
- Alonso, JR: 19, 27, 29, 30, 32, 33, 39, 41, 42, 43.
- Baltanás, FC: 19, 29, 30, 39.
- Barbado, M.V: 43.
- Benito, A: 18.
- Bernad, A: 20.
- Blanchart, A: 17, 25.
- Blasco-Ibáñez, J.M: 31.
- Bosch, J: 46.
- Boto, T: 11, 13, 15.
- Briñón, J.M: 29, 39, 43.
- Cámara, L: 46.
- Ceci, ML: 18.
- Coelho, M: 21.
- Crespo, C: 31.
- Curto, GG: 19, 32, 41, 42.
- De Carlos, J.A: 18, 22.
- De Castro, F: 21.
- De la Rosa, EJ: 26.
- De Pablo, F: 16, 20, 24, 26.
- Delgado García, J.M: 5.
- Desfilis, E: 23.
- Díez, D: 27.
- Domínguez, L: 28.
- Doncel Pérez, E: 40.
- Ferrús, A: 12.
- García-Marqués, J: 25.
- García-Moreno, F: 22.
- García-Verdugo, J.M: 23.
- Gómez, C: 19, 32, 39, 41.
- Gómez-Díaz, C: 11, 13, 14.
- González, A: 28.
- González-Granero, S: 23.
- Gracia-Llanes, J: 31.
- Gutiérrez, J: 44.
- Gutiérrez-Mecinas, M: 31.
- Horrillo, M.C: 44.
- Hurtado-Chong, A: 16, 26.
- Lanuza, E: 34, 35, 37.
- López, J.M: 28.
- López-Mascaraque, L: 17,18, 25.
- Lozano, J: 44.

- Marco, S: 45, 46.
- Marqués-Marí, A.I: 31.
- Martín López, E: 40.
- Martín, F: 11.
- Martínez-García, F: 34, 35, 37.
- Martínez-Guijarro, F.J: 31.
- Martínez-Hernández, J: 35.
- Martínez-Marcos, A: 36.
- Martínez-Ricós, J: 34, 37.
- Méndez-Gómez, H.R: 24, 26.
- Mohedano Moriano, A: 36.
- Montoliu, I: 45, 46.
- Moreno, N: 28.
- Morona, R: 28.
- Muñoz, M: 28.
- Murias, A.R: 32, 33, 41, 42.
- Nieto-Sampedro, M: 40.
- Otaegi, G: 26.
- Pardo, A: 45, 46.
- Pro Sistiaga, P: 36.
- Recio, JS: 30, 41, 42, 43.
- Riverón, J: 11, 15.
- Salazar, I: 38.
- Salvador, N: 25.
- Sánchez Quinteiro, P: 38.
- Santos, J.P: 44.
- Toledano Muñoz, A: 47, 48.
- Úbeda Bañón, I: 36.
- Valero, J: 27, 32, 33, 42, 43.
- Vergaño-Vera, E: 16, 20, 26.
- Vicario-Abejón, C: 16, 20, 24, 26.
- Vidal, M: 27, 29, 33, 43.
- Vilanova-Larena, D: 27, 29, 30, 33.
- Weruaga, E: 19, 27, 30, 32, 33, 39, 41, 42.
- Yusta-Boyo, J: 16.

INDICE DE PALABRAS CLAVE

Adaptación: 15
Alimentos: 44
Amígdala: 28, 36
AMPC: 14
Anosmia: 47
Anosmina-1: 21
Anuros: 28
Autorrenovación: 26
BDNF: 26
BrdU: 27
Bulbo olfatorio accesorio: 36, 38
Bulbo olfatorio principal: 16, 19, 20, 23, 30, 36
CART: 33
Catecolamina: 39
Células madre: 20, 24, 26, 41
Compartimentos nucleares: 43
Comportamiento: 12, 13, 15
Comportamiento sexual: 37
Control alimentación: 33
Control de calidad: 44
Daño del ADN: 43
DCX: 43
Degeneración Células Purkinje: 41
Deprivación sensorial: 39, 44
Desarrollo embrionario: 22
Diferenciación: 19, 24, 26
DOPAC: 39
Dopamina: 34, 35, 39
Drosophila: 11, 12, 13, 14, 15
Estratificación: 38
Evolución: 28
Feromonas: 34, 35
FISH: 41
Glia: 40
Glutamato: 29
GSK3: 12
Gusto: 35
Heterocromatinización: 43
Hiposmia: 47
Homología: 28
HPLC: 39
HVA: 39
IGF-I: 16, 26
Inmunohistoquímica: 14
IEEE1451: 46
Identificación: 47
Interneuronas: 16, 17, 20, 22, 25

IP3: 14
Knockout: 32
Lagartos: 23
Microscopía electrónica: 31
Migración: 16, 21, 22, 23, 25
Mitrales: 16, 17, 25, 41
Morfogénesis: 17
Morfología: 38
Narices electrónicas: 45, 46
NCAP: 46
Neuroanatomía: 33
Neurodegeneración: 41
Neurogénesis: 17, 22, 23, 25, 27, 44
Neuromodulación: 29
Neuropeptido: 33
Neuroquímica: 30, 44
Noradrenalina: 39
NOS: 32
Nucleolo: 43
6-OHDA: 35
Oligodendrocitos: 19, 21
Olfacción: 11, 34
Olfativo: 36, 37
Olfato: 47, 48
Olor: 44
Or83b: 13
Palio: 28
Pax6: 19, 30
Pcd: 27, 29
Percepción olfatoria: 11, 15
Periglomerulares: 30, 31, 43
PI3K: 12
Postnatal: 18
Preferencia de Lugar: 37
Prenatal: 18
Procesado de señal: 45
Progenitores: 19, 20
Proliferación: 19, 27
Proteínas ligadoras de Calcio: 18
Pruebas: 47
Quimiosensorial: 48
Ratón: 18, 21, 22, 25, 32
Recepción: 13, 14
Recepción olfatoria: 11
Receptores: 31
Recompensa: 33
Reconocimiento de patrones: 44, 45
Refuerzo: 34, 35, 37
Reorientación: 17
Reparación: 40

Represión transcripcional: 43
Rinitis: 48
RMS (corriente migratoria rostral): 19, 21, 27
Selenio: 29
Sensores de gases: 44, 45, 46
Serotonina: 31
Sinapsis: 12
Sinusitis: 48
Sistema de asociación intrabulbar: 31
STIM: 46
Subpalio: 28
SVZ (zona subventricular): 19, 21, 23
Tbr-1: 24
Temperatura: 15
Transducción: 11, 13, 14
Transplante: 20, 41
Umbral: 47
Vomerolfacción: 34
Vomeronasal: 36, 37
ZEN: 29
Zinc: 29