

LOS EFECTOS DE LA AUSENCIA DE LAS AFERENCIAS OLFATORIAS EN LA REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA CEREBRAL

Una hipótesis respecto de su influencia en las Enfermedades Neurodegenerativas.

El presente informe es el primero de una serie próxima en la cual describiremos las diversas líneas de investigación que se están desarrollando en el Instituto de Neurociencia de la Facultad de Medicina de la Universidad de Morón (Argentina).

Dicho instituto está dirigido por el Prof. Dr. Jorge Mario Affanni, y los investigadores que se desempeñan en el mismo son el Prof. Dr. Claudio Cervino, la Dra. Georgina Barrantes, el Dr. Marcelo Ortells, el MedVet. Omar Iodice y el Dr. Ricardo Abello.

La investigación de las interacciones entre el sistema olfatorio y el resto del cerebro es una de nuestras principales metas.

Las investigaciones tienen por objeto contribuir al conocimiento de la influencia en el cerebro cuando se lesiona el sistema olfatorio:

- 1) Por eliminación de los receptores olfatorios.
- 2) Por la interrupción de las conexiones entre el bulbo olfatorio y el resto del cerebro.
- 3) Lesiones de algunas estructuras que intervienen en el procesamiento de las señales olfatorias (tracto olfatorio lateral, comisura anterior, tubérculos olfatorios y corteza piriforme)

Se estudian estos efectos a través de los estados fisiológicos de vigilia y sueño. El presente informe se refiere al primero de los efectos, en tanto que en un futuro próximo se abordarán los restantes.

¿Por qué el sistema olfatorio atrae actualmente la atención de un número creciente de investigadores? ¿Qué ocurre en el cerebro cuando faltan las aferencias olfatorias? La respuesta a estas preguntas reside en las sorprendentes peculiaridades que distinguen al sistema olfatorio. Como veremos, algunas de

éstas tienen considerable relevancia en Medicina.

El sentido del olfato es de fundamental importancia para la vida de los animales y del hombre. Desde el punto de vista filogenético, es uno de los sentidos más antiguos y la mayoría de las estructuras cerebrales se modelaron alrededor del mismo. Su función es detectar alimentos, predadores y parejas sexuales, al tiempo que advierte sobre el estado de conservación de los alimentos y sobre la presencia de sustancias químicas perjudiciales.

Hay varios hechos que reflejan la crucial importancia del olfato. Estos son:

- 1) La extraordinaria cantidad de información genética dedicada a él¹.
- 2) Las numerosas fibras centrífugas con diferentes neurotransmisores que llegan a los bulbos olfatorios. Estas fibras se originan en una llamativa diversidad de regiones cerebrales. Por eso, el sistema olfatorio es uno de los más controlados y modulados por el cerebro².
- 3) La difusión, dispersión, e interconexión de las conexiones centrales del nervio olfatorio³.

Estos hechos sugieren que todavía pueden ser identificadas nuevas funciones, no

¹ Zhang, X. and S. Firestein. (2002). *The olfactory receptor gene superfamily of the mouse*. *Nat. Neurosci.*, 5(2): 124-133.

² See references in: Kratskin, I. (1995). *Functional anatomy, central connections, and neurochemistry of the mammalian olfactory bulb*. In: R. Doty (eds.). *Handbook of Olfaction and Gustation*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 103-126.

³ A brief overview can be found in: Affanni J.M. and Cervino C.O. (2005). *Interactions between Wakefulness, Sleep and the Olfactory System*. In "The Nature of Sleep". Edited by Parmeggiani P.L. and Velluti R. Imperial College Press. London.

estrictamente relacionadas con la detección y discriminación de olores.

El sistema olfatorio presenta características peculiares muy relevantes desde el punto de vista neurobiológico. Se pueden encontrar numerosos datos en el libro "*Handbook of Olfaction and Gustation*", editado por Doty⁴. Entre esas características sobresalen las siguientes:

A) Las neuronas olfatorias son las únicas que están en contacto directo con el ambiente. Las variaciones de parámetros ambientales pueden afectar profundamente.

B) Las neuronas receptoras olfatorias se regeneran continuamente durante toda la vida adulta (neurogénesis continua). Este es un hecho extraordinario de gran importancia en las ciencias biomédicas. Significa que las neuronas olfatorias y sus precursores son agentes que presumiblemente guardan el secreto de una de las más grandes esperanzas de la medicina: la posibilidad de inducir la formación de nuevas neuronas. La persistencia de neurogénesis y la generación de nuevos contactos neuronales (sinaptogénesis) a lo largo de toda la vida indican que el sistema olfatorio es un extraordinario modelo experimental para el estudio de la producción de nuevas neuronas. Sugerimos que la investigación de los mecanismos moleculares implicados y de las condiciones del medio interno del sistema olfatorio podría ser extremadamente fructífera. La elucidación de esos problemas podría ofrecer nuevas posibilidades para desarrollos médicos, dado que, desgraciadamente, la neurogénesis del cerebro adulto es demasiado limitada como para reparar daños del sistema nervioso central. Se pueden plantear numerosas cuestiones. Por ejemplo, basta considerar lo interesante que sería saber si existe alguna relación entre la neurogénesis adulta y la exposición directa al aire ambiental producida por el flujo y reflujo del ritmo respiratorio nasal. ¿Qué sucede con la regeneración neuronal durante la supresión crónica de la respiración nasal mediante la inserción de un tubo traqueal? Y así sucesivamente.

⁴ Doty R. (eds.). (1995). *Handbook of Olfaction and Gustation*. Marcel Dekker Inc., New York, pp. 455-469.

C) Las neuronas del bulbo olfatorio y del hipocampo, conectadas con las neuronas receptoras olfatorias, también se regeneran durante toda la vida.

D) Como consecuencia de la regeneración de las neuronas olfatorias hay también generación de nuevas sinapsis en el bulbo olfatorio. (neoinaptogénesis).

E) Las neuronas receptoras olfatorias tienen la extraordinaria capacidad de transportar diversos materiales desde la cavidad nasal hasta varias regiones del cerebro. Esto constituye otra llamativa característica. Por ejemplo, se ha sugerido que la enfermedad de Alzheimer puede ser desencadenada por agentes patógenos que entran a través de la nariz y que por medio de las neuronas olfatorias se difunden hacia diversas regiones del cerebro. Con independencia de esta hipótesis, la capacidad de las neuronas olfatorias para transportar materiales de diversa naturaleza (metales, toxinas, virus y proteínas) está perfectamente demostrada⁵. **En consecuencia, el cerebro aparece como altamente vulnerable a través de esta vía.**

F) La estimulación del sistema olfatorio es extraordinariamente eficaz en la evocación de recuerdos.

G) El sistema olfatorio, junto con el gustativo, participa en la producción del notable fenómeno de *aprendizaje de aversión a los olores*. Por ejemplo, si la ingestión de alimento en mal estado es seguida por náuseas y vómitos, se asiste a la instalación de una aversión, extraordinariamente duradera, a ese alimento. De hecho, basta una única exposición a ese tipo de asociación para que la aversión pueda persistir a lo largo de toda una vida (En algunos casos durante 60 años). Se trata pues, de una forma extraordinariamente poderosa de memoria asociativa que opera a través de estímulos alimenticios (gustativos y olorosos). En ciertas oportunidades este fenómeno juega un rol importante en pacientes

⁵ Ferreyra-Moyano, H. and E. Barragan. (1994). *Environmental factors in the etiology of Alzheimer's dementia and other neurodegenerative diseases*. In: R. Isaacson and K. Jensen (Eds). *The vulnerable brain and environmental risks, Volume 3: Toxins in air and water*. Plenum Press, New York, pp. 43-63.

con cáncer sometidos a quimioterapia o roentgenerapia. Las náuseas provocadas por esos tratamientos producen aversión hacia distintos tipos de alimentos. Esto ocurre porque se establece esa asociación entre el estímulo alimentario y las náuseas.

H) Hay interacción entre el sistema olfatorio y los esteroides exógenos. Esto fue demostrado por modificaciones del tamaño de los testículos, de la testosterona sérica y de la espermatogénesis⁶.

LAS FUNCIONES NO ESPECÍFICAS DEL SISTEMA OLFATORIO

Además de las funciones específicas destinadas a la detección y discriminación de olores, hay funciones no específicas que actualmente se le asignan al sistema olfatorio. Herrick⁷ fue el primero en sugerir que las conexiones centrales del sistema olfatorio, que son *"característicamente difusas, ampliamente dispersas, e interconectadas"*, indicaban funciones no específicas.

Hemos suministrado la primera evidencia experimental de funciones no específicas del bulbo olfatorio⁸. Nuestros estudios en la zarigüeya demostraron que los bulbos olfatorios están involucrados en la regulación del sueño. La sección transversal completa de los pedúnculos olfatorios, operación que separa los bulbos del resto del cerebro, produce notables cambios en los patrones del sueño, especialmente en el Sueño Paradójico⁹. En nuestro trabajo original dijimos que nuestros resultados sugerían que *"el bulbo olfatorio juega un importante papel en la organización funcional de las estructuras involucradas en la producción y mantenimiento del sueño. Esta participación parece ser independiente de*

⁶ Anand Kumar TC, Sehgal A, David GF, Bajaj JS, Prasad MR. (1980). *Effects of intranasal administration of hormonal steroids on serum testosterone and spermatogenesis in rhesus monkey (Macaca mulatta)*. Biol Reprod.;22(4): 935-940.

⁷ Herrick, J. (1933). *The functions of the olfactory parts of the cerebral cortex*. Proc. Nat. Ac. Sci., 19: 7-14.

⁸ Vaccarezza, O. and J. Affanni. (1966). *Influencia de los bulbos olfatorios sobre el sueño del marsupial (Didelphis azarae)*. Revta. Soc. argent. Biol. 42: 106-111.

⁹ See also Affanni and Cervino (2005).

los impulsos nerviosos que parten de los receptores olfatorios, puesto que su destrucción es incapaz de producir los cambios observados después de la sección de los pedúnculos olfatorios".

Cain¹⁰, en un inspirado trabajo, propuso que el bulbo olfatorio estaba involucrado en un sistema despertador prosencefálico, compuesto principalmente por el hipotálamo y el sistema límbico. Más tarde, Shepherd¹¹ en otro lúcido trabajo propuso que el sistema olfatorio no es un sistema sino varios. De acuerdo con este autor, esa pluralidad suministra variadas combinaciones de sus conexiones, que colaboran en el control de diferentes tipos de comportamiento.

Obviamente, las funciones no específicas pueden estudiarse de diferentes maneras. Una de ellas consiste en la estimulación crónica de los receptores olfatorios seguida por la observación de efectos no específicos. Se ha prestado mucha más atención a los efectos funcionales de la estimulación que a la privación olfatoria. Sin embargo, cuando se aplican estímulos olfatorios, la rápida aparición de fenómenos de adaptación representa un serio inconveniente. En marcado contraste con la estimulación, la privación olfatoria ofrece la posibilidad de suprimir el olfato durante largos períodos sin esa interferencia.

Por lo tanto, pensamos que, en lo que respecta a la investigación de las funciones no específicas, se necesita un estudio detallado de los efectos funcionales de la privación olfatoria crónica. Dicho estudio puede suministrar nuevos datos sobre la naturaleza y propiedades de esas funciones.

Nuestro principal objetivo fue enfocar la atención sobre los efectos de la privación olfatoria, no solamente durante la Vigilia sino también durante el Sueño. También estudiamos

¹⁰ Cain, D.P. (1974). *The role of the olfactory bulb in limbic mechanisms*. Psychol. Bull., 81(10): 654-671.

¹¹ Shepherd, G.M., M.C. Nowycky, C.A. Greer and K. Mori. (1981). *Multiple overlapping circuits within olfactory and basal forebrain systems*. In: G. Székely, E. Lábos and S. Damjanovich (eds.). *Neural Communication and Control*. Adv. Physiol. Sci., 30: 263-278.

los efectos de la aplicación de estímulos despertadores durante ese último estado.

Los experimentos aquí descritos pueden ser clasificados dentro del amplio rango de la PRIVACIÓN OLFATORIA. Esta supresión de la aferencia olfatoria puede ser producida por diferentes métodos:

- 1) Por oclusión unilateral de las narinas.
- 2) Por oclusión bilateral de las narinas en respiradores nasales no obligatorios.
- 3) Por respiración traqueal después de una traqueotomía seguida de inserción de un tubo traqueal.
- 4) Por eliminación de los receptores olfatorios, o por destrucción de algunas estructuras olfatorias del sistema nervioso central.
- 5) Por exposición a aire libre de olores o con supresión parcial de ciertos olores.

Estos experimentos fueron realizados con eliminación de los receptores olfatorios o con inserción de un tubo traqueal, que impide la respiración nasal.

La mayor parte de los autores que trataron de averiguar los efectos de estos procedimientos experimentales concentraron su atención en los cambios estructurales o bioquímicos¹². Se pueden ver con claridad los cambios estructurales solamente después de uno o varios meses del comienzo de la privación. Sorprendentemente, pueden ser inducidos cualquiera sea la edad de los animales experimentales. Esto aparece en marcado contraste con lo que ocurre en otras privaciones sensoriales que tienen un período crítico sumamente corto, fuera del cual no pueden inducirse cambios.

Desde el comienzo de nuestro proyecto de investigación hemos considerado que el orden de aparición de los cambios podría tener una significación especial, contribuyendo a interpretar la cascada de fenómenos responsables de las alteraciones anatómicas post-privación. **Esa fue la razón por la cual decidimos buscar**

¹² See an excellent review by Maruniak, J. (1995). *Deprivation and the Olfactory System*. In: R. Doty (eds.) *Handbook of Olfaction and Gustation*. Marcel Dekker Inc., New York, pp. 455-469.

cambios tempranos a través del estudio de la actividad eléctrica cerebral. Hemos pensado que prestando atención a esa actividad tendríamos la posibilidad de detectar cambios precoces en la fisiología cerebral. Hemos basado la estrategia de investigación en nuestros resultados previos, que nos indicaban cambios en los patrones de Sueño. En consecuencia, pensamos que los efectos de la privación tenían que ser estudiados a lo largo de los tres principales estados cerebrales (Vigilia, Sueño de Ondas Lentas y Sueño Paradójico). Obviamente, éste es uno de los mejores medios para revelar la contribución de las aferencias olfatorias al funcionamiento cerebral y nos condujo al descubrimiento de interesantes fenómenos (ver mas abajo).

EN LA BÚSQUEDA DE UN MODELO ANIMAL PARA NUESTRO ESTUDIO

Nuestra primera decisión consistió en elegir un modelo animal. Es bien sabido que a menudo la diferencia entre el éxito y el fracaso de una investigación reside en la elección de la especie animal sobre la cual se realizan los experimentos.

En nuestro caso, elegimos al armadillo *Chaetophractus villosus* como modelo experimental. Este animal posee varias ventajas para esta clase de investigación:

- 1) Es altamente resistente a diversos tipos de intervenciones quirúrgicas.
- 2) Posee estructuras olfatorias altamente desarrolladas (bulbos olfatorios, tubérculos olfatorios, pedúnculos olfatorios, tracto olfatorio lateral, corteza piriforme)¹³.
- 3) La fisura rinal ocupa una alta posición sobre la cara lateral de los hemisferios cerebrales (ver Fig. 1). Esta característica facilita la producción de lesiones en la corteza piriforme.
- 4) Tiene extensos períodos de sueño en condiciones de laboratorio.

¹³ Benítez, I.; H. Aldana Marcos and J. Affanni. (1994). *The encephalon of Chaetophractus villosus. A general view of its most salient features*. *Comunicaciones Biológicas*, 12 (1): 57-73.

- 5) Tenemos un buen conocimiento de las características de su sueño y de la actividad eléctrica de su sistema olfatorio¹⁴.

El encéfalo del armadillo es mostrado en la Figura 1.

EFFECTOS DE LA DESAFERENTACIÓN OLFATORIA PERIFÉRICA SOBRE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA CEREBRAL DURANTE LA VIGILIA, EL SUEÑO DE ONDAS LENTAS Y EL SUEÑO PARADÓJICO

En los experimentos aquí resumidos, entendemos por *desafrentación olfatoria periférica* a la supresión de los estímulos olfatorios por eliminación de la mucosa o de la respiración nasal.

Hasta el momento, nuestros primeros resultados han sido publicados en "The Nature of Sleep" (Imperial College Press, Londres)¹⁵. A continuación se suministra un breve resumen.

¹⁴ Affanni J. M., Morita E.K., García Samartino L. (1968). Efecto de la sección de los pedúnculos olfatorios y de la comisura anterior sobre la actividad eléctrica del bulbo olfatorio del marsupial *Didelphys azarae*. *Rev. Soc. Argent. Biol.*, 44: 183-188.

▪ Affanni, J.M., L. García Samartino, A.M. Scaravilli y J.S. Panizza. (1973). Cambios en la actividad sinusoidal inducida después de la sección de los pedúnculos olfatorios en *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). *Physis*, 32: 101-105.

▪ Affanni, J.M. and L. García Samartino. (1984.) *Comparative study of electrophysiological phenomena in the olfactory bulb of some South American marsupials and edentates*. In: L. Bolis, R.D. Keynes and S.H.P. Maddrell (eds.) *Comparative Physiology of Sensory Systems*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 315-333.

▪ Affanni, J., E. Casanave, L. García Samartino and R. Ferrari. (1986). Neocortical and olfactory bulb activity, in armadillos submitted to covering with soil. *Arch. Int. Physiol. Biochim.*, 94: 271-279.

▪ Affanni, J.; L. García Samartino; E. Casanave and R. Dezi. (1987). Absence of apnea in armadillos covered by soil. *Resp. Physiol.*, 67: 239-243.

▪ Affanni, J.M., C.O. Cervino and H. Aldana Marcos. (2001) Absence of penile erections during paradoxical sleep. Peculiar penile events during wakefulness and slow sleep in the armadillo. *J. Sleep Res.*, 10: 219-228.

¹⁵ See Affanni and Cervino (2005).

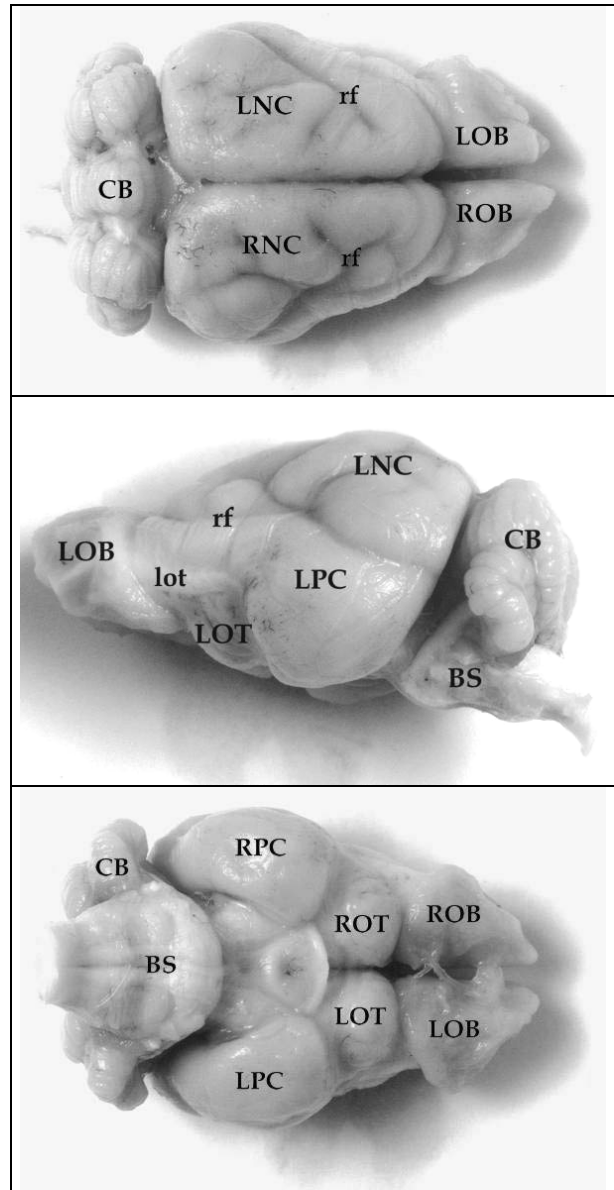


Figura 1. Vistas dorsal, lateral y ventral del encéfalo del armadillo *Chaetophractus villosus*, adoptado como modelo experimental.

BS, tronco encefálico; CB, cerebelo; LNC, neocorteza izquierda; LOB, bulbo olfatorio izquierdo; LOT, tubérculo olfatorio izquierdo; LPC, corteza priforme izquierda; lot, tracto olfatorio lateral; rf, cisura rinal; RNC, neocorteza derecha; ROB, bulbo olfatorio derecho; ROT, tubérculo olfatorio derecho; RPC, corteza priforme derecha.

Al cabo de un corto lapso (tres horas aproximadamente) de la eliminación de los receptores olfatorios o de la iniciación de la respiración traqueal, se observan importantes cambios en la actividad eléctrica de los bulbos

olfatorios y de otras regiones cerebrales. Hay cambios tanto durante la Vigilia como durante el Sueño. Durante la vigilia desaparecen las ondas olfatorias inducidas y el ritmo rino-central¹⁶. Si se tiene en cuenta lo que hasta el momento se sabe sobre la importancia de las aferencias olfatorias, estos cambios, a pesar de ser conspicuos, no sorprenden. **No obstante, lo que sí realmente sorprende es que durante el sueño puede observarse una espectacular aparición de ondas gamma [30-60 ciclos por segundo (Hz)] de gran amplitud que invaden aproximadamente las dos terceras partes de la superficie cerebral. Esta conspicua actividad no solamente se observa durante el Sueño de Ondas Lentas sino que aparece durante la totalidad del Sueño Paradójico (REM). Merece destacarse que esa actividad desaparece inmediatamente si se aplican estímulos despertadores. Se pueden encontrar varias figuras que ilustran estos hechos en Affanni y Cervino (2005).**

Es muy interesante la aparición, durante el sueño, de un llamativo ritmo gamma en los animales desafrentados olfatoriamente. **Este hallazgo de nuestro Instituto es hasta donde conocemos, el primero en demostrar que sin aferencia olfatoria los ritmos bioeléctricos del Sueño aparecen profundamente alterados.** Hay otros interesantes aspectos de nuestros hallazgos: hasta hace poco tiempo, se consideraba a la aferencia olfatoria como estrictamente necesaria para la presencia de actividad gamma en la corteza piriforme¹⁷. A partir de ahora debe admitirse que la actividad gamma puede invadir varias regiones cerebrales, incluso los lóbulos piriformes, sin la participación de señales olfatorias. Por supuesto, se deben tener en cuenta las diferencias de especies y el hecho de que esperamos el inicio del sueño y nuestros registros se extendieron a lo largo del mismo. Es oportuno recordar aquí que la actividad de tipo gamma está relacionada nada menos que con los fenómenos cognitivos. La presencia de ese tipo de actividad invasora durante ambas fases del Sueño, cuando hay ausencia de aferencias olfatorias, adquiere una significación muy

¹⁶ See Affanni and Garcia Samartino, 1984.

¹⁷ Vanderwolf C.H. (2000). What is the significance of gamma wave activity in the pyriform cortex? *Brain Res*, 877: 125-133.

especial. No es inconcebible que esa invasión pueda estar relacionada con cambios en el costo energético y en la bioquímica cerebral de ese estado fisiológico. Cabe preguntarse si los cambios observados podrían también desempeñar algún rol en la generación de las alteraciones anatómicas y en los síntomas de enfermedades obstructivas nasales o de enfermedades neurodegenerativas.

Por último, no debería excluirse alguna participación de los mencionados fenómenos en la apnea del sueño.

Se han publicado varios trabajos que indican que las obstrucciones nasales afectan la respiración durante el sueño. También se indicó acerca de las alteraciones de la calidad del sueño y de la conducta diurna. Deseamos recordar aquí una interesante nota histórica publicada por Lavie¹⁸. En la misma hay una cita de Williams Hills (1889) en la que se lee "el niño con aspecto de estúpido que frecuentemente padece cefaleas en la escuela, respira por la boca en vez de por la nariz, que ronca, que está inquieto durante la noche y se despierta con la boca seca a la mañana, merece la atención solícita del médico de la escuela".

No se puede negar que la eliminación experimental de neuronas olfatorias y de la respiración nasal guarda cierta semejanza con lo que sucede en ciertos estados patológicos. Tal es el caso de las obstrucciones nasales y de las enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson y otras), **en las cuales hay pérdida de las neuronas olfatorias.**

Como consecuencia de nuestros resultados nos animamos a hacer la siguiente reflexión: si se confirmaran resultados similares en otras especies animales, incluyendo a los humanos, se debería admitir que en dichos sujetos los patrones bioeléctricos del sueño podrían alterarse profundamente. **Al respecto cabe preguntarse si la presencia de una actividad bioeléctrica anormal puede iniciar una cascada de cambios bioquímicos, energéticos y morfológicos del cerebro. Estos cambios podrían ser responsables**

¹⁸ Lavie P. (1983). Nasal obstructions, Sleep and Mental Function. *Sleep* 6(3): 244-246.

de algún déficit neurológico observado en esas enfermedades.

No sabemos si estos efectos pueden extrapolarse a los animales microsmáticos (de olfato reducido comparativamente), como los humanos. Respecto a ello, pensamos que esta clase de estudios es un valioso aporte, considerando que en los humanos existen condiciones patológicas (Alzheimer, Parkinson, etc.) en las cuales se observa un serio déficit olfatorio y lesiones de las estructuras olfatorias¹⁹. ¿Se afecta la calidad del sueño? Por supuesto; esto podría tener vastas consecuencias que revelen nuevas características del desarrollo y la salud cerebral. Para concluir deseamos mencionar que nuestros estudios de fisiología comparada de la desafrentación olfatoria indican la conveniencia de que los investigadores tengan la de suficiente paciencia para esperar las diferentes fases del sueño de sus animales en estudio.

JORGE M. AFFANNI

*Director del Instituto de Neurociencia y Profesor
Titular de Fisiología, Facultad de Medicina,
Universidad de Morón. Argentina.*

¹⁹ See Ferreyra-Moyano and Barragán, 1994.

▪ Bylsma, F.W., P.J. Moberg, R.L. Doty and J. Brandt. (1997). Odor identification in Huntington's disease patients and asymptomatic gene carriers. *J. Neuropsychiatry clin. Neurosci.*, 9(4): 598-600.

▪ Meshulam RI, Moberg PJ, Mahr RN, Doty RL. (1998). Olfaction in neurodegenerative disease: a meta-analysis of olfactory functioning in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Arch Neurol.*;55(1): 84-90.