

El cultivo de precursores neuronales del epitelio olfatorio: Un modelo para estudiar la neurofisiopatología de la esquizofrenia

Héctor Solís-Chagoyán,¹ Aline Domínguez-Alonso,¹ Eduardo Calixto,² Gloria Benítez-King¹

Actualización por temas

SUMMARY

Schizophrenia is a mental disorder characterized by delusions, hallucinations, disorganization in speech and thinking as well as alterations in social behavior, and affective flattening. Schizophrenic patients also have an olfactory deficit since prodromal stages of this disorder.

The olfactory deficit could be present in schizophrenic patients due to anatomic and structural alteration of the Central Nervous System, or peripheral abnormalities in the olfactory epithelium. The major alterations of the Central Nervous System are diminished volumes of olfactory bulb and structures of primary olfactory cortex, hippocampus and amygdala. While, olfactory epithelium has functional abnormalities in cellular differentiation and electric response of sensory olfactory neurons, which suggest an impairment of the odor transduction.

The cellular culture of olfactory epithelium has allowed isolating multipotential progenitor cells that have the ability to proliferate and differentiate in mature neurons and glia. This model could provide evidences on the causes that could explain the olfactory deficits in schizophrenia. Moreover, it will allow testing hypothesis on pathophysiological causes of this mental disorder in different of stages of the neurodevelopment. In addition, olfactory epithelial neuronal precursors constitute a novel model to detect genetic, proteomic and functional biomarkers that allow a biological diagnosis.

Key words: Schizophrenia, olfactory deficit, olfactory epithelium, olfactory pathway, neurodevelopment.

RESUMEN

La esquizofrenia (EZ) es un trastorno psiquiátrico que se caracteriza por la presencia de delirios, alucinaciones, pensamiento desorganizado, lenguaje desestructurado, alteraciones del comportamiento social y aplanamiento afectivo, entre otros síntomas. Los pacientes con EZ también presentan un déficit en la capacidad olfatoria desde la fase prodrómica del trastorno.

El déficit olfatorio en la EZ puede presentarse por alteraciones anatómico-estructurales del SNC o por anomalías a nivel periférico en el epitelio olfatorio. Las alteraciones principales del SNC son la disminución del volumen de los bulbos olfatorios, de estructuras de la corteza olfatoria primaria, del hipocampo y de la amígdala coronal. El epitelio olfatorio en los estadios tempranos de la EZ presenta anomalías funcionales en la diferenciación y en la respuesta biofísica de las neuronas sensoriales olfatorias, lo que sugiere que existe un desacoplamiento de la transducción olfatoria.

El cultivo celular del epitelio olfatorio ha permitido aislar células progenitoras multipotenciales que poseen la capacidad de proliferar y diferenciarse en neuronas y glía. El estudio de este modelo podría aportar evidencia sobre las causas que explicarían el déficit olfatorio en la esquizofrenia y permitiría estudiar hipótesis que intenten explicar las causas de la fisiopatología de este trastorno en el neurodesarrollo así como detectar biomarcadores genéticos, proteómicos o funcionales que permitan un diagnóstico biológico.

Palabras clave: Esquizofrenia, déficit, epitelio y vía olfatorias, neurodesarrollo.

INTRODUCCIÓN

La esquizofrenia (EZ) es un trastorno psiquiátrico caracterizado por la presencia de alteraciones del pensamiento, de las percepciones, las emociones, el movimiento y el comportamiento. Los signos y los síntomas observados en los pacientes con EZ son el delirio, las alucinaciones, el pensamiento desorganizado, el lenguaje desestructurado, alteraciones del comportamiento

social, movimientos discordantes, dificultad para iniciar actividades con un propósito definido, el empobrecimiento del discurso y la creatividad así como el aplanamiento afectivo, entre otros.¹ Un gran reto en el estudio de la fisiopatología de la EZ ha sido la búsqueda de biomarcadores de rasgo en células periféricas que reflejen los cambios estructurales y moleculares de las neuronas del SNC. Por ejemplo, en los linfocitos se han estudiado alteraciones en los receptores a dopamina.²

¹ Departamento de Neurofarmacología. Subdirección de Investigaciones Clínicas. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.

² Departamento de Neurobiología. Dirección de Investigaciones en Neurociencias. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.

Correspondencia: Dra. Gloria Benítez-King. Departamento de Neurofarmacología. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Calz. México-Xochimilco 101, San Lorenzo Huipulco, Tlalpan, 14370, México, DF. Tel: (55)4160 5097, (55)4160 5099. Fax: (55) 55133722. E-Mail: bekin@imp.edu.mx

Recibido: 26 de agosto de 2011. Aceptado: 30 de enero de 2012.

Recientemente se ha propuesto que las neuronas olfatorias son un buen modelo para el estudio de la etiología de la EZ ya que son de estirpe neuronal, son susceptibles de ser aisladas, se amplifica el número de células en cultivo y se establecen conexiones con el SNC.³⁻⁷ Otra razón que apoya su utilización en el estudio de la EZ es el hecho de que los pacientes con este trastorno presentan una disminución en la percepción de los olores así como anomalías funcionales en el epitelio olfatorio.⁵

El déficit en la capacidad olfatoria detectada en la EZ se presenta desde etapas tempranas de la enfermedad.⁸ Esto ha sugerido que la olfacción podría ser utilizada como un parámetro en la detección de sujetos con alto riesgo de presentar la enfermedad.⁵

En esta revisión se describen las anomalías detectadas en la EZ que podrían ser causa del déficit olfatorio, así como los mecanismos de integración de la información odorífica, en particular los relacionados con su percepción. La evidencia acumulada a la fecha apoya que las células del epitelio olfatorio en cultivo obtenidas de pacientes con EZ son un modelo adecuado para el estudio de la neurobiología de esta enfermedad a nivel celular o subcelular y para detectar biomarcadores que permitan un diagnóstico biológico.

ALTERACIONES ANATÓMICO-ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES EN LA VÍA DE INTEGRACIÓN DE LA INFORMACIÓN OLFATORIA EN PACIENTES CON ESQUIZOFRENIA

Los pacientes con EZ presentan una disminución en su capacidad olfatoria, la que se incrementa en el curso de la enfermedad. En estos pacientes el umbral de detección de los olores aumenta y su capacidad para identificarlos disminuye. Este déficit se correlacionó inicialmente con una disminución en el volumen de distintas estructuras del SNC donde se integra la información olfatoria, lo que había sugerido que esta deficiencia era causada por anomalías anatómico-estructurales del SNC.⁹⁻¹¹

En particular, en la EZ se ha detectado una disminución en el volumen de los bulbos olfatorios gracias a la utilización de imágenes obtenidas mediante la técnica de resonancia magnética cerebral (RMC).⁹ Esta disminución se correlacionó con las alteraciones funcionales en la amplitud y la latencia de los potenciales evocados por estimulación odorífica en pacientes con EZ.¹² Se ha encontrado una asociación entre estos dos parámetros y la disminución de la percepción de los olores¹² y se ha sugerido una relación causa-efecto.

Los pacientes con EZ presentan una disminución en el volumen de la corteza entorrinal, del hipocampo y de la amígdala, las cuales son estructuras que participan en la integración de la información olfatoria y que están asociadas con la identificación de los distintos olores, así como con otros parámetros de tal capacidad¹¹ y de su interpretación conductual.

Además de las alteraciones estructurales y funcionales en el SNC, los pacientes con EZ presentan anomalías en las células que integran el epitelio olfatorio, como la disminución en la proporción de células que maduran en neuronas olfatorias.¹³ Esta observación sugiere que estos pacientes presentan un cambio en la capacidad de diferenciación neuronal o en el neurodesarrollo. A nivel periférico también se detectan en estos pacientes anomalías funcionales en el registro de la respuesta eléctrica extracelular de las neuronas olfatorias después de su estimulación (electroolfatograma). La aplicación de una sustancia odorífera a un paciente causa un incremento significativo en la amplitud del potencial eléctrico de campo,¹⁴ lo que sugiere que el déficit en la percepción podría ser originado, además, por un desacoplamiento de la transducción en las neuronas olfatorias.

Es importante señalar que en la EZ el déficit en la capacidad olfatoria se presenta desde la fase prodrómica.⁸ El pródromo se refiere a los signos y síntomas que anteceden a las manifestaciones características de un trastorno. En las enfermedades psiquiátricas es un período que se ha estudiado principalmente con observaciones clínicas y se caracteriza por cambios en la personalidad y el comportamiento de los sujetos. El estudio del pródromo implica la posibilidad de detectar signos o síntomas tempranos que permitan aplicar un tratamiento preventivo a los sujetos en riesgo de presentar psicosis.^{15,16} Se ha observado que mientras más tiempo transcurre desde el primer evento psicótico, las alteraciones estructurales observadas en el SNC aumentan y la efectividad del tratamiento disminuye.¹⁵

Con el objetivo de establecer un protocolo para detectar a los sujetos en la fase prodrómica de la EZ, se realizaron estudios de tipo longitudinal en los que se encontró una asociación entre el desarrollo del cuadro de la EZ con los síntomas de descuido en la higiene personal, la expresión de ideas fuera de contexto o inusuales, deficiencia en la capacidad discursiva, irritabilidad, la presencia de ideas delirantes atenuadas y el distanciamiento de los sujetos de los núcleos sociales habituales. Estos signos y síntomas fueron la base que permitió elaborar un protocolo clínico de detección de sujetos con riesgo alto de presentar psicosis.¹⁵ Con este protocolo se reclutaron sujetos con riesgo de psicosis para estudiarlos con técnicas de imágenes cerebrales tales como RMC, PET, así como para realizarles pruebas psicométricas y de olfacción. En estos estudios se encontró una asociación significativa entre los sujetos que tiempo después desarrollaron EZ y las anomalías en la corteza insular,¹⁷ el hipocampo,¹⁸ el nivel de dopamina en el estriado,¹⁹ en tareas que involucran la atención, la memoria o el aprendizaje²⁰ y en la capacidad olfatoria,⁸ sugiriendo que estas alteraciones anatómico-estructurales y funcionales podrían ser propuestas como biomarcadores para el diagnóstico temprano de sujetos en fase inicial.

Como fue descrito anteriormente, tanto en los pacientes diagnosticados con EZ como en los sujetos en la fase

prodrómica de este trastorno, se han detectado anomalías en su capacidad olfatoria. A continuación se describen los mecanismos involucrados en la percepción y la identificación de olores, en particular la transducción en las neuronas sensoriales, las cuales son una parte fundamental en la percepción y que no ha sido estudiada en pacientes con EZ. El estudio de los mecanismos neurobiológicos involucrados en la olfacción podría aportar evidencias sobre la fisiopatología del trastorno y permitiría detectar otros biomarcadores susceptibles de ser utilizados en el diagnóstico temprano de sujetos con EZ.

MECANISMO NEUROBIOLÓGICO INVOLUCRADO EN LA PERCEPCIÓN Y LA IDENTIFICACIÓN DE OLORES

En los mamíferos, la percepción de las sustancias odoríferas se inicia en las neuronas sensoriales localizadas en el epitelio olfatorio (figura 1). Éste cubre las paredes y el *septum* de la cavidad nasal, en las zonas turbinadas media y superior.²¹ Es de tipo pseudoestratificado columnar y está formado principalmente por células sustentaculares, células precursoras basales y neuronas olfatorias de tipo bipolar. Las neuronas sensoriales olfatorias tienen una dendrita que termina en una protuberancia, a partir de la cual se proyectan de 10 a 25 cilios que están en contacto con el fluido nasal.²² Los cilios tienen receptores heptahelicoidales acoplados a proteínas G²³ a los que se unen las moléculas odoríferas (en el humano se han secuenciado 350 genes que codifican a las proteínas receptoras a olores). Cada neurona olfatoria expresa un solo tipo de receptor y cada sustancia odorífera activa una variedad limitada de receptores.²⁴ Las neuronas sensoriales olfatorias que expresan el mismo tipo de receptor se distribuyen aleatoriamente en una de las cuatro zonas en las que se divide la superficie de este epitelio.²⁵

Para que las sustancias odoríferas puedan ser percibidas, la información química captada por los receptores a nivel de la membrana plasmática es transformada en actividad eléctrica, mediante un cambio en el potencial de membrana conocido como potencial de receptor, el cual se propaga desde los cilios hasta el axón de las neuronas olfatorias.

La fase de inicio o despolarizante del potencial de receptor se genera cuando las sustancias odoríferas se unen con su receptor de membrana específico, activando una proteína G de subunidad alfa tipo G_{olf}.²⁶ Esta subunidad se une y activa a la enzima adenilato ciclasa de tipo III (ACIII) incrementando la concentración de AMPc. Este compuesto, a su vez, se une a canales dependientes de nucleótidos cíclicos (llamados CNG por sus siglas en inglés: *Cyclic Nucleotide-Gated*) que permiten la entrada de Na⁺ y Ca²⁺ a los cilios.²⁴ Con el aumento intraciliar de Ca²⁺, se activa la salida de Cl⁻ a través de canales tipo ANO2 (por Anoctamina 2), con lo que se amplifica la despolarización de la membrana.²⁷ En los ci-

lios, la fase de terminación del potencial de receptor o fase de repolarización depende del amortiguamiento del Ca²⁺. La concentración de este catión que entra a través de los canales CNG, disminuye porque el AMPc sintetizado por la estimulación es hidrolizado por las enzimas fosfodiesterasas (PDE) PDE1C2 y PDE4A reduciéndose entonces el nivel de activación de los canales. Además la calmodulina activada por el Ca²⁺ entrante se une a canales CNG disminuyendo aún más su permeabilidad y también se une a las fosfodiesterasas aumentando su actividad de hidrólisis del AMPc. El Ca²⁺ entrante es transportado rápidamente hacia el espacio extracelular a través del antiportador NCX1 (intercambiando Na⁺ por Ca²⁺) y una ATPasa membranar.^{24,28,29}

La despolarización del potencial de receptor se propaga de los cilios a la protuberancia, la dendrita y el soma hasta llegar al cono axonal. En estas estructuras la propagación de la fase de despolarización depende de la entrada de Ca²⁺ a través de canales dependientes de voltaje (CCDV) y la fase de repolarización del potencial de receptor depende principalmente de la salida de K⁺ a través de dos tipos de canales, unos dependientes de voltaje de tipo rectificador tardío y otros activados por Ca²⁺.^{30,31}

Cuando el potencial de receptor alcanza el cono axonal de las neuronas olfatorias, se generan potenciales de acción por la activación de canales de Na⁺ dependientes de voltaje, que se propagan hacia los glomérulos del bulbo olfatorio. La transducción de la señal química en eléctrica en las neuronas sensoriales olfatorias es muy compleja y la integridad de los elementos moleculares para generar, propagar y modular los potenciales de receptor y de acción repercuten directamente en la capacidad de los sujetos para percibir las sustancias odoríferas.²⁴ Por ejemplo, en la EZ se han encon-

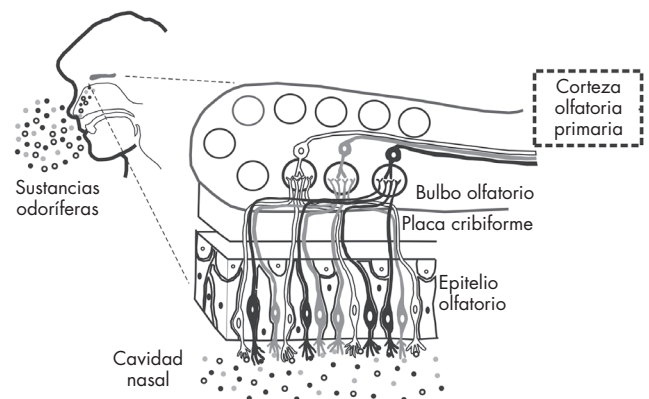


Figura 1. Esquema del mecanismo neurobiológico involucrado en la olfacción. Las sustancias odoríferas presentes en el medio ambiente se difunden en la mucosa nasal. Al llegar al epitelio se unen a los receptores de membrana específicos localizados en los cilios de las neuronas olfatorias. La información química se transduce en actividad eléctrica que a su vez se propaga por los axones de estas neuronas que cruzan por la placa cribiforme hacia las neuronas mitrales y en penacho de los glomérulos del bulbo olfatorio. Los axones de estas neuronas establecen contactos sinápticos con neuronas piramidales de la corteza olfatoria primaria.

trado polimorfismos en genes que expresan canales como los permeables a calcio dependientes de voltaje del tipo L, los cuales participan en la despolarización del potencial de receptor y que pudieran estar involucrados en la disminución de la percepción olfatoria.³²

Las neuronas sensoriales que expresan el mismo tipo de receptor convergen en uno o dos glomérulos del bulbo olfatorio ipsilateral, estableciendo contactos sinápticos con las neuronas mitrales, las neuronas en penacho y en menor proporción con las interneuronas. La aplicación de una sustancia odorífera activa el conjunto de neuronas que expresan el mismo tipo de receptor al olor y éstas, a su vez, activan únicamente los glomérulos a los que proyectan sus axones. Este patrón espacial de activación, conocido como mapa olfatorio, permite separar la información de acuerdo con las características químicas de las moléculas reconocidas por cada tipo de receptor.^{33,34}

Las neuronas olfatorias son reemplazadas continuamente aun en la etapa adulta y para mantener la configuración del mapa olfatorio el axón de la neurona reemplazante se extiende hasta insertarse en el glomérulo que le corresponde en el mapa, según el tipo de receptor odorífero que expresa.³³ La conformación y el arreglo continuo del mapa olfatorio repercuten en la capacidad de los individuos para percibir e identificar los diferentes olores.^{33,34}

La información odorífica se propaga y es integrada en los circuitos establecidos en la capa glomerular y en la capa granular del bulbo olfatorio. En la capa glomerular la información es transmitida a las neuronas mitrales o a las neuronas en penacho (ambas se conocen como neuronas principales porque forman la vía aferente del bulbo olfatorio).³⁵ Las dendritas de las neuronas principales establecen sinapsis con las dendritas de las interneuronas periglomerulares GABAérgicas, que forman el componente inhibitorio del circuito. La activación de las interneuronas periglomerulares inhibe a las dendritas de las neuronas de glomérulos adyacentes, permitiendo la inhibición lateral de los glomérulos.³⁵

En la capa plexiforme externa del bulbo olfatorio, las neuronas principales establecen sinapsis excitatorias con interneuronas granulares GABAérgicas. Éstas inhiben a las neuronas de los glomérulos adyacentes limitando el nivel de excitación de otros glomérulos por inhibición lateral,³⁶ la cual mantiene separada la información olfatoria y permite aumentar la fidelidad de la señal.

Las características químicas de una molécula odorífica podrían estar codificadas por su unión con un tipo específico de receptor, por la activación de las neuronas sensoriales que expresan este tipo de receptor, por la activación modular de los glomérulos y por la separación de la información efectuada por la inhibición lateral.³⁶ Este mecanismo repercute en la capacidad para identificar los distintos olores. La disminución detectada en el volumen del bulbo olfatorio en la EZ podría deberse a una disminución en el número de neuronas o en una disminución en su complejidad dendrítica,

lo cual pudiera repercutir en la separación de la información odorífica y ser causa, por esto, del déficit olfatorio.

Los axones de las neuronas principales se proyectan desde el bulbo olfatorio hasta las estructuras de la corteza olfatoria primaria integrada por la corteza piriforme, parte de la amígdala y parte del giro parahipocampal anterior. A la fecha no se ha determinado cómo se transduce la información en la corteza olfatoria primaria. A partir de ésta, la información llega a la corteza olfatoria secundaria integrada por parte de la amígdala, la corteza entorrinal, el hipocampo y el tálamo. Estas estructuras muestran también una disminución de volumen en pacientes con EZ y están involucradas en la identificación de los olores y en otros parámetros asociados con la capacidad olfatoria.^{37,38}

LAS NEURONAS SENSORIALES OLFATORIAS Y SUS PRECURSORAS COMO UN MODELO PARA EL ESTUDIO DE LA ESQUIZOFRENIA

Como ya se mencionó, en la EZ se observa un déficit en la capacidad para percibir olores así como alteraciones en el epitelio olfatorio. Lo anterior ha sugerido que el estudio de este tejido pudiera evidenciar algunas de las causas que permitan explicar la deficiencia olfatoria en estos pacientes, aunque también, dado que en el epitelio olfatorio hay células de estirpe neuronal que tienen conexión directa con el bulbo olfatorio, este tejido también podría constituir un modelo que refleje los cambios moleculares presentes en estructuras del SNC en ellos.

El epitelio olfatorio humano se ha estudiado a partir de células aisladas en cultivo por biopsias obtenidas *post mortem* o bajo el efecto de la anestesia.^{34,39} Recientemente se obtuvieron precursores neuronales a partir de un cultivo heterogéneo generado por un raspado nasal⁷ (figura 2), esta técnica, a diferencia de la biopsia, no es invasiva ni requiere de anestesia.

Las condiciones en las que son cultivadas las células del epitelio olfatorio propician que las precursoras neuronales se seleccionen y amplifiquen hasta alcanzar un número con-

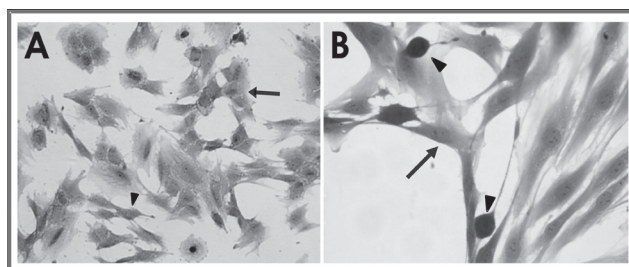


Figura 2. Células de linaje neuronal en cultivo obtenidas del epitelio olfatorio de humano. El Panel A (amplificación 200X) y el panel B (amplificación 400X) muestran precursoras neuronales señaladas con una flecha y neuronas sensoriales olfatorias señaladas con una punta de flecha.

siderable, lo que facilita abordar, incluso desde el ámbito de la proteómica y la biología molecular, los problemas planteados con este modelo.⁷

El proceso de diferenciación y maduración neuronal es complejo e incluye la proliferación, la migración, la salida del ciclo celular, la sobrevivencia, la neuritogénesis y la maduración para formar neuronas funcionales.⁴⁰ Dentro de los tipos de células precursoras presentes en el cultivo del epitelio olfatorio, está un grupo de progenitoras multipotenciales capaces de diferenciarse en células de estirpe neuronal y de estirpe glial, así como de progenitoras de amplificación transitoria.^{3,4,7}

Las células de estirpe neuronal derivadas de las precursoras se encuentran en distintos estadios de desarrollo, e incluyen a las precursoras multipotenciales, a las progenitoras amplificantes de la población de las células mitóticamente activas, a las neuronas inmaduras y a las neuronas maduras.^{3,4,7} Si consideramos la hipótesis que postula que las alteraciones observadas en la EZ tienen su origen en el neurodesarrollo,^{41,42} la presencia de las células precursoras permite plantear que el cultivo del epitelio no tan sólo puede ser usado como un modelo para estudiar el déficit olfatorio, sino que este cultivo podría aportar evidencias para probar hipótesis sobre el neurodesarrollo que intentan explicar la etiopatogenia y la fisiopatología de esta enfermedad.

Con la población de células progenitoras se pueden evaluar alteraciones en la capacidad de proliferación y en la salida del ciclo celular, lo que podría explicar el cambio observado en la proporción de neuronas olfatorias maduras en pacientes con EZ.¹³ En las células progenitoras y en las neuronas inmaduras se puede también determinar si hay alteraciones en la capacidad de migración o en la de maduración. Además en estas células se puede abordar el estudio de la formación de nuevas neuritas, la que se presenta al inicio de la diferenciación neuronal y depende directamente de la organización de los microfilamentos, los microtúbulos y los filamentos intermedios.^{43,44} Los cultivos de precursores neuronales obtenidos del epitelio olfatorio por exfoliación mantienen la capacidad para formar estructuras fenotípicas dependientes del citoesqueleto, como conos de crecimiento, lamelipodios, microespigas y neuritas cortas o largas.⁷ Esta capacidad de organización del citoesqueleto se conserva en las células criopreservadas, descongeladas y cultivadas en las mismas condiciones que los cultivos heterogéneos y seleccionados. Además, las células precursoras neuronales tienen la capacidad de madurar espontáneamente o en respuesta a factores de diferenciación como el AMPc, el BDNF o la forskolina, por lo que en el cultivo obtenido por exfoliación se observan neuronas maduras.⁷ Éstas conservan su capacidad para generar corrientes iónicas, como es el caso de las corrientes de calcio dependientes de voltaje,⁷ lo que pudiera permitir el estudio de su capacidad para transducir la señal olfatoria, para conducir los potenciales de receptor o de acción o para evaluar la capacidad para extender sus proyecciones y formar conexio-

nes sinápticas funcionales. Las evidencias aportadas por este modelo experimental pudieran establecer correlaciones con el déficit olfatorio observado en la EZ o la hipótesis de la deficiencia en el funcionamiento de algunos tipos de canales o de receptores ionotrópicos en este trastorno.

CONCLUSIÓN

La EZ es un trastorno en el que se presentan alteraciones en la estructura cerebral que se ha propuesto que son originadas en el neurodesarrollo. Las precursoras neuronales obtenidas por exfoliación del epitelio nasal obtenido de pacientes con EZ, permitirá detectar mecanismos o procesos alterados para evidenciar algunas causas que expliquen su déficit olfatorio, además de los procesos patofisiológicos que generan la EZ. La detección de los elementos moleculares y los procesos anómalos permitirá la caracterización de biomarcadores genéticos, proteómicos o funcionales para diagnosticar este trastorno psiquiátrico. Además, dado que en el cultivo del epitelio olfatorio están presentes células multipotenciales mitóticamente activas, éste podría ser un modelo para evaluar las consecuencias de modificaciones genéticas o mutaciones dirigidas en la funcionalidad neuronal.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto es apoyado por el donativo 157 del INPRFM y por el donativo 86863 del CONACyT FOSISS. H.S.Ch. agradece al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM por la formación recibida durante el doctorado.

REFERENCIAS

1. American Psychiatric Association. DSM-IV. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Cuarta edición. Washington, DC: American Psychiatric Press; 1994.
2. Heinze G, Benítez-King G, Bauer J. Melatonina y depresión. *Salud Mental* 1990;13:39-44.
3. Roisen FJ, Klueber KM, Lu CL, Hatcher LM et al. Adult human olfactory stem cells. *Brain Res* 2001;890:11-22.
4. Borgmann-Winter KE, Rawson NE, Wang HY, Wang H et al. Human olfactory epithelial cells generated in vitro express diverse neuronal characteristics. *Neuroscience* 2009;158:642-653.
5. Turetsky BI, Hahn CG, Borgmann-Winter K, Moberg PJ. Scents and nonsense: Olfactory dysfunction in schizophrenia. *Schizophr Bull* 2009;35:1117-1131.
6. Sawa A, Cascella NG. Peripheral olfactory system for clinical and basic psychiatry: a promising entry point to the mystery of brain mechanism and biomarker identification in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2009;166:137-139.
7. Benítez-King G, Riquelme A, Ortiz-López L, Berlanga C et al. A non-invasive method to isolate the neuronal lineage from the nasal epithelium from schizophrenic and bipolar diseases. *J Neurosci Methods* 2011; doi: 10.1016/j.jneumeth.2011.07.009.
8. Brewer WJ, Wood SJ, McGorry PD, Francey SM et al. Impairment of olfactory identification ability in individuals at ultra-high risk for psychosis who later develop schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2003;160:1790-1794.

9. Turetsky B, Cowell PE, Gur RC, Grossman RI et al. Frontal and temporal lobe brain volumes in schizophrenia. Relationship to symptoms and clinical subtype. *Arch Gen Psychiatry* 1995;52:1061-1070.
10. Turetsky BI, Moberg PJ, Yousem D, Arnold SE et al. Olfactory bulb volume is reduced in patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2000;157:828-830.
11. Shenton ME, Dickey CC, Frumin M, McCarley RW. A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res* 2001;49:1-52.
12. Turetsky BI, Moberg PJ, Owzar K, Johnson SA et al. Physiological impairment of olfactory stimulus processing in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2003;53:403-411.
13. Arnold SE, Han LY, Moberg PJ, Turetsky BI et al. Dysregulation of olfactory receptor neuron lineage in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2001;58:829-835.
14. Turetsky BI, Hahn CG, Arnold SE, Moberg PJ. Olfactory Receptor Neuron Dysfunction in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 2009;34:767-774.
15. McGorry PD, Nelson B, Amminger P, Bechdolf A et al. Intervention in individuals with ultra-high risk for psychosis: A review and future directions. *J Clin Psychiatry* 2009;70:1206-1212.
16. Nelson B, Yung AR, Bechdolf A, McGorry PD. The phenomenological critique and self-disturbance: Implications for ultra-high risk ("prodrome") research. *Schizophr Bull* 2008;34:381-392.
17. Takahashi T, Wood SJ, Yung AR, Phillips LJ et al. Insular cortex gray matter changes in individuals at ultra-high risk of developing psychosis. *Schizophr Res* 2009;111:94-102.
18. Wood SJ, Kennedy D, Phillips LJ, Seal ML et al. Hippocampal pathology in individuals at ultra-high risk for psychosis: a multi-modal magnetic resonance study. *Neuroimage* 2010;52:62-68.
19. Howes OD, Montgomery AJ, Asselin MC, Murray RM et al. Elevated striatal dopamine function linked to prodromal signs of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2009;66:13-20.
20. Brewer WJ, Francey SM, Wood SJ, Jackson HJ et al. Memory impairments identified in people at ultra-high risk for psychosis who later develop first-episode psychosis. *Am J Psychiatry* 2005;162:71-78.
21. Morrison E, Costanzo R. Morphology of the human olfactory epithelium. *J Comp Neurol* 1990;297:1-13.
22. Leopold DA, Hummel T, Schwob JE, Hong SC et al. Anterior distribution of human olfactory mucosa. *Laryngoscope* 2000;110:417-421.
23. Mombaerts P. Seven-transmembrane proteins as odorant and chemosensory receptors. *Science* 1999;286:707-711.
24. Schild D, Restrepo D. Transduction mechanisms in vertebrate olfactory receptor cells. *Physiol Rev* 1998;78:429-466.
25. Vassar R, Ngai J, Axel R. Spatial segregation of odorant receptor expression in the mammalian olfactory epithelium. *Cell* 1993;74:309-318.
26. Belluscio L, Gold GH, Nemes A, Axel R. Mice deficient of Golf are anosmic. *Neuron* 1998;20:69-81.
27. Stephana AB, Shuma EY, Hirsha S, Cygnara KD et al. ANO2 is the ciliary calcium-activated chloride channel that may mediate olfactory amplification. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:11776-11781.
28. Cygnar KD, Zhao H. Phosphodiesterase 1C is dispensable for rapid response termination of olfactory sensory neurons. *Nat Neurosci* 2009;12:454-462.
29. Bradley J, Bonigk W, Yau KW, Frings S. Calmodulin permanently associates with rat olfactory CNG channels under native conditions. *Nat Neurosci* 2009;7:705-710.
30. Gautam SH, Otsuguro KI, Ito S, Saito T et al. T-Type Ca^{2+} channels mediate propagation of odor-induced Ca^{2+} transients in rat olfactory receptor neurons. *Neuroscience* 2007;144:702-713.
31. Shiraiwa T, Makoto, Kashiwayanagi M, Iijima T et al. Involvement of the calcium channel Beta-3 subunit in olfactory signal transduction. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;355:1019-1024.
32. Green EK, Grozeva D, Jones I, Jones L et al. The bipolar disorder risk allele at CACNA1C also confers risk of recurrent major depression and of schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2010;15:1016-1022.
33. Mombaerts P, Wang F, Dulac C, Chao SK et al. Visualizing an olfactory sensory map. *Cell* 1996;87:675-686.
34. Mori K, Nagao H, Yoshihara Y. The olfactory bulb: Coding and processing of odor molecule information. *Science* 1999;286:711-715.
35. Kratskin IL, Belluzzi O. Anatomy and neurochemistry of the olfactory bulb. En: Doty RL (ed.). *Handbook of olfaction and gustation*. New York: Marcel Dekker USA; 2003.
36. Murphy GJ, Darcy DP, Isaacson JS. Intraglomerular inhibition: signaling mechanisms of an olfactory microcircuit. *Nat Neurosci* 2005;8:354-364.
37. Rupp C I. Olfactory function and schizophrenia: an update. *Curr Opin Psychiatry* 2010;23:97-102.
38. Nguyen AD, Shenton ME, Levitt JJ. Olfactory dysfunction in schizophrenia: A review of neuroanatomy and psychophysiological measurements. *Harv Rev Psychiatry* 2010;18:279-292.
39. Tajinda K, Ishizuka K, Colantuoni C, Morita M et al. Neuronal biomarkers from patients with mental illnesses: a novel method through nasal biopsy combined with laser-captured microdissection. *Mol Psychiatry* 2010;15:231-232.
40. Kempermann G, Jessberger S, Steiner B, Kronenberg G. Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends Neurosci* 2004;27:447-452.
41. Meyer U, Feldon J, Yee BK. A review of the fetal brain cytokine imbalance hypothesis of schizophrenia. *Schizophr Bull* 2009;35:959-972.
42. Meyer U, Feldon J. Epidemiology-driven neurodevelopmental animal models of schizophrenia. *Prog Neurobiol* 2010;90:285-326.
43. Daniels M. The role of microtubules in the growth and stabilization of nerve fibers. *Ann N Y Acad Sci* 1975;253:535-544.
44. Da Silva JS, Dotti CG. Breaking the neuronal sphere: regulation of the actin cytoskeleton in neurogenesis. *Nat Rev Neurosci* 2002;3:694-704.

Artículo sin conflicto de intereses