

Josefina Sala i Roca

**Efecte del distiroïdisme en el
desenvolupament conductual,
l'aprenentatge i la morfologia de
l'hipocamp**

Tesis doctoral dirigida pels doctors

Ferran Balada Nicolau

M^a Assumpció Martí i Carbonell

Àrea de Psicobiologia

Departament de Metodologia i Psicobiologia

Facultat de Psicologia

Universitat Autònoma de Barcelona

A totes aquelles persones que per motius socials, culturals o econòmics se'ls ha negat l'oportunitat de l'educació.

AGRAÏMENTS

La majoria de recerques són fruit del treball d'un col·lectiu més que no pas d'un esforç individual. Aquesta investigació no n'és una excepció i vull aprofitar aquesta pàgina per donar les gràcies a tots els que de forma directa o indirecta l'han feta possible.

En primer lloc, la meua més sincera gratitud als directors d'aquesta tesi, en Ferran i la Sunsi, per tots els esforços i el temps emprat.

En segon lloc vull agrair el treball dels companys de la línia d'investigació que ha fet possible que aquesta tesi sortís endavant, a més del seu suport moral i la seva amistat:

a l' Eva per haver col·laborat amb entusiasme en una de les etapes de la fase experimental més laborioses i per compartir aquest oasis que és la seva alegria i la seva il·lusió.

A la Sunsi per les seves crítiques i recomanacions tan valuoses que m'han ajudat a fer d'aquesta tesi *quelcom més digerible*.

A l'Adriana per la seva experiència en els tests conductuals i pels seus encertats suggeriments en la redacció.

A la Sònia per la seva experiència en la metodologia conductual i histològica.

I al Ferran per totes les hores que ha dedicat a endinsar-se amb mi en *la selva de dades i d'informació* en què s'havia convertit aquest treball i aconseguir que *arribéssim a bon port*.

En tercer lloc vull mostrar la meua gratitud a aquelles persones que sense pertanyer al grup de recerca han col·laborat o m'han assessorat en alguna part d'aquesta investigació:

a la comissió de Política Llingüística de la Universitat per atorgar-me l'ajut per a corregir la redacció d'aquesta tesi i al Gabinet de Llengua Catalana per l'interés amb que ho ha fet.

A la doctora Dolors Ribas per assessorar-me en aquella eina que tantes incerteses ens genera: l'anàlisi estadística.

Al doctor Antonio Armario per haver-nos avançat les determinacions hormonals.

Al doctor Sañudo per permetre'ns utilitzar els seus aparells per realitzar les fotografies.

Al José per la seva amistat i alegria... i per cuidar-nos tan bé *els bitxos*.

També vull donar les gràcies a totes aquelles persones que al llarg dels anys que ha durat aquesta tesi m'han donat el suport moral tan necessari per arribar al final del llarg camí ple d'alts i baixos, d'il·lusions i desesperacions, de paciència i impaciència, d'esgotament i insomni... que és una tesi doctoral:

A tots els companys del laboratori de psicobiologia, per tot el suport i totes les estones compartides.

Als companys de Pedagogia per tota l'amistat i confiança que m'han donat i per haver-me acollit tan càlidament en el departament.

Al Xavi, la Núria, la Montse B., la Montse P, la Roser, el Pep, el Jordi, la Dolors, la Isabel... a tots els amics que durant aquests anys m'han donat la seva amistat, el seu afecte, el seu suport i ànims.

I, finalment, a la meua família: a la Neus, la Montse, l'Emili, l'Aleix, la Queralt, a la meua àvia i especialment als meus pares, per haver estat al meu costat, pel seu

afecte, per la seva paciència, comprensió i suport ... en bona part aquest treball és d'ells perquè sense ells no hauria estat possible.

ABREVIATURES

BDNF	factor neurotròfic derivat del cervell
BHE	barrera hematoencefàlica
CA	cornus amonis
GD	gir dentat
GH	hormona del creixement
HPC	hipocamp
LTP	potenciació a llarg termini
MAP	proteïna associades als microtúbuls
MBP	proteïna bàsica de la mielina
NCAM	molècules d'adhesió cel·lular
NGF	factors de creixement nerviós
PTU	propil-tiouracil
RXR	receptor per a 9 cis àcid retinòic
SN	sistema nerviós
SNC	sistema nerviós central
T3	triiodotironina
T4	tiroxina
TGB	tiroglobulina
TRE	elements de resposta a l'hormona tiroïdal
TSH	hormona estimulant de la tiroides

ÍNDIX

	<u>Pàg.</u>
I. INTRODUCCIÓ	1
1.HORMONA TIROÏDAL I CONDUCTA.....	1
2. HORMONES TIROÏDALS I CONDUCTA: ESTUDIS AMB ANIMALS.....	7
2.1. La maduració física dels animals amb distiroidisme.....	7
2.2. Reflexes.....	9
2.3. Capacitat motriu, activitat i exploració.....	11
2.4. Aprenentatge.....	18
2.5. Emotivitat i resposta a l'estrés.....	24
3. EFECTE DE LES HORMONES TIROÏDALS EN EL SNC.....	28
3.1. Origen de les hormones tiroïdals al SNC.....	28
3.2. Receptors tiroïdals.....	30
3.3. Temporització de l'acció de les hormones tiroïdals.....	34
3.4. Efecte de l'hormona tiroïdal en el desenvolupament del SN.....	35
4. HIPOCAMP.....	42
4.1. Anatomia.....	42
4.2. Citoarquitectura.....	43
4.3. Principals connexions.....	44
4.3.1. Connexions intrínseques.....	44
4.3.2. Connexions extrínseques.....	51
4.4. Aspectes funcionals.....	54
4.4.1. Hipocamp: activitat, exploració, novetat i habituació.....	56

4.4.2. Hipocamp: ansietat, emotivitat i resposta a l'estrés.....	58
4.4.3. Hipocamp: aprenentatge i memòria	66
4.5. Plasticitat.....	73
5. EFECTE DE LES HORMONES TIROÏDALS A L'HIPOCAMP.....	78
II PART EXPERIMENTAL.....	83
1. PLANTEJAMENT EXPERIMENTAL.....	85
1.1. Objectius generals.....	88
2. EXPERIMENT I: EFECTE DE L'EXCÉS O DÈFICIT CRÒNIC D'HORMONA.....	97
2.1. Materials i mètodes.....	99
2.1.1. Subjectes i grups experimentals.....	101
2.1.2. Avaluació conductual.....	103
2.1.3. Avaluació endocrina.....	109
2.1.4. Histologia i anàlisi morfomètrica.....	119
2.1.5. Anàlisi estadística.....	123
2.2. Resultats.....	127
A. Estat tiroïdal.....	129
A.1. Nivells plasmàtics de T4 en sang....	129
A.2. Evolució del pes.....	130
B. Conducta individual.....	132
B1. Psicomotricitat.....	132
B2. Activitat exploratòria.....	133
B3. Exploració.....	134
B4. Defecacions.....	136
B5. Adaptació a un nou ambient.....	137
B6. Ansietat mesurada al laberint elevat..	139

B7 Aprenentatge d'evitació passiva.....	140
C. Conducta social.....	142
C1. Conducta social activa.....	142
C2. Conducta social passiva.....	144
C3. Activitat exploratòria en situació social.....	145
C4. Respostes indicadores d'estrés en situació social.....	147
D. Morfologia de les neurones piramidals de l'hipocamp.....	153
D1. Dades globals.....	153
D1.1: Dades globals: camp CA1.....	153
D1.2: Dades globals: camp CA3.....	159
D2. Dades per regions.....	175
D2.1. Regió anterior: camp CA1.....	175
D2.2. Regió posterior: camp CA1.....	176
D2.3. Regió anterior: camp CA3.....	181
D2.4. Regió posterior: camp CA3.....	183
D3. Dades per hemisferis.....	186
D3.1. Hemisferi dret: camp CA1.....	186
D3.2. Hemisferi esquerre: camp CA1.....	189

D3.3. Hemisferi dret:	
camp CA3.....	193
D3.4. Hemisferi esquerre:	
camp CA3.....	193
3.EXPERIMENT II: EFECTE DEL DÈFICIT D'HORMONA DES	
DE LA PUBERTAT.....	197
3.1. Materials i mètodes.....	199
3.2. Resultats.....	205
A. Estat tiroïdal.....	207
A.1. Nivells plasmàtics de T4 en sang....	207
A.2. Evolució del pes.....	208
B. Conducta individual.....	211
B1. Psicomotricitat.....	211
B2. Activitat exploratòria.....	213
B3. Exploració.....	213
B4. Defecacions.....	215
B5. Adaptació a un nou ambient.....	216
B6. Ansietat mesurada al laberint elevat..	216
B7. Aprenentatge d'evitació passiva.....	216
C. Conducta social.....	218
C1. Conducta social activa.....	218
C2. Conducta social passiva.....	219
C3. Activitat exploratòria en	
situació social.....	220
C4. Respostes indicadores	
d'estrés en situació social.....	223
D. Morfologia de les neurones	
piramidals de l'hipocamp.....	229
D1. Dades globals.....	229

D1.1: Dades globals:	
camp CA1.....	229
D1.2: Dades globals:	
camp CA3.....	232
D2. Dades per regions.....	245
D2.1. Regió anterior:	
camp CA1.....	245
D2.2. Regió posterior:	
camp CA1.....	246
D2.3. Regió anterior:	
camp CA3.....	250
D2.4. Regió posterior:	
camp CA3.....	251
D3. Dades per hemisferis.....	255
D3.1. Hemisferi dret:	
camp CA1.....	255
D3.2. Hemisferi esquerre:	
camp CA1.....	256
D3.3. Hemisferi dret:	
camp CA3.....	260
D3.4. Hemisferi esquerre:	
camp CA3.....	262
4.EXPERIMENT III: EFECTE DE L'EXCÉS D'HORMONA DES	
DE LA PUBERTAT.....	267
4.1. Materials i mètodes.....	269
4.2. Resultats.....	275
A. Estat tiroïdal.....	277
A.1. Nivells plasmàtics de T4 en sang....	277
A.2. Evolució del pes.....	278

B. Conducta individual.....	280
B1. Psicomotricitat.....	280
B2. Activitat exploratòria.....	280
B3. Exploració.....	281
B4. Defecacions.....	281
B5. Adaptació a un nou ambient.....	283
B6. Ansietat mesurada al laberint elevat..	283
B7 Aprentatge d'evitació passiva.....	283
C. Conducta social.....	285
C1. Conducta social activa.....	285
C2. Conducta social passiva.....	285
C3. Activitat exploratòria en situació social.....	285
C4. Respostes indicadores d'estrés en situació social.....	286
D. Morfologia de les neurones piramidals de l'hipocamp.....	291
D1. Dades globals.....	291
D1.1: Dades globals: camp CA1.....	291
D1.2: Dades globals: camp CA3.....	295
D2. Dades per regions.....	311
D2.1. Regió anterior: camp CA1.....	311
D2.2. Regió posterior: camp CA1.....	312
D2.3. Regió anterior: camp CA3.....	316

D2.4. Regió posterior:	
camp CA3.....	318
D3. Dades per hemisferis.....	322
D3.1. Hemisferi dret:	
camp CA1.....	322
D3.2. Hemisferi esquerre:	
camp CA1.....	325
D3.3. Hemisferi dret:	
camp CA3.....	329
D3.4. Hemisferi esquerre:	
camp CA3.....	330
III. DISCUSSIÓ	335
1.- EFECTE DEL DÈFICIT D'HORMONA.....	337
1.1. Paràmetres biològics de l'hipotiroïdisme.....	337
1.2.- Conducta.....	339
1.2.1. Psicomotricitat: capacitat motriu i reflexos.	339
1.2.2. Conducta individual.....	340
1.2.3. Conducta social.....	348
1.3. Morfologia neuronal.....	349
2.- EFECTE DE L'EXCÉS D'HORMONA.....	361
2.1. Paràmetres biològics de l'hipotiroïdisme.....	361
2.2.- Conducta.....	363
2.2.1. Psicomotricitat: capacitat motriu i reflexos.	363
2.2.2. Conducta individual.....	364
2.2.3. Conducta social.....	369
2.3. Morfologia neuronal.....	371
IV. CONCLUSIONS.....	375
V. BIBLIOGRAFIA.....	383

I INTRODUCCIÓ

1. HORMONA TIROÏDAL I CONDUCTA

Els efectes de l'hormona tiroïdal en la conducta són coneguts bàsicament pels dramàtics estats produïts pel distiroïdisme. L'estupor del mixedema i l'excitabilitat i la tremolor de l'hipertiroïdisme són característics, però la gran diversitat d'alteracions conductuals induïdes pel distiroïdisme assenyala que les hormones tiroïdals estan implicades directament o indirectament en el control de diverses funcions psicològiques. Les alteracions cerebrals provocades pels desequilibris en l'eix tiroïdal provoquen un ampli ventall de trastorns conductuals que poden variar des de l'apatia fins al coma i des de l'ansietat fins a la psicosi. Afortunadament, moltes d'aquestes alteracions són reversibles quan es produeixen en el període adult, però si el distiroïdisme es produeix en el període perinatal els efectes poden ser permanents.

Quan durant el desenvolupament els nivells d'hormones tiroïdals no són els adequats s'observen una gran diversitat d'efectes, la gravetat dels quals varia en funció de la severitat i del període del desequilibri hormonal. Així l'estat més greu és el cretinisme induït per l'hipotiroïdisme perinatal que es caracteritza per un retard mental profund, sordesa, estrabisme, problemes perceptuals, problemes amb el llenguatge, dificultats en motricitat fina i gruixuda, etc (Potterfield i Heindrich 1993).

Per tal de prevenir el cretinisme, als anys 70 es va implantar a molts països els programes de detecció neonatal de l'hipotiroïdisme amb la finalitat de garantir la detecció i el tractament precoç en les primeres setmanes de vida. Però malgrat la detecció precoç i el tractament primerenc, en aquests nens s'observa un cert deteriorament intel·lectual, resultats escolars pobres i problemes motors,

especialment de la motricitat fina (Derksen-Lubsen i Verderk 1996, Gottschalk i altres 1994, Rochiccioli i altres 1992). Una de les variables que millor prediuen el deteriorament és la maduració òssia; els nadons que presenten un pitjor desenvolupament de l'esquelet són els que mostren pitjor desenvolupament intel·lectual i motriu (Derksen-Lubsen i Verderk 1996, Gottschalk i altres 1994). Aquestes dades indicarien que tot i que els estudis assenyalaven el primer mes de vida com a període crític per iniciar la teràpia, la presència de les hormones tiroïdals durant la vida fetal és clau per a un desenvolupament correcte i la seva alteració pot tenir efectes permanents en el sistema nerviós.

Les teràpies utilitzades tampoc no estan lliures de problemes. Hi ha hagut molts informes sobre les conseqüències adverses del tractament de l'hipotiroidisme: augment de la distracció, hiperactivitat, problemes conductuals (irritabilitat, ansietat, depressió, delinqüència, dificultats socials, etc). Però semblen necessàries altes dosis de tiroxina per obtenir uns bons resultats en el desenvolupament de la capacitat intel·lectual, especialment en la memòria i la intel·ligència verbal (Rovet i altres 1993, 1995).

El deteriorament de les capacitats intel·lectuals ocasionades per l'hipotiroidisme no sembla ser exclusiu de l'infantesa. S'ha informat de diversos casos de demència ocasionada per la manca d'hormona tiroïdal en persones adultes. Aquests estats, a més d'anar acompanyats de problemes motors, sovint també estan associats a estats depressius, incontinència emocional i letàrgia, encara que aquests casos són fàcilment revertits pel tractament i no semblen presentar efectes a llarg termini, cosa que sí que s'observa quan l'hipotiroidisme es produeix en les fases inicials del desenvolupament (Haupt i Kurz 1993, Smith i altres 1992).

Els dèficits en l'atenció i la incapacitat per concentrar-se són els símptomes clàssics de l'hipertiroidisme, dèficits que serien independents de l'augment de l'ansietat (Alvarez i altres 1996). Per això el deteriorament en el rendiment acadèmic és un dels indicis de l'hipertiroidisme. S'ha comprovat una major prevalença de les alteracions tiroïdals en nens diagnosticats amb trastorn de dèficit d'atenció amb hiperactivitat respecte de la població normal (Weiss i altres 1993) i el 70% dels individus amb resistència a l'hormona tiroïdal han estat diagnosticats amb trastorn de dèficit d'atenció amb hiperactivitat (Hauser i altres 1993, Matochik i altres 1996). La resistència a l'hormona tiroïdal és una alteració autosòmica dominant que es caracteritza per nivells elevats de tiroxina (T4) i triiodotironina (T3) conjuntament amb nivells elevats de TSH. La resposta anormalment baixa de la hipòfisi i els teixits perifèrics a l'hormona tiroïdal és produïda per mutacions del gen que codifica els receptors tiroïdals β . Aquest trastorn es caracteritza per hiperactivitat, problemes atencionals, dèficits en el llenguatge i trastorns d'aprenentatge (Matochik i altres 1996, Mixson i altres 1992). La relativa preservació de la intel·ligència indicaria que els receptors tiroïdals α jugarien un paper molt important en el sistema nerviós durant el desenvolupament (Mixson i altres 1992).

Tot i que els primers estudis es van centrar principalment en l'afectació de les capacitats intel·lectuals provocada pel distiroidisme, posteriorment es van obtenir dades que apuntaven la implicació de les hormones tiroïdals en l'estrès, l'ansietat i la depressió.

La relació de l'hormona tiroïdal amb l'estrès ja s'havia observat al segle passat i a principis d'aquest segle Bram (1927) assenyalava que en el 85% de més de 3.000 casos de tiroxicosi hi havia històries d'estrès traumàtic. Aquests efectes poden perdurar molts anys després de les experiències traumàtiques que les van provocar. Mason i altres (1994) observen nivells augmentats de T3 en veterans de combat diagnosticats d'estrès postraumàtic. El fet que no s'observin nivells alts de TSH i de T4 lliure fa suposar a aquests investigadors que els alts nivells de T3 serien ocasionats per un augment de la desiodonització de la T4. En un altre treball aquest grup d'investigació comprovava la correlació positiva dels nivells de T3 i T4 amb els símptomes d'increment d'activació cortical (arousal), en una mostra de veterans que havien combatut al Vietnam (Wang i altres 1995). També s'han observat canvis en l'eix tiroïdal després d'estrès agut: Schedlowski i altres (1992) van observar increments dels nivells de TSH després de saltar amb paracaigudes, tant si els subjectes eren experimentats com no.

La relació de l'hormona tiroïdal amb l'ansietat és un fet acceptat des que l'ansietat és un dels símptomes característics de l'hipertiroidisme (Stem i altres 1996). Aquesta relació també s'ha observat en una població normal en la qual s'observaven majors nivells de T3 i T4 en els individus que obtenien puntuacions més altes en l'STAI (*state-trait anxiety inventory-trait form*).

Un dels camps d'estudi que més treballs ha produït dins la relació hormona tiroïdal– conducta dels últims 20 anys ha estat la possible implicació de les hormones tiroïdals en alguns tipus de depressió. Gairebé el 100% dels hipotiroidismes greus presenten símptomes depressius (Whybrow i altres 1969).

S'ha observat una baixa resposta de la TSH a TRH (Bartalena i altres 1990, Garbutt i altres 1996) i nivells baixos de T4 i T3 en depressions endògenes majors (Bartalena i altres 1990, Dorn i altres 1996), correlacionant els nivells de TSH negativament amb la severitat de la depressió (Maes i altres 1994). També s'ha associat l'hipotiroidisme en els desordres bipolars (Haggerty i Prange 1995) i s'ha assenyalat que el 52% dels pacients amb depressions refractàries tenen hipotiroidisme subclínic (Howland 1993). Sembla que l'hormona tiroïdal podria potenciar la neurotransmissió noradrenèrgica en aquells pacients que no responen als antidepressius tricíclics (Whybrow i Prange 1981), atès que l'augment dels nivells d'hormona tiroïdal s'ha associat a l'augment dels receptors β -adrenèrgics (Bilezikian i Loeb 1983, Atterwill, i altres 1984). Altres autors apunten la serotonina com a sistema mediador de la millora en la simptomatologia depressiva després de l'administració de tiroxina (Cleare i altres 1996).

Però globalment els pacients depressius no presenten alteracions tiroïdals (Maes i altres 1993) i els intents per tractar les depressions amb TRH o T3 no han tingut resultats rellevants (excepte en alguns trastorns bipolars resistents) (Baumgartner 1993). I encara que totes les teràpies i els fàrmacs antidepressius afecten les concentracions d'hormones tiroïdals, el sentit d'aquesta afectació no és clar. L'administració de liti provoca una disminució de T3 i T4 (Bartalena i altres 1990) i els individus que responen a la teràpia cognitiva disminueixen els nivells de T4, mentre que els que no responen la incrementen (Joffe i altres 1996). S'ha relacionat diversos fàrmacs antidepressius, com ara la desimipramina o la fluoxetina a efectes sobre l'activitat deiodinasa. Aquests efectes no són del tot clars. Mentre el grup de

Baumgartner i Campos-Barros observa que predominantment els fàrmacs antidepressius (Campos-Barros i altres 1994, 1995, Campos-Barros i Baumgartner 1994, Baumgartner i altres 1994a, 1994b) i la privació de son (Campos-Barros 1993) augmentarien l'activitat de la 5'D-II, altres autors conclouen que fàrmacs com la desmetilimipramina afectarien els nivells d'hormona tiroïdal disminuint l'activitat deiodinasa (Gordon i altres 1994).

2. HORMONES TIROÏDALS I CONDUCTA: ESTUDIS AMB ANIMALS

L'alta freqüència de retard mental, dèficits auditius i trastorns neurològics en la població d'àrees amb goll endèmic es va constatar durant segles i es va anomenar *cretinisme*. Malgrat el goll endèmic va ser descrit per Paracelsus (1493-1541) i altres contemporanis seus, la relació del cretinisme amb la glàndula tiroide no es va reconèixer fins molt temps més tard, encara que l'any 1850 Curling va descriure dos casos de cretinisme en nens que presentaven absència de glàndula tiroïdal a l'autòpsia, o que el 1891 Murray informava que els símptomes de l'hipotiroïdisme podien ser alleugerits amb injeccions d'extracte de tiroide d'ovella. La relació causal del dèficit tiroïdal i el cretinisme no va ser acceptat fins que es van obtenir experimentalment les primeres rates cretines a la segona meitat d'aquest segle, moment en què es va iniciar un ampli ventall d'estudis dirigits principalment a determinar els períodes crítics en què el dèficit d'hormona tiroïdal provocava trastorns en el desenvolupament conductual i neural, i per tal de determinar-ne les possibilitats de diagnosi i de tractament (Morreale de Escobar i altres 1983, Dussault i Ruel 1987).

2.1. La maduració física dels animals amb distiroïdisme

Els efectes de la manca d'hormona tiroïdal són clarament observables des dels primers dies de vida. Les cries de rosegadors hipotiroïdes creixen i guanyen pes de forma retardada (Wallace i altres 1995, Comer i Norton 1982, Anthony i altres 1993, Darbra i altres 1995, Goldey i altres 1995, Tamasy i

altres 1986a, 1986b, 1984, Comer i Norton 1985, Sobrian i altres 1976), també mostren retard en l'obertura d'ulls (Wallace i altres 1995, Weller i altres 1996, Davenport i Gonzalez 1973, Davenport i altres 1975, Johanson i altres 1980, Comer i Norton 1982, Anthony i altres 1993, Goldey i altres 1995, Sobrian i altres 1976, Sjöden i Lindqvist 1978), l'obertura de les orelles (Weller i altres 1996), l'aparició dels incisius (Weller i altres 1996), el creixement del pèl (Weller i altres 1996, Narayan i altres 1982) i l'aixecament de les orelles (Wallace i altres 1995, Anthony i altres 1993).

Contràriament, els efectes de l'excés d'hormona semblen no ser tan contundents. Així, els efectes alentidors en l'adquisició de pes no apareixen o apareixen lleument (Murphy i Nagy 1976, Sjöden i Söderberg 1976). De manera oposada als retards en el creixement observats en l'hipotiroïdisme, l'hipertiroïdisme sembla que accelera el desenvolupament de l'animal. Les cries hipertiroides presenten un aspecte morfològic més madur, una obertura d'ulls (Johanson i altres 1980, Eayrs 1964, Darbra i altres 1995, Chen i Fuller 1975, Rastogi i Singhal 1976, Murphy i Nagy 1976), aparició dels incisius (Rastogi i Singhal 1976) i obertura del canal auditiu extern (Eayrs 1964) més primerenca.

Pel que fa als òrgans sensorials els efectes de l'hipotiroïdisme perinatal sever poden ser molt greus, i poden alterar la funció visual, auditiva i somestèsica (Albee i altres 1989) i, per tant, poden interferir de manera important en la interrelació de l'animal amb el seu entorn.

L'hipotiroïdisme perinatal deteriora el desenvolupament del sistema auditiu i pot arribar a provocar pèrdues auditives importants, deteriorament que no es

produeix si s'administra T4 en els 10 primers dies de vida (Uziel i altres 1980, 1985, 1983, Van Middleswort i Norris 1980, O'Malley, Li i Turner 1995). Aquestes pèrdues romanen en la vida adulta de l'animal encara que recuperi l'estat eutiroidal (Goldey i altres 1995). En canvi, l'hipertiroïdisme neonatal sembla que acceleraria el desenvolupament auditiu (Freeman i altres 1993).

Els animals que han estat tractats amb fàrmacs antitiroïdals (PTU i Methimazole) poden perdre part del seu sentit de l'olfacte (Beard i Mackay-Sim 1987, Genter i altres 1995, 1996) i els animals hipotiroïdes també presenten alteracions en les preferències pel gust (Gordon i altres 1992, Brosvic, Rowe i Doty 1992).

Sembla que el dèficit d'hormona no induiria una major sensibilitat al dolor. Eayrs i Lishman (1955) assenyalen que els animals hipotiroïdes no mostren tenir diferent sensibilitat cutània al dolor (Eayrs 1955), però sí els hipertiroïdes: Edmonson i altres (1990) troben que els ratolins als quals se'ls ha induït hipertiroïdisme sever en la vida adulta presenten una major sensibilitat al dolor per estimulació tèrmica i que l'analgèsia produïda per l'administració de morfina té una durada més curta.

2.2. Reflexos

L'hipotiroïdisme en la gestació i els primers dies de vida retarda i deprimeix l'aparició dels reflexos de redreçament (Wallace i altres 1995, Comer i Norton 1982), de redreçament a l'aire (Eayrs 1955, Weller 1996, Eayrs i Taylor 1951, Sobrian i altres 1976), la resposta d'orientació al niu (Johanson i altres

1980, Hamburg i altres 1977), l'orientació a través de l'olfacte (Johanson 1980), el reflex d'ensurt (Comer i Norton 1982, Eayrs 1955), el reflex de suspensió a la barra penjada (Weller i altres 1996, Comer i Norton 1982, Eayrs 1955), el reflex de rotació a la geotàxia negativa (Weller 1996), el reflex de posicionament de les potes davanteres quan se'l pressiona amb un objecte frontalment (Eayrs i Taylor 1951, Eayrs 1955) i, finalment, retarda el reflex de succió (Narayan i altres 1982).

Tamasy (1984), a diferència de Narayan i altres (1982), no troba afectació del reflex de succió als 10-15 dies d'edat mesurada a través del guany de pes després de cada alletament, però l'administració de PTU s'iniciava el dia del naixement quan el desenvolupament d'aquest reflex és prenatal. Narayan i altres (1982) iniciaven el tractament al 7è dia d'embaràs i comprovaven que els diferents moviments que constitueixen el reflex de succió estan deprimits entre els 16 i els 20 dies de gestació (període en el qual es desenvolupen).

Weller i altres (1996) no troben afectació del reflex de redreçament, probablement això sigui ocasionat per les baixes dosis de methimazole que utilitzen per induir l'hipotiroïdisme (0,02% a la beguda). De fet la reducció de pes típica de l'hipotiroïdisme en el seu experiment és molt petita.

El retard o la depressió d'aquests reflexos sembla ser més aviat producte de l'efecte directe del distiroïdisme en el substrat neural que no pas un efecte secundari a la desnutrició, atès que no s'observa en rates desnodrides (Eayrs 1955). Eayrs (1966) considerava aquestes alteracions més com un producte de l'efecte activacional que organitzacional de l'hormona sobre el substrat

nerviós perquè en molts casos es tractava d'un retard en el desenvolupament, però els animals acabaven assolint els nivells normals.

De forma oposada a l'hipotiroïdisme, l'excés d'hormona avança l'aparició del reflex de redreçament (Davenport i Gonzalez 1973, Davenport i altres 1975), de redreçament a l'aire (Eayrs 1964), el reflex de posicionament (Eayrs 1964), el reflex de suspensió a la barra penjada (Davenport i Gonzalez 1973), d'orientació a través de l'olfacte (Johanson 1980), el reflex acústic d'ensurt (Schapiro 1968, Chen i Fuller 1975) i la resposta natatòria (Davenport i Gonzalez 1973, Davenport i altres 1975, Schapiro 1970, Murphy i Nagy 1976). Però Johanson i altres (1980) no troba diferències en la resposta d'orientació al niu. Davenport i altres (1975), contràriament al que van observar ells mateixos en un altre experiment, no troben diferències en el reflex de suspensió. Aquests resultats discrepants podrien estar ocasionats per la utilització de T3 en lloc de T4 o pel període d'administració que en aquest experiment es produïa durant tres dies (de 2 al 4) en lloc dels 4 dies de l'anterior experiment la qual cosa podria produir un menor temps real d'afectació, i/o una afectació qualitativament diferent.

2.3. Capacitat motriu, activitat i exploració

La capacitat motriu dels animals que han sofert hipotiroïdisme perinatal es veu deteriorada. Eayrs i Lishman (1955) van observar que rates amb hipotiroïdisme neonatal no superaven la prova dels tres taulons i Narayan i altres (1986) observen que l'administració de PTU prenatal retarda el desenvolupament dels moviments en el període fetal. Però tot i que el nivells

psicomotrius dels animals amb dèficits d'hormona tiroïdal en els primers períodes de vida es veuen deteriorats, semblen recuperar-se de manera important en vida adulta si els animals recuperen el seu estat eutiroidal. Darbra i altres (1995) no troben efectes ni de l'hipotiroïdisme ni de l'hipertiroïdisme perinatal en la capacitat motriu de rates adultes que s'havien recuperat del distiroïdisme perinatal per la retirada del tractament.

Els efectes de l'hipertiroïdisme neonatal en la capacitat motriu de l'animal semblen nuls. Chen i Fuller (1975) no troben efectes en la prova del pla inclinat en les primeres setmanes de vida i Darbra i altres (1995) no troben cap efecte de l'hipertiroïdisme perinatal quan s'avaluava en vida adulta.

Els estudis en què s'ha avaluat l'efecte de l'hipotiroïdisme perinatal o neonatal sobre l'activitat són molts i les dades obtingudes semblen contradictòries i confuses. La diversitat de mètodes, dosis i períodes d'afectació emprats per induir l'hipotiroïdisme fan difícil treure'n conclusions clares. A més, sovint no s'ha tingut en compte l'ontogènia de la conducta estudiada i els possibles efectes diferencials de la manca d'hormona tiroïdal. Aquest problema s'observa clarament quan s'analitzen els treballs realitzats sobre l'efecte dels distiroïdismes en l'activitat; treballs que constitueixen el major volum dels realitzats en el camp d'estudi de la relació de l'hormona tiroïdal amb la conducta.

Els efectes de l'hipotiroïdisme crònic aparentment semblen contradictoris. En línies generals, quan la mesura de l'activitat es produeix abans dels 40 dies, l'hipotiroïdisme crònic té un efecte depressor; quan es mesura entre els 40 i els 60 no s'observen diferències i quan es mesura als 75 dies d'edat té un

efecte estimulador. Sobrian i altres (1976) van mesurar els nivells d'activitat entre els 5 i els 40 dies d'edat de rates a les quals s'havia tiroïdectomitzat en néixer. L'ontogènia de l'activitat locomotriu d'aquests animals estava alterada. A diferència dels respectius controls, que augmenten l'activitat fins a un pic als 15 dies de vida, per després reduir-se vers els valors de l'etapa adulta, els animals hipotiroïdes augmentaven l'activitat fins al cap de 10 dies i després es mantenien, i mostraven nivells inferiors al grup control atès que no es produïa el pic dels 15 dies. Però els nivells d'activitat no diferien entre els 25 i els 40 dies. Rastogi i Singhal (1979) observen que la tiroïdectomia neonatal deprimeix l'activitat locomotriu espontània mesurada entre els 15 i els 30 dies d'edat, però no troben diferències significatives als 45 i als 60 dies d'edat. Tampoc Tamasy i altres (1986a, 1986b) no troben diferències significatives pel que fa a l'activitat locomotriu als 42-50 dies d'edat mesurada al *Hole-board*, però quan es valorava el total d'activitat a la roda aquesta es trobava deprimida. En canvi, quan l'activitat locomotriu es mesurava als 75 dies en un camp obert, els animals hipotiroïdes mostraven més deambulacions que els controls (Sobrian i altres 1976).

Contràriament a aquests resultats, es troben nivells d'activitat marcadament deprimits fins als 120 dies en una línia mutant de ratolins (hyt/hyt) amb hipotiroïdisme congènit. Anthony i altres (1993) observen una activitat locomotriu deprimida entre els 21 i els 120 dies i Laffan i altres (1989) troben que els ratolins hipotiroïdes romanen menys temps al rotador entre els 12 i els 55 dies atès que no utilitzen el balanceig com a estratègia, a diferència dels eutiroides. Aquestes diferències podrien ser explicades per la major severitat de l'hipotiroïdisme d'aquesta línia de ratolins, perquè l'hipotiroïdisme induït és qualitativament (mutació) diferent dels casos anteriors (tiroïdectomia o

administració de PTU), o perquè en aquesta línia hi havia altres alteracions afegides que podien distorsionar els resultats.

L'hipotiroïdisme neonatal o perinatal disminueix l'activitat motora quan es mesura abans dels 21 dies d'edat (Goldey i altres 1995, Comer i Norton 1982), però quan l'animal recupera el seu estat eutiroïdal, presenta hiperactivitat (Goldey i altres 1995, Akaike i altres 1991, Darbra i altres 1995, Comer i Norton 1985, Schalock i altres 1977, Schalock i altres 1979, Hendrich i altres 1984, Tamasy i altres 1986a, 1986b). Aquest augment s'observa a partir dels 40-42 dies d'edat (Akaike i altres 1991, Hendrich i altres 1984). Hendrich i altres (1984) apunten la interrelació de l'hormona tiroïdal i l'hormona del creixement com a causa d'aquest augment de l'activitat i mostren com aquest efecte és revertit per l'administració de GH durant l'embaràs.

Contràriament a tots aquests resultats, Albee i altres (1989) i Morgan i Einon (1976) no troben efectes de l'hipotiroïdisme perinatal en els nivells d'activitat. Aquestes dades contràries podrien ser ocasionades per les baixes dosis emprades en ambdós casos, per l'edat en què els nivells d'activitat s'han avaluat (20 dies i 45 dies), o que en tots dos casos van emprar grups mixts de mascles i femelles sense que després controlessin aquesta variabilitat estadísticament.

Hi ha consens respecte del fet que **l'hipotiroïdisme adult** altera el cicle circadiari d'activitat, però si bé uns el troben reduït (McEachron i altres 1993, Schull i altres 1989), efecte que es reverteix per l'administració de tiroxina (McEachron i altres 1993), altres el troben allargat (Morin i altres 1986,

Beasley i Nelson 1982). Una possible explicació a aquestes discrepàncies és que McEachron i altres (1993) i Schull i altres (1989) van emprar rates mascle mentre que Morin i altres (1986) i Beasley i Nelson (1982) van emprar hámster, en un cas mascles als quals s'havia cegat i en l'altre femelles ovariectomitzades, pel què no solament podrien incidir el tipus d'animal emprat sinó també les hormones sexuals o l'estrès. Tampoc està massa clar l'efecte sobre el nivell d'activitat: uns troben que disminueix l'activitat (Fundaro 1989, Morin i altres 1986, Emlen i altres 1972), altres que augmenta (McEachron i altres 1993, Schull i altres 1989), i altres no troben efecte (Beard i Mackay-Sim 1987, Darbra 1994). McEachron i altres (1993), suggereixen la possibilitat que l'increment d'activitat en els animals hipotiroïdes podria respondre a una estratègia per augmentar la temperatura corporal, que s'hauria disminuït amb l'hipotiroïdisme.

Poques dades hi ha de l'efecte de l'**hipertiroïdisme neonatal**. L'excés d'hormona tiroïdal en període neonatal produiria un augment de l'activitat locomotriu (Rastogi i Singhal 1976), augment que no es mantindria en els adults després d'un període de **rehabilitació** per la retirada del tractament (Darbra i altres 1995, Chen i Fuller 1975), malgrat que Sjöden i col·laboradors (Sjöden i Söderberg 1976a, 1976b, Sjöden i Lindqvist 1978) troben l'activitat locomotriu augmentada en vida adulta. Probablement aquestes diferències responguin a tipus de distiroïdisme diferents perquè en els experiments del grup de Sjöden, l'hipertiroïdisme induït era un hipertiroïdisme postnatal molt breu en administrar-se injeccions úniques d'altres concentracions de T3 o T4 en el tercer o quart dia postnatal, en canvi, Darbra i altres (1995) administraven el tractament des del 9è dia gestacional fins als 21 dies

postnats, i Chen i Fuller (1975) induïen l'hipertiroïdisme entre els 5 i els 14 dies postnatsals.

Les dades obtingudes sobre l'efecte de l'hipertiroïdisme en vida adulta en l'activitat són escasses però també contradictòries. Emlen i altres (1972) observen que l'**hipertiroïdisme adult** augmenta l'activitat, Fundaro (1989) observa que disminueix i Darbra (1994), McEachron i altres (1993) i Rastogi i Singhal (1976) no hi troben diferències significatives.

Malgrat les contradiccions, l'afectació del nivell d'activitat en el distiroïdisme és una dada contundent. Així també en espècies d'altres famílies s'ha observat també l'afectació de l'activitat locomotora. Per exemple, Tasaki i Ishi (1990) van observar que gripaus que havien rebut T4 mostraven una activitat locomotriu deprimida i que els que havien estat tiroïdectomitzats presentaven una major activitat locomotriu que els respectius controls, si bé aquestes alteracions no es trobaven en les femelles.

Menys clares són les dades referents a les pautes de **conducta exploratòria**, entre altres raons perquè és difícil fer la distinció amb l'activitat locomotriu a moltes proves (Boissier, camp obert...) en les quals la locomoció respon també a finalitats exploratòries.

Els animals que sofreixen un **hipotiroïdisme crònic** (Sobrian i altres 1976) o **adult** no mostren diferències en les aixecades al camp obert als 75-80 dies d'edat (Darbra 1994).

En canvi, l'**hipotiroïdisme perinatal** sembla disminuir l'exploració. Tamasy i altres (1986a, 1986b) observen que tant els animals de 50 dies hipotiroïdes com els **rehabilitats** d'un hipotiroïdisme neonatal mostren una exploració deprimida en el test de Boissier (mesurada com forats explorats i aixecades), però aquesta no es manté quan els animals rehabilitats són adults: els animals rehabilitats als 80-90 dies d'edat mostren una exploració similar als controls (Tamasy i altres 1986a, 1986b, Darbra 1994, Schalock i altres 1979). Si bé Attree i altres (1992) observa que la descendència de rates tiroïdectomitzades presenten menys contactes amb un nou objecte als 63 dies d'edat, creuen menys línies i s'aixequen menys vegades al camp obert. Però com ja comentàvem el problema d'aquestes proves és que tenen un component important d'activitat i es fa difícil veure si les afectacions són producte de l'increment/decrement de l'activitat o de l'exploració. Així, Darbra i altres (1995) observen una exploració similar al camp obert i al test de Boissier en animals rehabilitats d'un hipotiroïdisme perinatal als 80-90 dies, però en un altre tipus de prova en la qual l'animal pot passar lliurement d'un compartiment fosc a un compartiment il·luminat troben un increment de les mirades i una disminució de la latència a passar del compartiment fosc al compartiment il·luminat. Aquesta discrepància podria indicar que en les pautes conductuals observades intervenen diferents funcions psicològiques sobre les quals actuaria l'hormona tiroïdal de manera diferent.

Darbra i col. no observa que un període d'**hipertiroïdisme perinatal** (Darbra i altres 1995) o adult (Darbra 1994) afecti les conductes d'exploració en vida adulta, però Sjödén i Söderberg (1976a) i Sjödén i Lindqvist (1978) troben que una única injecció d'una dosi alta d'hormona tiroïdal en el dia 3 o 4

postnatal augmentava el nombre de aixecades quan s'analitzaven en vida adulta.

Malgrat que s'ha descrit una millor **adaptació** dels animals hipotiroïdes a ambients no familiars (Davenport i Hennies 1976b), aquests animals mostren una menor **habitució** o perseverança de les pautes exploratòries de aixecada, forats i defecació al test de Boissier (Tamasy 1986a, 1986b), en l'exploració d'un laberint (Sobrian i altres 1976) o en el camp obert; fet que podia ser revertit si els animals eren criats en un ambient enriquit (Sjödén i Söderberg 1976b, Sjödén i Lindqvist 1978).

2.4. Aprenentatge

Atesa la preocupació pel retard mental en els individus amb cretinisme, un dels aspectes conductuals més estudiats del distiroïdisme, conjuntament amb l'activitat, és l'aprenentatge. La gran varietat d'aprenentatges i procediments emprats fan difícil extreure una conclusió clara del paper de les hormones tiroïdals en l'aprenentatge. De forma global l'efecte de la manca d'hormona tiroïdal en moments crítics sembla interferir en l'aprenentatge, però el paper de l'excés d'hormona no és massa clar.

Els **aprenentatges espacials** han estat molt utilitzats en l'estudi de l'efecte de l'hormona tiroïdal en l'aprenentatge i la memòria. Els experiments realitzats coincideixen a apuntar que l'**hipotiroïdisme** sigui crònic, perinatal o neonatal deteriora aquest tipus d'aprenentatge. Anthony i altres (1993) van observar en una soca de ratolins amb hipotiroïdisme congenit que als 50 dies d'edat no

aprenien a fugir d'un tanc d'aigua i també tenien una pitjor execució en el test de Morris. També Essman i altres (1968) assenyalen que els ratolins hipotiroïdes adquireixen més tard el criteri de resposta d'un aprenentatge en un laberint d'aigua i no milloraven la resposta. Si bé Eayrs i Lishman (1955) van observar que les rates amb hipotiroïdisme neonatal no requerien més assajos per assolir els criteris d'aprenentatge en un laberint però trigaven més a realitzar el recorregut i cometien més errades. En un altre experiment Eayrs (1966) comprovava que els animals tiroïdectomitzats en néixer presentaven deterioraments en una sèrie de laberints problema i mostraven respostes perseverants. Hendrich i altres (1984) assenyalen que el deteriorament de l'aprenentatge en un laberint espacial provocat per l'hipotiroïdisme prenatal no es produeix si s'administra GH a la mare durant l'embaràs.

Sembla que aquests dèficits es mantindrien fins la vida adulta malgrat que es produís la **rehabilitació** per retirada del tractament. Davenport observa dèficits en l'aprenentatge en una sèrie de laberints problema als 75 dies d'edat en rates rehabilitades d'un hipotiroïdisme perinatal, i Akaike i altres (1991) trobaven que els animals amb hipotiroïdisme perinatal quan són adults realitzen més errors en el laberint d'aigua, en el laberint radial i mostren perseverança en explorar braços del laberint ja explorats.

L'**hipertiroïdisme** neonatal també deteriora l'execució als aprenentatges espacials (Schapiro 1968), efecte que es mantindria en els animals adults rehabilitats (Davenport i González 1973, Davenport, Hagquist i Hennies 1975, Sjöden i Lindqvist 1978).

Diversos estudis han mostrat la importància de l'hipocamp en aquest aprenentatges (vegeu l'apartat 4.4.3). Un dels aspectes que ha rebut un major interès han estat les fibres molsoses de les cèl·lules granulars de l'hipocamp. A finals dels anys 70 Lauder i Mungnaini (1977) van comprovar que l'administració postnatal de T4 produïa l'hiperplàsia d'aquestes fibres. Com a conseqüència d'aquestes dades el grup de Schwegler, Lipp i Crusio van començar a investigar la interrelació de l'hormona tiroïdal, les fibres molsoses i diferents tipus d'aprenentatge. Molts d'aquests estudis es van fer amb una soca de ratolins caracteritzats per un pobre aprenentatge espacial i fibres molsoses intrapiramidals i infrapiramidals curtes (DBA/2j). L'administració neonatal de tiroxina als animals d'aquesta soca millora el seu rendiment en el laberint radial de manera paral·lela a l'augment de les fibres molsoses (Schwegler i altres 1991 i Crusio i Schwegler 1991). Una altra dada que podria assenyalar l'hipocamp com a estructura medidora de l'efecte de l'hormona tiroïdal en l'aprenentatge espacial és que animals que han rebut triiodotironina neonatal presenten als 2-3 mesos d'edat dèficits en un laberint espacial que correlacionen amb la disminució de la inducció de la potenciació, a llarg termini, a la circumvolució dentada (Pavlides i altres 1991).

Tot i que la diferència entre aprenentatge i memòria no sempre és clara, sembla que els dèficits en l'aprenentatge espacial ocasionats per l'hipertiroïdisme no impliquen dèficits en memòria sinó que podria millorar-la. Murphy i Nagy (1976) observen que l'hipertiroïdisme neonatal en ratolins no millora l'execució en un laberint entre els 10 i 20 dies de vida, però sí que avança dos dies la capacitat de retenir la informació 24 hores, la qual cosa indica que l'hipertiroïdisme podria accelerar els mecanismes de determinats tipus de memòria. En sentit similar Abé i altres (1992) troben que si bé

l'administració de triiodotironina en ratolins adults no té efecte per si sola, sí que reverteix el deteriorament de la memòria de treball en un laberint en T induïda per una neurotoxina (AF64a) al mateix temps que recupera els nivells d'acetilcolina, glutamat i GABA a l'hipocamp.

També els aprenentatges d'inhibició de resposta es veuen afectats pel distiroïdisme però de manera poc consistent. L'hipotiroïdisme adult deteriora l'adquisició i retenció de la resposta d'immobilitat al test de Porsolt, efecte que és revertit per l'administració de T4 (Jefferys i Funder 1989). Contràriament, l'aprenentatge d'evitació passiva no es veu afectat ni per l'hipotiroïdisme perinatal o neonatal en animals de 45-70 dies hipotiroïdes o rehabilitats (Tamasy i altres 1986a, 1986b, Darbra i altres 1995), o per l'hipotiroïdisme adult (Darbra 1994). Però l'hipertiroïdisme neonatal induït en els 5 primers dies d'edat deteriora l'execució a l'evitació passiva als 35-36 dies, encara que no l'afecta significativament als 19-20 dies d'edat (Davenport i Gonzalez 1973). Aquests efectes no semblen mantenir-se en la vida adulta, Darbra (1994) no observa cap deteriorament en l'evitació passiva en animals de 70 dies rehabilitats de l'hipertiroïdisme perinatal, però sí en animals que havien sofert hipertiroïdisme adult.

A diferència de l'evitació passiva, l'evitació activa es veu clarament deteriorada per l'hipotiroïdisme crònic (Eayrs 1966) i per l'hipotiroïdisme neonatal (Tamasy i altres 1986b), efectes que es mantindrien en la vida adulta tot i que l'animal recuperés l'estat eutiroidal per la retirada del tractament (Schalock i altres 1979) o per la teràpia de reemplaçament (Eayrs 1966). Tamasy i altres (1986b) no observen deteriorament en l'execució d'animals de 50 dies als quals se'ls havia retirat el fàrmac antitiroïdal als 25

dies d'edat. Aquestes dades contradictòries podrien ser ocasionades pel fet que l'hipotiroïdisme induït per Tamasy i altres (1986b) era més lleu que en els altres casos.

Els animals que han sofert un hipertiroïdisme neonatal adquireixen l'aprenentatge d'evitació activa a una edat més precoç (Davenport i Gonzalez 1973, Schapiro 1968). No obstant això Lipp, Schwegler i Driscoll (1984) en administrar tiroxina en el període neonatal a una línia de rates altament evitadores obtingudes per cria selectiva van observar que als 90 dies d'edat, després d'un període de rehabilitació per retirada del tractament, les projeccions infrapiramidals i intrapiramidals de les fibres molsoses de l'hipocamp havien augmentat, augment que correlaciona amb un pitjor aprenentatge en l'evitació activa de dos sentits. Aquestes dades es van comprovar posteriorment en altres soques (Lipp i altres 1988). L'aparent contradicció amb els resultats obtinguts per aquest mateix grup de recerca amb la soca DBA/2j en relació amb l'aprenentatge espacial (comentat anteriorment) es dilueix si considerem que l'efecte de les hormones no ha de ser necessàriament el mateix en animals que presenten situacions d'inici diferents tant a nivell conductuals com a nivell de substracte neural (altament evitadores/ hiperplasia de les fibres infrapiramidals i intrapiramidals). També podria ser que hi hagi un nivell de funcionalitat òptim de l'estructura neural per a desenvolupar correctament un tipus d'aprenentatge que no ha de ser necessàriament l'òptim en un altre tipus d'aprenentatge. De fet, sembla que l'acció de les hormones tiroïdals podrien alterar les estructures neurals i això afectaria l'impacte de les condicions de cria. Sjödén i Lindqvist (1978) troben que animals amb una única injecció d'hormona tiroïdal en el període neonatal mostren una latència de resposta més curta a l'evitació activa que els seus

controls quan els animals han estat criats en ambient pobres, però la relació s'invertia quan els animals havien estat criats en ambients rics.

L'aprenentatge d'un condicionament operant sota un programa de raó fixa en vida adulta es veu afectat per l'hipotiroïdisme i els animals hipotiroïdes presentarien una menor taxa de resposta (Fundaro, Molinengo i Cassone 1985). En canvi, Davenport i altres (1976a) observen que l'hipotiroïdisme neonatal accelera l'adquisició de la resposta als 41 dies d'edat, encara que després no presenten diferències amb el grup control, i Kawada i altres (1988) troben una pitjor execució d'un aprenentatge operant en una situació de discriminació llum-fosc en animals adults que havien sofert un hipotiroïdisme perinatal. L'hipertiroïdisme no sembla tenir efectes en aquest aprenentatge (Fundaro, Molinengo i Cassone 1985).

En els condicionaments amb programes de reforçaments més complexos com ara l'aprenentatge d'un condicionament de reforçament diferencial de taxes baixes, l'hipotiroïdisme neonatal té un efecte deteriorador (Schalock i altres 1979), de la mateixa manera que l'hipotiroïdisme adult interferia en l'adaptació d'una raó fixa a un interval variable (Fundaro i altres 1985); però aquest no afectava l'aprenentatge en un programa de reforçament complex de resposta alternada, que si que era millorat per l'hipertiroïdisme (Fundaro 1989).

S'ha apuntat l'hiperactivitat dels animals recuperats d'un hipotiroïdisme com a possible factor interferidor de l'aprenentatge; però un altre factor que cal tenir en compte és el patró conductual *d'inflexibilitat i rigidesa* que semblen tenir els animals hipotiroïdes. Els individus amb hipotiroïdisme perinatal exploren

els braços dels laberints de forma completa (Comer i Norton 1985), almenys menys de braç durant l'exploració (Sobrian i altres 1976), no dubten ni es fan mai enrera en el recorregut d'una barra (Eayrs i Lishman 1955) i mostren respostes perseverants (Eayrs 1966). Aquests animals tenen dificultats per passar d'una raó fixa a un interval fix en el condicionament operant (Fundaro i altres 1985), no extingeixen la resposta en el test d'evitació activa (Tamasy i altres 1986b) i augmenta la recuperació espontània de la resposta en la segona sessió d'extinció d'un condicionament operant (Davenport i Hennies 1976b), encara que Fundaro (1989) observa que els animals amb hipotiroïdisme adult acceleren l'extinció d'una resposta prèviament reforçada positivament.

2.5. Emotivitat i resposta a l'estrès

La relació de l'hormona tiroïdal i la **reactivitat emocional** no és molt clara. Un dels índexs més utilitzats per analitzar la reactivitat emocional és la defecació dels animals (Broadhurst 1960). Sobrian i altres (1976) no observen diferències en les defecacions als 75 dies d'edat en rates que havien estat tiroïdectomitzades en néixer. Davenport i Hennis (1976b) assenyalen que els animals amb hipotiroïdisme perinatal mostren menys por quan adquireixen la resposta de premer la palanca als 41 dies d'edat. Però altres estudis apunten un augment de la reactivitat emocional: Attree i altres (1992) obtenen una major latència en el test d'emergència en les cries de rates tiroïdectomitzades i Tamasy i altres (1986) observen que els animals rehabilitats de l'hipotiroïdisme neonatal presentaven una major taxa de defecació en el test de Boissier als 50 dies d'edat encara que als 90 dies ja havien retornat als nivells

normals. Així mateix Schalock i altres (1979) i Darbra i altres (1995) no observen efectes en les defecacions en animals adults rehabilitats d'un hipotiroïdisme perinatal. D'altra banda, Fundaro (1989) observa que l'hipotiroïdisme adult disminueix les defecacions i l'hipertiroïdisme les augmenta. Mentre que Darbra (1994) no observa que les defecacions es vegin afectades ni per l'administració de tiroxina ni per l'administració de methimazole en el període adult.

Un dels aspectes conductuals menys estudiats en relació amb les hormones tiroïdals han estat les **respostes de por**. Darbra i col. observen que els animals que havien sofert un hipotiroïdisme perinatal (Darbra i altres 1995) presenten un patró ansiolític en el test del laberint elevat (*Plus maze*), patró que no s'observava en animals que havien sofert un hipotiroïdisme en vida adulta (Darbra 1994). Tampoc l'hipertiroïdisme perinatal ni l'adult no van mostrar que afectessin a aquesta prova, encara que el grup hipertiroideo perinatal presentava una mitjana inferior d'entrades als braços oberts (Darbra 1994, Darbra i altres 1995) similar a la resposta observada després de l'administració d'una substància ansiogènica. Més sensible als efectes del distiroïdisme adult es va mostrar el test d'interacció social: tant l'hipotiroïdisme com l'hipertiroïdisme adult produïen un increment en l'exploració i un decrement de les pautes de contacte amb l'altre durant aquesta prova (Darbra 1994).

La **síndrome de desemparança apresada**, considerada un anàleg de les depressions en humans, també es mostra sensible als efectes de les alteracions tiroïdals. Així, s'observa que la reversió de la síndrome de desemparança apresada produïda pels antidepressius tricíclics no es dona amb hipotiroïdismes

severs (Howland 1993), o més directament que l'administració de T3 en rates adultes reverteix la síndrome de desemparança apresada generada per l'administració de xocs inescapables (Martin 1985), mentre que l'hipotiroïdisme adult deteriorava la resposta de fugida a xocs escapables (Levine i altres 1990).

La relació hormona tiroïdal-estrès sembla ser bastant complexa i de difícil comprensió. Tamasy i altres (1986a, 1986b) obtenen una disminució de T4 i un increment de T3 en resposta als xocs inescapables, l'estrès emocional (per condicionada) només augmentava la T3 sense alterar la T4, i l'estrès lleu (exposició a un nou ambient) no alterava els nivells de T3 i T4. Aquesta relació s'invertia en els animals rehabilitats d'un hipotiroïdisme neonatal: la T4 augmentava durant els xocs i la T3 disminuïa tant en resposta al xoc com a l'estrès emocional. Servatius i altres (1994) no observen canvis en els nivells d'hormona tiroïdal després de 7 dies d'administrar xocs a la cua.

En canvi, la major part dels estudis assenyalen que l'estrès agut (2-8 hores) o crònic incidiria en les hormones tiroïdals disminuint les concentracions de TSH i T3, però no de T4 (Bianco i altres 1987, Cizza i altres 1995, Armario i altres 1993) i l'edat atenuaria aquest efecte (Cizza i altres 1995). Sembla ser que l'estrès abaixaria els nivells de T3 i l'activitat deiodinasa disminuiria i que per això no s'observarien canvis en els nivells de T4 (Bianco 1987).

D'altra banda, l'estat tiroïdal de l'animal podria modular la resposta a l'estrès: Walker i altres (1989) van comprovar que la resposta de l'ACTH i de la corticosterona a l'estrès induït per l'exposició a l'èter apareix més precoçment en l'hipertiroïdisme neonatal i més tardanament en els animals que han sofert

hipotiroïdisme perinatal, efecte que es revertiria per una sola administració de T4. D'altra banda, Schapiro (1968) troba que l'estrès induït per èter als 40 dies d'edat en rates amb hipertiroidisme neonatal mostra majors concentracions de corticosterona adrenal que dels seus controls.

3. EFECTE DE LES HORMONES TIROÏDALS EN L'SNC

Una part important de la recerca amb hormones tiroïdals s'ha dirigit a estudiar la relació d'aquestes amb l'SNC. L'objectiu principal d'aquestes investigacions ha estat establir la funció de l'hormona tiroïdal en el desenvolupament de l'SNC i el període en el qual això es produiria.

Les hormones tiroïdals intervenen en el desenvolupament, principalment sincronitzant esdeveniments, assegurant que els processos que tenen lloc durant el desenvolupament es produeixen en el lloc i el moment idonis. Aquesta funció s'assoleix mitjançant el control de l'expressió gènica en determinades cèl·lules i estructures de gens molts d'ells implicats en la diferenciació (Bernal i Guadaño-Ferraz 1998).

3.1. Origen de les hormones tiroïdals a l'SNC

Les hormones tiroïdals T3 i T4 són secretades per la glàndula tiroïdal. La tiroide secreta 20 vegades més de T4 que T3. El 50% de T3 s'origina per la desiodonització de la T4, procés pel qual també s'obté l'rT3. Aproximadament el 99,98 % de T4 i el 99,7% de T3 està lligada a proteïnes plasmàtiques com ara la TGB, la prealbúmina (o *transthyretin*) o l'albumina. A l'SNC el 80% de T3 prové de la desiodonització de T4. La deiodinasa tipus 2 responsable d'aquest procés, s'expressa predominantment en les cèl·lules glials: d'una banda els astròcits que captarien la T4 de la sang, la desiodonitzarien a T3 i l'alliberarien a les neurones i, de l'altre els tanícits del tercer ventricle que captarien la T4 del líquid cefaloraquídi al qual la tornarien

a alliberar després de ser desiodonitzada a T3 (Bernal i Guadaño-Ferraz 1998).

Quan les iodotironines no estan lligades a les proteïnes són susceptibles de ser transportades a través de la barrera hematoencefàlica (BHE) i de la barrera dels plexes coroïdeos. Malgrat que tant la T4 com la T3 poden entrar al sistema nerviós central a través de la BHE sembla ser que la via principal d'entrada seria a través dels plexes coroides (Schreiber i altres 1990). En aquesta via la *transthyretin* tindria un paper facilitador en aquest transport, ja que la tiroxina recaptada pels plexes coroides es lligaria a aquesta proteïna (que és sintetitzada en els plexes) i seria secretada pels plexes coroides al líquid cefaloraquídi (Dickson i altres 1987). La *transthyretin* té una major afinitat per T4 i per rT3 que per T3. Aquest fet explicaria que el paper facilitador d'aquesta proteïna s'observa amb la tiroxina però no per la T3, i això dona suport a la idea que la T3 disponible al cervell majoritàriament, o totalment, prové de la desionització de T4. Després d'entrar al líquid cefaloraquídi mitjançant la *transthyretin*, les hormones tiroïdals, i probablement el retinol, podrien ser alliberats selectivament als òrgans circumventriculars (Dratman i altres 1991). Així la T3 i el retinol podrien estar disponibles de forma coordinada i això significaria que la T4 transportada a través de la BHE i la transportada a través dels plexes coroides tindria funcions diferents (Cheng i altres 1994).

3.2. Receptors tiroïdals

Els receptors tiroïdals són producte de dos gens, TR α i TR β , localitzats en diferents cromosomes, el primer en el 17 i el segon en el 3 (en el cas dels humans). Per *splicing* alternatiu aquests dos gens donen lloc a dues isoformes: TR α 1, TR α 2, TR β 1, TR β 2. El TR α 2 també s'anomena c-ErbA α 2 o Trvariant α 2 i la transcripció i posterior traducció de la cadena complementària d'aquest gen dona lloc a l'anomenat Rev-ErbA α . Aquest, juntament amb el TRv α -2, no es poden considerar com a receptors per hormones tiroïdals atès que no s'uneixen a l'hormona. Tant TR α 1, TR α 2 com TR β 1 estan presents en l'encèfal, entre els quals el receptor α 2 seria el més abundant (Muñoz i Bernal 1997).

Els receptors tiroïdals modularien la transcripció lligant a locus específics de DNA anomenats elements de resposta a l'hormona tiroïdal (TRE). Aquests TRE són repeticions de la seqüència AGGT/ACA. Aquestes repeticions es poden produir de diverses maneres. Així, podem trobar en alguns gens amb repeticions directes (DR), mentre que en altres apareixen repeticions inverses (ER) i també aquestes repeticions poden estar separades per un nombre diferent de bases nitrogenades (4, 6) (Muñoz i Bernal 1997). Quan l'hormona tiroïdal s'uneix al receptor es produeixen canvis conformacionals que provoquen l'estimulació o la repressió de l'activitat transcripcional de manera directa o indirecta (a través de proteïnes intermèdies). Els efectes de l'hormona tiroïdal no solament són transcripcionals sinó que també poden afectar el processament i l'estabilització de l'mRNA (James i DeGroot 1995).

Hi ha evidències que els receptors tiroïdals formen homodímers, però també hi ha evidències que altres proteïnes cel·lulars intensificarien el lligament del receptor amb el DNA formant heterodímers. El receptor tiroïdal habitualment forma heterodímers amb RXR (receptor per 9 cis àcid retinòic). Però també pot formar heterodímers amb d'altres receptors, com són ara de la vitamina D3 o el PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptor*). El conjunt RXR-TR actua mitjançant molècules adaptadores que poden ser corepressors o coactivadors. Els primers corresponen a proteïnes que realitzen la seva funció d'una manera independent de l'hormona. Aquesta acció es fa mitjançant l'establiment d'interaccions inhibidores amb els mecanismes de transcripció. D'aquesta manera s'inhibeix la transcripció en absència de l'hormona. S'han descrit fins al moment dos corepressors diferents, el N-CoR (*nuclear receptor corepressor*, p270) i el SMRT (*silencing mediator for RARs and TRs*, p165). Amb la unió del lligand, el corepressor abandona el conjunt RXR-TR i això permet que es produeixi la transcripció i, per tant, l'expressió gènica. Aquesta transcripció es veu afavorida per la presència dels coactivadors. Els coactivadors són proteïnes que actuen com a ponts entre els receptors i els factors de transcripció. S'han identificat diversos coactivadors per a la família de receptors esteroïdals/tiroïdals, entre aquests destaquen el Trip1/TIF1 (*TR-interactin protein 1/transcriptional intermediary factor 1*), RIP140 (*receptor-interacting protein 140*), SRC-1/N-CoA1 (*Steroid receptor coactivator-1/Nuclear CoActivator1*), el complex TRAP, CBP (*CREB-binding protein*) (Muñoz i Bernal 1997).

Amb certs elements de resposta el lligament de l'hormona tiroïdal al seu receptor podria deteriorar el lligament d'homodímers sense alterar el d'heterodímers i així canviar l'equilibri de receptors tiroïdals que estan lligant

com a monòmers, homodímers i heterodímers. L'acció del receptor estaria influenciada pel tipus de proteïna accessòria que està present, la seva concentració o per la presència o absència de lligants. Així per exemple el lligament de l'àcid retinòic indueix l'homodimerització dels RXR, alterant la quantitat de RXR disponibles per heterodimeritzar-se amb altres receptors (James i DeGroot 1995). En absència de T3 el receptor actuarà com a un repressor de la transcripció, encara que en alguns gens la unió de T3 provoca una inhibició de la transcripció (Muñoz i Bernal 1997).

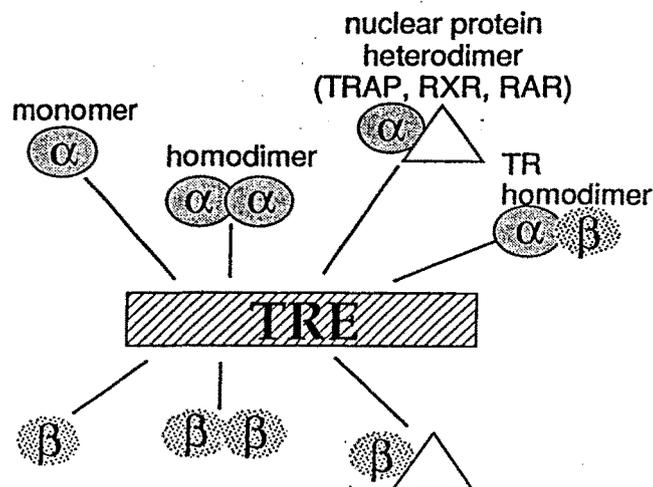


Fig.3.2.1. Combinacions possibles en la formació de complexos de receptors tiroïdals en elements de resposta. (Extret de Chin i Yen, 1996)

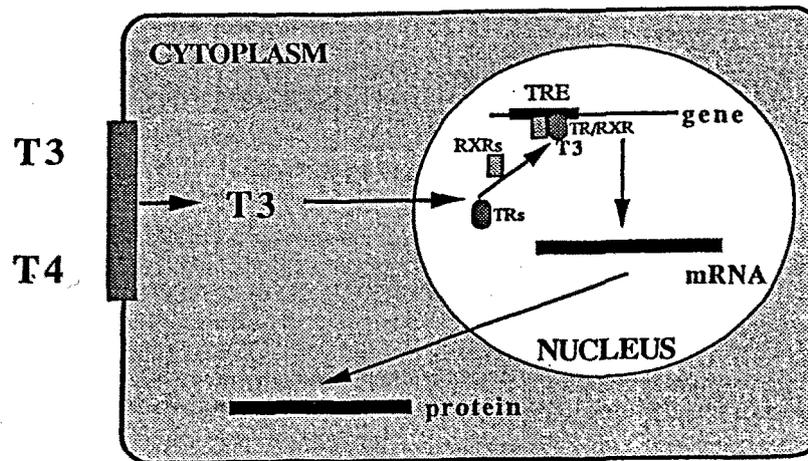


Fig. 3.2.2. Acció de l'hormona tiroïdal a nivell cel·lular. Tant la T3 com la T4 poden entrar a la cèl·lula per difusió passiva. La T4 pot ser deiodinitzada a T3. Aquesta entra al nucli i s'uneix als receptors tiroïdals que poden estar formant monomers o dimers i que estan units a l'ADN pels anomenats elements de resposta dels receptors tiroïdals. L'acció del lligament al receptor comportarà canvis en la transcripció.

Un dels aspectes que planteja un gran nombre de qüestions és l'acció específica que realitzaria cadascun dels diferents receptors tiroïdals. El TR α seria la forma predominant en el cervell durant el període fetal, mentre que el TR β 1 apareixeria postnatalment i s'incrementarien els seus nivells durant la primera setmana de vida. Això coincidiria amb l'inici del període de sensibilitat a l'acció de l'hormona tiroïdal durant el desenvolupament cerebral. Per aquest fet s'havia postulat que aquest receptor seria el responsable de l'acció de les hormones tiroïdals sobre la mielinització i la resta de gens sensibles a aquestes hormones durant aquest període. No obstant això, el fenotip mostrat pel ratolí *knock-out* per aquest receptor no sembla d'acord

amb aquesta hipòtesi, atès que els patrons d'expressió de MBP i PCP-2 no es van veure afectats. Aquesta circumstància semblaria deixar el control d'aquests gens en mans de TR α ; tanmateix altres hipòtesis podrien ser l'acció repressora dels TR en absència del lligand. Així, alteracions que havien estat atribuïdes a la manca d'hormona tiroïdal podrien ser degudes a l'activitat repressora dels TR sense lligand. A favor d'aquesta interpretació estaria el fet que els efectes de l'hipotiroïdisme en el cervell és molt més sever que els efectes de la delecció del receptor tiroïdal, i això suggereix que l'activitat repressora dels receptors tiroïdals no lligats pot tenir una important contribució a les manifestacions fenotípiques de la privació d'hormona tiroïdal (per a revisió vegeu Bernal i Guadaño-Ferraz 1998).

3.3. Temporalització de l'acció de les hormones tiroïdals

En humans es considera generalment que aquest període va des de finals de la gestació fins al primer o el segon any de vida (Oklund i Timiras 1977). En rates inicialment es va pensar que el període crític eren els primers 10-12 dies després del part (Oklund i Timiras 1977) i, de fet, la major part dels gens regulats per les hormones tiroïdals són sensibles exclusivament en aquest període (Bernal i Guadaño-Ferraz 1998), però posteriorment s'ha considerat aquest període seria més ampli i aniria dels dels 18 dies de gestació (quan s'inicia l'activitat de la tiroide) fins al cap de 21 dies després del part (Morreale de Escobar i altres 1983, Dussault i Ruel 1987). No obstant això el fet que s'hagi detectat activitat del receptor α als 14 dies embrionaris (Bernal i Núñez 1995) i que quantitats significatives d'hormona tiroïdal maternal

travessen la placenta, suggereix que el teixit fetal podria ser sensible a l'acció de les hormones tiroïdals fins i tot abans de l'inici de l'activitat de la tiroide.

3.4. Efectes de l'hormona tiroïdal en el desenvolupament del sistema nerviós

Aquest període crític abans esmentat s'associa a processos clau per al desenvolupament i l'organització de l'SNC com són ara la proliferació, el creixement dendrític, la sinaptogènesi, la gliogènesi i la mielinització. La manca d'hormones tiroïdals en aquestes etapes altera el desenvolupament estructural i organitzacional del cervell de tal manera que la teràpia de reemplaçament mai pot revertir totalment les alteracions ocasionades (Poterfield i Hendrich 1993).

Estructuralment, l'hipotiroïdisme neonatal o perinatal redueix *el nombre final de cèl·lules* al SNC (Timiras i Nzekwe 1989), reducció que perdura quan l'animal és adult (Madeira i altres 1991). Durant el desenvolupament, l'hipotiroïdisme disminueix el *pes* del cervell i del cerebel. Com veurem, aquest dèficit de pes cerebral seria, en part, ocasionat per la disminució de la proliferació i la mida cel·lular amb l'augment de la densitat d'empaquetament i de la mort neuronal (Rabié i altres 1980, Rabié i altres 1979).

En l'hipotiroïdisme la taxa mitòtica durant la *proliferació* és més baixa, cosa que explica la disminució de l'adquisició cel·lular (Lauder 1977) i atès que afecta la diferenciació de la glia podria afectar la *migració* (Rami i altres 1986). Efectivament, l'hormona tiroïdal té un paper molt important en la

diferenciació de neurones i glia. L'hipotiroïdisme retarda aquest procés i això comporta un allargament de la fase de proliferació (Nicholson i Alman 1972a, Patel i altres 1989, Andres-Barquin i altres 1994, Rami i Rabié 1988).

La regulació de la diferenciació cel·lular per l'hormona tiroïdal sembla ser que es realitzaria a través dels receptors tiroïdals $\beta 1$ (Lebel i altres 1994, Lezoualc'h i altres 1995) i/o regulant els nivells de neurotrofines com la NT-3 (neurotrofina 3) (Lindholm i altres 1993, Neveu i Arenas 1996) o el NGF (*nerve growth factor*) (Alvarez-Dolado i altres 1994, Figueiredo i altres, 1993). Els animals hipotiroïdes tenen uns nivells molt baixos de NT-3 i BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*). La NT-3 a més de la diferenciació i la migració estaria implicada en la supervivència, en la qual també estaria implicat el BDNF (Neveu i Arenas 1996). En l'etapa adulta l'hormona tiroïdal també té un paper regulador sobre els factors neurotròfics com el NGF o el BDNF (Calzà i altres 1996, 1997).

L'hipotiroïdisme neonatal o perinatal també disminueix el *desenvolupament dendrític* (Eayrs 1955, Lu i Brown 1977a), cosa que afecta especialment les parts distals de la neurona (Ruiz-Marcos i Ipiña, 1986, 1986). Comer i Norton (1985) observen una disminució del 30-40% de l'arborització dendrítica de les neurones d'animals adults que havien sofert un hipotiroïdisme perinatal i també presenten menys *espines* (Lu i Brown 1977a, Ruiz-Marcos 1990, Ruiz-Marcos i altres 1979, 1980, 1988, Berbel i altres 1985, Ipiña i altres 1987). Aquests efectes són revertits per l'administració de tiroxina (Ruiz-Marcos i altres 1980, 1982).

El control sobre el desenvolupament de les dendrites podria estar mediat per la regulació de l'ensamblatge dels microtúbuls que exerciria l'hormona tiroïdal regulant les proteïnes MAP2 i Tau que promouen la polimerització de la tubulina (Nunez 1985, Nunez i altres 1991, Poddar i Kumar 1993, Faivre-Sarrailh 1991).

Paral·lelament l'hipotiroïdisme retarda la *sinaptogènesi* (Lauder 1978, Rami i altres 1986; Rami i altres 1986b, Rami i Rabié 1990) i redueix el nombre total de sinapsis (Lu i Brown 1977b).

La *síntesi de mielina* també es veu disminuïda amb l'hipotiroïdisme (Balázs i altres 1969, Berbel i altres 1994, Kawada i altres 1988, Rodríguez-Peña i altres 1993, Noguchi i altres 1985, Noguchi i Sugisaki 1984, Walters i Morell 1981, Ibarrola i Rodríguez-Peña 1997). Les hormones tiroïdals actuen sobre la diferenciació dels oligodendròcits i sobre l'expressió gènica en aquestes cèl·lules.

L'hipertiroïdisme també disminueix el *pes* del cervell i del cerebel, però per una raó diferent de l'hipotiroïdisme. En aquest cas, l'hipertiroïdisme, malgrat que augmenta la supervivència de les neurones (Heisenberg i altres 1992, Clos i Gabrion 1989, Rabié i altres 1979), produiria una disminució del nombre de cèl·lules per la finalització prematura de la proliferació i l'inici precoç de la diferenciació (Nicholson i Alman 1972a, Bernal i Núñez 1995). Com hem vist, amb anterioritat l'hormona tiroïdal té un paper molt important en la *diferenciació* de neurones i la glia. L'hipertiroïdisme accelera la diferenciació de les neurones i la glia i escurça la fase de proliferació (Barres i altres 1994, Johe i altres 1996, Kelley i altres 1995, Trentin i Neto 1995,

Aizenman i de Vellis 1987, Nicholson i Alman 1972a, Baas i altres 1997, Ved i Pieringer 1993, Gould i altres 1990). Així mateix, l'administració d'hormona tiroïdal intensifica la formació de neurites (Heisenberg i altres 1992) i accelera la *sinaptogènesi*. Però el resultat final, igual que amb l'hipotiroïdisme, és una disminució en el nombre total de sinapsis atès l'acabament prematur de la proliferació en els animals hipertiroïdes (Nicholson i Altman 1972b). L'hipertiroïdisme també accelera el procés de *mielinització* (Figueiredo i altres 1993, Bhat i altres 1981, Walters i Morell 1981). Però l'hipertiroïdisme també comporta dèficits en aquesta mielinització per l'alteració de la mitosi, la migració i la diferenciació de les cèl·lules glials (Pelton i altres 1973, Walters i Morell 1981).

S'ha assenyalat el **control de la síntesi proteica** com a principal via a través de la qual l'alteració de les hormones tiroïdals afectaria el teixit neural tant en el desenvolupament (Del Cerro i altres 1986, Faivre i altres 1991, Pickard i altres 1993, Chaudhury i altres 1985) com en el període adult (Yiannakouris i Valcana 1994). Les hormones tiroïdals controlarien la síntesi proteica regulant la transcripció d'mRNA específics (Muñoz i altres 1991), augmentant el transport d'aminoàcids dins del cervell (Daniel i altres 1975, Pickard i altres 1987, Geel i altres 1967), afectant la síntesi dels ribosomes (Sokoloff 1977, Yiannakouris i Valcana 1994) o alterant l'estabilitat de l'mRNA (Núñez 1988, Diamond i Goodman 1985).

Alguns dels gens regulats per l'hormona tiroïdal presenten un **control específic regional**. Així, per exemple, el gen RC3/neurogranin, que codifica una quinasa C és sensible a l'acció de T3 en algunes regions (capa VI de l'escorça, còrtex retrosplenial, caudat, capa granular de l'HPC) però en altres

seria insensibles (capa II i III de l'escorça, capa piramidal de l'HPC, nucli habenular, amígdala i nucli geniculat medial). Altres com els que codifiquen el receptor de *trkA*, el que codifica la α -tubulina, NGF, NT-3, NCAM, etc. gens també presentarien una regulació diferencial en funció de la regió. (Bernal i Guadaño-Ferraz 1998).

Així mateix, les hormones tiroïdals afectarien alguns dels mecanismes de transducció i alterarien la síntesi d'algunes de les substàncies implicades en els mecanismes dels segons missatgers, com l'RC3/Neurogranin (substrat de la proteïna quinasa C) (Iñiguez i altres 1992 1996, Muñoz i altres 1991, Guadaño-Ferraz i altres 1997) o com la calbindin- D_{28k} (proteïna lligadora de calci) (Rami i altres 1989).

Les hormones tiroïdals també afecten diferents sistemes neurotransmissors. Un dels neurotransmissors més clarament afectat per les hormones tiroïdals és l'acetilcolina (Puymirat i altres 1995, Almeida i Santos 1993, Abe i altres 1992). L'hipertiroïdisme estimula l'activitat colinèrgica (Juárez de Ku i altres 1994, Oh i altres 1991, Schwegler 1995, Westlind-Danielson i altres 1991, Patel i altres 1988, Gould i Butcher 1989, Patel i altres 1980, Ben-Baruch i altres 1981), de manera dosi dependent (Hefti i altres 1986), mentre que l'hipotiroïdisme la deprimeix (Chacon i altres 1986, Juárez de ku i altres 1994, Oh i altres 1991, Gould i Butcher 1989, Kalaria i Prince 1985). Aquests efectes persisteixen en la vida adulta malgrat que els nivells normals d'hormones s'hagin recuperat (Patel i altres 1987).

Un efecte similar s'observa sobre les catecolamines. L'hipotiroïdisme neonatal i adult disminuiria l'activitat de la dopamina (Kalaria i Prince 1986,

Vaccari i Timiras 1981, Rastogi i Singhal 1979, Dupont i altres 1981, Vaccari i altres 1983), i la noradrenalina (Rastogi i Singhal 1979, Emlen i altres 1972, Smith i altres 1980), mentre que l'*hipertiroïdisme* incrementaria l'activitat dopaminèrgica (Puymirat i altres 1983, Rastogi i Singhal 1976) i noradrenèrgica (Puymirat 1985, Rastogi i Singhal 1976).

L'hormona tiroïdal també es mostra necessària per al desenvolupament del sistema *serotoninèrgic* (Savard i altres 1984, Rastogi i Singhal 1974, Rastogi i Singhal 1976), però no sembla afectar-lo mes enllà dels primers 20 dies després del naixement (Rastogi i Singhal 1974). Així mateix sembla que regula l'activitat del receptor del GABA (Sandrini i altres 1990, 1992, Martin i altres 1996, Abe i altres 1992) i s'ha proposat que les hormones tiroïdals podrien actuar com a neurotransmissors o neuromoduladors, actuant sobre el receptor GABA_A (Martin i altres 1996). Finalment, també s'han observat efectes de l'hormona tiroïdal en l'adenosina (Mazurkiewicz i Saggeron 1989, Fideu i altres 1994) i el glutamat (Abe i altres 1992).

Molts dels efectes del distiroïdisme observats durant el desenvolupament podrien estar mediat per l'**hormona del creixement**, ja que s'ha comprovat que l'hormona tiroïdal regularia la GH (Rosseau i altres 1987, Koenig i altres 1987, Rodríguez-García i altres 1995, Casanova i altres 1985, Tam i altres 1996). L'*hipotiroïdisme* neonatal s'associa amb una disminució dels nivells de GH i l'*hipertiroïdisme* amb un increment d'aquests (Morreale de Escobar i altres 1993, Jones i altres 1990, Williams i altres 1985, Kikuyama i altres 1974). Aquests efectes no són exclusius dels períodes primerencs sinó que també s'han observat en l'etapa adulta en humans (Velardo i altres 1993). S'ha

indicat que l'efecte estimulador de l'hormona tiroïdal sobre la GH només es produiria en presència de glucocorticoides (Nogami i altres 1995).

L'hormona tiroïdal ha estat implicada en el *feedback* de la corticosterona sobre l'eix adrenal (Shi i altres 1994, Meaney i altres 1987, Ceccatelli i altres 1992). Les hormones tiroïdals mediarrien la concentració de receptors per glucocorticoides a l'hipocamp i, a més, els efectes de l'estimulació ambiental en el desenvolupament del sistema adrenocortical.

L'augment d'hormona tiroïdal circulant seria, almenys en part, el mecanisme pel qual l'estimulació neonatal com el *handling* altera el desenvolupament de la resposta a l'estrès (Meaney i altres 1987). Leers i altres (1994) assenyalen que hi hauria sinèrgia entre els receptors tiroïdals i glucocorticoides.

Cal afegir que l'hormona tiroïdal influiria sobre molts altres pèptids presents a l'SNC, com el VIP (Lorenzo i altres 1992), la prolactina (Yang i Pan 1994), la somatostatina, (Lorenzo i altres 1995, Berelowitz i altres 1980, De los Frailes i altres 1988, Peterfreund i altres 1985, Kato i altres 1982), les dinorfines (Morley i altres 1982) i β -endorfines (Kato i altres 1982).

4. HIPOCAMP

4.1. Anatomia

La formació hipocampal dels rosegadors, igual que en l'home, té la típica forma en C però es troba situada més dorsalment que en el cas dels humans. Aquesta estructura presenta diferències segons el sexe (Parducz i Garcia-Segura 1993).

La formació hipocampal comprèn la circumvolució dentada o gir dentat, l'hipocamp pròpiament dit i el complex subicular (subículum, presubículum i parasubículum). Aquests tres components s'organitzen com a franges que s'han plegat en l'ontogènesi les unes sobre les altres i que en conjunt formarien un cilindre que es desplaça rostrocaudalment.

En la zona superficial s'observa l'alveus, que són els axons eferents mielinitzats de l'hipocamp i del subículum que recorren la superfície i es reuneixen a la fimbria per abandonar la formació hipocampal pel fòrnix, estructura que projecta a estructures subcorticals, diencefàliques i telencefàliques.

Molt propera a la formació hipocampal es troba l'escorça entorrinal. L'escorça entorrinal constitueix l'aferència principal de la formació hipocampal i es troba situada a l'adjacent circumvolució parahipocampal. L'escorça entorrinal forma part de l'escorça d'associació límbica i recull informació d'altres parts de l'escorça d'associació límbica així com d'altres àrees associatives.

4.2. Citoarquitectura

La formació hipocampal és arquicortex i té tres capes principals: la capa molecular, la capa piramidal (hipocamp i subículum) o granular (circumvolució dentada) i la capa polimòrfica. A la capa molecular es troben les dendrites apicals, a la capa granular hi ha les neurones granulars de la circumvolució dentada, a la piramidal, les neurones piramidals de l'hipocamp i del subículum, i a la capa polimòrfica hi ha interneurons.

En els estudis histològics de l'hipocamp sovint s'utilitza la classificació per estrats: l'estrat piramidal, on les neurones piramidals tenen els seus cossos neuronals; els arbres apicals de les quals travessen l'estrat lúcid i radial (successivament), projectant les seves dendrites més distals a l'estrat lacunosum-moleculare; els arbres basals travessen l'estrat oriens i formen l'alveus que és la capa blanca que s'observa a la superfície.

L'hipocamp té tres divisions arquitectòniques o camps neuronals, que s'anomenen CA (cornus amonis). Els tres camps de l'hipocamp es diferencien per tenir unes neurones piramidals de mida mitjana molt empaquetades a la zona més distal de la circumvolució dentada (camp CA1), altres de més grans i menys empaquetades al camp CA2 (consecutiu a CA1) i el camp CA3 (més proper al gir dentat) presenta neurones piramidals grans amb les característiques espines *thorny* (espines grans que s'aglomeren formant raïms sobre les quals sinapten les fibres molsoses). Entre el camp CA3 i la circumvolució dentada hi ha l'hilus o el camp CA4, que és una capa polimòrfica situada entre les fulles de l'estrat granulós suprapiramidal (extrem de la circumvolució dentada que queda a la cara interna de l'hipocamp proper

als arbres apicals de les piramidals CA3) i infrapiramidal (extrem que queda a la part externa proper als arbres basals de les piramidals CA3). L'hilus dona cabuda a una ampla varietat de tipus neuronals: neurones piramidals, cèl·lules molsoses i moltes interneurones, la majoria de les quals són inhibidores i contenen GABA, encara que també hi ha altres neurotransmissors com la somatostatina, el VIP, la substància P, encefalines i CCK.

4.3. Connexions principals

4.3.1. Connexions intrínseques

El circuit unidireccional simple és una cadena de processament que és conegut amb el nom de circuit trisinàptic. Les neurones piramidals de l'escorça entorrinal envien els axons a la circumvolució dentada on sinapten amb les cèl·lules granulars. Els axons d'aquestes, les anomenades fibres molsoses, sinapten amb les neurones piramidals del camp CA3 amb les quals formen contactes multisinàptics amb sinapsis *en passant* sobre les espines *thorny* de les dendrites proximals situades a l'estrat lúcid, just sobre la capa piramidal (feix suprapiramidal) o l'arbre basal (feix infrapiramidal). Les neurones de la regió CA3 al seu torn envien col·laterals dels seus axons (col·laterals de Schaffer) a les neurones piramidals del camp CA1 amb les quals sinapten a l'estrat radial i oriens. Tant les cèl·lules piramidals de CA3 com de CA1 activen interneurones inhibidores que inhibeixen neurones piramidals i d'altres interneurones. El subículum rep les projeccions de CA1 i les retorna a l'escorça entorrinal.

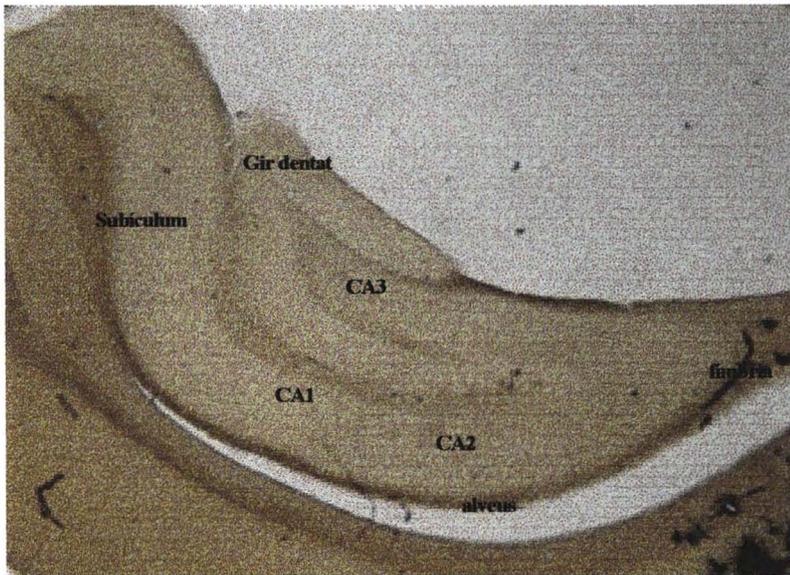


Fig. 4.2.1. Hipocamp anterior: camps neuronals

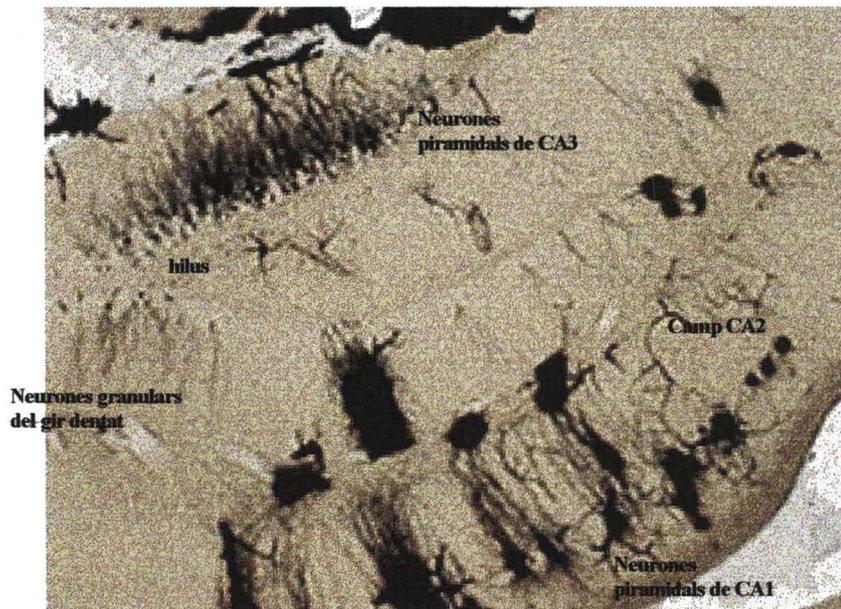


Fig. 4.2.2. Hipocamp anterior: cèl.lules granulars i piramidals de l'HPC

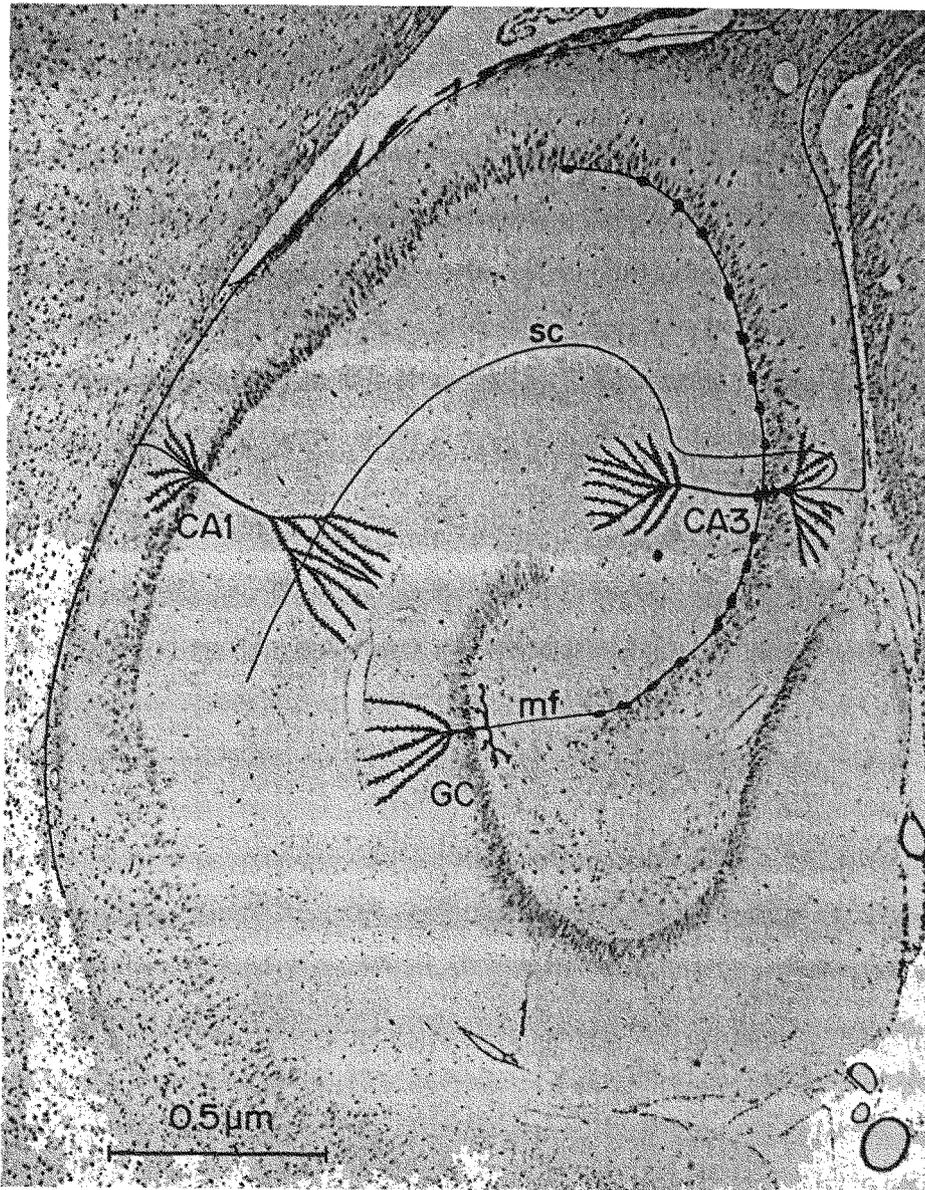


Fig. 4.3.1. Circuit trisinàptic (extret de Bayer 1985)

A més del circuit unidireccional hi ha **circuits associatius**. Una d'aquestes vies associatives es localitzaria en la circumvolució dentada i l'hilus. Les fibres molsoses de les cèl·lules granulars envien col·laterals a la capa polimorfa de la circumvolució dentada, on hi ha diversos tipus neuronals que formen vies associacionals al llarg de l'eix longitudinal. Les fibres molsoses sinapten principalment amb les cèl·lules molsoses, que alhora contacten amb altres interneurons de l'hilus i amb les cèl·lules granulars. Una altra via associacional es localitzaria a CA3. Els axons de les neurones piramidals de CA3 envien col·laterals a altres neurones piramidals de CA3, i formen el feix d'associació longitudinal.

Andersen i altres (1971) van hipotetitzar que el **flux informatiu** a través de la formació hipocampal seguiria l'eix transversal conformant així petites unitats laminars, funcionalment independents. Aquesta proposta d'organització funcional que va ser anomenada *hipòtesi laminar* és coherent amb l'organització de les connexions de les cèl·lules granulars amb les piramidals de CA3 a través de les fibres molsoses. Però els treballs posteriors van mostrar que les altres connexions de la formació hipocampal tenien una organització tridimensional més complexa (Amaral i Witter 1989): En el gradient longitudinal les projeccions de CA3 al camp CA1 de la zona septal acaben a la zona profunda de l'estrat radial o a l'oriens, mentre que a la zona temporal les projeccions acaben a la zona superficial del radiatum. En el gradient transversal, les neurones piramidals de CA3 més distals a la circumvolució dentada (i més properes al camp CA1) projecten preferencialment a zones de CA1 progressivament més pròximes a CA3 i més profundes de l'estrat radial (i també a l'oriens), i en el gradient longitudinal les

neurones piramidals del camp CA3 més pròximes a CA1 projecten més en direcció temporal i les més properes a la circumvolució dentada en direcció septal. Així, Finnerty i Jefferys (1993) observen les màximes respostes de la regió CA1 septal a l'estimulació de la regió CA3 caudal, i de CA1 temporal a CA3 rostral i que les projeccions de CA3 ipsilaterals i contralaterals finalitzen a la mateixa zona de CA1.

D'altra banda, a través de les fibres comisurals ambdues regions projecten a la regió homotòpica contralateral, i addicionalment CA3 envia fibres a la regió CA1 (radial i oriens) i a la circumvolució dentada contralaterals. Les espines localitzades en els dos terços proximals de les dendrites de les neurones piramidals de CA1 reben sinapsis excitatòries de l'hipocamp ipsilateral i contralateral mentre que les espines distals reben sinapsis excitatòries de l'escorça entorrinal (Harris i Kater 1994).

A part del circuit trisinàptic, els camps CA1, CA3 i el subículum reben informació de l'escorça entorrinal per vies monosinàptiques, i al seu torn l'escorça entorrinal rep projeccions de les neurones piramidals de CA1, del presubículum i parasubículum i del subículum (Amaral i Witter 1989). Hi ha autors que qüestionen que la via trisinàptica sigui la principal i apunten que la clau podria ser la monosinàptica (Soltesz i Jones 1995), mentre que d'altres apunten que la cooperació entre les projeccions directes de l'escorça entorrinal a CA1 i les provinents de CA3 serveix per preservar l'especificitat topogràfica de les representacions entorrinals perquè la descàrrega de les neurones piramidals de CA1 dependria de l'excitació convergent dels *inputs* de les col·laterals de Schaffer i dels *inputs* directes de l'escorça entorrinal a CA1 (Buzsáki i altres 1995). Sobre el caràcter excitatori o inhibitori

d'aquestes vies sinàptiques hi ha controvèrsia. Probablement els resultats diversos siguin produïts perquè aquestes projeccions no solament sinapten amb les neurones piramidals sinó que també amb les interneurones inhibidores d'aquestes regions (Soltesz i Jones 1995). En aquest sentit, Empson i Heinemann (1995) i Soltesz (1995) assenyalen que a la regió CA1 el resultat final de l'activació entorrinal per la via directa és inhibitori. Les neurones piramidals CA1 estarien fortament inhibides per les interneurones gabaèrgiques de l'estrat lacunosum-moleculare activades per les corticals aferents.

Les connexions excitatòries del circuit trisinàptic estarien mediades principalment per glutamat i potser per aspartat i actuarien en els receptors glutamatèrgics. L'acetilcolina està present a la meitat de les fibres septohipocampals i en algunes poques interneurones intrínseques. La projecció colinèrgica és molt àmplia, com ho mostra el fet que les terminals colinèrgiques s'observen a totes les capes de l'hipocamp (Frotscher, Zafirov i Heimrich 1995). Entre els neuropèptids presents a l'hipocamp, l'oxitocina, la vasopressina, el neuropèptid Y i el VIP exciten les cèl·lules piramidals. Altres transmissors d'aquest sistema són les encefalines, l'angiotensina II, la noradrenalina (que tindrien un efecte excitador indirecte perquè inhibeixen les interneurones inhibidores) i la somatostatina (que actuaria com a neuromodulador, intensificant els efectes excitatoris de l'acetilcolina i la glicina al receptor NMDA).

La inhibició és molt forta a l'hipocamp. El circuit inhibitori més important el constitueixen les interneurones inhibidores, que són activades per les branques col·laterals dels axons de les cèl·lules principals. Les interneurones més

importants d'aquest circuit són les cèl·lules en cistella, els axons de les quals embolcallen el soma de les piramidals. Aquest circuit controla fortament l'activitat de les neurones piramidals. L'altre circuit inhibitori de l'hipocamp el constituïrien aquelles interneurons que reben *inputs* excitatoris directes i aleshores inhibeixen les cèl·lules granulars o piramidals. El neurotransmissor inhibitori més important de l'hipocamp és el GABA, encara que també la somatostatina, la serotonina i la histamina hi tindrien un paper destacat (Knowles 1992).

4.3.2. Connexions extrínseques

L'hipocamp rep múltiples aferències corticals i subcorticals. En la figura 4.3.2. es poden observar de forma resumida.

Les aferències que reben les cèl·lules piramidals de manera directa són les provinents de les cèl·lules granulars (circuit trisinàptic), les provinents directament de l'escorça entorrinal (vies monosinàptiques) abans comentades, les provinents del còrtex piriforme, del nucli del rafe, del locus coeruleus, de la banda septal diagonal i del nucli reuniens. Sembla ser que també podrien rebre aferències directes del subículum (Bayer 1985).

Algunes d'aquestes aferents es projecten de forma difusa al llarg de tota les neurones de CA1 i CA3 (nucli del rafe, locus coeruleus, banda septal diagonal), d'altres projecten específicament a l'estrat lacunosum-moleculare de les neurones del camp CA1 (que es correspon a la part distal de les dendrites apicals) (nucli reuniens, còrtex piriforme i còrtex entorrinal) i d'altres

projecten selectivament sobre l'estrat lucidum (zona de l'arbre apical més propera al soma) de les neurones del camp CA3 (cèl·lules granulars).

De manera indirecta, a través del subículum, rep informació de l'escorça prefrontal dorsolateral i a través de l'escorça entorrinal rep informació de rafe dorsal, nucli reticular tegmental, locus coeruleus, àrea tegmental ventral, nuclis magnocel·lular i supramamilar de l'hipotàlem, nuclis reuniens i anterior del tàlem, septum medial, amígdala, bulb olfactori, còrtex piriforme, escorça temporal, CA3, CA1, subículum i presubículum.

Els *inputs* corticals aporten informació que ja ha estat processada i els subcorticals afectarien al *background* o modus d'activitat amb neurotransmissors que tenen un efecte més lent i tònic que els aminoàcids excitatoris: les aferències septals contenen acetilcolina i GABA (les fibres septohipocampals gabaèrgiques projecten selectivament a les interneurones gabaèrgiques), les projeccions del locus coeruleus són noradrenèrgiques i les del rafe serotoninèrgiques (Knowles 1992, Frotscher, Zafirov i Heimrich 1995).

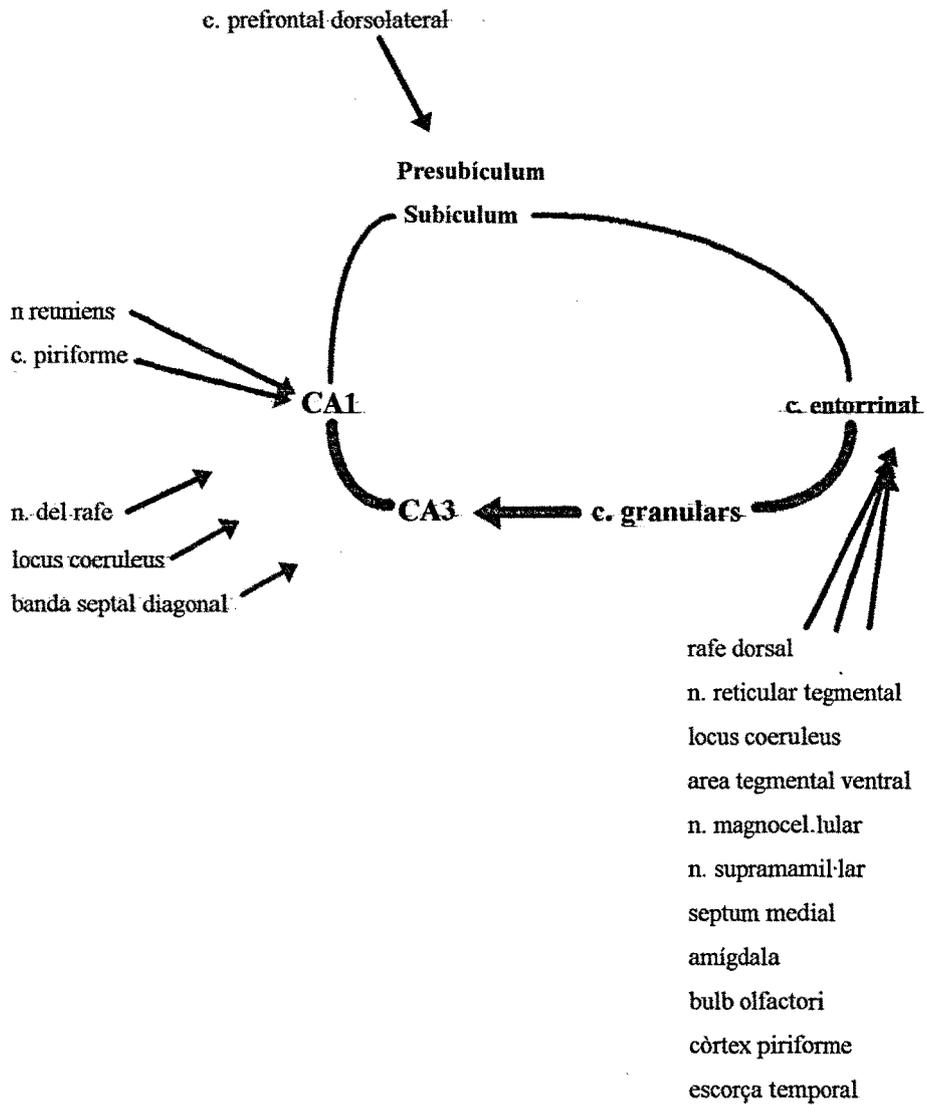


Fig. 4.3.2. Principals aferències extrínseques i intrínseques de l'hipocamp.

La principal projecció eferent de l'hipocamp és el nucli septal lateral: a l'hipocamp dorsal, les neurones piramidals de CA1 projecten ipsilateralment i les CA3 projecten bilateralment a les àrees dorsomedials del nucli septal lateral, mentre que les projeccions de l'hipocamp ventral acaben a la zona més lateroventral del nucli septal lateral. Els axons de la regió CA1 també acaben al bulb olfactori, al nucli olfactori anterior, al cos callós, l'amígdala i l'hipotàlem. Dins de la formació hipocampal, CA1 envia una densa projecció al subículum i a l'escorça entorrinal. A través de l'escorça entorrinal i el subículum hi ha una via indirecta de l'hipocamp cap a àrees temporals, sensorials i també a l'amígdala, tàlem i cossos mamil·lars (Bayer 1985, Knowles 1992).

4.4. Aspectes funcionals

L'hipocamp ha estat una de les estructures cerebrals més estudiades en les últimes dècades i s'han proposat moltes teories sobre la seva funció basant-se majoritàriament en estudis lesionals, però cap d'aquestes teories ha estat suficientment concloent, i pel que fa a la funció de l'hipocamp en la conducta, en bona part, encara continua sent un misteri.

Les primeres hipòtesis sobre la funció hipocampal les van proposar els anatomistes, que argumentaven que l'hipocamp havia de ser un centre olfatiu. Pápez va observar en els estudis *postmortem* de malalts psiquiàtrics que molts d'aquests presentaven canvis degeneratius a estructures com l'hipocamp, els cossos mamil·lars, el tàlem i l'escorça límbica. Això el va portar a proposar el 1937 l'existència d'un circuit anatómic per a l'emoció.

Dins d'aquest circuit es considerava que donada la seva situació i les connexions al sistema límbic, l'hipocamp seria necessari per a la integració de funcions autonòmiques i emocionals.

Posteriorment els estudis han mostrat que els circuits hipocampals són essencials per a la consolidació de la memòria de curt termini a llarg termini i per la memòria espacial. La relació de la formació hipocampal amb la memòria es va descobrir a partir dels famosos cas del pacient H.M.. A aquest home se li va practicar una extirpació bilateral del lòbul medial temporal l'any 1953. Després de l'operació es va observar una amnèsia anterògrada que li impedia emmagatzemar nous records. Aquest pacient podia evocar episodis anteriors a l'operació i també mantenia la memòria a curt termini o immediata, però era incapaç de emmagatzemar-la en la memòria a llarg termini, encara que no tenia greus problemes a l'hora de realitzar aprenentatges perceptuals, estímulo-resposta o motors. Els estudis posteriors van mostrar que els dèficits afectaven bàsicament la memòria declarativa i als aprenentatges relacionals.

Les teories que intenten explicar la funció de l'hipocamp són nombroses i han donat lloc a un considerable volum d'investigacions que exploren la seva validesa. No s'ha generat una teoria unitària que pugui explicar la implicació de l'hipocamp en la conducta. Moltes de les teories proposades no són mutuament excloents i sovint comparteixen aspectes comuns. Algunes d'aquestes teories incideixen predominantment en els mecanismes atencional, d'altres en els mecanismes d'inhibició i un altre gran grup en el processament, emmagatzemament i recuperació de la informació. Però les nombroses dades que s'han generat per intentar refutar aquestes teories no han arribat a conclusions contundents. *"Sembla que més que una funció psicològica*

unitària l'hipocamp seria un sistema computacional" (Schmajuk, N.A. 1984).

4.4.1. Hipocamp: activitat, exploració, novetat i habituació

Els treballs experimentals assenyalen una clara implicació de l'hipocamp en l'activitat. Sams-Dodd, Lipska i Weinberger (1997) han comprovat que la lesió neonatal de l'hipocamp ventral produeix una hiperlocomoció després de la pubertat, però no abans. En altres treballs també s'ha observat la hiperactivitat després de lesionar l'hipocamp (Jarrard 1968, O'keefe i Nadel 1978) o la fimbria i el fòrnix (Whishaw i altres 1994). Atès que l'acció dels agonistes dopaminèrgics es veu augmentada després de la lesió hipocampal, sembla que aquesta hiperactivitat podria estar mediada per alteracions en els receptors dopaminèrgics del nucli acumbens induïdes per la lesió de l'hipocamp (Mittleman i altres 1993). També l'acetilcolina podria estar implicada en aquesta hiperactivitat, ja que l'administració d'agonistes colinèrgics a la circumvolució dentada provoca un augment de la locomoció (Flicker i Geyer 1982, Mogenson i Nielsen 1984a, 1984b, Zheng i altres 1983).

A aquestes dades cal afegir les dades que mostren que l'hipocamp estaria implicat en el control de les conductes exploratòries. Wimer i altres (1983) observen que la densitat de cèl.lules granulars a la porció rostral es correlaciona negativament amb la latència d'exploració al camp obert. També s'ha observat que l'exploració incrementa els potencials postsinàptics a la circumvolució dentada (Moser i altres 1993). Alguns autors apunten que la

mida de les fibres molsoses intrapiramidals i infrapiramidals es correlaciona amb l'exploració i l'habitució. Crusio i altres (1993) assenyalen que la mida es correlaciona negativament amb l'exploració al camp obert (Crusio i altres 1989b) i positivament amb l'habitució (Crusio i Schwegler 1987).

L'adaptació al canvi sembla ser especialment sensible a la integritat de l'hipocamp. Terri i Oakley (1990) observen dèficits en una tasca que requereix un canvi de resposta (empènyer/estirar) quan l'hipocamp està lesionat. D'altra banda, Rouillet i Lassalle (1993) observen que els ratolins amb fibres molsoses suprapiramidals grans tendeixen a tenir una estratègia d'exploració rígida i tenen dificultat per inhibir la resposta apresada a una tasca de reversió, mentre que els ratolins amb grans fibres intrapiramidals i infrapiramidals tindrien una major habilitat per adaptar-se a situacions que impliquen novetat.

Algunes d'aquestes dades estarien en la línia de les primeres teories sobre la funció hipocampal. Basant-se en els primers treballs que indicaven que l'animal hipocampectomitzat era un animal perseverant, poc flexible i amb poca habituació als estímuls, les primeres teories van concebre que l'hipocamp més que iniciar respostes les interrompia (Douglas 1966). Però com s'ha assenyalat a l'inici d'aquest apartat aquestes teories tot i que sovint es solapaven, quedaven molt lluny d'oferir un cos teòric coincident i cohesionat.

Algunes d'aquestes teories es centren directament en els mecanismes d'inhibició. L'hipocamp suprimiria conductes quan les expectatives sobre l'ambient no fossin confirmades (Isaacson 1972), frenaria les respostes en

animals activats (Altman, Brummer i Bayer 1973), inhibiria respostes no reforçades mentre l'animal determina la millor estratègia conductual a seguir en circumstàncies canviants (Gray i altres 1978), compararia els estímuls actuals amb els esperats i quan no hi hagués coincidència o es prevegés un estímulo aversiu aleshores inhibiria la conducta i augmentaria l'atenció (Gray 1982).

Altres teories incideixen predominantment en els mecanismes de l'atenció. Dins d'aquestes teories s'ha hipotetitzat que l'hipocamp inhibiria la resposta d'orientació a estímuls no significatius (Grastyan i altres 1959), que inhibiria la recepció d'estímuls que han estat associats amb el no-reforçament (Douglas i Pribam 1966), que intervindria en els processos cerebrals que generen la inhibició interna (Kimble 1968), que calcularia la probabilitat de reforçament d'una conducta consumatòria (Pribam i Isaacson 1975) o que participaria en la formació d'un *mapa temporal* que enregistraria la seqüència temporal dels esdeveniments eliminant els estímuls irrellevants (Solomon 1979, Moore 1979, Moore i Steckney 1980).

4.4.2. Hipocamp: ansietat, emotivitat i resposta a l'estrès

Moltes han estat les estructures neurals implicades en l'ansietat. Gray (1981, 1982) basant-se en la coincidència dels efectes conductuals dels fàrmacs ansiolítics amb les lesions de septum i hipocamp, va suggerir que en aquestes estructures i les seves aferències des del locus coeruleus i els nuclis del rafe estarien les bases neuropsicològiques de l'ansietat. Així, per aquest autor (Gray 1981, 1982, 1985), l'ansietat seria conseqüència d'un estat central

provocat per senyals de càstig o d'absència de recompensa, estímuls nous i estímuls innats de por. Aquests estímuls activarien un *sistema d'inhibició conductual* que comportaria inhibició conductual i increment en l'atenció i l'activació (*arousal*). L'activitat d'aquest sistema d'inhibició conductual seria la responsable de l'ansietat (Gray 1981). En la mateixa línia McNaughton (1997) assenyala que l'ansietat podria resultar de la hiperactivitat del sistema septohipocampal, que provocaria l'augment d'associacions negatives d'estímuls amb el consegüent augment de l'ansietat quan l'estímul es torna a presentar. Per Gray, la localització anatòmica d'aquest sistema d'inhibició conductual estaria en el sistema límbic, i inclouria el sistema septohipocàmpic i les seves connexions. Les dues principals connexions implicades, segons Gray, serien les aferències noradrenèrgiques provinents del locus coeruleus i les aferències serotoninèrgiques provinents dels nuclis del rafe. Així, per aquest autor, les substàncies ansiolítiques actuarien reduint l'activitat noradrenèrgica i serotoninèrgica adreçada al sistema septohipocampal. Aquest sistema podria actuar de dues maneres. En primer lloc, si l'estímul actual és igual a l'estímul esperat, actuaria com un sistema de *xequig* que no afectaria la conducta, la qual seria controlada per altres sistemes cerebrals. Però si no s'observa coincidència entre l'estímul actual i l'esperat o l'estímul predit és de tipus aversiu, el sistema passa a operar en mode *control* agafant el control directe de la conducta i activant les tres respostes abans esmentades. Gray (1987) ha especificat de manera més concreta les funcions de les diferents parts del sistema septo-hipocampal. Així, en el subículum es trobaria la funció de comparador principal i des d'aquest punt s'iniciaria l'activitat dels circuits responsables de la generació de prediccions. La informació de l'estat actual de l'entorn arribaria al subículum a través de projeccions directes des de l'àrea entorrinal. No obstant això, aquesta informació només es transmetria

si al subículum arriba una senyal *capacitant* des del circuit hipocampal. Aquest senyal sembla dependre d'una *barrera* localitzada a la connexió entre les cèl·lules granulars de la circumvolució dentada i l'àrea CA3. Aquesta barrera s'obriria si, prèviament a l'arribada d'estimulació a través de la via perforant, l'animal es troba davant d'un estímul biològicament important (Segal 1977). Aquest estímul podria actuar a través de l'activació de fibres noradrenèrgiques del feix dorsal, provinents del locus coeruleus, que actuarien sobre el sistema septohipocampal. Un sistema similar implicaria les fibres serotoninèrgiques provinents dels nuclis del rafe. Aquestes fibres innerven de forma difusa el sistema septo-hipocampal. Això no obstant, els mecanismes i la direcció d'aquesta interrelació resulten en part contradictoris i confusos. Sembla que aquesta confusió podria ser explicada per l'existència de diferents subsistemes farmacològics i anatòmics (Guimaraes i altres 1993).

Andrews i altres (1997) ha trobat evidències que la via serotoninèrgica del rafe mitjà a l'hipocamp dorsal estaria involucrada en l'ansietat que es produeix quan es deixa de consumir diazepam. L'increment de l'activitat serotoninèrgica augmentaria l'ansietat i de forma paral·lela l'exposició a situacions ansiògenes augmenta l'activitat serotoninèrgica: File i González (1996) observen que la injecció d'un agonista serotoninèrgic (8-OH-DPAT) a l'hipocamp ventral augmenta el nombre d'entrades als braços tancats del laberint elevat (Plus-maze) mentre que un antagonista (tertatolol) augmenta el temps de permanència als braços oberts. Quan l'agonista s'administrava al rafe dorsal (que inerva l'hipocamp ventral) s'incrementava la permanència als braços oberts. En un altre treball, File i altres (1993) havien observat que l'exposició al test del laberint elevat o al test d'interacció social augmenta l'activitat serotoninèrgica a l'hipocamp.

Els estudis experimentals confirmen la mediació del sistema serotoninèrgic en els efectes conductuals de l'estrès i assenyalen que els receptors 5-HT_{1A} podrien deteriorar el processament de les informacions relacionades amb l'estrès a l'hipocamp, i permetrien a l'animal tenir més tolerància a l'estimulació aversiva crònica. L'adaptació a l'estrès requeriria la potenciació de la funció dels receptors 5-HT_{1A} (Guimaraes i altres 1993). El rafe mitjà que innerva l'hipocamp és ric en receptors 5-HT_{1A}. Mendelson i McEwen (1991) van observar que l'estrès induït per la immobilització augmenta el nombre de receptors 5-HT_{1A} a l'hipocamp. I la disminució de les entrades i temps als braços oberts del plus-maze després d'un període d'estrès és revertit per l'administració d'agonistes serotoninèrgics (Guimaraes i altres 1993).

Com a resposta als estímuls estressants es produeixen diferents adaptacions hormonals que afectaran el funcionament de regions específiques del sistema nerviós. Entre les diferents respostes hormonals, una de les que ha estat estudiada de manera més acurada és l'activació del sistema hipotalamohipofisoadrenal. Una de les estructures més directament implicades en el control d'aquesta resposta és l'hipocamp. En aquesta estructura es troba una gran quantitat de receptors per glucocorticoides. S'han descrit dos tipus de receptors per corticoides, els anomenats receptors tipus I o receptor mineralocorticoide, que s'uneix amb glucocorticoides endògens com la corticosterona i mineralocorticoides com l'aldosterona, i receptors tipus II o receptor glucocorticoide que s'uneix preferentment amb la corticosterona i la dexametasona. Aquests dos receptors difereixen també pel grau d'afinitat. Mentre que els receptors per als mineralocorticoides presenten una elevada afinitat, els receptors per glucocorticoides presenten baixa afinitat. Aquest fet implica que en situacions basals els receptors per mineralocorticoides es

trobin gairebé saturats per la corticosterona, mentre que els receptors de glucocorticoides necessitin de nivells més elevats com els que es troben en el pic circadiari o en situacions d'estrès. Aquests receptors han estat implicats en el control inhibitori de l'eix adrenal. La destrucció de l'hipocamp, per exemple, comporta una hipersecreció de glucocorticoides tant en situació basal com en resposta a l'estrès. Així, un augment en el nombre de receptors per a glucocorticoides en l'hipocamp produeix un augment en l'eficàcia dels mecanismes de retroalimentació negativa de l'activitat de l'eix hipotalamohipofisioadrenal que comporta una reducció de la secreció de les hormones d'aquest eix davant de situacions estressants. Mitjançant aquest mecanisme obtindríem un augment en la resistència a l'estrès. Diversos treballs experimentals han mostrat que és possible incrementar aquesta resistència a l'estrès mitjançant l'estimulació postnatal. L'ontogènia de l'eix hipotalamopituitarioadrenal presenta un patró de desenvolupament característic. Durant els darrers dies de la gestació i immediatament després del naixement, els nivells basals de corticosterona disminueixen però resten encara alts. No obstant això, durant els dos primers dies aquests nivells disminueixen d'una manera dramàtica i resten baixos fins aproximadament el dia 14. Durant aquesta fase, entre els dies 4 i 14 en el cas de la rata, l'eix es caracteritza per la incapacitat de produir activació de l'eix, donant lloc al que es coneix com a *període hiporesponsiu d'estrès*. Considerant els greus efectes que es produeixen per l'administració perinatal de glucocorticoides cal pensar que aquest període té una finalitat protectora. Treballs recents han mostrat que la conducta materna exerceix una important influència en el manteniment d'aquest període. Diversos estudis han mostrat que és possible incrementar la resistència a l'estrès mitjançant l'estimulació postnatal, la qual no solament produiria una resistència a l'estrès sinó que també produeix una reducció en

l'emotivitat/reactivitat emocional davant les situacions de novetat i un increment en l'activitat exploratòria. Meaney i altres (1985) han descrit que la manipulació postnatal consistent (*handling*) produeix un important increment en el nombre de receptors per glucocorticòides presents en el cervell de la rata adulta. L'augment de la densitat de receptors es trobaria a l'hipocamp i a l'escorça frontal. D'altra banda, en el procés d'envelliment (Sapolski i altres 1985) i en trastorns psicopatològics com la depressió s'han observat anormalitats en la resposta a l'estrès, les quals comportaran una fallada en els mecanismes de retroalimentació i, per tant, una resposta incrementada de glucocorticoides.

L'exposició a l'excés de glucocorticoides per estrès o per injecció causa l'atròfia de les dendrites apicals (però no les basals) de les neurones piramidals de CA3 (Watanabe i altres 1992, Magariños i McEwen 1995a) fins a reduir-ne el nombre (Sapolsky i altres 1985, Uno i altres 1989); efecte que és mimetitzat per l'administració de corticosterona (Woolley i altres 1990). El bloqueig de la resposta de la corticosterona a l'estrès prevé l'atròfia hipocampal (Magariños i McEwen 1995b). De forma similar el bloqueig de l'acció dels aminoàcids excitatoris (Watanabe i altres 1992, Magariños i altres 1996) o dels receptors NMDA (Magariños i McEwen 1995b) bloqueja l'atròfia de CA3 induïda per estrès o per corticosterona. Això suggereix la sinèrgia entre els glucocorticoides i els aminoàcids excitatoris en l'atròfia de les neurones piramidals de CA3. De fet, la lesió de l'escorça entorrinal, que envia projeccions glutamatèrgiques a les dendrites distals de les neurones piramidals de CA3, reduiria en un 70% l'atròfia induïda per l'estrès (Sunanda i altres 1997), cosa que indicaria que altres projeccions també podrien intervenir en l'atròfia. DeMontigny i altres (1987) van comprovar que

l'administració intraventricular d'àcid caínic destruïa les neurones de CA3 i que aquesta destrucció no es produïa quan seccionaven les projeccions de les fibres molsoses. La possible implicació dels aminoàcids excitatoris de les terminals de les fibres molsoses en els efectes de l'estrès es veu reforçada per l'observació realitzada per Magariños i altres (1997) que les vesícules estaven més densament empaquetades i més properes a les zones actives després de l'estrès. En consonància, Krugers i altres (1993) comproven que una única exposició a estrès social produïa un augment del *binding* amb els receptors NMDA i una disminució amb els receptors AMPA a la regió CA3, però no a CA1. D'altra banda, Chao i altres (1993) troben que els mascles subordinats tenen una menor expressió dels receptors de glucocorticoides, mineralocorticoides i GAP-43 a CA1, però no a les altres regions hipocampals.

Paral·lelament a l'atròfia de les dendrites de les neurones piramidals de CA3, l'estrès crònic provocaria un augment de les espines dendrítiques dels arbres apicals i basals en les neurones piramidals de CA3. Aquest augment d'espines es pot interpretar com un mecanisme de compensació per la pèrdua d'extensió de les dendrites o com un augment de l'activitat del sistema glutamatèrgic (Sunanda i altres 1995).

S'han observat diferències sexuals en l'efecte de l'estrès a l'hipocamp. Després de 21 dies d'estrès crònic, els mascles mostren una atròfia de les dendrites apicals de CA3 i les femelles no presenten atròfia, ja que encara que disminueixi el nombre de punts d'arborització basal, l'extensió total de les dendrites basals no es veu alterada. L'increment de corticosterona en resposta a l'estrès va ser més gran en les femelles que els mascles. Aquestes també van

mostrar una reducció de l'estradiol i del pes dels ovaris en resposta a l'estrès la qual cosa indica que la interacció de l'estradiol amb els receptors NMDA podria exercir un efecte protector davant de l'estrès en les femelles (Galea i altres 1997).

Efectes similars s'han observat en humans. Pacients amb depressió tindrien nivells de corticosterona augmentats permanentment i presentarien atròfia hipocampal, la mida de la qual es correlacionaria amb la duració de la depressió. També s'ha observat atròfia hipocampal en persones que havien sofert estrès posttraumàtic o abusos durant la infantesa (Sapolsky 1996).

La innervació noradrenèrgica de l'hipocamp també intervindria en la reactivitat emocional. La lesió del sistema noradrenèrgic hipocampal impedeix la reversió per antidepressius tricíclics de la síndrome de desemparança apresada (Soubrie i altres 1987). Els animals que mostren desemparança apresada després de l'administració de xocs inescapables tenen una major densitat de receptors β a l'hipocamp (Henn i altres 1985). Petty i altres (1993) van comprovar que els animals que no desenvolupaven desemparança apresada després de l'estrès tenen nivells basals superiors de noradrenalina i la injecció prèvia de noradrenalina a l'hipocamp impedeix que es desenvolupi la desemparança apresada, però no quan aquesta ja està establerta (Sherman i Petty 1982).

McEwen (1992) va fer la hipòtesi que el deteriorament de l'aprenentatge i la memòria observada en l'envelliment seria ocasionat per l'efecte de l'alliberament de la corticosterona a l'hipocamp al llarg de la vida en les situacions d'estrès. Altres estudis han corroborat que l'atròfia induïda per

l'estrès produiria dèficits en la memòria i l'aprenentatge espacial (Luine i altres 1996, Conrad i altres 1996). Però Luine i altres (1993) no van observar que la ingestió crònica de corticosterona afectés l'aprenentatge espacial, encara que sí que van observar un augment important a llarg termini de la serotonina a la circumvolució dentada (però no a la resta de l'hipocamp) i un decrement de la serotonina i la noradrenalina a l'escorça frontal.

Els nivells de corticosterona es correlacionen inversament amb la magnitud de l'LTP (potenciació a llarg termini) (Bennett i altres 1991). En el mateix sentit anirien les observacions de Diamond i altres (1994), que van comprovar el bloqueig de la LTP en ambients nous (que per ser nous representarien un estrès lleu), bloqueig que desapareixia quan l'animal es familiaritzava amb l'entorn.

4.4.3. Hipocamp: aprenentatge i memòria

Com ja s'ha comentat després dels descobriments amb el pacient H.M., la major part de les investigacions sobre la funció de l'hipocamp es van centrar en l'aprenentatge i la memòria. Aquests treballs han originat múltiples hipòtesis i teories sobre la funció que aquesta estructura tindria en la conducta. Moltes d'aquestes hipòtesis són parcialment coincidents. Així, s'ha hipotetitzat que l'hipocamp (més concretament el ritme theta hipocampal) estaria associat amb el processament, l'emmagatzemament i la recuperació de la informació (Adey 1966), que l'hipocamp seria necessari per l'emmagatzematge de continguts de la memòria a curt termini i a la memòria de llarg termini (Smythies 1966), que aquest estaria implicat en la memòria de

reconeixement (Gaffan 1972), que intervindria en la selecció de la informació a emmagatzemar a llarg termini (Kornhuber 1973), que estaria implicat en la determinació de quina informació de la memòria és recuperada (Hirsh 1974), que intervindria en la formació del traç mnemònic (Vinogradova 1975), que seria un sistema de mapatge espacial (O'Keefe i Nadel 1978), que estaria relacionat amb la memòria de treball (Olton, Becker i Handelman 1979), que estaria implicat en l'aprenentatge cognitiu que implica processos de categorització i jerarquització (Wickelgren 1979), i que intervindria en la construcció de la representació interna de l'estímul (Myers, Gluck i Granger 1995).

Com es comentava en el paràgraf anterior, el descobriment que les lesions hipocampals produeixen amnèsia anterògrada en humans va estimular la recerca sobre el paper de l'hipocamp en l'aprenentatge. Els primers estudis van utilitzar el procediment de lesió per observar-ne els efectes sobre l'aprenentatge. Però immediatament van observar que els animals eren capaços d'aprendre la majoria de tasques. Inicialment, aquestes observacions van generar molt desconcert però posteriorment es va comprendre que les proves que s'havien administrat eren aprenentatges de resposta simple davant d'estímuls sensorials. A partir d'aquí es va començar a utilitzar altres tasques que requereixen d'aprenentatges relacionals que sí que són sensibles a la lesió de l'hipocamp (Carlson 1996).

Un dels aprenentatges més estudiats en les nombroses investigacions realitzades per comprendre la funcionalitat de l'hipocamp ha estat l'aprenentatge espacial. O'Keefe (1976) va observar que determinades neurones piramidals de CA1 i CA3 descarregaven sols quan els animals

ocupaven determinades àrees d'una plataforma. Les diferents neurones tenien diversos camps receptius espacials, cada neurona era selectiva per a un únic lloc. Aquestes neurones van rebre el nom de *cèl·lules de lloc*. El lloc no es corresponia amb una zona on hi hagués una determinada conducta significativa sinó que els camps receptius espacials es distribuïent arreu del laberint (O'Keefe and Conway 1989). Aquestes observacions van portar a hipotetitzar que l'hipocamp representa l'estructura espacial de l'ambient (O'Keefe and Nadel 1978). L'hipocamp seria un sistema de mapatge espacial necessari perquè l'animal es pugui orientar a l'espai. Whishaw i Tomie (1991) troben que els animals que havien sofert una hipocampectomia no eren capaços de nedar directament a una plataforma amagada, tasca que prèviament havien après. Els animals amb lesió hipocampal conjuntament amb l'escorça parahipocampal són incapaços d'associar llocs amb objectes (Angeli i altres 1993).

Tot i que es desconeix per què en determinades situacions unes neurones descarreguen i altres no, sí que s'ha observat que quan els animals han experimentat una situació en diferents ocasions la mateixa representació hipocampal es recupera (Wiener 1996). Aquest fet refermaria la idea que l'hipocamp podria reprocessar successivament els senyals si els *outputs* poden entrar de nou a l'hipocamp a escala de l'escorça entorrinal (Buzsáki 1989); així, les representacions serien millors a mesura que s'adquireix experiència en l'ambient (Wiener 1996). La *significança del context* seria un altre paràmetre que intervindria en els patrons de descàrrega. Les neurones alteren els seus patrons de descàrrega per representar canvis de contingències per a l'animal (Wiener 1996) o dels requeriments conductuals de la tasca malgrat l'animal estigui al mateix ambient (Wiener i altres 1989).

Els paràmetres morfològics també donen suport a la relació de l'hipocamp amb l'aprenentatge espacial. Schwegler i altres (1988) i Schöpke i altres (1991) troben una correlació positiva entre la mida de les fibres molsoses intrapiramidals i infrapiramidals (que contacten amb el cos o les dendrites basals de les neurones piramidals de CA3) i l'aprenentatge en un laberint d'aigua. La mida de les fibres molsoses es correlacionaria selectivament amb els aprenentatges espacials però no amb l'execució en laberints que no requereixen de l'aprenentatge espacial (Crusio i altres 1987, 1993, Schwegler i altres 1990). D'altra banda, l'exposició a ambients estimulants incrementa les espines de les dendrites basals, però no apicals, de les neurones piramidals de CA1 i millora l'aprenentatge espacial (Moser i altres 1994, 1997).

Els receptors NMDA serien un dels elements clau en l'aprenentatge espacial. S'ha observat que antagonistes dels receptors NMDA bloquegen la l'aprenentatge espacial i l'LTP (Morris i altres 1986, Davis i altres 1992). També la serotonina podria jugar un paper important en l'aprenentatge espacial. Richter-Levin i altres (1994) observen que la depleció de serotonina deteriora l'aprenentatge espacial al test de Morris i que l'execució es recupera si l'activitat serotoninèrgica a l'hipocamp es restableix.

Olton i els seus col·laboradors van observar que les lesions de l'hipocamp, fòrnix o de l'escorça entorrinal alteraven la capacitat per obtenir de manera eficaç el reforçament en un laberint radial de 8 braços. Els animals podien recordar si un braç era sempre reforçat o no (memòria no declarativa) però no podien recordar els braços que ja havien visitat durant la mateixa sessió. A partir d'aquests resultats, Olton (1983) va suggerir que les lesions de

l'hipocamp o de les seves connexions deterioren la memòria de treball i deixen relativament intacta la memòria de referència.

A més dels aprenentatges espacials s'han emprat altres tipus d'aprenentatges per esbrinar la funció de l'hipocamp, però sense resultats tan contundents, en bona part perquè en molts casos es tracta d'aprenentatges estímulo-resposta en els que no hi hauria aprenentatge relacional.

Whishaw i Tomie (1991) no observen cap deteriorament, en una discriminació tàctil prèviament apresada, en rates que havien sofert una hipocampoectomia; en canvi, sí que presentaven dificultats per readquirir una tasca de discriminació condicionada i en una tasca de discriminació configuracional.

Gallo i Cándido (1995) comproven que la inactivació de l'hipocamp dorsal deteriora l'aprenentatge de l'aversió al gust durant l'adquisició però no durant la retenció. D'altra banda, en el mateix tipus de condicionament, Purves i altres (1995) troben que la inhibició de la resposta d'un grup de rates amb l'hipocamp dorsal lesionat es donava amb gustos nous, però quan l'estímul havia estat presentat diverses vegades prèviament, la supressió de la resposta era inferior.

L'adquisició de condicionaments clàssics després de lesions hipocampals encara és possible (Schmaltz i Theios 1972), però els condicionaments més complexos es deterioren (Solomon i Moore 1975). Algunes sinapsis de l'hipocamp presenten LTP durant l'adquisició d'un condicionament clàssic (Weisz i altres 1984) i la inducció de LTP facilita l'adquisició d'alguns

condicionaments clàssics (Berger 1984). Schmajuk i DiCarlo (1991) intenten explicar aquests resultats proposant que l'hipocamp controlaria la motivació, l'activació i la competició entre representacions sensorials i regularia els continguts o limitaria la memòria a curt termini.

Tamura i altres (1992) observen que algunes cèl·lules de l'hipocamp s'activaven en resposta a alguns objectes tridimensionals i no a altres. Objectes que tenien un **significat emocional** perquè havien estat reforçats o castigats, causaven respostes en algunes cèl·lules però no en altres. Les cèl·lules que responien al reforç o al càstig es localitzaven al subículum, les que responien als estímuls no familiars es localitzaven a CA1 i les que responien a estímuls selectius a la circumvolució dentada.

Jarrad (1993) va observar en un **condicionament aversiu** els animals amb l'hipocamp lesionat aprenien a témer el so associat a l'estímul però no la gàbia (context) on es donava el condicionament.

En el pla morfològic, Myslivecek (1997) troba que, després d'entrenar cries de rata durant els 10 primers dies de vida en un aprenentatge d'**evitació passiva** adaptat, els animals presentaven més espines dendrítiques i més dendrites terciàries a les neurones piramidals i a la circumvolució dentada. L'augment d'espines es donava sobre tot de les *thin* mentre que el grup control tenia més espines *stubby*. En canvi Schwegler i Lipp (1981) van observar en una soca de rates caracteritzades per una **pobra evitació activa** (evitació activa de dos sentits) que tenien més terminals de les fibres molsoses en les dendrites basals de les neurones piramidals de l'hipocamp, en la regió inferior, que els animals que tenien una bona evitació activa. Aquestes dades es van confirmar en

comprovar una correlació negativa de les terminals molsoses a les dendrites basals de les piramidals amb l'execució a l'evitació activa (Schwegler i altres 1981, Lipp i altres 1989). Wimer i altres (1983) van aconseguir resultats similars en obtenir una correlació negativa entre la densitat de les cèl·lules granulars i l'execució en l'evitació activa. Aquesta correlació era diferent a mesura que l'aprenentatge es consolidava. Així els primers dies en què l'execució era baixa les correlacions amb la densitat eren significatives en la porció caudal, mentre que quan l'aprenentatge estava consolidat, les correlacions significatives s'observaven a la porció rostral. Aquestes dades de l'evitació passiva i activa podrien estar relacionades més amb l'ansietat que amb l'aprenentatge en si, ja que l'ansietat millora l'execució de l'evitació passiva i empitjora la de l'evitació activa (Gray 1993) i, per tant, els efectes observats podrien ser mediat per l'ansietat. L'evitació activa en dos sentits és un tipus d'aprenentatge especialment complex, i en els darrers anys diversos grups han postulat que podria ser un bon model d'ansietat. En les primeres fases de l'evitació activa de dos sentits apareixen dues tendències oposades, d'una banda la *congelació* de moviments (*freezing*) provocada per una resposta condicionada de por, mentre que de l'altra apareix la tendència a l'execució de conductes de fugida. La resolució d'aquest conflicte que apareix en les fases inicials de l'aprenentatge, depèn de l'estat emotiu del subjecte, de tal manera que un nivell baix d'emotivitat/ansietat tendirà a facilitar una resolució del conflicte més ràpida, la qual cosa, a la vegada, agilitzarà l'establiment de respostes efectives d'evitació. Per contra, si l'emotivitat és alta la resolució del conflicte es retarda i l'adquisició de la resposta d'evitació activa s'alenteix.

Pocs treballs han estudiat la relació de l'hipocamp amb el **reforçament positiu**. Zielinski i altres (1993) va comprovar que les lesions a les aferents de l'hipocamp dorsal intensifiquen la resposta de premer la palanca.

4.5. Plasticitat

El principi de Hebb afirma que *"quan un axó d'una cèl·lula A excita una cèl·lula B i de manera repetida i persistent pren part en l'activació d'aquest, alguns processos de creixement o canvis metabòlics tenen lloc en una cèl·lula o totes dues cèl·lules, de manera que l'eficàcia de la cèl·lula A per activar la cèl·lula B es veu incrementada"* (Hebb 1949). La potenciació a llarg termini és un fenomen electrofisiològic que seguiria aquest principi i que s'ha considerat com un dels mecanismes dels canvis sinàptics que es donarien durant l'aprenentatge. L'LTP va ser descoberta per primera vegada a l'hipocamp i, malgrat que s'han observat altres tipus de plasticitat a l'hipocamp com ara la depressió a llarg termini, cap altre mecanisme de plasticitat sinàptica no ha generat un nombre de treballs tant gran com l'estudi de l'LTP a l'hipocamp.

La **potenciació a llarg termini (LTP)** consisteix en un augment a llarg termini dels potencials postsinàptics que es produeix com a conseqüència que la membrana postsinàptica està despolaritzada al mateix temps que la sinapsi està activa. L'LTP s'ha observat a diferents sinapsis del cervell i es considera que és el mecanisme cel·lular d'alguns tipus de memòria. Va ser descoberta a la via perforada de la circumvolució dentada, des d'aleshores s'ha observat, a les projeccions de les fibres molsoses a CA3, i a les col·laterals de Schaffer a

CA1 (Knowles 1992). Tot i que l'LTP no és produït per igual a totes les zones, Kaibara i Leung (1993) assenyalaven que l'LTP de les aferents comisurals a CA1 era més robusta a les sinapsis de les dendrites basals que a les apicals. Buzsáki i Cage (1992) consideren que la principal funció de les cèl·lules granulars és tetanitzar CA3 durant les conductes exploratòries i induir una reorganització significativa de la connectivitat funcional de CA3.

La potenciació a llarg termini pot establir-se més fàcilment quan el patró d'estimulació s'equipara al ritme theta hipocampal. L'hipocamp produeix un patró rítmic regular d'activitat elèctrica (un potencial oscil·latori entre 4 i 12 Hz) que s'anomena ritme theta. Aquest ritme està controlat per les neurones colinèrgiques del sèptum medial, que envien les seves connexions a l'hipocamp a través del fòmix. Durant aquest ritme es produiria una rítmica hiperpolarització del soma i la despolarització de les dendrites distals de les neurones piramidals de CA1. La despolarització de les dendrites distals de CA1 juntament amb la hiperpolarització del soma provocada pel ritme theta, mantindria el potencial de membrana a prop del llindar de descàrrega, però per sota, i així permetria que altres inputs puguin fer-les descarregar amb un cost baix d'energia (Buzsáki i altres 1995). En rates l'activitat theta hipocampal està associada amb conductes exploratòries i al son paradoxal. Gray (1993) considera que el ritme theta de baixa freqüència estaria relacionat amb l'ansietat basant-se en la constatació que el llindar mínim (de 7,7Hz) d'estimulació a l'àrea septal capaç de dirigir el ritme theta hipocampal en rates amb llibertat de moviment s'aboleix amb l'administració de fàrmacs ansiolítics i no s'observa en soques de rates no reactives (poc ansioses).

En el pla morfològic els estudis sobre la plasticitat de l'SNC s'han centrat principalment en les **espines dendrítiques**. Les espines dendrítiques són petites protuberàncies protoplasmàtiques especialitzades que cobreixen la superfície de moltes neurones i van ser descrites per primera vegada per Ramón y Cajal. La seva densitat varia al llarg de la neurona i entre els diferents tipus neuronals. Les espines dendrítiques reben la major part de les sinapsis excitatòries als SNC dels mamífers. Aquesta associació amb la comunicació neural és la que ha portat a estudiar amplament la relació d'aquestes petites protuberàncies amb la transmissió sinàptica i la plasticitat.

Les neurones piramidals són especialment riques en espines dendrítiques. En l'arbre apical no s'observen espines en la zona pròxima al soma (entre 20 i 60 μm) però després d'aquesta àrea lliure d'espines es troba un increment gradual d'espines a mesura que les dendrites es distancien del soma. La distribució de les espines dendrítiques en les neurones piramidals de l'hipocamp segueix una funció parabòlica. En l'arbre basal també hi ha una petita zona lliure d'espines (entre 4 i 15 μm) (Horner 1993).

Les espines dendrítiques tenen una gran varietat de formes. Aquestes s'han classificat en 3 de bàsiques: les curtes i gruixudes *stubby*, les que tenen forma de bolet *mushroom* i les més primes *thin* (Horner 1993). A aquesta classificació s'hauria d'afegir les espines *thorny*, que es troben en les dendrites proximals de les neurones piramidals de CA3 (sovint formant raïms) sobre les quals sinapten les fibres molsoses. La mida de les espines també varia molt i les espines amb caps més grans s'associen amb sinapsis més grans (Koch i Zador 1993). S'ha suggerit que la diversitat morfològica de les espines podria

reflectir estats dinàmics durant la vida de les espines i/o l'eficàcia sinàptica que tindria aquella espina en un moment determinat (Harris i Kater 1994).

Les espines dendrítiques es caracteritzen per l'absència de mitocondris, microtúbuls i ribosomes, i per la presència d'una forma de reticle endoplasmàtic llis anomenat aparell espinós, la funció del qual sembla ser segrestar el calci. L'estructura de l'espina es mantindria gràcies a una densa xarxa de filaments d'actina.

La funció de les espines dendrítiques és desconeguda. S'ha hipotetitzat que proporcionarien l'àrea suficient per a la formació de sinapsis. També s'ha postulat que canvis en la resistència del coll de l'espina podrien modular el pes de la sinapsi, però aquestes hipòtesis no semblen ser vàlides. Els estudis actuals apuntarien que les espines crearien uns microambients bioquímics aïllats al voltant de les sinapsis, així les espines podrien restringir els canvis en la concentració de calci postsinàptic a aquelles sinapsis que tindrien el criteri de potenciació durant la LTP (Koch i Zador 1993).

El rol de la mida i la forma de les espines és encara desconegut però es manifesten com a estructures molt plàstiques que es poden veure afectades per diversos agents a totes les edats. En alguns treballs s'ha observat l'arrodoniment del cap de l'espina després d'una breu estimulació tetanitzant (Chang i Greenough 1984, Lee i altres 1980, 1981). Crick (1982) i Robinson i Koch (1984) van suggerir que l'actina de les espines es contrauria breument durant la despolarització de l'espina arrodonint-la progressivament. En les espines hi ha actina, β -tubulina i les MAP-2 (proteïnes associades als microtúbuls) que combinades formen gels viscosos. Canvis en la concentració

de Ca^{2+} en el cap de l'espina podrien generar el desensamblatge i l'ensamblatge de l'actina i la MAP-2 generant els canvis observats en la forma de l'espina (Coss i Perkel 1985).

Hosokawa i altres (1995) va observar que l'LTP in vitro augmenta l'extensió de les espines dendrítiques petites de les neurones piramidals de CA1 (però no en va crear de noves). Altres autors han trobat també augments dels caps de les espines al gir dentat després de l'estimulació tetànica (Desmond i Levy 1983, Fifková i altres 1977, 1982). Fifková i Van Harreveld (1977) suggerien que aquest podria ser el mecanisme pel qual es formessin les dendrites. Aquest engrandiment del cap de l'espina coincideix en el temps amb l'augment de l'activitat neuronal en les mateixes regions (Brown i Horn 1979). S'ha suggerit que les espines serien necessàries perquè es pogués produir l'LTP. La constricció del coll de l'espina possibilitaria que els canals voltatge dependents s'obriessin amb despolaritzacions més baixes. De fet, després del naixement no s'observa l'LTP fins al cap de 5-7 dies de manera coincident amb el desenvolupament dels receptors de NMDA i les espines (Harris i Kater 1994).

Les espines dendrítiques no són estructures estàtiques, sinó que canvien constantment. S'han descrit fluctuacions entre el proestre i l'estre de l'ordre del 30% en les espines de les neurones piramidals de CA1 en rates femella (Woolley i altres 1990). El patró de canvi en la densitat d'espines a la regió CA1 es correlaciona amb els nivells d'estradiol i progesterona. Les rates adultes ovariectomitzades presenten un decrement important en la densitat d'espines dendrítiques de les piramidals de CA1, decrement que es recuperava amb l'administració d'estradiol i encara de manera més intensa si conjuntament a l'estradiol s'administrava progesterona (Gould i altres 1990,

Woolley i McEwen 1993). De manera similar, la reducció de les espines de les piramidals de CA1 produïdes per la gonadectomia en rates mascles i femelles, es recuperava amb l'administració d'estrogen (Lewis i altres 1995). Sembla ser que l'efecte de l'estradiol en les espines dendrítiques hipocampals estaria mediat pels receptors NMDA, atès que quan aquests receptors es bloquegen amb antagonistes l'efecte no s'observa (Woolley i McEwen 1994). L'estradiol induiria el lligament amb els receptors NMDA (però no amb els AMPA) i la densitat d'espines es correlacionaria amb la sensibilitat de les piramidals als *inputs* mediats pel receptors NMDA (Woolley i altres 1997).

La privació sensorial també ha mostrat reduir el nombre d'espines dendrítiques. La deaferenciació en moltes àrees de l'escorça sensorial sembla que comporta la pèrdua d'espines dendrítiques. Similars pèrdues s'han observat després de l'extirpació unilateral de l'hipocamp o de l'escorça entorrinal, però aquestes pèrdues sembla que es recuperen després d'un temps. Altres factors com la malnutrició, la hipòxia, l'administració de l'etanol, malalties com les demències o els retards mentals també poden provocar disminucions en el nombre d'espines dendrítiques a diferents regions cerebrals (Homer 1993).

4.6. Efecte de les hormones tiroïdals a l'hipocamp

La formació hipocampal és sensible a la presència de diverses hormones ja que expressa receptors per a l'hormona tiroïdal, glucocorticoides, mineralocorticoides i esteroides gonadals.

L'efecte del dèficit tiroïdal és clarament patent des de l'observació, comentada amb anterioritat, que el cervell i l'hipocamp dels animals que havien sofert un *hipotiroïdisme (neonatal o adult)* pesaven menys (Madeira i altres 1991). Rami i altres (1986a, 1986b) observen que *l'hipotiroïdisme neonatal* disminueix el volum i l'arborització de les neurones granulars i piramidals de l'hipocamp, efecte que es reverteix amb l'administració de tiroxina. Aquests efectes es mantenen al cap de 160 dies en els animals rehabilitats per la retirada del tractament als 35 dies d'edat (Rabié i altres 1979). La **sinaptogènesi** en aquests animals també es realitzava de forma retardada (Rami i Rabié 1990). Aquests dèficits semblava que eren més un defecte de la **migració** que la **proliferació** atès que també s'observaven dèficits en la maduració de les fibres gials radials que guien els neuroblasts en la migració (Rami i Rabié 1988). Però Madeira i altres (1991) assenyalen que la reducció en el nombre total de cèl·lules granulars produïda per *l'hipotiroïdisme neonatal i adult* no pot ser explicada en termes de dèficits en la migració i que altres mecanismes com un augment en la mort neuronal, estarien implicats, malgrat que la reducció sigui més severa, en l'hipotiroïdisme neonatal que en l'adult. Aquest grup d'investigadors van comprovar que la reducció del volum del feix suprapiramidal ocasionada per *l'hipotiroïdisme neonatal* també implicava la reducció del nombre de botons de les fibres molsoses per unitat de longitud i la reducció del nombre de sinapsis de les fibres molsoses amb les neurones piramidals de CA3. Així mateix, els animals que havien sofert *hipotiroïdisme continuat* i els que s'havien recuperat d'un *hipotiroïdisme neonatal* també presentaven menys botons per unitat de longitud a les fibres molsoses i, encara que el nombre total de sinapsis amb les neurones piramidals no estava afectat, la densitat de

les sinapsis i el volum (mides) de les espines *thorny* eren més grans (Madeira i Paula-Barbosa 1993).

Madeira i altres (1992) observen que *l'hipotiroïdisme neonatal* provocava la disminució del volum de la **capa piramidal CA3** però augmentava la densitat, per la qual cosa el nombre total de piramidals a CA3 no semblava que estigués afectat. En canvi, el nombre de neurones de **CA1** sí que va disminuir. *L'hipotiroïdisme adult* mostrava també una reducció del volum de la capa piramidal de CA3 amb un increment de la densitat. Així mateix, el nombre de neurones total de CA1 era significativament inferior en el grup amb hipotiroïdisme adult, però aquesta reducció era encara més severa en el grup que s'havia recuperat de *l'hipotiroïdisme neonatal*. Aquest fet porta els autors a concloure que la causa seria la **mort neuronal**, perquè la migració s'hauria finalitzat al naixement i no podria explicar els efectes trobats en l'hipotiroïdisme adult.

Gould i altres (1990a) no observaven que *la injecció de triiodotironina els dies 2 i 4 postnats* afectés ni la mida, ni les dendrites o les espines dendrítiques de les **cèl·lules granulars** de la circumvolució dentada. Però Lauder i Mugnaini (1980) van observar que la injecció de T4 neonatal provocava l'aparició del **feix infrapiramidal** de les fibres molsoses associada amb la formació de les espines *thorny* a les dendrites basals de CA3. L'hipertiroïdisme postnatal primerenc produiria l'hiperplasia de les fibres molsoses intrapiramidals i infrapiramidals (Lauder i Mugnaini 1977, Lipp i altres 1989, Schwegler i altres 1991). Gould i altres (1990a) observen que *l'hipertiroïdisme neonatal* incrementa el **cos cel·lular**, el nombre de **dendrites** i l'extensió, les arboritzacions i les **espines thorny** de les neurones piramidals

de CA3, però no afecta el nombre d'espines. A les neurones piramidals de CA1, l'únic paràmetre afectat era la densitat d'espines apical i basal, que estaven incrementades per l'administració de la tiroxina. Contràriament quan la tiroxina es va administrar durant 5 dies *en periode adult* a un grup de rates femelles es va observar una disminució de la densitat d'espines dendrítiques a les neurones piramidals de CA1 però no de CA3 (Gould i altres 1990b).

A escala electrofisiològica, l'hipertiroïdisme neonatal accelera l'adquisició d'un patró més madur en l'EEG (Schapiro 1968), tot i que Pavlides i altres (1991) observen que un hipertiroïdisme neonatal breu disminueix l'LTP induïda al GD.

L'efecte modulador de l'hormona tiroïdal a l'estrès es faria a través de la regulació dels receptors de glucocorticoides a l'hipocamp. Meaney i altres (1987) van comprovar que els animals als quals se'ls havia provocat un *hipertiroïdisme neonatal* tenen un major nombre de receptors de glucocorticoides a l'hipocamp quan són adults i un menor nombre en els animals que havien sofert un *hipotiroïdisme neonatal*. Més encara, les hormones tiroïdals podrien estar relacionades en l'efecte que té el *handling* sobre els receptors de glucocorticoides hipocampals, ja que l'augment de receptors provocat per *handling* no s'observava quan s'induïa l'hipotiroïdisme. Estudis més recents semblen indicar que les hormones tiroïdals incrementarien el recanvi de serotonina en l'hipocamp. Estudis *in vitro* i *in vivo* també mostren que aquest neurotransmissor actuaria sobre els receptors de glucocorticoides mitjançant l'activació del receptor 5-HT₂/5-HT_{1C}. De fet, els

efectes de l'hormona tiroïdal sobre receptors per glucocorticoides són bloquejats per l'administració de ketanserina.

L'hormona tiroïdal també podria estar implicada en la diferenciació sexual de l'hipocamp: Madeira i altres (1991) observen que els mascles tenen més cel·lules granulars que les femelles i que l'hipotiroidisme elimina aquestes diferències sexuals si s'inicia abans que finalitzi l'època crítica per la diferenciació sexual de la circumvolució dentada. Així mateix sembla ser que l'hormona tiroïdal és necessària a l'inici de la pubertat i pel desenvolupament normal del cicle 'ovàric' (Cramer i Ford 1977).

II PART EXPERIMENTAL

1. PLANTEJAMENT EXPERIMENTAL

L'any 1959 el grup encapçalat per W.C. Young va publicar a la revista *Endocrinology* un article titulat *Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissues mediating mating behavior in the female guinea pig* (Phoenix i altres 1959). En aquest article, considerat com un dels de major impacte en psicoendocrinologia, es descriuen els efectes del propionat de testosterona en la conducta sexual. Els andrògens prenatals disminueixen la conducta de lordosi en femelles i feien augmentar la conducta de muntar en femelles si a més s'administrava testosterona en l'edat adulta, i no afectava la conducta de muntar en mascles. A partir d'aquests resultats es va postular l'anomenada "hipòtesi organitzacional/ activacional" que distingeix entre les accions prenatals de les hormones, encarregades d'*organitzar* els substractes neurals de la conducta, i les accions d'aquestes hormones en vida adulta, que servirien per *activar* aquestes estructures.

L'estudi de les conductes que presenten dimorfisme sexual ha conduït a l'establir tres tipus d'influències de les hormones gonadals en la conducta (Goy i McEwen, 1980). En primer lloc hi ha les conductes que requereixen l'acció de les hormones gonadals en els períodes primerencs del desenvolupament i l'acció d'activació en l'edat adulta; serien les anomenades conductes sexodimòrfiques tipus I. N'és un exemple la conducta sexual. En segon lloc trobaríem les conductes sexodimòrfiques tipus II que dependrien de l'acció activacional, com ara el badall en el monus Rhesus. En aquesta espècie s'observa una major conducta de badallar en els mascles respecte de les femelles i els joves. Aquesta conducta, però, es pot incrementar en femelles mitjançant l'administració de testosterona. Finalment, en tercer lloc hi hauria

les conductes que requeririen dels efectes de les hormones gonadals durant el desenvolupament, que constituïrien les conductes sexodimòrfiques tipus III les quals dependrien de l'acció organitzacional de les hormones gonadals, com per exemple el patró de micció en el gos.

Unes altres hormones esteroidals, els glucocorticoides, també han mostrat l'existència de períodes crítics durant el desenvolupament. Així, els mecanismes de control de l'activitat de l'eix hipotalamohipofisioadrenal depenen en gran part de la inhibició de la síntesi de CRF. Aquesta inhibició és fonamentalment extrahipotalàmica i de manera específica es troba sota control hipocampal. Els mecanismes responsables d'aquesta regulació hipocampal s'estableixen durant el desenvolupament cerebral, i són condicionats, per tant, per accions organitzadores. L'establiment d'aquest substrat neural serà un dels responsables principals de l'existència de diferències individuals en conductes com la sensibilitat a l'estrès. En aquest cas ens trobaríem amb conductes que dependrien de l'acció organitzadora de les hormones. Tanmateix, però, en funció de com s'hagi organitzat aquest substrat neural, l'acció activadora dels glucocorticoides pot estar implicada en els mecanismes fisiopatològics de trastorns psicopatològics, com la depressió, i neurodegeneratius. En aquests casos estariem davant de trastorns dependents del paper organitzacional i activacional de les hormones, entre altres factors.

El tercer gran eix hipotalamohipofisioperifèric, el sistema tiroïdal, presenta gran similitud amb els sistemes endocrins abans esmentats. Així, també secreta hormones liposolubles que actuen a través de receptors intracel·lulars realitzant gran part de les seves accions mitjançant canvis en l'expressió gènica com ja s'ha esmentat a l'apartat 3. També en aquest cas s'ha vist que

aquestes hormones poden tenir efectes organitzacionals importants. Com ja s'ha comentat en la introducció, el dèficit perinatal d'hormona tiroïdal produeix el cretinisme. Però, l'alteració de les hormones tiroïdals en edat adulta pot provocar canvis conductuals que cal atribuir a un efecte activacional d'aquestes hormones.

Així, doncs, podem veure que aquests sistemes hormonals realitzen accions diferents en funció del període de vida del subjecte. D'acord amb les dades existents a la bibliografia sembla raonable pensar en l'existència de conductes que dependran de l'acció de les hormones durant els principals períodes del desenvolupament, fonamentalment el període perinatal, però sense oblidar períodes puberals o senils, i/o durant la vida adulta. Aquests efectes, a diferència del que van postular els primers autors, podrien ser permanents o temporals independentment del període d'afectació. Malgrat aquest fet utilitzarem els termes **organitzacional**, per fer referència als efectes de les hormones durant períodes crítics del desenvolupament, i **activacional**, per fer referència als efectes de les hormones durant la vida adulta. Dels tres eixos abans esmentats, probablement el menys estudiat sigui l'eix tiroïdal, malgrat els importants efectes que té sobre la conducta (vegeu apartats 1 i 2) i el sistema nerviós (vegeu apartats 3 i 4.6). Treballs previs del nostre grup de recerca (Darbra 1994, i Darbra i altres 1995) han estudiat l'efecte de les hormones tiroïdals sobre una àmplia bateria conductual i en la morfologia de les neurones piramidals de l'hipocamp. Aquests estudis s'han centrat en l'efecte de les hormones en el període perinatal i la vida adulta, i representarien els anomenats efectes organitzacionals i activacionals respectivament.

1.1. Objectius generals

Aquest treball pretén ampliar i contrastar la informació obtinguda fins al moment en relació amb l'acció de les hormones tiroïdals en la conducta i la morfologia neuronal. Ens centrarem en els aspectes següents:

1. Estudiats els efectes de les hormones tiroïdals en els períodes perinatal (organitzacional) i adult (activacional) en altres treballs, en aquest treball estudiarem l'efecte d'un tractament continu per poder valorar els efectes provocats per l'afectació dels dos tipus de períodes (organitzacional + activacional) que, cal esperar que en algunes de les conductes analitzades sigui diferent.

2. Estudis anteriors mostraven una relativa petita afectació quan es manipulava l'eix tiroïdal en el període adult. Estudiarem l'efecte de l'allargament del període d'afectació, així com, dosis superiors per comprovar si aquest efecte s'incrementa.

Aparentment els efectes organitzacionals de l'hormona tiroïdal serien més importants que els efectes activacionals però també es podria atribuir aquesta menor afectació al fet que el període en què es produïa la manipulació no fos suficientment llarg. En estudis anteriors havíem iniciat el tractament adult als 65 dies d'edat i l'avaluació conductual s'iniciava només 10 dies després. Per comprovar que aquests efectes diferents observats en funció dels períodes d'afectació no eren produïts exclusivament per la menor durada del tractament, sinó que uns es corresponien a efectes organitzacionals de

l'hormona i altres a efectes activacionals, hem incrementat la durada d'aquest període iniciant el tractament quan l'animal té 40 dies d'edat. L'allargament del període es va fer per la part inicial per assegurar que els animals passarien les proves conductuals a la mateixa edat que en anteriors experiments. A més, l'inici del tractament se situava en la pubertat per la qual cosa podíem valorar la possibilitat d'efectes diferencials quan s'afecta aquest període.

Una altra causa possible de la menor afectació en el període adult podia ser que les dosis emprades fossin baixes per aquests períodes. Per aquest motiu també vam introduir dosis diferents que, a més, ens permetrien observar si els efectes eren de tipus qualitatiu, és a dir, en funció de presència o absència de distiroïdisme, o bé quantitativus, és a dir, relacionats amb la dosi emprada.

Amb la finalitat d'avaluar els objectius plantejats ens hem centrat en l'estudi dels efectes del distiroïdisme sobre els aspectes conductuals i histològics següents:

A. En els capítols anteriors hem pogut observar que les hormones tiroïdals tenen importants efectes sobre la conducta. D'acord amb les dades existents a la literatura sembla raonable pensar que molts d'aquests efectes són provocats, fonamentalment, per una afectació en els sistemes emocionals. En aquest treball pretenem estudiar l'efecte del distiroïdisme sobre la conducta, especialment en proves sensibles a canvis emocionals.

L'estudi dels estats emocionals en els animals resulta especialment difícil. Aquests estudis impliquen importants components subjectius com a

conseqüència de l'absència de mesures directes. Habitualment els investigadors han interpretat els estats emocionals dels animals a partir de diferents mesures (endocrines, conductuals...). No obstant això aquestes mesures de vegades s'han utilitzat de manera arbitrària i, fins i tot, divergent. Així una mateixa mesura pot ser interpretada com a diferent en funció de les característiques contextuals en què es realitza la prova. D'altra banda, diferents autors (Archer 1973, Lister 1990) han suggerit que l'emotivitat no seria una característica unidimensional.

Per poder observar els efectes provocats pels tractaments, disminuint els perills abans esmentats, creiem necessari fer una aproximació multivariable i, a més, disposar de diferents mesures que ens permetin avaluar d'una manera àmplia aquesta característica. D'aquesta manera podrem observar els efectes sobre la variabilitat comuna d'un conjunt de mesures que es correspondrien millor amb un estil o perfil emocional i/o conductual.

Atès que a la bibliografia s'observa que l'hipertiroïdisme augmenta l'emotivitat caldria esperar que l'hipertiroïdisme afecti les conductes en les quals està implicada aquesta emotivitat i que l'hipotiroïdisme les afecti en sentit contrari.

B. L'hipocamp és una estructura que, com s'ha indicat en apartats anteriors, ha estat implicada en el control de la conducta emocional i en l'adquisició de memòries. L'hipocamp és la regió cerebral que conté una major densitat de receptors tiroïdals en la rata (Puymirat, 1992). A més, en diversos estudis s'ha observat que aquesta estructura és sensible a l'acció de les hormones tiroïdals

(Lauder i Mugnaini 1977, Rabié i altres 1979, Rami i altres 1986). Entre els possibles efectes a estudiar hem escollit la morfologia neuronal de les cèl·lules piramidals. Diversos estudis realitzats per Ruiz Marcos (Ruiz Marcos 1990, Ruiz Marcos i altres 1979, 1980, 1988) van mostrar que les neurones piramidals de l'escorça eren un tipus cel·lular especialment sensible a l'acció de les hormones tiroïdals. L'hipotiroïdisme neonatal o perinatal disminueix el desenvolupament dendrític (Eayrs 1955, Lui Brown 1977a, Ruiz-Marcos i Ipiña, 1986, 1986, Comer i Norton 1985) i el nombre d'espines (Lu i Brown 1977a, Ruiz-Marcos 1990, Ruiz-Marcos i altres 1979, 1980, 1988, Berbel i altres 1985, Ipiña i altres 1987). En canvi l'administració d'hormona tiroïdal intensifica la formació de neurites (Heisenberg i altres 1992, Gould 1990a).

En els darrers anys han aparegut diversos estudis que han mostrat l'efecte de l'hipertiroidisme (Gould 1990a, Darbra 1994) i l'hipotiroïdisme (Darbra 1994) en la morfologia de les neurones piramidals de CA3 i CA1 en l'hipocamp. Aquests estudis han implicat diferents períodes d'afectació del distiroïdisme, però en cap cas no han inclòs un tractament continuat o un tractament com l'iniciat en la pubertat plantejat en el present treball. Dades recents han mostrat que les hormones tiroïdals regulen l'expressió gènica de factors implicats en el desenvolupament de l'hipocamp com és la reelina (Ruiz i altres 1998). Les alteracions en aquesta proteïna afecten el desenvolupament de la glia radial produint alteracions en el correcte desenvolupament de les cèl·lules piramidals. **Totes aquestes dades ens indiquen que les alteracions en les hormones tiroïdals afectaran el desenvolupament dels arbres dendrítics de les cèl·lules piramidals.** Aquest efecte hauria de ser especialment important en el tractament continuat. Això no obstant, com a mínim en el cas de l'hipotiroïdisme s'ha observat una afectació clara del gir dentat en animals amb un tractament

administrat exclusivament durant el període adult. Com que aquesta estructura és el punt d'entrada del circuit trisinàptic, cal esperar que el deteriorament d'aquesta estructura, provocada per un tractament en vida adulta, impliqui una atròfia en els camps hipocampals de CA3 i CA1.

B1. En capítols anteriors hem comentat l'existència de l'anomenat circuit trisinàptic. Aquest circuit està format per les cèl·lules granulars del gir dentat que projecten, mitjançant les fibres molsoses, a les cèl·lules piramidals del camp CA3, les quals al seu torn projecten les seves col·laterals de Schaffer a les cèl·lules piramidals de CA1. Una de les característiques que presenta aquest circuit és l'existència de diferències en l'organització septotemporal. Així, estudis quantitius indiquen que la densitat de les cèl·lules granulars del gir dentat i de cèl·lules piramidals del camp CA3 varia en les rates des d'una ràtio de 10:1, a les zones septals, a una ràtio 1:1, a les zones temporals (Gaarskjaer 1978a). D'altra banda, aquestes cèl·lules piramidals de CA3 projecten fibres ipsilaterals intrahipocampals, que presenten una menor divergència a les zones temporals que a les septals. Respecte de les cèl·lules piramidals del camp CA1 s'ha vist que les parts més septals inervarien l'àrea perirrinal més que a la mateixa àrea entorrinal.

El complex septohipocampal sembla ser crucial per a la formació de noves associacions cognitives. Aquestes estructures han estat implicades en el control de la resposta emocional (Gray 1993). S'ha observat un elevat nivell de topografia en els sistemes de projecció hipocamposeptals, encara que aquest pot variar en funció d'espècies.

Atès que l'hipotiroidisme afecta el nombre de cèl·lules granulars (Madeira i altres 1991), cal suposar que l'efecte del distiroïdisme serà més marcat a les zones on la relació és 1:1 (posterior) que a les zones on la relació és 10:1 (anterior). Per tant, l'afectació posterior ha de ser superior a l'anterior.

B2. L'estudi de l'especialització hemisfèrica ha estat un dels aspectes més analitzats en els estudis neuropsicològics. La major part dels treballs realitzats s'han centrat en l'estudi de la asimetria cerebral en humans. De fet, amb anterioritat, en una revisió publicada l'any 1980 en el *British Journal of Psychology* per Walker (1980), fins i tot es considerava que eren poques les evidències de l'existència d'asimetries cerebrals en cervells no humans. A partir d'aquest treball de revisió es va iniciar l'interès per l'estudi de l'especialització hemisfèrica en diverses espècies, especialment aus, rosegadors i primats. Aquests estudis han centrat el seu interès en l'avaluació d'asimetries anatòmiques i bioquímiques, així com l'existència d'asimetries cognitives i conductuals. Respecte de les primeres s'han descrit patrons asimètrics en escorça, hipocamp i nucli estriat en rosegadors, així com diferències hemisfèriques en sistemes de neurotransmissió com la serotonina o la dopamina (Castellano i altres 1989). Pel que fa a les asimetries cognitives i conductuals en rosegadors, el grup de Denenberg a través de diversos estudis ha arribat a la conclusió d'una major implicació de l'hemisferi dret en la conducta exploratòria i espacial i emocional, encara que també estarien sota control de l'hemisferi esquerre (Dewberry i altres 1986; Bradshaw 1991, Junqué i Barroso 1994). Sembla que totes aquestes diferències són més marcades en mascles que en femelles.

Altres aspectes que influencien en l'existència d'asimetria cerebral són l'espècie, l'edat i les influències ambientals i genètiques. Així, les manipulacions ambientals, si es realitzen en períodes primerencs, tendeixen a incrementar les asimetries cerebrals.

Entre els diferents factors que intervindrien de manera important en l'establiment d'aquestes diferències hi ha les hormones. Cal tenir present que un factor de gran rellevància en la asimetria cerebral és la transferència d'informació entre els hemisferis cerebrals i diferents dades han mostrat que el distiroïdisme afecta la maduració de les connexions interhemisfèriques en rates, i això afecta el cos callós (Gravel i Hawkes 1990, Berbel i altres 1993) i la comissura anterior (Berbel i altres 1994).

Basant-nos en el què s'ha exposat caldria esperar que l'efecte dels nostres tractaments fos important en l'hemisferi dret sense descartar efectes en l'hemisferi esquerre i que aquesta afectació seria més important en els períodes primerencs.

Per obtenir resposta a aquests objectius i contrastar les hipòtesis experimentals s'han dissenyat tres experiments:

1. Administració crònica de methimazole o tiroxina des del període embrionari fins al sacrifici de l'animal (experiment I). Aquest experiment ens ha de servir per estudiar l'efecte conjunt organitzacional + activacional.

2. Administració en animals joves de diferents dosis de methimazole (experiment II) o de tiroxina (experiment III) que ens permetran comprovar l'efecte activacional, possibles efectes diferencials en el període puberal, i si els efectes són qualitatiu o quantitatiu.

2. EXPERIMENT I:

**EFFECTE DE L'EXCÉS O DÉFICIT CRÒNIC
D'HORMONA**

2.1. MATERIAL I MÈTODES

2.1.1. Subjectes i grups experimentals

Els **subjectes** emprats en la realització del primer experiment van ser 51 rates mascles de la soca Wistar criades al nostre laboratori. Durant tot l'experiment els animals van tenir accés lliure al menjar i l'aigua, i estaven en condicions controlades amb el cicle llum–foscor de 12 hores (8.00 h–20.00 h) i temperatura i humitat constants ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ i 60%).

Els animals es van obtenir a partir de progenitors que es van assignar aleatoriament a tres **grups experimentals** en funció del tractament que se'ls va administrar: grup tiroxina ($n = 15$), grup methimazole ($n = 15$) i grup control ($n = 21$). El grup control és un mateix grup per a tots els experiments i integrat per individus contemporanis als subjectes dels tres experiments per això es tracta d' un grup més nombrós.

El **tractament** es va administrar per via oral per tal d'evitar els efectes estressants d'altres mètodes com per exemple les injeccions intraperitoneals i subcutànies o el quirúrgic, que podrien distorsionar els resultats. Es van utilitzar les mateixes dosis emprades en altres treballs nostres i que havien comprovat que eren eficients en l'inducció del distiroïdisme perinatal. Concretament el tractament era el següent:

- Administració d' L-tiroxina a la beguda en una proporció de 0,3 mg/100 ml d'aigua.
- Administració de Methimazole a la beguda en una proporció de 20 mg/100 ml d'aigua. Aquest fàrmac antitiroïdal impedeix el lligament de l'iodur amb la tiroxina i l'acoblament de les iodotironines per formar

T4 i T3 (Capen i Martin, 1989). El Methimazole no solament té el mateix poder goitrogènic que el PTU sense interferir en l'activitat deiodinassa dels teixits perifèrics (van Doorn i altres 1983) sinó que, a més, no té el gust amarg del PTU i ha estat emprat en molts experiments en els quals ha demostrat ser efectiu.

Els fàrmacs van ser guardats en una solució concentrada que havia estat preparada i congelada prèviament. La solució concentrada es va diluir en l'aigua de la beguda, que s'administrava en ampolles negres per evitar l'oxidació de la tiroxina en entrar en contacte amb la llum. Així mateix, es va tenir la precaució d'utilitzar ampolles i provetes diferents en funció del tractament ja que la tiroxina s'adhereix al vidre. El grup control només va rebre aigua.

En condicions normals els animals beuen aproximadament 10 ml/dia per cada 100 grams de pes. Aquest consum s'incrementa quan se'ls administra tiroxina i disminueix quan se'ls administra methimazole (Comer i Norton, 1982). Aquests efectes van ser considerats per seleccionar la dosi. Ambdós fàrmacs van ser subministrats per Sigma Chemicals Co. (T-2376 i M-8506).

El procediment emprat va ser el següent: el tractament s'iniciava al novè dia de gestació amb l'administració del tractament a la beguda de la mare. El methimazole travessa la placenta amb una mitjana de sang materna / sang fetal propera a 1,0 (Marchant i altres 1977) i s'incorpora a la llet materna (Johansen i altres, 1982). Les hormones tiroïdals maternes travessen la placenta tant abans com després que la glàndula tiroïdal del fetus iniciï la secreció d'hormones tiroïdals entre els 10 i els 17 dies de gestació (Obregón i altres, 1984; Morreale de Escobar, i altres, 1988). Després d'haver deslletat els animals eren emplaçats en gàbies en

grups de 3 o 4 fins als 40 dies d'edat, en que eren allotjats individualment. Entre els 77 i els 86 dies d'edat es va sotmetre els animals a una bateria de proves conductuals i a 89 dies d'edat se'ls va sacrificar per obtenir-ne les mostres sanguínies i histològiques. Durant aquest període van continuar rebent el tractament a la beguda fins al final de l'experiment, quan els animals eren sacrificats. Al llarg de tot aquest període es va controlar regularment el consum de beguda i l'evolució del pes dels animals.

2.1.2. Avaluació conductual

Als 77 dies d'edat s'iniciaven les proves conductuals, que s'allargaven durant 6 dies (tres dies d'una setmana i 3 de la següent). El matí (11-13 h) del primer dia (dimecres) s'avaluava la capacitat motriu i els reflexos de l'animal i a la tarda (16-18 h) després del test llum-fosc es sotmetia l'animal al primer assaig de la prova d'evitació passiva. L'endemà s'efectuava el retest de l'evitació passiva (18 h). Els test de Boissier i del laberint elevat es realitzaven consecutivament el matí del divendres (11-13 h). El dilluns i dimarts següents (11-13 h) s'efectuava la prova del camp obert i el dimecres (11-13 h) es realitzava el test d'interacció social en el mateix aparell.

	Dimecres	Dijous	Divendres		Dilluns	Dimarts	Dimecres
Mati	-capacitat motriu	-retest evitació Passiva	-test de Boissier -laberint elevat		-1er camp Obert	-2on camp Obert	-interacció social
Tarda	-llum-foscor -evitació passiva						

1. Capacitat motriu i reflexos

La capacitat motriu de l'animal s'avaluava mitjançant un test de psicomotricitat que consta de quatre proves que l'animal passava consecutivament. Aquesta avaluació ens permetia comprovar que alguns reflexos bàsics estaven desenvolupats i que no hi havia un deteriorament de la capacitat motriu que pogues interferir en l'execució de les altres proves. Les proves aplicades van ser les següents:

* **Geotàxia negativa:** consisteix a situar l'animal amb el cap orientat avall, en el centre d'un pla inclinat 20° dipositat a l'extrem d'una taula. L'aparell consisteix en una plataforma de fusta de 45,7 x 65,7 cm revestida d'una reixa metàl·lica i inclinable a diferents pendents. Es situa l'animal orientat descendentment a la zona central de la part inferior. En condicions normals l'animal gira el seu cos fins que orienta el cap en direcció ascendent. La realització o no d'aquesta conducta reflexa

s'annotava, i es comptabilitzava el temps que tardava l'animal a realitzar-la.

* **Pla inclinat:** es situava l'animal en el mateix aparell però amb una inclinació de 80° i orientat de forma ascendent. L'animal es posicionava en la part central de la superfície, la qual està revestida amb una reixa metàl·lica que permet a l'animal agafar-se per no caure. Es comptabilitzava el temps que l'animal era capaç d'aguantar-se sense caure amb un temps màxim de 60 segons.

* **Cilindre fix:** aquesta prova es realitza mitjançant un aparell constituït per un cilindre metàl·lic de 3,5 cm de diàmetre suspès entre dos suports. Es situa l'animal sobre el cilindre amb el cos orientat al llarg de l'eix longitudinal del cilindre. Es comptabilitza el temps de permanència sobre el cilindre i si hi ha desplaçament o no.

* **Barra penjada:** es situa l'animal en una barra prima suspesa de tal manera que l'animal pugui agafar-s'hi amb les dues potes davanteres. Es mesura el temps que triga l'animal a caure i si l'animal es desplaça al llarg de la barra o intenta aixecar-se flexionant les potes davanteres o agafant-se a la barra amb les potes del darrere.

2. Test llum-fosc

Aquesta prova, va ser creada al nostre laboratori, i s'ha mostrat sensible a l'efecte de l'hormona tiroïdal (Darbra i altres 1995). Aquesta prova exploratòria pretén mesurar la necessitat de canvi d'estimulació dels animals i té una durada de 10 minuts. Per fer aquesta prova s'utilitza una gàbia Shuttle (Lafayette Ins. Co. Mod. 82401-SS) adaptada: un dels compartiments està il·luminat i l'altre, a la foscor, i la paret de separació entre els dos compartiments no està totalment tancada sinó que deixa un espai a la part inferior que permet a l'animal canviar de compartiment. L'animal es situa en el compartiment fosc i es mesura la latència de passar al compartiment il·luminat, el nombre de vegades que l'animal canvia de compartiment, el nombre de vegades que l'animal mira a l'altre compartiment, el temps total de permanència en el compartiment il·luminat i en el compartiment fosc, i la defecació.

3. Aprenentatge d'evitació passiva

L'aprenentatge d'evitació passiva es considera un aprenentatge senzill i no requereix d'uns sistemes sensorials ni motrius en perfectes condicions, ni de sotmetre l'animal a deprivació ni a cap canvi alimentari que podria interferir en l'execució de la resta de proves de la bateria. La prova es realitza només en dos assaigs, un de presentació d'estímul i un de retest.

Per efectuar aquesta prova es van emprar dos aparells diferents per comprovar, no solament si el tractament afecta aquest tipus d'aprenentatge, sinó també quin dels dos aparells era més sensible i per constatar un possible efecte d'habitució a la

gàbia atès que el test de llum-fosc s'efectuava en una gàbia similar. Un dels dos aparells emprats fou la una caixa Shuttle amb comandament automàtic (Lafayette Ins. Co. Mod. 82401-SS). L'altre aparell fou construït expressament per fer aquesta prova. L'aparell estava constituït per dos compartiments de mesura desigual: un compartiment de 49,5 x 50 x 35 cm de fòrmica beix mat il·luminat sense sostre i un compartiment de 15,5 x 15,5 x 16 cm fosc de ferro de color negre tancat. La meitat de la mostra es va assignar a cada tipus d'aparell.

En el primer assaig es situava l'animal al centre del compartiment il·luminat i quan entrava en el compartiment fosc es tancava la porta que separava els dos compartiments i se li administrava un xoc suau de 0,5 mA durant tres segons. Es mesurava la latència d'entrada en el compartiment fosc. Si després de 3 minuts l'animal no havia entrat en el compartiment fosc l'animal es retirava i se l'excloïa de la prova. El retest es feia al cap de 18 hores i únicament s'hi mesurava la latència d'entrada en el compartiment fosc. La diferència entre les latències dels dos assajos es considera la mesura d'aprenentatge.

4. Test de Boissier

Aquest test és l'adaptació del test estandarditzat per ratolins (Boissier i Simon 1967). L'aparell consisteix en una caixa quadrada de fusta 57 x 57 x 32,5 cm el terra de la qual està subdividit en quatre espais quadrats iguals amb 4 forats de 5 cm de diàmetre a cada quadrant. L'animal és situat al centre de la caixa i durant 5 minuts s'anoten el nombre de deambulacions (quan l'animal es desplaça amb les quatre potes a un altre quadrant), el nombre de forats explorats (introduint el seu

cap dins del forat), aixecades (aixecades de l'animal mantenint-se sobre les dues potes darreres) i el nombre de defecacions.

5. Laberint elevat

El laberint elevat és una prova tipificada (Pellow i altres, 1985) que és considerada com una bona indicadora del poder ansolític i ansiogènic dels diferents fàrmacs (Pellow i File, 1986). Es tracta d'un laberint en forma de creu enlairat a 50 cm del terra i que té dos dels seus braços tancats per parets laterals i dos dels braços oberts (46cm de llarg cada braç). L'animal s'emplaça en el centre del laberint i durant 5 minuts es mesuren el nombre d'entrades als braços oberts i als braços tancats i el temps de permanència en cadascun dels braços.

6. Camp obert

Es va emprar la prova modificada al nostre laboratori (García, 1984) per avaluar l'activitat locomotriu i la reactivitat emocional. Per a aquesta prova s'utilitza un cercle de 81cm de diàmetre dividit en 19 àrees d'igual superfície, amb una llum de 100 W situada a un metre sobre l'aparell i un so rosa. Es situa l'animal al centre del camp obert i durant 4 minuts es mesura el nombre de deambulacions (canvi de superfície), d'aixecades (aixecar-se i aguantar-se dempeus sobre les dues potes de darrera) i de defecacions. La prova es passa dos dies consecutius per poder avaluar l'efecte de l'habitució a la prova.

7. Interacció social

Aquesta prova és considerada com un test també sensible a l'efecte ansiolític dels fàrmacs (File i Hyde, 1979). En el mateix aparell emprat en la prova del camp obert es situen dos animals pertanyents al mateix grup experimental i no germans. Durant 10 minuts s'enregistra la conducta mostrada pels animals amb una càmera de vídeo per analitzar-la posteriorment mitjançant un programa informàtic per a l'anàlisi de pautes conductuals en rosegadors cedit per Paul Brain (universitat de Swansea). Les pautes analitzades varen ser la freqüència i el temps de les pautes socials (aproximació i seguiment, ensumada i neteja, interacció passiva, passar per sobre i/o sota, atac, fugida o evitació, i defensa) i no socials (investigació de l'entorn, autoneteja, deambulació i immobilitat) (Grant i Mchintosh,1963).

2.1.3. Avaluació endocrina

Cinc dies després de la interacció social els animals eren sacrificats per analitzar els nivells hormonals i/o l'obtenció de mostres histològiques. Aproximadament la meitat dels animals es van destinar de forma aleatòria a l'obtenció de mostres sanguínies per tal de determinar els nivells de T4 en sang. Aquests animals eren anestesiats amb èter i decapitats. La sang recollida era centrifugada i el sèrum era conservat en tubs a una temperatura de - 40°C per a la posterior anàlisi radioimmunològica. L'altra meitat dels animals es van destinar a l'obtenció de mostres histològiques. Sempre que va ser possible, a aquests animals també se'ls va extreure sang per la vena cava ascendent prèviament a la perfusió del líquid fixador a fi de determinar-ne els nivells hormonals.

Efecte del distiroïdisme en el desenvolupament conductual, l'aprenentatge i la morfologia de l'hipocamp

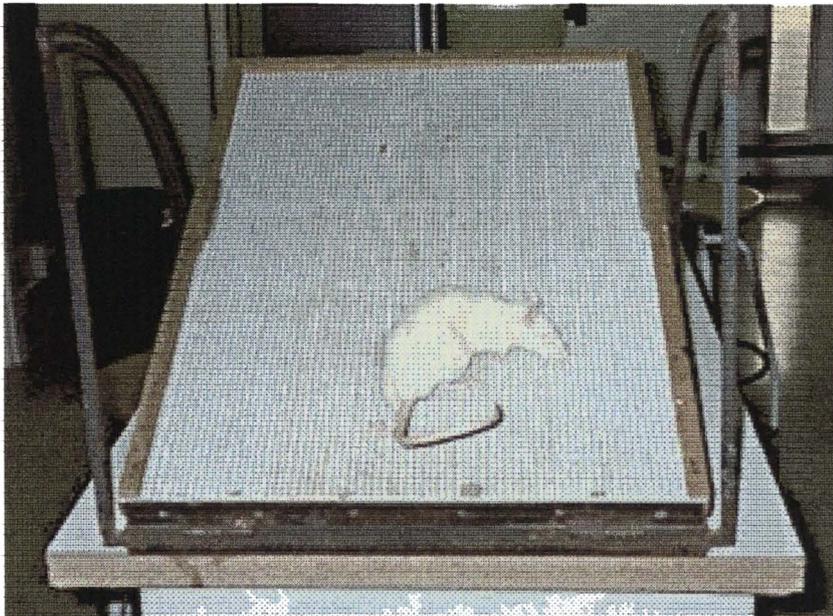
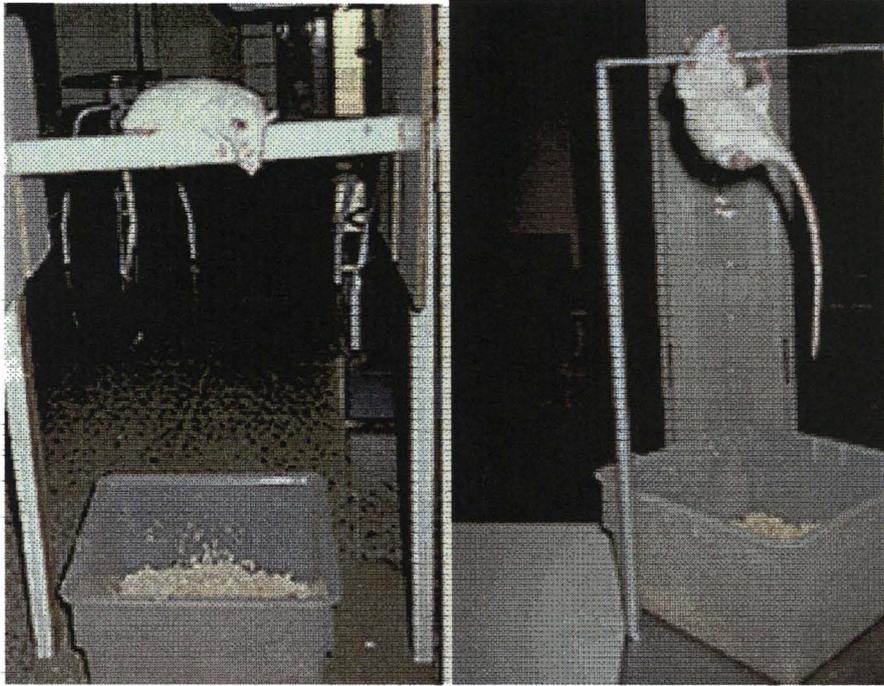




Fig.2.1.2.4. Pla inclinat.

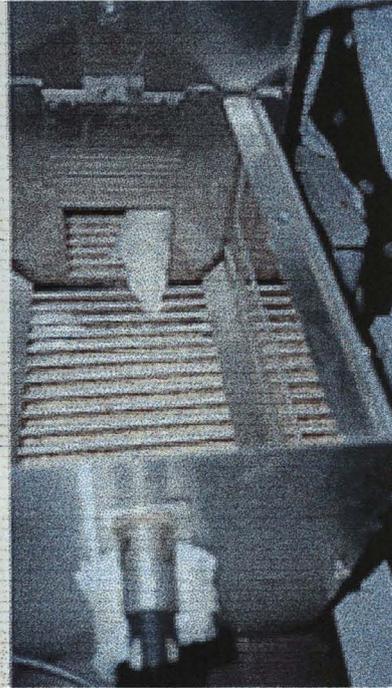


Fig. 2.1.2.5. Evitació passiva (Shuttle).

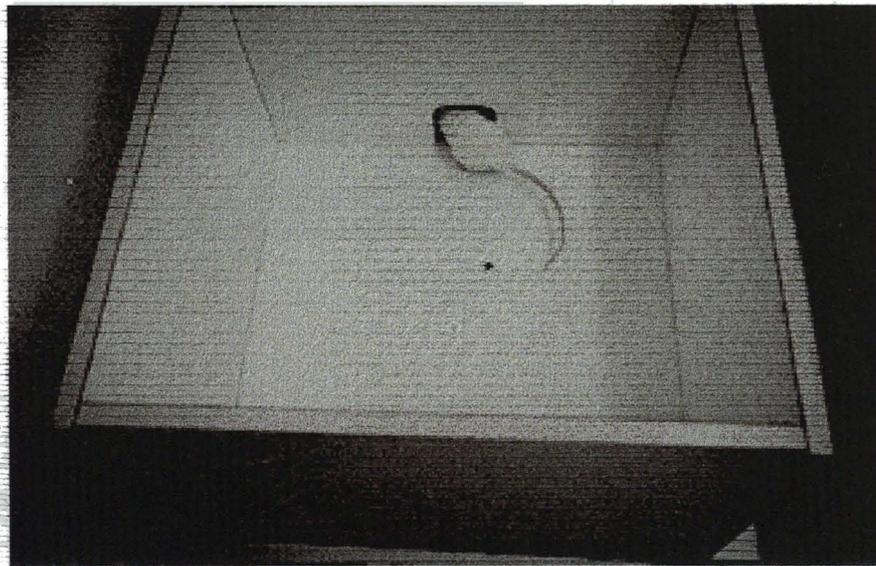


Fig. 2.1.2.6. Evitació passiva .

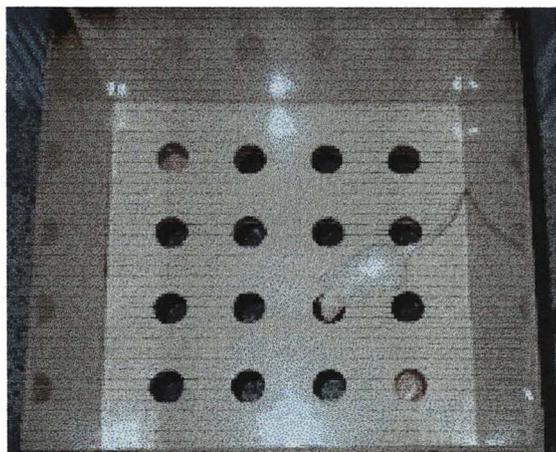


Fig. 2.1.2.7. Test de Boissier.

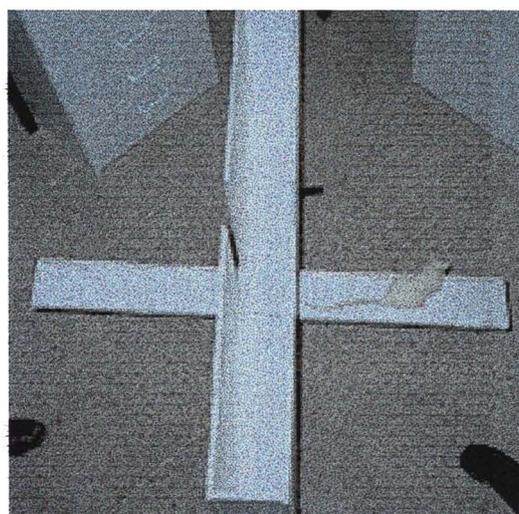


Fig. 2.1.2.8. Laberint elevat.

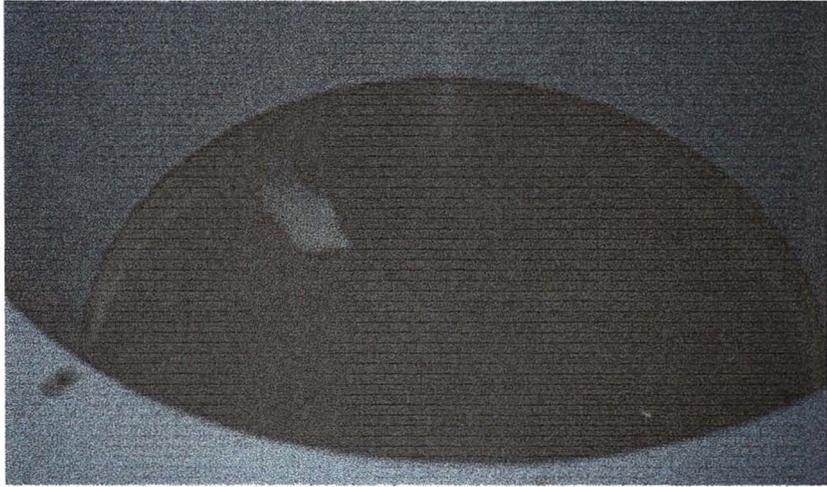


Fig. 2.1.2.9. Camp obert.

2.1.4. Histologia i anàlisi morfològica

Els animals assignats a l'obtenció de mostres histològiques de l'hipocamp van ser anestesiats amb èter i perfusionats a través del ventricle esquerre, via aorta ascendent, primer amb 150 ml de solució salina al 0,9% (en 5 minuts) i posteriorment amb 400 ml de paraformaldehid al 4% en tampó fosfat 1 M i a l'1,5% d'àcid pícric (en 20 minuts). La perfusió vascular es va realitzar mitjançant una bomba d'infusió-extracció (Harvard Apparatus mod 55-2222).

Després d'extreure el cervell es deixava 24 hores en postfixació a la mateixa solució i posteriorment es procedia a tenyir el teixit seguint la versió modificada del mètode Golgi en talls de Gabbott i Somogyi (1894). Prèviament a la tinció, el cervell era seccionat en talls coronals de 150 µm amb un vibratom en un bany de dicromat potàssic en aigua destil·lada al 3% i incubats durant 24 hores en aquesta solució. Després d'un rentat amb aigua destil·lada es dipositaven els talls, lleugerament assecats amb paper de filtre, entre dos portes que es mantenien junts mitjançant gomes elàstiques. Els portes eren col·locats en una solució de nitrat de plata al 1.5% permetent la impregnació per capilaritat i evitant la formació de precipitats de plata. Després de 24 hores d'incubació a les fosques i a temperatura ambient es rentaven els talls i deshidrataven progressivament. Un cop deshidratats els talls es muntaven definitivament sobre els portes per a la posterior anàlisi morfològica.

En aquesta anàlisi es va emprar un microscopi òptic (Nikon, mod. Optiphot-2) amb una càmera lúcida (Nikon, mod. drawing tube L) per dibuixar les mostres seleccionades. Les neurones van ser dibuixades a 625 augments i la dendrita sobre la qual es comptaven les espines dendrítiques, a 1.552,5 augments. La localització

aproximada s'anotava sobre un esquema de 6 seccions coronals que recullen tot l'eix anteroposterior de la formació hipocampal. Es van revisar totes les mostres i es van seleccionar aquelles neurones piramidals de les regions de CA1 i CA3 amb una tinció fosca i consistent i que no tenien precipitats ni neurones que impedissin fer una observació clara. Es va intentar obtenir tantes mostres com fos possible fins a un màxim de quatre mostres per cada paràmetre i per individu, i si les neurones aptes per al dibuix no eren completes es dibuixava parcialment l'arbre apical, basal o la dendrita corresponent amb les espines.

Els paràmetres avaluats foren:

- a) zona inicial de la dendrita primària apical sense arboritzacions;
- b) nombre de dendrites primàries de l'arbre apical;
- c) en radis de 50 μ (des del centre del soma) nombre de dendrites que creuaven el radi dibuixat, arboritzacions i finalització de dendrites dins d'aquest radi, a l'arbre apical;
- d) densitat d'espines dendrítiques per cada 10 micròmetres de la dendrita terciària més lateral de l'arbre apical;
- e) nombre de dendrites primàries a l'arbre basal;
- f) en radis de 50 μ (des del centre del soma), nombre de dendrites que creuaven el radi dibuixat, arboritzacions i finalització de dendrites dins d'aquest radi, a l'arbre basal;
- g) densitat d'espines en la dendrita secundària més lateral de l'arbre basal.

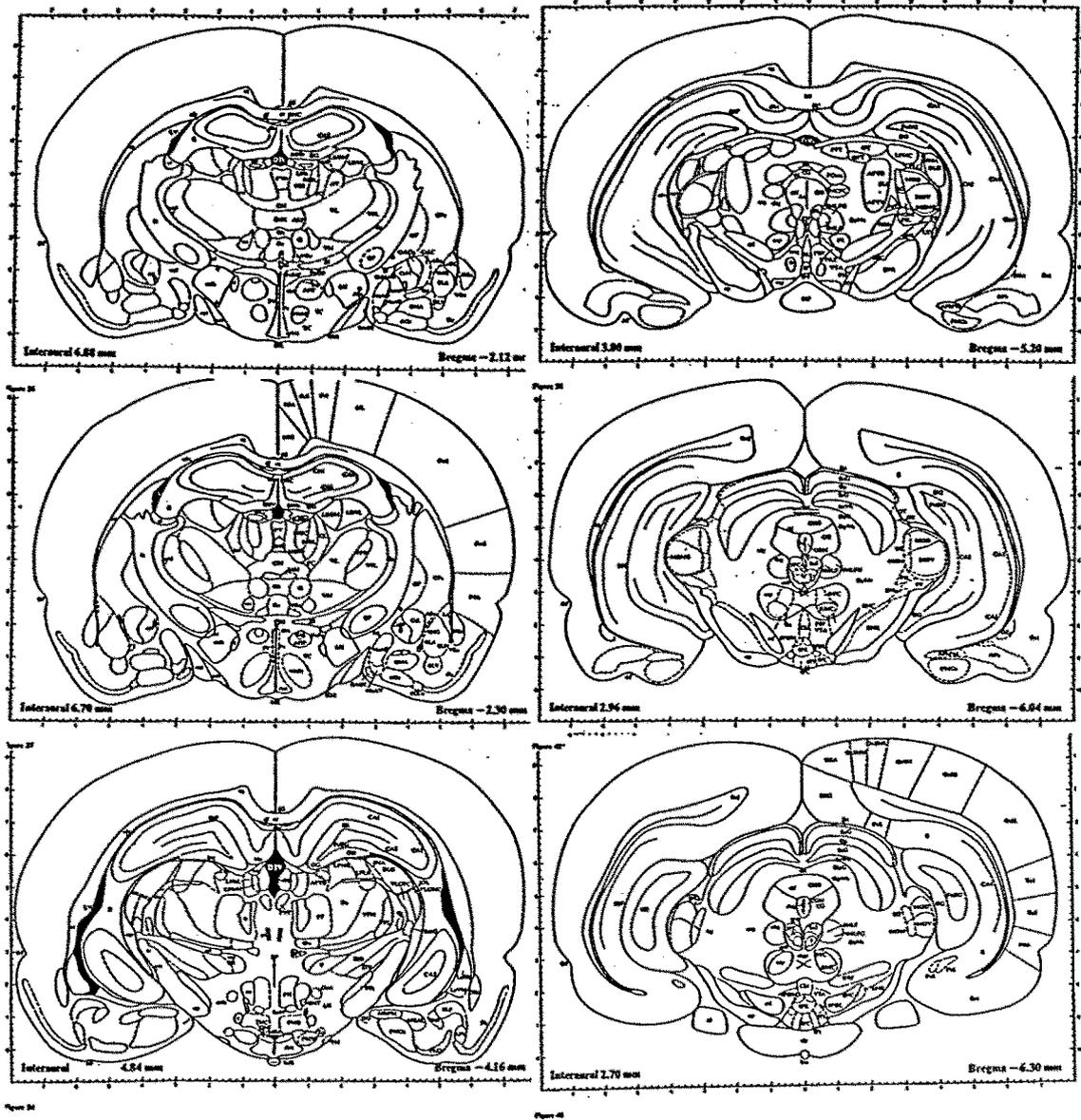


Fig. 2.1.4.1. Esquema de les 6 seccions coronals de l'hipocamp on s'anotaven les neurones dibuixades.

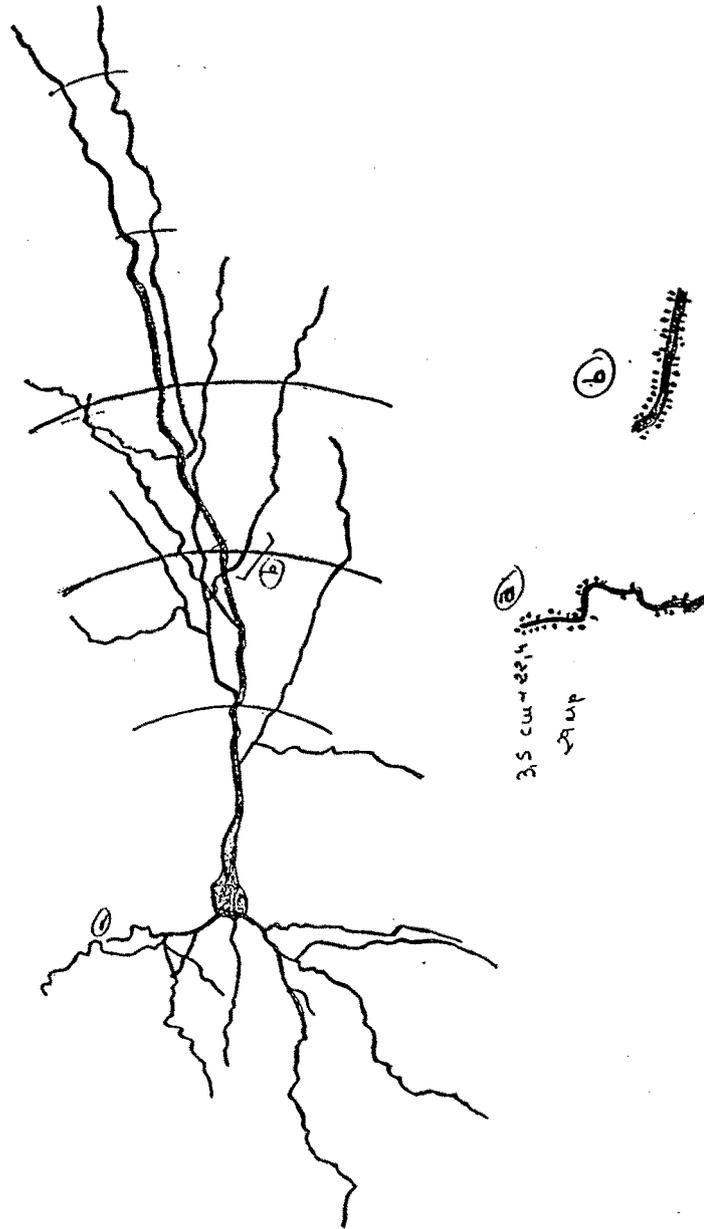


Fig. 2.1.4.2. Dibuix d'una neurona CA1.

2.1.5. Anàlisi estadística

A. Estat tiroïdal

La comprovació de les hipòtesis plantejades es va realitzar mitjançant diferents procediments estadístics amb el suport del paquet informàtic d'SPSS/PC.

Per comprovar l'estat tiroïdal de l'animal es van avaluar els nivells plasmàtics de T4 en sang i l'evolució del pes de l'animal. En el primer cas es va fer una anàlisi de la variància per a dades independents i es van aplicar contrastos ortogonals. Per avaluar l'efecte del tractament en l'evolució del pes es van sotmetre les mesures recollides a l'anàlisi de la variància de dades independents per comprovar que l'afectació s'havia produït en cadascuna de les edats en que s'havia pesat l'animal. Una anàlisi de la variància per a dissenys de mesures repetides ens va permetre comprovar l'efecte del tractament sobre l'adquisició de pes paral·lel al creixement. I es van aplicar els contrastos polinòmics que ens informen de la funció polinòmica que ajusta millor les mesures observades.

B. Conducta individual

Atès que les múltiples variables dependents mesuraven aspectes conductuals comuns per a la major part de les variables, es va emprar l'anàlisi de la variància per a dissenys unifactorials multivariants, que ens va permetre analitzar la variabilitat comuna de les variables dependents incloses a l'anàlisi, per comprovar les diferències esperades entre els tres grups experimentals. D'acord amb criteris de contingut explicatiu, i corroborat per la matriu de

correlacions, es van agrupar les mesures recollides en els grups següents, tot i la dificultat de trobar una etiqueta idònia per cadascuna de les agrupacions:

- La **psicomotricitat** en què s'agrupen les diferents mesures de motricitat i reflexos recollides.
- **L'activitat exploratòria** a on s'avalua la variabilitat comuna de les mesures de deambulació i aixecades del test de Boissier i del segon camp obert (en el qual l'animal ja s'ha adaptat a la gàbia). Sota aquest títol s'han agrupat les mesures d'activitat vertical i horitzontal.
- La **conducta d'exploració** en la qual s'inclouen les mesures de canvis, latència, temps al compartiment il·luminat i mirades del test llum-foscor, i el nombre de forats explorats al test de Boissier. Sota aquest títol s'han agrupat les mesures en les que semblen primar més l'exploració que l'activitat.

File i Wardwill (1975) van estandarditzar una modificació del test de Boissier en la que només hi havia 4 forats, enlloc dels 16 originals, perquè creien que era difícil diferenciar entre l'exploració i l'activitat locomotriu ja que en l'aparell original amb els 16 forats és difícil l'activitat locomotora sense que hi hagi contacte amb algun forat. Els estudis realitzats van mostrar que en rates el nombre de forats explorats en l'aparell de 4 forats correlacionava amb el nombre de forats explorats en l'aparell de 16 forats. Per tant podem considerar que el nombre de forats explorats es correspon amb una mesura més neta d'exploració i es diferent de l'activitat locomotriu.

- **L'estat ansiós** de l'animal on s'utilitzen les variables temps

d'exploració del braç obert i les entrades als braços oberts i tancats en el laberint elevat.

- **La reactivitat emocional**, que inclou les diferents mesures de defecació.

Per avaluar si hi ha diferències en l'adaptació entre els diferents grups experimentals es va analitzar les mesures dels dos camps oberts (defecacions, deambulacions i aixecades) mitjançant l'anàlisi de la variància de mesures repetides.

L'aprenentatge realitzat en el test d'evitació passiva es va estudiar mitjançant l'anàlisi de la variància de mesures independents i de mesures repetides de dos factors. Amb l'anàlisi, a més de comprovar l'efecte dels fàrmacs, volíem valorar quin dels dos aparells era més sensible i el possible efecte d'habitució abans comentat.

C. Conducta social

En l'anàlisi de les mesures obtingudes en el test d'interacció social també es va emprar l'anàlisi de la variància per a dissenys multivariants en algunes mesures. En aquest cas les variables dependents es van agrupar de la manera següent:

- **Conducta social activa**: en la qual s'inclouen pautes com ara passar per sobre o per sota, aproximacions i seguiment, evitacions

o fugides i olorar o *grooming* social. També es van contrastar les mitjanes obtingudes pels diferents grups experimentals en el sumatori total de les pautes socials.

- **L'activitat exploratòria de l'entorn en una situació d'interacció social**, en la qual es recollia la variabilitat comuna de deambulacions i investigacions.
- Els nivells d'estrès indicats per la conducta d'autoneteja o *self-grooming* i d'immobilitat o *freezing*.

La conducta social passiva es va avaluar per a l'anàlisi de la variància de dades independents.

Totes les pautes havien estat mesurades en temps i en freqüència, i els dos tipus de mesures es van avaluar de manera paral·lela.

D. Morfologia de les neurones piramidals

Les mesures obtingudes en la morfoplanimetria es van analitzar individualment. Per això es van considerar els paràmetres de les diferents neurones de manera global sense tenir present la seva localització anteroposterior, i es van analitzar en una segona anàlisi avaluant per separat les neurones corresponents a la zona anterior i les corresponents a la zona posterior i en un tercer en funció de si pertanyien a l'hemisferi dret o a l'esquerre.

2.2. RESULTATS

A. Estat tiroïdal

A.1. Nivells plasmàtics de T4 en sang

El 63,5% de la variabilitat observada en els nivells plasmàtics de T4 és produïda per l'administració de tiroxina o methimazole. Els tres grups experimentals difereixen significativament en el sentit esperat.

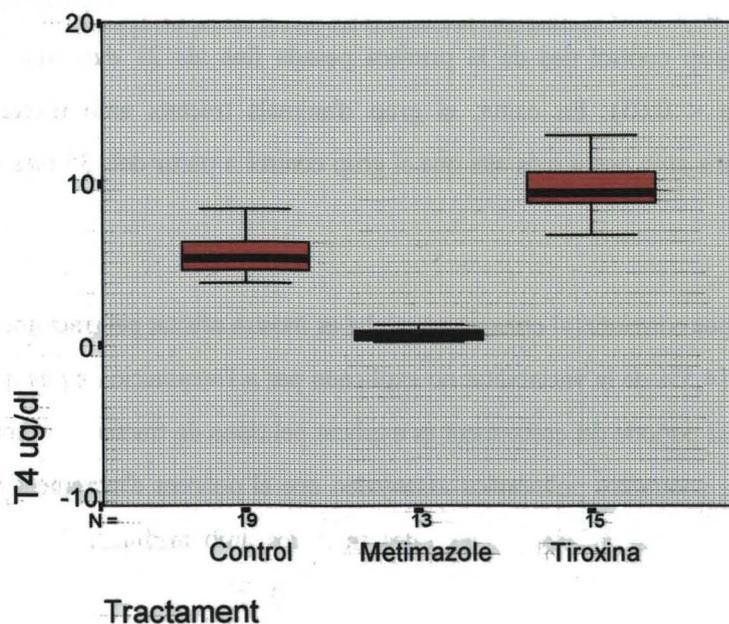


Fig. A.1. Nivells de T4 en funció del tractament administrat.

* Les llistes de l'anàlisi estadística estan recollides a l'annex .

A.2. Evolució del pes

Es va analitzar com afectava el tractament en el pes de cada edat i l'evolució de la corba de pes dels 41 animals (13 controls, 14 tractats amb methimazole i 14 tractats amb tiroxina) dels quals disposàvem totes les dades de pes.

L'anàlisi de la variància per a mesures repetides mostra que el 89,97% de la variabilitat observada en les mesures de pes dels diferents grups experimentals és atribuïble a l'efecte del tractament administrat ($f = 170$, $p < 0,001$). Els contrastos indiquen que el grup d'animals tractats amb methimazole pesa significativament menys que el grup control des de la primera pesada fins als 21 dies (dia de deslletament) ($p < 0,05$). En canvi, el grup d'animals tractats amb tiroxina comencen a diferir amb pesos més alts que el grup control a partir dels 35 dies ($p < 0,001$).

L'adquisició de pes correlatiu al creixement també es mostra afectat pel tractament administrat. El 14,5% de la variabilitat no explicada per a l'adquisició de pes que es dona en aquest període del creixement és explicat pel tipus de tractament rebut ($p < 0,001$). Els contrastos polinòmics assenyalen que el pendent d'increment de pes és significativament inferior en les rates tractades amb methimazole ($p < 0,001$) i superior en les tractades amb tiroxina ($p < 0,05$).

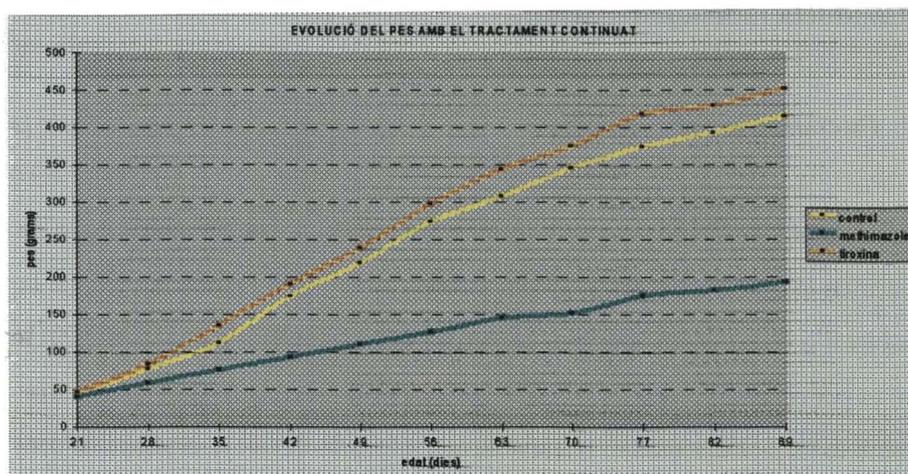


Fig. A.2. Evolució del pes en funció del tractament administrat