

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

D. Efecte de l'administració de tiroxina en la morfologia de les neurones piramidals de l'hipocamp

D.1. Dades globals

D.11. Dades globals: camp CA1

D.1.1.A. Arbre apical

Ni l'administració de tiroxina ni les dosis van afectar significativament la longitud inicial sense arboritzacions de la dendrita primària apical.

Tampoc el nombre de dendrites primàries no presentava diferències significatives entre grups experimentals.

Dins del radi de les primeres 50 micres, el tractament explicaria el 3,6% de la variabilitat observada en el nombre de dendrites que finalitzen dins d'aquest radi de manera quasi significativa ($f = 3,4$, $p = 0,06$). El grup control té més dendrites que finalitzen dins del radi. Les dosis també estarien relacionades amb aquest paràmetre de manera quasi significativa ($f = 2,2$, $p = 0,08$) i això explica el 7,7% de la variabilitat. La funció polinòmica de segon grau en forma de U seria la que millor descriuria aquesta relació.

Els paràmetres corresponents als radis de 100 a 250 micres no van presentar diferències significatives en funció del tractament o la dosi.

Els diferents grups experimentals no presentaven diferències significatives pel que fa a la densitat de les espines apicals.

D.1.1.B. Arbre basal

L'administració de tiroxina no va afectar, de manera conjunta, el nombre de dendrites primàries basals, però sí la dosi. El 8,2% de la variabilitat observada s'atribueix a la dosi emprada ($f = 2,7$, $p = 0,05$), i aquesta relació quedaria descrita per una funció lineal decreixent.

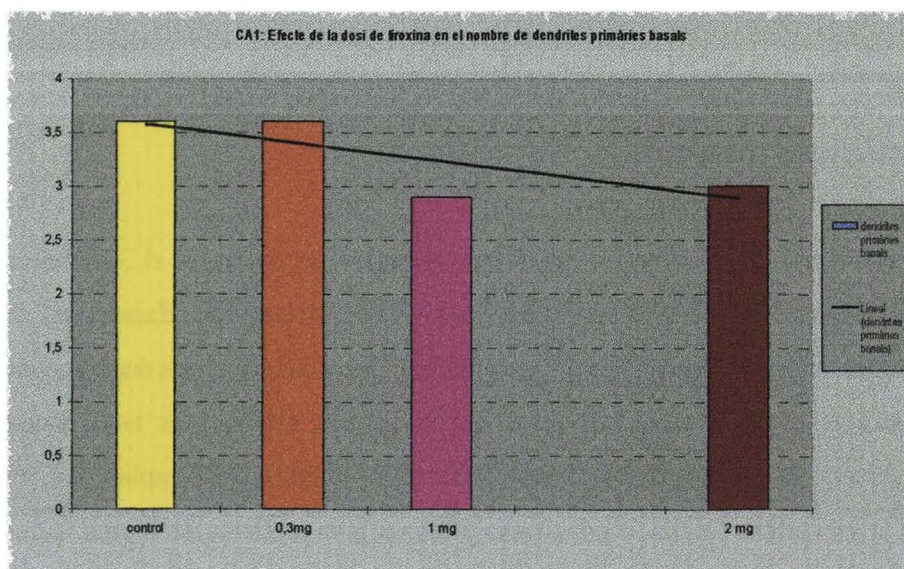


Fig. D.1.1.B.1. Efecte de la dosi en relació amb el nombre de dendrites primàries basals.

Dins de les primeres 50 micres l'administració de tiroxina explica el 5,1% de la variabilitat observada en el nombre de dendrites que creuen el radi ($f = 4,9$, $p <$

0,05), en el sentit que el grup control té més creuaments que el grup que va estar tractat amb tiroxina. El 8,8% de la variabilitat dels creuaments seguiria una relació dosidependent de creuaments ($f = 2,8$, $p < 0,05$) i una funció polinòmica de tercer grau seria la que millor explicaria aquesta relació. Així mateix, el tractament explica el 5,6% de la variabilitat observada en el nombre d'arboritzacions dins del radi ($f = 5,4$, $p < 0,05$), també en el sentit que el grup control presenta més arboritzacions. El 10,7% de la variabilitat observada en aquest paràmetre respondria a un efecte dosidependent ($f = 3,5$, $p < 0,05$) i aquesta relació seguiria una funció lineal decreixent. Així, també, les dosis es relacionen significativament amb el nombre de dendrites que finalitzen dins d'aquesta zona ($f = 3,6$, $p < 0,05$). La variabilitat explicada és del 10% i la funció que millor descriuria aquesta relació és una funció polinòmica de tercer grau.

En el radi de 100 micres, malgrat que el tractament, de manera conjunta no afecti els paràmetres, la dosi explica el 17,8% de la variabilitat observada en el nombre de creuaments ($f = 3,8$, $p < 0,05$). La funció que millor descriuria aquesta relació és una polinòmica de tercer grau.

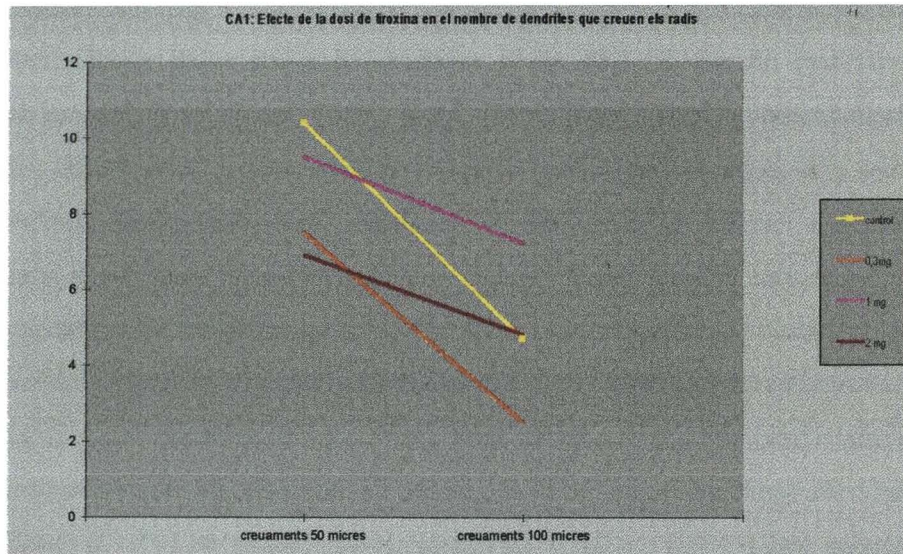


Fig. D.1.1.B.2. Efecte de la dosi en el nombre de creuaments.

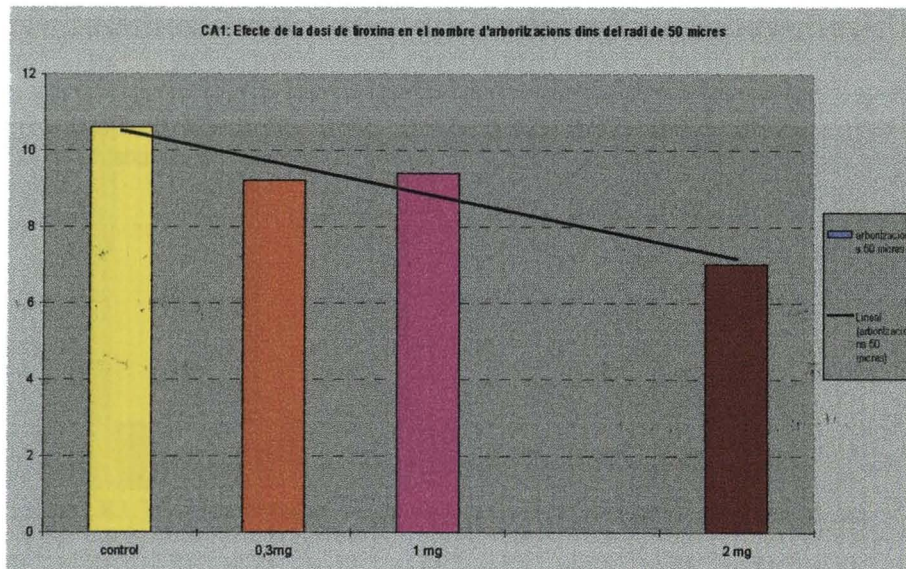


Fig. D.1.1.B.3. Efecte de la dosi en el nombre d'arboritzacions en el radi de 50 micres.

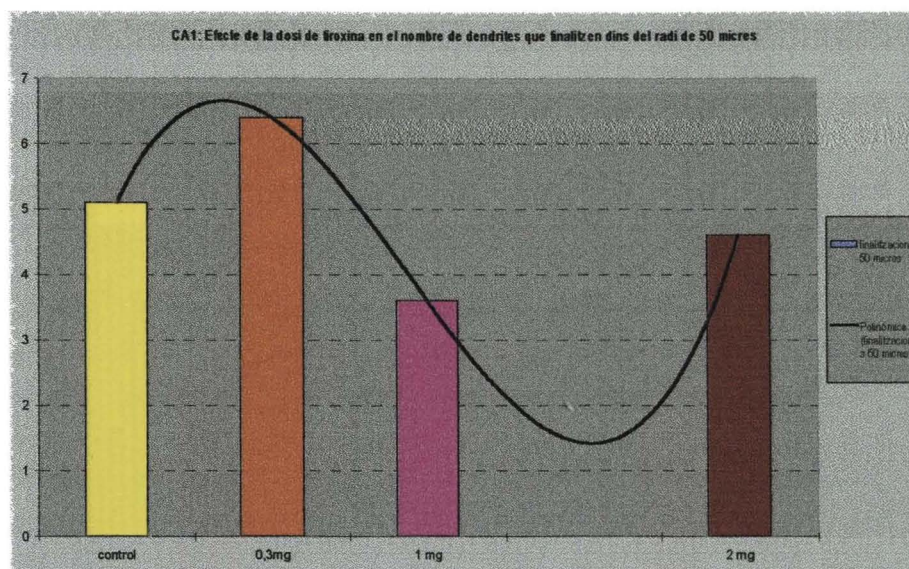


Fig. D.1.1.B.4. Efecte de la dosi en el nombre de dendrites que finalitzen dins del radi de 50 micres.

El tractament afectaria de manera quasi significativa ($f = 3,5$, $p = 0,06$) el 3,8% de la variabilitat observada, en el sentit que el grup que ha rebut tiroxina té una major densitat d'espines basals. No es van observar que aquest paràmetre guardés una relació dosiddependent amb la tiroxina.

D.1.2. Dades globals: camp CA3

D.1.2.A. Arbre apical

L'administració de tiroxina afecta el 15.4% de la variabilitat observada en la longitud de la zona inicial sense arboritzacions de la dendrita primària apical ($f =$

13,9, $p < 0,001$) allargant aquesta franja. Aquest efecte és dosiddependent ($f = 4,7$, $p < 0,01$) afecta el 17,2% de la variabilitat. La funció que millor descriuria aquesta relació és una funció polinòmica de segon grau en forma de U invertida.

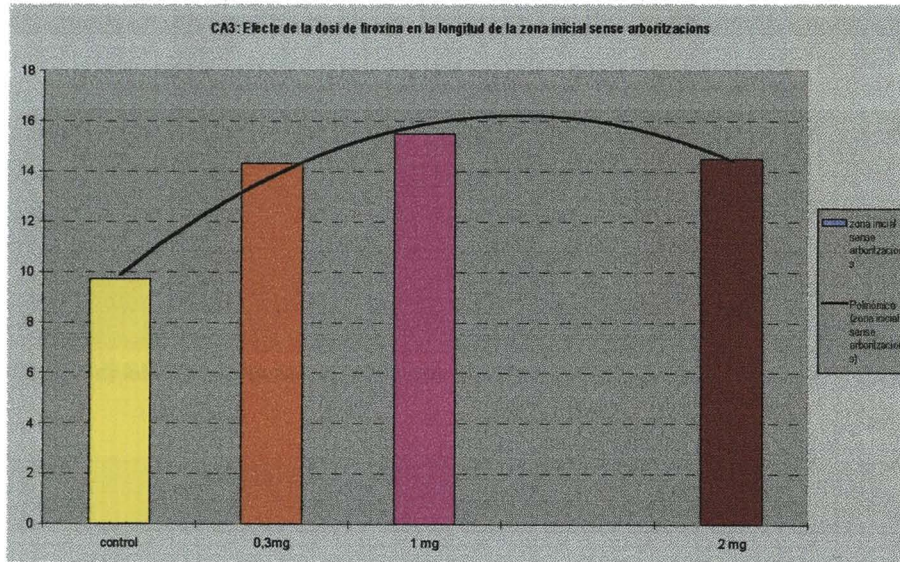


Fig. D.1.2.A.1. Efecte de la dosi pel que fa a la longitud de la zona inicial sense arboritzacions.

El 15,3% de la variabilitat estaria provocada per l'administració de tiroxina ($f = 11$, $p < 0,01$), que reduiria el nombre de dendrites primàries apicals. Aquest efecte és dosiddependent ($f = 4,1$, $p < 0,05$) i involucra el 17,4% de la variabilitat. Una funció polinòmica de tercer grau seria la que millor descriuria aquest efecte.

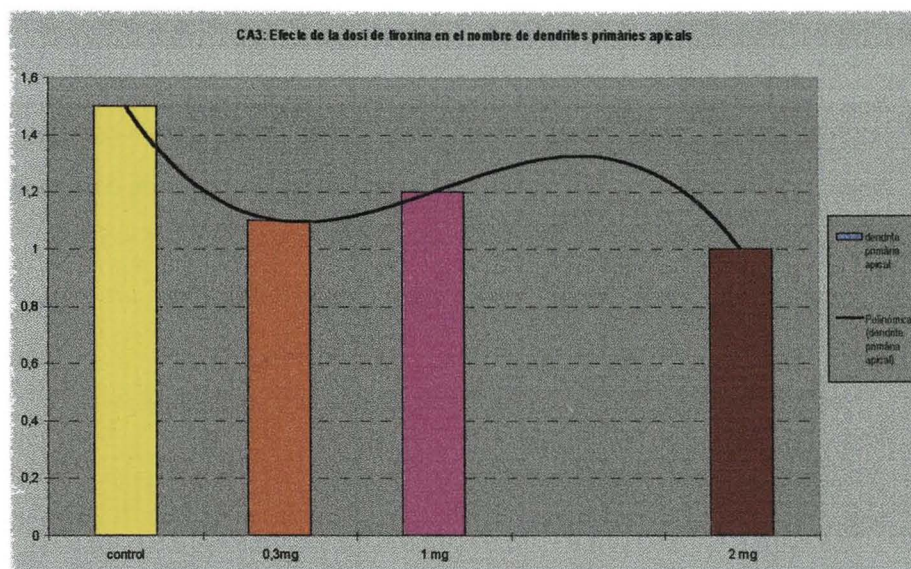


Fig. D12A2. Efecte de la dosi de tiroxina en el nombre de dendrites primàries apicals.

Dins del radi de 50 micres l'administració de tiroxina afecta el 15,3% de la variabilitat observada en els creuaments ($f = 11$, $p < 0,01$) i en disminueix el nombre. Aquest efecte seria dosidependent ($f = 3,8$, $p < 0,05$) i involucra el 16,7% de la variabilitat. La funció que millor s'adaptaria a aquesta relació seria una polinòmica de segon grau en forma de U. Així mateix, el 9,4% de la variabilitat en el nombre d'arboritzacions estaria provocada per l'administració de tiroxina ($f = 6,2$, $p < 0,05$) i disminuiria les arboritzacions. La relació dosidependent en el nombre d'arboritzacions que afectaria el 11,3% de la variabilitat tendria a ser significativa estadísticament ($f = 2,5$, $p = 0,07$).

En el radi de les 100 micres el tractament afectaria el 6,8% de la variabilitat observada en el nombre de dendrites que finalitzen dins d'aquest radi de manera

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

quasi significativa ($f = 3,3$, $p = 0,07$) i en reduiria el nombre. Però aquesta relació no es va mostrar que depengués de la dosi.

En el radi de les 150 micres el 20,7% de la variabilitat en el nombre de dendrites que creuen el radi s'atribuïria a l'efecte de l'administració de tiroxina ($f = 5,8$, $p < 0,05$), que n'augmentaria el nombre. Aquest efecte no és dosiddependent.

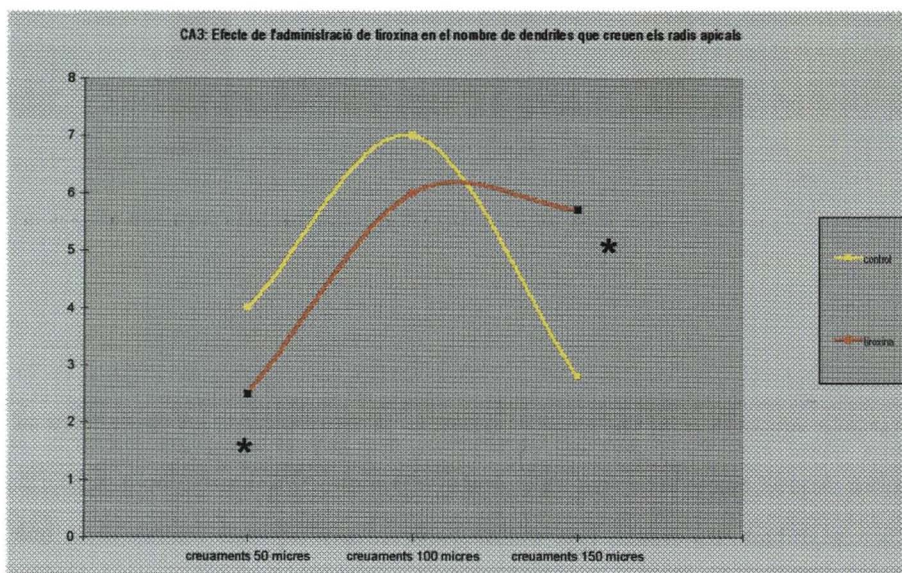


Fig. D.1.2.A.3. Efecte de l'administració de tiroxina en el nombre de dendrites que creuen els radis.

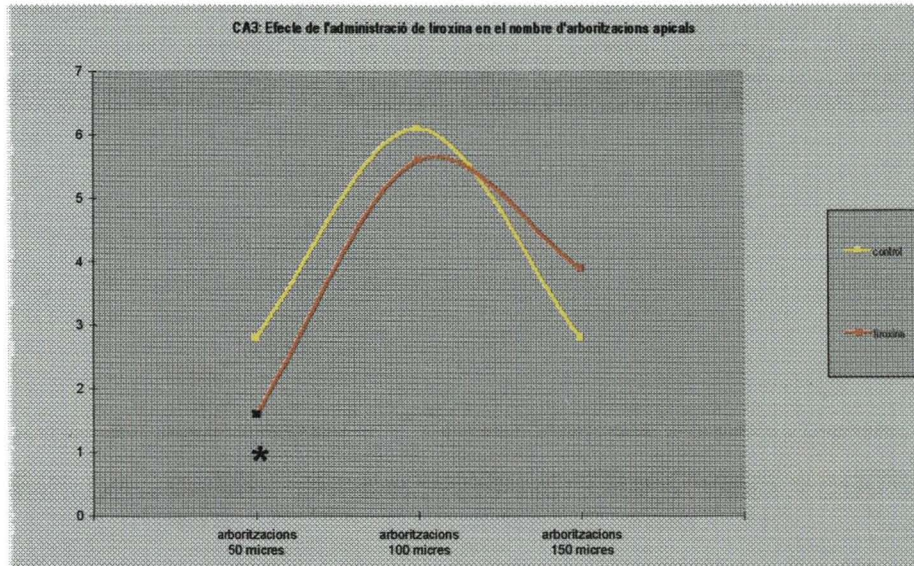


Fig. D.1.2.A.4. Efecte de l'administració de tiroxina en el nombre d'arboritzacions dins del radi

L'administració de tiroxina afecta el 14,8% de la variabilitat observada en la densitat de les espines apicals ($f = 9,5$, $p < 0,01$) i n'augmenta la densitat. Aquest efecte és dosiddependent ($f = 6,0$, $p < 0,01$) i afecta el 25,4% de la variabilitat. Una funció polinòmica de segon grau en forma de U invertida seria la que millor s'ajustaria a aquesta relació.

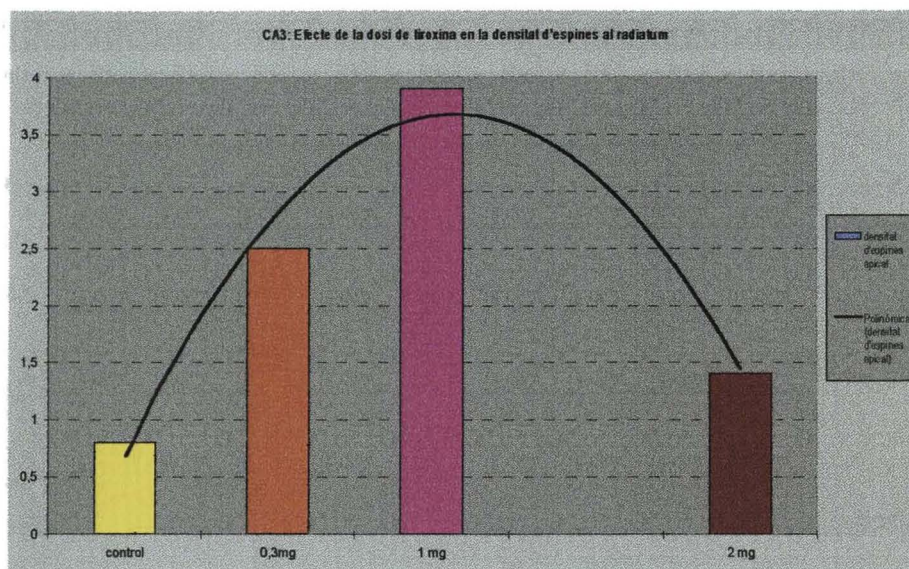


Fig. D.1.2.A.5. Efecte de la dosi en la densitat de les espines apicals.

D.1.2.B. Arbre basal

L'administració de tiroxina afecta el 8,5% de la variabilitat observada en el nombre de dendrites primàries basals ($f = 7,1$, $p < 0,01$) i en redueix el nombre. Aquesta afectació és dosiddependent ($f = 2,7$, $p = 0,05$) i implica el 9,8% de la variabilitat. La funció que millor descriuria aquesta relació seria una polinòmica de segon grau en forma de U.

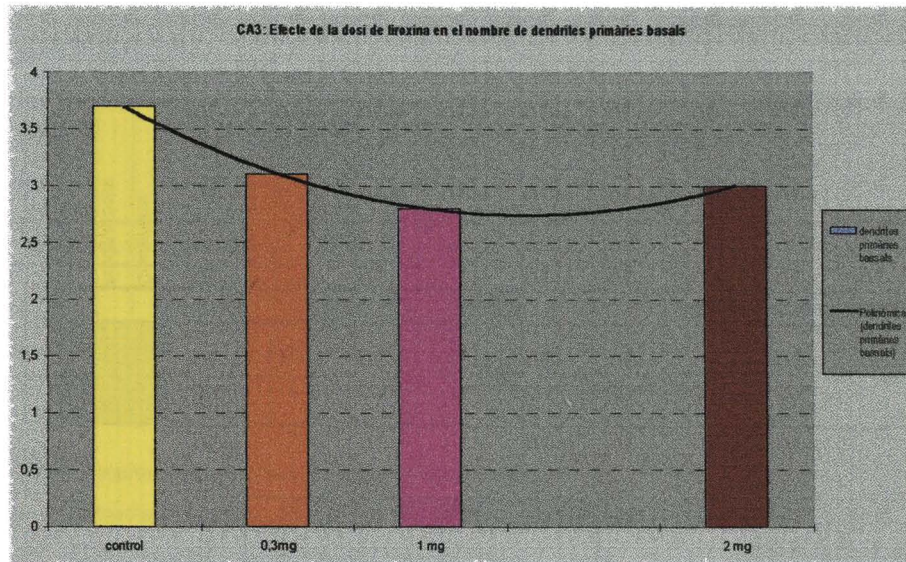


Fig. D.1.2.B.1. Efecte de la dosi de tiroxina administrada en el nombre de dendrites primàries basals.

Els paràmetres corresponents a les 50 i 100 micres no es veuen afectats per l'administració de tiroxina.

En el radi de les 150 micres l'administració de tiroxina afectaria de manera quasi significativa el 17,2% de la variabilitat observada en el nombre de dendrites que finalitzen ($f = 3,4$, $p = 0,08$) i en reduiria el nombre. El 37,2% de la variabilitat observada en aquest paràmetre seria dosiddependent quasi significativament ($f = 3,5$, $p = 0,06$). La funció que millor descriuria aquesta relació seria una polinòmica de segon grau en forma de U.

L'administració de tiroxina no afectaria la densitat de les espines basals.

En la taula D1 es poden observar els resultats comentats de forma sintètica.

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

CA1 APICAL

		RADI 50			RADI 100			RADI 150			RADI 200			RADI 250		
		P a r à m e t r e														
		ZONA INICIAL	DENDRITES	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	DENSITAT D'ES
TIROXINA VS CONTROL																
DOSIS	1er															
	2on					U										
	3er															

CA1 BASAL

		RADI 50			RADI 100			RADI 150				
		P a r à m e t r e										
		DENDRITES 1àries	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	DENSITAT D'ESPINES
TIROXINA VS CONTROL												+
DOSIS	1er											
	2on											
	3er											

CA3 APICAL

		RADI 50			RADI 100			RADI 150					
		P a r à m e t r e											
		ZONA INICIAL	DENDRITES 1àries	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	DENSITAT D'ESPINES
TIROXINA VS CONTROL		+											+
DOSIS	1er												
	2on												
	3er												

CA3 BASAL

		RADI 50			RADI 100			RADI 150				
		DENDRITES 1arles	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	DENSITAT
TIROXINA VS CONTROL		-									-	
DOSIS	1er											
	2on	U									U	
	3er											

-	El tractament disminueix de forma significativa
-	El tractament disminueix de forma propera a la significació estadística
+	El tractament incrementa significativament
+	El tractament incrementa quasi significativament
	Existeix una relació dosi-depenent significativa
	Existeix una relació dosi-depenent quasi significativa
	No és valorable per manca de mostra

Taula D.1. Efecte de la dosi de tiroxina administrada en les neurones de CA1 i CA3.

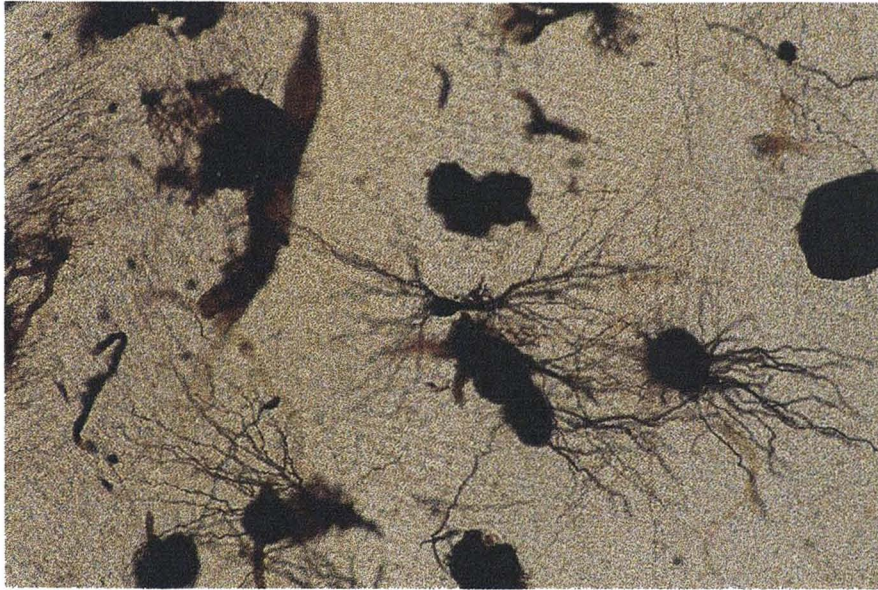


Fig. D.1.1.. Neurona del camp CA1 del grup control

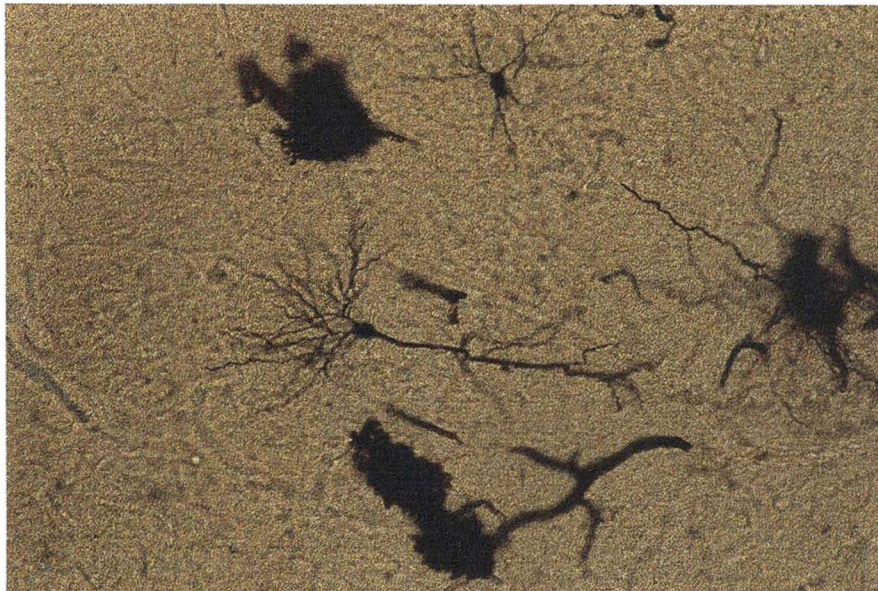


Fig. D.1.2.. Neurona del camp CA1 del grup tiroxina.

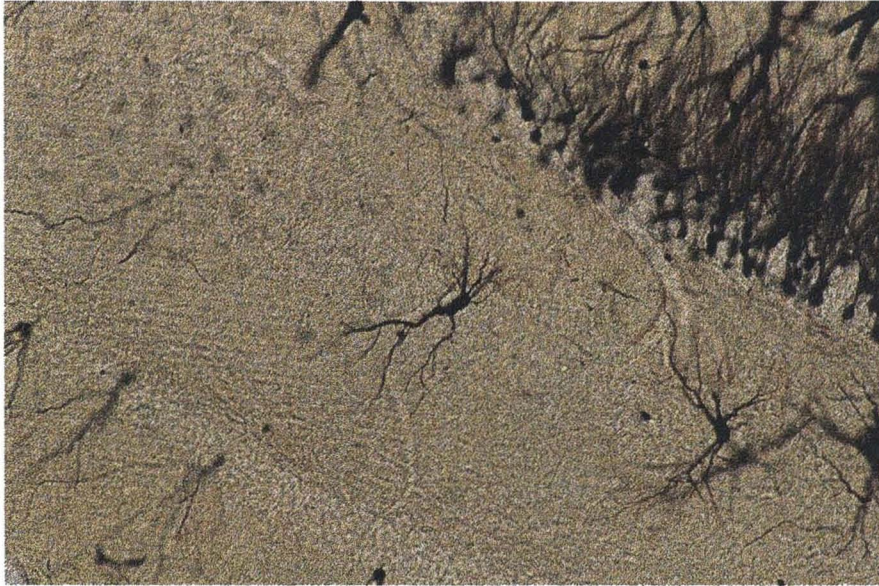


Fig. D.1.3. Neurones del camp CA3 del grup control.

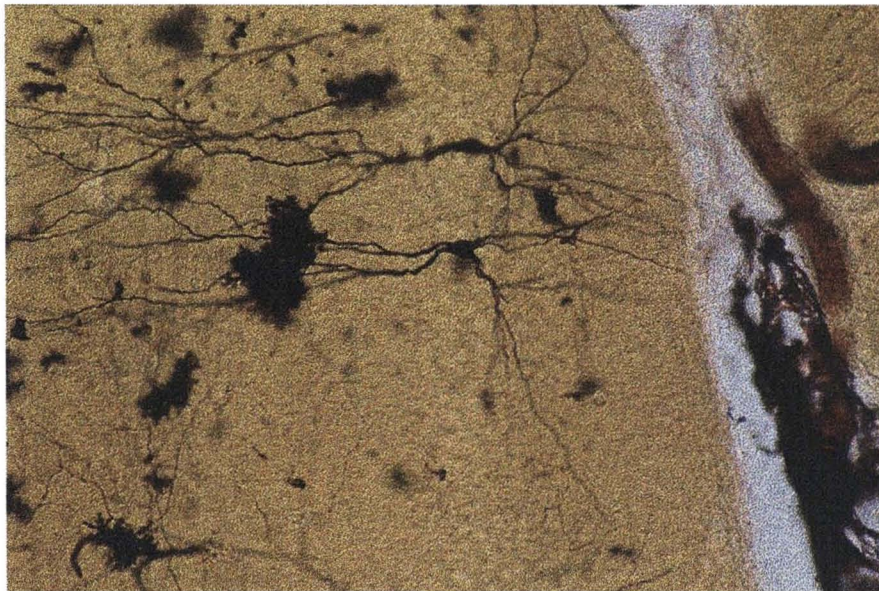


Fig. D.1.4. Neurones del camp CA3 del grup tiroxina.

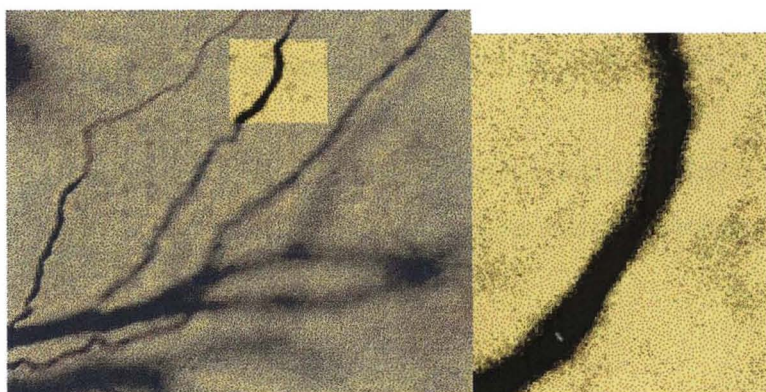


Fig. D.1.5. Dendrita apical del camp CA1: grup control.

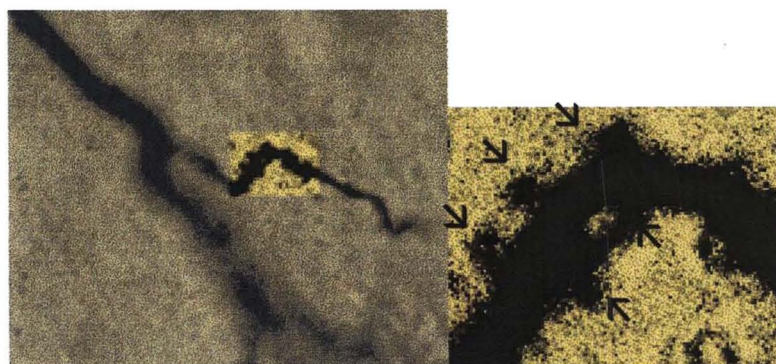


Fig. D.1.6. Dendrita apical del camp CA1: grup tiroxina.

D.2. Dades per regions

D.2.1. Regió anterior: camp CA1

Només es va poder analitzar l'efecte de l'administració de la tiroxina de manera conjunta ja que hi mancava mostra suficient per analitzar l'efecte de la dosi.

D.2.1A. Arbre apical

L'administració de tiroxina no va afectar la longitud de la zona inicial sense arboritzacions de la dendrita primària apical.

Tampoc no es va veure afectat el nombre de dendrites primàries apicals.

Atès que mancava mostra, només es van poder analitzar els paràmetres corresponents al radi de 50 micres, els quals no es van mostrar sensibles a l'efecte de l'administració de tiroxina.

No es va observar diferències significatives pel que fa a la densitat de les espines dels dos grups.

D.2.1.B. Arbre basal

L'administració de tiroxina no va afectar el nombre de dendrites primàries apicals.

En el radi de 50 micres el 21,8% de la variabilitat observada en el nombre d'arboritzacions és el resultat de l'efecte de l'administració de tiroxina ($f = 5,8$, $p < 0,05$), que en disminuiria el nombre.

El radi de 100 micres no es veu afectat per l'administració de tiroxina.

L'administració de tiroxina no va afectar la densitat de les espines basals.

D.2.2. Regió posterior: camp CA1

D.2.2.A. Arbre apical

No es va observar cap efecte significatiu ni pel que fa a l'administració de la tiroxina ni a la dosi.

El nombre de dendrites primàries apicals no es va veure afectat pel tractament ni per la dosi.

En el radi de 50 micres el 5,3% de la variabilitat en el nombre de dendrites que finalitzen dins del radi està produïda per l'administració de tiroxina ($f = 4,1$, $p < 0,05$), que disminueix el nombre de dendrites que finalitzen dins del radi. Aquest efecte és dosiddependent ($f = 2,7$, $p < 0,05$), la qual explica el 11,1% de la variabilitat. La funció que millor s'ajustaria a aquest efecte és una polinòmica de segon grau en forma de U.

En els radis de 100 a 250 micres l'administració de tiroxina no afecta significativament els paràmetres estudiats.

No s'observa una afectació significativa ni de l'administració de tiroxina ni de la dosi en relació amb la densitat de les espines de l'estrat radial.

D.2.2.B. Arbre basal

El 4,9% de la variabilitat observada en el nombre de dendrites primàries basals seria atribuïble a l'efecte de l'administració de tiroxina de forma quasi significativa ($f = 3,6$, $p = 0,06$). La tiroxina disminuiria el nombre de dendrites primàries basals. Aquest efecte és dosidependent ($f = 2,9$, $p < 0,05$) i involucra l'11,3% de la variabilitat. La funció que millor s'ajustaria a aquesta relació és una funció lineal decreixent.

En el radi de 50 micres un 4,5% de la variabilitat observada en el nombre de creuaments seria atribuïble de manera quasi significativa ($f = 3,2$, $p = 0,07$) a l'administració de tiroxina, la qual disminuiria el nombre de dendrites que creuen aquest radi. Aquest efecte no seguiria una relació dosidependent. Ni les arboritzacions ni les finalitzacions es veurien afectades per l'administració de tiroxina, globalment però sí que s'observa una relació dosidependent que s'aproximaria a la significació estadística amb el nombre de finalitzacions. Aquesta relació afectaria el 10,6% de la variabilitat de les finalitzacions ($f = 2,5$, $p = 0,06$) i descriuria una funció polinòmica de tercer grau.

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

En el radi de 100 micres, tot i que de manera conjunta l'administració de tiroxina no afecta el nombre de creuaments, hi ha una relació dosidependent en aquest paràmetre ($f = 2,8$, $p = 0,05$), que implica el 18,6 % de la variabilitat. Aquesta relació quedaria descrita per una funció polinòmica de tercer grau.

El 12,1% de la variabilitat de la densitat d'espines està afectada per l'administració de tiroxina ($f = 9,2$, $p < 0,01$), que n'augmenta la densitat. Aquest efecte és dosidependent ($f = 3,5$, $p < 0,05$) i afecta el 14% de la variabilitat i la relació quedaria descrita per una funció polinòmica de segon grau en forma de U invertida.

Les dades comentades poden observar-se a la taula D.2.A.

CA1 APICAL ANTERIOR		P a r à m e t r e	RADI 50			RADI 100			RADI 150			RADI 200			RADI 250			DENSITAT D'ESPINES		
			ZONA INICIAL	DENDRITES 1àries	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments		Arboritzacions	Finalitzacions
TIROXINA VS CONTROL																				
DOSIS	1er																			
	2on																			
	3er																			

CA1 APICAL POSTERIOR

	Paràmetre	RADI 50			RADI 100			RADI 150			RADI 200			RADI 250			DENSITAT D'ESP
		ZONA INICIAL	DENDRITES 1 ^à rie	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions		
TIROXINA VS CONTROL																	
DOSIS	1er																
	2on																
	3er																

CA1 BASAL ANTERIOR

	Paràmetre	RADI 50			RADI 100			RADI 150			DENSITAT D'ESPINES
		DENDRITES 1 ^à ries	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	
TIROXINA VS CONTROL											
DOSIS	1er										
	2on										
	3er										

CA1 BASAL POSTERIOR

	Paràmetre	RADI 50			RADI 100			RADI 150			DENSITAT D'ESPINES
		DENDRITES 1 ^à ries	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	
TIROXINA VS CONTROL		-	-								+
DOSIS	1er										
	2on										
	3er										

-	El tractament disminueix de forma significativa
-	El tractament disminueix de forma propera a la significació estadística
+	El tractament incrementa significativament
+	El tractament incrementa quasi significativament
	Existeix una relació dosi-depenent significativa
	Existeix una relació dosi-depenent quasi significativa
	No és valorable per manca de mostra

Taula D.2.A. Efecte de la dosi de tiroxina administrada en les neurones de CA1 de la zona anterior i posterior.

D.2.3. Regió anterior: camp CA3

D.2.3.A. Arbre apical

El 17,2% de la variabilitat observada en la longitud de la zona inicial sense arboritzacions està ocasionada per l'administració de tiroxina ($f = 5,8$, $p < 0,05$) la qual augmenta aquesta distància. Aquest efecte seguiria una relació de dosi-dependència de manera quasi significativa ($f = 2,7$, $p = 0,08$).

No hi ha un efecte significatiu de l'administració de tiroxina pel que fa al nombre de dendrites apicals primàries.

En el radi de 50 micres el 12,9% de la variabilitat del nombre de dendrites que creuen el radi seria atribuïble de manera quasi significativa a l'administració de tiroxina ($f = 3,6$, $p = 0,07$), que disminuiria el nombre de creuaments. Aquest efecte no va mostrar que segueix una relació de dosidependent significativa.

Els paràmetres del radi de 100 micres no es van mostrar sensibles a l'efecte de la tiroxina.

L'administració de tiroxina afectaria de manera quasi significativa ($f = 3,8$, $p = 0,06$) el 17,4% de la variabilitat de la densitat de les espines i augmentaria aquesta densitat. També de manera propera a la significació, s'establiria una relació de dosidependència ($f = 2,9$, $p = 0,08$) que afectaria al 25,8% de la variabilitat. La funció que millor descriuria aquesta relació seria una lineal creixent.

D.2.3.B. Arbre basal

L'administració de tiroxina no afectaria el nombre de dendrites primàries basals de manera significativa.

L'administració de tiroxina tampoc no afecta els paràmetres de creuaments, arboritzacions i finalitzacions basals.

Tampoc la densitat de les espines basals no es veu afectada per l'administració de tiroxina.

D.2.4. Regió posterior: camp CA3

D.2.4.A. Arbre apical

El 9,1% de la variabilitat observada en la longitud del segment inicial sense arboritzacions estaria determinat per l'administració de tiroxina ($f = 4,0$, $p = 0,05$) que n'augmentaria la longitud. Aquest efecte no seguiria una relació dosidependent significativa.

El nombre de dendrites primàries apicals no es va veure afectat per l'administració de tiroxina.

Dins de les 50 primeres micres l'11% de la variabilitat observada en el nombre de dendrites que creuen el radi seria ocasionada per l'administració de tiroxina ($f = 4,1$, $p = 0,05$), que en disminuiria el nombre. Així mateix, el 8,6% de la variabilitat del nombre d'arboritzacions seria atribuïble de manera quasi significativa a l'efecte de la tiroxina ($f = 3,1$, $p = 0,09$) que també en reduiria el nombre.

El radi de les 100 micres no es veu afectat per l'administració de tiroxina.

Globalment la tiroxina no afecta la densitat de les espines del radiatum però l'anàlisi de dosis mostra que hi ha un efecte dosidependent ($f = 3,8$, $p < 0,05$) que explica el 25,9% de la variabilitat observada i que la funció que millor s'ajustaria a aquesta relació seria una polinòmica de segon grau en forma de U invertida.

D.2.4.B. Arbre basal

L'administració de tiroxina és responsable del 9,7% de la variabilitat en el nombre de dendrites primàries basals ($f = 5,0$, $p < 0,05$). L'administració de tiroxina disminueix el nombre de dendrites primàries basals. Aquest efecte seria dosidependent de forma quasi significativa ($f = 2,5$, $p = 0,07$) i això explica el 14,3% de la variabilitat. Una funció polinòmica de segon grau en forma de U seria la que millor descriuria aquesta relació.

Els paràmetres del primer radi de 50 micres no presenten diferències significatives en funció del tractament o la dosi.

En el radi de 100 micres el 9,9% de la variabilitat del nombre de dendrites que creuen el radi seria atribuïble a l'efecte de l'administració de tiroxina de manera quasi significativa ($f = 3,3$, $p = 0,08$). L'administració de tiroxina disminuiria el nombre de creuaments. Aquest paràmetre, però no presenta una relació dosidependent.

No s'observa que l'administració de tiroxina afecti de manera significativa la densitat de les espines basals.

En la taula D.2.B. es poden observar un esquema sintètic de les dades obtingudes.

CA3 APICAL ANTERIOR

		RADI 50			RADI 100			RADI 150					
		Paràmetre											
		ZONA INICIAL	DENDRITES tàries	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	DENSITAT D'ESPINES
TIROXINA VS CONTROL		+	-										+
DOSIS	1er												
	2on												
	3er												

CA3 APICAL POSTERIOR

		RADI 50			RADI 100			RADI 150					
		Paràmetre											
		ZONA INICIAL	DENDRITES tàries	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	DENSITAT D'ESPINES
TIROXINA VS CONTROL		+		-	+								
DOSIS	1er												
	2on												
	3er												

CA3 BASAL ANTERIOR

		RADI 50			RADI 100			RADI 150				
		Paràmetre										
		DENDRITES tàries	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	DENSITAT D'ESPINES
TIROXINA VS CONTROL												
DOSIS	1er											
	2on											
	3er											

CA3 BASAL POSTERIOR

TIROXINA VS CONTROL	DENSITAT D'E	RADI 50			RADI 100			RADI 150				
		DENDRITES l'arborescència	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	
1er		-				-						
2on		U										
3er												

-	El tractament disminueix de forma significativa
-	El tractament disminueix de forma propera a la significació estadística
+	El tractament incrementa significativament
+	El tractament incrementa quasi significativament
	Existeix una relació dosi-depenent significativa
	Existeix una relació dosi-depenent quasi significativa
	No és valorable per manca de mostra

Taula D.2.B. Efecte de la dosi de tiroxina administrada en les neurones de CA3 de la zona anterior i posterior.

D.3. Dades per hemisferis

D.3.1. Hemisferi dret: camp CA1

D.3.1.A. Arbre apical

Tot i que globalment no s'observen diferències significatives entre els dos grups pel que fa a la longitud del segment inicial sense arboritzacions, l'anàlisi de les dosis mostra que aquestes expliquen el 27,8% de la variabilitat ($f = 4,3$, $P < 0,05$) i que la relació dosiddependent quedaria descrita per una funció polinòmica de segon grau en forma de U invertida.

No s'observen diferències significatives pel que fa al nombre de dendrites primàries apicals.

Dins del radi de 50 micres l'administració de tiroxina disminueix el nombre de creuaments. La tiroxina és la responsable del 16% de la variabilitat en el nombre de dendrites que creuen el radi ($f = 6,5$, $p < 0,05$). El 19,6% de la variabilitat d'aquest paràmetre seguiria una relació dosiddependent de manera quasi significativa ($f = 2,6$, $p = 0,07$), relació que quedaria descrita per una funció polinòmica de segon grau en forma de U. Així mateix, el 20% de la variabilitat en el nombre d'arboritzacions és produïda per la tiroxina ($f = 8,7$, $p < 0,01$), que en reduiria el nombre. El 28,3% d'aquesta variabilitat seguiria una relació dosiddependent que ajustaria a una funció polinòmica de segon grau en forma de U ($f = 4,2$, $p < 0,05$). També la tiroxina va afectar el 9,8% de la variabilitat en el nombre de dendrites que finalitzen ($f = 3,9$, $p = 0,05$) i en va disminuir el nombre.

El 20,2% d'aquesta variabilitat seguiria una relació dosiddependent de manera quasi significativa ($f = 2,7$, $p = 0,07$).

En el radi de 100 micres el 10 % de la variabilitat dels creuaments s'explica per l'efecte de la tiroxina de forma quasi significativa ($f = 3,9$, $p = 0,06$) que disminuiria el nombre de dendrites que creuen el radi. El 18,6% d'aquesta variable seguiria una relació dosiddependent de forma propera a la significació estadística ($f = 2,4$, $p = 0,08$).

En el radi de les 150 micres el 13,6% de la variabilitat observada en el nombre de creuaments seria ocasionada per l'administració de tiroxina ($f = 4,1$, $p = 0,05$) que en disminuiria el nombre. El 39,6% de la variabilitat d'aquest paràmetre seguiria una relació dosiddependent ($f = 5,2$, $p < 0,01$) i quedaria descrita per una funció polinòmica de tercer grau. El 14,4% de la variabilitat observada en el nombre d'arboritzacions és atribuïble a l'efecte de l'administració de tiroxina ($f = 4,3$, $p < 0,05$), que en disminuiria el nombre.

En el radi de 200 micres, el 21,2% de la variabilitat observada en el nombre de dendrites que finalitzen seria produïda per la tiroxina ($f = 4,8$, $p < 0,05$), que en disminuiria el nombre. El 32,2% de la variabilitat d'aquest paràmetre seguiria una relació dosiddependent de manera propera a la significació ($f = 3,3$, $p = 0,07$).

Cap dels paràmetres del radi de 250 micres no es va veure afectat pel tractament.

No es va observar que l'administració de tiroxina afectes de manera significativa la densitat de les espines del radiatum.

D.3.1.B. Arbre basal

L'administració de tiroxina no va afectar de manera significativa el nombre de dendrites primàries basals.

Dins del radi de les primeres 50 micres el 10,8% de la variabilitat observada en el nombre de dendrites que creuen els radis estaria provocada per l'administració de tiroxina ($f = 4,0$, $p = 0,05$) que en disminuiria la quantitat, encara que aquest efecte no seguiria una relació dosidependent. La tiroxina no afecta de manera global el nombre de dendrites que finalitzen dins del radi de les 50 micres, però el 24,8% de la variabilitat d'aquest paràmetre seguiria una relació dosidependent ($f = 3,4$, $p < 0,05$). La funció polinòmica de tercer grau seria la que explicaria millor aquesta relació.

En el radi de les 100 micres el 26,5% de la variabilitat del nombre de creuaments estaria ocasionat per l'administració de tiroxina ($f = 7,0$, $p < 0,05$) que en disminuiria el nombre. Aquesta variable no manté una relació dosidependent significativa.

L'administració de tiroxina no té un efecte significatiu pel que fa a la densitat de les espines basals.

D.3.2. Hemisferi esquerre: camp CA1

D.3.2.A. Arbre apical

L'administració de tiroxina no va tenir un efecte significatiu en relació a la longitud del segment inicial sense arboritzacions.

El 7,3% de la variabilitat observada en les dendrites primàries és atribuïble, de manera propera a la significació estadística, a l'administració de tiroxina ($f = 3,8$, $p = 0,056$), que en disminuiria el nombre.

L'administració de tiroxina no afecta els paràmetres del radi de 50 i 100 micres.

En el radi de 150 micres el 12% de la variabilitat del nombre de creuaments seria atribuïble a l'efecte de la tiroxina de manera propera a la significació ($f = 3,7$, $p = 0,06$), que n'augmentaria el nombre, però aquest efecte no segueix una relació dosiddependent.

L'administració de tiroxina no afecta la densitat de les espines del radiatum.

D.3.2.B. Arbre basal

Malgrat que l'administració de tiroxina no afecta, globalment, el nombre de dendrites primàries basals, l'11,6% de la variabilitat observada seguiria una relació dosiddependent de manera pròxima a la significació estadística ($f = 2,3$, $p = 0,09$). Aquesta relació quedaria descrita per una funció lineal decreixent.

Dins del radi de 50 micres el 8,1% de la variabilitat del nombre d'arboritzacions és atribuïble a l'efecte de la tiroxina ($f = 4,9$, $p < 0,05$), que en disminuiria el nombre. El 13,2% de la variabilitat d'aquest paràmetre seguiria una relació dosidependent de forma quasi significativa ($f = 2,7$, $p = 0,056$) i una funció lineal decreixent seria la que millor descriuria aquesta relació. Així mateix, el 5,3% de la variabilitat en el nombre de dendrites que finalitzen dins del radi també seria atribuïble a l'efecte de la tiroxina de manera propera a la significació ($f = 3,2$, $p = 0,08$), la qual disminuiria el nombre de finalitzacions. L'11,5% de la variabilitat del nombre de finalitzacions seguiria una relació dosidependent de manera propera a la significació estadística ($f = 2,3$, $p = 0,09$) i descriuria una relació lineal decreixent.

En el radi de 100 micres, tot i que la tiroxina no afecta de manera global el nombre de dendrites que creuen, sí que s'observa una relació dosidependent en relació amb aquest paràmetre. El 35,9% de la variabilitat d'aquest paràmetre estaria relacionada amb la dosi emprada ($f = 6,0$, $p < 0,01$) i una funció polinòmica de tercer grau seria la que millor s'ajustaria a aquesta relació. Pel que fa al nombre d'arboritzacions el 18,6% de la variabilitat estaria en funció de la dosi emprada de manera quasi significativa ($f = 2,4$, $p = 0,08$) i la funció polinòmica de tercer grau seria la que millor descriuria aquesta relació. D'altra banda, el 8,1% de la variabilitat observada en el nombre de finalitzacions seria atribuïble a l'administració de tiroxina de manera pròxima a la significació ($f = 3,0$, $p = 0,09$), que en disminuiria el nombre. Així mateix, el 23,7% de la variabilitat observada en el nombre de finalitzacions seguiria una relació dosidependent ($f = 3,3$, $p < 0,05$) i seguiria una funció lineal decreixent.

No es van observar efectes significatius de l'administració de tiroxina pel que fa a la densitat de les espines basals.

En la taula D.3.A. es mostren els resultats.

CA1 APICAL H. DRET

Paràmetre	Ària												DENSITAT D'ESP				
	ZONA INICIAL	RADI 50			RADI 100			RADI 150			RADI 200			RADI 250			
		Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	
TIROXINA VS CONTROL		↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑							
DOSIS	1er																
	2on	↓	U	U													
	3er																

CA1 APICAL H. ESQUERRE

Paràmetre	Ària												DENSITAT D'ESP				
	ZONA INICIAL	RADI 50			RADI 100			RADI 150			RADI 200			RADI 250			
		Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	
TIROXINA VS CONTROL		↑						↑									
DOSIS	1er																
	2on																
	3er																

CA1 BASAL
H. DRET

	P a r a m e t r e	RADI 50			RADI 100			RADI 150			D E N S I T A T D ' E
		D E N D R I T E S	C r e u a m e n t s	A r b o r i t z a c i o n s	F i n a l i t z a c i o n s	C r e u a m e n t s	A r b o r i t z a c i o n s	F i n a l i t z a c i o n s	C r e u a m e n t s	A r b o r i t z a c i o n s	
TIROXINA VS CONTROL			-			-					
DOSIS	1er										
	2on										
	3er										

CA1 BASAL
H. ESQUERRE

	P a r a m e t r e	RADI 50			RADI 100			RADI 150			D E N S I T A T D ' E
		D E N D R I T E S	C r e u a m e n t s	A r b o r i t z a c i o n s	F i n a l i t z a c i o n s	C r e u a m e n t s	A r b o r i t z a c i o n s	F i n a l i t z a c i o n s	C r e u a m e n t s	A r b o r i t z a c i o n s	
TIROXINA VS CONTROL			-	-		-					
DOSIS	1er										
	2on										
	3er										

- El tractament disminueix de forma significativa
- El tractament disminueix de forma propera a la significació estadística
- + El tractament incrementa significativament
- + El tractament incrementa quasi significativament
- Existeix una relació dosi-depenent significativa
- Existeix una relació dosi-depenent quasi significativa
- No és valorable per manca de mostra

Taula D.3.A. Efecte de la dosi de tiroxina administrada en les neurones de CA1 de l'hemisferi dret i esquerre.

D.3.3. Hemisferi dret: camp CA3

D.3.3.A. Arbre apical

El 21% de la variabilitat observada en la longitud del segment inicial sense arboritzacions s'explica per l'administració de tiroxina ($f = 5,8$, $p < 0,05$), la qual n'augmentaria la longitud. El 24,2% de la variabilitat mantindria una relació de dosiddependència amb la tiroxina de manera propera a la significació ($f = 2,7$, $p = 0,9$), que podria ser descrita per una funció lineal creixent.

El 14,4% de la variabilitat observada s'explicaria per l'administració de tiroxina de manera quasi significativa ($f = 3,4$, $p = 0,08$) en el sentit de que aquesta reduiria el nombre de dendrites primàries.

Dins del radi de 50 micres el 14,8% de la variabilitat observada en el nombre de dendrites que creuen el radi seria atribuïble a l'efecte de l'administració de tiroxina de manera propera a la significació estadística ($f = 3,5$, $p = 0,07$), la qual disminuiria el nombre de creuaments. Així mateix, el 14,4% de la variabilitat observada en el nombre d'arboritzacions seria atribuïble a l'efecte de la tiroxina de manera pròxima a la significació ($f = 3,6$, $p = 0,07$) la qual també en disminueix el nombre. L'anàlisi de dosis no va mostrar que aquests efectes fossin dosiddependents.

No es van observar diferències significatives en el radi de 100 micres.

La densitat de les espines dendrítiques del radiatum no es va mostrar sensible a l'efecte de l'administració de la tiroxina.

D.3.3.B. Arbre basal

L'administració de tiroxina no va afectar de manera significativa el nombre de dendrites basals primàries.

No es va observar un efecte significatiu de l'administració de tiroxina en els paràmetres corresponents als radis de 50 i 100 micres basals.

La densitat de les espines dendrítiques basals no es va veure afectada per l'administració de tiroxina.

D.3.4. Hemisferi esquerre: camp CA3

D.3.4.A. Arbre apical

L'11,5% de la variabilitat en la longitud del segment inicial sense arboritzacions s'explica per l'administració de tiroxina ($f = 6,0$, $p < 0,05$), que n'augmentaria la longitud. Aquest efecte no va mostrar ser dosi-dependent.

El 14,3% de la variabilitat en el nombre de dendrites primàries apicals s'explica per l'administració de tiroxina ($f = 6,5$, $p < 0,05$), que en disminuïria la quantitat. El 22% de la variabilitat segueix una relació dosidependent ($f = 4,7$, $p < 0,05$), que es descriu amb una funció polinòmica de segon grau en forma de U.

Dins del radi de 50 micres el 12% de la variabilitat observada en el nombre de creuaments s'explica amb l'administració de tiroxina ($f = 5,2$, $p < 0,05$), que en reduiria el nombre. De manera similar, el 9,2% de la variabilitat observada en el nombre de dendrites que finalitzen dins del radi s'explicaria de manera quasi significativa per la tiroxina ($f = 3,8$, $p = 0,06$), que en disminuiria la quantitat.

Els paràmetres corresponents al radi de 100 micres no es van mostrar afectats.

El 18,5% de la variabilitat de la densitat de les espines és ocasionada pel tractament ($f = 7,9$, $p < 0,01$), que augmentaria la quantitat d'espines. El 22,8% de la variabilitat d'aquest paràmetre segueix una relació dosidependent ($f = 5,0$, $p < 0,05$), que seguiria una funció polinòmica de segon grau en forma de U invertida.

D.3.4.B. Arbre basal

El 13% de la variabilitat observada en el nombre de dendrites primàries basals és atribuïble a l'efecte de la tiroxina ($f = 7,3$, $p < 0,01$), que en disminuiria el nombre. El 15,5% de la variabilitat d'aquest paràmetre seguiria una relació dosidependent ($f = 2,9$, $p < 0,05$), que ajustaria a una funció polinòmica en forma de U.

Dins del radi de 50 micres el 6% de la variabilitat observada en el nombre de dendrites que finalitzen dins d'aquest radi és atribuïble a l'administració de tiroxina ($f = 2,9$, $p = 0,09$), que en disminuiria el nombre.

En el radi de 100 micres cap dels paràmetres es va veure afectat de forma significativa pel tractament.

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

La densitat de les espines basals no es va mostrar sensible a l'efecte de l'administració de tiroxina.

Els resultats comentats poden veure's en la taula D.3.B.

CA3 APICAL
H. DRET

		P a r à m e t r e			RADI 50			RADI 100			RADI 150			D E N S I T A T D ' E S P I N E S
		ZONA INICIAL	DENDRITES 1àries	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions		
TIROXINA VS CONTROL		+	-	-	-									
DOSIS		1er	!											
		2on												
		3er												

CA3 APICAL
H. ESQUERRE

		P a r à m e t r e			RADI 50			RADI 100			RADI 150			D E N S I T A T D ' E S P I N E S
		ZONA INICIAL	DENDRITES 1àries	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions		
TIROXINA VS CONTROL		+	-	-	-									+
DOSIS		1er												
		2on	U											U
		3er												

CA3 BASAL
H. DRET

	Paràmetre	RADI 50			RADI 100			RADI 150			DENSITAT D'E
		DENDRITES	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	
TIROXINA VS CONTROL											
DOSIS	1er										
	2on										
	3er										

CA3 BASAL
H. ESQUERRE

	Paràmetre	RADI 50			RADI 100			RADI 150			DENSITAT D'E
		DENDRITES	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	Finalitzacions	Creuaments	Arboritzacions	
TIROXINA VS CONTROL		-			-						
DOSIS	1er										
	2on										
	3er										

- El tractament disminueix de forma significativa
- El tractament disminueix de forma propera a la significació estadística
- El tractament incrementa significativament
- El tractament incrementa quasi significativament
- Existeix una relació dosi-depenent significativa
- Existeix una relació dosi-depenent quasi significativa
- No és valorable per manca de mostra

Taula D.3.B. Efecte de la dosi de tiroxina administrada en les neurones de CA3 de l'hemisferi dret i esquerre.

III DISCUSSIÓ

1. EFECTE DEL DÈFICIT D'HORMONA

1.1. Paràmetres biològics de l'hipotiroïdisme

En aquest treball hem utilitzat dos paràmetres per controlar el distiroïdisme: els nivells plasmàtics de tiroxina en sang, i l'evolució del pes al llarg de tot el procediment experimental.

Pel que fa al primer paràmetre, podem observar que la inducció de l'hipotiroïdisme mitjançant l'administració de methimazole en la beguda és altament efectiva. Així, en l'administració continuada s'observa que apareixen uns nivells amb un valor mitjà de 0,642 µg/dl, mentre que en el tractament adult s'observen uns nivells que van des d'una mitjana de 0,930 µg/dl per a la dosi major fins a una mitjana de 3,306 µg/dl per a la dosi menor. Com es pot veure, l'administració continuada de methimazole des del període prenatal fins a l'acabament del procediment experimental provoca un fort impacte en els nivells de tiroxina, comparables als observats en l'administració adulta de la dosi més elevada. Aquest impacte té tanta importància que la major part dels animals analitzats del tractament crònic i del tractament iniciat en el període puberal que van rebre la dosi més alta de methimazole van presentar uns nivells per sota de la sensibilitat de la tècnica emprada per a l'avaluació d'aquesta hormona, per la qual cosa es van haver d'extrapolat els resultats d'aquests subjectes a partir de les dades de la corba de l'immunoassaig. Un altre aspecte a destacar fou l'existència d'una relació dosidependent que s'observà en els nivells plasmàtics de tiroxina en els animals adults tractats amb methimazole. Així, l'anàlisi de la variància ens mostra que la funció polinòmica que presenta un millor ajust correspon a una funció decreixent lleugerament aplanada en la dosi menor. Aquest aplanament podria ser motivat

per dos aspectes: En primer lloc podria ser que en fer l'extrapolació a partir de la corba de radioimmunoassaig s'hagués disminuït l'efecte real pels esmentats límits de sensibilitat del procediment bioquímic utilitzat. En segon lloc, atès que el methimazole bloqueja el "binding" del iodur amb la tiroxina i també l'acoblament de iodotironines per formar les hormones tiroïdals (Capen i Martín, 1989) caldria pensar en un efecte de saturació en un o tots dos processos abans esmentats. Un fet esperable en el nostre experiment era la major afectació de l'administració de la dosi de 20 mg/ 100 ml des de la pubertat (40 dies) respecte del tractament adult que havíem realitzat en anteriors experiments (Darbra 1994) si bé les diferències no foren molt grans (1,17 vs 1,73).

El segon paràmetre analitzat fou l'evolució del pes corporal. Aquesta variable s'ha utilitzat habitualment per descriure la magnitud de l'hipotiroïdisme provocat. De fet, existeix un gran nombre de dades a la bibliografia que mostren que els dèficits d'hormones tiroïdals cursen amb decrement en el pes corporal (Johanson 1980, Johanson i altres 1980, Walters i Morell 1981, Comer i Norton 1982, Tamasy i altres 1986a, 1986b, Darbra 1994, Darbra i altres 1995). En el nostre estudi l'afectació del pes per l'administració de methimazole té una gran importància, com ho mostra que el tractament representa el 73% i el 90% de la variabilitat comuna observada (en funció del tractament). A més, tant en el tractament crònic com en l'iniciat en el període puberal ràpidament apareixen diferències significatives respecte del grup control, en la primera pesada (21 dies d'edat) en el tractament crònic i, també en la primera pesada, només dos dies després d'iniciar el tractament en els animals adults. L'administració del fàrmac antitiroïdal provoca en els dos períodes d'administració, a més d'una disminució en el pes, un pendent d'increment del pes inferior al del grup control.

1.2. Conducta

1.2.1. *Psicomotricitat: capacitat motriu i reflexos*

En la revisió bibliogràfica ja hem descrit que en general l'hipotiroïdisme produeix un alentiment en l'adquisició de reflexos (Eayrs i Taylor 1951, Eayrs 1955, Sobrian i altres 1976, Hamburg i altres 1977, Johanson i altres 1980, Comer i Norton 1982, Narayan i altres 1982, Wallace i altres 1995, Weller i altres 1996). En els nostres estudis l'avaluació psicomotriu no es realitza fins als 77 dies d'edat, una edat en què tots els animals ja han de tenir presents aquests reflexos. A més, en el cas del tractament adult, els reflexos ja han aparegut a l'edat d'inici del tractament. En els nostres estudis tots els animals mostren uns bons resultats en les diferents proves de la bateria psicomotriu. Aquests resultats coincideixen amb els observats en tractaments perinatals (Darbra i altres 1995) o adults (Darbra 1994), però amb període d'afectació menor. Això no obstant l'anàlisi d'aquesta bateria ens mostra l'existència de diferències tant en el tractament crònic com en el període puberal. En ambdós casos es realitza el reflex de geotàxia negativa més ràpidament i presenten els animals un major temps de permanència en el pla inclinat (tractament crònic) o a la barra penjada (tractament des dels 40 dies). Aquest important efecte (38% i 31.3% de la variabilitat comuna respectivament) és dosidepenent. Atès que, com ja s'ha dit, l'aparició d'aquests reflexos és molt primerenca i estan plenament desenvolupats en tots els subjectes analitzats, les diferències observades s'haurien d'atribuir a diferències comportamentals davant d'aquestes situacions. Factors com la por generada per una situació experimental nova en la qual l'animal està en una situació de perill (intentant no caure en un pla inclinat, suspès en una barra d'on està a punt de caure o al costat d'una alçada

considerable) podrien explicar aquesta millor execució. En realitat s'observaria una menor por a aquestes situacions que comportaria una millor execució.

El fet que els resultats obtinguts es mostrin coincidents en els dos períodes d'afectació semblaria anar a favor d'un efecte activacional de les hormones tiroïdals sobre les estructures neurals implicades directament o indirectament en aquests reflexos. Però en estudis anteriors aquests efectes no s'observaven en animals recuperats d'un hipotiroïdisme perinatal o amb un hipotiroïdisme adult. De fet, quan vam analitzar individualment l'efecte de la dosi emprada en aquests estudis (20 mg/100 ml) tampoc no hi vam observar diferències significatives. Això ens fa pensar que l'increment del període d'afectació (de 17 a 27 dies) no seria la causa de les diferències observades, sinó que indicaria que l'efecte que observem seria conseqüència de la dosi emprada sense menysprear la possibilitat que també fos resultat d'afectar el període puberal.

En tot cas aquests resultats ens indiquen que tots els grups experimentals tenien, a més dels reflexos desenvolupats, una bona capacitat motriu i aquesta no interferiria en l'execució de les proves de la nostra bateria.

1.2.2. Conducta individual

Els animals tractats de manera crònica amb methimazole van mostrar uns índexs majors d'exploració, però sense incrementar l'activitat exploratòria, entenent en aquest darrer cas les conductes lligades a la deambulació i les aixecades. Aquests animals també presentaven un patró conductual similar a l'observat en els animals tractats amb ansiolítics en la prova del laberint elevat. També s'incrementava el

nombre de defecacions però no es va observar cap efecte en l'aprenentatge d'evitació passiva en cap dels dos aparells emprats.

L'administració de methimazole en el període adult no va incrementar l'exploració de manera global, encara que s'observava una certa relació dosiddependent amb alguns paràmetres, ni el patró ansiolític al qual fèiem referència. Sí que es va observar, però, un increment del nombre de defecacions.

En un estudi anterior (Darbra i altres 1995) havíem apreciat que l'administració perinatal de methimazole provocava un increment en l'activitat exploratòria (deambulacions i aixecades), en l'exploració (mirades i menor latència de canvi en la prova llum-foscó) i un comportament de tipus ansiolític en la prova del laberint aixecat (major nombre d'entrades i de temps en els braços oberts). Aquestes conductes no es van mostrar afectades en un altre experiment en què el tractament s'administra en el període adult (Darbra 1994). Quan s'intenta contrastar aquests darrers resultats amb altres estudis que havien abordat l'efecte de l'hipotiroidisme adult apareixen moltes contradiccions difícils d'explicar ja que en aquests experiments no s'havien controlat els nivells plasmàtics de T4. Molts, ni tan sols havien controlat el pes i empraven una gran varietat de procediments i gàbies diferents. L'únic treball en què també es feia servir el camp obert és l'estudi de Fundaro, que troba una disminució de l'activitat després de 7 setmanes d'administrar methimazole en el període adult (Fundaro 1989). Aquest resultat contradictori són difícils d'analitzar. D'una banda, perquè no coneixem l'edat d'inici del tractament (quan els animals pesaven 200 g) ni l'afectació real atès que els nivells de T4 del grup control (2,12 µg/100 ml) queden molt lluny dels valors habituals obtinguts per nosaltres i per altres investigadors (Tamasy i altres 1986a i b, Akaike i altres 1991, Anthony i altres 1993, etc.) a l'entorn de 5 µg/100 ml. A

més no es controla el pes i l'afectació podria ser provocada per una capacitat motriu deteriorada.

Respecte als efectes, que havíem observat en els animals rehabilitats de l'hipotiroïdisme perinatal (increment de l'exploració i patró ansiolític), també apareixen en els animals que han rebut el tractament crònic però no en els que van iniciar el tractament en el període puberal. Aquestes observacions ens farien pensar que es tractaria d'efectes organitzacionals de l'hormona tiroïdal en aquestes conductes.

Però en cap dels experiments aquí presentats no hem observat l'increment d'activitat que havíem observat en animals rehabilitats d'un hipotiroïdisme perinatal. L'augment d'activitat en rates rehabilitades d'un hipotiroïdisme postnatal està descrit en diferents treballs existents a la bibliografia (Schalock i altres 1977, 1979, Hendrich i altres 1984, Comer i Norton 1985, Tamasy i altres 1986a, 1986b, Akaike i altres 1991, Darbra i altres 1995, Goldey i altres 1995). En els estudis en què s'avalua l'hipotiroïdisme crònic no hi ha tanta unanimitat respecte dels efectes sobre l'activitat. D'una banda s'observa una ontogènia de l'activitat motriu alterada (Sobrian i altres 1976) i d'una altra, quan es mesura l'activitat en vida adulta els resultats semblen contradictoris. Així, mentre Sobrian i altres (1976, observen més deambulacions al camp obert als 75 dies d'edat, Rastogi i Singhal (1979) no hi observen diferències; Tamasy i altres (1986a i b) troben una menor activitat a la roda en rates de 50 dies d'edat i Anthony i altres (1993) observen una activitat deprimida en la soca de ratolins hyt/hyt.

Deixant de banda el fet que en uns estudis s'emprin rates i en altres ratolins, un dels factors a considerar és el tipus de tractament emprat, el nivell de distiroïdisme

i la capacitat motriu de l'animal. En aquests experiments el grup de Tamasy administrava PTU (0,1%) a la beguda des del primer dia després del naixement. Malgrat que el nostre tractament tingui un inici anterior i s'administri methimazole, per la qual cosa resulta difícil de comparar, s'observa que als 50 dies d'edat els nivells de T4 plasmàtics en sang dels seus animals eren inferiors a 0,5µg/100ml i tenien pesos que no arribaven a 50 gr als 90 dies d'edat. Els nostres animals hipotiroideos crònics tenien 0.6 µg/100ml i pesaven 193 gr. als 90 dies d'edat. Encara que el grup de Tamasy treballés amb Long-Evans i en aquest experiment s'hagi utilitzat Wistar i les possibles variacions de detecció pel sistema utilitzat per determinar els nivells de T4, és evident que els animals dels estudis de Tamasy estaven greument afectats fins al punt que no van poder estudiar la conducta d'aquests animals quan aquests tenien 90 dies perquè els animals que havien sobreviscut estaven malalts. Per tant, és plausible que els nivells deprimits d'activitat que observaven fossin conseqüència d'una capacitat motriu i un estat físic molt deteriorat més que no pas per l'efecte de l'hipotiroïdisme sobre una funció psicològica. Alguna cosa similar podria succeir amb els ratolins hyt/hyt, que presentaven nivells de 0,3µg/100ml.

En sentit contrari Sobrian i altres (1976) van observar un increment de la locomoció en animals de 75 dies als quals havia tiroïdectomitzat en naixer amb una injecció de I¹³¹ i que havien mostrat una activitat locomotriu deprimida en els primers dies de vida. Aquests investigadors no van controlar els nivells d'hormones tiroïdals en sang en el període adult. El patró d'hiperactivitat en l'adulthood després de nivells baixos en els primers períodes de vida és similar a l'observat en animals recuperats en diversos experiments d'un hipotiroïdisme perinatal, per la qual cosa no seria inversemblant que s'hagués establert algun tipus de mecanisme compensador. El fet que els experimentadors no es trobessin amb problemes de

mort i malalties que se solen observar en hipotiroïdismes greus (Tamasy i altres 1986a i b) aniria en aquest sentit. En tot cas les diferències observades podrien ser ocasionades pel tipus de camp obert que van emprar, que presenta característiques diferents (s'utilitzava llum de fluorescent i l'animal havia estat sotmès repetidament a la prova al llarg del seu desenvolupament) a l'emprat en el present treball.

Aquests efectes diferencials del període perinatal pel que fa a l'activitat ens fa pensar que l'hormona tiroïdal tindria un efecte organitzacional en els períodes primerencs de vida i que la hiperactivitat observada en els animals rehabilitats similar a un hipertiroïdisme respondria al fet que alguns receptors o algunes estructures neurals podrien haver sofert un procés de sensibilització irreversible. Així mateix el patró ansiolític també respondria a un efecte organitzacional ja que no s'observen aquests efectes quan s'administra el methimazole en el període adult.

Diferents sistemes neuroquímics podrien estar implicats en aquestes característiques. En destacariem les monoamines. Així, la manca d'hormones tiroïdals perinatals s'ha vist que disminueix l'activitat dopaminèrgica (Rastogi i Singhal 1979, Dupont i altres 1981, Vaccari i Timiras 1981, Vaccari i altres 1983, Kalaria i Prince 1986) i disminueix els nivells noradrenèrgics (Emlen i altres 1972, Rastogi i Singhal 1979, Smith i altres 1980). De fet la pèrdua de receptors dopaminèrgics (Vaccari i altres 1981) podria implicar una sensibilització d'aquests que podria ser la causa de la hiperactivitat quan l'animal recupera els seus nivells tiroïdals normals.

Els efectes ansiolítics de l'hipotiroïdisme es podrien explicar per l'efecte d'aquest en sistemes neurotransmissors implicats en l'ansietat com són la serotonina i el

GABA. El sistema serotoninèrgic es troba disminuït en l'hipotiroïdisme (Rastogi i Singhal 1974, 1976, Vaccari i altres 1983, Savard i altres 1984), si bé aquest efecte sembla limitat als primers 20 dies després del naixement (Rastogi i Singhal 1974). Així mateix s'ha observat que l'hormona tiroïdal regula l'activitat del receptor GABA (Sandrini i altres 1990, 1992, Abe i altres 1992, Martin i altres 1996).

També s'ha vist una disminució de l'activitat colinèrgica en l'hipotiroïdisme (Kalara i Prince 1985, Chacon i altres 1986, Gould i Butcher 1989, Oh i altres 1991, Juarez de Ku i altres 1994). També és possible que hi estiguin implicats mecanismes hormonals en aquests efectes. Així l'hormona tiroïdal ha estat relacionada amb els mecanismes de retroalimentació de l'eix adrenal (Meaney i altres 1987, Ceccatelli i altres 1992, Shi i altres 1994). Finalment, una darrera possibilitat és que l'efecte es produeixi directament per l'absència d'hormones tiroïdals. Mason i altres (1993) descriuen que la T3 endògena es concentra en els terminals presinàptics, lloc on es produeix la captació cel·lular i la desiodinització de la T4. Aquests aspectes semblarien indicar un possible paper de l'hormona tiroïdal com a neurotransmissor. De fet, alguns autors han postulat la implicació d'alteracions en els mecanismes de transducció de senyals dels receptors tiroïdals, probablement de manera conjunta amb disfuncions dels receptors de corticoides, en els mecanismes fisiopatològics dels trastorns de l'estat d'ànim (Holsboer 1995).

Contràriament a la perseverança descrita a la bibliografia en els animals hipotiroïdes no es va observar un efecte de l'hipotiroïdisme en l'adaptació a la prova del camp obert. S'ha descrit una menor habituació de pautes exploratòries (Davenport i Hennies 1976b, Tamasy 1986a i b, Sobrian i altres 1976) que no s'observen en el nostre estudi. Això no obstant, es difícil analitzar possibles efectes

d'adaptació amb només dues presentacions de la prova per la qual cosa no se'n poden treure conclusions definitives.

L'administració de methimazole augmentaria el nombre de les defecacions tant amb l'administració continuada com amb l'administració iniciada a la pubertat. Aquesta mesura s'ha considerat un bon índex de reactivitat emocional (Broadhurst 1960). En la literatura no es van trobar resultats de l'hipotiroïdisme crònic en la reactivitat emocional a excepció del treball de Sobrian i altres (1976) que no observen diferències en el nombre de defecacions, si bé aquests investigadors havien realitzat les mesures en un camp obert de característiques diferents. De fet, aquest increment del nombre de defecacions observat en l'hipotiroïdisme no l'havíem observat en altres treballs en què l'alteració es produïa en el període perinatal (Darbra i altres 1995) o en el període adult (Darbra 1994). Però quan en el present experiment hem administrat el methimazole a partir de la pubertat tampoc la dosi de 20 mg per si sola no ha estat suficient per incidir significativament en el nombre de defecacions. Com ja hem comentat, aquesta mesura es considera una mesura de reactivitat emocional. En el conjunt de resultats obtinguts aquesta dada sembla anar en contra del perfil ansiolític observat en els animals amb tractament continuat. Una possible explicació a aquesta dada podria ser que un tractament llarg amb methimazole pogués afectar el metabolisme i que aquest fos el resultat d'aquest increment en el nombre de defecacions. Però les dades aportades per Fundarò (1989) en què realitzava un tractament de 7 setmanes van en sentit oposat a les nostres observacions pel que fa a l'hipotiroïdisme, ja que aquesta investigadora trobava un decrement en les defecacions. No obstant això, en varis treballs s'havia observat una major taxa de defecació associada a nivells baixos d'hormona tiroïdal (Feuer i Broadhurst 1962, Watson 1960, Blizard i Chai 1972). Aquest fet va portar a pensar que els animals

reactius tindrien nivells baixos d'hormona tiroïdal (Gray 1993) en sentit contrari al perfil ansiolític observat per nosaltres en el cas dels animals tractats en períodes primerencs, però amb concordança amb el que observem quan hi ha una afectació en el període iniciat a la pubertat. Aquesta discordança en l'efecte del dèficit crònic d'hormona en les mesures de reactivitat emocional podria indicar la possible existència de dos sistemes diferents com podrien ser mecanismes perifèrics i centrals. Aquestes dades ens fan pensar que l'increment del nombre de defecacions que observem seria el resultat de l'afectació del període puberal i que les estructures o sistemes implicats en aquesta reactivitat emocional serien diferents a les estructures implicades en el patró ansiolític observat en el laberint elevat o el camp obert en el període perinatal.

L'administració de methimazole tampoc no va afectar l'aprenentatge d'evitació passiva. De fet, aquests resultats corroboren altres observacions que l'hipotiroïdisme no afectaria aquest tipus d'aprenentatge aversiu (Darbra i altres 1995, Tamasy i altres 1986a i b). Però atesa l'alta variabilitat observada en els resultats no se'n poden extreure conclusions definitives. A més, un altre factor que podria estar distorsionant els resultats emprats és la durada de la presentació d'estímuls. En un estudi no publicat fet al nostre laboratori vam observar que l'hipotiroïdisme perinatal disminuïa aquest aprenentatge als 45 dies d'edat quan el retest s'analitzava fins a un màxim de 30 minuts, mentre que en el present treball el màxim es va establir en 3 minuts. Aquest fet que podria estar limitant l'observació d'un deteriorament d'aquest aprenentatge.

1.2.3. Conducta social

En la conducta social es va observar que el dèficit continuat d'hormona incrementa els contactes socials i redueix l'exploració sense afectar les pautes que han estat relacionades amb l'estrès com són la immobilitat i l'autoneteja (van Erp i altres 1994). Aquest patró és similar a l'observat quan s'administra fàrmacs ansiolítics i va en el mateix sentit als resultats obtinguts en el laberint elevat en l'apartat anterior. De fet, aquesta prova, igual que la del laberint elevat, va ser dissenyada per avaluar els efectes dels fàrmacs ansiolítics. Contràriament quan el dèficit es produeix des de l'inici de la pubertat l'efecte és l'oposat a l'anteriorment indicat. Els contactes socials disminueixen, s'incrementa l'exploració i la vulnerabilitat a l'estrès.

La quantificació de les pautes es va realitzar amb un programa que ens indicava el percentatge del temps global (10 minuts) que s'emprava en cada pauta. Per tant, la valoració de les dades s'ha de realitzar més en la perspectiva de la distribució del temps emprat en les diferents pautes que no pas en l'increment o decrement d'una pauta concreta en relació amb el grup control. És per això que el menor temps emprat en explorar l'entorn dels individus que van rebre el tractament de methimazole s'ha d'interpretar en el sentit que durant els 10 minuts van estar fent més pautes de contacte social que d'exploració de l'entorn. Aquestes dades anirien en el mateix sentit del que havíem comentat respecte al patró ansiolític observat en el laberint elevat.

Efectes similars a l'administració crònica, però en menor grau, havíem obtingut en un experiment previ en què havíem administrat methimazole en el període perinatal i els animals es recuperaven del distiroïdisme en aturar el tractament

(Darbra 1994). Així mateix, quan es va administrar el methimazole a partir del període puberal també es van observar respostes de tipus ansiós com ja havíem observat en altres treballs (Darbra 1994).

No obstant això un dels efectes que no vam observar en el període adult (Darbra 1994) i que sí que es va observar en el present treball és l'increment de pautes que s'han relacionat amb l'estrès (l'autoneteja i la immobilització). De fet, tampoc la dosi estàndard no va ser suficient per introduir diferències significatives en aquestes pautes. Aquests efectes diferencials tant podrien ser ocasionats per l'increment de la dosi com per l'afectació del període puberal.

Aquest patró ansiogènic i l'increment de la vulnerabilitat a l'estrès dels animals tractats a partir de la pubertat no s'observava en els animals que havien rebut el tractament de manera continuada, ni quan en experiments anteriors havíem afectat selectivament el període perinatal. Sembla que aquest efecte es limitaria a un efecte activacional sobre un substrat neural diferent dels individus que han sofert l'hipotiroidisme des dels primers estadis del desenvolupament. O potser l'efecte ansiolític induït en el període perinatal contrarrestaria els efectes ansiogènics provocats per l'absència d'hormona en el període adult.

1.3. Morfologia neuronal

De les dades globals obtingudes de l'anàlisi morfològica realitzada en el cas del tractament continuat podem destacar dos efectes principals:

- a) una major densitat de les espines dendrítiques en el camp CA3;
- b) una menor arborització dendrítica en el camp CA1.

En relació amb la densitat de les espines dendrítiques podem observar un increment molt notable en l'anàlisi de l'arbre apical (23,2% de la variància) del grup que va rebre el tractament crònic.

Pel que fa al tractament realitzat en el període iniciat a la pubertat podem destacar un increment en el nombre d'espines dendrítiques en el camp CA3. En aquest cas l'increment s'observa tant en l'arbre apical (17,2% de la variància) com en l'arbre basal (5,2%). Això no obstant, la densitat de les espines dendrítiques en l'arbre apical presenta una relació dosidependent línia, mentre que en el cas de l'arbre basal trobem una relació dosidependent en forma d' U invertida.

D'acord amb el que hem descrit, podem destacar que en ambdós tractaments apareix un increment de la densitat de les espines dendrítiques en l'arbre apical del camp CA3. Aquest fet ens podria fer pensar en un efecte de tipus activacional del methimazole sobre la presència d'espines dendrítiques en aquesta zona. Quant a la densitat de les espines de l'arbre basal del camp CA3, veiem que és un efecte que apareix en el tractament quan aquest s'inicia en la pubertat, però no en el tractament continuat. Tanmateix, hem de remarcar que la relació dosidependent observada en el tractament iniciat en la pubertat és en forma d'U-invertida. Per tant, atès que els nivells plasmàtics de tiroxina del grup amb tractament continuat són molt semblants als que apareixen en els animals tractats amb la dosi major de methimazole del segon experiment, no podem descartar que en el grup amb tractament continuat no apareguin perquè presenten un hipotiroïdisme sever.

Un aspecte a destacar és la menor densitat de les espines dendrítiques que apareixen en les nostres preparacions respecte d'altres treballs també realitzats en cèl·lules piramidals de l'hipocamp (Watanabe i altres 1992, Gould i altres 1990a i b, 1991). En aquestes diferències poden intervenir diverses causes. En primer lloc, l'àrea analitzada: en el nostre treball hem analitzat l'estrat radial, mentre que en d'altres treballs s'analitza fonamentalment l'estrat *lacunosum moleculare*. De fet, diversos autors (Englisch i altres 1974, Minkwitz 1976) han mostrat que la distribució de les espines en les cèl·lules piramidals hipocampals descriu una paràbola, en funció de la distància al soma, en les dendrites apicals. En segon lloc, aquestes anàlisis inclouen dades de tot l'hipocamp, mentre que altres estudis s'han centrat en l'hipocamp anterior (Woolley i altres 1990, Gould i altres 1990a i b, 1991). Com s'ha vist en l'apartat de resultats, en aquesta zona també les nostres neurones mostren una densitat major d'espines dendrítiques, si bé aquests valors també es troben per sota dels citats anteriorment. Finalment, ateses les característiques observades en les nostres tincions no es pot descartar l'existència d'un insuficient impregnació argèntica que afectaria fonamentalment les espines dendrítiques més fines (*thin*). Independentment de la causa, creiem que els efectes que es puguin produir incidirien de manera igual a tots els grups experimentals independentment del tractament. Es per això que, amb la prudència necessària, creiem que els resultats trobats són valorables.

En relació amb les dades existents en la bibliografia només hem trobat l'increment del volum de les espines *thorny* a CA3, que observen Madeira i Paula-Barbosa (1993) com a conseqüència de l'hipotiroïdisme crònic. En la nostra investigació trobem incrementada la densitat de les espines corresponents a les 200 primeres micres apicals i les 100 basals en les quals s'engloben tant les espines *thorny* com altres tipus d'espines. Caldrà una anàlisi posterior per comprovar si l'increment

d'espines a CA3 observat es correspon amb un augment selectiu de les espines *thorny*.

Diversos estudis han mostrat que la densitat de les espines dendrítiques en les àrees corticals pot decreixer o augmentar en funció de la condició experimental. Entre les causes que s'ha vist que provoquen un increment en la densitat de les espines dendrítiques trobem les tècniques d'estimulació de l'animal i la utilització d'ambients enriquits. Així, Globus i altres (1973) ja trobaren un augment en la densitat de les espines, fonamentalment en l'arbre basal, en neurones piramidals corticals d'animals que havien estat criats en un ambient enriquit respecte d'aquells que van ser criats en aïllament. En la mateixa línia, trobem els estudis de Homer i altres (1991) que van trobar un increment en la densitat de les espines dendrítiques, de l'arbre basal de cèl·lules piramidals de la regió CA1 hipocampal, en animals que han estat manipulats i injectats diàriament quan es comparen amb els animals control. No obstant això, els animals dels diferents grups experimentals del nostre treball van ser manipulats idènticament i, d'altra banda, van ser aïllats quan tenien 40 dies d'edat.

Un altre factor que s'ha vist que pot modificar la densitat de les espines dendrítiques són les variacions hormonals. Així, Woolley i altres (1990) van mostrar l'existència d'importants fluctuacions en el nombre d'espines dendrítiques, entre el proestre i l'estre, en cèl·lules piramidals de CA1. Aquest canvi es correlaciona amb els nivells d'estradiol i progesterona. Així, rates adultes ovariectomitzades presenten un decrement important en la densitat de les espines dendrítiques de les cèl·lules piramidals de CA1, decrement que es recupera mitjançant l'administració d'estradiol i, de manera més intensa, si s'administra progesterona conjuntament amb estradiol (Gould i altres 1990, Woolley i

McEwen 1994, Lewis i altres 1995). També s'han trobat canvis en la mateixa direcció en neurones del nucli ventromedial de l'hipotàlem (Segarra i McEwen 1991). Tanmateix, en aquest darrer estudi l'increment en la densitat de les espines dendrítiques apareixia en les femelles gonadectomitzades i amb tractament amb estrògens, però no en els mascles gonadectomitzats amb tractament estrogènic, la qual cosa mostra, per tant, una diferència sexodimòrfica que no apareix en els animals exclusivament gonadectomitzats. Aquesta podria ser una dada rellevant ja que, com hem descrit prèviament, l'hormona tiroïdal podria estar implicada en la diferenciació sexual en l'hipocamp. Madeira i altres (1991) van observar que l'hipotiroïdisme elimina les diferències sexodimòrfiques observades en el nombre de cèl·lules granulars del gir dentat, sempre que l'alteració hormonal es produeixi abans que finalitzi l'època crítica, per la diferenciació sexual d'aquesta estructura. Hem de recordar també l'existència de dades que indicarien la necessitat de l'hormona tiroïdal perquè s'iniciï la pubertat i el desenvolupament normal del cicle ovàric (Cramer i Ford 1977). En el nostre treball el període puberal ha estat afectat, si bé en el segon experiment el tractament es va iniciar en plena pubertat.

Pel que fa a l'arborització dendrítica s'observa una menor arborització tant en l'arbre apical com en l'arbre basal. En l'arbre apical podem veure que el tractament augmenta el segment inicial sense ramificacions i disminueix el nombre d'arboritzacions en les primeres 150 μm . L'anàlisi de l'arbre basal ens mostra també un menor nombre d'arboritzacions en les primeres 50 μm . Aquests efectes s'observen fonamentalment al tractament continuat en la regió CA1. Això no obstant, en el tractament iniciat en el període puberal s'observa una certa tendència en la mateixa direcció, però en aquest cas en el camp CA3. Aquest efecte no era observat en el tractament crònic, si bé hem d'indicar que el petit nombre de

neurones avaluades no ens permet negar de manera rotunda l'existència d'una alteració similar. L'afectació del desenvolupament d'axons i dendrites en hipotiroïdisme està àmpliament referenciada en la literatura (Eayrs 1955, Ruiz-Marcos i Ipiña 1986, Rami i altres 1986a, Comer i Norton 1985). En l'hipocamp Madeira i altres (1992) troben que l'hipotiroïdisme independentment de la durada i del moment d'inici, no interfereix amb el nombre total de cèl·lules piramidals del camp CA3, encara que s'observa una reducció en el volum de la capa piramidal i un increment en la densitat cel·lular. Atès que aquests tractaments no afecten el volum nuclear d'aquestes cèl·lules, aquests autors (Madeira i altres 1992) postulen que ha d'existir un pobre desenvolupament del neuròpil. No obstant això, aquests mateixos autors troben que aquest efecte és més notable en analitzar els animals als 30 dies d'edat que quan s'analitzen als 180 dies.

En el camp CA1 aquests autors troben una disminució en el nombre de cèl·lules i en el volum de la capa piramidal. Madeira i altres (1992) postulen que aquest efecte seria conseqüència de la mort neuronal provocada per la degeneració cel·lular. Aquesta degeneració es produiria en períodes primerencs de l'hipotiroïdisme, si bé el cervell adult també seria sensible a la manca de l'hormona tiroïdal, encara que d'una manera molt menys marcada que durant el desenvolupament. Així mateix, aquests autors no consideren que les alteracions en la neurogènesi com ara la migració o la proliferació puguin explicar la selectiva pèrdua neuronal de l'àrea CA1, sinó que probablement estaria relacionada amb la gran vulnerabilitat que mostren les neurones de CA1 a processos patològics com la isquèmia, l'epilèpsia o la hipoglucèmia i que dependria de característiques diferencials que podrien presentar aquestes neurones en relació amb els receptors del glutamat i la síntesi proteica.

Però els efectes diferents entre l'administració continuada i la iniciada en la pubertat fan pensar que en funció de l'estat inicial del substrat sobre el qual el tractament actua s'obtenen resultats qualitativament diferents. De fet, el tractament continuat s'inicia en un període previ a la proliferació i migració de les neurones piramidals i quan el tractament s'inicia en la pubertat aquestes neurones ja estan desenvolupades i la sinaptogènesi ja s'ha acabat. A més, el patró de disminució de l'arborització de les neurones piramidals de CA3 observat quan el tractament s'administra des de la pubertat s'assembla molt a l'atròfia de les neurones de CA3 induïda per estrès.

Aquesta atròfia de l'arbre dendrític podria ser explicada per la regulació que exerceix l'hormona tiroïdal en l'ensamblatge dels microtúbuls mitjançant 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).

Els resultats (increment d'espines i atròfia dendrítica) obren l'incògnita de si l'increment del nombre d'espines paral·lel a l'atròfia de les dendrites és la causa de l'atròfia, si es degut a una major estimulació de les vies aferents o bé si es degut a un efecte compensatori de l'atròfia i, com assenyalava Madeira i Barbosa (1993), el còmput total de sinapsis roman estable. Però resulta difícil pensar en un possible efecte compensatori donat que en el tractament continuat l'atròfia més important es produeix a CA1 i l'increment d'espines es produeix a CA3.

S'ha comentat que en l'atròfia hipocampal induïda per estrès de les neurones CA3 hi hauria una sinèrgia entre els glucocorticoides i els aminoàcids excitatoris (Magariños i altres 1996). El fet que l'administració de methimazole incrementi la densitat de les espines de les neurones CA3 al mateix temps que s'atrofien els

arbres dendrítics de CA3 i CA1 podria indicar l'existència d'una relació similar. L'increment del nombre d'espines, que suposaria un augment de l'estimulació glutamatèrgica, podria implicar una acció excitotòxica que seria la responsable de l'atrofia dendrítica.

Les espines *thorny* s'observen inicialment entre els 5 i els 10 dies després del naixement i arriben als nivells adults als 30 dies d'edat. De fet, les *thorny* es desenvolupen després que les fibres molsoses hagin sinaptat per la qual cosa sembla que aquestes podrien tenir un paper inductor en la seva formació (Gaiarsa, Beaudoin i Ben-Ari 1992). Durant el desenvolupament les fibres molsoses (i, per tant, les espines *thorny*) es formen tard, després que moltes aferents extrínseques ja hagin format sinapsi amb les neurones piramidals. En el gir dentat dels rosegadors el 80-90% de les cèl·lules granulars es formen postnatalment i aproximadament el 35-43% d'aquestes ho fan entre el primer mes i l'any d'edat (Altman i Bayer 1990) i comporten una acumulació progressiva de les cèl·lules granulars.

Si l'estimulació procedent de les fibres molsoses de les cèl·lules granulars estigués implicada en l'atrofia dendrítica i/o l'increment d'espines observada, els efectes dels distiroïdismes en períodes posteriors al perinatal, com el que hem emprat (des de la pubertat), podria explicar-se per aquesta finalització tardana de la maduració del gir dentat.

Més encara, com ja hem indicat la neurogènesi de l'hipocamp segueix un calendari molt precís de la mateixa manera que les aferències també contacten de manera ordenada: les parts proximals de les neurones reben el *inputs* de les aferències més joves i les parts més distals reben les aferències més antigues (inicials). Així, les

fibres molsoses que són les que contacten més tard sinaptarien a la zona pròxima mentre que les neurones de l'escorça entorrinal lateral ho farien a la zona més distal (Bayer 1985). Això, conjuntament amb el fet que la maduració del gir dentat segueix un ordre marcat (es desenvolupen primer les cèl·lules granulars de la fulla suprapiramidal i després de la infrapiramidal) podria explicar l'afectació diferencial observada en funció del període de tractament. Les connexions entre CA3 i CA1 s'establirien entre els dies embrionaris 16 i 17 mentre que les connexions procedents de les cèl·lules granulars ho fan durant els 14 primers dies postnatsals. Aquest fet podria explicar que el tractament continuat que és present des del dia embrionari 9 atrofiés més les neurones CA1, que estarien rebent l'estimulació de les neurones CA3, i que es caracteritzen per una alta vulnerabilitat a l'excitotoxicitat. En canvi, el tractament des de la pubertat afectaria més CA3 perquè les connexions de les fibres molsoses ja estan desenvolupades; en aquest cas l'efecte excitotòxic es produiria sobre les neurones CA3 i el camp CA1 no es veuria tan afectat perquè la reducció dels arbres dendrítics de CA3 compensarien l'excés d'estimulació.

L'atrofia en el camp CA3 localitzada en les zones pròximes al soma de les neurones que van sofrir el dèficit d'hormona des de la pubertat contrasta amb l'atrofia més extensa del camp CA1 observada com a conseqüència del dèficit crònic. Aquesta atrofia en el camp CA3 es podria explicar per aquesta organització de les connexions més recents en les zones més pròximes que serien les més afectades pel dèficit tiroïdal.

Atesa l'existència de diferències en les aferències a l'hipocamp en funció de la seva organització seguint un eix anteroposterior, vam plantejar analitzar l'efecte dels

tractaments sobre les neurones en funció de si aquestes estaven localitzades a la regió anterior o a la regió posterior.

De fet, en aquest estudi hem observat que l'afectació del tractament és diferent en funció de la regió. El dèficit continuat disminueix l'arborització dendrítica de CA1 a la zona posterior, però no disposàvem de dades suficients per analitzar la zona anterior del camp CA1. Contràriament en el tractament iniciat a partir de la pubertat sembla més afectada la zona apical de CA1 i CA3 anterior i els arbres basals de CA1 anterior i posterior semblaven estar més desenvolupats en la franja de 100 micres. Però els arbres basals de CA3 posterior també es mostraven menys desenvolupats com a resultat de l'efecte del tractament.

Pel que fa a les espines dendrítiques s'observa que quan el dèficit d'hormona s'inicia a la pubertat, en el camp CA3 tant l'arbre apical anterior com posterior presenten una major densitat de les espines, tot i que aquest efecte és significatiu a la zona anterior. Així mateix en aquest experiment s'observa una major densitat de les espines en l'arbre basal posterior del camp CA3 però aquesta no arriba a la significació estadística. Al camp CA1 la densitat de les espines basal es troba incrementada a la zona posterior.

En el grup que va sofrir el dèficit de forma crònica es va observar un increment significatiu del nombre d'espines dendrítiques de l'arbre basal del camp CA3 posterior i encara que no es va poder analitzar per manca de mostra sembla ser, per les escasses dades que teníem, que també es podria produir un increment del nombre d'espines de l'arbre apical en el camp posterior. De fet, a la zona anterior del camp CA3 la mitjana d'espines de l'arbre apical és superior en el grup control però les diferències no arriben a la significació estadística.

Una dada sorprenent, perquè va en direcció contrària a la resta és la menor densitat de les espines a l'arbre basal del camp CA1 de la regió anterior en el grup continuat. Sembla ser que en els arbres basals de CA1 connectarien col·laterals de CA1 i CA3 ipsi i contralaterals que tant podrien sinaptar directament sobre les piramidals com activar interneurons inhibidores. Podria ser que aquest decrement del nombre d'espines fos producte d'alteracions en el circuit intern de l'hipocamp. La diferenciació de les cèl·lules piramidals i el desenvolupament del seu arbre dendrític no està regulat per les fibres aferents; si bé aquest desenvolupament, així com la formació d'espines dendrítiques, coincideix amb la maduració del sistema aferent i això dona la possibilitat que els axons presinàptics puguin tenir un paper inductiu en la formació de les espines dendrítiques (Gaiarsa, Beaudoin i Ben-Ari 1992, Frotscher, Zafirov i Heimrich 1995). La maduració de les fibres aferents i la sinaptogènesi es produeix al final de la primera setmana de vida i, per tant, perquè es produeixin alteracions en aquest període seria clau l'estat en què es realitzen les connexions de l'HPC amb altres sistemes. Aquesta característica diferencial podria estar relacionada amb els aspectes conductuals diferencials observats en el grup que tenia un dèficit crònic de methimazole, com era l'increment de l'exploració o el perfil ansiolític, però caldrien altres experiments per explorar aquesta possibilitat.

Finalment hem analitzat les diferències interhemisfèriques. Durant molt de temps es va postular que l'existència d'asimetria cerebral era una característica pròpia dels humans. Fou a partir de la revisió publicada per Walker (1980) quan va començar a considerar-se l'existència d'asimetria cerebral en altres espècies.

En el grup que va sofrir un dèficit crònic d'hormona sembla que les neurones del camp CA1 de l'hemisferi esquerre van resultar més afectades que les neurones del camp CA1 dret. En el camp CA1 esquerre tant l'arbre dendrític apical com basal presentaven atròfia i la densitat de les espines es troba reduïda, però només les diferències observades en l'arbre apical s'acosten a la significació estadística. En el camp CA3 no disposàvem de dades suficients de l'hemisferi dret per valorar un possible efecte diferencial del dèficit crònic a tots dos hemisferis. En el grup que va sofrir el dèficit hormonal a partir de la pubertat es va observar l'atròfia dendrítica més important en l'arbre apical del camp CA3 de l'hemisferi dret. En aquest camp CA3 es van observar increments de la densitat de les espines apicals d'ambdós hemisferis. En el camp CA1 es van observar increments de la densitat de les espines en l'hemisferi dret tant apicals com basals. Aquestes dades ens indiquen que l'hemisferi, igual que la zona anteroposterior, on es realitzen les mesures, és un factor important a considerar. De fet, en el grup control es van observar diferències considerables en la densitat de les espines del camp CA1 (però no CA3). En l'hemisferi esquerre del grup control s'observa un densitat dues vegades superior d'espines que en l'hemisferi dret (tant apical com basal). Aquest fet, conjuntament amb el fet de la reducció de la densitat de les espines en el camp CA1 selectivament en la zona anterior i a l'hemisferi esquerre poden indicar que no solament les diferents zones podrien tenir funcions diferents sinó que, a més, els diferents hemisferis podrien tenir funcions diferents.