

Hipotiroidismo subclínico en ratas con desnutrición perinatal y su relación con la densidad del hipocampo y el aprendizaje

HAYDEÉ LÓPEZ CASIQUE, ADAIR RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ, CLAUDIA ALVA SÁNCHEZ,
MARÍA DEL ROSARIO AYALA MORENO

Resumen—El hipocampo (HC) es una región cerebral sensible a la acción de las hormonas tiroideas (HT) y presenta una capacidad proliferativa continua, la cual al parecer, es necesaria para la consolidación de algunas formas de aprendizaje y memoria. En modelos de hipotiroidismo en rata adulta se ha encontrado que la deficiencia de HT está asociada con daño neuronal particularmente intenso en el hipocampo, encontrándose que la región CA3 del HC es la más sensible a la acción de la deficiencia tiroidea. El daño neuronal que presenta el HC de la rata hipotiroidea adulta se ha relacionado con un desbalance entre los procesos de muerte y proliferación celular. Por otra parte, se sabe que la desnutrición perinatal (gestación y lactancia), afecta negativamente el desarrollo de algunas glándulas endocrinas, promoviendo cambios en su metabolismo y sus funciones que permanecen en la edad adulta, a lo cual se le denomina programación metabólica. En un trabajo previo, se demostró que la desnutrición durante la vida perinatal de la rata programa la función tiroidea, dicha programación genera como consecuencia una situación de hipotiroidismo subclínico en el adulto. Actualmente, se desconoce si la hipofunción tiroidea generada por la desnutrición perinatal en la rata tiene efectos sobre el mantenimiento de la población neuronal del HC y el aprendizaje en el adulto. El presente trabajo evaluó el proceso de aprendizaje mediante la aplicación de una prueba de reconocimiento de objetos a dos grupos de ratas macho adultas (140 días de edad), un grupo control bien alimentado ($n= 8$) y otro que cursó con desnutrición perinatal (restricción alimentaria del 40%, $n= 12$). Posteriormente se evaluó la densidad de neuronas piramidales de la región CA3 del HC de ambos grupos experimentales. Los animales desnutridos presentaron hipotiroidismo subclínico, incremento significativo en el número de neuronas atróficas y disminución significativa en el número de neuronas normales en comparación con los animales control. Pese a ello, no se observó diferencia en el índice de reconocimiento de objetos entre los grupos, probablemente debido a un incremento significativo de la actividad exploratoria que presentaron los animales desnutridos, lo cual puede interpretarse como una estrategia compensatoria para la consolidación de la memoria y el aprendizaje. Es claro que la desnutrición induce atrofia de las neuronas del HC, lo cual es

probable que esté asociado al estado de hipotiroidismo subclínico.

I. INTRODUCCIÓN

El aprendizaje puede definirse como los cambios duraderos en el sistema nervioso (SN) que se manifiestan en el comportamiento o la conducta de los organismos, y es el medio principal de adaptación de los seres vivos a las modificaciones inciertas de su medio ambiente que determinan la sobrevivencia de una especie. Por otra parte, la memoria es un fenómeno generalmente inferido a partir de esos cambios, que da a nuestras vidas un sentido de continuidad [1].

La memoria y el aprendizaje son procesos cuyo establecimiento depende en buena medida de la funcionalidad del hipocampo (HC), un área relacionada con la corteza cerebral que se ubica al interior del lóbulo temporal, su estructura interna y sus conexiones con otras áreas del SN le permiten representar un importante papel en la entrada de nueva información en la memoria, para el establecimiento del aprendizaje, de manera que se ha descrito como un “mapa cognitivo” que participa en la formación de nuevos recuerdos sobre eventos experimentados (memoria episódica), a través de la detección de estímulos, lugares y eventos nuevos [2].

En general las hormonas tiroideas (HT) son fundamentales para el desarrollo y funcionamiento del sistema nervioso central en los vertebrados, favoreciendo importantes procesos celulares como la neurogénesis, migración celular, elongación de axones y dendritas, mielinización y conectividad neuronal [3]. Durante la vida perinatal y especialmente en la gestación, las HT son fundamentales para el desarrollo del SN, pues su deficiencia durante este tiempo produce retraso mental irreversible [4]. Por otra parte, hace algunos años se ha dado mayor importancia al papel de las HT en el funcionamiento de algunas regiones del SN en los individuos adultos. Particularmente la hipofunción tiroidea tiene un efecto negativo en la estructura y función del HC de la rata adulta, provocando disminución de la neurogénesis, al modificar la proliferación, sobrevivencia y diferenciación de las células progenitoras del giro dentado [5]; así como la reducción de la arborización y la densidad de espinas dendríticas [6]. Reportes previos de nuestros colaboradores demuestran de manera relevante que el hipotiroidismo inducido por fármacos en la rata adulta provoca el incremento en la proporción de atrofia en la región CA3 del hipocampo [7]. Los efectos negativos promovidos por la hipofunción tiroidea en la citoestructura del HC, pueden estar entonces relacionados con alteraciones

HAYDEÉ LÓPEZ-CASIQUE pertenece a la carrera QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO de la Facultad de Ciencias Químicas y realizó el proyecto dentro del SERVICIO SOCIAL (Email: haydee_mim@hotmail.com; rosario.ayala@ulsa.mx).

El proyecto fue asesorado por la DRA. MARÍA DEL ROSARIO AYALA MORENO área de Epidemiología y Fisiología de la Nutrición, GIDi en Alimentos y Salud de la FCQ Universidad La Salle; la DRA. CLAUDIA ALVA SÁNCHEZ y ADAIR RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ laboratorio de Neurociencias, Depto. de Fisiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN.

Los autores agradecen a: Laboratorio de Neurociencias, ENCB del IPN.

conductuales, debido al incremento importante que se manifiesta en la atrofia o la disminución neuronal [8].

Por otra parte, la desnutrición durante las etapas críticas del desarrollo como la gestación y la lactancia, genera alteraciones permanentes en la estructura y función de múltiples tejidos [9], incluyendo el sistema nervioso central [10] y algunos tejidos endocrinos como la glándula tiroidea [11]. El trabajo previo desarrollado por nuestro grupo y colaboradores, ha descrito que la desnutrición perinatal generada por la restricción de alimento al 40%, puede promover cambios permanentes en el estado tiroideo reflejados en una mayor concentración de los niveles plasmáticos de la hormona estimulante de la tiroidea (TSH), y disminución en los niveles de tiroxina libre (T_4L), los cuales son similares al perfil observado en el hipotiroidismo subclínico en el humano [11].

Aunque se sabe que la restricción severa de alimento puede generar disfunción cognitiva que se manifiesta como un déficit en los procesos de aprendizaje y memoria dependientes del hipocampo, incluyendo el procesamiento de la información espacial; no se han comprendido con totalidad los mecanismos a través de los cuales se puede generar dichos daños. Sabemos sin embargo, que los procesos neurogénicos que mantienen la estructura y funcionalidad de las regiones del HC asociadas con la memoria y el aprendizaje están regulados por cambios en la dieta [18], [19] y particularmente en la edad adulta por la acción de las HT [7], [21]. Nuestro modelo de desnutrición perinatal ha mostrado evidencia del desarrollo de hipotiroidismo subclínico en los animales adultos, de manera que ambos factores, la dieta y el estado tiroideo deficiente podrían conjuntarse para generar una afección particularmente significativa en los procesos de aprendizaje relacionados con la función hipocámpal. Por ello, el propósito de este trabajo fue analizar la histología del HC y relacionarla con los procesos de aprendizaje en un modelo de ratas adultas con desnutrición perinatal que muestran una condición de hipotiroidismo subclínico.

II. MÉTODOS

Se emplearon ratas hembra de la cepa Wistar con un peso corporal de 240 ± 20 g. Los animales fueron adaptados durante una semana al área de confinamiento de la Facultad de Ciencias Químicas de la ULSA, y mantenidos con ciclos de luz-oscuridad de 12 hrs y 23 ± 2 °C de temperatura ambiental. Luego del periodo de adaptación las hembras fueron distribuidas aleatoriamente en dos grupos de estudio, uno de ellos alimentado a libre demanda con una dieta comercial (Rodent Lab Chow 5001) (Madres Control), y otro alimentado con el 60% de la cantidad de alimento consumido por los animales control (Madres Restringidas). Todas las ratas se colocaron en jaulas independientes con libre acceso a agua y se aparearon con machos de la misma cepa durante 7 días. Los animales gestantes fueron identificados por el incremento del peso corporal. La restricción de alimento en las madres inició el primer día en que se colocaron con los machos y concluyó el día 21 de la lactancia (día del destete de sus crías). El día del parto fue considerado como el día 1 de la lactancia, este día se registró el número de crías por camada y el peso de cada cría, enseguida se ajustó el tamaño de la camada,

conservando 8 crías por cada rata madre procurando mantener 4 hembras y 4 machos por camada. El peso corporal y la longitud (distancia medida de la punta de la nariz hasta el orificio anal) de las crías, así como algunas características anatómicas indicadoras del grado de madurez al nacimiento se registraron en ambos grupos, para evaluar el impacto de la desnutrición perinatal en las crías.

Al concluir la lactancia, las crías macho nacidas de madres restringidas en alimento (R) y las crías nacidas de madres bien alimentadas (C) fueron destetadas, y separadas en jaulas colectivas para alimentarse a libre demanda con la dieta comercial, hasta alcanzar la edad adulta (140 días) de manera que la desnutrición solo se ejerció durante la vida perinatal.

En ambos grupos de experimentación, se evaluó la actividad locomotora en una prueba de campo abierto, para determinar el tiempo ambulatorio y tiempo de reposo de los animales y posteriormente se realizó una prueba de reconocimiento de objetos, de acuerdo a Ennaceur y col, 2005 [12]. Esta prueba se basa en la tendencia natural de la rata a explorar un objeto novedoso en el ambiente y compararlo con uno familiar, luego de haber sido sometida a un periodo de adaptación a dicho ambiente. La prueba se realizó en una caja de PVC abierta por la parte del techo, con paredes traslúcidas, y cuyas dimensiones fueron 44 cm x 44 cm x 18 cm. La caja se colocó en un cuarto iluminado homogéneamente (186 lx), los objetos empleados durante el periodo de adaptación fueron dos cubos de rubik (9 cm x 9 cm x 9 cm) y el objeto novedoso fue de forma esférica y de tamaño similar, para evaluar la capacidad de discriminación entre el objeto novedoso y el familiar. Para prevenir las pistas olfatorias, tanto la caja como los objetos se limpiaron con una solución de etanol 5%, después de cada prueba y el sujeto que realizó las pruebas utilizó siempre guantes de látex, bata blanca y se evitó cualquier aroma particular del analista o ruido ambiental que generara distracción en los animales. El periodo de adaptación consistió en mantener a la rata durante un periodo de 5 minutos dentro de la caja con el cubo de rubik y durante todo este tiempo se grabaron los movimientos y actividad exploratoria del animal con una cámara. Este ejercicio se realizó de la misma manera durante 3 días consecutivos y posteriormente se analizaron los videos para cuantificar el tiempo de latencia (que corresponde al tiempo que la rata tarda en acercarse por primera vez el objeto) y el número de acercamientos que tiene el animal con el objeto, el criterio empleado para cuantificar los acercamientos fue que el animal se encontrara a una distancia menor o igual a 2 cm del cubo y con el hocico dirigido hacia él. El cuarto día de experimentación se analizó la capacidad de reconocimiento de objeto por el animal, en este caso se colocaron en la 2 objetos familiares (cubos de rubik) y se introdujo a la rata bajo las mismas condiciones que en el periodo de adaptación, sus movimientos se grabaron durante 5 min y se registró nuevamente el tiempo de latencia, el número de acercamientos a cada objeto y la duración de su exploración a los mismos. Inmediatamente después las ratas se colocaron en una caja limpia y se les permitió descansar por 15 min, luego de lo cual se analizó la capacidad de discriminación de objeto novedoso, para lo cual se le introdujo nuevamente en la caja de prueba esta vez con dos objetos, uno familiar (cubo de rubik) y otro novedoso de tamaño similar, se registró el

tiempo de latencia el número de acercamientos a cada objeto (familiar y novedoso), y el tiempo de exploración de los mismos (fase de selección). Con los datos generados se calculó el índice de reconocimiento (IR), el cual se define como:

$$IR = ((TB/TA) + (TB)) * 100$$

Donde:

TB: es el tiempo de exploración del objeto novedoso.

TA: es el tiempo de exploración del objeto familiar.

Luego de la prueba de reconocimiento de objeto, se tomaron muestras de sangre de la vena caudal y se colectaron en tubos heparinizados, las muestras fueron centrifugadas (3500rpm/15 min) para la obtención del plasma, en el cual se cuantificaron las concentraciones de HT (triyodotironina, T_3 , tiroxina total, T_4 y tiroxina libre, T_4L), empleando kits de ELISA (Diagnóstica Internacional). Posteriormente los animales fueron anestesiados con 45 mg/kg de peso corporal de pentobarbital sódico para ser perfundidos con una solución de formaldehído neutro al 10%, como solución de fijado, empleando una bomba de perfusión. Una vez fijados los tejidos se disecó el cerebro y se aisló la zona hipocámpal. El hipocampo se extrajo completo y se conservó en una solución de formaldehído neutro al 10%, hasta su inclusión en parafina, para realizar el análisis histológico del hipocampo. Se realizaron cortes del hipocampo de 8 micras de espesor utilizando un micrótomo, y posteriormente los cortes fueron teñidos empleando la técnica de hematoxilina-eosina, para cuantificar las neuronas totales por mm^3 localizadas en la región CA3 del hipocampo, utilizando un microscopio de luz.

Se contabilizaron las neuronas con morfología normal (funcionales) y aquellas que presentaron características de atrofia (no funcionales). Los datos obtenidos fueron analizados empleando la prueba t-Student, o bien por análisis de varianza bifactorial para medidas repetidas, utilizando la prueba de Bonferroni para comparar las medias de cada grupo. En todos los casos se consideró un valor de significación de $p < 0.05$.

III. RESULTADOS

La desnutrición perinatal generada por la restricción de alimento afectó negativamente el peso corporal de las crías R. Estos animales nacieron con un peso 35% menor que los controles (5.62g vs. 8.66g) y esta diferencia se incrementó hasta el 41% (242g vs 416.33g) al finalizar el estudio (Figura 1A). Por otra parte, en ambos grupos se observó un aumento progresivo de la longitud a lo largo del tiempo ($p < 0.05$); sin embargo, las CR presentaron un retraso significativo en el crecimiento, que se observó a partir de la primera semana de vida y continuó hasta la edad adulta (Figura 1B).

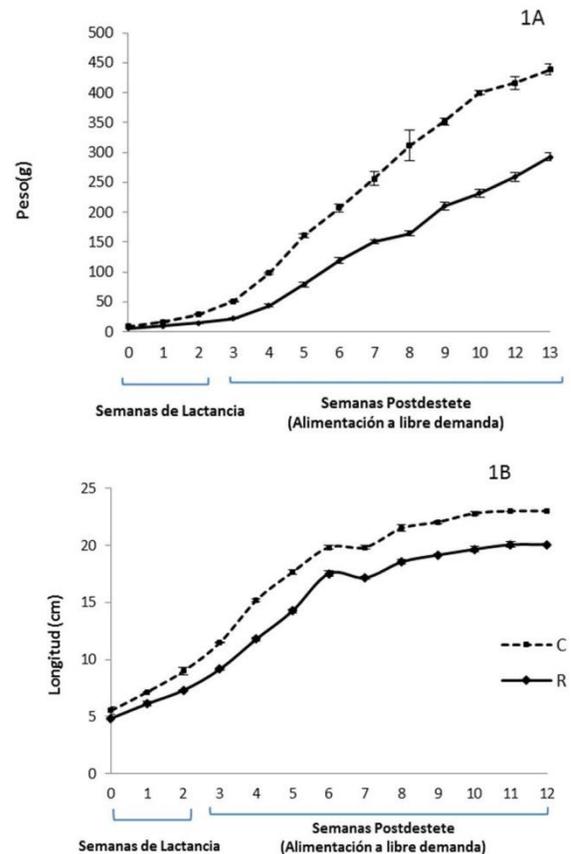


Figura 1. Peso (A) y Longitud (B) de los animales control (C, n=10) y restringidos (R, n=10), desde el nacimiento hasta la edad adulta. Los datos se muestran como la media \pm el error estándar para cada grupo de estudio. Las medias fueron significativamente distintas durante todo el, para el peso corporal y para la longitud a partir de la primera semana de edad ($p < 0.05$, ANOVA bifactorial).

Adicionalmente, los resultados muestran que los animales del grupo R alcanzaron un menor grado de maduración al nacimiento, debido a que presentaron la apertura completa de ojos 5 días después y la separación de las orejas 6 días después que las crías C.

En ambos grupos (C y R), antes de desarrollar la prueba de reconocimiento de objetos, se evaluó la actividad locomotora en una prueba de campo abierto, observándose que las ratas adultas del grupo R presentan mayor actividad locomotora que el grupo de animales control (Figura 2). Lo anterior se evidencia en función del incremento en el tiempo ambulatorio que fue del 143% en el grupo R, en comparación con los controles, y que coincide con una mayor distancia recorrida registrada en el equipo (163% mayor, 163.5 vs 430.35 cm, $p < 0.01$). Adicionalmente, el tiempo de reposo registrado guarda una relación inversa con estos datos, donde el grupo R presentó menor tiempo en reposo en comparación con el control (129.3 vs 151.7 seg, $p < 0.03$).

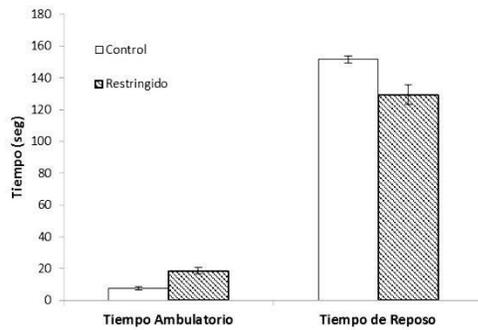


Figura 2. Actividad motora de los animales adultos control y restringidos. La actividad motora se evaluó determinando el tiempo ambulatorio y tiempo de reposo que presentaron los animales durante 10 minutos, en una prueba de campo abierto. Los datos se muestran como la media \pm el error estándar para $n=6$ animales control y $n=5$ animales restringidos. *Indica diferencia significativa entre los grupos ($p < 0.05$, t-Student).

El estado tiroideo de los animales de ambos grupos fue similar al reportado anteriormente en un estudio previo, no se observaron diferencias significativas en los niveles de T_3 y T_4 totales, y la concentración de T_4L fue menor (Tabla 1).

El peso del cerebro de los animales R fue menor (10-8%) que el de los controles. La densidad neuronal de los animales R (número de neuronas por mm^3) fue significativamente menor que en el grupo C. El grupo R tuvo un 55% de neuronas con citoestructura normal que sugiere una adecuada funcionalidad y 43% de neuronas con características atróficas. Al comparar el número de neuronas funcionales y atróficas entre ambos grupos, los animales R tuvieron menor porcentaje de neuronas funcionales (70%), y mayor porcentaje de neuronas atróficas (30%).

Los resultados de la prueba de reconocimiento de objetos, mostraron que ambos grupos tuvieron un índice de discriminación mayor a 50, lo cual en esta prueba indica que los animales tienen la misma capacidad de reconocer a un objeto novedoso en un área determinada (Tabla 1).

CUADRO 1.
VARIABLES FISIOLÓGICAS E HISTOLÓGICAS ANALIZADAS EN ANIMALES ADULTOS CONTROL Y RESTRINGIDOS

Parámetro	Controles (n=8)	Restringidos (n=12)
T_3 (ng/ml)	0.75 \pm 0.09	0.69 \pm 0.06
T_4 (μ g/dl)	1.46 \pm 0.11	1.842 \pm 0.15
T_4L (pmol/L)	23.4 \pm 1.15 ^a	17.32 \pm 2.3 ^b
Peso neto del cerebro (g)	2.04 \pm 0.06 ^a	1.82 \pm 0.05 ^b
% de neuronas atróficas	30	43
% de neuronas normales	70	55
Índice de habituación ¹	8.97 \pm 6.46 ^a	16.48 \pm 7.22 ^b
Índice de discriminación ²	72.61 \pm 7.32	75.3 \pm 6.94

Los datos se muestran como la media \pm el error estándar para todas las variables, excepto en el conteo de las neuronas atróficas y normales que se representan en porcentaje de neuronas con respecto al conteo total. ¹El índice de habituación, esta expresado en función del tiempo gastado en la elección de los objetos (novedoso o familiar), posterior a su etapa de acondicionamiento. ²El índice de discriminación esta expresado en función del número total de acercamientos y de su duración a un objeto novedoso, es decir del tiempo invertido en la exploración de dicho objeto, posterior a la etapa de acondicionamiento. Las letras distintas indican diferencia significativa entre los grupos control y restringido (t-Student, $p < 0.05$)

IV. DISCUSIÓN

El estudio de la programación de los tejidos por efecto de la desnutrición ha sido relevante desde hace varios años atrás. Nuestro grupo y colaboradores hemos descrito que la desnutrición durante el periodo perinatal (gestación y lactancia) afecta negativamente el peso corporal y el crecimiento de los animales [11], lo cual se reprodujo en las características descritas para el grupo R, quienes no presentaron la recuperación del peso y del crecimiento (catch up) al establecerse la alimentación a libre demanda luego del destete. Más allá del retraso en el crecimiento, se ha descrito con anterioridad que la restricción de alimento genera en estos animales una “programación” de la función tiroidea, caracterizada por un conjunto de alteraciones o adaptaciones del metabolismo de las HT que, si bien le permiten a los animales sobrevivir durante el período de desarrollo con un bajo aporte de nutrimentos, promueven eventos irreversibles característicos de un estado de hipotiroidismo subclínico en la edad adulta en función del incremento de TSH reportado anteriormente y los bajos niveles de T_4L reportados en el presente trabajo.

El HC puede representar un sustrato altamente sensible a la acción de las HT debido a su alta densidad de receptores $TR\alpha$ y $TR\beta$ [16]. Se sabe que las HT regulan varios procesos a nivel hipocampal, como la mielinización, la sinaptogénesis y el desarrollo de ciertos sistemas colinérgicos y dopaminérgicos de neurotransmisión, fundamentales para el adecuado establecimiento de la memoria y el aprendizaje espacial en la rata y que las fibras hipocampales son especialmente sensibles al hipotiroidismo [13].

Por otra parte, los reportes sobre desnutrición y su relación con el sistema nervioso, en general evidencian la relación entre la alimentación, la cognición y la sobrevivencia, de manera que actualmente se acepta que el estado nutricional es un regulador de la función neuronal [14]. En este sentido, se ha reportado que la restricción de proteínas en la etapa neonatal genera alta impulsividad, actividad exploratoria y desinhibición en las pruebas de laberinto [15]. Lo anterior puede explicar el comportamiento observado en el grupo R, quienes mostraron un significativo incremento de la actividad exploratoria en comparación con los controles. Es posible que este incremento exploratorio, favoreciera la capacidad de reconocimiento que los animales mostraron en la prueba de discriminación, pues el índice de reconocimiento no es distinto entre los grupos de estudio.

De manera relevante, nuestros resultados muestran una menor cantidad de neuronas normales y una cantidad significativamente mayor de neuronas atróficas, que puede estar asociado al estado de hipotiroidismo subclínico en este modelo de desnutrición perinatal, dado que los cambios en la cantidad de neuronas atróficas son similares a los encontrados en animales adultos con deficiencia tiroidea [7], [17].

Particularmente los cambios en la región CA3 se han presentado en ratas con hipotiroidismo inducido por fármacos y se atribuyen muy especialmente a esta disfunción porque la administración de un suplemento de T_3 (antitiroideo) evita el daño neuronal [7].

Por otra parte, la explicación del incremento de las neuronas atróficas en nuestro modelo puede también

explicarse en parte por la desnutrición temprana. Se ha descrito que el deficiente estado energético que se genera en los modelos de restricción alimentaria, influye en los procesos de aprendizaje y memoria, a través de mecanismos que tienen relación con el monitoreo del estado energético celular. Se sugiere que los niveles de AMP cíclico resultantes de la hidrólisis del ATP pueden inducir la apoptosis neuronal [19], afectando indirectamente la memoria y aprendizaje [18].

Otra molécula indicadora del estado energético que se ha relacionado con los cambios en la densidad neuronal del HC y los procesos de aprendizaje es la leptina (LEP), una hormona liberada por el tejido adiposo y que participa activamente en la regulación de la ingestión de alimentos a través de mecanismos dependientes del sistema adenosina monofosfato cinasa (AMPK). En un estudio en donde se aplicó desnutrición por restricción de alimento en ratones adultos, se observó que la restricción leve (40%) induce neurogénesis y mejora la cognición, mientras que la restricción más severa (60%) aumenta la actividad del sistema AMPK y reduce la cognición, debido a un aumento de la apoptosis neuronal [18], [20]. De acuerdo a estos datos la restricción leve mantiene la señalización de la LEP sobre este sistema revertiendo el efecto deletéreo del bajo aporte energético sobre la muerte celular; mientras que en la restricción severa los niveles muy bajos de LEP parecen incrementar el número de células apoptóticas. Lo anterior sugiere que la restricción de alimento, modula la capacidad cognitiva, a través de un balance entre neurogénesis y neuroapoptosis, en donde la LEP tiene un papel crucial al revertir la apoptosis y promover la neurogénesis en el hipocampo [14]. Es importante señalar que, aunque estos datos no se presentan en este reporte, nuestros animales R presentan niveles significativamente menores de LEP en comparación con animales bien alimentados [11], sugiriendo que el efecto anti-apotótico de esta hormona puede no estar presente, explicando en parte el incremento del porcentaje de neuronas atroficas. Una característica particular de este estudio es que la restricción se extendió hasta el periodo de la lactancia, lo cual puede sugerir que una restricción leve pero prolongada en etapas críticas del desarrollo puede generar un déficit en la capacidad neurogénica del HC de manera similar a lo observado en la restricción severa.

REFERENCIAS

- [1] I.Morgado, "Psicobiología del aprendizaje y la memoria: fundamentos y avances recientes," *Revista de Neurología*, vol. 40, pp. 289-297, 2005.
- [2] B.L. Willso, "Curso de capacitación docente en Neurociencias" pp.1-35, 1972.
- [3] O.M. Ahmed, A.W. El-Gareib, A.M. El-Bakry, A. El-Tawab and R.G. Ahmed, "Thyroid hormones states and brain development interactions," *International Journal of Developmental Neuroscience*, vol. 26, pp. 147-209, 2008.
- [4] S.P. Porterfield, C.E. Hendrich, "The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development – current perspectives". *Endocrinology Review*, vol. 14, pp. 94-106, 1993.
- [5] L.A. Desouza, U. Ladiwala, S.M. Daniel, S. Agashe, S. R.A. Vaidya and V.A. Vaidya, "Thyroid hormone regulates hippocampal neurogenesis in the adult rat brain," *Molecular Cell Neuroscience*, vol. 29, pp. 414-426, 2005
- [6] J. Sala-Roca, E. Estebanez-Perpina, F. Balada, A. Garau and M.A. Martí-Carbonell, "Effects of adult dysthyroidism on the morphology of hippocampal neurons," *Behavioural Brain Research*, vol. 188, pp. 348-354, 2008.
- [7] C. Alva-Sanchez, R. Ortiz-Butron and J. Pacheco-Rosado, "Kainic acid does not affect CA3 hippocampal region pyramidal cells in hypothyroid rats," *Brain Research Bulletin*, vol. 63, pp. 167-171, 2004.
- [8] M. Rivas and J.R. Naranjo, J.R., "Thyroid hormones, learning and memory," *Genes Brain and Behavior*, vol. 6, Suppl 1, pp. 40-44, 2007.
- [9] A. Lucas, "Programming by early nutrition in man. In: The Childhood Environment and Adult Disease," *CIBA Found Symp*, 156. Wiley, Chichester, U.K. pp 38-55, 1991.
- [10] M. Winick and P. Rosso, "The effect of severe early malnutrition on cellular growth of human brain," *Pediatric Research*, vol. 3, pp. 181-184, 1969.
- [11] R. Ayala-Moreno, R. Racoota, B. Anguiano, C. Aceves and L. Quevedo, "Perinatal undernutrition programmes thyroid function in the adult rat offspring," *British Journal of Nutrition*, vol. 111, pp. 757-765, 2014.
- [12] A. Ennaceur, S. Michalikova, A. Bradford and S. Ahmed, "Detailed analysis of the behavior of Lister and Wistar rats in anxiety, object recognition and object location tasks," *Behavioural Brain Research*, vol. 159, pp. 247-266N, 2005.
- [13] H. Schwegler and W. E. Crusio, "Correlations between radial-maze learning and structural variations of septum and hippocampus in rodents," *Behavioural Brain Research*, vol. 67, pp. 29-41, 1995.
- [14] Y. Dagon, Y. Avraham, I. Magen, A. Gertler, T. Ben-Hur T, E. M. Berry, "Nutritional status, cognition, and survival: a new role for leptin and AMP kinase," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 23, pp. 42142-42148, 2005.
- [15] L.A. Reyes-Castro, J. S. Rodriguez JS, R. Charco R, C. J. Bautista, F. Larrea, P. W. Nathanielsz and E. Zambrano E, "Maternal protein restriction in the rat during pregnancy and/or lactation alters cognitive and anxiety behaviors of female offspring" *International Journal of Developmental Neuroscience*, vol. 30, pp. 39-45, 2012.
- [16] D. J. Bradley, W. S. Young and C. Weinberger, "Differential expression of alpha and beta thyroid hormone receptor genes in rat brain and pituitary". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 86, pp. 7250-7254, 1989.
- [17] M. D. Madeira, N. Sousa, M. T. Lima-Andrade, F. Calheiros, A. Cadete-Leite and M. M. Paula-Barbosa, "Selective vulnerability of the hippocampal pyramidal neurons to hypothyroidism in male and female rats". *The Journal of Comparative Neurology*, vol. 322, pp. 501-518, 1992.
- [18] G. H. Hardie, P. I. Salt, A. S. Hawley and P. S. Davies, "AMP-activated protein kinase: an ultrasensitive system for monitoring cellular energy charge," *Biochemical Journal*, vol. 338, pp. 717-722, 1999.
- [19] Y. Ido, D. Carling and N. Ruderman, "Hyperglycemia-Induced Apoptosis in Human Umbilical vein endothelial cells," *Diabetes*, vol. 51, pp. 159-167, 2002,
- [20] N. Pitsikas N and S. Algeri S, "Deterioration of spatial and nospacial reference and working memory in aged rats: protective effect of life-long calorie restriction," *Neurobiology Aging*, vol. 13, pp. 369-73, 1992.
- [21] C. Alva-Sánchez, K. Sanchez-Huerta, O. Arroyo-Helguera, B. Anguiano, C. Aceves and J. Pacheco-Rosado, J., "The maintenance of hippocampal pyramidal neuron populations is dependent on the modulation of specific cell cycle regulators by thyroid hormones," *Brain Reserch*, Vo.1 127, pp. 27-35, 2009