

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO O.D.**

*DENSIDAD NEURONAL EN HIPOCAMPOS DE PACIENTES CON
ENFERMEDADES CRONICAS. HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO. MARZO 2011
A FEBRERO 2012*

**TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TITULO DE
LA ESPECIALIDAD EN
NEUROLOGÍA
P R E S E N T A**

DRA. MARISOL GRAMAJO RODAS

**TUTORES DE TESIS
DRA. LAURA GRACIELA CHÁVEZ MACÍAS
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO O.D.
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM**

**DR. ERICK GÓMEZ APO
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO O.D**

MÉXICO, D.F., 2012



FACULTAD DE MEDICINA





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**DENSIDAD NEURONAL EN HIPOCAMPOS DE PACIENTES
CON ENFERMEDADES CRONICAS**

A

Una de las personas sin la que esto no seria posible

Dr. Juan E. Olvera Rábiela

“Esta tesis corresponde a los estudios realizados con una beca otorgada por el Gobierno de México, a través de la Secretaria de relaciones exteriores”

INDICE

Resumen.....	4
Introducción.....	5
Método.....	10
Resultados.....	13
Discusión.....	15
Conclusiones.....	16
Bibliografía.....	17
Anexos.....	19

RESUMEN

Se revisaron 549 estudios de autopsia realizados en el servicio de Anatomía Patológica del Hospital General de México durante el periodo de marzo del 2011 a febrero del 2012, con el objetivo de determinar la densidad neuronal en los hipocampos de pacientes con enfermedades diabetes mellitus tipo 2 e hipertensión arterial sistémica. Se estudiaron los encéfalos de 100 sujetos, se realizaron cuatro grupos de 25 individuos cada uno; el primero grupo se trata de individuos con hipertensión arterial sistémica más diabetes mellitus tipo 2 (HTA+DM), el segundo grupo se trata de individuos con diabetes mellitus tipo 2 (DM), el tercer grupo se trata de individuos con hipertensión arterial sistémica (HTA) y el cuarto grupo corresponde al control integrado por individuos sin hipertensión arterial sistémica y sin diabetes mellitus tipo 2. La edad de los individuos estudiados se encuentra en un intervalo de 50 a 75 años.

Se realizó el conteo de las neuronas piramidales de los sectores hipocámpicos CA1, CA2 y CA3, en tres campos a seco fuerte, con microscopio de luz, a los cuatro grupos de estudio.

Se realizó la media de los tres campos analizados en cada sector hipocámpico en cada sujeto de estudio. Se realizó la media aritmética del conteo neuronal y de la edad de los sujetos integrantes de cada grupo. La media de edad de la muestra es de 62.5 años (el grupo con menor media de edad es el control con 60 años y el de mayor edad promedio fue el de hipertensos (HTA) con 65 años. En cuanto al género de los individuos, el 57% es masculino y el 47% es femenino. El grupo de HTA+DM y DM, presentaron mayor cantidad de enfermos del género masculino en 19 y 17 individuos, respectivamente, mientras que los grupos de HTA y controles presentaron más pacientes del género femenino en 15 y 14 individuos, respectivamente.

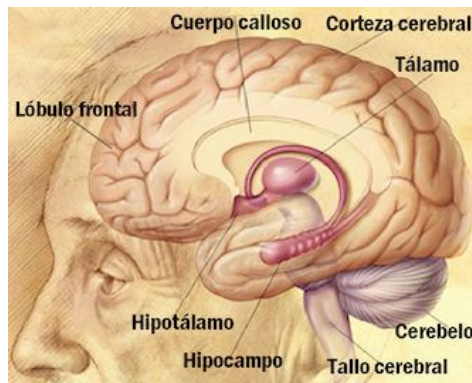
La densidad neuronal en los sectores CA1, CA2 y CA3 fueron menores para el grupo control en comparación a los otros tres grupos del estudio, el sector CA2 es el que presenta mayor densidad neuronal en los cuatro grupos de estudio y CA1 el que tuvo menos densidad neuronal en los cuatro grupos de estudio. El grupo con mayor densidad neuronal es el grupo DM en los tres sectores estudiados. En este estudio se observó que la densidad neuronal en hipocampos de pacientes con hipertensión arterial sistémica y diabetes mellitus tipo 2 es mayor que en el grupo control de edad similar.

INTRODUCCIÓN

El hipocampo

El hipocampo es un área relacionada con la corteza cerebral ubicada en el interior del lóbulo temporal en el suelo del cuerno temporal del ventrículo lateral (fig. 1). Se considera una invaginación de la arquicorteza, producida por la formación de una fisura que empuja a la arquicorteza (hipocampo) para que haga una prominencia en el piso del cuerno inferior. Mide aproximadamente 3.5 a 4 cm de longitud anteroposterior. En un corte coronal del cuerno temporal, se puede observar que se parece a un “caballito de mar”, lo que derivó el nombre de “hipocampo”, también se ha relacionado a la forma de un cuerno de carnero por lo que es llamado también Cuerno de Amón (por el Dios Egipcio Amón que poseía una cabeza de carnero) (8). Está cubierto por una capa de sustancia blanca que se llama alveus, que corresponde a fibras mielinizadas, es decir, a los axones de las células piramidales del hipocampo, razón por que su color es amarillo. Estas fibras forman la fimbria del hipocampo en su margen medial y continúa como el pilar del fórnix.

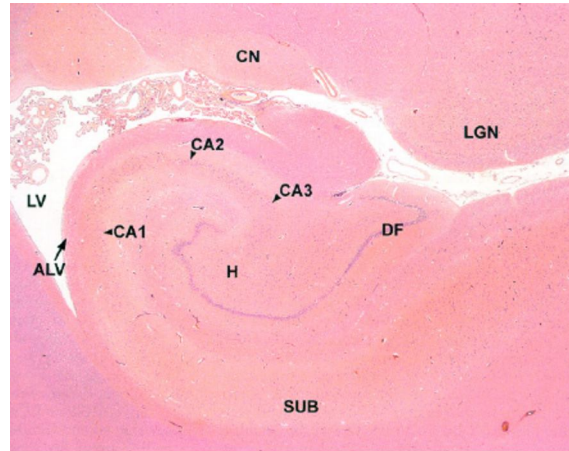
Figura 1



El crecimiento continuo del tejido cortical que forma el hipocampo es responsable de la aparición del giro dentado, este giro ocupa el espacio que queda entre la fimbria del hipocampo y el giro parahipocámpico, tiene la superficie mellada o dentada, de ahí su nombre.

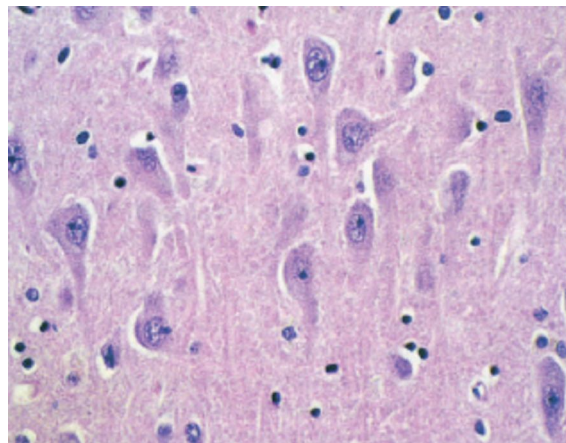
En una sección coronal, el hipocampo posee tres sectores CA1, CA2 y CA3 (CA de cornu Ammonis o asta de Amón). El area CA1 es la adyacente al subículo, mientras que el area CA3 es la más cercana al giro dentado. (Fig. 2)

Figura 2



En la corteza hipocámpica se reconocen tres capas. La capa molecular formada por los axones y dendritas, se localiza alrededor del surco hipocámpico y se continúa con las capas moleculares del giro dentado y neocortex. La prominente capa de células piramidales, está formada por células grandes, muchas de forma piramidal, que son las principales células del hipocampo. (fig3). La capa polimorfa, se parece a la capa más interna de la neocorteza, esta capa se localiza debajo del alveus y contiene axones, dendritas e interneuronas.

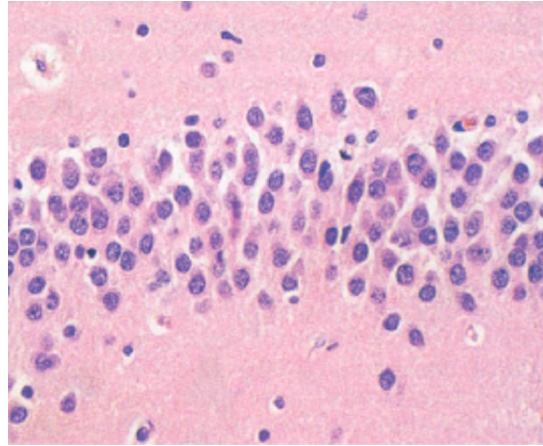
Figura 3



El giro dentado también tiene tres capas. Su citoarquitectura difiere del hipocampo en que la capa de células piramidales es reemplazada por una capa de células granulosas, caracterizada por ser neuronas pequeñas, que son las principales células de la región (Fig4).

Las fibras eferentes del giro dentado se conocen como fibras musgosas. Y poseen numerosas ramas hacia las neuronas piramidales de CA3 y CA2.

Figura 4



Las células piramidales de la región CA1 son excepcionalmente sensibles a la falta de oxígeno y si no disponen de un suministro de sangre arterial fresca mueren en pocos minutos. Ha sido llamado clásicamente Sector de Sommer (6,8). Las células piramidales del hipocampo están entre las primeras que resultan afectadas por diversos trastornos.

Densidad neuronal

Se han realizado múltiples estudios para determinar la densidad neuronal hipocámpica en pacientes con epilepsia (10,17), enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson, aunque ha quedado la duda si las alteraciones en la densidad neuronal son la causa o la consecuencia de la enfermedad. Muchos de estos estudios con resultados ambiguos entre pérdida o no de las neuronas del cuerno de Amón (10), además de la búsqueda de las repercusiones de la pérdida de neuronas en esta área y su traducción clínica.

Las diferencias de densidad en los diferentes sectores del cuerno de Amón han sido justificadas en diversos estudios, se ha demostrado la presencia de aumento en los canales de calcio en CA2 como factor protector de muerte neuronal (14), así como estudios de la variación de densidad neuronal en CA1 y sus dendritas bajo la influencia de estrógenos y progestágenos en ratas (18), estudios experimentales de hipoxia aguda y su respuesta autoinmune (7), enfermedades como Alzheimer, Parkinson y esclerosis múltiple disminuyen el conteo neuronal en todos los sectores del hipocampo (13).

Neuronogénesis

Las células madre se definen como aquellas que tienen el potencial de auto-renovación y diferenciación multilineaje, el primer informe de su existencia en sistema nervioso central en mamíferos adultos fue en 1992 (6,15,9,2) y en 1998 se comprobó su existencia en humanos adultos restringida a dos áreas, el área subventricular y la zona subgranular en el giro dentado (5,3,11,16). Se sabe que estas células con capacidad de diferenciación multilineaje le permiten una renovación celular constante al hipocampo adulto aunque tienen una limitada capacidad de proliferación.

En los modelos animales la neurogénesis se incrementa en las tareas cognitivas y la ablación experimental altera las modalidades específicas de aprendizaje y la memoria (5,1,15). En los seres humanos, el impacto de la neurogénesis en la cognición no está claro, aunque se ha descrito que el número de neuronas no aumenta la inteligencia, sino lo hace el número de dendritas y conexiones entre neuronas. Estudios experimentales sugieren que la neurogénesis hipocámpica evita el deterioro de la memoria en ciertas condiciones.

Se ha observado que diferentes estímulos pueden generar neurogénesis, como la administración de ácido fólico post-infarto cerebral experimental (19), hipoxia crónica (20), medicamentos (4), diabetes experimental (11), entre otras.

Enfermedades crónicas y cerebro

No ha sido documentado en estudios previos la densidad neuronal en pacientes que padecen enfermedades crónicas, pero sí existen dos artículos que hablan de la neurogénesis en hipocampos en estudios experimentales sobre la hipoxia crónica y el polipéptido insulino-trópico dependiente (GIP) (11,20).

Estudios recientes han demostrado que la neurogénesis *in vitro* se ve forzada por la hipoxia en ratas adultas, esta hipoxia puede estar provocada por enfermedades crónicas pulmonares, insuficiencia cardíaca e hipertensión arterial sistémica. En éstas se ha demostrado que la neurogénesis en el hipocampo produce efectos antidepresivos y la expresión del receptor de tirosina quinasa B (20).

El giro dentado del hipocampo es una zona de proliferación activa y neurogénesis en el cerebro adulto. Los eventos moleculares en el control de la génesis de las células adultas en el hipocampo en esencia siguen siendo desconocidos.

La expresión en el hipocampo del gen que codifica el polipéptido insulino-trópico dependiente de glucosa (GIP), en las células progenitoras del hipocampo y en toda la capa de células granulares del giro dentado, indican el papel de éste en la neurogénesis, ya que estas células tienen la capacidad de responder a GIP. Cuando se omite el GIP en ratones desnudos estos presentan un número significativamente menor de células hipocámpicas que ratones de tipo salvaje. Esta investigación demuestra la presencia de GIP en el cerebro por primera vez y proporciona evidencia de un marco regulatorio en la función del GIP en la proliferación de células progenitoras (11).

En el Hospital General de México no hay descripciones de las densidades neuronales en hipocampos de las diferentes enfermedades centrales, así como su correlación clínica, ni la descripción de los hallazgos más frecuentes en enfermedades del sistema nervioso central. Así también este estudio da un panorama de los hallazgos en una población determinada en el Hospital en cuanto a densidad neuronal. Puede ser el primero de muchos estudios científicos del comportamiento cerebral a daños determinados.

OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo es determinar la densidad neuronal en hipocampos de pacientes con enfermedades crónicas, en este caso, diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial sistémica, ambas y un grupo control con edades similares.

MÉTODO

A. Metodología

1. Tipo de Estudio:

- Es un estudio descriptivo, observacional, retrolectivo, cegado y transversal.

2. Sujeto de estudio:

- Individuos con antecedente de diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial o ambas, y estén entre la edad comprendida de 50 a 75 años y que se haya realizado necropsia durante el periodo de estudio. Así como un grupo de pacientes sin ningún antecedente de enfermedad crónica previo a la defunción y esté en el grupo de edad de estudio.

3. Muestra poblacional:

- Individuos fallecidos con antecedente de diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial o ambas, y que se les haya efectuado necropsia en el departamento de anatomía Patológica para su estudio.

4. Criterios de inclusión:

- Tejido de encéfalos de pacientes atendidos en el Hospital General de México, O.D, con antecedente de diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial sistémica, ambas y un grupo control sin diabetes mellitus tipo 2 e hipertensión arterial sistémica con edad intervalo de 50 a 75 años fallecidos por complicaciones de la misma enfermedad o por causa infecciosa.
- Los pacientes del grupo control debe de tener aspecto histológico dentro de parámetros de normalidad.

5. Criterios de exclusión:

- Tejido de encéfalos de pacientes con antecedentes de traumatismo craneoencefálico, antecedente de hemorragia cerebral, enfermedad neurológica primaria, antecedente de demencia, enfermedad reumatológica, lupus eritematoso sistémico y enfermedad obstructiva crónica.

6. Criterios de eliminación:

- Tejido de encéfalos de pacientes ausente en el archivo de bloques del servicio de Anatomía Patológica del Hospital General de México, O.D.

7. Variables:

Operacionalización de variables:

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Escala de Medida	Unidad de Medida
Género	Diferencia orgánica entre hombre y mujer	Lo referido en el expediente clínico en cuanto a género	Cualitativa dicotómica	1. Masculino 2. Femenino
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la necropsia	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la necropsia referido en el expediente clínico	Cuantitativa discreta	Año
Densidad neuronal	Cantidad de neuronas por campo en seco fuerte en hipocampo	Promedio de conteo de neuronas en tres campos a gran aumento o seco fuerte de CA1, CA2 y CA3	Cuantitativa discreta.	Neurona

8. Instrumento de recolección de datos.

Se usó una base de datos que se llenó del protocolo de autopsia correspondiente al sujeto estudiado, consignados en los informe del archivo de área de Neuropatología, correspondiente al servicio de Anatomía Patológica. (Ver anexos).

Las muestras fueron cortes de hipocampo derecho a nivel del núcleo geniculado externo, fijadas en formol e incluidas en parafina. Los cortes son de 3 micrómetros de espesor teñidos para su estudio con técnica de Hematoxilina y Eosina.

Se hizo el conteo neuronal en tres campos a seco fuerte de los sectores CA1, CA2 y CA3, esto consiste en contar las neuronas piramidales en tres campos 400X o seco fuerte, se contaron las neuronas del campo que presentaban núcleo y nucléolo evidente, se excluyeron las neuronas que quedaban en el límite del campo, las que no presentaban su núcleo por el nivel de corte, además los campos evaluados debían ser continuos al primero.

Se hizo una media aritmética de los tres campos, para obtener la densidad en cada sector en un campo de seco fuerte, de cada paciente del grupo HTA, DM, HTA+DM y control. Luego de tener las medias de todos los sujetos, se realizó una media de la muestra.

8. Ejecución de la investigación.

Plan de Actividades:

Actividad	Abr11	May 11	Jun 11	Ago 11	May 12	Jun 12
Presentación de tema	XXX					
Aprobación de tema HG		XXXX				
Identificación de fuentes de datos	XXX	XXXX				
Revisión de información			XXXX			
Redacción de protocolo		XX				
Revisión de protocolo por Revisor			XX			
Corrección de protocolo			XXX			
Presentación de protocolo HG			XXXX			
Aprobación de protocolo			XXXX			
Trabajo de Campo				XXXX		
Codificación y procesamiento de resultados					XXXX	
Análisis de resultados, recomendaciones					XXXX	
Redacción de informe final					XX	
Revisión de informe final por Revisor					XX	
Corrección de informe final					X	
Presentación de informe final a HG					X	
Aprobación de informe final						XXX

9. Presentación de resultados y tipo de tratamiento estadístico:

Se tabularon, graficaron y analizaron los resultados obtenidos del instrumento, según el programa EPIINFO.

10. Aspectos éticos:

El estudio realizado corresponde a riesgo categoría 0 para los sujetos estudiados.

11. Otros

Se utilizó el área física, recursos, equipo, almacén y recursos humanos del servicio de Anatomía Patológica como sede de la investigación, ya que allí es donde se hizo la recolección de datos.

RESULTADOS

De los 100 casos revisados 43 (43%) corresponden al género femenino y 57 (57%) al masculino, distribuidos de la siguiente forma por grupos de estudio: grupo HTA+DM 6 mujeres y 19 hombres; grupo DM 8 mujeres y 17 hombres; grupo HTA 15 mujeres y 10 hombres; y grupo control 14 mujeres y 11 hombres.

Cuadro 1

Género de los diferentes grupos de estudio

Grupo	Femenino	Masculino	Total
HTA + DM	6	19	25
DM	8	17	25
HTA	15	10	25
Control	14	11	25
Total	43	57	100

La edad de todos los grupos de estudio estuvo comprendida en un intervalo de 50 a 75 años, la media del estudio fue 62.5 años, las medias de cada grupo de estudio son: para el grupo HTA+DM de 62 años, para el grupo DM de 63 años, para el grupo HTA 65 años y para el grupo control de 60 años.

Cuadro 2

Edad promedio de los grupos de estudio

Grupo	Media Edad
HTA + DM	62
DM	63
HTA	65
Control	60
Media Edad Total	62.5

La densidad neuronal en los grupos de estudio en los sectores hipocámpicos CA1, CA2 y CA3 son para cada grupo de estudio de: para CA1 del grupos HTA+DM de 25 neuronas, al igual que el grupo DM con 25 neuronas, el grupo HTA de 24 neuronas y el grupo control de 23 neuronas.

Para CA2, el grupo HTA+ DM es de 30 neuronas, el grupo DM de 30 neuronas, el grupo HTA de 31 neuronas y el grupo control de 28 neuronas.

Para CA3, el grupo HTA+DM es de 26 neuronas, el grupo DM de 27 neuronas, el grupo HTA de 27 neuronas y el grupo control 25 neuronas.

Cuadro 3

Media neuronal en CA1, CA2 y CA3 en un campo de 40x, en los grupos de estudio.

Grupo	CA3	CA2	CA1
HTA + DM	26	30	25
DM	27	30	25
HTA	27	31	24
Control	25	28	23

DISCUSIÓN

La densidad neuronal en los grupos de estudio HTA+DM, DM y HTA es mayor que el grupo control. Estudios experimentales recientes muestran que la estimulación de la neurogénesis en el hipocampo puede estar relacionada en procesos de hipoxia crónica y diabetes (11,20).

La densidad neuronal del sector CA2 es la mayor en los cuatro grupos de estudio en comparación con CA1 y CA3. Se han estudiado algunos factores del porqué el sector CA2 permanece con un número de neuronas bastante aceptable en los estudios, y mayor que las otras regiones hipocámpicas, algunos estudios mencionan ya la mayor cantidad de canales de calcio, que poseen las neuronas de esta región (14).

La densidad neuronal del sector CA1 es la menor en los cuatro grupos de estudio en comparación a CA2 y CA3, las referencias bibliográficas hablan de la sensibilidad de las neuronas del sector CA1 o de Sommer para el daño y su vulnerabilidad selectiva (6,8), lo que explicaría porque es la de menor densidad en todos los grupos de estudio, aunque no se sabe la causa de la vulnerabilidad específica de este sector.

La densidad neuronal del grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 es mayor que los otros tres grupos de estudio. En estudios experimentales se sugiere un polipéptido insulínico dependiente de insulina como estimulante de la neurogénesis a nivel hipocámpico, que pudiera asociarse a la densidad neuronal encontrada en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2, en este estudio.

CONCLUSIONES

La media de edad del estudio es de 62.5 años.

La media de edad más baja es la del grupo control con 60 años a la defunción y el promedio de edad más alto fue el grupo HTA con 65 años a la defunción.

De los casos de estudio el 57% (57) fueron del género masculino y 43% (43) del género femenino.

Los grupos HTA y el grupo control son los que presentan mayor número de casos del género femenino.

Los grupos HTA+DM y DM son los que mayor número de casos del género masculino presentó.

La densidad neuronal en los grupos HTA+DM, DM e HTA es mayor que el grupo control.

La densidad neuronal del area CA2 fue la mayor en los cuatro grupos de estudio en comparación con CA1 y CA3.

La densidad neuronal del area CA1 fue la menor en los cuatro grupos de estudio en comparación a CA2 y CA3.

La densidad neuronal del grupo DM2 fue mayor que los otros 3 grupos de estudio.

Se deben realizar más estudios para corroborar el presente, diseñar otros en relación a la funcionalidad neuronal y su relación con la densidad de las mismas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bonaguidi MA, Peng CY, McGuire T, Falciglia G, Gobeske KT, Czeisler C, Kessler JA. Noggin expands neural stem cells in the adult hippocampus. *J Neurosci*. 2008 Sep 10;28(37):9194-204.
2. Bull ND, Bartlett PF. The adult mouse hippocampal progenitor is neurogenic but not a stem cell. *J Neurosci*. 2005 Nov 23;25(47):10815-21.
3. Chang A, Smith MC, Yin X, Fox RJ, Staugaitis SM, Trapp BD. Neurogenesis in the chronic lesions of multiple sclerosis. *Brain*. 2008 Sep;131(Pt 9):2366-75. Epub 2008 Jul 23.
4. Cooke SF, Bliss TV. Plasticity in the human central nervous system. *Brain*. 2006 Jul;129(Pt 7):1659-73. Epub 2006 May 3.
5. Coras R, Siebzehnrubl FA, Pauli E, Huttner HB, Njunting M, Kobow K, Villmann C, Hahnen E, Neuhuber W, Weigel D, Buchfelder M, Stefan H, Beck H, Steindler DA, Blümcke I. Low proliferation and differentiation capacities of adult hippocampal stem cells correlate with memory dysfunction in humans. *Brain*. 2010 Nov;133(11):3359-72. Epub 2010 Aug 18.
6. Love S, Louis D, Ellison D. *Greenfield's Neuropathology*. 8 ed. Londres: Hodder Arnold; 2008. p. 234-45.
7. Johnson DR, O'Connor JC, Hartman ME, Tapping RI, Freund GG. Acute hypoxia activates the neuroimmune system, which diabetes exacerbates. *J Neurosci*. 2007 Jan 31;27(5):1161-6.
8. Kiernan John A. *El sistema nervioso humano. Una perspectiva anatómica*. BARR. Novena edición. Lipincott 2009. p. 267-274.
9. Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci*. 1996 Mar 15;16(6):2027-33.
10. Mathern GW, Babb TL, Mischel PS, Vinters HV, Pretorius JK, Leite JP, Peacock WJ. Childhood generalized and mesial temporal epilepsies demonstrate different amounts and patterns of hippocampal neuron loss and mossy fibre synaptic reorganization. *Brain*. 1996 Jun;119 (Pt 3):965-87.
11. Nyberg J, Anderson MF, Meister B, et al. Glucose-dependent insulintropic polypeptide is expressed in adult hippocampus and induces progenitor cell proliferation. *J Neurosci*. 2005 Feb 16;25(7):1816-25.

12. Olivares R, Toledo C, Vera Y, Pérez H, et al. Densidad neuronal en la corteza visual primaria (Área 17), en ratas sometidas a estrés crónico. *Int. J. Morphol.*, 2010. 28 (3); 855-860
13. Papadopoulos D, Dukes S, Patel R, Nicholas R, et.al. Substantial archaocortical atrophy and neuronal loss in the multiple sclerosis. *Brain Pathology* 2009, Apr 19(2): 238-53. Epub 2008 may 20.
14. Porter NM., Thibault O, Thibault V, et al. Calcium Channel density and hippocampal cell death with Age in long-term culture. *J Neurosci*, 1997. Jul.15; 17(14); 5829-39
15. Seri B, García-Verdugo JM, McEwen BS, Alvarez-Buylla A. Astrocytes give rise to New Neurons in the Adult Mammalian Hippocampus. *The J Neurosci*. 2001. Sept. 15. 21 (18); 7153-60
16. Thom M, Sisodiya S, Harkness W, Scaravilli F. Microdysgenesis in temporal lobe epilepsy. A quantitative and immunohistochemical study of white matter neurons. *Brain* 2001. Nov 124(Pt11). 2299-309
17. Thom M, Zhou J, Martinian L, Sisodiya S. Quantitative post-mortem study of the hippocampus in chronic epilepsy: seizures do not inevitable cause neuronal loss. *Brain* 2005. Jun, 128(Pt 6); 1344-57 Epub 2005 Mar9
18. Woolley C, Gould E, Frankfurt M, McEwen B. Naturally occurring fluctuation in dendritic spine density on adult hippocampal pyramidal neurons. *J Neurosci*. 1990. Dec; 10(12); 4035-9
19. Zhang X, Huang G, Liu H, et al. Folic acid enhances Notch signaling, hippocampal neurogenesis, and cognitive function in a rat model of cerebral ischemia. *Nutr Neurosci*. 2012. 15(2) 55-63, Epub 2012 Jan 13
20. Zhu X-H, Yan H-C, Zhang J, Qu H-D, et al. Intermittent hypoxia promotes hippocampal neurogenesis and produces antidepressant-like effects in adult rats. *J Neurosci*. 2010 Sept 22, 30(38); 12653-63

