

Universidad Autónoma de Tlaxcala

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA



Posgrado en Ciencias Biológicas

Hiperaldosteronismo inducido por estrés crónico variable sobre el arreglo histológico, acumulación de triglicéridos, inflamación, fibrosis y estrés oxidativo pancreático en ratas jóvenes adultas

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

L.N. JR. GABRIELA HERNÁNDEZ
CERVANTES

Directora

Dra. Leticia Nicolás Toledo

Codirectora

Dra. Crithian Neftaly Sánchez Solís

Tlaxcala, Tlax.

Agosto, 2023



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Hiperaldosteronismo inducido por estrés crónico variable sobre el arreglo histológico, acumulación de triglicéridos, inflamación, fibrosis y estrés oxidativo pancreático en ratas jóvenes adultas

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

L.N. JR. GABRIELA HERNÁNDEZ CERVANTES

Comité Tutorial

Dra. Leticia Nicolás Toledo
Dra. Estela Cuevas Romero
Dra. Lidia Sumiko Morimoto Martínez
Dra. Crithian Neftaly Sánchez Solís

Financiamiento

La presente tesis se realizó en el laboratorio de Bioquímica y Metabolismo del posgrado de Maestría en Ciencias Biológicas; registrado en el Padrón Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC), en las instalaciones del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, Unidad Periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México. Para su realización el proyecto fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través del apoyo recibido en la beca CONACyT (S20211472), y el apoyo al proyecto de investigación (287762) de la Dra. Leticia Nicolás Toledo.



**COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E**

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que Jr. Gabriela Hernández Cervantes realiza para la obtención del grado de Maestra en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es "Hiperaldosteronismo inducido por estrés crónico variable sobre el arreglo histológico, acumulación de triglicéridos, inflamación, fibrosis y estrés oxidativo pancreático en ratas jóvenes adultas".

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
TLAXCALA, TLAX., A 17 DE AGOSTO DEL 2023


DRA. LIDIA SUMIKO MORIMOTO MARTÍNEZ


DRA. LETICIA NICOLÁS TOLEDO


DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO


DR. JORGE RODRÍGUEZ ANTOLÍN


DR. MÁRCOS JUÁREZ GARCÍA

**COMITÉ ACADÉMICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Sirva este medio para describir el proceso de revisión de la tesis titulada **“Hiperaldosteronismo inducido por estrés crónico variable sobre el arreglo histológico, acumulación de triglicéridos, inflamación, fibrosis y estrés oxidativo pancreático en ratas jóvenes adultas”** realizada por la estudiante **Jr. Gabriela Hernández Cervantes** para optar por su grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**.

El documento de la tesis de **Jr. Gabriela Hernández Cervantes** fue revisado por mí como directora de tesis antes de presentarse en cada examen tutorial y, posteriormente a los exámenes tutorales, los miembros de su comité tutorial realizaron también sus respectivas observaciones. De manera que el documento, llevó un proceso de revisión por varios profesores expertos en el tema. En el mes de agosto, el documento final de la tesis fue procesado con el programa del Turnitin marcando poco texto con similitudes (20%). Los textos detectados con similitud fueron corregidos por la estudiante. Se volvió a procesar el documento y volvió a marcar 19%, sin embargo, examinando los detalles de la búsqueda se observó que las similitudes están marcadas en palabras técnica comúnmente utilizadas, redacción de resultados y la metodología, correspondiendo a lenguaje común por lo que esta similitud no podría ser considerada como plagio.

Por lo anterior, confirmo que **la estudiante no incurrió en ninguna práctica no deseable en la escritura de la tesis.**

Sin más por el momento, reciban atentos saludos.

CORDIALMENTE
Tlaxcala, Tlax., a 7 de agosto de 2023



Dra. Leticia Nicolás Toledo
Directora de tesis

AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis Dra. Leticia Nicolas Toledo y a mi codirectora, Dra. Cristhian Neftaly Sánchez Solís, por toda la confianza y paciencia para que este proyecto se realizara.

A la coordinadora y tutora de la Maestría, Dra. Estela Cuevas Romero, por darme la oportunidad de formar parte de este programa. Por su revisión y sugerencias para la mejoría de esta tesis.

A mi tutora, Dra. Lidia Sumiko Morimoto Martínez por su revisión y sugerencias para la mejoría de esta tesis.

A mis compañeros del CTBC por compartirme su experiencia y conocimiento para la realización de mis experimentos.

A la familia Delgado Ruiz por brindarme su apoyo incondicional, emocional y económico. Así como su compañía en noches de trabajo en casa.

A mi amigo y hermano MSP. Raúl Alberto Zavaleta Abad por siempre escucharme y ser mi apoyo emocional a lo largo de la maestría y por acompañarme en este proceso de crecimiento profesional.

GRACIAS.

Esta tesis es dedicada a mi familia por su apoyo incondicional en todos y cada uno de mis proyectos.

En especial a mi hermano por forzarme a ser mejor persona y profesionalista. Y a mi pareja por ser mi motor y apoyo en días malos y buenos.

RESUMEN

En humanos, el hiperaldosteronismo es un trastorno de las glándulas suprarrenales porque sintetiza elevada aldosterona a nivel sanguíneo. La prevalencia de este trastorno no está claramente definida. Los pacientes con aldosteronismo primario tienen el riesgo de presentar daño pancreático. La pancreatitis crónica es relacionada a la destrucción fibrótica, el cual induce inflamación y pérdida de la función pancreática. En nuestro grupo de trabajo hemos observado que estrés crónico aumentan los niveles de aldosterona sérica. En la rata macho joven se ha demostrado que el estrés crónico variable induce inflamación y fibrosis a nivel renal. Sin embargo, existe escasa información acerca de la relación entre aldosterona y alteraciones en el páncreas en edad juvenil. **Objetivos.** Determinar si el hiperaldosteronismo induce desorganización histológica e inflamación, acumulación de triglicéridos, fibrosis y estrés oxidativo pancreático en ratas jóvenes adultas. **Metodología.** Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar de 51 días de edad que formaron 2 grupos: grupo control (n=8) y grupo estrés crónico variable (ECV; n=8) sometido a 5 diferentes estímulos estresantes/semana durante 4 semanas. Después de la eutanasia se extrajo el páncreas y fue pesado. El páncreas se fijó en Bouin y deshidrató con alcoholes de forma ascendente, aclarado en xilol e incluido en paraplast. Cortes longitudinales de 5µm fueron teñidos con Hematoxilina-eosina y Tricrómica de Masson. Utilizamos *t*-Student ($p<0.05$) para el análisis. **Resultados.** El hiperaldosteronismo inducido por el estrés crónico variable promueve un mayor número de islotes grandes con un aumento en la expresión de TNF- α , a su vez los islotes presentaron mayor celularidad, acumulación de triglicéridos y fibrosis. Los resultados sugieren que el modelo de hiperaldosteronismo inducido por estrés crónico variable es un modelo adecuado para investigar los efectos de la aldosterona sobre el páncreas.

Índice

INTRODUCCIÓN	I
PÁNCREAS.....	I
PÁNCREAS EXOCRINO	II
PÁNCREAS ENDOCRINO	III
SÍNTESIS DE INSULINA.....	IV
RESISTENCIA A LA INSULINA	V
ALDOSTERONA	VI
RECEPTOR MINERALOCORTICOIDE EN EL PÁNCREAS	VII
ESTRÉS	VII
ESTRÉS Y ALDOSTERONA	VIII
ALDOSTERONA E INSULINA	VIII
ALDOSTERONA – INFLAMACIÓN - FIBROSIS.....	IX
ALDOSTERONA-PÁNCREAS-LÍPIDOS	XI
ALDOSTERONA - ESTRÉS OXIDATIVO	XI
JUSTIFICACIÓN	XIII
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	XIII
HIPÓTESIS	XIII
OBJETIVO GENERAL	XIII
OBJETIVO ESPECÍFICOS	XIV
METODOLOGÍA	XIV
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	XV
ESTÍMULO DE ESTRÉS CRÓNICO VARIABLE.....	XV
OBTENCIÓN DEL PÁNCREAS	XVI
DETERMINACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS PANCREÁTICOS	XVI

ANÁLISIS HISTOLÓGICO DEL PÁNCREAS	XVII
INMUNOHISTOQUÍMICA DE TNF- α	XVII
RECONSTRUCCIÓN DEL PANCREAS (TRICROMICA MASSON).....	XVIII
EXTRACTOS DE PÁNCREAS	XVIII
SUSTANCIAS REACTIVAS AL ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS) Y ENZIMAS ANTIOXIDANTES (CATALASA, SUPEROXIDO DISMUTASA, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL Y GLUTATIÓN)	XIX
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	XI
RESULTADOS	XXII
PESO CORPORAL, INGESTA DE AGUA Y ALIMENTO	XXII
PESO DEL PÁNCREAS	XXII
TRIGLICÉRIDO PANCREÁTICO.....	XXIII
HISTOLOGÍA DE PÁNCREAS	XXIII
EXPRESIÓN PANCREÁTICA DE TNF-A	XXV
FIBROSIS PANCREÁTICA	XXVII
DISCUSIÓN	XXX
CONCLUSIÓN	XXXV
PERSPECTIVAS.....	XXXV
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	XXVI
GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	XLVI
ANEXOS	XLVII

INTRODUCCIÓN

La pancreatitis crónica es un trastorno de destrucción fibrótica progresiva irreversible, en respuesta a una inflamación que conduce a insuficiencia pancreática en general. Dos pasos conducen esta afección crónica: a) pancreatitis aguda, que causa lesiones en el páncreas y b) una respuesta inflamatoria anormal a esta lesión que induce una activación de las células profibróticas pancreáticas, incluidas las células estrelladasⁱ. La etiología es multifactorial siendo el alcoholismo el factor de riesgo más importante en adultos, la edad promedio de este diagnóstico es de entre 35 a 55 años (Barry 2018).

El páncreas exocrino y endocrino se ven afectadas por diferentes mecanismos; pancreatitis, cáncer de páncreas, diabetes y tumores neuroendocrinos (Zhou y Melton 2018). En adición, el hiperaldoesteronismo es un trastorno de las glándulas suprarrenales que induce una síntesis elevada de aldosterona sérica. La prevalencia de este trastorno no es clara. Sin embargo, en pacientes con hiperaldoesteronismo primario se asocia con el aumento en la prevalencia de diabetes mellitus, con obesidad visceral, síndrome metabólico y la secreción de insulina (Ronconi y cols. 2010). En pacientes en hemodiálisis, los niveles de aldosterona y la resistencia a la insulina están estrechamente relacionados y la suma de los dos está relacionada con daños severos en los tejidos cardiovasculares (Wakino y cols. 2018). Las glándulas suprarrenales, el tejido adiposo, el islote de Langerhans y la vasculatura están implicados en las acciones de la aldosterona. La aldosterona está implicada en la patogenia de resistencia a la insulina mediada por los receptores de mineralocorticoides. El bloqueo de los receptores de mineralocorticoides mejora la síntesis de insulina, utilización de glucosa mediada por insulina y vasorrelajación dependiente del endotelio (Zavatta 2016). Si el estrés está involucrado en la síntesis de aldosterona y la resistencia a la insulina es todavía una pregunta por responder.

PÁNCREAS

El páncreas es una glándula mixta, ubicada retroperitonealmente en la pared posterior de la cavidad abdominal, en el humano mide 14 a 18 cm de largo, 2 a 9 cm de ancho y 2 a 3 cm de espesor, con un peso de 50 a 100 g. Se divide en 3 partes principales: la cabeza, cuerpo y cola.

Generalmente, el cuerpo comienza en el borde izquierdo de la arteria mesentérica superior y se considera el límite de la cabeza, mientras que el punto medio del cuerpo hacia el intestino se considera el borde límite de la cola (Suda y cols. 2006). Consta de células acinares exocrinas dedicadas a secretar enzimas digestivas y células endocrinas de los islotes de Langerhans, las cuales producen hormonas (Lorberbaum y cols. 2020) relacionadas con la homeostasis de la glucosa como la insulina (Underwood y Adler 2013). Se pueden distinguir 3 partes macroscópicas principales: lóbulo duodenal, esplénico y gástrico (Liu y cols. 2010):

- El lóbulo esplénico: constituye más de la mitad del volumen total del páncreas, se extiende horizontalmente entre el duodeno y el bazo; es homólogo al cuerpo y la cola del páncreas.
- El lóbulo duodenal: se encuentra en el mesenterio que rodea el duodeno y es homólogo a la cabeza del páncreas.
- El lóbulo gástrico: puede verse como una gran parte del lóbulo esplénico.

El páncreas de rata es lobulado, de color rosa pálido, blando y se extiende desde el duodeno y yeyuno hasta el bazo. Los estudios en ratas se han utilizado para caracterizar la fisiología del páncreas ya que muchos aspectos fisiológicos y metabólicos son semejantes al humano (Dolgin 2010).

PÁNCREAS EXOCRINO

El páncreas exocrino está constituido por numerosas porciones secretoras en forma de túbulos y acinos, representa del 90 al 99 % del volumen total del órgano, el cual consta de glándulas tubuloacinares formadas por una sola capa de células piramidales que conforman los acinos secretores. Los túbulos y acinos desembocan en conductos excretores muy ramificados:

- El conducto pancreático principal de Wirsung: está revestido por un epitelio columnar alto y desemboca en la cima de la papila duodenal donde se intersecta con el conducto biliar (principal vía de drenaje del páncreas exocrino).
- El conducto pancreático accesorio de Santorini: es muy variable; si está presente, puede desembocar en la papila menor a 2 cm por encima de la papila mayor en el duodeno.

El jugo pancreático es un líquido alcalino claro que contiene los precursores de enzimas de todas las clases necesarias para descomponer los componentes principales de la dieta; mientras que las enzimas son secretadas por las células de los acinos pancreáticos, la mayor parte del líquido y los iones bicarbonato del jugo pancreático son secretadas por las células que forman los conductos intercalares del páncreas (Heymann y cols. 2019). Las secreciones enzimáticas, hidroliza las sustancias nutritivas de los alimentos, mientras que las secreciones hidroelectrolíticas, actúa como vehículo de la enzimática y proporciona un medio alcalino, necesario para la actuación de las enzimas (Sastre y Sabaterb 2005). Se ha estudiado la etiología de diversas patologías aislando el páncreas exocrino, el cual sugiere que la diabetes inducido en primer lugar por la inflamación glandular y el aumento de la concentración de citosinas dentro del parénquima pancreático median la disfunción y pérdida de las células β y en segundo lugar la fibrosis extensa en las células acinares pancreáticas y los islotes de Langerhans destruye lentamente el tejido de los islotes pancreáticos promoviendo la enfermedad del páncreas exocrino, llamada diabetes pancreatogena definida como diabetes tipo 3 o diabetes frágil. Esta se origina por enfermedades crónicas pancreáticas exocrinas lo que da como resultado ciclos de hipoglucemia (debido a una deficiencia en la secreción de glucagón) e hiperglucemia (por la producción persistente de glucosa hepática y sensibilidad exagerada a la insulina) con diversos mecanismos como: pancreatitis, adenocarcinoma ductal pancreático, hemocromatosis, fibrosis quística y cirugías previas del páncreas (Hart y cols. 2016; Richardson y Park 2020; Vonderau y Desai 2022).

PÁNCREAS ENDOCRINO

El tejido endocrino humano adulto contiene cuatro tipos celulares diferentes que son: alfa, beta, delta y pp; cada una de éstas producen una hormona única: glucagón, insulina, somatostatina y polipéptido pancreático, respectivamente (Stevens y Lowe 1998). Los islotes de Langerhans representan menos del 5% de la masa pancreática, su vascularización está compuesta por muchos capilares fenestrados y es más extensa que la del tejido exocrino (Zhou

y Melton 2018). El 75% de células endocrinas son células beta que secretan insulina, la cual se encarga de estimular la síntesis de glucógeno, proteínas y ácidos grasos; también facilita la captación de glucosa en las células pancreáticas. El 20% de células endocrinas son células alfa las cuales secretan glucagón cuyos efectos son opuestos a los de la insulina. El 5% de células endocrinas son células delta, las cuales secretan somatostatina, una hormona de acción local que inhibe otras células endocrinas. Por último, las células pp endocrinas de los islotes como su nombre lo indica secretan polipéptido pancreático y su función es estimular las glándulas gástricas e inhibir la secreción de bilis y bicarbonato, péptido intestinal vasoactivo que tiene efectos similares al glucagón y estimula la función exocrina del páncreas (Heymann y cols. 2019).

SÍNTESIS DE INSULINA

La insulina es una hormona anabólica y su síntesis y acción están regulados en diferentes órganos por mecanismos intracelulares. Es sintetizada en las células β del páncreas, desde donde se exporta a través de la circulación portal al hígado (Figura 1). Durante este primer paso, los hepatocitos del hígado eliminan más del 50% de la insulina. La porción restante sale del hígado a través de la vena hepática, donde sigue la circulación venosa hasta el corazón; esto promueve la vasodilatación, ya que es administrada por vía arterial donde se ejercen sus acciones metabólicas en el hígado. Posteriormente, sale de la circulación a nivel de la microvasculatura, llegando a las células musculares y adiposas, donde estimulan la translocación de GLUT4 y la captación de glucosa. La insulina restante es distribuida y finalmente degradada por el riñón (Tokarz y cols. 2018).

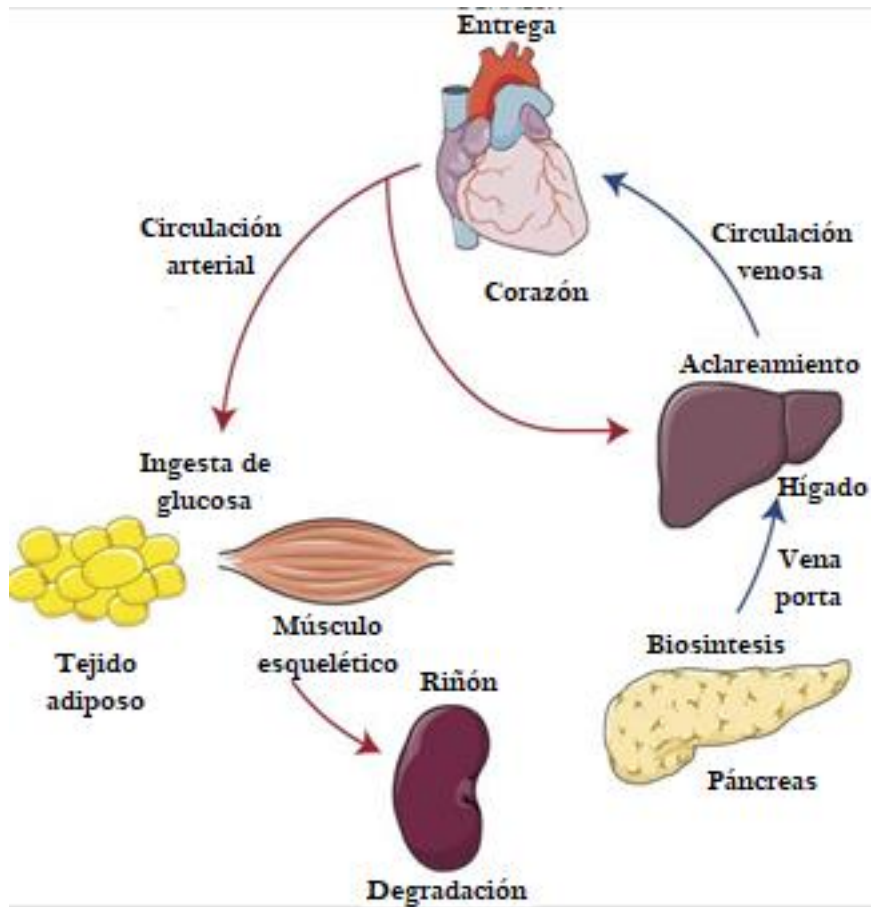


Figura 1. Biosíntesis de la insulina (Tokarz y cols. 2018).

RESISTENCIA A LA INSULINA

La resistencia a la insulina se define como una respuesta biológica alterada a la estimulación por insulina en los tejidos diana como: el hígado, los músculos y el tejido adiposo donde intervienen procesos celulares más complejos y su progresión puede provocar síndrome metabólico, esteatosis hepática y diabetes mellitus tipo 2, afectando la eliminación de glucosa del plasma, dando como resultado hiperinsulinemia (Lebovitz 2001), el cual puede ser un factor impulsor para el desarrollo de la dislipidemia, presión arterial elevada y metabolismo alterado de la glucosa (Reaven 2002). Otros autores asociaron la resistencia a la insulina con los siguientes factores: antecedentes genéticos, envejecimiento, hiperlipidemia, hígado graso,

embarazo, síndrome de ovario poliquístico, lipodistrofia, estrés, inflamación crónica y disfunción de la mitocondria (Ye 2013; Roden y Shulman 2019; Sánchez-Garrido y Tena-Sempere 2020). Los principales tejidos sensibles a la insulina relacionados con el metabolismo de la glucosa son el hígado, el músculo esquelético y tejido adiposo. En ayunas, la glucosa hepática regula la producción por los niveles de insulina basal, mientras que, en el músculo la captación de glucosa del plasma es baja y el tejido adiposo proporciona ácidos grasos libres a través de lipólisis como fuente de energía (Ighbariya y Weiss 2017), lo que sugiere que la resistencia a la insulina progresa a corto, mediano o largo plazo en el desarrollo y aparición de la diabetes mellitus tipo 2 (Kahn y cols. 2006). Así, las células beta pancreáticas ya no pueden sintetizar suficiente insulina para mantener la normoglucemia (Hudish y cols. 2019).

ALDOSTERONA

La aldosterona es una hormona mineralocorticoide que tiene su función en la reabsorción de sodio en la nefrona distal a través del receptor de mineralocorticoides. La producción normal de aldosterona está regulada por el eje renina-angiotensina-aldosterona (RAA), a través de una serie de pasos, la renina permite la síntesis de angiotensina II a partir del angiotensinógeno producido por el hígado. Posteriormente, angiotensina II induce en la corteza suprarrenal el aumento de aldosterona, que posteriormente actúa sobre el riñón para reabsorber sal y agua (Booth y cols. 2002). La aldosterona sintasa es la principal enzima responsable de la producción de aldosterona por conversión de corticosterona en aldosterona (Luther y cols. 2009), al existir un desequilibrio entre alguno de estos mecanismos puede haber una producción independiente y no regulada de la aldosterona por la corteza suprarrenal definido como hiperaldosteronismo primario. Algunos autores concluyen que la secreción autónoma de aldosterona de una o ambas glándulas suprarrenales es independiente de sus reguladores primarios: angiotensina II, hiperpotasemia y corticotropina (Hundemer y Vaidya 2019; Ye 2021).

RECEPTOR MINERALOCORTICOIDE EN EL PÁNCREAS

La aldosterona ejerce efectos sistémicos a partir de su fuente adrenal y de fuentes tisulares periféricas a través de su unión con el receptor de mineralocorticoide en el citoplasma; el cual, se expresa en los túbulos renales, glándulas salivales, sudoríparas y las vellosidades intestinales, también en queratinocitos, células del hipocampo, cardiomiocitos, células endoteliales y musculatura lisa (Gómez y Marín 2012). La expresión inmunohistoquímica del receptor de mineralocorticoides en los islotes pancreáticos, ha sido más notable en las células productoras de polipéptido pancreático y delta (Kuhn y Lombès 2013). El receptor de mineralocorticoide es capaz de unir aldosterona o glucocorticoides (cortisol en humanos o corticosterona en roedores) con la misma afinidad. La aldosterona se disocia del receptor de mineralocorticoide más lentamente que cortisol, lo que explica una relación aldosterona-receptor mineralocorticoide más estable que la del complejo cortisol- receptor de mineralocorticoides. Por lo tanto, el receptor de mineralocorticoide tiene afinidad de unión entre aldosterona y glucocorticoides proporcionando un nivel adicional de selectividad (Kuhn y Lombès 2013).

ESTRÉS

El estrés ocurre cuando el organismo siente una amenaza de interrupción de la homeostasis ante los estímulos adversos que surgen de acontecimientos internos y externos (Goldstein y McEwen 2002). El estrés activa el eje hipotalámico-pituitario-suprarrenal (HPA), con la finalidad de liberar mediadores químicos que protejan al organismo del estrés. El estrés crónico está relacionado con el desarrollo de diferentes enfermedades, dando como resultado el mal funcionamiento de órganos. El estrés crónico variable aumenta los niveles de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) y la adrenocorticotropina (ACTH) sanguínea (Franco y cols. 2016). La ACTH regula la producción de aldosterona provocando que exista un aumento en los niveles de angiotensina II (Inoue y cols. 2021). La corticosterona es la principal hormona corticosteroide en ratas y ratones, mientras que el cortisol es la hormona del estrés suprarrenal predominante en los seres humanos (Joëls y cols. 2018).

ANTECEDENTES

ESTRÉS Y ALDOSTERONA

En nuestro laboratorio, hemos mostrado en la rata joven, que la exposición al estrés crónico por restricción de movimiento aumenta las concentraciones sanguíneas de aldosterona (Sánchez-Solís y cols. 2020), resultados similares fueron reportados con el estrés crónico variable (Pérez-Sánchez y cols. En preparación).

ALDOSTERONA E INSULINA

Los niveles elevados de aldosterona han sido relacionados con hiperinsulinemia en pacientes con hipertensión (Colussi y cols. 2007), lo que sugiere que la interacción de aldosterona con resistencia a la insulina puede contribuir a mantener la hipertensión. Así la aldosterona contribuye a empeorar la tolerancia a la glucosa al afectar la sensibilidad a la insulina a través del receptor de mineralocorticoides (Luther 2014), quizás por la disminución en el número de receptores de insulina como sucede en el tejido adiposo subcutáneo (Carranza y cols. 1991). La administración de aldosterona en un medio de cultivo de islotes de Langerhans de ratas reduce la secreción de insulina inducida por glucosa en un 18%. Así, la deficiencia o exceso de aldosterona modula la secreción de insulina in vivo e in vitro mediante la producción de especies reactivas de oxígeno (Luther y cols. 2011), el cual sugiere que es un efecto independiente de los receptores de mineralocorticoides. Por otro lado, la adrenalectomía elimina el hiperaldosteronismo y mejora la homeostasis de la glucosa, mientras que el uso de antagonistas del receptor de mineralocorticoides puede empeorar la homeostasis de la glucosa y afectar la función endotelial en pacientes diabéticos, lo que sugiere un posible efecto perjudicial de aldosterona a través de vías no genómicas (Marney y Brown 2007). El hallazgo de que la aldosterona altera la secreción de insulina in vitro e in vivo puede tener amplias implicaciones para los pacientes con resistencia a la insulina y tolerancia a la glucosa alterada, porque la función alterada de las células beta es un paso necesario en la progresión a diabetes mellitus tipo 2 (Kahn y cols. 2006). En población afroamericana, se ha observado una alta

incidencia de intolerancia a la glucosa asociada a un alto nivel de aldosterona sérica con una mayor incidencia de diabetes mellitus 2 después de dos años de seguimiento, lo que sugiere que el exceso de aldosterona puede dañar el metabolismo de la glucosa (Joseph y cols. 2016) y afectar el páncreas. En adición, en humanos se ha mostrado que la aldosterona elevada leptina, adiponectina, inflamación y estrés oxidativo (Joseph y cols. 2018). En ratones hembras db/db diabéticos tratados con aldosterona se induce un aumento de glucosa, apoptosis y disminución del número de células β pancreáticas y estrés oxidativo. Cuando a los ratones se les administró espironolactona para bloquear el receptor de aldosterona no se revierte el efecto de la administración de aldosterona, sin embargo, aumenta el estrés oxidativo. Estos resultados sugieren que la aldosterona pudiera estar ejerciendo sus efectos independientes del receptor (vía no genómica) (Jin y cols. 2013). Se realizó un estudio in vitro en células promonocíticas humanas U-937, donde demostraron que la administración de aldosterona puede reducir la insulina, niveles de ARNm del receptor, unión a la insulina y capacidad de respuesta a la insulina mediada por una regulación a la baja del receptor de mineralocorticoides (Campion y cols. 1999). Posteriormente demostraron que el receptor de mineralocorticoide representa un importante factor transcriptor proadipogénico que puede mediar efectos de la aldosterona y los glucocorticoides sobre el tejido adiposo (Caprio y cols. 2007).

ALDOSTERONA – INFLAMACIÓN - FIBROSIS

La obesidad se asocia con inflamación en el tejido adiposo y con exceso de aldosterona. El tejido adiposo visceral es una fuente de citocinas proinflamatorias que induce un estado inflamatorio sistémico y crónico de bajo grado, estrés oxidativo y resistencia a la insulina (Kuhn y Lombès 2013). Los efectos nocivos de aldosterona en la estructura y función del páncreas están relacionados con la inflamación de los islotes y el estrés oxidativo (Hayden y Sowers 2008). En un cultivo de preadipocitos 3T3-L1, la aldosterona estimuló la expresión de citocinas proinflamatorias y redujo la expresión de adiponectina y PPAR γ . Del mismo modo, la aldosterona aumenta los niveles intracelulares de las especies reactivas de oxígeno en los adipocitos 3T3-L1 (Guo y cols. 2008). In vivo, la aldosterona aumenta la expresión de

citocinas proinflamatorias en el tejido adiposo de ratas, lo que provocó una reducción de la expresión del receptor de insulina y una alteración del transporte de glucosa inducido por la insulina. Durante la obesidad, la aldosterona puede participar en la inducción del estado de inflamación del tejido adiposo al aumentar la expresión de factores proinflamatorios (Kuhn y Lombès 2013). La aldosterona puede inducir resistencia a la insulina al inducir la inflamación del tejido adiposo y al alterar la señalización y la acción de la insulina en los adipocitos, pero también en el músculo esquelético (Calle y cols. 2003). Sin embargo, faltan más estudios para esclarecer si es mediado por el receptor de mineralocorticoide.

Las células acinares pancreáticas de rata tratadas con altas dosis de TNF- α exógeno, exhiben un aumento notable en la producción de interleucina (IL)-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, así como TNF- α . Se ha demostrado que el TNF- α regula la actividad de distintas isoformas de proteína quinasa C (PKC) en diversos tipos de células, incluida la célula acinar pancreática. Cambios en la actividad de PKC se asocia con la inflamación en una variedad de tejidos, incluyendo piel, riñón, intestino y páncreas (Binker y Cosen-Binker 2014). El TNF- α tiene un papel importante en diversas funciones biológicas, incluida la proliferación celular, la diferenciación celular, supervivencia, apoptosis y necrosis celular. Muchas de las respuestas celulares inducidas por TNF- α son mediadas por cualquiera de los dos receptores de TNF- α (TNF-R1 y TNF-R2) (Tartaglia y Goeddel 1992). En respuesta al tratamiento de TNF- α , el factor de transcripción NF- κ B y MAP quinasas, incluidas ERK, p38 y JNK, son activadas en muchos tipos de células (Smith y cols. 1994; Liu y Han, 2001). Sin embargo, la inducción de apoptosis o necrosis se logra principalmente a través de TNFR1 (Nagata 1997). La activación de NF- κ B y MAPK juega un papel importante en la inducción de muchas citocinas y proteínas inmunoreguladoras y es fundamental para muchas respuestas inflamatorias (Liu 2005). El TNF- α participa en la cascada inflamatoria que propaga la pancreatitis (Makhija y Kingsnorth 2002). El TNF- α ejerce sus efectos al unirse primero a receptores de superficie específicos en las células diana. Estímulos estresantes inducen la secreción de TNF- α en células acinares pancreáticas (Liu y cols. 2009). Además, el estrés crónico también se acompaña de una mayor secreción de citocinas proinflamatorias (Vanja y cols. 2016). El estrés activa el sistema inmunológico lo que conduce el desequilibrio de la inflamación y la anti-inflamación (Miller y cols. 2009).

ALDOSTERONA-PÁNCREAS-LÍPIDOS

Hay básicamente dos mecanismos que conducen a la acumulación de grasa en el páncreas: 1) la muerte de las células acinares y su sustitución por adipocitos y 2) la acumulación de grasa infiltrada (Mathur y cols. 2007; Smits y Geenen 2011; Shah y cols. 2019). A diferencia del tejido hepático, el depósito de grasa en el tejido pancreático no se produce de forma intracelular sino intercelular a través de los adipocitos formados en la región intralobulillar, tanto en las células acinares como en las células de los islotes (Pinnick y cols. 2008). Los monocitos y macrófagos maduros responden a la acumulación de lípidos y sus complicaciones, mientras que, los macrófagos del tejido adiposo que se acumulan con la obesidad y que están implicados en la resistencia a la insulina, cambian su fenotipo de células alternativamente activadas (M2) a proinflamatorio (M1). Estos estudios amplían nuestro conocimiento de la heterogeneidad del reclutamiento de monocitos y macrófagos en respuesta a diferentes estímulos inflamatorios y metabólicos y refuerzan la importancia de la interacción de los macrófagos con los adipocitos, así como con otras células en el microambiente tisular rico en lípidos (Gordon 2007). Así, la acumulación de lípidos recluta macrófagos y se ha mostrado que la aldosterona regula la polaridad de los macrófagos y en consecuencia se induce la inflamación.

ALDOSTERONA - ESTRÉS OXIDATIVO-PÁNCREAS

El estrés oxidativo celular se desarrolla cuando la producción de especies reactivas de oxígeno y otros oxidantes excede la defensa antioxidante (Sena y cols. 2018). El estado oxidativo en el tejido pancreático se da por la exposición crónica del estrés y se ha observado un aumento significativo en el nivel de malondialdehído (MDA) en el tejido pancreático de ratas adultas (Elbassuoni y Hafez 2019). El estrés podría alterar el equilibrio del sistema oxidante/antioxidante y causar daño oxidativo a varios tejidos, afectando la función tisular al alterar las funciones enzimática y no enzimática (Şahin y Gümüşlü 2004). La lesión pancreática inducida por estrés en el islote pancreático y las células acinares podría atribuirse a la generación de especies reactivas de oxígeno debido al estrés oxidativo (Binker y cols.

2010). El estrés y el daño oxidativo están asociados con los mediadores de la lesión vascular y la inflamación en muchas enfermedades cardiovasculares, especialmente cuando se complican como hipertensión, hiperlipidemias y diabetes (Higashi y cols. 2009). La aldosterona disminuye la secreción de insulina sin disminuir el contenido de insulina de células β a través de un mecanismo independiente del receptor de mineralocorticoide que también involucra al estrés oxidativo (Luther y Brown 2011). La aldosterona inhibe la secreción de insulina en células β pancreáticas MIN6 (MIN6 beta cell line) y en islotes pancreáticos aislados. Este efecto no fue inhibido por un antagonista del receptor de mineralocorticoide, pero fue prevenido en presencia de un inhibidor de la producción de especies reactivas de oxígeno. Estos hallazgos sugieren que la aldosterona modula la secreción de insulina a través de la producción de especies reactivas de oxígeno, independientemente del receptor de mineralocorticoide (Luther y cols. 2011).

JUSTIFICACIÓN

Evidencia clínica apoya que inhibir la unión del receptor con la aldosterona mejoran la homeostasis de la glucosa y reducen la incidencia de diabetes mellitus tipo 2 en sujetos con alto riesgo de eventos cardiovasculares (Luther y Brown 2011). Se ha evaluado el impacto del exceso de aldosterona induce intolerancia a la glucosa y sensibilidad a la insulina y la función de las células β donde los pacientes con aldosteronismo primario muestran una sensibilidad reducida a la insulina en comparación con los controles esenciales de hipertensión sin dañar las células β de los islotes de Langerhans (Grewal y cols. 2021). Aunque la reducción de la aldosterona o su inhibición podría contribuir a los efectos beneficiosos, la relación entre la aldosterona y el estrés sobre el páncreas requiere más investigación. Por lo tanto, el presente estudio propone la siguiente pregunta:

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿El hiperaldosteronismo afecta la organización histológica e inflamación, induce acumulación de triglicéridos, fibrosis y estrés oxidativo pancreático en ratas jóvenes adultas?

HIPÓTESIS

El hiperaldosteronismo induce desorganización histológica e inflamación, acumulación de triglicéridos, fibrosis y estrés oxidativo pancreático en ratas jóvenes adultas

OBJETIVO GENERAL

Determinar sí el hiperaldosteronismo induce desorganización histológica e inflamación, acumulación de triglicéridos, fibrosis y estrés oxidativo pancreático en ratas jóvenes adultas.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Evaluar la acumulación de triglicérido pancreático.
- Determinar la inflamación por marcaje del TNF- α en cortes histológicos.
- Analizar el arreglo histológico por área de los islotes de Langerhan.
- Evaluar la cantidad de fibrosis con tinción de tricrómica de Masson.
- Evaluar el estrés oxidativo por concentración de TBARS y la actividad enzimática antioxidante (catalasa, superóxido dismutasa, capacidad antioxidante total y glutatión).

METODOLOGÍA

Se utilizaron ratas machos de la cepa Wistar de 21 días de edad. Al día del destete se tomaron ratas macho procedentes de madres diferentes. Se mantuvieron en cajas individuales de acrílico (37 X 27 X 16 cm) bajo condiciones controladas de bioterio del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta con un ciclo de luz oscuridad invertido (12 horas luz/oscuridad iniciando a las 8 am), temperatura de $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de $60 \pm 5\%$, alimentadas con dieta Chow 5001 purina y agua *ad libitum*. El consumo de alimento y agua fue registrado diariamente. Se formaron 2 grupos: grupo control (C, n= 8) y grupo estrés crónico variable (ECV, n=8). El estímulo de estrés fue aplicado a partir del día 52 de edad durante 4 semanas, el diseño experimental se observa en la figura 2.

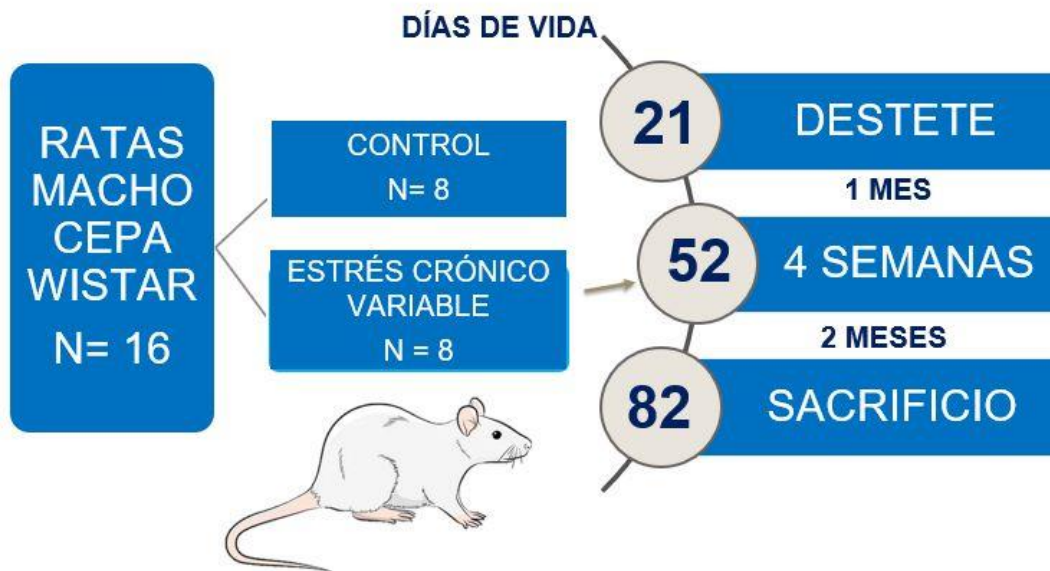


Figura 2. Diseño experimental. Se formaron dos grupos de ratas macho jóvenes, el grupo 1 de ratas macho jóvenes controles sin estrés y ratas macho jóvenes sometidas a estrés durante 4 semanas (n=8).

ESTÍMULO DE ESTRÉS CRÓNICO VARIABLE

El estrés crónico variable consistió en exponer a la rata a cinco tipos diferentes de estrés y en diferentes horarios, el cual tuvo una duración de cuatro semanas seguidas. Durante la primera semana y las siguientes se expuso a la rata al estrés sin ser repetido en la misma semana, día y hora con el propósito de que la rata no se habituara. El estrés fue aplicado a la rata después de que cumplió 51 días de vida durante 4 semanas: 1) Reducción del espacio con caja limpia durante 5 horas (se colocaron 8 ratas en una caja limpia habitualmente para 4-5 ratas de dimensiones 50 cm x 40 cm x 21 cm, 2), nado forzado en agua caliente (28 °C) durante 10 minutos, 3) reducción del espacio con caja sucia durante 5 horas (se colocaron 8 ratas en caja que es usada habitualmente para 4-5 ratas, dimensiones 50 cm x 40 cm x 21 cm, 4), nado forzado en agua fría (18 °C) durante 10 minutos y 5) Restricción de movimiento durante 3 horas en un tubo de 6 cm X 20 cm (Zeeni y cols. 2013; Sánchez-Solís y cols. 2020).

OBTENCIÓN DEL PÁNCREAS

Al término del periodo experimental, los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico 60 mg/kg y posteriormente sacrificados por decapitación. Inmediatamente, la rata fue colocada en posición supina y se realizó una incisión longitudinal sobre la línea media ventral desde la cavidad abdominal hasta el dorsal del pene para extraer el páncreas y pesarlo (Fig. 3).



Figura 3. Se muestra el páncreas obtenido de una rata macho joven.

DETERMINACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS PANCREÁTICO

Las muestras de tejido pancreático congelado (aproximadamente 0.5 g cada uno) fueron homogenizadas en 5.4 ml de cloroformo/metanol (2: 1; v / v; JT Baker, México) y se agitaron en vórtex. La fase orgánica e inorgánica fueron separados por la adición de 1.8 mL de NaCl al 0,7% (JT Baker, México). Las muestras fueron centrifugadas a 1200 rpm durante 15 minutos a 4°C. La fase orgánica se transfirió a un nuevo tubo y fue evaporado. Las muestras fueron resuspendidas en isopropanol + Tritón X-100 al 10%. La cantidad de triglicéridos pancreáticos fue medida usando un kit comercial (Elitech Clinical Systems, México). El contenido de triglicéridos pancreáticos fue reportado como mg de triglicéridos / g de tejido pancreático.

ANÁLISIS HISTOLÓGICO DEL PÁNCREAS

El páncreas fue procesado en Bouin durante 24 horas. Posteriormente, el tejido fue deshidratado con alcohol etílico en concentraciones ascendentes (70, 80, 96 y 100%), se aclaró con xilol y se incluyó en Paraplast Plus. Se obtuvieron cortes histológicos longitudinales de 5µm de espesor con un micrótomo, colocados en portaobjetos y posteriormente fueron teñidos con Tricrómica de Masson. Los cortes fueron microfotografiados con una cámara OLYMPUS de 5.1 megapíxeles, montada en un microscopio óptico Zeiss Imagen A.1 (a 400 aumentos totales). Con el programa Adobe Photoshop CS se realizaron reconstrucciones de las imágenes tomadas a 4x para muestrear aleatoriamente los islotes de Langerhans por animal (figura 4), a los cuales se les determinó el área y la cantidad de células dentro del islote, de acuerdo con su área. El análisis se realizó utilizando un analizador de Imágenes AxioVision REL 4.6 (Zeiss Inc, 2007). Cabe mencionar que los islotes fueron clasificados de acuerdo a su área; extra-chicos (<1000µm²), chicos (1001-3000 µm²), medianos (3001-10,000 µm²) y grandes (>10,001µm²; figura 4).

INMUNOHISTOQUÍMICA DE TNF-α

Se utilizaron cortes de páncreas de 5 µm de espesor. Fueron dejados en una solución de citrato de sodio 10 mM con pH 6 durante 3 noches a 4°C. Posteriormente, fueron incubadas al máximo de temperatura en un horno de microondas por 10 minutos para recuperar los antígenos. Después, las peroxidases fueron agotadas con una solución de peróxido de hidrógeno al 3% durante 30 minutos. Se realizó el bloqueo de uniones inespecíficas usando suero de rata al 3%, gelatina bovina al 0.25 % y BSA al 4 % todo disuelto en una solución de fosfatos salina tritón X 100 (PBS-T) al 0.3 % durante una hora. A continuación, se realizó la incubación con el anticuerpo primario (Policlonal de conejo anti-TNF-α, 1:500 ab9739 de abcam) durante 24 horas a 4°C. Posteriormente, el tejido fue lavado y después incubado con el anticuerpo secundario (anti-conejo de ratón IgG-HRP, sc-2357 de santa cruz biotechnology) a temperatura ambiente por 2 horas. Se realizó el lavado con PBS-T. Finalmente, se realizó el revelado mediante kit de sustrato de peroxidasa DAB (Vector Labs USA, No. cat. Sk-4100).

Las laminillas fueron lavadas y contrateñidas con hematoxilina de mayer's, después fueron deshidratadas y montadas con resina de grado histológico.

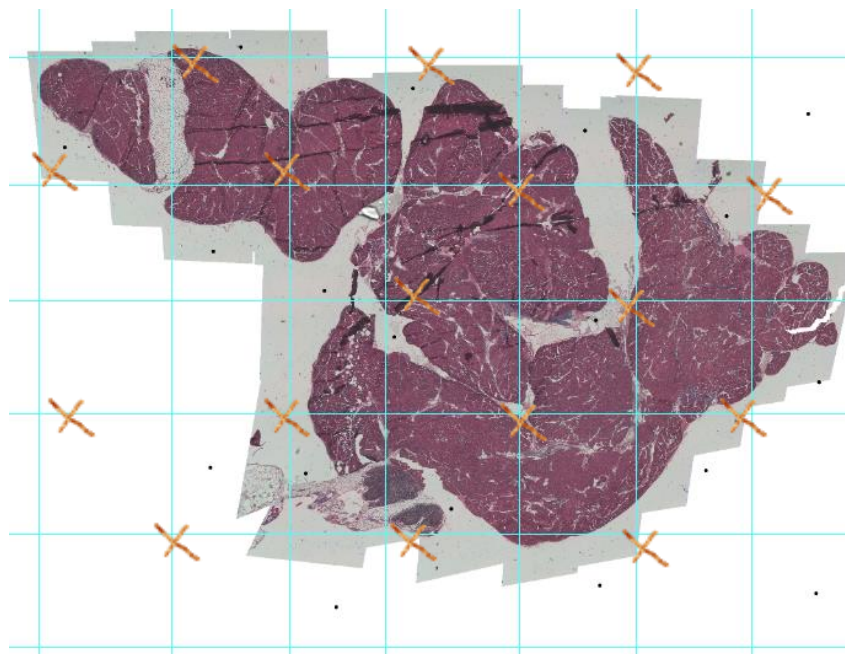


Figura 4. Se muestra reconstrucción del páncreas (tinción de Hematoxilina- Eosina).

EXTRACTOS DEL PÁNCREAS

Se obtuvo 10 mg de tejido pancreático, se adicionó aproximadamente 500 μ L de buffer de lisis radioinmuno precipitación (RIPA Lysis Buffer) para ser homogenizado. Enseguida fue centrifugado a 10000 rpm durante 2 minutos a 4°C, para obtener el sobrenadante. Posteriormente se realizó una dilución del extracto con una concentración de 1:100 en agua destilada. La cuantificación de proteínas se realizó mediante el método de Bradford.

.3, 0.6 y 1 μM en volumen final de 300 μL . Finalmente la muestra fue colocada 180 μL

SUSTANCIAS REACTIVAS AL ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)

El estrés oxidativo se determinó mediante la técnica de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). Para esto, en un tubo de 2 mL se agregó 70 μL de Tris 150 mM pH 7.5, 300 μL de ácido tiobarbitúrico al 0.4% y 90 μL de cada muestra. Se agitó en vórtex e incubó por 45 minutos a 100 °C. Posteriormente la muestra fue enfriada en hielo durante 2 minutos y se le agregó 200 μL de KCl al 1.2 % y centrifugada a 7000 rpm durante 3 minutos. La curva de calibración se realizó mediante la dilución de una solución stock de malondialdehído 30 μM como sigue 0.1, 0 del sobrenadante en una microplaca para realizar la lectura en un lector de placa BioTec modelo ELx800 a 532 nm. Los niveles de MDA se reportaron por mg de proteína y se presentan como % de MDA con relación al control que se llevó a 100%.

ACTIVIDAD DE CATALASA

Se colocaron 5 μg de proteína de los extractos en un volumen final de 250 μL , se ajustó el volumen con agua miliQ. Posteriormente en cada tubo se agregaron 500 μL de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4) al 0.1 M, 50 μL de Tris 25 Mm pH 7.5, 250 μL de una solución de H_2O_2 al 0.2 M y finalmente una solución de dicromato de potasio al 0.16 M y ácido acético glacial en una concentración de 1:3. La curva de calibración se realizó con H_2O_2 en concentraciones de 0, 10, 20, 40, 80 y 160 nM. Se incuban los tubos a 97°C, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se colocaron 200 μL en una microplaca para leer en lector de placa BioTec modelo ELx800 a 550 nm. Los niveles de actividad catalasa se reportaron por mg de proteína y se presentan como % de actividad catalasa con relación al control que se llevó a 100%.

ACTIVIDAD DE SUPERÓXIDO DISMUTASA

En una microplaca se agregaron 20 μL de muestra en 80 μL de agua destilada, luego se agregaron 8 μL de pirogalol 2 mM, 10 μL de bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT, 5 mg de MTT en 1 mL de PBS 1X). Se incubaron a temperatura ambiente en agitación continua cubiertas de la luz durante 5 min. Se agregaron 100 μL de

dimetilsulfóxido DMSO. La curva de calibración se realizó con diluciones de ácido úrico a partir de una solución stock de 2mM como sigue 0, 15.62, 31.2, 62.5, 125,250, 500 μ L en volumen final de 1000 μ L. Se realizó la lectura en un lector de placa BioTec modelo ELx800 a 550 nm. Los niveles de actividad SOD se reportaron por mg de proteína y se presentan como % de actividad SOD con relación al control que se llevó a 100%.

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL

El estado antioxidante total fue evaluado según el método de Bahr y Basalto 2004. Treinta y tres microlitros de suero (muestra), Agua destilada (blanco) y un estándar de ácido ascórbico se agregó a 1.0 mL de una solución de potencial reductor férrico (FRP) (25 mL de acetato de sodio a 300 mmol/L con pH de 3.6, 2.5 mL de hexacianoferrato de potasio ($K_3Fe(CN)_6$) 50 mmol/L y 2.5 mL de cloruro férrico hexahidrato ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$). Se incubaron por 3 min a 37 °C. Las lecturas se realizaron a 593 nm en un lector de placa BioTec modelo ELx800.

GLUTATIÓN

En tubos de 2 mL. Se colocaron 10 μ g de proteína de los extractos en un volumen final de 50 μ L de agua destilada, se ajustó el volumen de acuerdo con cada muestra. Para la curva de calibración se usó una solución de 5mM de cisteína y se prepararon diluciones como sigue: 1.5 mM, 1.25 mM, 1 mM, 0.75 mM, 0.50 mM y 0.25 mM. A partir de las diluciones se tomaron 100 μ L y se colocaron en tubos. Posteriormente a cada tubo se agregaron 1000 μ L de fosfato de sodio dibásico (Na_2HPO_4) al 0.3 M, 200 μ L de reactivo de Ellman (2 mg de 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) en 5 mL de Citrato de Sodio dihidratado al 1%) a los tubos de la curva y 250 μ L a los tubos de la muestra. Posteriormente se agitaron en vortex y se incubaron por 10 minutos a temperatura ambiente. Se realizó la lectura en un lector de placa BioTec modelo ELx800 a 420 nm.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos están expresados de acuerdo con la media \pm SEM. Se realizó la prueba t de Student en el programa GraphPad Prism 5.01 (Graphpad Software, USA) para determinar las diferencias significativas entre los dos grupos. Se utilizó *U-de Mann Whitney* para analizar las diferencias entre el tamaño de los islotes (extra chicos, chicos, medianos y grandes) y la cantidad de fibrosis. En todos los casos $p \leq 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo.

RESULTADOS

Peso corporal, ingesta de agua y alimento

El peso corporal de las ratas expuestas a estrés crónico variable fue similar al grupo control. Asimismo, la ingesta de agua, el consumo de alimento sólido y el total de calorías ingeridas fue similar entre los grupos (Tabla 1).

	C	ECV
Peso corporal (g)	330.3 ± 9.27	322.6 ± 13.95
Ingesta de agua (ml/día)	6.43 ± 0.31	6.31 ± 0.26
Ingesta de alimento (g/día)	3.63 ± 0.13	3.50 ± 0.11
Consumo de calorías (100 g de peso corporal/día)	12.36 ± 0.44	11.92 ± 0.37

Tabla 1. Peso corporal, ingesta de agua y alimento. Se muestra la media ± error estándar. No hay diferencias entre grupos. $P > 0.05$, *t*-student. Control (C, n= 8) y grupo estrés crónico variable (ECV, n=8).

Peso del páncreas

El peso del páncreas de las ratas estresadas fue similar al páncreas del grupo control (Fig. 5).

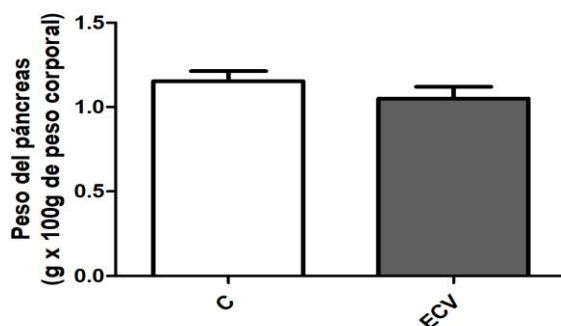


Figura 5. Peso del páncreas. Se muestra la media ± error estándar. No hay diferencias entre grupos. $P > 0.05$, *t*-student. Control (C, n= 8) y grupo estrés crónico variable (ECV, n=8).

Contenido de triglicéridos pancreático

El estrés incrementó el contenido de triglicéridos en el páncreas (Fig. 6).

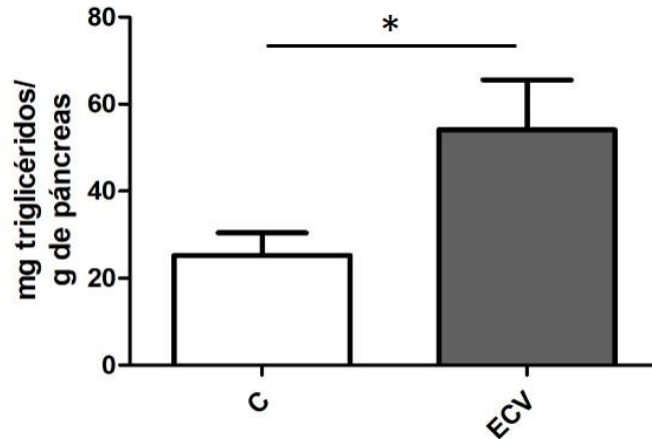


Figura 6. Acumulación de triglicéridos en páncreas. Se muestra la media \pm error estándar. Diferencias significativas comparado con el grupo C. $p < 0.05$, *t*-student. Control (C, $n = 8$) y grupo estrés crónico variable (ECV, $n = 8$).

Histología de páncreas

El número de islotes pancreáticos fue similar entre grupos (Fig. 7).

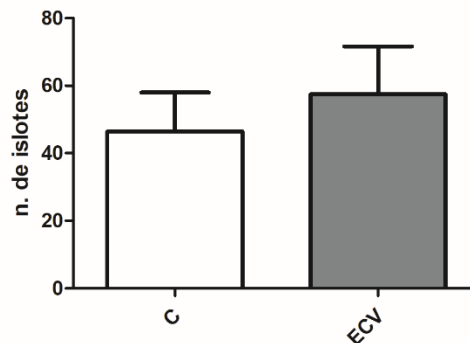


Figura 7. Número de islotes pancreáticos. Se muestra la media \pm error estándar. No hay diferencias entre grupos. $p > 0.05$, *t*-student. Control (C, $n = 8$) y grupo estrés crónico variable (ECV, $n = 8$).

Tanto en el grupo control como en el grupo estresado se observan diferentes tamaños y formas (redondas u ovaladas) de los islotes pancreáticos (Fig.8A-H), en su mayoría ubicados cerca a

los vasos sanguíneos de diferente tamaño. Sin embargo, en el caso de los islotes extra chicos del grupo estresado se observó que estos no presentaban una forma muy definida, debido a que se encontraban traslapados sobre el tejido acinar (Fig. 8E). Por los diferentes tamaños de los islotes se realizó una clasificación en 4 categorías: extra-chicos ($<1000\mu\text{m}^2$), chicos (1001-3000 μm^2), medianos (3001-10,000 μm^2) y grandes ($>10,001\mu\text{m}^2$). Se encontró que el grupo estresado presentó mayor cantidad de islotes grandes en comparación al grupo control (Fig.8I), además, los islotes grandes del grupo estresado presentaron mayor celularidad (Fig.8J) comparado al grupo control. Los islotes extra-chicos, chicos y medianos fueron similares entre grupos (Fig.8).

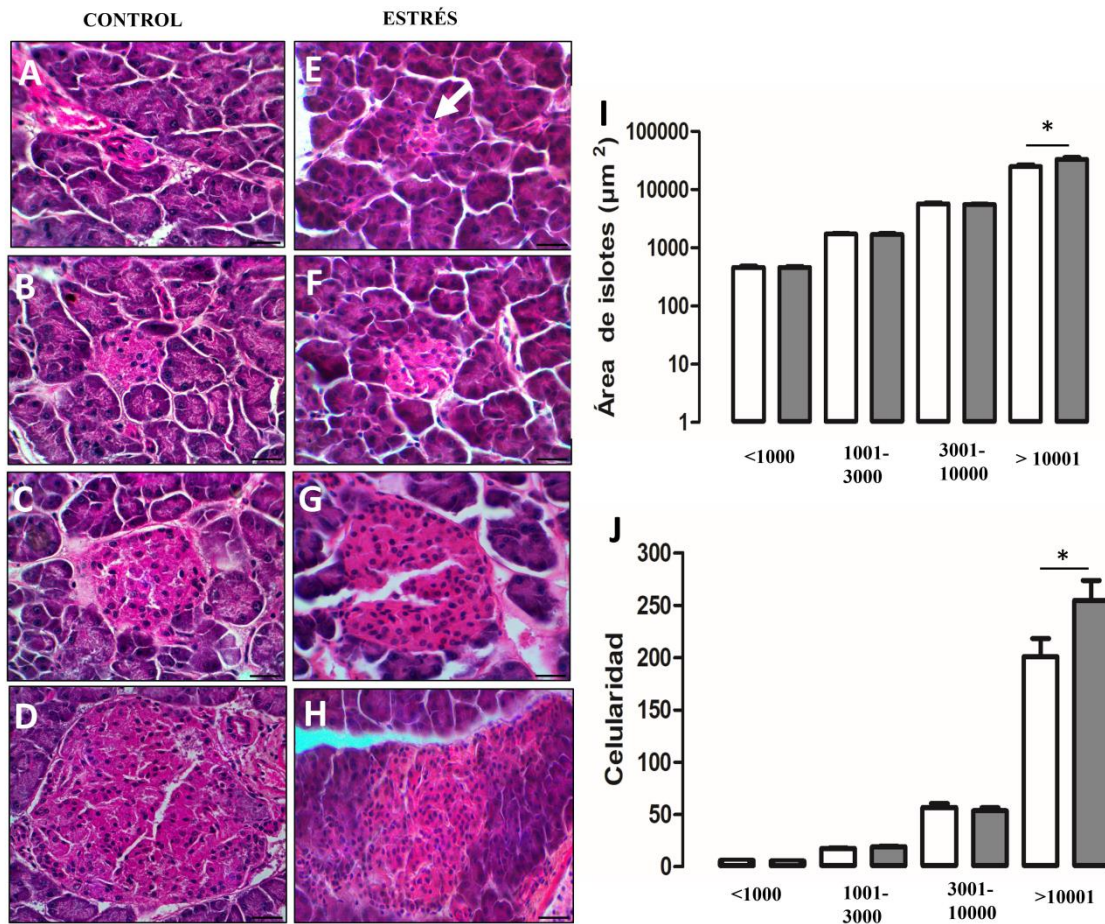


Figura 8. Fotomicrografía de islotes pancreáticos. Grupo C (A, B, C, D), grupo ECV (E, F, G, H) con tinción de Hematoxilina-Eosina (40x). Se observa la presencia de diferentes formas y tamaños de los islotes pancreáticos.

Se observa un islote extra-chico sobre el tejido acinar (flecha blanca). Barra de escala 50 μm . Se muestra la media \pm error estándar. Diferencias significativas comparado con el grupo control. $p < 0.05$, *t*-student. Control (C, n=8) barras blancas y grupo estrés crónico variable (ECV, n=8). (n=8) barras oscuras.

Expresión TNF- α pancreática

La expresión de TNF- α se encontró principalmente en la periferia de los islotes pancreáticos en los grupos C (A, B, C, D, E) y ECV (F, G, H, I, J). Sin embargo, al hacer el análisis por tamaño encontramos que el grupo ECV tuvo más células positivas a TNF- α en los islotes grandes (Fig. 9k). También se observó algunas células positivas a TNF- α principalmente en acinos y conductos pancreáticos (Fig. 9EJ). Las células positivas a TNF- α en acinos fue similar entre los grupos (Fig. 9L).

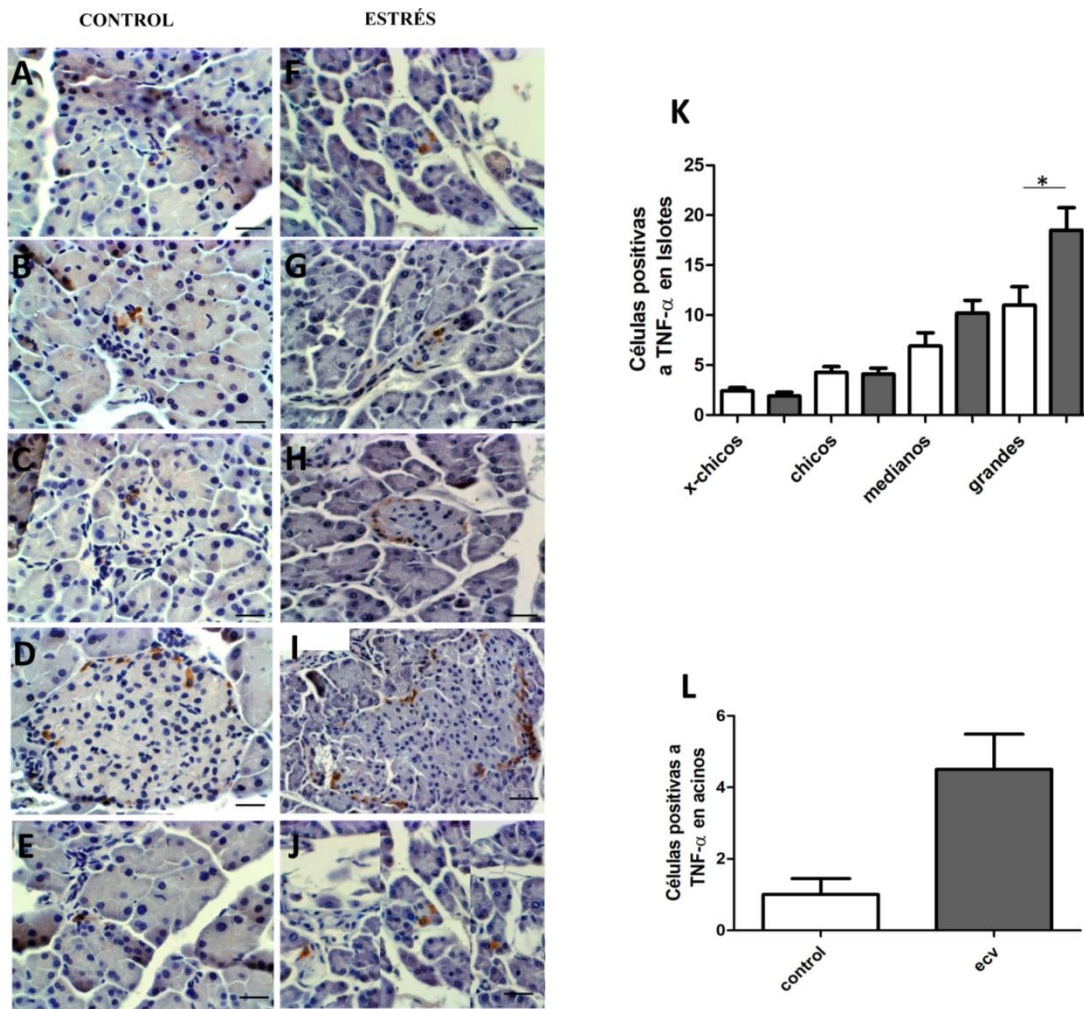


Figura 9. Fotomicrografía de expresión de TNF- α . Grupo C (A, B, C, D, E), grupo ECV (F, G, H, I, J) (40x). Se observa la presencia de células positivas a TNF- α en islotes de diferentes tamaños y acinos pancreáticos. Barra de escala 50 μ m. Se muestra la media \pm error estándar. Diferencias significativas comparado al grupo control. $p < 0.05$, *t*-student. Control (C, n=8) barras blancas y grupo estrés crónico variable (ECV, n=8) barras oscuras.

Fibrosis pancreática

En el grupo C se observa la presencia de una cápsula delgada de tejido conjuntivo de color transparente en el parénquima pancreático, espacios intralobulares e intra-acinares (Fig. 10A,B), permitiendo una adecuada organización de la parte exocrina (acinos) y endocrina (islotos de Langerhans). También se observa la presencia de vasos sanguíneos (arteriolas y venas) de diferentes tamaños, en donde se observan bien delimitadas sus capas (íntima, media y adventicia) (Fig. 10A). El grupo ECV presenta un engrosamiento en la cápsula de tejido conectivo que rodea al páncreas, así como en espacios intra lobulares e intra-acinares (Fig.10C,D). Además, los vasos sanguíneos de diferentes tamaños presentan un engrosamiento de las fibras de colágeno que conforman la adventicia. Al analizar el marcaje encontramos que el grupo ECV presenta un mayor porcentaje en el área cubierta por colágena comparado al grupo control (Fig. 10E).

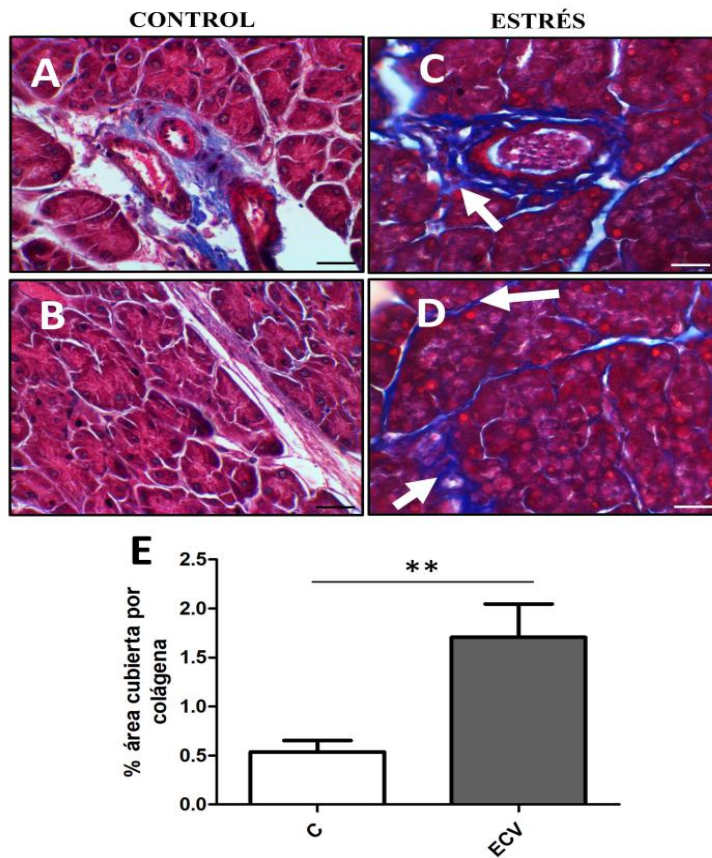


Figura 10. Fotomicrografías de fibrosis pancreática. Grupo C (A,B), grupo ECV (C,D) con tinción de Tricrómica de Masson (40x). Se observa organización uniforme, escasa presencia de colágeno en el parénquima pancreáticos en el grupo control. El grupo ECV presenta fibrosis alrededor de espacios intra-acinares y en espacios interlobulares (flechas blancas). Barra de escala 50 μ m. Se muestra la media \pm error estándar. Diferencias significativas comparado al grupo control. $p < 0.01$, t -student. Control (C, $n=8$) y grupo estrés crónico variable (ECV, $n=8$).

Estrés oxidativo

El grupo ECV presentó similar contenido de TBARS al grupo control. Asimismo, la actividad de las enzimas catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), potencial reductor férrico (FRP) y glutation (GLUT) fue similar entre los grupos (Tabla 2).

	Control		ECV		Valor de t		Valor de p
CAT (% del control)	100	± 8.40	109.4	± 4.05	t=1.007, df=12	0.3339	
SOD (% del control)	100	± 9.18	105	± 23.46	t=0.1972, df=12	0.8469	
FRP (% del control)	100	± 7.32	108.4	± 4.39	t=0.9821, df=12	0.3454	
TBARS (% del control)	100	± 35.80	140.5	± 55.39	t=0.6135, df=12	0.551	
GLUT (% del control)	100	± 6.05	90.49	± 2.50	t=1.452, df=12	0.1721	

Tabla 2. TBARS, CAT, SOD, FRAP y GLUT. Se muestra la media \pm error estándar. No hay diferencias entre grupos. $P > 0.05$, *t*-student. Control (C, n=8) y grupo estrés crónico variable (ECV, n=8).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de este estudio se obtuvieron a partir del planteamiento de 4 objetivos, utilizando un modelo de hiperaldosteronismo inducido por estrés crónico variable, para determinar si dicha condición afecta el área de los islotes de Langerhans, promueve una acumulación de triglicéridos, inflamación, fibrosis y estrés oxidativo pancreático.

El hiperaldosteronismo inducido por el estrés crónico variable indujo un mayor número de islotes grandes con un aumento en la expresión de TNF- α , a su vez los islotes presentaron mayor celularidad. Además, acumulación de triglicéridos y fibrosis. Hemos encontrado en nuestros resultados que el estrés crónico variable no afecta el peso corporal, ni la ingesta de agua y alimento. Estos datos son similares tanto con previos reportes publicados en nuestro grupo de trabajo (Corona-Pérez y cols. 2017), como por otros investigadores (Bruder-Nascimento y cols. 2013; de Oliveira y cols. 2014). Histológicamente observamos diferentes tamaños y formas de los islotes pancreáticos. Los islotes extra chicos <1000 μm del grupo estresado no presentan una forma muy definida o se traslapan con el tejido acinar. En cuanto al área de los islotes; los extra-chicos, chicos y medianos fueron similares entre ambos grupos y se encontró que el grupo estresado presentó mayor cantidad de islotes grandes. Este hallazgo es importante porque se ha calculado matemáticamente el equivalente de los islotes para evaluar el rendimiento de estos, utilizando el diámetro del islote basado en la suposición que la forma del islote es esférica y cada célula β tiene la misma funcionalidad. Así, cada islote individual extraído del páncreas humano fue incubado con glucosa baja (20.0 mM) seguido de soluciones de glucosa alta (21.0 mM), midieron las secreciones de insulina en función del diámetro de los islotes, encontrando que la secreción de insulina estimulada por glucosa alta por equivalente de los islotes fue significativamente menor en los islotes más grandes en comparación con los islotes más pequeños. Este método reveló que los islotes pancreáticos grandes de humanos secretan menos insulina que los islotes chicos (Fujita y cols. 2011). En ratas adultas han mostrado que un páncreas promedio produce tres veces más islotes pequeños que grandes. Los islotes fueron divididos en dos grupos, pequeños (diámetro <125 micrómetros) o grandes (diámetro >150 micrómetros), encontrando que los islotes más pequeños eran aproximadamente un 20 % más viables, y los islotes grandes contenían un

patrón disperso de células necróticas y apoptóticas o muerte celular del núcleo central, donde los islotes pequeños liberaron tres veces más insulina en condiciones basales que los islotes grandes. Durante la exposición a condiciones de glucosa alta, los islotes pequeños liberaron cuatro veces más insulina que las mismas equivalencias de islotes grandes, y los islotes pequeños liberaron cinco veces más insulina en respuesta a la glucosa y la despolarización con K^+ . Lo más interesante es que los islotes pequeños fueron más exitosos que los islotes grandes cuando se trasplantaron a animales diabéticos (MacGregor y cols. 2006). En el grupo control existe la presencia de una cápsula delgada de tejido conjuntivo y el grupo estresado presenta un engrosamiento en la cápsula de tejido conectivo que rodea al páncreas, así como en espacios intra lobulares e intra-acinares. Además, se observó que los vasos sanguíneos presentan un engrosamiento de las fibras de colágeno que conforman la adventicia, lo que nosotros planteamos como el inicio de fibrosis pancreática. En un estudio reciente donde evalúan el impacto del estrés crónico en cambios morfológicos del páncreas, ocurre de manera semejante el engrosamiento de la colágena alrededor de vasos sanguíneos y fibras de colágeno difusas y masivas que rodean los conductos interlobulillares, arterias y venas (Elbassuoni y Hafez 2019). Lo cual nos sugiere que este órgano al ser tan vascularizado tiene mayor riesgo a desarrollar tejido fibrótico e inflamación provocado por estrés. Aún se tiene poca información para describir como la aldosterona está ejerciendo estos efectos perjudiciales dentro del parénquima pancreático.

estrés crónico variable aumenta el contenido de triglicéridos en el páncreas. Este aumento puede ser un indicador de la presencia de la infiltración de ácidos grasos dentro del páncreas, lo cual podría estar induciendo la formación de nuevos adipocitos para almacenar triglicéridos. La infiltración de ácidos grasos dentro del páncreas puede inducir la infiltración de macrófagos M1 que dan lugar al inicio de la inflamación (Shah y cols. 2019). En ratas prediabéticas se elevan los niveles de ácidos grasos libres, disminuye la función de las células β (secreción de insulina), además aumenta el RNAm de citocinas de los islotes y los niveles de proteína quimioatrayente de monocitos-1 e IL-10 (Tang y cols. 2013). Al haber un aumento de estímulos inflamatorios y metabólicos, la acumulación de lípidos predispone al desarrollo de fibrosis en el páncreas por la infiltración de macrófagos y se ha demostrado que la aldosterona regula la polaridad de los macrófagos y en consecuencia se induce la inflamación

(Gordon, 2007). Existe un modelo de ratón que no posee receptores de mineralocorticoides en células mieloides, exhiben un perfil transcripcional de activación alternativa de un fenotipo M1 hacia un fenotipo M2 más antiinflamatorio (Usher, 2010). Esto podría modular la función vascular, ya que se ha demostrado que los macrófagos promueven la hipercontractilidad inducida por aldosterona, la disfunción endotelial y el remodelado hipertrófico (Bruder, 2016). Los niveles elevados de triglicéridos pancreáticos se relacionan con un peor pronóstico en términos de mortalidad (Qian y cols. 2017). Los altos niveles de triglicéridos asociados con la hiperlipidemia se hidrolizan para generar ácidos grasos libres. En particular, el ácido palmítico, es un ácido graso libre saturado más abundante en el cuerpo humano (Gianfranca y cols. 2017) está asociado con la activación de varias proteínas quinasas, el estrés del retículo endoplásmico, el aumento de la generación de especies reactivas de oxígeno y el reclutamiento de macrófagos (Nemecz y cols. 2019). La combinación de estos factores da como resultado una muerte celular pancreática relacionada con el inflamasoma asociada con caspasa-1 y gasdermina D (GSDMD) conocida como piroptosis (Wang y cols. 2009; Ramos-Junior y Morandini 2017; Bergsbaken y cols. 2009). Se ha reportado, que los niveles elevados de ácidos grasos libres, se asocian a la resistencia a la insulina y la disfunción de las células β (Boden y Shulman, 2002). El ácido palmítico induce la disfunción de las células β en ratones C57BL/6 al activar procesos inflamatorios en los islotes. También las células β activan la vía TLR4/MyD88 y producen quimiocinas que reclutan monocitos y macrófagos proinflamatorios CD11b+Ly-6C+ tipo M1 en los islotes y la disminución de las células tipo M1 protege a los ratones de la disfunción de las células β inducida por el palmítico (Eguchi y cols. 2012). Los macrófagos de los islotes pueden influir en las células β con los niveles elevados de glucosa y ácidos grasos libres promoviendo un fenotipo proinflamatorio de los macrófagos en los islotes. En consecuencia, los macrófagos producen mayores cantidades de citocinas proinflamatorias como IL-1 β y TNF-alfa. Estas citocinas activan las vías NF- κ B y JNK en las células β y también exacerban el estrés del retículo endoplásmico (Ying y cols. 2020).

En el presente trabajo, observamos que las células inmunorreactivas a TNF α están expresadas en la periferia de los islotes pancreáticos en ambos grupos. Sin embargo, en los animales estresados se observa mayor celularidad e intensidad en la expresión de TNF α . Este resultado es consistente con los efectos de la aldosterona sobre el aumento en la expresión de

citocinas proinflamatorias y el aumento en la expresión de factores proinflamatorios (Kuhn y Lombès 2020). Las células acinares pancreáticas, particularmente durante las primeras etapas de la pancreatitis aguda, producen citocinas como el TNF α (Norman y cols. 1995; Gukovskaya y cols. 1997). Estos hallazgos fueron corroborados con el acceso a células acinares pancreáticas provenientes de pacientes con pancreatitis aguda y recurrente (Gu y cols. 2013). El TNF- α inhibe la transducción de insulina y tiene efecto sobre el metabolismo de la glucosa (Zou y Shao 2008; Aguirre y cols. 2000). También en humanos han reportado que los niveles de TNF- α están relacionados con el índice de masa corporal, particularmente en hombres. En adición, hay una correlación significativa entre el porcentaje de la función de las células β , la resistencia a la insulina y el TNF- α en pacientes diabéticos (Swaroop, 2012). También en pacientes con pancreatitis aguda han mostrado un aumento en los niveles séricos de TNF- α , IL-6 e IL-33, de manera similar, las ratas con pancreatitis aguda inducida con taurocolato de sodio también aumenta significativamente los niveles séricos de IL-33, TNF- α e IL-6, donde el TNF- α estimuló la producción de IL-33 y posteriormente el aumento de IL-6 (Jiang, 2016). Las alteraciones en el metabolismo del TNF- α se han relacionado en trastornos metabólicos, como la obesidad y la resistencia a la insulina (Groop y cols. 1991), lo que indica que las perturbaciones del metabolismo del TNF- α pueden afectar la aparición de la diabetes mellitus tipo 2.

Nuestros resultados muestran que el estrés crónico variable induce fibrosis en el páncreas. Las características histológicas notables en la pancreatitis crónica incluyen atrofia de células acinares, inflamación crónica, conductos distorsionados o bloqueados e invariablemente activación de células estrelladas pancreáticas (PSC) asociada con fibrosis pancreática (Witt y cols. 2007; Apte y cols. 2012). La fibrosis en el páncreas es causada por necrosis/apoptosis, inflamación u obstrucción del conducto interlobular. La fibrogénesis en el páncreas es una lesión que involucra las células mesenquimatosas intersticiales, las células de los conductos y/o las células acinares. El daño a cualquiera de estos compartimentos tisulares del páncreas se asocia con la transformación desencadenada por citoquinas de fibroblastos residentes/células estrelladas pancreáticas en miofibroblastos y la subsiguiente producción y depósito de matriz extracelular (Klöppel, 2004). La fibrosis pancreática es causada por

depósitos excesivos de matriz extracelular y fibras de colágeno durante la necrosis repetida para reparar el tejido pancreático dañado. Clínicamente, la fibrosis pancreática es una característica patológica de la pancreatitis y el cáncer de páncreas. Estudios previos han demostrado que los monocitos se reclutan en los tejidos dañados, diferenciándose posteriormente en macrófagos, estimulando la síntesis de colágeno y fibronectina y participando en el proceso de fibrosis pancreática (Mescher 2017). Además, los macrófagos interactúan con las células vecinas de manera dependiente de las citocinas para acelerar la formación de fibrosis pancreática durante la pancreatitis (Zheng y cols. 2013; Xue y cols. 2015) el cual coincide con nuestros resultados.

Los estudios en humanos sugieren que la aldosterona tiene un efecto sobre la resistencia a la insulina independiente de su relación con la angiotensina II o la renina, ya que se encuentran niveles más altos de resistencia a la insulina en individuos con hiperaldosteronismo primario; una condición donde los niveles de angiotensina II y los niveles de renina son bajos (Somlóová y cols. 2010; Hannemann y cols. 2011). Así, en pacientes con hiperaldosteronismo primario es frecuentemente asociado con un incremento en la prevalencia de diabetes mellitus, con obesidad visceral, síndrome metabólico y resistencia a la insulina (Ronconi y cols. 2010). Un estudio prospectivo en una población general de Japón ha reportado, que los niveles de aldosterona plasmática elevada, predicen la resistencia a la insulina después de 10 años de seguimiento del estudio (Kumagai y cols. 2011).

Nuestros resultados muestran que el estrés crónico no afecta el estrés oxidativo pancreático, ni las enzimas antioxidantes. Estudios previos han mostrado que el estrés oxidativo induce pancreatitis, sin embargo, no se debe solamente al estrés oxidativo (Folch y cols. 1998), pero sí el estrés oxidativo puede afectar la respuesta inflamatoria al inicio de la pancreatitis (Johnson 2007). Así, los niveles de antioxidantes disminuyen durante la inflamación grave, lo cual conduce el daño pancreático. Aunque, la pancreatitis debe ser grave para que disminuyan los niveles de antioxidantes (Abu-Zidan y cols. 2000; Franco-Pons y cols. 2008). Por otro lado, el aumento significativo del estrés oxidativo pancreático induce y mantiene la inflamación pancreática en pacientes con pancreatitis aguda (Podborska y cols. 2009). Quizás en nuestro modelo cuatro semanas de estrés es poco tiempo para inducir estrés

oxidativo. La inflamación y la gravedad de la pancreatitis podría estar asociada con los radicales libres. Pocos estudios clínicos sobre el estrés oxidativo y la pancreatitis han sido reportados (Pădureanu y cols. 2022). Se requieren más estudios preclínicos para aclarar el vínculo entre el estrés crónico y la participación de la aldosterona sobre el páncreas.

CONCLUSIÓN

Los resultados sugieren que el modelo de hiperaldosteronismo inducido por estrés crónico variable es un modelo adecuado para investigar los efectos de la aldosterona sobre el páncreas. La aldosterona podría ser considerada como una hormona indicadora de estrés. De acuerdo con la hipótesis de esta investigación, nuestro estudio propone al estrés como un factor de riesgo para inducir acumulación de triglicéridos, inflamación y fibrosis en ratas jóvenes adultas. Con este estudio no podemos concluir que la aldosterona directamente sea la responsable de los efectos negativos en el páncreas. Sin embargo, estos resultados apuntan a la disfunción de las células β .

PERSPECTIVAS

- Analizar sí los efectos inducidos por el estrés sobre el páncreas altera la síntesis de insulina.
- Analizar si los efectos inducidos por el estrés crónico sobre el páncreas son promovidos por el hiperaldosteronismo, de tal manera que bloquear el receptor de aldosterona podría confirmar la hipótesis.

REFERENCIAS

1. Barry K. 2018. Chronic Pancreatitis: Diagnosis and Treatment. *Am Fam Physician*. 97:385-393.
2. Zhou Q, Melton DA. 2018. Pancreas regeneration. *Nature*. 557:351–358.
3. Ronconi V, Turchi F, Rilli S, Di Mattia M, Agostinelli L, Boscaro M, Giacchetti G. 2010. Metabolic syndrome in primary aldosteronism and essential hypertension: relationship to adiponectin gene variants. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 20:93-100.
4. Wakino S, Minakuchi H, Miya K, Takamatsu N, Tada H, Tani E, Inamoto H, Minakuchi J, Kawashima S, Itoh H. 2018. Aldosterone and Insulin Resistance: Vicious Combination in Patients on Maintenance Hemodialysis. *Ther Apher Dial*. 2018 Apr;22(2):142-151. doi: 10.1111/1744-9987.12632.
5. Zavatta G, Casadio E, Rinaldi E, Pagotto U, Pasquali R, Vicennati V. 2016. Aldosterone and type 2 diabetes mellitus. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 26:53-59.
6. Suda K, Nobukawa B, Takase M, Hayashi T. 2006. Pancreatic segmentation on an embryological and anatomical basis. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*; 13:146-148.
7. Lorberbaum DS, Docherty FM, Sussel L. 2020. Animal Models of Pancreas Development, Developmental Disorders, and Disease. *Advances in experimental medicine and biology*. 1236:65–85.
8. Underwood PC, Adler GK. 2013. The renin angiotensin aldosterone system and insulin resistance in humans. *Current hypertension reports*, 15:59–70.
9. Liu XY, Xue LA, Zheng XA, Yan S, Zheng SS. 2010. Pancreas transplantation in the mouse. *Hepatob Pancreat Dis Int*; 9:254-258.
10. Dolgin E. 2010. The knockout rat pack. *Nat Med*: 16:254–257.
11. Heymann A, Mallone L, Boitard RC., Scharfmann R, Larger E. 2019. Structure and function of the exocrine pancreas in patients with type 1 diabetes. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*. 20:129–149.
12. Sastre J, Sabaterb L. 2005. Fisiología de la secreción pancreática. *Aparisic Departamento de Fisiología. Universidad de Valencia. Gastroenterol Hepatol*.;28 (Supl 2):3-9.

13. Hart PA, Bellin MD, Andersen DK, Bradley D, Cruz-Monserrate Z, Forsmark CE, Goodarzi MO, Habtezion A, Korc M, Kudva YC, Pandol SJ, Yadav D, Chari ST. 2016. Consortium for the Study of Chronic Pancreatitis, Diabetes, and Pancreatic Cancer(CPDPC). Type 3c (pancreatogenic) diabetes mellitus secondary to chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 1;226-237.
14. Richardson A, Park WG. 2020. Acute pancreatitis and diabetes mellitus: a review. *Korean J Intern Med.* 36:15-24.
15. Vonderau JS, Desai CS. 2022. Type 3c: Understanding pancreatogenic diabetes. *JAAPA.* 35:20-24.
16. Stevens A, Lowe J. 1998. *Histología del Páncreas. Text y Atlas de Histología.* 2ª Ed. Edit Harcourt Brace. España.
17. Tokarz VL, MacDonald, PE, Klip A. 2018. The cell biology of systemic insulin function. *The Journal of cell biology.* 217:2273–2289.
18. Lebovitz HE. 2001. Insulin resistance: definition and consequences. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 109 Suppl 2:S135-148.
19. Reaven G. 2002. Metabolic syndrome: pathophysiology and implications for management of cardiovascular disease. *Circulation.* 106:286–288.
20. Ye J 2013. Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med.* 7: 14–24.
21. Roden M, Shulman GI. 2019. The integrative biology of type 2 diabetes. *Nature;* 576: 51–60.
22. Sánchez-Garrido MA, Tena-Sempere M. 2020. Metabolic dysfunction in polycystic ovary syndrome: pathogenic role of androgen excess and potential therapeutic strategies. *Mol Metab.* 35:100937.
23. Ighbariya A, Weiss R. 2017. Insulin Resistance, Prediabetes, Metabolic Syndrome: What Should Every Pediatrician Know? *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology.* 49–57.
24. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. 2006. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature.* 444:840–846.
25. Hudish LI, Reusch JE, Sussel L. 2019. β Cell dysfunction during progression of metabolic syndrome to type 2 diabetes. *J Clin Invest.* 129:4001-4008.

26. Booth RE, Johnson JP, Stockand JD 2002. Aldosterone. *Adv Physiol Educ.* 26:8-20.
27. Luther JM, Wang Z, Ma J, Makhanova N, Kim HS, Brown NJ. 2009. Endogenous aldosterone contributes to acute angiotensin II-stimulated plasminogen activator inhibitor-1 and preproendothelin-1 expression in heart but not aorta. *Endocrinology.* 150:2229–2236.
28. Hundemer GL, Vaidya A. 2019. Diagnóstico y manejo del aldosteronismo primario: un enfoque clínico. *Clínicas de endocrinología y metabolismo de América del Norte.* 48:681–700.
29. Ye J. 2021. Mechanism of insulin resistance in obesity: a role of ATP. *Front Med.* 15:372-382.
30. Gómez RM, Marín M. 2012. Mineralocorticoides síntesis y degradación. Cap 25 *Endocrinol Metab Clin North Am.* 34:293-313.
31. Kuhn E, Lombès M. 2013. The mineralocorticoid receptor: a new player controlling energy homeostasis. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 15:59-69.
32. Goldstein DS, McEwen B. 2002. Allostasis, homeostats, and the nature of stress. 5:55–58.
33. Franco AJ, Chen C, Scullen T, Zsombok A, Salahudeen AA, Di S, Herman JP, Tasker JG. 2016. Sensitization of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in a Male Rat Chronic Stress Model. *Endocrinology.* 157:2346-2355.
34. Inoue K, Kitamoto T, Tsurutani Y, Saito J, Omura M, Nishikawa T. 2021. Cortisol Co-Secretion and Clinical Usefulness of ACTH Stimulation Test in Primary Aldosteronism: A Systematic Review and Biases in Epidemiological Studies. *Frontiers in Endocrinology.* 12:645488.
35. Joëls M, Karst H, Sarabdjitsingh RA. 2018. The stressed brain of humans and rodents. *Acta Physiol (Oxf).* 223:e13066.
36. Sánchez-Solís CN, Cuevas Romero E, Soto-Rodríguez I, de Lourdes Arteaga-Castañeda M, De León-Ramírez YM, Rodríguez-Antolín J, Nicolás-Toledo L. 2020. High-sucrose diet potentiates hyperaldosteronism and renal injury induced by stress in young adult rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 47:1985-1994.

37. Colussi G, Catena C, Lapenna R, Nadalini E, Chiuch A, Sechi LA. 2007. Insulin resistance and hyperinsulinemia are related to plasma aldosterone levels in hypertensive patients. *Diabetes Care*. 30:2349–2354.
38. Luther JM. 2014. Effects of aldosterone on insulin sensitivity and secretion. Division of Clinical Pharmacology, Department of Medicine. Nashville. 54:10-1016:016.
39. Carranza MC, Torres A, Calle C 1991. Decreased insulin receptor number and affinity in subcutaneous adipose tissue in a patient with primary hyperaldosteronism. *Rev Clínica Española*. 188:414–417.
40. Luther JM, Luo P, Kreger MT, Brissova M, Dai C, Whitfield TT, Kim HS, Wasserman DH, Powers AC, Brown NJ. 2011. Aldosterone decreases glucose-stimulated insulin secretion in vivo in mice and in murine islets. *Diabetologia*. 54:2152-2163.
41. Marney AM, Brown NJ. 2007. Aldosterone and end-organ damage. *Clin Sci Lond*. 113:267-278.
42. Joseph JJ, Echouffo B, Kalyani RR, Yeh HC, Bertoni AC, Effeo VS, Casanova R, Sims M, Correa S, Wu WS, Wand GS, Golden HS. 2016. Aldosterone, renin, and diabetes mellitus in African Americans: the Jackson heart study, *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 101:1770e1778.
43. Joseph JJ, Echouffo B, Effeo WA, Hsueh, MA, Allison SH. 2018. Renin-angiotensin-aldosterone system, glucose metabolism and incident type 2 diabetes mellitus: MESA, *J Am Heart Assoc* 7 e009890.
44. Jin HN, Zhou DC, Gu HF, Qiao QY, Fu S, Liu XN. 2013. Antioxidant N-acetylcysteine protects pancreatic beta-cells against aldosterone-induced oxidative stress and apoptosis in female db/db mice and insulin-producing MIN6 cells. *Endocrinology*. 154: 4068e4077.
45. Champion J, Maestro B, Mata F, Davila N, Carranza MC, Calle C. 1999. Inhibition by aldosterone of insulin receptor mRNA levels and insulin binding in U-937 human promonocytic cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 70: 211-18.

46. Caprio M, Feve B, Claes A, Viengchareun S, Lombes M, Zennaro MC. 2007. Pivotal role of the mineralocorticoid receptor in corticosteroid-induced adipogenesis. *FASEB J.* 21: 2185-2194.
47. Hayden MR, Sowers JR. 2008. Pancreatic renin-angiotensinaldosterone system in the cardiometabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. *J Cardiometab Syndr* 3:129–31.
48. Guo C, Ricchiuti V, Lian BQ, Yao TM, Coutinho P, Romero JR, Li J, Williams GH, Adler GK. 2008. Mineralocorticoid receptor blockade reverses obesity-related changes in expression of adiponectin, peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, and proinflammatory adipokines. *Circulation.* 117:2253-2261.
49. Calle C, Campión J, García-Arencibia M, Maestro B, Dávila N. 2003. Transcriptional inhibition of the human insulin receptor gene by aldosterone. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 84:543–53.
50. Binker MG, Cosen-Binker LI. 2014. Acute pancreatitis: the stress factor. *World J Gastroenterol.* 20:5801–5807.
51. Tartaglia LA, Goeddel DV. 1992. Two TNF receptors. *Immunol Today.* 13:51–3.
52. Smith CA, Farrah T, Goodwin RG. 1994. The TNF Receptor superfamily of cellular and viral proteins : activation, costimulation and death. *Cell.* 76:59–62.
53. Liu ZG, Han J. 2001. Cellular responses to Tumor Necrosis Factor (TNF). *Current Issues in Molecular Biology.* 3:79–90.
54. Nagata S. 1997. Apoptosis by death factor. *Cell.* 88:355–65.
55. Liu ZG. 2005. Molecular mechanism of TNF signaling and beyond. *Cell Res.* 15: 24-27.
56. Makhija R, Kingsnorth AN. 2002. Cytokine storm in acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreatic Surg.* 401-410.
57. Liu J, Xia Q, Zhang Q, Li H, Zhang J, Li A, Xiu R. 2009. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligands 15-deoxydelta (12, 14)-prostaglandin J2 and pioglitazone inhibit hydroxyl peroxide-induced TNF-alpha and lipopolysaccharide-induced CXC chemokine expression in neonatal rat cardiac myocytes. *Shock.* 32: 317-324.

58. Vanja Duric, Sarah Clayton, Mai Lan Leong, Li-Lian Yuan. 2016. Comorbidity Factors and Brain Mechanisms Linking Chronic Stress and Systemic Illness. *Neural Plasticity*, vol. 2016, Article ID 5460732, 16 pages.
59. Miller AH, Maletic V, Raison CL. 2009. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol Psychiatry* 65:732–741.
60. Mathur A, Marine M, Lu D, Swartz-Basile DA, Saxena R, Zyromski NJ, Pitt HA. 2007. Nonalcoholic fatty pancreas disease. *HPB (Oxford)*. 9:312-318.
61. Smits MM, van Geenen EJ. 2011. The clinical significance of pancreatic steatosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 8:169–177.
62. Shah N, Rocha JP, Bhutiani N, Endashaw O. 2019. Nonalcoholic Fatty Pancreas Disease. *Nutr Clin Pract*. 34 Suppl 1:S49-S56.
63. Pinnick KE, Collins SC, Londos C, Gauguier D, Clark A, Fielding BA. 2008. Pancreatic ectopic fat is characterized by adipocyte infiltration and altered lipid composition. *Obesity (Silver Spring)*. 16:522-530.
64. Gordon S. 2007. Macrophage heterogeneity and tissue lipids. *Journal of Clinical Investigation*. 117:89–93.
65. Sena CM, Leandro A, Azul L, Seïça R, Perry G. 2018. Vascular oxidative stress: impact and therapeutic approaches, *Frontiers in Physiology*, vol. 9, p. 1668.
66. Elbassuoni EA, Hafez SM. 2019. Impact of chronic exercise on counteracting chronic stress-induced functional and morphological pancreatic changes in male albino rats. *Cell Stress Chaperones*. 24:567-580.
67. Şahin E, Gümüşlü S. 2004. Cold-stress-induced modulation of antioxidant defence: role of stressed conditions in tissue injury followed by protein oxidation and lipid peroxidation. *Int J Biometeorol* 48:165–171.
68. Higashi Y, Noma K, Yoshizumi M, Kihara Y. 2009. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases,” *Circulation Journal*, vol. 73, no. 3, pp. 411–418.
69. Luther JM, Brown NJ. 2011. The renin-angiotensin-aldosterone system and glucose homeostasis. *Trends in pharmacological sciences*. 32:734–739.

70. Luther JM, Luo P, Kreger MT, Brissova M, Dai C, Whitfield TT, Kim HS, Wasserman DH, Powers AC, Brown NJ. 2011. Aldosterone decreases glucose-stimulated insulin secretion in vivo in mice and in murine islets. *Diabetologia*. 54:2152–2163.
71. Grewal S, Fosam A, Chalk L, Deven A, Suzuki M, Correa R, Blau JE, Demidowich AP, Stratakis CA, Muniyappa R. 2021. Insulin sensibility and pancreatic beta cell function in patients with primary aldosteronism. *Endocrine*. 72: 96 -103.
72. Zeeni N, Daher C, Fromentin G, Tome D, Darcel N, Chaumontent C. 2013. A cafeteria diet modifies the response to chronic variable stress in rats. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*. 16:, 211- 219.
73. Corona-Pérez A, Díaz-Muñoz M, Cuevas-Romero E, Luna-Moreno D, Valente-Godínez H, Vázquez-Martínez O, Martínez-Gómez M, Rodríguez-Antolín J, Nicolás-Toledo L. 2017. Interactive effects of chronic stress and a high-sucrose diet on nonalcoholic fatty liver in young adult male rats. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*. 20: 608–617.
74. Bruder-Nascimento T, Campos DH, Alves C, Thomaz S, Cicogna AC, Cordellini S. 2013. Effects of chronic stress and high-fat diet on metabolic and nutritional parameters in Distar rats. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 57:642–649.
75. de Oliveira C, Scarabelot VL, de Souza A, de Oliveira CM, Medeiros LF, de Macedo IC, Marques Filho PR, Cioato SG, Caumo W, Torres IL. 2014. Obesity and chronic stress are able to desynchronize the temporal pattern of serum levels of leptin and triglycerides. *Peptides* 51:46–53.
76. Fujita Y, Takita M, Shimoda M, Itoh T, Sugimoto K, Noguchi H, Naziruddin B, Levy MF, Matsumoto S. 2011. Large human islets secrete less insulin per islet equivalent than smaller islets in vitro. *Islets*. 3:1-5.
77. MacGregor RR, Williams SJ, Tong PY, Kover K, Moore WV, Stehno-Bittel L. 2006. Small rat islets are superior to large islets in in vitro function and in transplantation outcomes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 290:E771-E779.

78. Tang C, Naassan AE, Chamson-Reig A, Koulajian K, Goh TT, Yoon F, Oprescu AI, Ghanim H, Lewis GF, Dandona P, Donath MY, Ehses JA, Arany E, Giacca A. 2013. Susceptibility to fatty acid-induced β -cell dysfunction is enhanced in prediabetic diabetes-prone biobreeding rats: a potential link between β -cell lipotoxicity and islet inflammation. *Endocrinology*. 154:89-101.
79. Qian W, Gang W, Qiu Z, He X, Liu C. 2017. Elevated serum triglycerides in the prognostic assessment of acute pancreatitis: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Clin Gastroenterol*. 51:586–593.
80. Gianfranca C, Elisabetta M, Sebastiano B, Claudia M. 2017. Palmitic acid: physiological role, metabolism and nutritional implications. *Frontiers in Physiology*. 8:902.
81. Nemezc M, Constantin A, Dumitrescu M, Alexandru N, Filippi A, Tanko G, Georgescu A. 2019. The distinct effects of palmitic and oleic acid on pancreatic beta cell function: elucidation of associated mechanisms and effector molecules. *Fronteras en Farmacología*. 9:1554.
82. Wang Y, Sternfeld L, Yang F, Rodriguez JA, Ross C, Hayden MR, Carriere F, Liu G, Hofer W, Schulz I. 2009. Improved susceptibility to pancreatitis in lipoprotein lipase-deficient mice with severe hypertriglyceridemia and agonist-like function of pancreatic lipase in pancreatic cells. *Intestino*. 58:422–430.
83. Ramos-Junior ES, Morandini AC. 2017. Gasdermin: A new player in the inflamed game. *Biomedical Journal*. S2319417017302780.
84. Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT. 2009. Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol*. 7 :99–109.
85. Boden G, Shulman GI. 2002. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Eur J Clin Invest*. 32 Suppl 3:14-23.
86. Eguchi K, Manabe I, Oishi-Tanaka Y, Ohsugi M, Kono N, Ogata F, Yagi N, Ohto U, Kimoto M, Miyake K, Tobe K, Arai H, Kadowaki T, Nagai R. 2012. Saturated fatty acid and TLR signaling link β cell dysfunction and islet inflammation. *Cell Metab*. 15:518-533.

87. Ying W, Fu W, Lee YS, Olefsky JM. 2020. The role of macrophages in obesity-associated islet inflammation and β -cell abnormalities. *Nat Rev Endocrinol.* 16:81-90.
88. Norman JG, Fink GW, Franz MG. 1995. Acute pancreatitis induces the expression of the intrapancreatic tumor necrosis factor gene. *Arco Quirúrgico.* 130:966–970.
89. Gukovskaya AS, Gukovsky I, Zaninovic V, et al. 1997. Pancreatic acinar cells produce, release, and respond to tumor necrosis factor alpha. Role in the regulation of cell death and pancreatitis. *J Clin Invest.* 100: 1853–1862.
90. Gu H, Werner J, Bergmann F, et al. 2013. Necroinflammatory response of pancreatic acinar cells in the pathogenesis of acute alcoholic pancreatitis. *Enfermedad de muerte celular.* 4:e816.
91. Zou C, Shao J. 2008. Role of adipocytokines in obesity-associated insulin resistance. *J Nutr Biochem.* 19:277-286.
92. Aguirre V, Uchida T, Yenush L, Davis R, White MF. 2000. The c-Jun NH(2)-terminal kinase promotes insulin resistance during association with insulin receptor substrate-1 and phosphorylation of Ser(307). *J Biol Chem.* 275:9047-9054.
93. Swaroop JJ, Rajarajeswari D, Naidu JN. 2012. Association of TNF- α with insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *Indian J Med Res.* 135:127-30.
94. Groop LC, Saloranta C, Shank M, Bonadonna RC, Ferrannini E, DeFronzo RA. 1991. The role of free fatty acid metabolism in the pathogenesis of insulin resistance in obesity and noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 72:96-107.
95. Witt H, Apte MV, Keim V, et al. 2007. Chronic pancreatitis: challenges and advances in pathogenesis, genetics, diagnosis and therapy. *Gastroenterología.* 132:1557–1573.
96. Apte MV, Pirola RC, Wilson JS. 2012. Pancreatic stellate cells: a leading role in the normal and diseased pancreas. *Fisiol delantero.* 3:344.
97. Klöppel G, Detlefsen S, Feyerabend B. 2004. Fibrosis of the pancreas: the initial tissue damage and the resulting pattern. *Virchows Arch.* 445:1-8.

98. Mescher AL. 2017. Macrophages and fibroblasts during inflammation and tissue repair in models of organ regeneration. *Regeneration*.4:39–53.
99. Zheng L., Xue J., Jaffee EM, Habtezion A. 2013. Role of immune cells and immune-based therapies in pancreatitis and pancreatic ductal adenocarcinoma. *Gastroenterology*. 144 :1230–1240.
100. Xue J., Sharma V., Hsieh MH, Chawla A., Murali R., Pandol SJ. 2015. Habtezion A. Alternative activated macrophages promote pancreatic fibrosis in chronic pancreatitis. *Nat. Común*. 6:7158-7158.
101. Somlóová Z, Widimský J, Rosa J, et al. 2010. The prevalence of the metabolic syndrome and its components in two main types of primary aldosteronism. *J Hum hipertensos*. 24:625–30.
102. Hannemann A, Meisinger C, Bidlingmaier M, et al. 2011. Association of plasma aldosterone with the metabolic syndrome in two German populations. *Eur J Endocrinol*. 164:751–8.
103. Kumagai E, Adachi H, Jacobs DR Jr, Hirai Y, Enomoto M, Fukami A, Otsuka M, Kumagae S, Nanjo Y, Yoshikawa K, Esaki E, Yokoi K, Ogata K, Kasahara A, Tsukagawa E, Ohbu-Murayama K, Imaizumi T. 2011. Plasma aldosterone levels and development of insulin resistance: prospective study in a general population. *Hypertension*. 58:1043-1048.
104. Folch E, Gelpi E, Rosello-Catafau J, Closa D. 1998. Free radicals generated by xanthine oxidase mediate pancreatitis-associated organ failure. *Dig Dis Sci*. 43:2405–2410.
105. Johnson CD. 2007. Antioxidants in acute pancreatitis. *Gut*. 56:1344–1345.
106. Abu-Zidan FM, Bonham MJ, Windsor JA. 2000. Severity of acute pancreatitis: A multivariate analysis of oxidative stress markers and modified Glasgow criteria. *Br J Surg*. 87:1019–1023.
107. Franco-Pons N, Marsillach J, Joven J, Camps J, Closa D. 2008. Serum paraoxonase undergoes inhibition and proteolysis during experimental acute pancreatitis. *J Gastrointest Surg*. 12:891–899.

108. Podborska M, Sevcikova A, Trna J, Dite P, Lojek A, Kubala L. 2009. Increased markers of oxidative stress in plasma of patients with chronic pancreatitis. *Neuro Endocrinol Lett.* 30 Suppl 1:116-120.
109. Pădureanu V, Florescu DN, Pădureanu R, Ghenea AE, Gheonea DI, Oancea CN. 2022. Role of antioxidants and oxidative stress in the evolution of acute pancreatitis (Review). *Exp Ther Med.* 23:197.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

- **Célula estrellada:** Células que almacenan lípidos residentes en el páncreas y el hígado que se transdiferencian a un estado miofibroblástico en el contexto de una lesión tisular. (Sherman, 2018)

ANEXOS

DESHIDRATACIÓN DEL PÁNCREAS

- a) Después de la disección mantener todo el páncreas en Bouin durante 24 horas.
- b) Sacar el tejido del Bouin y realizar la Deshidratación de acuerdo a la siguiente lista, cuidando que la solución cubra el tejido, manteniéndolo en agitación.
- c) Incluir todos los tejidos con Paraplast I limpio y dejar que solidifiquen.

N. de solución	Solución y concentración	Tiempo
1	OH 70%	30 Minutos
2	OH 80%	30 Minutos
3	OH 96%	60 Minutos
4	OH 100%	60 Minutos
5	OH 100% - XILENO	30 Minutos
6	XILENO I	30 Minutos
7	XILENO II	30 Minutos
8	PARAPLAST PLUS I	2 Horas
9	PARAPLAST PLUS II	9 Horas
10	PARAPLAST PLUS III	9 Horas

Nota: Previamente poner a licuar el Paraplast Plus en el horno a una temperatura máxima de 56°C

TINCIÓN DE HEMATOXILINA Y EOSINA

Después de obtener los cortes histológicos en el micrótopo se dejan secar mínimo 15 días, posteriormente se tiñen con los siguientes tiempos en las diferentes soluciones

PASO	NO.	SOLUCIÓN	TIEMPO
DESPARAFINAR	1	XILENO I	5 MINUTOS
	2	XILENO II	5 MINUTOS
	3	XILENO: ETANOL	5 MINUTOS
HIDRATACIÓN	4	OH 100%	5 MINUTOS
	5	OH 100%	5 MINUTOS
	6	OH 96%	3 MINUTOS
	7	OH 80%	3 MINUTOS
	8	OH 60%	3 MINUTOS
	9	AGUA DESTILADA	3 MINUTOS
	10	HEMATOXILINA HARRIS	11 MINUTOS
	11	AGUA CORRIENTE	40 SEGUNDOS
	12	OH - ÁCIDO	40 SEGUNDOS
	13	AGUA DESTILADA	40 SEGUNDOS
	14	OH - AMONIACAL	3-4 MINUTOS
	16	AGUA DESTILADA	40 SEGUNDOS
	CONTRATINCIÓN	17	EOSINA
18		AGUA DESTILADA	40 SEGUNDOS
DESHIDRATACIÓN	19	ETANOL 96%	40 SEGUNDOS
	20	ETANOL 96%	40 SEGUNDOS
	21	ETANOL 100%	30 SEGUNDOS
	22	ETANOL 100%	30 SEGUNDOS
	23	ETANOL: XILENO	10 SEGUNDOS
	24	XILENO I	10 SEGUNDOS
	25	XILENO II	10 SEGUNDOS
MONTAJE	26	ENTE LLAN	-

TINCIÓN DE TRICROMICA MASSON

Después de obtener los cortes histológicos en el micrótopo se dejan secar mínimo 15 días, posteriormente se tiñen con los siguientes tiempos en las diferentes soluciones

PASO	NO.	SOLUCIÓN	TIEMPO
DESPARAFINAR	1	XILENO I	5 MINUTOS
	2	XILENO II	5 MINUTOS
	3	XILENO: ETANOL	5 MINUTOS
HIDRATACIÓN	4	OH 100%	5 MINUTOS
	5	OH 100%	5 MINUTOS
	6	OH 96%	3 MINUTOS
	7	OH 80%	3 MINUTOS
	8	OH 60%	3 MINUTOS
	9	AGUA DESTILADA	3 MINUTOS
	10	FIJADOR BOUIN	24 HRS
	11	AGUA CORRIENTE	20 MINUTOS
	12	HEMATOXILINA WEIGERT	11 MINUTOS
	13	AGUA CORRIENTE	40 SEGUNDOS
	14	AGUA DESTILADA	40 SEGUNDOS
	16	AMONIACO AL 1%	2 MINUTOS
	CONTRATINCIÓN	17	AGUA CORRIENTE
18		BIEBRICH SCARLET FUSHINA	4 MINUTOS
19		AGUA CORRIENTE	40 SEGUNDOS
20		ACIDO FOSFOTUNGSICO + ACIDO FOSMOTUNGSICO	4 MINUTOS
21		AZUL DE ANILINA	3 MINUTOS
22		ACIDO ACETICO GLACIAL 1%	3 MINUTOS

	23	AGUA CORRIENTE	40 SEGUNDOS
DESHIDRATACIÓN	25	ETANOL 96%	40 SEGUNDOS
		ETANOL 100%	30 SEGUNDOS
		ETANOL: XILENO	10 SEGUNDOS
		XILENO I	40 SEGUNDOS
MONTAJE		ENTE LLAN	-

NOTA:

Revisar la laminilla al salir del colorante eosina para ver si tiñó. En el caso de que la hora de montar con el entellan queden burbujas regresar el portaobjetos al xileno para volver a montar.

PUBLICACIONES

LXV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C.
Congreso Internacional 2022 de la Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas

o31

El estrés crónico variable induce pancreatitis en la rata macho joven

Hernández Cervantes, Jr. Gabriela ¹ (estudiante de posgrado); Sánchez-Solís, Cristhian Neftaly ²; Morimoto Martínez, Lidya Sumiko ³; Cuevas Romero, Estela ⁴; Nicolás Toledo, Leticia ⁴

¹Posgrado en Ciencias Biológicas, UATx, ²Licenciatura en Química Clínica, Facultad Ciencias de la Salud, UATx, ³Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, ⁴Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx.

El hiperaldosteronismo es un trastorno de las glándulas suprarrenales. Los pacientes con aldosteronismo primario tienen un mayor riesgo de presentar daño pancreático. La pancreatitis crónica es un trastorno relacionado a la destrucción fibrótica progresiva del órgano, provocando inflamación y pérdida de la función pancreática exocrina y endocrina. En estudios recientes se ha observado que el estrés crónico aumenta los niveles de aldosterona sérica. En la rata macho joven se ha demostrado que el estrés crónico variable induce inflamación y fibrosis a nivel renal. Sin embargo, existe escasa información acerca de la relación entre aldosterona y alteraciones en páncreas en edad juvenil. Se utilizaron ratas machos Wistar de 51 días que formaron 2 grupos: grupo control (n=8) y grupo estrés crónico variable (ECV; n=8) sometido a 5 diferentes estímulos estresantes/semana durante 4 semanas. Después de la eutanasia se extrajo el páncreas y fue pesado. El páncreas se fijó en Bouin y deshidrató con alcohol de forma ascendente, aclarado en xilol e incluido en paraplast. Cortes longitudinales de 5µm fueron teñidos con Tricrómica de Masson. Utilizamos t-Student (p<0.05) para el análisis. El estrés crónico variable promueve un mayor número de islotes grandes, mayor celularidad, y presencia de fibrosis. Los resultados sugieren que el estrés crónico variable induce hiperaldosteronismo y características que pueden condicionar el desarrollo de diabetes desde la etapa juvenil.

Financiamiento: CONACYT a HCJG (1150229).