



# Universidad Autónoma de Tlaxcala

---

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta  
Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del hipotiroidismo sobre el músculo liso del  
oviducto en la coneja adulta nulípara

## T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

**Arely Anaya Hernández**

Directora  
Dra. Estela Cuevas Romero

Tlaxcala, Tlax.

Agosto, 2012





# Universidad Autónoma de Tlaxcala

---

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta  
Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del hipotiroidismo sobre el músculo liso del  
oviducto en la coneja adulta nulípara

## T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

**Arely Anaya Hernández**

### Comité Tutorial

Dra. Estela Cuevas Romero  
Dra. Margarita Martínez Gómez  
Dr. Pablo Pacheco Cabrera  
Dr. Ismael Jiménez Estrada  
Dr. Francisco Castelán

Tlaxcala, Tlax.

Agosto, 2012



Universidad Autónoma de Tlaxcala  
Posgrado del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta



COORDINACIÓN DE LA MAESTRÍA  
CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA  
P R E S E N T E

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Proyecto de tesis que **Arely Anaya Hernández** realiza para la obtención del grado de Maestro 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 **“Efecto del hipotiroidismo sobre el músculo liso del oviducto en la coneja adulta nulípara”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
TLAXCALA, TLAX., JULIO 23 DE 2012

DR. ESTELA CUEVAS ROMERO

DR. FRANCISCO CASTELAN

DR. ISMAEL JIMÉNEZ ESTRADA

DR. PABLO PACHECO CABRERA

DR. MARGARITA MARTÍNEZ GÓMEZ



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado Bajo la Norma:  
ISO 9001:2000-NMX-CC-9001-IMNC-2000



Km. 1.5 Carretera Tlaxcala-Puebla CP 90070 Tel/Fax: 01(246)462-15-57 e-mail: [posgradoctbcuat@gmail.com](mailto:posgradoctbcuat@gmail.com)  
Tlaxcala, Tlax.

La presente tesis fue realizada bajo la dirección de la Dra. Estela Cuevas en el laboratorio de Endocrinología del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Para el desarrollo de este proyecto se contó con el financiamiento de CONACyT (367041-AA y 106226-EC).

## **AGRADECIMIENTOS**

Al posgrado del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, por permitir mi formación como Maestra en Ciencias Biológicas.

Al CONACyT por financiar mis estudios durante toda la maestría (AA-367041).

A mi directora de tesis, la Dra. Estela Cuevas, por aceptar mi participación en su proyecto, su apoyo incondicional para la realización de este trabajo, pero sobre todo por inducir en mí la emoción por la ciencia.

A mi comité tutorial: Dra. Margarita Martínez, Dr. Pablo Pacheco, Dr. Ismael Jiménez y Dr. Francisco Castelán, por el tiempo dedicado y por sus acertados comentarios y sugerencias durante la elaboración de este proyecto.

## **AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL**

A mis maestros: Dr. René Zempoalteca, Dr. Amando Bautista y Dra. Rosa Angélica, por sus enseñanzas y amistad.

A mis compañeros de laboratorio: Rosy, Raúl, Adriana y Yasmín, por compartir ratos muy amenos de trabajo y distracción.

A Favis, por que logramos ser un buen equipo en el laboratorio. ¡Gracias por tu amistad!

A mi amiga Yady por su valiosa amistad y compañía en todas nuestras “pato-aventuras”.

A mis amigos Irving y Octavio. ¡Vamos por una meta más!

A Rebe, Soco y Don Ale Yautenzi, por su amistad y buena disponibilidad para ayudar en cualquier trámite.

## DEDICATORIAS

*A mi princesa:*

Amairany, mi motivo para superar cada obstáculo y seguir adelante. Muchas gracias por tu sonrisa que llena de alegría mi vida.

*A mis papás:*

Noé y Odilia, que me han guiado en el camino de la vida, brindándome su amor en cada momento y su incondicional apoyo. Muchísimas gracias por estar conmigo siempre. Mi admiración y respeto no bastan para agradecerles todo lo que hacen por mí.

*A mis hermanos:*

Yarenhy y Eymard, por su nobleza, amistad, su forma tan divertida de compartir su vida conmigo y apoyarme en cada etapa de mi vida ¡Gracias!

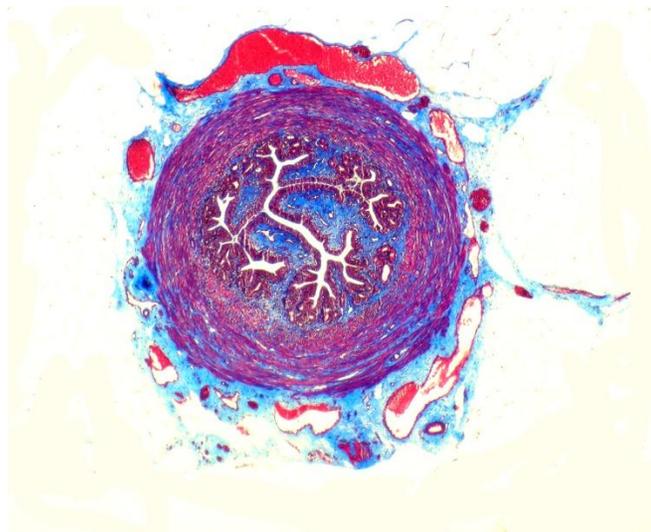
*A mis sobrinos:*

Shania “burbujita” y Axel “mi gordito”, por sus lindas sonrisas.

*A Alf:*

Por el cariño y apoyo brindado a cada momento, sé que así seguirá siendo.

*A Amy*  
*Noé y Odi*  
*Alf*



## RESUMEN

Mujeres con deficiencia de hormonas tiroideas (triyodotironina, T3, y tetrayodotironina, T4), condición llamada hipotiroidismo, presentan anovulación, abortos espontáneos e infertilidad; aunque se desconocen los mecanismos involucrados. Las trompas de Falopio u oviductos son estructuras pares donde se lleva a cabo la fecundación y las primeras divisiones del cigoto, por lo que alteraciones histológicas en tal tracto podrían afectar dichos procesos y, por ende, la fertilidad. En ratas con hipotiroidismo inducido (tiroidectomía) se observa un menor grosor de la capa muscular del oviducto en comparación con animales sanos, lo que sugiere una afectación del proceso de fertilización. Sin embargo en este modelo de hipotiroidismo quirúrgico, la extirpación de la glándula tiroidea implica la ausencia de hormonas tiroideas, y la extracción conjunta de la glándula paratiroides. Esta última se encarga de regular los niveles de calcio, involucrados en la contracción de la musculatura lisa. Por lo que es discutible, si los efectos encontrados por la tiroidectomía son exclusivamente consecuencia de la disminución de los niveles de hormonas tiroideas. Por ello, en el presente estudio analizamos el efecto del hipotiroidismo farmacológico sobre las características histológicas de la capa muscular del oviducto en la coneja adulta nulípara. **METODOLOGÍA.** Se utilizaron dos grupos de conejas: control (n=6) y con inducción de hipotiroidismo (n=6, administración oral de metimazol al 0.02%, durante 30 días). Al término del tratamiento, los animales de ambos grupos se pesaron y sacrificaron. Se cuantificaron los niveles de T3, T4, hormona estimulante de tiroides (TSH), estradiol y progesterona en suero mediante la técnica de quimioluminiscencia o ELISA. En cortes de oviductos teñidos con tricrómica de Masson, se cuantificó: 1) el grosor (longitudinal, circular y total) y el área de la capa muscular, 2) el área ocupada por las fibras musculares y el colágeno en la capa muscular, y 3) el área transversal del oviducto (incluyó capa muscular, capa epitelial y lumen). Las variables se compararon con la prueba U de Mann Whitney. **RESULTADOS.** En comparación con los animales controles, las hembras tratadas con metimazol mostraron: a) niveles significativamente menores de T3 y T4 total, niveles mayores de TSH y niveles similares de estradiol y progesterona; b) un peso corporal similar; c) un grosor de la capa muscular (longitudinal, circular y total) similar, d) un área de capa muscular similar, e) un área ocupada por fibras musculares y colágeno similar, y f) un área transversal similar en todas las regiones del oviducto. **CONCLUSIÓN.** El tratamiento con metimazol fue efectivo para inducir hipotiroidismo, pero tal condición no afectó los parámetros morfométricos de la capa muscular del oviducto evaluados. Nuestros resultados refutan lo reportado por otros autores, sugiriendo que el hipotiroidismo tras una tiroidectomía tiene efectos más drásticos sobre la capa muscular que el hipotiroidismo farmacológico. Por otro lado, nuestros resultados serán la base para la realización de posteriores análisis que involucren variables metabólicas o de contracción de las fibras musculares, las cuales si pudieran ser afectadas por el hipotiroidismo.

## ÍNDICE

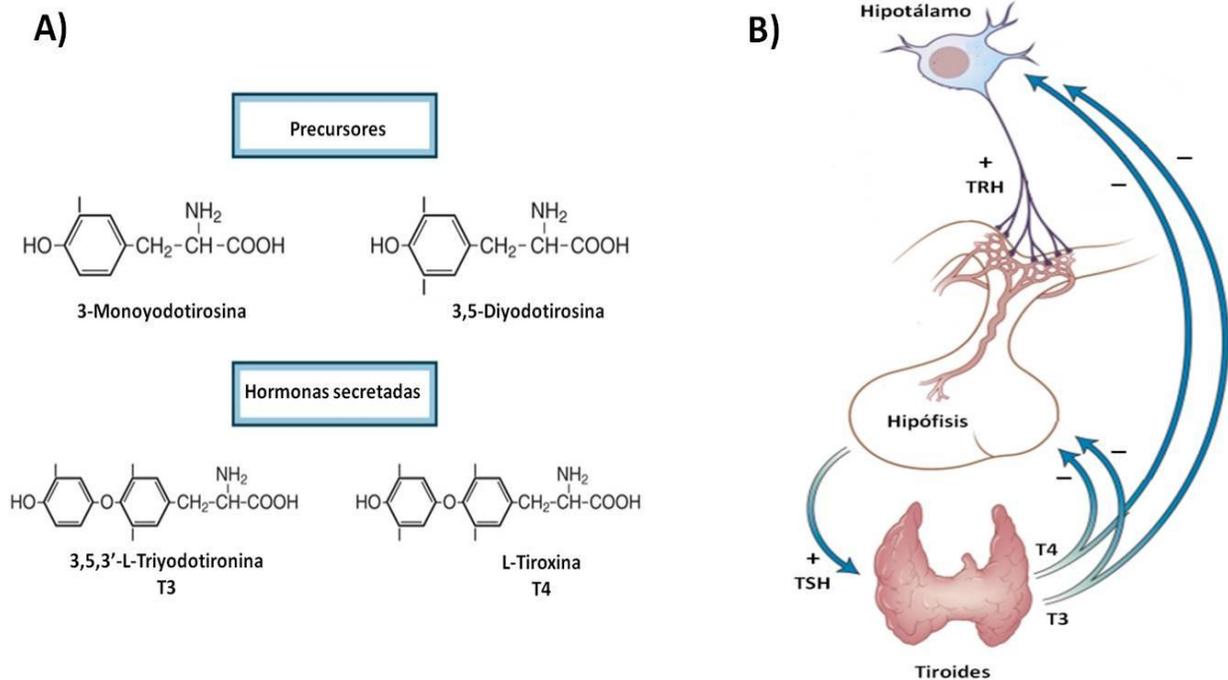
	Pág.
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Hormonas tiroideas.....	1
1.1.1 Deficiencia de hormonas tiroideas: hipotiroidismo.....	4
1.2 Infertilidad femenina y oviductos.....	6
2. ANTECEDENTES .....	13
2.1 Infertilidad e hipotiroidismo.....	13
3. JUSTIFICACIÓN.....	15
4. HIPÓTESIS .....	16
5. OBJETIVOS.....	16
6. METODOLOGÍA.....	17
7. RESULTADOS .....	21
7.1 Inducción de hipotiroidismo y peso corporal .....	21
7.2 Niveles de hormonas ováricas .....	21
7.3 Histología del oviducto.....	21
7.3.1 Descripción cualitativa de la capa muscular.....	22
7.3.2 Descripción cuantitativa de la capa muscular.....	24
8. DISCUSIÓN.....	31
9. CONCLUSIÓN .....	35
10. PERSPECTIVAS .....	36
11. REFERENCIAS .....	37
12. GLOSARIO DE TÉRMINOS .....	43
13. PUBLICACIONES.....	46

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Hormonas tiroideas

Las hormonas tiroideas, triyodotironina (T3) y tretrayodotironina (T4), son sintetizadas en la glándula tiroidea, la cual está constituida por unidades esféricas estrechamente agrupadas llamadas tirocitos. Los tirocitos, formados por células foliculares, contienen coloide en su interior, el cual está integrado por una glucoproteína denominada tiroglobulina. Tal proteína está formada por diferentes azúcares (galactosa, manosa, fructosa, N-acetil-glucosamina y ácido siálico) y residuos de tirosina en distintos grados de yodación (mono y diyodotirosinas, triyodo y tetrayodotironinas) (Figura 1-A; Bizhanova y Kopp 2009). La síntesis de hormonas tiroideas depende de la concentración de yodo en las células foliculares, el cual se obtiene de la dieta. En el interior de las células foliculares, la tiroperoxidasa (TPO) se encarga de incorporar los átomos de yodo a la molécula de tirosina o tironina para la formación de la tiroglobulina (Figura 1-A; Bizhanova y Kopp 2009). La secreción de hormonas tiroideas se inicia con la endocitosis del coloide por las células foliculares. Dentro de las vesículas endocitadas, la tiroglobulina es hidrolizada por lisosomas, formándose las hormonas tiroideas. El contenido vesicular es liberado al torrente sanguíneo, y las hormonas tiroideas son transportadas mediante proteínas plasmáticas como globulinas, albúminas y transtirreninas. La mayor parte de la T3 y T4 circulan en sangre en su forma ligada a estas proteínas (hormona unida) y sólo una pequeña cantidad viaja en su forma libre (Song y cols. 2011).

La síntesis de hormonas tiroideas es regulada por dos hormonas: la hormona estimulante de la tiroides o tirotrópina (TSH), secretada por la hipófisis, que regula la captura de yodo por las células foliculares; y la hormona liberadora de tirotrópina (TRH), secretada por el hipotálamo, que regula los niveles de TSH. Los niveles de TSH y TRH son regulados, a su vez, por los niveles de T3 y T4 en sangre. Niveles bajos de hormonas tiroideas estimulan la secreción de TSH y TRH, por el contrario, niveles elevados de hormonas tiroideas inhiben la secreción de éstas (Figura 1-B; Pascual y Aranda 2012).



**Figura 1. A)** Fórmula química de las hormonas tiroideas (Modificado de Bianco y Kim 2006). **B)** Regulación de la función tiroidea (Modificado de Bassett y Williams 2008).

El metabolismo de las hormonas tiroideas se da por reacciones de desyodación (pérdidas de iones yodo), las cuales son catalizadas por enzimas desyodasas capaces de eliminar iones yodo de las moléculas de T3 y T4. Existen tres tipos de desyodasas: tipo I, tipo II y tipo III. Las desyodasas tipo I y tipo II catalizan la pérdida de un ion yoduro en la posición 5' del anillo fenólico de la molécula de T4 formándose T3. La desyodasa tipo I se expresa en endometrio, hígado y riñón; mientras que, la enzima tipo II se expresa en sistema nervioso central, hipófisis, tejido adiposo pardo, endometrio y placenta. Por su parte, la desyodasa tipo III cataliza la pérdida de un ion yoduro en la posición 5 del anillo fenólico produciendo T3 inactiva, conocida como T3 reversa, y genera diyodotirosina a partir de T3, eliminando el yodo de la posición 3 del anillo tirosil. La desyodasa tipo III se expresa en endometrio, placenta y sistema nervioso central (Bianco y Kim 2006, Aghajanova y cols. 2011). La degradación de las hormonas tiroideas se lleva a cabo en el hígado, donde se conjugan con los ácidos glucorónico y sulfúrico facilitando su excreción, junto con la bilis, hacia la luz del intestino (Song y cols. 2011).

Las hormonas tiroideas son esenciales en el desarrollo, crecimiento y metabolismo. Éstas participan en diversos procesos fisiológicos como son: termorregulación, metabolismo, consumo de oxígeno, crecimiento, diferenciación y proliferación celular. Las acciones antes mencionadas se llevan a cabo por medio de la activación de receptores nucleares que unen a las hormonas tiroideas (TRs), los cuales funcionan como factores de transcripción dependientes de ligando. Tal proteína contiene un sitio de unión a la hormona y un sitio de unión al DNA (Figura 2-A). Los TRs son codificados por dos genes,  $\alpha$  y  $\beta$ . De los TRs relacionados al gen alfa existen diferentes isoformas incluyendo TR $\alpha$ 1, TR $\Delta\alpha$ 1, TR $\alpha$ 2, TR $\Delta\alpha$ 2 y TR $\alpha$ 3; mientras que de los TR $\beta$  están las isoformas TR $\beta$ 1, TR $\beta$ 2, TR $\beta$ 3 y TR $\Delta\beta$ 3. Las isoformas de dichos receptores varían en peso molecular y en las regiones que contienen (Figura 2-B). La isoforma TR $\alpha$ 1 se expresa en músculo esquelético y tejido adiposo y los TR $\alpha$ 2 se expresan en cerebro. La isoforma TR $\beta$ 1 se encuentra en cerebro, hígado y riñón; mientras que, los TR $\beta$ 2 se presentan exclusivamente en pituitaria e hipotálamo (Cheng y cols. 2010). El mecanismo involucrado consiste en que los TRs se unen, generalmente como heterodímeros<sup>1</sup>, con el receptor del ácido retinoico (RXR), complejo que, a su vez, se une a un fragmento de DNA conocido como elemento de respuesta a hormonas tiroideas (TRE) presente en algunos genes. Los TRs no ligados a hormona tiroidea actúan como un fuerte represor cuando se unen a un TRE y se asocian con un co-represor. La unión de T3 al complejo TR-RXR-co-represor promueve un cambio conformacional de dicho complejo facilitando la liberación de los co-represores y la unión de co-activadores (Figura 2-C) (Pascual y Aranda 2012).

Las hormonas tiroideas también pueden actuar sobre receptores localizados en la membrana plasmática, el citoplasma y las mitocondrias de la célula. Las hormonas tiroideas se unen al receptor de integrinas ( $\alpha v \beta 3$ ), lo que estimula a la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK) a través de la fosfolipasa C (PLC) y la proteína cinasa C (PKC). Las acciones de las hormonas tiroideas inducidas por el receptor de membrana incluyen la angiogénesis (células endotelial y de musculatura lisa vascular) y la proliferación celular tumoral. En la membrana, las hormonas tiroideas también pueden activar receptores asociados a proteínas G. La unión de la hormona tiroidea con estos receptores activa a las PLC, PKC y la

---

<sup>1</sup> Ver glosario.

cinasa dependiente de cAMP (PKA). Cuando la PKA activa a la fosfolipasa D (PLD) induce una respuesta no genómica y activa las cinasas de serina/treonina (Raf1) que, a su vez, inducen la fosforilación de la MAPK. La fosforilación de tirosina de la MAPK resulta en la translocación nuclear y fosforilación de los TRs. La fosforilación de serina de los TRs induce disociación de los co-represores e incrementa la actividad transcripcional a través de la unión del ligando, RXR y co-activadores (Figura 2-C; Bassett y Williams 2008, Cheng 2010, Pascual y Aranda 2012).

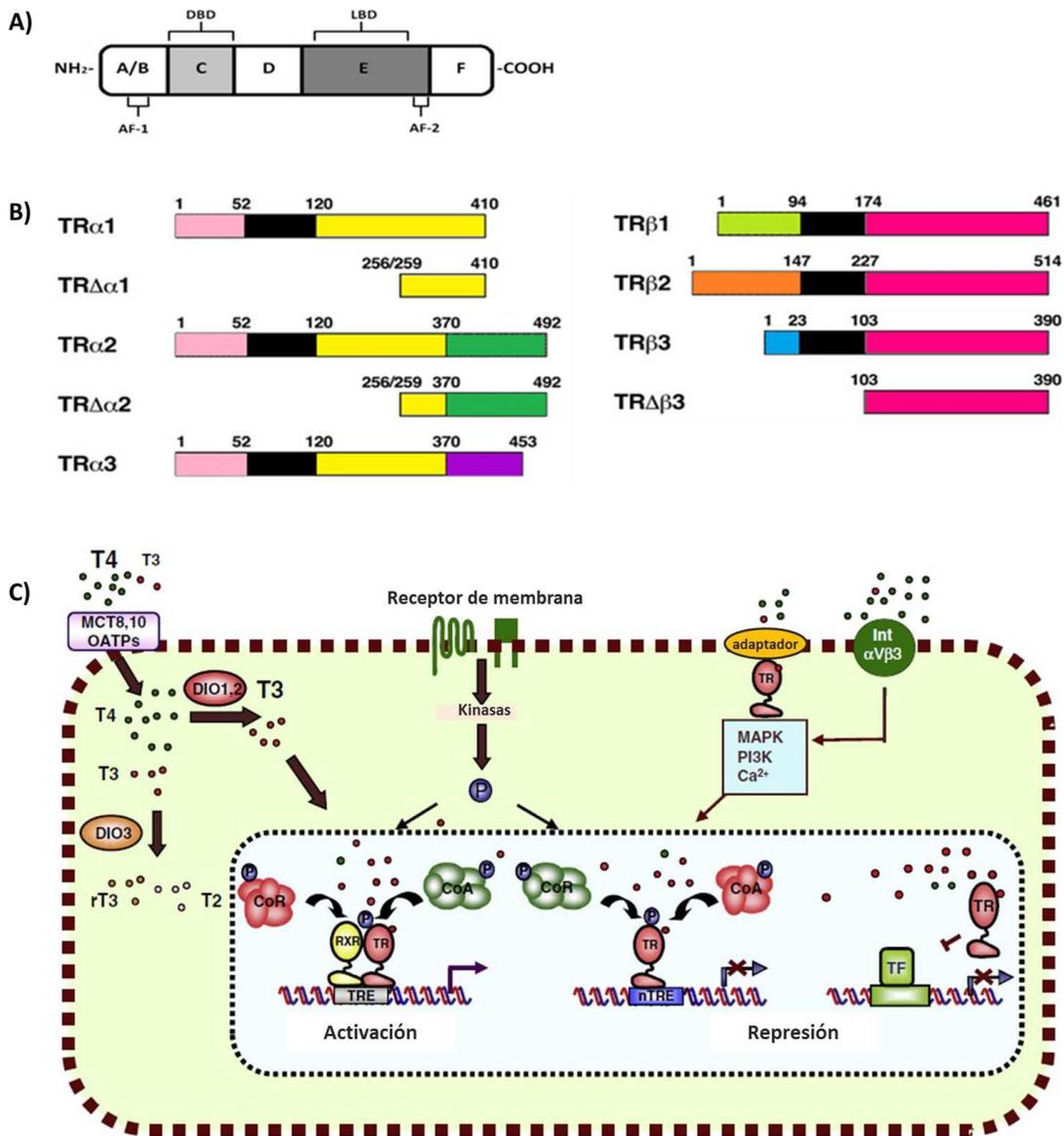
En citoplasma, la T3 se une a TR $\beta$ 1 o TR $\alpha$  activando al fosfoinositol-3fosfato kinasa (PI3K) e iniciando la transcripción de genes específicos. Una isoforma truncada de TR $\alpha$ 1 (TR $\Delta\alpha$ 1) en citoplasma media la acción de T4 y de rT3 sobre el citoesqueleto de actina. La T3 y T4 también pueden activar al PI3K a través del receptor  $\alpha\beta$ 3 (Cheng y cols. 2010). En mitocondria, la 3,5-diyodotironina puede unirse a la subunidad Va del citocromo-c (Cyto-c Va) y activarlo, con lo cual, directamente incrementa la fosforilación oxidativa<sup>2</sup> (Figura 2-C; Cheng y cols. 2010, Pascual y Aranda 2012).

### **1.1.1 Deficiencia de hormonas tiroideas: hipotiroidismo**

Existen diversas patologías asociadas a la alteración en la síntesis de hormonas tiroideas. Cuando existe un exceso de ellas en sangre se conoce como hipertiroidismo; mientras que, el déficit se denomina hipotiroidismo (Stavreus-Evers 2012). Para fines de esta investigación nos referiremos exclusivamente al hipotiroidismo, el cual, dependiendo de los niveles de hormonas tiroideas y TSH, se puede clasificar en hipotiroidismo clínico o hipotiroidismo subclínico. El primero ocurre cuando la concentración sérica de hormonas tiroideas es baja y los niveles de TSH son altos. El segundo se presenta cuando hay niveles normales de hormonas tiroideas y niveles de TSH en el rango normal alto. Este último, si no se trata, progresa a hipotiroidismo clínico en un corto plazo (Kostoglou-Athanassiou y Ntalles 2010).

---

<sup>2</sup> Ver glosario.



**Figura 2.** (A) Estructura de los receptores nucleares de hormonas tiroideas (TRs). La región A/B contiene el grupo amino terminal y un dominio de transactivación independiente de ligando (AF-1), la región C une al DNA (DBD), la región D de sirve como bisagra entre el DBD y el LBD permitiendo la rotación de DBD, la región E une al ligando (LBD) y la región F contiene el grupo carboxilo terminal y un dominio de transactivación dependiente de ligando (AF-2) (Modificado de Aranda y Pascual 2001). (B) Isoformas de TRs (Modificado de Cheng y cols. 2010). (C) Activación de receptores de hormonas tiroideas. Las hormonas tiroideas entran en la célula mediante transportadores como MCT8,10 OATPs. Dentro de la célula, las desyodasas (DIO1, 2) convierten la T4 a T3. La T3 se une a TRs que heterodimerizan con el receptor de ácido retinoico (RXR). Dicho complejo se une a elementos de respuesta a hormonas tiroideas (TRE), ubicados en las regiones reguladoras de genes diana. La actividad se rige por un intercambio de complejos co-represores (CoR) y co-activadores (CoA). Los TREs negativos (nTRE) dependientes de ligando pueden mediar la represión transcripcional. Los TRs también puede regular la actividad transcripcional de genes sin TRE a través de "cross-talk" con otros factores de transcripción (TF). La T4 también pueden unirse a receptores de membrana putativos, como la integrina  $\alpha V\beta 3$  que activa a cascadas de señalización que regulan la expresión de genes (Modificado de Pascual y Aranda 2012).

El hipotiroidismo tiene diversas causas, las cuales se dividen en tres categorías: 1) congénitas (ausencia o atrofia del tejido tiroideo, mutaciones en genes relacionados con la diferenciación de células tirotrópicas<sup>3</sup>, receptor de TSH, TRs o desyodasas); 2) inducidas por alteraciones en los niveles de TSH (adenomas<sup>4</sup> y craneofaringiomas<sup>5</sup>) o TRH (glioma<sup>6</sup> y meningioma<sup>7</sup>), deficiencia de yodo, así como por factores físicos (radiaciones), químicos (compuestos organoclorados<sup>8</sup>) y fisiológicos (anticuerpos anti-tiroglobulina, anti-TPO o anti-TSH) (Roberts y Landenson 2004). El hipotiroidismo es más frecuente en mujeres que en hombres, la prevalencia aumenta con la edad. La incidencia de hipotiroidismo clínico, a nivel mundial, es de 0.5-1.9 % en mujeres y <1 % en hombres, mientras que para el hipotiroidismo subclínico aumenta a 3-13.6 % en mujeres y 0.7-5.7 % en hombres (Kostoglou-Athanassiou y Ntalles 2010).

Entre los signos y síntomas del hipotiroidismo clínico se incluyen: intolerancia al frío, aumento de peso, estreñimiento, piel seca, caída de cabello, enfermedades cardíacas y ronquera. Pacientes con hipotiroidismo subclínico también pueden presentar los signos y síntomas antes mencionados (Stavreus-Evers 2012). Otras alteraciones relacionadas con el hipotiroidismo son defectos en la memoria, letargo, somnolencia, depresión e incluso demencia, malestar abdominal, acumulación de grasa e incremento en las concentraciones séricas de colesterol, triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad (Gómez-Meléndez y cols. 2010).

## **1.2 Infertilidad femenina y oviductos**

En las mujeres, la mayor fertilidad se encuentra entre los 20 y 24 años, disminuyendo ligeramente hacia los 32 años, y rápidamente después de los 40 años. Esta pérdida puede adelantarse por alteraciones fisiológicas a nivel de hipotálamo, hipófisis y aparato reproductor. A nivel hipotalámico-hipofisiario, la presencia de tumores interfiere con la síntesis y secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas y de hormonas gonadotrópicas (folículo estimulante, FSH; y luteinizante, LH). Esto repercute en los niveles de hormonas ováricas

---

<sup>3</sup> Ver glosario.

<sup>4</sup> Ver glosario.

<sup>5</sup> Ver glosario.

<sup>6</sup> Ver glosario.

<sup>7</sup> Ver glosario.

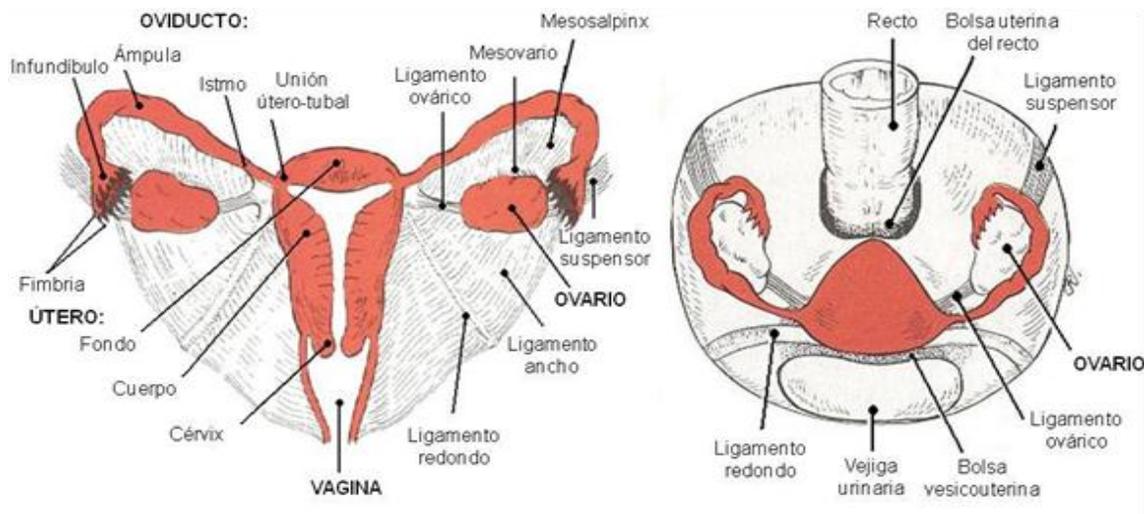
<sup>8</sup> Ver glosario.

(estradiol y progesterona) y provoca una disminución de la función ovárica y alteraciones en el ciclo menstrual (Crain y cols. 2008, Shuster y cols. 2009). A nivel del aparato reproductor, podemos encontrar disfunciones ováricas, alteraciones uterinas y problemas en las trompas de Falopio u oviductos (Tabla 1) que afectan la fertilidad femenina. Independientemente de la causa, la incapacidad de las mujeres para concebir en un periodo de 24 meses con actividad sexual regular sin protección se denomina infertilidad. Esta se clasifica en primaria, cuando se afecta la concepción, y en secundaria, cuando no se lleva a término el embarazo (Crain y cols. 2008).

Para fines del presente trabajo, nos enfocaremos a describir las características morfológicas del oviducto. Estas estructuras son órganos pares con forma de tubo, se extienden bilateralmente desde el útero hacia la pared lateral de la pelvis cerca del ovario. En la etapa de diferenciación sexual de las hembras, durante el desarrollo fetal, el conducto de Müller se diferencia en oviductos, útero y vagina; mientras que, el conducto de Wolff, privado de testosterona, se degenera (Wein y cols. 2008). Los oviductos, al igual que el resto del aparato reproductor, están suspendidos de la parte dorso-lateral del canal pélvico por un ligamento llamado ligamento ancho, en el cual existen tres regiones especializadas: a) el mesovario o borde anterior del ligamento ancho, que suspende al ovario dorso-lateralmente de la pared abdominal; b) el mesosalpinx, que es un pliegue lateral en la porción anterior del ligamento ancho y que suspende al oviducto; y c) el mesometrio, que es la mayor porción del ligamento ancho y suspende al útero, cérvix y parte craneal de la vagina (Figura 3-A) (Wilson y Wilson 1978). El ligamento ancho, además de sostener al aparato reproductor, permite la afluencia de arterias y nervios. La arteria ovárica, rama de la aorta abdominal, irriga la parte craneal del aparato reproductor (ovarios y oviductos), así como la parte craneal (cuernos uterinos). La arteria hipogástrica, que procede de la arteria iliaca interna, se ramifica en la arteria uterina y la vaginal, las cuales irrigan al útero y a la vagina, respectivamente (Dickson y cols. 1974). El aparato reproductor femenino posee una inervación autonómica, tanto simpática como parasimpática (Conrad y Ueland 1983).

Estructura	Patología
Ovario	Síndrome de ovario poliquístico. Es caracterizado por niveles séricos de andrógenos altos, así como la presencia de 12 o más folículos de 2-9 mm en cada ovario. Los folículos se acumulan en la corteza ovárica sin la transición a la atresia, dando lugar a quistes ováricos. La falta de ovulación imposibilita la fertilización (Stubbs y cols. 2000).
Útero	Endometriosis. Presencia de tejido endometrial fuera de la cavidad uterina, que puede adherirse alrededor del ovario e impedir la salida del óvulo, imposibilitando su fecundación; o bien, en la fimbria oviductal, obstruyendo la luz e impidiendo el paso del óvulo hacia el sitio de fertilización. Se asocia con un importante proceso inflamatorio (macrófagos, citocinas y factores de crecimiento) que dañan al tejido (Brassard y cols. 2008).  Leiomiomas. Son tumores benignos compuestos de fibras de músculo liso y tejido conectivo presentes en el miometrio uterino. Éstos pueden distorsionar la cavidad uterina impidiendo la implantación del cigoto, y si el cigoto llega a implantarse sobre un leiomioma puede sufrir aborto en el primer trimestre del embarazo (Walker y Stewart 2005).
Oviductos	Malformaciones congénitas. Pueden presentarse atresia ampular congénita, ausencia congénita segmental y total, duplicación segmental y alteraciones en las capas del oviducto. El tener un segmento de oviducto alterado puede imposibilitar el proceso de fertilización o causar embarazos ectópicos (Narayanan y Rajeev 2008).  Salpingitis. Ocurre cuando una porción del oviducto se inflama a consecuencia de una infección vaginal o urinaria mal tratada. La inflamación genera daño endotelial que destruye a las células epiteliales ciliadas del oviducto, originando fibrosis (adhesiones) e impidiendo el paso de gametos (Howie y cols. 2011).

**Tabla 1.** Alteraciones del aparato reproductor femenino que pueden provocar infertilidad.



**Figura 3.** Esquema del tracto reproductor femenino de la mujer, donde se muestra que éste está suspendido de la parte dorso-lateral del canal pélvico por el ligamento ancho (Modificado de Wilson y Wilson 1978).

En la mujer, cada oviducto mide aproximadamente de 10 a 12 cm de longitud, su extremo lateral, conocido como fimbria, se abre en la cavidad peritoneal. Esta abertura está delimitada por unos pliegues que, en función de la fase del ciclo, se aproximan o alejan del ovario (Lyons y cols. 2006). La pared del oviducto está formada por tres capas de tejido (Figura 4): 1) la serosa (capa externa) compuesta de tejido conectivo y vasos sanguíneos; 2) la muscular (intermedia) que consta de músculo liso y tejido conectivo; y 3) la mucosa (interna) compuesta de lámina propia (tejido conectivo) y epitelio. La función de la capa de mucosa es secretar sustancias que permitan un microambiente favorable para el transporte de los gametos, así como de proveer de nutrientes a los gametos para su sobrevivencia. La capa de musculatura lisa se encarga, mediante la contracción de sus fibras, del transporte de gametos y del cigoto. La serosa se encarga de dar soporte y estructura a las capas interiores (Hunter 2005).

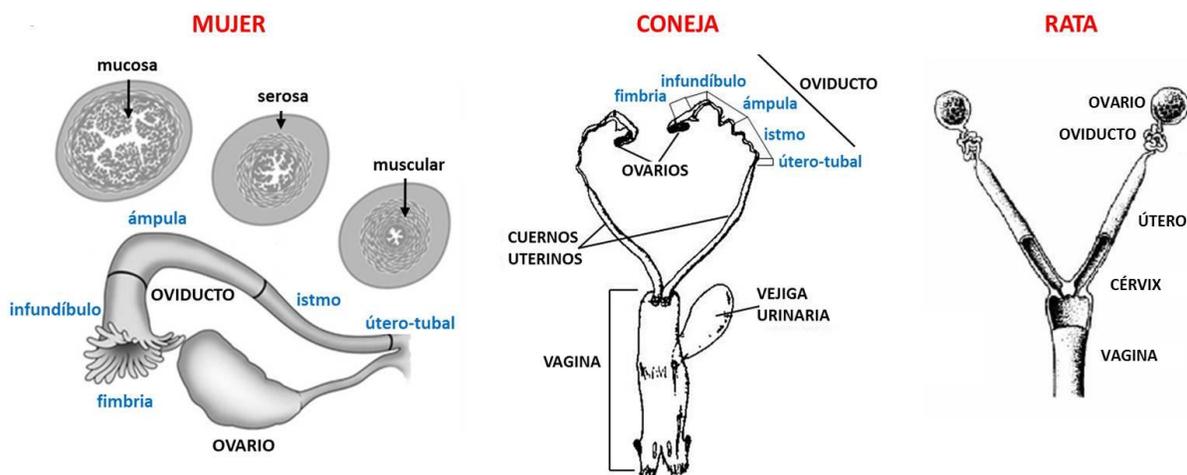
El oviducto se divide en cinco regiones especializadas y funcionalmente diferentes, desde el ovario hasta el útero: fimbria, infundíbulo, ampulla, istmo y unión útero-tubal (Figura 4) (Lyons y col. 2006). La fimbria es una porción no circular con prolongaciones largas de epitelio principalmente ciliado y sin capa de musculatura lisa. El infundíbulo es la porción circular entreabierta con epitelio muy plegado predominantemente ciliado, presenta una capa muy delgada de fibras musculares con distribución circular de grosor irregular y un extremo sin musculatura lisa. El ampulla presenta epitelio muy plegado, en el cual se encuentran células secretoras y predominantemente ciliadas, con una luz más amplia. La capa muscular es delgada en comparación con la región del istmo y con una distribución de sus fibras de tipo circular. Presenta gran cantidad de vasos sanguíneos situados en el tejido conectivo. En el istmo, el epitelio es predominantemente secretor y presenta pliegues pequeños. Su capa muscular relativamente gruesa, cuenta con dos disposiciones: longitudinal y circular. La capa longitudinal se encuentra en la parte interna y la capa circular en el exterior. Las fibras musculares se encuentran entremezcladas con tejido conectivo de tipo colágeno. En la región útero-tubal, el espacio luminal es pequeño debido al engrosamiento de la mucosa, principalmente de la lámina propia, la cual presenta cavernas. El epitelio es plano con pocos pliegues de escasa altura, doble capa muscular (una longitudinal interna y una circular externa)

inmersa en tejido conectivo y una capa serosa con gran número de vasos sanguíneos (Lyons y col. 2006, Suárez 2008).

Después de la cópula, los espermatozoides viajan hacia los oviductos. Las células polimorfonucleares<sup>9</sup> de la hembra inmediatamente atacan a los espermatozoides destruyéndolos. De manera que sólo una pequeña proporción de ellos logra llegar hasta el oviducto (Hunter 2005, Suarez 2008). La primera porción del mismo, la región útero-tubal cuenta con estructuras de epitelio en forma circular denominadas cavernas, que podrían funcionar como refugio para los espermatozoides (Suarez 2008). En la siguiente porción del oviducto, el istmo, las células secretoras proporcionan los nutrientes necesarios para la sobrevivencia de los espermatozoides (Hugentobler y cols. 2010). Las células ciliadas contienen receptores a moléculas presentes en la cabeza de los gametos masculinos, y permiten que éstos pierdan moléculas de la cabeza como mucopolisacáridos y proteínas. Tal pérdida evita que sean rechazados inmunológicamente en el tracto genital femenino, aumenta su movilidad y facilita su penetración al óvulo (Hunter 2005, Suarez 2008). Los espermatozoides ya capacitados viajan hacia el ampulla, donde, aunque llegan unos cuantos espermatozoides, sólo uno de ellos se adherirá a la membrana plasmática del óvulo. Dicha unión se lleva a cabo por medio de moléculas presentes en el óvulo con receptores localizados en el espermatozoide (Suarez 2008). Posteriormente, la cabeza del espermatozoide debe sufrir una reacción acrosómica, la cual consiste en la liberación o activación de enzimas facilitando su entrada a la zona pelúcida que rodea al óvulo (lámina glicoproteica) (Hunter 2005). Tras la fecundación, el cigoto recién formado reside en el oviducto durante algunos días antes de entrar al útero, donde lleva a cabo sus primeras divisiones celulares. Esto es posible gracias a la composición del fluido, secretado por las células del oviducto, que mantiene al embrión viable hasta su llegada al útero (Hugentobler y cols. 2010).

---

<sup>9</sup> Ver glosario.



**Figura 4.** Regiones y capas del oviducto de mujer (Modificado de Lyons y cols. 2006), coneja y rata (Modificado de Villalón y cols. 1999). Las regiones en que se divide el oviducto son: fimbria, infundíbulo, ampulla, istmo y útero-tubal; mientras que su pared consta de tres capas: mucosa (interna), muscular (intermedia) y serosa (externa).

La capa muscular del oviducto, compuesta por fibras musculares lisas, participa en el transporte de gametos, el cual se da en sentido bidireccional. Mientras los espermatozoides ascienden en dirección al ovario, el óvulo desciende en dirección al útero hasta su encuentro y fertilización. Su transporte se lleva a cabo gracias a la contracción de las fibras musculares lisas que se propaga a lo largo del oviducto promoviendo un movimiento peristáltico (Lyons y cols. 2006). Las características de esta capa de tejido es afectada por las variaciones en los niveles de hormonas ováricas durante el ciclo estral, habiendo una mayor proliferación celular en la fase de proestro (niveles altos de estrógenos) (Fausone-Pellegrini y Bani 1990). La contracción del músculo liso oviductal es promovida por señales nerviosas, que a su vez pueden ser reguladas por hormonas o moléculas que actúan de manera paracrina o endocrina (Lindblom y cols. 1979, Pfitzer 2001). Las células musculares lisas son inervadas por el sistema nervioso autónomo, tanto simpático (noradrenalina) como parasimpático (acetilcolina). Por lo que, el músculo liso contiene receptores de catecolaminas (alfa y beta adrenérgicos) y acetilcolina (receptores muscarínicos) ejerciendo funciones opuestas. Las sinapsis adrenérgicas promueven la contracción muscular facilitando la entrada de  $Ca^{2+}$  a las fibras musculares (Jaggar y cols. 2000, Pfitzer 2001). Dentro de las moléculas que regulan la

contracción de la musculatura lisa están: prostaglandinas, óxido nítrico, endotelinas, estradiol y progesterona (Tabla 2).

Molécula	Acción en las células musculares del oviducto
Prostaglandinas <sup>10</sup> (PGs)	La PGI <sub>2</sub> , PGD y PGE <sub>2</sub> son sintetizadas por el epitelio y el músculo liso del oviducto (Huang y cols. 2004). La PGE <sub>2</sub> inhibe la contracción de la capa circular y la estimula en la capa longitudinal (Lindblom y cols. 1979). La PGF <sub>2α</sub> estimula la contracción de ambas capas (Lindblom y cols. 1979).
Óxido nítrico <sup>11</sup> (NO <sub>2</sub> )	Tiene efecto relajante sobre la contracción del músculo liso (Ekerhovd y Norström 2004).
Oxitocina	Incrementa la relajación en las regiones de istmo y ampulla (Janković y cols. 2001).
Endotelinas <sup>12</sup>	Tiene efecto contráctil sobre la capa muscular del oviducto a través de su receptor ET <sub>A</sub> (Al-Alem y cols. 2007).
Estradiol	Sus receptores se expresan en la capa muscular del oviducto (Shao y cols. 2007). En la región del istmo, promueve la conductividad eléctrica de la capa muscular, mientras que su deficiencia o su combinación con progesterona la inhibe (Brundin y Talo 1972). Altas dosis de estradiol disminuyen la contracción del oviducto (Hodgson y cols. 1980).
Progesterona (P <sub>4</sub> )	Sus receptores nucleares se expresan de manera diferencial a lo largo del oviducto (Shao y cols. 2006), cuya activación facilita la actividad de receptores adrenérgicos promoviendo la contracción (Rheume y Paton 1978). Aunque también se ha reportado que disminuye la contracción (Wanggren y cols. 2008). P <sub>4</sub> más gonadotropina coriónica humana (hGC) incrementa la contractilidad del oviducto (Hodgson y cols. 1980). Además, regula la actividad de las prostaglandinas (Spilman y Harper 1975).
Hormona luteinizante (LH)	El oviducto humano, bovino y porcino contiene receptores de LH, tanto en epitelio, músculo liso y vasos sanguíneos. Su acción provoca la relajación del oviducto, especialmente durante la etapa periovulatoria del ciclo estral (Gawronska y cols. 2000).

**Tabla 2.** Moléculas que intervienen en el proceso de contracción y relajación del músculo liso oviductal.

<sup>10</sup> Ver glosario.

<sup>11</sup> Ver glosario.

<sup>12</sup> Ver glosario.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Infertilidad e hipotiroidismo

En el 50-70% de las mujeres con hipotiroidismo se presentan problemas reproductivos, tales como ciclos menstruales irregulares (oligomenorrea) o con mucho sangrado (menorragia), galactorrea<sup>13</sup>, falta de ovulación, aborto e infertilidad. Esta relación entre hipotiroidismo y alteraciones reproductivas también se observa en niñas con el síndrome Van Wyk y Grumbach<sup>14</sup> (Doufas y Mastorakos 2000, Poppe y cols. 2007, Crain y cols. 2008, Stavreus-Evers 2012). Aunque se desconoce el mecanismo por el cual el hipotiroidismo afecta tanto la ovulación como la fertilidad, se sabe que el ovario expresa receptores a TSH y a hormonas tiroideas, y que el líquido folicular humano contiene hormonas tiroideas (Wakim y cols. 1993, Aghajanova y cols. 2009). Sin embargo, tanto a nivel clínico como experimental, existen pocos trabajos que investiguen la relación que existe entre las hormonas tiroideas y la reproducción en las mujeres.

Usando modelos animales de hipotiroidismo, mediante la extracción de la glándula tiroidea o la administración de fármacos como tiourea, metamizol y propiltiouracilo, se ha encontrado que tal condición hormonal afecta algunas características histológicas y funcionales del tracto reproductivo femenino. En ratas hipotiroideas, se ha observado un mayor número de folículos atrésicos (disfuncionales), abortos espontáneos (Inuwa y Williams 2006) y disminución en el grosor de las capas muscular y epitelial del útero, y oviductos (Amadi y cols. 2007). Tales efectos podrían ser explicados dada la presencia de TR $\alpha$ , tanto en el epitelio como en la capa muscular del útero y oviducto de la rata (Oner y Oner 2007), sugiriendo una acción directa de las hormonas tiroideas sobre los tejidos reproductivos. También, podría ser posible un efecto indirecto de las hormonas tiroideas sobre los tejidos reproductivos, ya que estas regulan la expresión de moléculas involucradas en la reproducción. Así, se ha descrito que en ratas, el hipotiroidismo (tanto por la administración de

---

<sup>13</sup> Ver glosario.

<sup>14</sup> Ver glosario.

propiltiouracilo como por tiroidectomía) incrementa los niveles séricos de estradiol, progesterona, prolactina y prostaglandina (PGE<sub>2</sub>), y disminuye los niveles de LH, FSH, testosterona, hormona del crecimiento y factor de crecimiento tipo insulina I (Hatsuta y cols. 2004, Hapón y cols. 2003, 2007, 2010). Como podemos ver, las hormonas tiroideas podrían afectar las funciones del oviducto, tanto por una acción directa como indirecta. Sin embargo, hasta ahora, la rata ha sido el único modelo animal utilizado para analizar los efectos del hipotiroidismo; y no hay reportes acerca de los mecanismos por los cuales la disminución de hormonas tiroideas afecta el grosor de la capa muscular del oviducto (Amadi y cols. 2007).

Ante la falta de información sobre el efecto de las hormonas tiroideas sobre la musculatura lisa del oviducto, es necesario recurrir a lo reportado sobre otros tipos de musculatura, en donde se han observado efecto a nivel de la contracción, proliferación celular y síntesis de colágeno (Tabla 3).

Evento	Acciones de las hormonas tiroideas
Contracción	En la musculatura uterina, incrementan el Ca <sup>+2</sup> intracelular potenciando su contracción. El hipotiroidismo inhibe la contracción (Amadi y cols. 2006)  Relajación de la musculatura vascular, al incrementar la actividad del canal de K <sup>+</sup> (Makino y cols. 2012), o bien, al incrementar la producción de óxido nítrico (McAllister y cols. 2005, Carrillo-Sepúlveda y cols. 2010). El hipotiroidismo reduce la relajación del músculo liso vascular (conejo) debido a una menor liberación de óxido nítrico de los nervios purinérgicos y del endotelio (Yildirim y cols. 2008).
Proliferación de células	En la musculatura vascular, incrementan el número de células en citocinesis <sup>15</sup> , regulan la expresión de los genes del antígeno nuclear de proliferación celular <sup>16</sup> (PCNA) y la $\alpha$ -actina, a través de su receptor TR $\alpha$ 1 (Wang y Sun 2010).
Síntesis de colágena	En la musculatura lisa vascular, regulan la síntesis de mRNA de pro-colágeno tipo I y III (Ziegelhoffer-Mihalovicova y cols. 2003) y de glicosaminoglicanos que forman parte de la matriz extracelular (Drobnik y cols. 2009).
Angiogénesis	Las hormonas tiroideas inducen la transcripción de gen del factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF) y el gen del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (Luidens y cols. 2010).

**Tabla 3.** Acciones de las hormonas tiroideas en la musculatura lisa de otros órganos.

<sup>15</sup>

<sup>16</sup>

### 3. JUSTIFICACIÓN

1) Las mujeres con hipotiroidismo tienen problemas de fertilidad (Doufas y Mastorakos 2000, Poppe y cols. 2007, Stavreus-Evers 2012).

2) A nivel experimental, los animales, con hipotiroidismo inducido por tiroidectomía, muestran un menor grosor de la capa epitelial y muscular de los oviductos (Inuwa y Williams 2006, Amadi y cols. 2007). Se desconoce si esto es consecuencia de la falta de hormonas tiroideas o por la ausencia de la glándula paratiroidea, también extraída durante la cirugía.

3) En la rata, el oviducto tiene receptores de TR $\alpha$  en la capa muscular (Oner y Oner 2007), por lo que es posible una acción de las hormonas tiroideas de manera directa.

4) Las hormonas tiroideas regulan los niveles de estrógenos y progesterona (Hatsuta y cols. 2004, Hapon y cols. 2010), hormonas que regulan la actividad de la capa muscular del oviducto (Brundin y Talo 1972; Rheaume y Paton 1978), por lo que es posible que las hormonas tiroideas ejerzan una acción indirecta sobre la capa muscular del oviducto.

5) Es necesario estudiar el efecto del hipotiroidismo sobre las características histológicas de la capa muscular del oviducto de conejas adultas nulíparas, que pudieran dar luz sobre la relación entre hipotiroidismo e infertilidad femenina.

## **4. HIPÓTESIS**

El hipotiroidismo farmacológico afecta las características histológicas de la capa muscular del oviducto en la coneja adulta nulípara.

Predicciones:

En las diferentes regiones del oviducto, el hipotiroidismo:

- Reduce el grosor de la capa muscular.
- Reduce el área de la capa muscular.
- Reduce el área ocupada por fibras musculares y aumenta el área ocupada por fibras de colágeno.
- Reduce el área transversal del oviducto.

## **5. OBJETIVOS**

### **General**

Determinar los efectos de hipotiroidismo sobre las características histológicas del músculo liso oviductal en la coneja adulta nulípara.

### **Específicos**

Tanto en conejas controles como hipotiroideas:

- Cuantificar los niveles circulantes de T3 y T4 total, TSH, estradiol y progesterona.

Además, en las diferentes regiones del oviducto:

- Medir el grosor de la capa muscular.
- Determinar el área de la capa muscular.
- Determinar el área ocupada por fibras musculares y colágeno en la capa muscular.
- Medir el área transversal del oviducto.

## 6. METODOLOGÍA

**Animales.** Se utilizaron conejas adultas de 8-12 meses de edad de la raza Chinchilla (*Oryctolagus cuniculus*), mantenidas en condiciones estándar (16 h / 8 h de luz y oscuridad,  $22 \pm 2$  °C) en el bioterio del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta (Universidad Autónoma de Tlaxcala) y alojadas en jaulas individuales de acero inoxidable (50 x 60 x 40 cm), con alimento Purina y agua *ad libitum*. El grupo control estuvo constituido por hembras nulíparas (n=6) y el experimental por conejas con hipotiroidismo farmacológico (n=6). En ambos grupos, las conejas fueron sacrificadas a la misma edad.

**Inducción de hipotiroidismo.** La inducción de hipotiroidismo se llevó a cabo mediante tratamiento con el fármaco anti-tiroideo metimazol<sup>17</sup> (Sigma), el cual fue administrado en el agua de bebida a una concentración de 0.02% (Al-jamal 2004) durante treinta días. Al término del tratamiento, ambos grupos fueron pesados y anestesiados profundamente con pentobarbital sódico (i.p. 60mg/kg, Pfizer). Se les realizó una punción cardíaca para la extracción de sangre tanto a las conejas controles como a las tratadas con metimazol. La sangre se dejó reposar durante 45 minutos, después se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos. El suero fue separado y congelado a una temperatura de 20°C bajo cero para su posterior uso. Las muestras de 50 µl de suero se analizaron por duplicado mediante la técnica de quimioluminiscencia<sup>18</sup> (CARPERMOR, S.A. de C.V.) o de ELISA<sup>19</sup>. Las hormonas que se midieron fueron T3 total, T4 total, TSH, estradiol y progesterona.

**Histología de la capa muscular de conejas controles e hipotiroideas.** Después del sacrificio, se extrajeron los oviductos izquierdos y se fijaron con la solución de Bouin-Duboscq por 12 h. Se deshidrataron con alcoholes en concentración ascendente (60-100%), e incluyeron en parafina. Los segmentos de oviducto fueron cortados transversalmente a 7 µm con un microtomo y se colocaron 12 cortes por laminilla. Los cortes obtenidos se separaron en cinco series, donde una de cada cinco laminillas se tiñó con la tinción tricrómica de Masson,

---

<sup>17</sup> Ver glosario.

<sup>18</sup> Ver glosario.

<sup>19</sup> Ver glosario.

que permite diferenciar el tejido muscular del conectivo. Para la tinción, los cortes se desparafinaron en xileno y se hidrataron en alcoholes en concentraciones descendentes (100-60%). Después, los cortes fueron introducidos en los diferentes colorantes que componen a la tinción (hematoxilina, fushina, y anilina), se deshidrataron con alcoholes en concentraciones ascendentes (60-100%) y se fijaron con Cytoseal TM60 y cubreobjetos. Todos los cortes teñidos fueron analizados para identificar las regiones, incluyendo cortes no teñidos para verificar la transición de una región a otra. Posteriormente, se tomó un corte cada 1500  $\mu\text{m}$  a lo largo del oviducto de cada coneja control o tratada con metimazol y se realizaron las mediciones correspondientes. Para las mediciones del grosor de capa muscular, proporción de área de fibra muscular y de colágena, y área total del oviducto se consideraron las regiones ámpula, istmo y útero-tubal. Se descartaron las regiones de fimbria e infundíbulo, ya que como se describió anteriormente, la fimbria no cuenta con capa de musculatura lisa, y la región de infundíbulo presenta una capa delgada e irregular de músculo liso que dificulta su medición.

***Grosor de capa muscular.*** Se eligió un corte teñido de oviducto cada 1500  $\mu\text{m}$ , tomando en cuenta que no estuviera roto o rayado. Una vez fotografiado la capa muscular del oviducto se utilizó el programa AxionVision Release 4.8 para su medición. El grosor de capa muscular incluye cuatro mediciones: 1) grosor total de capa muscular, incluye distribución longitudinal y circular. Se realizó desde el borde superior de un pliegue de epitelio hasta donde termina la capa de músculo liso, ya que el músculo liso se mete entre los pliegues de epitelio aumentando su grosor en esa área y medir ahí conllevaría a mediciones erróneas (Figura 5-A); 2) grosor de capa muscular longitudinal (interna), el cual se realizó desde el borde superior de un pliegue de epitelio hasta donde comenzaba la capa de fibras musculares con orientación circular (externa); 3) grosor de capa muscular circular (externa), abarcó desde donde empezaba la primera fibra con orientación circular hasta el final de la capa de musculatura lisa, justo donde comenzaba la capa externa de serosa (Figura 5-B). Todas las mediciones se realizaron en los cuatro puntos cardinales del corte utilizando un acetato con líneas perpendiculares en el centro (formando una cruz) para saber dónde se tenía que realizar la medición. El grosor de capa muscular incluyó también tejido conectivo, fibras de colágena y

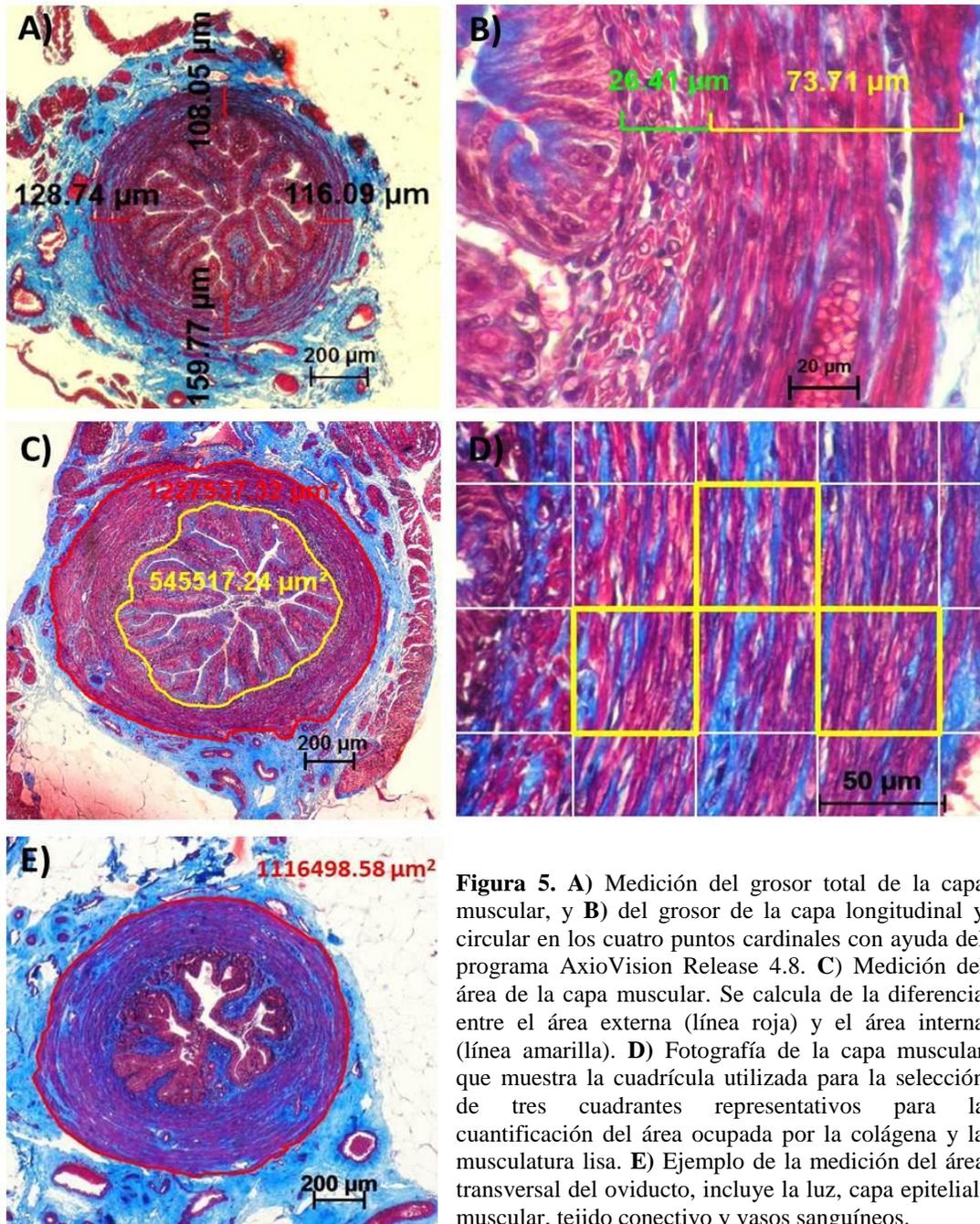
vasos sanguíneos, ya que las fibras de musculatura lisa musculares se entremezclada con éstos tejidos; y 4) Área de la capa de muscular. Sobre la foto del corte de oviducto y utilizando el programa AxioVision Release 4.8, se delimitó el inicio de la capa muscular, justo donde termina la capa epitelial (área interna) y se delimitó el final de la capa muscular, justo donde comienza la capa de la serosa (área externa). El área de la capa muscular se obtuvo de la diferencia entre el área externa y el área interna. El valor obtenido en  $\mu\text{m}^2$  se convirtió a  $\text{mm}^2$  (Figura 5-C).

**Área ocupada por fibras musculares y colágeno.** De los mismos cortes seleccionados, se fotografió la capa muscular para la cuantificación de la proporción de fibras musculares lisas y de colágeno. Se realizó con el programa AxioVision Release 4.8, donde se cuantificó el área neta que ocupó las fibras musculares, las de colágena y el resto de tejidos (incluyó vasos sanguíneos y tejido conectivo que no se observa con la tinción tricrómica de Masson). Debido a que en el área total de la fotografía se incluyen parte de las capas epitelial y de serosa, se optó por seleccionar únicamente tres cuadrantes representativos de toda la fotografía en donde solamente estuviera la capa muscular. Para esto, se utilizó una cuadrícula de 25 x 25 cm utilizando el programa Adobe Photoshop CS (Figura 5-D).

**Área transversal del oviducto.** Se utilizaron los mismos cortes de los análisis anteriores. La medición del área transversal del oviducto incluyó el lumen, la capa interna de mucosa (epitelio y lámina propia) y la capa intermedia de músculo (músculo liso, tejido conectivo, colágena y vasos sanguíneos). Se realizó con el programa AxionVision Release 4.8 delimitando el final de la capa muscular, justo donde empieza la capa de serosa. Se descartó la capa externa de serosa debido a que ésta podría ser rota durante la extracción del oviducto. El valor obtenido en  $\mu\text{m}^2$  se convirtió a  $\text{mm}^2$  (Figura 5-E).

**Análisis estadístico.** La comparación en los niveles de hormonas tiroideas, TSH, hormonas ováricas, peso, grosor y área de capa muscular, proporción de fibras musculares y de colágena, y área transversal total del oviducto en animales controles y tratados con metimazol se realizó con la prueba U de Mann-Whitney, previamente aplicando pruebas de normalidad Kolmogorov-Smirnov. En todos los casos se utilizó el programa de análisis

estadístico GraphPad Prism para Windows, versión 5.0. Los datos son mostrados como media  $\pm$  error estándar. Se consideró como significancia estadística una  $p \leq 0.05$ .



**Figura 5.** A) Medición del grosor total de la capa muscular, y B) del grosor de la capa longitudinal y circular en los cuatro puntos cardinales con ayuda del programa AxioVision Release 4.8. C) Medición del área de la capa muscular. Se calcula de la diferencia entre el área externa (línea roja) y el área interna (línea amarilla). D) Fotografía de la capa muscular que muestra la cuadrícula utilizada para la selección de tres cuadrantes representativos para la cuantificación del área ocupada por la colágena y la musculatura lisa. E) Ejemplo de la medición del área transversal del oviducto, incluye la luz, capa epitelial, muscular, tejido conectivo y vasos sanguíneos.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Inducción de hipotiroidismo y peso corporal

En las conejas tratadas con metimazol, los niveles en suero de T3 total y T4 total fueron significativamente menores y los niveles de TSH mayores, respecto a los encontrados en las conejas controles. El peso corporal de las conejas también fue similar en ambos grupos (Tabla 4).

### 7.2 Niveles de hormonas ováricas

Los niveles de estradiol y progesterona fueron similares en ambos grupos. (Tabla 4).

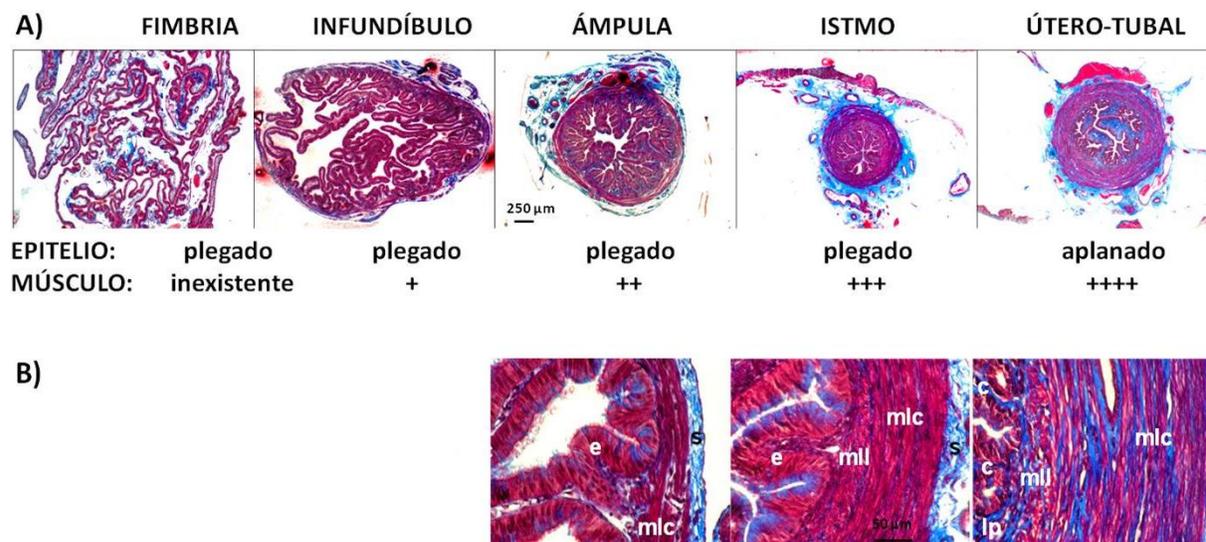
HORMONA	CONTROLES (n=6)	TRATADAS (n=6)	
T3 total (pg/dl)	8.1 ± 0.5	5.8 ± 0.5	**
T4 total (µg/dl)	2.2 ± 0.1	1.5 ± 0.1	**
TSH (µUI/dl)	1.1 ± 0.2	3.2 ± 0.9	*
Estradiol (pg/ml)	37.7 ± 3.3	36.0 ± 4.6	Ns
Progesterona (ng/ml)	5.3 ± 2.0	3.2 ± 0.9	Ns
Peso corporal (Kg)	4.0 ± 0.2	4.2 ± 0.2	Ns

**Tabla 4.** Valores promedio ± SE de niveles hormonales y peso corporal de conejas controles y tratadas con metimazol. Análisis estadístico con U de Mann-Whitney (\* p≤0.05; \*\* p≤ 0.01, Ns: no diferencias significativas entre grupos).

### 7.3 Histología del oviducto

En base a las características histológicas del oviducto, observadas en los cortes teñidos con tricrómica de Masson, se distinguieron cinco regiones, desde ovario hasta útero: 1) fimbria, 2) infundíbulo, 3) ámpula, 4) istmo y 5) útero-tubal. Con excepción de la fimbria,

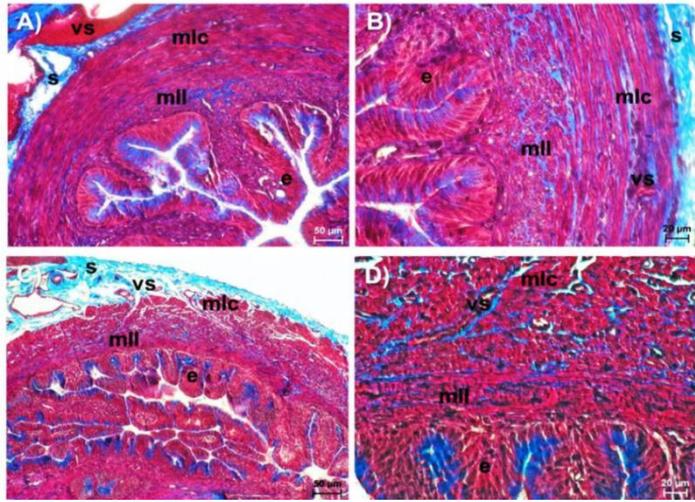
región que no presentó capa muscular, las regiones del oviducto mostraron tres capas: mucosa, muscular y serosa. La mucosa estuvo formada por epitelio y lámina propia (tejido conectivo en íntima relación con la parte inferior del epitelio). La capa muscular tuvo fibras de musculatura lisa mezclada con algunos vasos sanguíneos y tejido conectivo. La capa de serosa mostró tejido conectivo altamente irrigado (Figura 6).



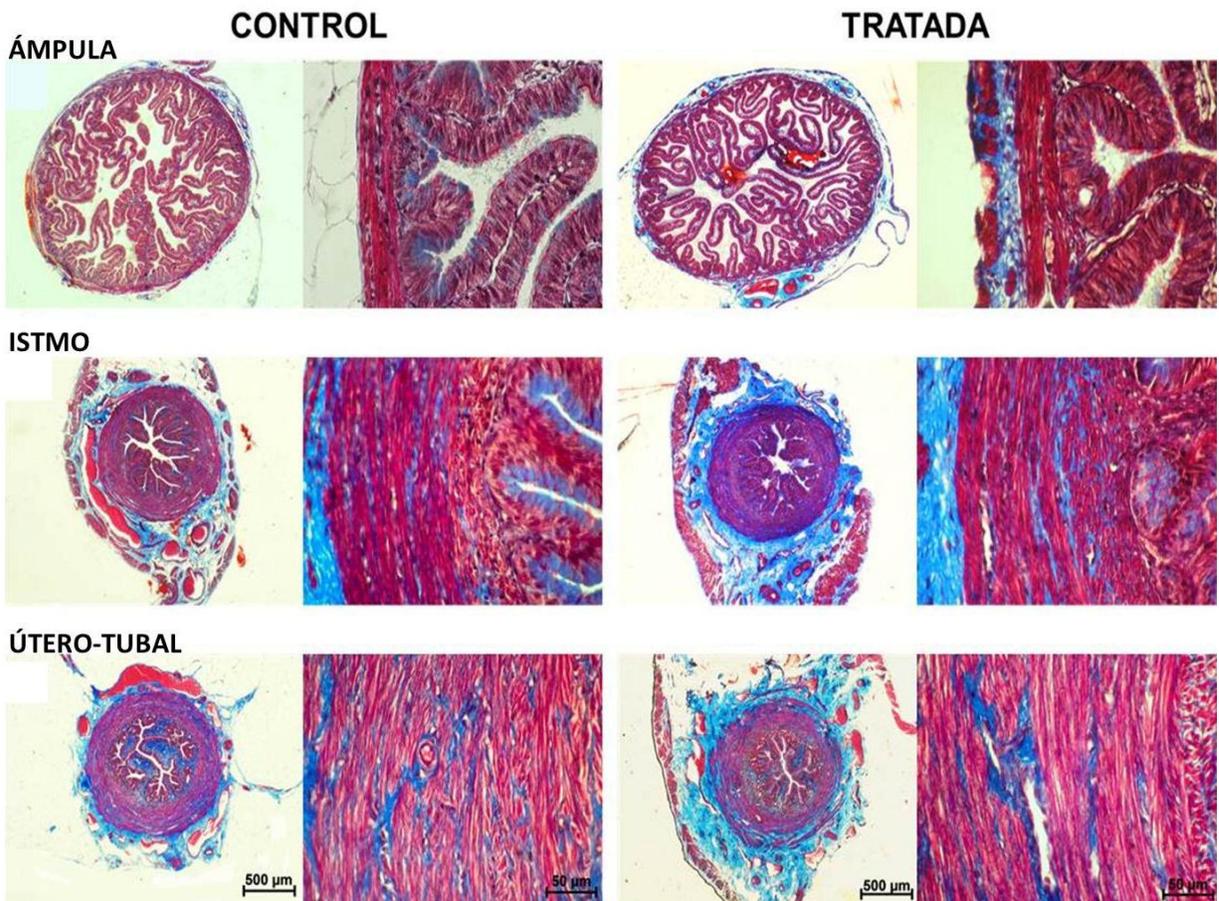
**Figura 6. A)** Cortes transversales representativos de las diferentes regiones del oviducto de la coneja adulta nulípara teñidos con tricrómica de Masson (7 µm). **B)** Ampliación de las regiones ámpula, istmo y útero-tubal, donde se observa el epitelio (e), la lámina propia (lp), la serosa (s), las cavernas (c), el músculo liso con orientación circular (mlc) y longitudinal (mll).

### 7.3.1 Descripción cualitativa de la capa muscular

La capa muscular del oviducto contuvo fibras de musculatura lisa con forma fusiforme alargada y con un único núcleo central, vasos sanguíneos de diversos calibres y fibras de colágeno. Las fibras musculares presentaron dos disposiciones: unas fibras, internas, que rodean al oviducto de manera longitudinal y otras fibras, externas, que envuelven al oviducto de manera circular. Esta disposición de fibras es clara en cortes transversales y longitudinales. Las únicas regiones que presentaron estos dos tipos de distribución de las fibras musculares fueron el istmo y la unión útero-tubal (Figura 7). La región del ámpula sólo presentó la distribución circular. El oviducto de las conejas tratadas con metimazol presentó las mismas características cualitativas que el oviducto de las conejas controles (Figura 8).



**Figura 7.** A) y B) Cortes transversales, C) y D) cortes longitudinales de animales controles, donde se muestra fibras musculares con orientación longitudinal (interna) y circular (externa). Epitelio (e), cavernas (c), músculo liso longitudinal (mll), músculo liso circular (mlc), serosa (s).



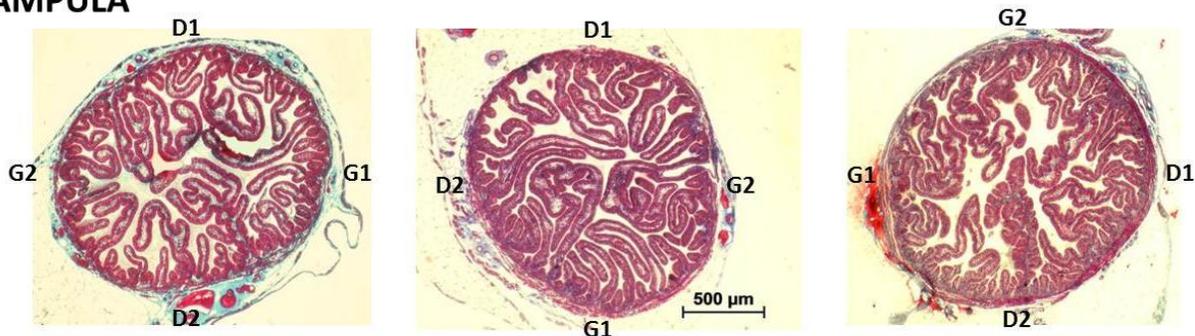
**Figura 8.** Características histológicas de cortes transversales representativos, teñidos con tricrómica de Masson, de oviductos de conejas controles vs. tratadas en las diferentes regiones del oviducto.

### 7.3.2 Descripción cuantitativa de la capa muscular

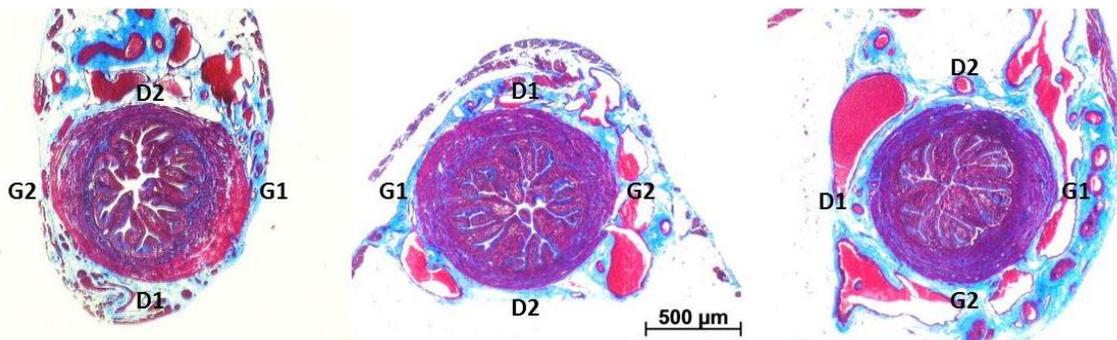
**Grosor de la capa muscular.** El grosor total de la capa muscular, tanto de las conejas controles como tratadas, no fue uniforme alrededor del oviducto. Así, se detectó un punto con mayor grosor (G1), seguido de otro de menor grosor (G2), uno más delgado (D1) y otro mucho más delgado (D2). Cuando se analizó la secuencia o señales histológicas que nos pudieran indicar cuál de todos estos lados pertenecía a la porción ventral, dorsal y laterales, no fue posible establecer alguna orientación (Figura 9). Al comparar, los grosores de la capa muscular por punto cardinal (G1, G2, D1 y D2) y entre los grupos control y tratado, se encontró que en la regiones de ámpula e istmo, los puntos D1 y D2 fueron significativamente menores que el punto G1 para el grupo control; mientras que, los puntos G2, D1 y D2 fueron significativamente menores que el punto G1 para el grupo tratado. Por su parte, en la región útero-tubal, sólo los punto más extremos fueron significativamente diferentes (Figura 10). Al comparar entre grupos, el grosor de la capa muscular fue similar entre el grupo control y el tratado en todos los puntos cardinales, independientemente de la región (Figura 10). Aunque se observaron diferencias entre los puntos cardinales dentro de cada grupo, recordemos que la falta de puntos para orientar los cortes (Figura 9) no nos asegura que los puntos entre los cortes de una misma región y los animales sean equivalentes. Por ello, se obtuvo el promedio de los cuatro puntos cardinales por corte para determinar el grosor de la capa muscular en cada región. Así, el grosor de la capa muscular (promedio de los 4 puntos cardinales) medido cada 1500  $\mu\text{m}$  a lo largo del oviducto fue menor en la región del ámpula y mayor en la región útero-tubal. Dicho grosor fue similar (aunque no se hizo estadística) entre el grupo control y el tratado con metimazol (Figura 11). Dado que la longitud de las regiones del oviducto varió entre conejas, se decidió seleccionar únicamente las 6 mediciones centrales de cada región por animal para realizar la comparación estadística entre grupos (Figura 11). Con este análisis se encontró que el grosor total de la capa muscular (Figura 12-A), así como el grosor de las capas longitudinal y circular (Figura 12-B) fueron similares entre el grupo control y el tratado en todas las regiones del oviducto. También se evaluó el área promedio de la capa de musculatura lisa en las diferentes regiones, encontrándose que ésta fue similar entre ambos grupos (Figura 13). Tomando en cuenta que algunas conejas (tanto controles como tratadas) tuvieron mayor grosor de la capa muscular que otras, se trató de normalizar los datos. Para ello se calculó el

porcentaje de incremento del grosor de la capa muscular de las regiones de istmo y útero-tubal respecto al grosor de la capa muscular de la región de ampulla. El grupo tratado con metimazol presentó un porcentaje de incremento similar al grupo control en ambas regiones del oviducto (Figura 14).

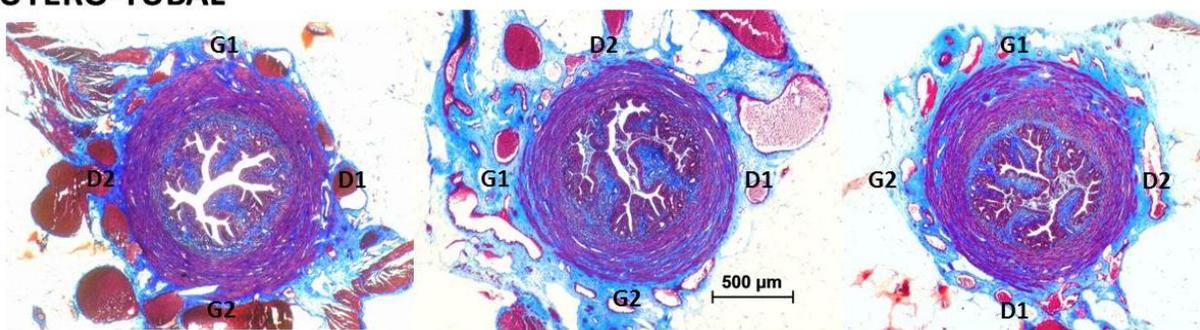
### ÁMPULA



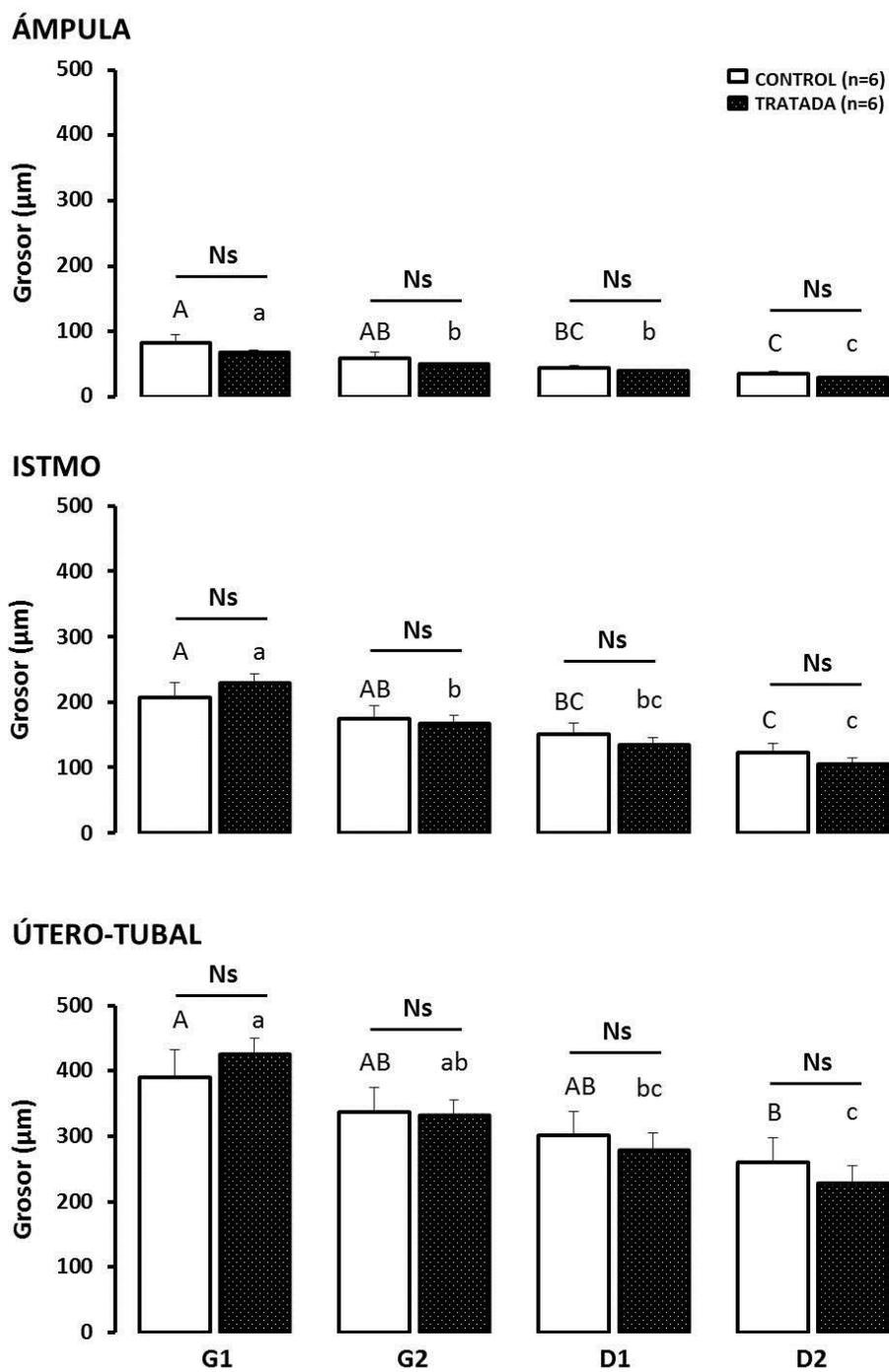
### ISTMO



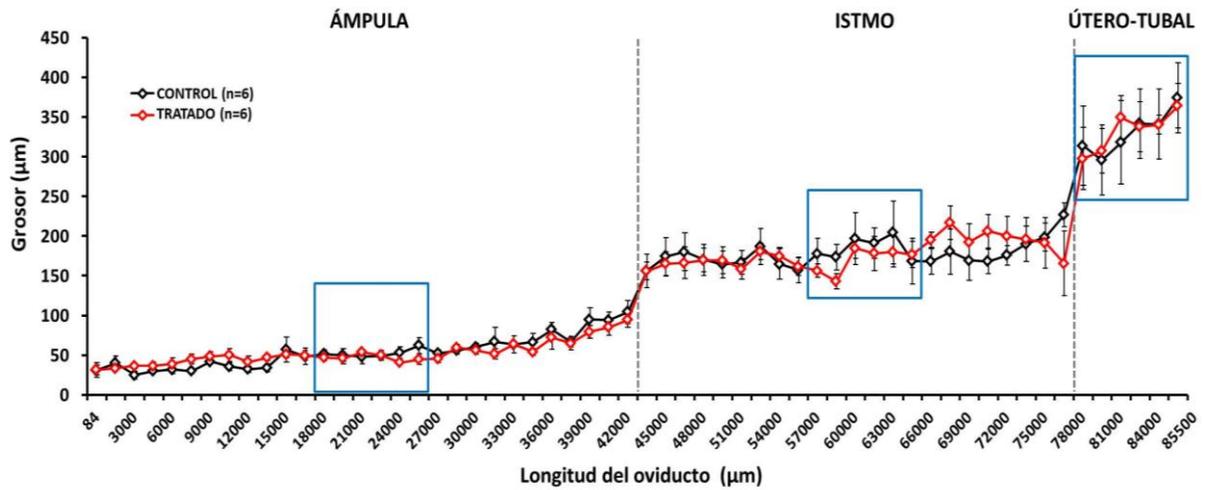
### ÚTERO-TUBAL



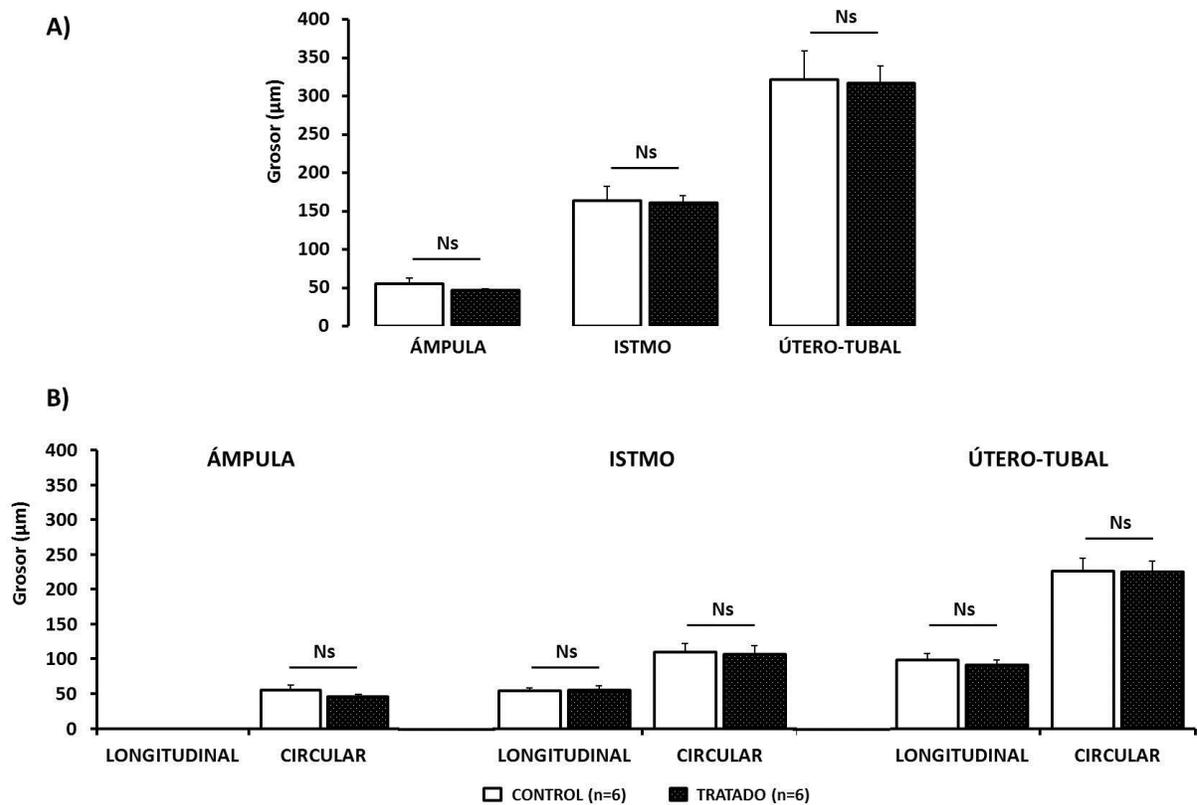
**Figura 9.** Cortes representativos de las diferentes regiones del oviducto de conejas controles teñidos con tricrómica de Masson donde se muestra que la irrigación no guarda relación con el grosor de capa muscular. G1, grueso mayor; G2, grueso menor, D1, delgado mayor; y D2: delgado menor.



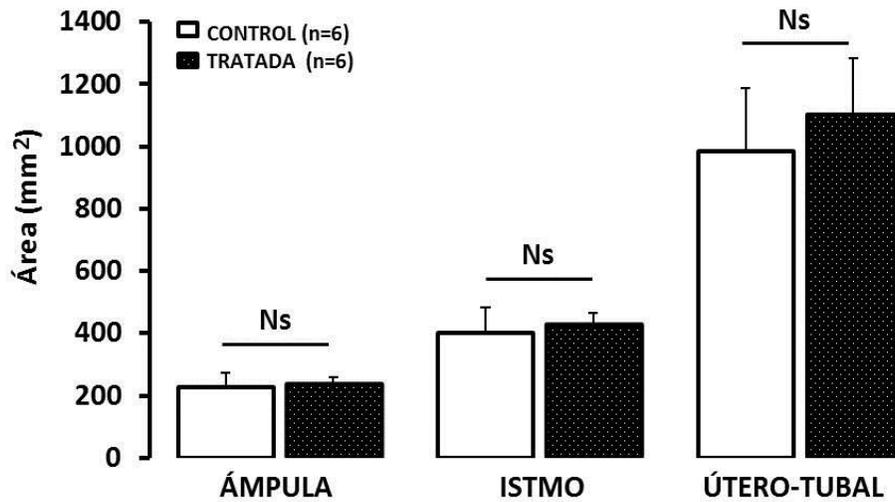
**Figura 10.** Grosor de la capa muscular del oviducto promedio  $\pm$  SE en los cuatro puntos cardinales medidos en las diferentes regiones del oviducto de conejas controles y tratadas con metimazol. G1, grueso mayor; G2, grueso menor; D1, delgado mayor; D2, delgado menor. Análisis estadístico con Kruskal-Wallis ( $p \leq 0.05$ ). Letras mayúsculas: comparaciones entre grosores dentro del grupo control. Letras minúsculas: comparaciones entre grosores dentro del grupo tratado. Ns: No diferencias significativas entre grupos.



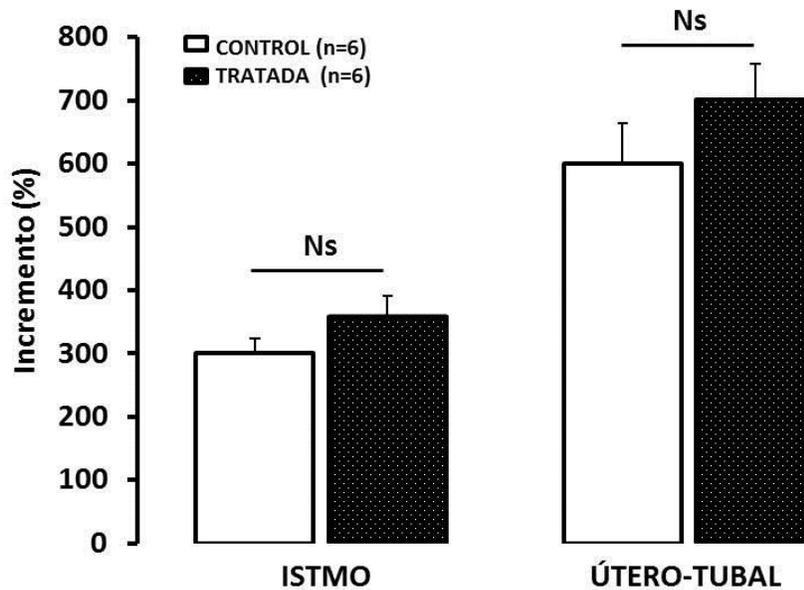
**Figura 11.** Grosor promedio  $\pm$  SE de la capa muscular en las diferentes regiones del oviducto de conejas controles y tratadas con metimazol. Los recuadros muestran los seis cortes centrales, cada 1500 $\mu$ m, de cada región utilizados para comparar entre grupos, evitando así la zona de transición.



**Figura 12.** Grosor promedio  $\pm$  SE de la capa de musculatura lisa en las diferentes regiones del oviducto de conejas controles y tratadas con metimazol. **A)** Total. **B)** Longitudinal y circular. La región del ámpula solo presentó la orientación circular. Análisis estadístico con U de Mann-Whitney ( $p \leq 0.05$ ). Ns: no diferencias significativas entre grupos.

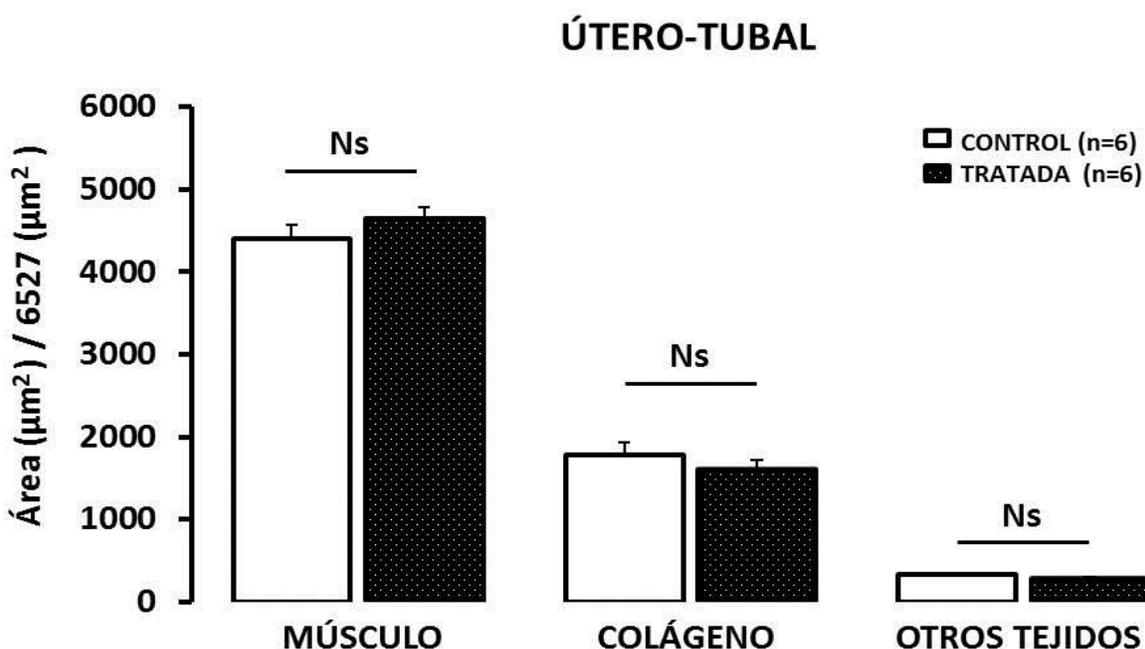


**Figura 13.** Área promedio  $\pm$  SE de la capa de musculatura lisa en las distintas regiones del oviducto de conejas controles y tratadas con metimazol. Análisis estadístico con U de Mann-Whitney ( $p \leq 0.05$ ). Ns: no diferencias significativas entre grupos.



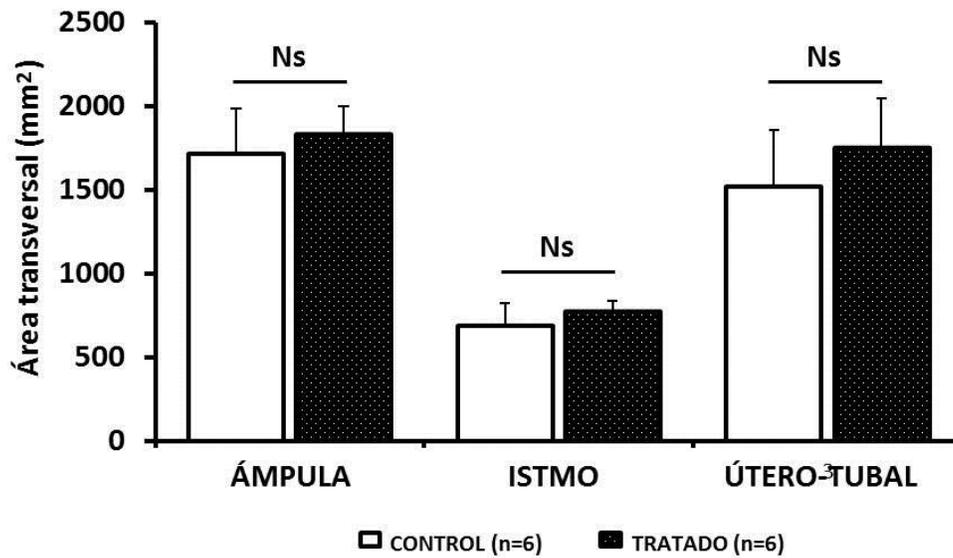
**Figura 14.** Porcentaje de incremento promedio  $\pm$  SE del grosor de la capa muscular de las regiones de istmo y útero-tubal respecto al ámpula. Análisis estadístico con U de Mann-Whitney ( $p \leq 0.05$ ). Ns: no diferencias significativas entre grupos.

**Área ocupada por fibras musculares y colágeno.** Se realizó la cuantificación del área ocupada por las fibras musculares lisas, colágena y otros tejidos (otros tipos de tejido conectivo y vasos sanguíneos) de la capa muscular. La cuantificación sólo se realizó en la región útero-tubal, ya que es la región con mayor grosor de capa. Los animales tratados con metimazol tuvieron un área ocupada por fibras musculares, colágena y otros tejidos similar a los animales controles (Figura 15).

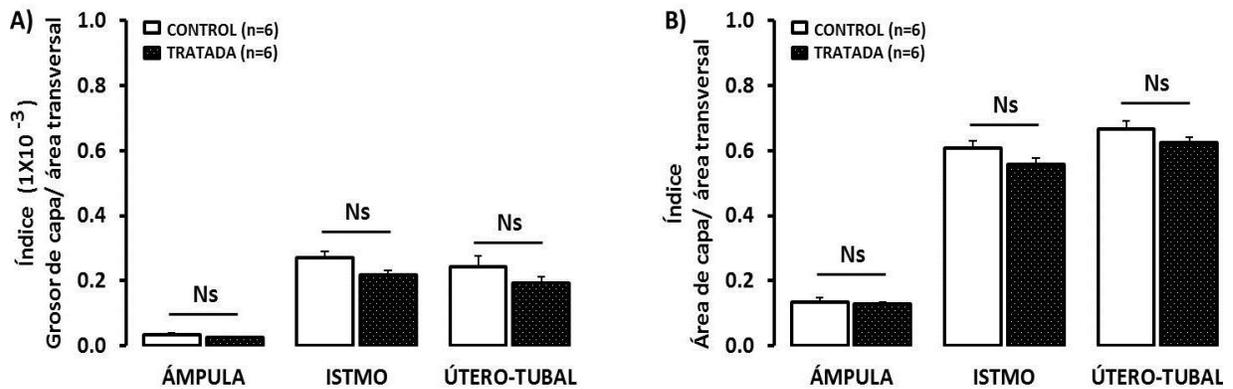


**Figura 15.** Área promedio  $\pm$  SE ocupada por los componentes tisulares de la capa muscular: músculo, colágeno y otros tejidos (vasos sanguíneos y tejido conectivo) de la región útero-tubal de conejas controles y tratadas con metimazol. Análisis estadístico con U de Mann-Whitney ( $p \leq 0.05$ ). Ns: no diferencias significativas entre grupos.

**Área transversal del oviducto.** El área transversal promedio del oviducto en el grupo control varió en las diferentes regiones, siendo menor en la región del istmo, seguida por la región útero-tubal y el ampulla. El tratamiento con metimazol no afectó el área transversal del oviducto (Figura 16). También se determinó los índices del grosor y del área de la capa muscular sobre el área transversal encontrándose que dichos índices fueron similares entre conejas controles y tratadas con metimazol en las diferentes regiones del oviducto (Figura 17).



**Figura 16.** Área transversal promedio  $\pm$  SE del oviducto de conejas controles e hipotiroideas en las diferentes regiones del oviducto. Análisis estadístico con U de Mann-Whitney ( $p \leq 0.05$ ). Ns: no diferencias significativas entre grupos.



**Figura 17.** Índices promedio  $\pm$  SE relacionados con la capa muscular en las diferentes regiones del oviducto de conejas controles y tratadas con metimazol. A) Grosor total/área transversal. B) Área de la capa muscular/área transversal. Análisis estadístico con U de Mann-Whitney ( $p \leq 0.05$ ). Ns: no diferencias significativas entre grupos.

## 8. DISCUSIÓN

**Inducción de hipotiroidismo.** Existen dos métodos para inducir hipotiroidismo en animales de laboratorio: 1) quirúrgicamente, a través de la extracción de la glándula tiroidea (tiroidectomía) y 2) farmacológicamente, mediante el uso de sustancias químicas que bloquean la acción de enzimas que intervienen en la síntesis y metabolismo de las hormonas tiroideas (Bandyopadhyay y cols. 2002, Vanderlei y cols. 2012). El principal inconveniente de utilizar la tiroidectomía es que durante la cirugía también se extrae la glándula paratiroides, la cual sintetiza hormona paratiroidea, encargada de la homeostasis de fósforo y  $\text{Ca}^{+2}$  (Lecerf y cols. 2012, Vanderlei y cols. 2012). Es conocido que el  $\text{Ca}^{+2}$  regula tanto la secreción vesicular de las células epiteliales como la contracción de la musculatura lisa (Amadi y cols. 2006; Lecerf y cols. 2012, Vanderlei y cols. 2012); por lo que la tiroidectomía representa una alteración en el funcionamiento de diversos tejidos, incluyendo los epitelios y la musculatura (lisa y estriada). En el hipotiroidismo farmacológico, los fármacos utilizados para inducir hipotiroidismo son propiltiouracilo, tiourea y mercaptometil-imidazol (metimazol), los cuales contienen en su estructura un grupo tioamida (azufre unido a un carbono nitrogenado). Por tal razón, dichos fármacos son capaces de inhibir la acción de la enzima tiroperoxidasa, encargada de catalizar la unión del yodo al residuo tirosil de la tiroglobulina. También bloquean la acción de las desyodasas, enzimas encargadas de convertir la T4 en T3 (Badyopadhyay y cols. 2002). Los fármacos más utilizados para disminuir los niveles de hormonas tiroideas son el propiltiouracilo y el metimazol. El fármaco más efectivo para disminuir las hormonas tiroideas, con menos efectos colaterales, es el metimazol (Nakamura y cols. 2007, Malozowski y Chiesa 2010). El tratamiento utilizado en el presente estudio (metimazol al 0.2% en el agua de beber, durante 1 mes) fue efectivo para inducir hipotiroidismo en el conejo, tal y como ya había sido reportado antes (Al-jamal 2004). Cabe mencionar que los valores de T3 y T4 medidos en nuestras conejas estuvieron dentro del rango ya reportado para conejos adultos por otros autores (Arruda y cols. 2008, Nowosadzka y cols. 2009).

Respecto al peso corporal, las conejas controles y tratadas con metimazol presentaron pesos similares. Esto es contrario a lo reportado por otros autores quienes reportaron una

disminución del peso corporal de ratas con hipotiroidismo farmacológico (propiltiouracilo, 50-60 días; Armada-Dias y cols. 2001; Hapon y cols. 2003). La diferencia entre estos trabajos y el nuestro pudiera ser debido a la especie animal con que se trabajó. Cabe mencionar, que esta similitud en el peso corporal también nos ayudo a distinguir el efecto del tratamiento sobre las características morfométricas del oviducto evaluadas.

**Grosor de capa muscular.** La capa muscular del oviducto ayuda, mediante su contracción, al transporte de gametos y del embrión, así como, junto con las células epiteliales, al mezclado adecuado de las secreciones de las células epiteliales secretoras que sirven como nutrientes, tanto a los gametos como al embrión (Lyons y cols. 2006, Suarez 2008, Hugentobler y cols. 2010). Esta capa está compuesta por fibras de musculatura lisa, de colágena, tejido conectivo y vasos sanguíneos, y varía de grosor dependiendo de la región del oviducto, siendo más delgada en la región cercana al ovario (infundíbulo) y más gruesa en la región cercana al útero (unión útero-tubal) (Lyons y cols. 2006). En el presente estudio también encontramos esa variación en el grosor de la capa muscular del oviducto de la coneja, siendo más delgada hacia la regiones ámpula-infundíbulo y más gruesa hacia istmo-útero-tubal. Otra observación, no antes reportada, fue que el grosor de la capa muscular alrededor del oviducto no es uniforme. Es decir, hay puntos en que la capa es más gruesa y otros en que es más delgada. Estas irregularidades en el grosor de la capa muscular podrían ser debidas a la fisiología propia del oviducto, ya que tanto las conejas controles como las tratadas con metimazol presentaron estas características.

Desde hace ya algunas décadas se ha descrito que las hormonas tiroideas están relacionadas con infertilidad en las mujeres (Doufas y Mastorakos 2000, Poppe y cols. 2007, Stavreus-Evers 2012). Los escasos estudios realizados en modelos animales con inducción de hipotiroidismo por tiroidectomía (ratas) han reportado que la supresión de hormonas tiroideas reduce el grosor de la capa muscular del oviducto (Amadi y cols. 2007). Ahora en el presente trabajo, con un modelo de hipotiroidismo farmacológico en la coneja, no encontramos afectación de la capa muscular (grosor y área de la capa). Esto nos lleva a suponer que los resultados presentados por Amadi y cols. (2007), podrían ser influenciados por la ausencia de la glándula paratiroides (también extirpada durante la tiroidectomía), o bien, a un resultado azaroso debido al punto en que midieron el grosor, pues ellos no consideraron que la capa

muscular no es homogénea alrededor del oviducto. Otro detalle en contra del trabajo de Amadi y cols. (2007) es el desconocimiento que se tiene sobre la fase del ciclo estral en la que estudiaron a sus animales. Pues se ha reportado que la capa de musculatura lisa del oviducto sufre cambios notables durante ciclo estral. Así, en las fases de proestro y estro las células musculares lisas del oviducto (ratón) se caracterizan por un incremento en el contenido de organelos, un incremento en el área de las fibras y la presencia de mioblastos (Fausone-Pellegrini y Bani 1990). En nuestro trabajo, las conejas controles y tratadas se encontraban en la misma fase del ciclo (proestro temprano) y mostraron niveles similares de estradiol y progesterona, como ya mencionamos anteriormente.

**Área ocupada por fibras musculares y colágeno.** Como ya mencionamos, la capa muscular del oviducto está formada por fibras de músculo liso, tejido conectivo, colágeno y vasos sanguíneos. En el presente trabajo encontramos que el hipotiroidismo farmacológico no afectó al área ocupada por las fibras de musculatura lisa y ni colágeno en la región útero-tubal del oviducto. Dado que no existen estudios que hayan analizado estas variables, no es posible comparar nuestros resultados. Sin embargo, si recurrimos a trabajos donde se ha analizado el impacto del hipotiroidismo en otros órganos con musculatura lisa podemos ver que en el músculo cardíaco (rata), las hormonas tiroideas regulan la síntesis de mRNA de pro-colágeno tipo I y III (Ziegelhoffer-Mihalovicova y cols. 2003) y de glicosaminoglicanos que forman parte de la matriz extracelular en la musculatura lisa vascular (Drobnik y cols. 2009). También intervienen en procesos proliferativos de la musculatura lisa vascular incrementando el número de células en citocinesis y regulando los genes del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) y de la  $\alpha$ -actina en músculo liso (Wang y Sun 2010).

**Área transversal total del oviducto.** En el presente estudio encontramos que el área transversal varía a lo largo del oviducto, siendo el istmo la región de menor área comparado con las regiones útero-tubal y ampulla. El tratamiento con metimazol no afectó el área transversal. Este resultado podría ser consecuencia de la falta de efecto del hipotiroidismo sobre la capa muscular, que no le afecta su elasticidad. A este respecto, se ha descrito que el hipotiroidismo congénito, en adultos jóvenes, afecta las propiedades elásticas de musculatura lisa vascular, disminuyendo su distensibilidad (Oliviero y cols. 2010).

Los resultados encontrados en el presente estudio muestran que los problemas de infertilidad, reportados en las mujeres con hipotiroidismo, quizá no estén relacionados con la afectación de la capa muscular del oviducto. Ya que no se observaron cambios en la morfometría de dicha capa en los animales con hipotiroidismo farmacológico, como se discutió anteriormente. En estos animales, tampoco encontramos alteración en los niveles séricos de las hormonas ováricas (estradiol y progesterona). Lo que nos sugiere que las acciones de estas hormonas sobre la contracción de la capa muscular oviductal podrían no estar afectadas (Hatsuta y cols. 2004, Hapón y cols. 2003, 2007, 2010). Respecto a los niveles de hormonas ováricas, nuestros resultados están de acuerdo con otros reportes en ratas, donde la inducción de hipotiroidismo mediante la administración de propiltiouracilo (60 días) no modificó el nivel sérico de estradiol y progesterona (Armada-Dias y cols. 2001). Por el contrario, en algunos estudios se ha reportado que el hipotiroidismo farmacológico o tiroidectomía modifica los niveles de progesterona de ratas en diestro (Hatsuta y cols. 2004) y estradiol de ratas en estro (Hapon y cols. 2010). La contrariedad de estos resultados pudiera explicarse por el tiempo del tratamiento empleado para inducir el hipotiroidismo, y a la diferencia entre fases de ciclo estral de las hembras.

Cabe mencionar, que en el presente estudio no se determinó la presencia de TRs, por lo que se desconoce si el oviducto de la coneja los presente. Sin embargo, dado que al menos en la rata, la capa muscular del oviducto expresa TRs tipo alfa (Oner y Oner 2007), es posible que las hormonas tiroideas si están regulando alguna otra función o evento fisiológico como la contracción muscular y la acumulación de glucógeno (resultados preliminares), entre otras, en esta capa de tejido. Ya que, en la musculatura uterina de la rata, las hormonas tiroideas incrementan el  $\text{Ca}^{+2}$  intracelular potenciando su contracción; mientras que, el hipotiroidismo farmacológico inhibe estas contracciones (Amadi y cols. 2006). En lo referente a la parte metabólica, es conocido que el músculo liso utiliza los sistemas de fosfocreatina-creatina, fosforilación oxidativa y de glucólisis. Pacientes con hipotiroidismo tienen una mayor acumulación de glucógeno en hígado (Melis y cols. 2007). Dicha acumulación de glucógeno ha sido relacionada con la deficiencia de la enzima glucosa-6-fosfatasa, por ello la administración de T4 ayuda a revertir tal acumulación (Böhles y cols. 1982).

Nuestros resultados refutan lo reportado por Amadi y cols. (2007), sugiriendo que la tiroidectomía tiene efectos más drásticos sobre la capa muscular que el hipotiroidismo farmacológico, pues la primera involucra la ausencia de hormonas tiroideas. Nuestros resultados son la base para la realización de posteriores análisis que involucren variables metabólicas o de contracción de las fibras, las cuales si pudieran estar afectadas por el hipotiroidismo.

## 9. CONCLUSIÓN

El hipotiroidismo farmacológico NO afecta las características histológicas de la capa muscular del oviducto en la coneja adulta nulípara evaluadas en el presente trabajo:

- No reduce el grosor de la capa muscular en las regiones ámpula, istmo y útero-tubal.
- No reduce el área de la capa muscular en las regiones ámpula, istmo y útero-tubal.
- No reduce la proporción de tejidos que componen a la capa muscular (fibras de músculo liso, de colágeno, tejido conectivo y vasos sanguíneos) en la región útero-tubal.
- No reduce el área transversal en las regiones de ámpula, istmo y útero-tubal.

## 10. PERSPECTIVAS

- Realizar inmunohistoquímica para la identificación de receptores a hormonas tiroideas tipo  $\alpha$  y  $\beta$  en la capa muscular del oviducto. Cuantificar los núcleos inmunoreactivos en la capa muscular del oviducto de conejas controles *vs.* tratadas con metimazol.
- Realizar la tinción de ácido peryódico de Schiff (PAS) para cuantificar el glucógeno almacenado en la capa muscular del oviducto. Comparar la acumulación de glucógeno en dicha capa de conejas controles *vs.* conejas tratadas con metimazol.
- Evaluar la contracción de la capa muscular del oviducto. Comparar la contracción de la capa muscular de conejas controles *vs.* las tratadas con metimazol.

## 11. REFERENCIAS

- Aghajanova L, Lindeberg M, Carlsson IB, Stavreus-Evers A, Zhang P y Scott JE. 2009. Receptors for thyroid-stimulating hormone and thyroid hormones in human ovarian tissue. *Reprod Biomed Online* 18: 337-347.
- Aghajanova L, Stavreus-Evers A, Lindeberg M, Landgren BM, Sparre LS, Hovatta O. 2011. Thyroid-stimulating hormone receptor and thyroid hormone receptors are involved in human endometrial physiology. *Fertil Steril*: 95:230-237.
- Al-Alem L, Bridges PJ, Su W, Gong MC, Iglarz M y Ko M. 2007. Endothelin-2 induces oviductal contraction via endothelin receptor subtype A in rats. *J Endocrinol* 193: 383-391.
- Al-jamal JA. 2004. Effect of different thyroid states on mitochondrial porin synthesis and hexokinase activity in developing rabbit brain. *J Biochem* 135: 253-258.
- Amadi K, Nwana EJ y Otubu JA. 2007. Morphology and function of the rat oviduct: effects of thyroidectomy and thyroxine administration. *Afr J Med Med Sci* 36: 353-358.
- Amadi K, Sabo MA, Adelaiye AB y Sagay AS. 2006. Dependence of calcium on thyroid hormone for the regulation of cellular functions. *Niger J Physiol Sci* 21: 95-100.
- Aranda A y Pascual A. 2001. Nuclear hormone receptors and gene expression. *Physiol Rev* 81: 1269-1304.
- Armada-Dias L, Carvalho JJ, Breitenbach MMD, Franci CR y Moural EG. 2001. Is the infertility in hypothyroidism mainly due to ovarian or pituitary functional changes? *Braz J Med Biol Res* 34: 1209-1215.
- Arruda AP, Ketzer LA, Nigro M, Galina A, Carvalho DP y de Meis L. 2008. Cold tolerance in hypothyroid rabbits: role of skeletal muscle mitochondria and sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> ATPase isoform 1 heat production. *Endocrinology* 149: 6262-6271.
- Bandyopadhyay, Biswas K y Banerjee RK. 2002. Extrathyroidal actions of antithyroid thionamides. *Toxicology Letters* 128: 117-127.
- Bassett JH y Williams GR. 2008. Critical role of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in bone. *Bone* 43: 418-426.
- Bianco AC y Kim BW. 2006. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. *J Clin Invest* 116: 2571-2579.
- Bizhanova A y Kopp P. 2009. Minireview: The sodium-iodide symporter NIS and pendrin in iodide homeostasis of the thyroid. *Endocrinology* 150: 1084-1090.

- Böhles H, Dick W y Scharf J. 1982. Treatment of glycogenosis type III with total parenteral nutrition, continuous intragastric infusion and D-thyroxine. *Infusionsther Klin Ernahr* 9: 160-161.
- Brassard M, AinMel Y y Baillargeon JP. 2008. Basic infertility including polycystic ovary syndrome. *Med Clin North Am* 92: 1163-1192.
- Brundin J y Talo A. 1972. The effects of estrogen and progesterone on the electric activity and intraluminal pressure of the castrated rabbit oviduct. *Biol Reprod* 7: 417-424.
- Carrillo-Sepúlveda MA, Ceravolo GS, Fortes ZB, Carvalho MH, Tostes RC, Laurindo FR, Weeb RC y Barreto-Chaves ML. 2010. Thyroid hormone stimulates NO production via activation of the PI3K/Akt pathway in vascular myocytes. *Cardiovasc Res* 85: 560-570.
- Cheng SY, Leonard JL y Davis PJ. 2010. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr Rev* 31: 139-170.
- Conrad JT y Ueland K. 1983. Physical characteristics of the cervix. *Clin Obstet Gynecol* 26: 27-36.
- Crain DA, Janssen SJ, Edwards TM, Heindel J, Ho SM, Hunt P, Iguchi T, Juul A, McLachlan JA, Schwartz J, Skakkebaek N, Soto AM, Swan S, Walker C, Woodruff TK, Woodruff TJ, Giudice LC y Guillette LJ Jr. 2008. Female reproductive disorders: the roles of endocrine-disrupting compounds and developmental timing. *Fertil Steril* 90: 911-940.
- Dickson WM, Waldhalm SJ y Amend N. 1974. Blood flow to the oviduct of the nonpregnant rabbit. *Biol Reprod* 10: 335-345.
- Doufas AG y Mastorakos G. 2000. The hypothalamic-pituitary-thyroid axis and the female reproductive system. *Ann N Y Acad Sci* 900: 65-76.
- Dropnik J, Ciosek J, Slotwinska D, Stempniak B, Zukowska D, Marczyński A, Tosik D, Bartel H, Dabrowski R y Szczepanowska A. 2009. Experimental hypothyroidism increases content of collagen and glycosaminoglycans in the heart. *J Physiol Pharmacol* 60: 57-62.
- Ekerhovd E y Norström A. 2004. Involvement of a nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate pathway in control of fallopian tube contractility. *Gynecol Endocrinol* 19: 239-246.
- Faussone-Pellegrini MS, Bani G. 1990. The muscle coat morphology of the mouse oviduct during the estrous cycle. *Arch Histol Cytol* 53: 167-178.
- Gawronska B, Stepień A y Zięcik AJ. 2000. Effect of estradiol and progesterone on oviductal LH-receptors and LH-dependent relaxation of the porcine oviduct. *Theriogenology* 53: 659-672.
- Gómez-Meléndez GA, Ruiz-Betanzas R, Sánchez-Pedraza V, Segovia-Palomo A, Mendoza CF y Arellano S. 2010. Hipotiroidismo. *Med Int Mex* 26: 462-471.
- Hapon MB, Gamarra-Luques C y A Jahn GA. 2010. Short term hypothyroidism affects ovarian function in the cycling rat. *Reprod Biol Endocrinol* 11: 8-14.

- Hapon MB, Motta AB, Ezquer M, Bonafede M y Jahn GA. 2007. Hypothyroidism prolongs corpus luteum function in the pregnant rat. *Reproduction* 133: 197-205.
- Hapon MB, Simoncini M, Via G y Jahn GA. 2003. Effect of hypothyroidism on hormone profiles in virgin, pregnant and lactating rats, and on lactation. *Reproduction* 126: 371-382.
- Hatsuta M, Abe K, Tamura K, Ryuno T, Watanabe G, Taya K y Kogo H. 2004. Effects of hypothyroidism on the estrous cycle and reproductive hormones in mature female rat. *Eur J Pharmacol* 486: 343-348.
- Hodgson BJ, Nork TM, Heesch CM y Johns A. 1980. Effect of ovulation and estrogen and progesterone on mechanical properties of smooth muscle of rabbit oviduct. *Biol Reprod* 22: 1160-1167.
- Howie SE, Horner PJ y Horne AW. 2008. Chlamydia trachomatis infection during pregnancy: known unknowns. *Discov Med* 12: 57-64.
- Huang JC, Goldsby JS, Arbab F, Melhem Z, Aleksic N y Wu KK. 2004. Oviduct prostacyclin functions as a paracrine factor to augment the development of embryos. *Hum Reprod* 12: 2907-2912.
- Hugentobler SA, Sreenan JM, Humpherson PG, Leese HJ, Diskin MG y Morris DG. 2010. Effects of changes in the concentration of systemic progesterone on ions, amino acids and energy substrates in cattle oviduct and uterine fluid and blood. *Reprod Fertil Dev* 22: 684-694.
- Humbert M, Labrune P, Simonneau G. 2002. Severe pulmonary arterial hypertension in type 1 glycogen storage disease. *Eur J Pediatr* 161: 93-96.
- Hunter RH. 2005. The Fallopian tubes in domestic mammals: how vital is their physiological activity? *Reprod Nutr Dev* 45: 281-290.
- Inuwa IM y Williams MA. 2006. A morfometric study on the endometrium of rat uterus in hypothyroid and thyroxine treated hypothyroid rats. *Ups J Med Sci* 111: 215-226.
- Jaggat JH y cols. 2000. Calcium sparks in smooth muscle. *American Journal of Physiology Cell Physiology* 278: 235-256.
- Janković SM, Varjacić M y Protić B. 2001. Relaxant effect of oxytocin on isolated human oviduct. *Croat Med J.* 42:511-516.
- Kelly RE and Verhage HG. 1985. Structural changes in the contractile apparatus of the myometrium during estrus and pregnancy. *J Submicrosc Cytol* 7: 1-10.
- Kostoglou-Athanassiou I y Ntalles K. 2010. Hypothyroidism - new aspects of an old disease. *Hippokratia* 2: 82-87.

- Lecerf P, Orry D, Perrodeau E, Lhommet C, Charretier C, Mor C, Valat C, Bourlier P y de Calan L. 2012. Parathyroid hormone decline 4 hours after total thyroidectomy accurately predicts hypocalcemia. *Surgery*, en prensa.
- Lindblom B, Ljung B y Hamberger L. 1979. Adrenergic and novel non-adrenergic neuronal mechanisms in the control of smooth muscle activity in the human oviduct. *Acta Physiol Scand* 106: 215-220.
- Lyons RA, Saridogan E y Djahanbakhch O. 2006. The reproductive significance of human Fallopian tube cilia. *Hum Reprod Update* 12: 363-372.
- Luidens MK, Mousa SA, Davis FB, Lin HY y Davis PJ. 2010. Thyroid hormone and angiogenesis. *Vascul Pharmacol*. 52: 142-145.
- Makino A, Wang H, Scott BT, Yuan JX y Dillmann WH. 2012. Thyroid hormone receptor- $\alpha$  and vascular function. *Am J Physiol Cell Physiol* 302: 1346-1352.
- Malozowski S y Chiesa A. 2010. Propylthiouracil-induced hepatotoxicity and death. Hopefully, never more. *J Clin Endocrinol Metab* 95: 3161-3163.
- McAllister RM, Albarracin I, Price EM, Smith TK, Turk JR y Wyatt KD. 2005. Thyroid status and nitric oxide in rat arterial vessels. *J Endocrinol* 185: 111-119.
- Melis D, Pivonello R, Parenti G, Della-Casa R, Salerno M, Lombardi G, Sebastio G, Colao A y Andria G. 2007. Increased prevalence of thyroid autoimmunity and hypothyroidism in patients with glycogen storage disease type I. *J Pediatr* 150: 300-305.
- Nakamura H, Noh JY, Itoh K, Fukata S, Miyauchi A y Hamada N. 2007. Comparison of methimazole and propylthiouracil in patients with hyperthyroidism caused by Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 2157-2162.
- Narayanan R y Rajeev MA. 2008. Duplication of the fallopian tube. *J Hum Reprod Sci* 1: 35-36.
- Nowosadzka E, Szymonik-Lesiuk S y Kurzepa J. 2009. The effects of hypo- and hyperthyroidism on nuclear, cytosolic, endoplasmic and mitochondrial fractions of sialoglycoproteins in rabbit hepatocytes. *Folia Biol (Praha)* 55: 7-10.
- Oliviero U, Cittadini A, Bosso G, Cerbone M, Valvano A, Capalbo D, Apuzzi V, Calabrese F, Lettierio T, Salerno M. 2010. Effects of long-term L-thyroxine treatment on endothelial function and arterial distensibility in young adults with congenital hypothyroidism. *Eur J Endocrinol* 162: 289-94.
- Oner J y Oner H. 2007. Immunodetection of thyroid hormone receptor ( $\alpha$ 1/ $\alpha$ 2) in the rat uterus and oviduct. *Acta Histochem Cytochem* 40: 77-81.

- Pascual A y Aranda A. 2012. Thyroid hormone receptors, cell growth and differentiation. *Biochim Biophys Acta*, en prensa.
- Pfitzer G. 2001. Invited review: regulation of myosin phosphorylation in smooth muscle. *J Appl Physiol* 91: 497-503.
- Poppe K, Velkeniers B y Glinoeer D. 2007. Thyroid disease and female reproduction. *Clin Endocrinol* 66: 309-321.
- Roberts CGP y Landenson PW. 2004. Hypothyroidism. *Lancet* 363: 793-803
- Rheaume DE y Paton DM. 1978. Effect of progesterone on adrenoceptors in the isthmus of the rabbit oviduct. *Eur J Pharmacol* 48: 403-410.
- Saha SK, Ghosh P, Konar A, Bhattacharya S y Roy SS. 2005. Differential expression of procollagene lysyne 2-oxoglutarate 5-deoxygenase and matrix metalloproteinase isoforms in hypothyroid rat ovary and disintegration of extracellular matrix. *Endocrinology* 146: 2963-2975.
- Saha SK, Ghosh P, Konar A, Bhattacharya S y Roy SS. 2007. Procollagen synthesis is increased in hypothyroid rat ovary by a parallel and compensatory pathway. *Cell Physiol Biochem* 19: 313-322.
- Shao R, Egecioglu E, Weijdegård B, Kopchick JJ, Fernandez-Rodriguez J, Andersson N y Billig H. 2007. Dynamic regulation of estrogen receptor isoform expression in the mouse fallopian tube: mechanistic insight into estrogen-dependent production and secretion of insulin-like growth factors. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 293: 1430-1442.
- Shao R, Weijdegård B, Ljungström K, Friberg A, Zhu C, Wang X, Zhu Y, Fernandez-Rodriguez J, Egecioglu E, Rung E y Billig H. 2006. Nuclear progesterone receptor A and B isoforms in mouse fallopian tube and uterus: implications for expression, regulation, and cellular function. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291: 59-72.
- Shuster LT, Rhodes DJ, Gostout BS, Grossardt BR y Rocca WA. 2009. Premature menopause or early menopause: long-term health consequences. *Maturitas* 65: 161-166.
- Silverthorn DU. 2008. *Fisiología humana: un enfoque integrado*. 4ta. edición. Editorial Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- Stavreus-Evers A. 2012. Paracrine interactions of thyroid hormones and thyroid stimulation hormone in the female reproductive tract have an impact on female fertility. *Front Endocrinol (Lausanne)* 3: 1-8.
- Song Y, Yao X y Ying H. 2011. Thyroid hormone action in metabolic regulation. *Protein Cell* 2: 358-368.

- Spilman CH y Harper MJ. 1975. Effects of prostaglandins on oviductal motility and egg transport. *Gynecol Invest* 6: 186-205.
- Stubbs SA, Stark J, Dilworth SM, Franks S y Hardy K. 2000. Abnormal preantral folliculogenesis in polycystic ovaries is associated with increased granulosa cell division. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 4418-4426.
- Suarez SS. 2008. Regulation of sperm storage and movement in the mammalian oviduct. *Int J Dev Biol* 52: 455-462.
- Vanderlei FA, Vieira JG, Hojaij FC, Cervantes O, Kunii IS, Ohe MN, Santos RO y Abrahão M. 2012. Parathyroid hormone: an early predictor of symptomatic hypocalcemia after total thyroidectomy. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 56:168-172.
- Villalón M, Velasquez L y Croxatto HB. 1999. Oocyte and embryo transport. In *Encyclopedia of Reproduction Academic Press*. Knobil E y Neill JD (eds). San Diego, CA. pp. 459.
- Wakim AN, Polizotto SL, Buffo MJ, Marrero MA y Burholt DR. 1993. Thyroid hormones in human follicular fluid and thyroid hormone receptors in human granulosa cells. *Fertil Steril* 59: 1187-1190.
- Walker CL y Stewart EA. 2005. Uterine fibroids: the elephant in the room. *Science* 308: 1589-1592.
- Wang X y Sun Z. 2010. Thyroid hormone induces artery smooth muscle cell proliferation: discovery of a new TR $\alpha$ 1-Nox1 pathway. *Journal of cellular and molecular medicine* 14: 368-80.
- Wanggren K, Stavreus-Evers A, Olsson C, Andersson E y Gemzell-Danielsson K. 2008. Regulation of muscular contractions in the human Fallopian tube through prostaglandins and progestagens. *Hum Reprod* 23:2359-2368.
- Wein A, Kavoussi L, Novick A, Partin A y Peters G. 2008. *Urología*. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- Wilson DB y Wilson WJ. 1978. *Human Anatomy*. Editorial Oxford. San Diego, CA.
- Yildirim MK, Bagcivan I, Sarac B, Kilicarslan H, Yildirim S y Kaya T. 2008. Effect of hypothyroidism on the purinergic responses of corpus cavernosal smooth muscle in rabbits. *Int Urol Nephrol* 40: 691-699.
- Ziegelhoffer-Mihalovicova B, Briest W, Baba HA, Ressler B y Zimmer HG. 2003. The expression of mRNA of cytokines and of extracellular matrix proteins in triiodothyronine-treated rats hearts. *Mol Cell Biochem* 247: 61-88.

## 12. GLOSARIO DE TÉRMINOS

1. **Heterodímero.** Unión de dos (dímero) proteínas diferentes (hetero), que al unirse incrementan su efecto.
2. **Fosforilación oxidativa.** Es el proceso metabólico final (catabolismo) de la respiración celular, tras la glucólisis y el ciclo de Krebs, que utiliza energía liberada por la oxidación de nutrientes para producir adenosín trifosfato (ATP). Se transfieren electrones de los equivalentes reducidos NADH (dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido) y FADH (dinucleótido de flavina-adenina reducido). De una molécula de glucosa se obtienen 38 moléculas de ATP.
3. **Células tirotrópicas.** Células especializadas en la síntesis y secreción de la hormona estimulante de tiroides (TSH), localizadas en la adenohipófisis.
4. **Adenoma.** Tumor epitelial benigno de origen glandular. Causa complicaciones mediante la compresión de otras estructuras y produce grandes cantidades de hormonas en una forma no regulada.
5. **Craneofaringiomas.** Surgen de la proliferación de células que no lograron migrar a su área habitual, justo por debajo de la parte posterior del cráneo, durante la primera etapa del desarrollo fetal. Afecta principalmente a la hipófisis y al quiasma óptico.
6. **Glioma.** Tipo de neoplasia (cáncer) producido en el cerebro o médula espinal a partir de las células gliales.
7. **Meningioma.** Tumor cerebral benigno, de crecimiento lento, presente en el tejido aracnoideo de las meninges que se adhiere a la duramadre.
8. **Organoclorados.** Compuestos orgánicos estructurados químicamente por una cadena de átomos de carbono, en el cual, algunos de los átomos de hidrógeno unidos al carbono, han sido reemplazados por átomos de cloro, unidos por enlaces covalentes al carbono.
9. **Polimorfonucleares.** Células del sistema inmunitario (leucocitos) con núcleo lobulado (neutrófilos, basófilos y eosinófilos).
10. **Prostaglandinas.** Conjunto de sustancias lipídicas sintetizadas a partir de los ácidos grasos de 20 carbonos (eicosanoides) por acción de enzimas denominadas ciclooxigenasas. Pertenecen a este grupo PGI<sub>2</sub>, PGD, PGE<sub>2</sub> y PGF<sub>2α</sub>. Participan en la

respuesta inflamatoria, vasodilatación, contracción de la musculatura lisa, desprendimiento del endometrio, etc.

11. **Óxido nítrico.** Radical libre (gas), producido por las células epiteliales a partir del metabolismo de la L-arginina por enzimas óxido nítrico sintasas (NOS). Tiene una vida media de pocos segundos. Su principal función es como vasodilatador de las fibras musculares.
12. **Endotelinas.** Péptidos de 21 aminoácidos constituidos por tres isoformas: endotelina 1 (ET-1), endotelina 2 (ET-2) y endotelina 3 (ET-3). Son sintetizados por las células de la granulosa de folículos pero-ovulatorios y tienen efecto contráctil sobre las fibras de musculatura lisa oviductal.
13. **Galactorrea.** Consiste en la secreción de leche a través de los senos de la mujer, fuera del periodo de embarazo y lactancia. Dicha secreción puede provenir de uno de los senos o de ambos pechos y puede variar en color, composición y consistencia.
14. **Síndrome Van Wyk y Grumbach.** Síndrome caracterizado por la presencia de hipotiroidismo, ovarios poliquísticos, desarrollo precoz de las mamas y entrada temprana a la pubertad.
15. **Citocinesis.** Es la segunda etapa acompañante de la mitosis, en esta, el citoplasma se divide para formar dos células hijas diploides idénticas con la repartición aproximada de los orgánulos celulares. En las células animales se hace por estrangulación, desde fuera hacia adentro, y en las vegetales se hace por crecimiento de la pared celular desde dentro hacia afuera. Una vez finalizada la mitosis y la citocinesis, las dos células hijas que se forman entran en interfase, durante la cual se prepara para su próxima mitosis.
16. **Antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA).** Proteína nuclear sintetizada en la fase G1 temprana y en la fase S del ciclo celular. Esta proteína se localiza en el núcleo y favorece la síntesis de ADN, ya que es un cofactor de la ADN polimerasa delta.
17. **Metimazol.** Compuesto heterocíclico que contiene un grupo tioureleno utilizado como fármaco anti-tiroideo. Se ha sugerido que lleve a cabo su efecto inhibitorio sobre la función tiroidea por bloqueo de la tiroperoxidasa (TPO), enzima encargada de catalizar la unión de yodo a un residuo tirosil de la tiroglobulina.

18. **Quimioluminiscencia.** Técnica analítica empleada para la detección sensible de analitos. Presenta la ventaja de estabilidad de los compuestos quimioluminiscentes, bajo límite de detección y elevada especificidad. Su fundamento es la utilización de la quimioluminiscencia, la cual se produce mediante la generación de especies electrónicamente excitadas en el transcurso de diversas reacciones químicas que, en general, implican oxidación. Uno de los productos intermedios o finales de estas reacciones es quimioluminiscente y, por tanto, emite radiaciones electromagnéticas al desactivarse, pasando de estado excitado a estado fundamental.
19. **ELISA.** Ensayo por inmuno-absorción ligado a enzimas, por sus siglas en inglés. Técnica analítica en el cual un antígeno se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como un cambio de color. La aparición de color permite medir indirectamente mediante espectrofotometría el antígeno en la muestra.

## 13. PUBLICACIONES



curso internacional bases biológicas de la conducta

### **Efecto del hipotiroidismo sobre el músculo liso del oviducto en la coneja adulta nulípara**

Arely Anaya Hernández<sup>1</sup> y Estela Cuevas Romero<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala (UATx).

<sup>2</sup>Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx.

La selección natural ha moldeado el comportamiento de las especies con el fin de resolver los problemas que les plantea el ambiente. Para sobrevivir, los organismos se valen de su conducta reproductiva y transmitir copia de sus genes. Es por ello, que la capacidad de reproducirse es uno de los aspectos conductuales más importantes de todos los seres vivos. En la especie humana, la tasa de natalidad ha disminuido drásticamente debido a la decisión de las parejas a no tener descendencia o a postergarla por priorizar su vida profesional. Y en aquellas parejas que sí deciden tener hijos existen padecimientos que conllevan a infertilidad tanto masculina como femenina. En lo que se refiere a la infertilidad femenina, las disfunciones afectan a los ovarios, útero y trompas de Falopio u oviductos, y en ellas intervienen factores infecciosos (infecciones vaginales o urinarias) y/o hormonales (alteraciones en los niveles de hormonas ováricas -estradiol y progesterona-, y/o hormonas tiroideas -tetrayodotironina y triyodotironina). En lo que se refiere a las hormonas tiroideas, sintetizadas por la glándula tiroidea, se ha reportado que mujeres con deficiencia de dichas hormonas, condición conocida como hipotiroidismo presentan problemas reproductivos, tales como: ciclos menstruales irregulares o con mucho sangrado, anovulación, abortos e infertilidad. En estudios realizados en modelos animales, con inducción de hipotiroidismo mediante fármacos, se han encontrado fallas en el proceso ovulatorio y alteraciones en las características histológicas del útero, lo que ayuda a entender la falta de ovulación y abortos observados en mujeres. Sin embargo, se desconoce si otras estructuras del tracto reproductivo femenino también pudieran ser afectadas. En el presente estudio investigaremos el efecto del hipotiroidismo sobre las características histológicas de las trompas de Falopio en la coneja, ya que dichas estructuras participan en el transporte de gametos, la preparación de los espermatozoides, la fecundación y las primeras etapas de división celular del cigoto. Particularmente, nos interesa analizar la capa de musculatura lisa de este tracto ya que facilita todos los eventos ya mencionados, y por ende, alguna alteración en su función, como consecuencia de una alteración histológica, podría afectar la fertilidad.

6 -9 de octubre de 2010

Ciudad de Tlaxcala, México



### curso internacional bases biológicas de la conducta

**METODOLOGÍA.** Se utilizarán conejas adultas nulíparas (*Oryctolagus cuniculus*) divididas en dos grupos, el grupo control (n=10) y el hipotiroideo (n=10; tratamiento con metimazol 0.02%, durante 30 días). Al término del tratamiento, ambos grupos serán sacrificados a la misma edad para la extracción de sangre y oviductos, para: 1) cuantificar los niveles de hormonas tiroideas en su forma total y libre, hormona estimulante de la tiroides y progesterona en suero, mediante la técnica de quimioluminiscencia; 2) cuantificar el grosor de la capa muscular y la proporción de fibras musculares y de colágeno en cortes histológicos teñidos con tricrómica de Masson; y 3) determinar la expresión de receptores a hormonas tiroideas, progesterona y prostaglandinas, mediante inmunohistoquímica. Cabe mencionar que tanto la progesterona (secretada por el ovario) como las prostaglandinas (secretadas por el epitelio del propio oviducto) controlan la contracción de la musculatura lisa. Los cortes teñidos y con marcaje inmunohistoquímico serán fotografiados y analizados con el programa Axionvision Rel 4.8. La comparación en los niveles hormonales de animales controles e hipotiroideos será realizada con la prueba t de Student, mientras que la cuantificación de las células o núcleos inmunoreactivos, así como el grosor de la capa muscular serán comparados con ANOVA de dos vías (regiones del oviducto *vs.* tratamiento) y Tukey-Kramer como prueba post-hoc.

**CONCLUSIÓN.** Se pretende que los resultados obtenidos en el presente estudio puedan ayudar en el entendimiento de los mecanismos fisiológicos involucrados en el efecto de las hormonas tiroideas sobre la infertilidad femenina. Además, nuestros resultados servirán de base para posteriores estudios encaminados a investigar alteraciones en la fisiología reproductiva, o bien, hacer extensivo el análisis a todo el tracto reproductivo.

Proyecto financiado por CONACyT (E.C. 106226).



## ¿ES LA FECUNDACIÓN AFECTADA POR EL HIPOTIROIDISMO? EFECTO SOBRE LA MUSCULATURA LISA DEL OVIDUCTO

Anaya-Hernández A<sup>1</sup>, Pedrero-Badillo F<sup>1</sup>, Luna M<sup>2</sup>, Jiménez I<sup>3</sup>, Pacheco P<sup>4</sup>, Martínez-Gómez M<sup>2,4</sup> y Cuevas E<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala

<sup>2</sup>Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala

<sup>3</sup>Centro de Investigación y Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacional

<sup>4</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, s/n, carretera Tlaxcala-Puebla Km 1.5, C.P. 90070.

(arena\_cs@hotmail.com; 044 246 122 44 62)

En años recientes, se ha propuesto que las hormonas tiroideas (triyodotironina, T3, y tetrayodotironina, T4) participan en los procesos reproductivos (ovulación e implantación del embrión). Ya que mujeres con deficiencia de dichas hormonas (hipotiroidismo) presentan falta de ovulación, abortos espontáneos e infertilidad. En lo que se refiere a la fecundación, ésta se lleva a cabo en las trompas de Falopio u oviductos, requiriéndose tanto de las secreciones de las células epiteliales como de la contracción de la capa muscular para el transporte de gametos, la preparación de los espermatozoides y las primeras etapas de división del cigoto. Se desconoce si las hormonas tiroideas pudieran afectar alguno de los procesos antes mencionados. En ratas, previa tiroidectomía, el hipotiroidismo reduce el grosor de la capa muscular del oviducto, sugiriendo la afectación del proceso de fertilización. Sin embargo, dicho estudio presenta el inconveniente de que la extirpación de la glándula tiroidea puede afectar la síntesis de la hormona paratiroidea y los niveles de calcio. Es conocido que estos últimos regulan tanto la secreción vesicular de las células epiteliales como la contracción de la musculatura lisa, por lo que es discutible si los efectos encontrados son exclusivamente consecuencia de la disminución de los niveles de hormonas tiroideas. Por ello, en el presente estudio analizamos el efecto del hipotiroidismo farmacológico sobre el grosor de las capas epitelial y muscular del oviducto de la coneja. **METODOLOGÍA.** Se utilizaron dos grupos de conejas adultas nulíparas: control (n=4) y con inducción de hipotiroidismo (n=4, administración oral de Metimazol al 0.02% durante 30 días). Al término del tratamiento, se sacrificaron ambos grupos. Se cuantificaron los niveles de T3 y T4, totales y libres, en plasma mediante la técnica de quimioluminiscencia. En cortes de oviductos teñidos con tricrómica de Masson, se cuantificó el grosor de las capas epitelial y muscular, la proporción de células ciliadas y secretoras, así como el área total del oviducto (incluye capa muscular, capa epitelial y lumen). Las mediciones se compararon con la prueba U de Mann Whitney. **RESULTADOS.** En comparación con los animales controles, las hembras tratadas con Metimazol mostraron: a) niveles menores de T3 libre (U=3, P=0.01); b) un grosor similar de la capa epitelial a lo largo del oviducto; c) una mayor proporción de células secretoras y menor proporción de células ciliadas (U=2, P=0.04) en la región del ámpula; d) un menor grosor de la capa muscular en las regiones de ámpula (U=0, P=0.009), istmo (U=2, P=0.04) y útero-tubal (U=1, P=0.03); y e) un área total similar. **CONCLUSIÓN.** El tratamiento con Metimazol fue efectivo para inducir hipotiroidismo. Nuestros resultados sugieren que el hipotiroidismo afecta el proceso de fertilización, ya que reduce el grosor de la capa muscular (efecto previamente reportado en animales tiroidectomizados) y modifica la proporción de células epiteliales. Proyecto financiado por CONACyT (367041 a A.A., 367145 a P.F. y 106226 a C.E).

León, Guanajuato, del 10 al 14 de septiembre, 2011



## ¿ES POSIBLE DELIMITAR LAS DISTINTAS REGIONES DEL OVIDUCTO? DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA EN LA CONEJA

Pedrero-Badillo F<sup>1</sup>, Anaya-Hernández A<sup>1</sup>, Luna M<sup>2</sup>, Pacheco P<sup>3</sup>, Martínez-Gómez M<sup>3</sup> y Cuevas E<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala

<sup>2</sup>Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala

<sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México

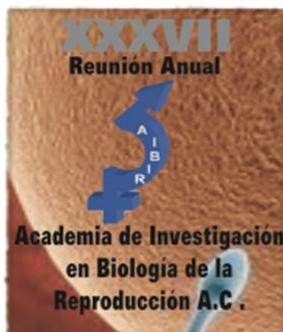
Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, s/n, carretera Tlaxcala-Puebla Km 1.5, C.P. 90070.

Tel. 0442461325799, e-mail: faviola\_2104@hotmail.com

Las trompas de Falopio u oviductos son tubos pares que participan en el transporte de gametos, la preparación de los espermatozoides y la fecundación, ya que proveen las condiciones microambientales favorables. Si bien estas estructuras han sido muy estudiadas en diversos mamíferos, existe controversia en cuanto a las regiones que los conforman. En la coneja, modelo de estudio del presente trabajo, algunos autores describen cuatro regiones: infundíbulo, ámpula, istmo y útero-tubal. Otros mencionan la existencia de una región más que es la fimbria, mientras que otros la incluyen como parte del infundíbulo. Otros agrupan al infundíbulo con el ámpula asumiendo características similares. Algunos más se refieren a la unión istmo-ampular como la zona de transición entre ambas regiones sin describir sus características. Como podemos ver no existe un acuerdo general en la regionalización del oviducto, ni en los límites entre las regiones. En el presente trabajo delimitamos las regiones del oviducto de la coneja basándonos en sus características histológicas. **METODOLOGÍA.** Se utilizaron conejas adultas nulíparas de la raza chinchilla (n=4), cuyos oviductos fueron procesados, cortados y teñidos con tricrómica de Masson. Se tomaron fotografías cada 1500  $\mu\text{m}$  y se observaron las características histológicas. Posteriormente, se midió el grosor de las capas epitelial y muscular, y se cuantificó la proporción de células ciliadas y secretoras a lo largo del oviducto. Las mediciones realizadas fueron comparadas entre regiones con la prueba de Kruskal Wallis. **RESULTADOS.** Análisis cualitativo. De acuerdo a las características histológicas se distinguieron cinco regiones, desde el ovario hasta el útero: a) fimbria, porción no circular con prolongaciones largas de epitelio principalmente ciliado y sin musculatura lisa; b) infundíbulo, porción circular entreabierto con epitelio predominantemente ciliado y una capa delgada de fibras musculares con distribución circular; c) ámpula, epitelio plegado con predominio de células ciliadas y una capa delgada de fibras musculares con distribución circular; d) istmo, epitelio con pliegues pequeños predominantemente secretor y doble capa muscular (una longitudinal interna y una circular externa); y e) útero-tubal, lamina propia gruesa con presencia de cavernas, epitelio con pliegues anchos de escasa altura, doble capa muscular (una longitudinal interna y una circular externa) y una capa serosa con gran número de vasos sanguíneos. Análisis cuantitativo. El grosor de la capa epitelial fue similar a lo largo del oviducto. Aunque se encontró una mayor proporción de células ciliadas en la región del ámpula en comparación con el istmo, caso contrario de las células secretoras. El grosor de la capa muscular fue significativamente menor a nivel del ámpula e infundíbulo, y mayor a nivel de istmo y región útero-tubal. **CONCLUSIÓN.** Si es posible delimitar las distintas regiones del oviducto. A pesar de ello, recomendamos, para posteriores estudios, enfocarse a la porción central de cada región para evitar las zonas de transición entre una región y otra. La adecuada regionalización del oviducto es necesaria para mejorar el análisis de los efectos de fármacos, hormonas o condiciones patológicas en esta estructura. Proyecto financiado por CONACyT (106226 a C.E, 367145 a P.F y 367041 a A.A).

León, Guanajuato, del 10 al 14 de septiembre, 2011

## Efecto del hipotiroidismo sobre la capa epitelial del oviducto de la coneja nulípara



Pedrero-Badillo F<sup>1</sup>, Anaya-Hernández A<sup>1</sup>, Carrillo-Portillo Y<sup>1</sup>, Nicolás-Toledo L<sup>2</sup>, Martínez-Gómez M<sup>2,3</sup> y Cuevas E<sup>2</sup> (avalado por Margarita Martínez-Gomez).

<sup>1</sup>Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala; <sup>2</sup>Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala; <sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

En años recientes, las hormonas tiroideas (triyodotironina, T3 y tetrayodotironina, T4) han sido involucradas en procesos reproductivos. Las mujeres con deficiencia de hormonas tiroideas (condición denominada hipotiroidismo) presentan alteraciones reproductivas tales como: ciclos menstruales irregulares, anovulación, abortos e infertilidad. En animales de laboratorio con hipotiroidismo (inducido por tiroidectomía) se ha reportado un mayor número de folículos atrésicos (disfuncionales); así como un menor grosor del endometrio del útero y de la capa epitelial y muscular de los oviductos. Sin embargo, durante la tiroidectomía también se extrae la glándula paratiroides, por lo que se desconoce si los efectos reportados son exclusivos de la falta de hormonas tiroideas. Dado que las trompas de Falopio u oviductos participan en el transporte de gametos, la preparación de los espermatozoides, la fecundación y las primeras etapas de división celular del cigoto, es importante corroborar si el hipotiroidismo altera las características histológicas de dicha estructura reproductiva. Previamente, ya reportamos que el hipotiroidismo farmacológico (tratamiento con Metimazol por un mes) no afecta las características histológicas de la capa muscular del oviducto en conejas adultas nulíparas, pero desconocemos sus efectos en la capa epitelial. **OBJETIVO.** Determinar los efectos del hipotiroidismo farmacológico en las características histológicas del epitelio oviductal de conejas adultas nulíparas. **RESULTADOS.** En comparación con las conejas controles, las hembras tratadas tuvieron: a) niveles bajos de T3 y T4, b) niveles altos de la hormona estimulante de la tiroides, c) mayor peso de la glándula tiroides, d) mayor proporción de células ciliadas en la región del ámpula, e) mayor longitud de las células ciliadas en las regiones istmo, ámpula e infundíbulo, f) mayor longitud de las células secretoras en las regiones istmo e infundíbulo, g) menor proliferación celular en la región útero-tubal, y h) mayor área de los núcleos en la región del ámpula. **CONCLUSIÓN.** El hipotiroidismo farmacológico modifica diversas características histológicas del epitelio oviductal, lo que podría afectar los procesos reproductivos que se llevan a cabo en esta estructura.

*Proyecto financiado por CONACyT (EC 106226), becas CONACyT a FP 367145 y AA 367041.*

27-30 de junio de 2012. Pachuca, Hidalgo