



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del hipotiroidismo en la síntesis *de novo* y metabolismo del colesterol en el páncreas

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO (A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Rubicela Rojas Juárez

Directoras de tesis:

Dra. Estela Cuevas Romero

Dra. Senobia Rosalía Cruz Lumbreras

Tlaxcala, Tlax.

Agosto 2019



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del hipotiroidismo en la síntesis *de novo* y metabolismo del colesterol en el páncreas

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO (A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Rubicela Rojas Juárez

Comité tutorial:

Dra. Estela Cuevas Romero

Dra. Senobia Rosalía Cruz Lumbreras

Dra. Carolina Escobar Briones

Dra. Margarita Martínez Gómez

Tlaxcala, Tlax.

Agosto 2019

El presente trabajo de tesis fue realizado en:

Laboratorio de Endocrinología del Centro Tlaxcala Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala en el Posgrado de Maestría en Ciencias Biológicas.

Adscrita al Programa para el Fortalecimiento del Posgrado Nacional Padrón Nacional de Posgrado (PNP).

Para su desarrollo se contó con el financiamiento de CONACyT (número de becario: 631446 y Proyecto 257549).



Universidad
Autónoma de
Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas
Coordinación de la División de Ciencias Biológicas
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado



**COORDINACIÓN POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
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 **Rubicela Rojas Juárez** 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 en la síntesis de novo y metabolismo del colesterol en el páncreas”*.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., 10 DE AGOSTO 2019




DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO



DRA. CAROLINA ESCOBAR BRIONES



DRA. SENOBIA ROSALÍA CRUZ LUMBRERAS



DRA. MARGARITA MARTÍNEZ GÓMEZ



DR. OMAR ELIND ARROYO HELGUERA



DRA. LETICIA NICOLÁS TOLEDO



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado bajo la Norma:
ISO 9001:2015-NMX-CC-9001-IMNC-2015



AGRADECIMIENTOS

Al posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala por ser el medio institucional para mi formación como Maestra en Ciencias Biológicas.

Al CONACyT por financiar mis estudios y apoyar en la economía durante el período de mis estudios.

A mi directora de tesis, Dra. Estela Cuevas Romero por su apoyo, conocimientos, paciencia y comprensión en este proyecto.

A mi comité tutorial: Dra. Senobia Rosalía Cruz Lumbreras, Dra. Carolina Escobar Briones, Dra. Margarita Martínez Gómez, por el tiempo y sugerencias dedicadas al presente proyecto.

A mi familia por su comprensión y apoyo incondicionales.

RESUMEN

El páncreas regula los niveles de glucosa sanguínea a través de los islotes de Langerhans y el metabolismo de lípidos, proteínas y carbohidratos mediante las células acinares. La función exocrina y endocrina del páncreas es regulada por hormonas tiroideas. Este tiene receptores de hormona liberadora de tiotropina (TRHR), hormona estimulante de la tiroides (TSH) y hormonas tiroideas (TRs). La deficiencia de hormonas tiroideas se asocia con el desarrollo de pancreatitis y diabetes mellitus (DM) tipo 1 y tipo 2. En modelos animales, la asociación entre hipotiroidismo y pancreatitis ya ha sido confirmada. Sin embargo, la relación entre hipotiroidismo y DM, aún no es clara. Tanto en ratas como en conejas, el hipotiroidismo no modifica los niveles de glucosa e insulina, aunque si modifica las características histológicas del páncreas e incluso promueve la formación de nuevos islotes. Las dislipidemias son factores asociados con la pancreatitis, DM e hipotiroidismo. En conejas, el páncreas de animales hipotiroideos muestra una acumulación de triglicéridos y una disminución en el contenido de colesterol en el páncreas. Esto último sugiere la posibilidad que el páncreas de animales hipotiroideos tenga fallas en la síntesis *de novo* de colesterol, o bien, tenga un exceso de lipoperoxidación. En el presente estudio pretendemos analizar la expresión de las enzimas lanosterol 14 alfa desmetilasa (CYP51A1), la cual convierte el lanosterol en colesterol, y 3 β -hidroxideshidrogenasa (3 β -HSD) que transforma la pregnenolona en progesterona, del receptor de lanosterol (receptor de farnesoides beta; FXR β), y de algunos indicadores de inflamación como la lactato deshidrogenasa (LDH) y la lipoperoxidación (dienes conjugados y TBAR). Se tuvieron 2 grupos de conejas adultas: controles (n=6) e hipotiroideos (n=6); metimazol 0.02%, 10 mg/kg; durante 1 mes. Los animales fueron sacrificados y el páncreas fue extraído para ser procesado histológicamente o congelado a -80°C hasta su uso. Las proteínas CYP51A1, 3 β -HSD, FXR β y LDH fueron cuantificados mediante western blots. Los dienos conjugados y las sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS) fueron medidos en grasa de páncreas extraída con el método de Folch y posteriormente con la técnica correspondiente. Encontramos que el hipotiroidismo reduce la expresión de CYP51A1, FXR β y la actividad de la catalasa (CAT), pero no se modifica la expresión de 3 β -HSD, LDH, ni la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) y la capacidad antioxidante de reducción férrica (FRAP), así como un aumento en los niveles de dienos conjugados y TBARS. Nuestros resultados sugieren que el hipotiroidismo afecta la síntesis *de novo* del colesterol y la síntesis de esteroides, lo cual se asocia con un aumento de la lipoperoxidación e inflamación evaluada a través de la LDH.

ÍNDICE

1. 1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Generalidades del páncreas.....	1
1.2 Disfunciones pancreáticas.....	3
1.3 Generalidades de las hormonas tiroideas.....	5
1.4 Regulación de las hormonas tiroideas	6
1.5 Receptores de hormonas tiroideas	8
1.6 Hipotiroidismo y dislipidemias	9
2. 2. ANTECEDENTES.....	11
2.1 Disfunciones pancreáticas e hipercolesterolemia	11
2.2 Disfunciones pancreáticas e inflamación.....	14
2.3 Hipotiroidismo y afectación del páncreas	15
3. 3. JUSTIFICACIÓN	16
4. 4. HIPÓTESIS	17
5. 5. OBJETIVOS	17
6. 6. METODOLOGÍA	18
7. 7. RESULTADOS	21
8. 8. DISCUSIÓN	24
9. 9. CONCLUSIONES	30
10. 10.REFERENCIAS	31
11. 11. GLOSARIO DE TÉRMINOS	40

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Generalidades del páncreas

La anatomía del páncreas es retroperitoneal a la cavidad abdominal, asegura el metabolismo de nutrientes por vías endocrinas y exocrinas, sirve como un mecanismo sensor y reacciona a los niveles circulantes de macronutrientes (Jouvet and Estall 2017). Este órgano tiene un progenitor de origen endodérmico (una capa de aproximada de 500-1000 células en un modelo de ratón), el cual da origen al tracto respiratorio y digestivo. El endodermo en sus dominios ventral se pliega en un tubo intestinal primitivo donde emergen órganos como páncreas hígado y sistema biliar extrahepático (Rodríguez-Seguel y cols. 2013). Un factor de transcripción mantiene el linaje jerárquico de identidad del páncreas, el factor 1 homeobox pancreático y duodenal (*Pdx1*) es co-expresado con el factor de transcripción Neurogenina 3 (*Neurog3*) para diferenciar las células del linaje endocrino (Larsen y Grapin-Botton 2017; Fig. 1).

El páncreas es un órgano con tejidos exocrinos y endocrinos. Este órgano en su mayoría corresponde al tejido exocrino y es responsable de la síntesis de enzimas digestivas y su transporte por la vía del sistema ductal hacia el duodeno (Collombat y cols. 2010). La porción de tejido endocrino representa menos del 2% del órgano y ésta organizado en unidades llamadas Islotes de Langerhans siendo ampliamente vascularizados e inervados (en seres humanos adultos existe aproximadamente 1 millón de islotes dispersos entre los acinos exocrinos, que son agrupaciones celulares complejas, con función endocrina y están separadas del páncreas exocrino por una cápsula conectiva y células gliales. El páncreas endocrino desempeña un papel importante para la función del organismo; regula el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas (Collombat y cols. 2010). La porción endocrina se compone de cinco tipos diferentes de células: alfa que representan un 12% del total de células, beta con 80%, delta un 6%, épsilon y gama 2%, las cuáles secretan cinco hormonas peptídicas, respectivamente: glucagón, insulina, somatostatina, grelina y polipéptido pancreático respectivamente y su función es regular el metabolismo de nutrientes por medio de procesos homeostáticos de la glucosa, coordinación de procesos digestivos y apetito (Larsen y Grapin-Botton 2017).

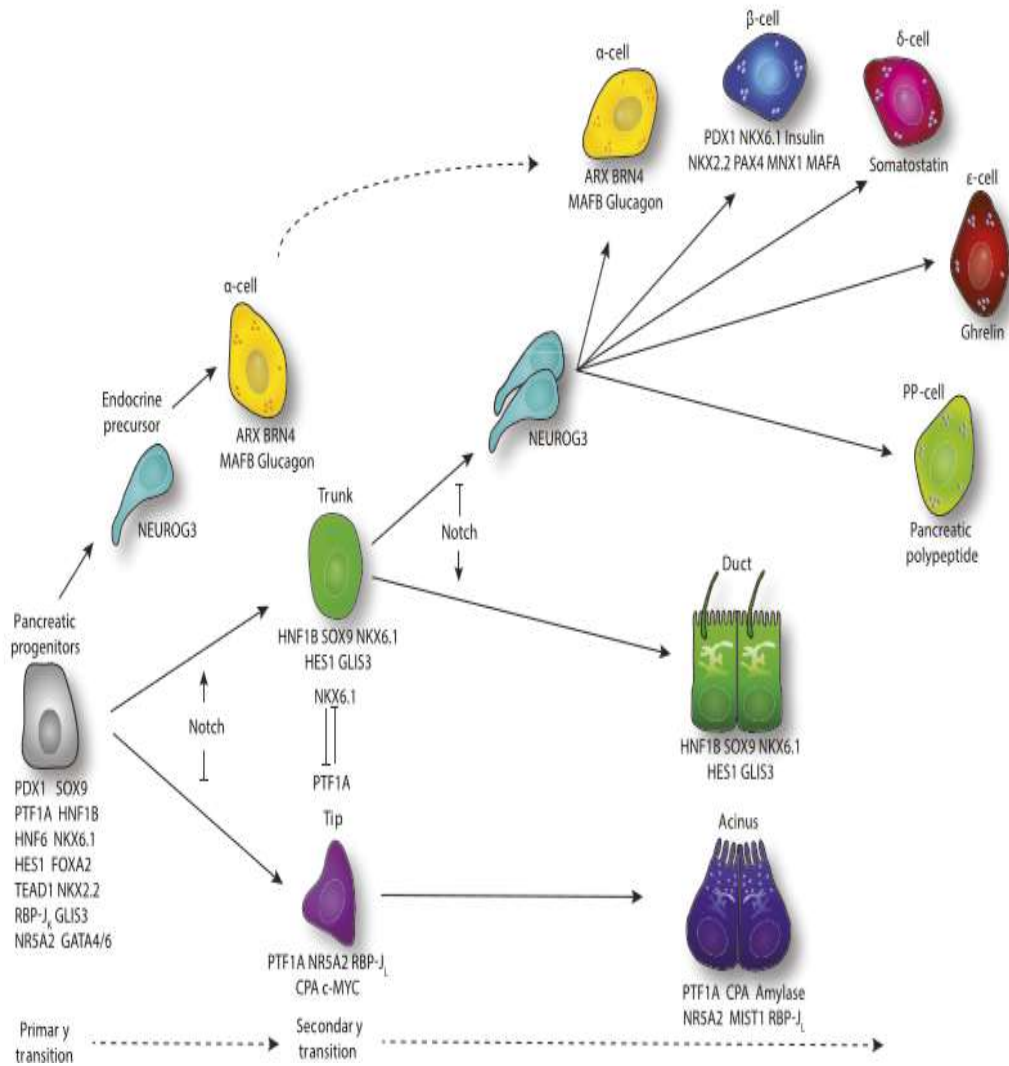


Figura 1. Linaje de la organogénesis del páncreas. Durante la formación del páncreas se expresan varios factores de transcripción que se asocian con la modulación de genes durante las primeras etapas de su formación. La expresión de la Neurog3 (Neurogenina 3) participa en la formación de células α , el factor 1 α de transcripción pancreática y homeobox 6.1 NK (PTF1A y NKX6) en la de acinos, mientras que los factores de transcripción, proteína de unión a señal de recombinación para la región J, receptor nuclear subfamilia 5 grupo A miembro 2 y el miembro básico de la familia hélice-bucle-hélice respectivamente (RBP-J, NR5A2 y MIST1) facilitan la maduración del acino a una célula endocrina. Precursores endocrinos como el PDX1 y la Neurog3 que derivan de la transcripción dan lugar a la formación de las células β y de cuatro subtipos celulares más. Las células pancreáticas progenitoras se convierten en células especializadas del islote α , β , γ , ϵ y δ (tomado de Larsen y Grapin-Botton 2017).

Notables diferencias se han encontrado en la organización de la citoarquitectura de los tipos celulares secretores de hormonas del islote de diversas especies (humanos, monos, cerdos, pájaros, conejo y ratas). En ratones, el predominio de células β se localiza en la región central y células α y δ en la periferia; mientras que, en humanos y monos, las células α se distribuyen y

dispersan en todo el islote. Por su parte en perros y cerdos, las células β son escasas en la región central, lo que sugiere una plasticidad en los islotes reflejada en su composición y organización, en respuesta a los efectos que se producen por las demandas de insulina, condiciones fisiológicas normales (embarazo) y fisiopatológicas (obesidad). Suelen ocurrir reajustes y cambios entre especies diversas y dentro de individuos de una misma especie (Kim y cols. 2009). En relación con la estructura del páncreas exocrino se compone de células acinares organizadas en estructuras denominadas acinos, en los extremos terminales constituyendo una red elaborada de células ductales. Las células acinares constituyen la mayor parte del páncreas, un 90% de todo el órgano. La función de las células acinares es la secreción de pro-enzimas que se activan en el duodeno y se transportan desde el entramado de células ductales hacia el conducto de Wirsung pancreático hasta llegar al conducto de Santorini del duodeno donde vierten su secreción (Larsen y Botton 2017).

1.2 Disfunciones pancreáticas

Diabetes mellitus (DM). La insulina producida por las células beta pancreáticas desempeñan un papel central en el control de la homeostasis de la glucosa, así un déficit absoluto o relativo en las células beta conduce a DM1 y DM2, respectivamente (Collombat y cols. 2010). La etiología de la DM1 es desconocida, donde ocurre una destrucción de las células productoras de insulina por parte del sistema inmune, el cual interviene en el proceso inflamatorio de los islotes pancreáticos y un fallo en la secreción de insulina. La autoinmunidad específica hacia las células β implica insulitis y destrucción de las células β con participación de la inmunidad celular y humoral. Así, los marcadores específicos de la autoinmunidad esta mediada por los auto-anticuerpos contra los islotes pancreáticos y como ejemplos tenemos a los anticuerpos de la célula del islote (ICA), anticuerpos contra la insulina (IAA) y los anticuerpos de la descarboxilasa del ácido glutámico (GADA) y anticuerpos contra 1 tirosin-fosfatasa (IA2). Estos anticuerpos suelen estar presentes de meses a años previos al diagnóstico y su positividad incrementa el riesgo de desarrollar DM1. Un mecanismo que explica la producción de los auto-anticuerpos es la activación del sistema inmune mediado por linfocitos T en individuos genéticamente susceptibles, así como un desencadenante ambiental que altere la destrucción de células β , con infiltración linfocítica de los islotes (insulitis) y respuesta humoral por las células

β responsables de la formación de anticuerpos (Alba y cols. 2004). Al coexistir un desajuste homeostático en el componente inmunológico y endocrino, la insulinitis termina por destruir las células B induciendo la DM1 (Gazda y cols. 1997). Así, los factores que intervienen en la destrucción de las células β son los productos de la insulinitis, es decir, citocinas proinflamatorias, el óxido nítrico y las especies derivadas del oxígeno (cuya capacidad es inducir muerte en forma específica). Posteriormente, las células β responden al ataque inmunológico y modifican su metabolismo celular basal y la expresión de genes de defensa molecular. El proceso de ataque crónico del infiltrado inflamatorio desencadenan apoptosis expresada por Fas y su ligando FasL pertenecientes a la familia del factor de necrosis tumoral (TNF) por la vía de las caspasas que inducen muerte específica de la mayoría de células beta y con ello la aparición de síntomas de la diabetes (Alba y cols. 2004). La DM2 puede presentarse cuando el páncreas no produce suficiente insulina o cuando el organismo no utiliza la insulina que se produce en forma efectiva. Así, la resistencia a la insulina puede variar debido a una deficiencia relativa de insulina o bien por defectos en la secreción de la misma (Punthakee y cols. 2018).

Pancreatitis. Una característica de la pancreatitis en su forma leve es la presencia de líquido edematoso en el espacio extracelular, que causa la separación entre lóbulos y acinos con infiltración de neutrófilos y acumulación de adipocitos. Conductos y acinos pueden dilatarse. La pancreatitis aguda suele avanzar a necrosis hemorrágica, con presencia de micro-embolos entre los vasos sanguíneos, presencia de fibrina en el espacio extravascular con plaquetas y eritrocitos. En el espacio intercelular en la base del acino es común encontrar productos de secreción y fibrina. Los neutrófilos ocupan el espacio del tejido conectivo entre las células epiteliales degenerativas. Los acinos pierden sus gránulos de zimógenos ocasionando que el espacio de la luz acinar se agrande. Las características para la pancreatitis crónica son dolor intermitente y constante, regresión del parénquima exocrino y fibrosis, los cambios asociados a estos procesos ocurren en las células acinares, las cuáles pierden sus gránulos de zimógenos con la consiguiente disminución de su tamaño. En la fibrosis, el tejido pancreático se transforma de tejido glandular denso a masas de tejido fibroso, así como, la presencia de colágeno. Por otra parte, la infiltración de células inflamatorias se asocia con la regresión del parénquima. A su vez, la degeneración y pérdida de células ductales persiste y con el tiempo

una deficiencia en la secreción de enzimas afecta la pérdida de los islotes de Langerhans causando DM (Bockman 1997).

La etiología y la incidencia de pancreatitis en México puede ser diversa de acuerdo a la población, pero en la zona centro la causa más frecuente es la biliar (66.6 %), seguida por la alcohólica (15.9%) con predominio en varones y por hipertrigliceridemia en individuos con DM (7.8%). Los marcadores séricos para su diagnóstico como la lipasa y la amilasa se relacionan con respuesta inflamatoria sistémica y falla orgánica (González-González y cols. 2012).

1.3 Generalidades de las hormonas tiroideas

La glándula tiroides situada en la parte anterior del cuello. Dicha glándula sintetiza a las hormonas tiroideas: tetrayodotironina o tiroxina (T4) y triyodotironina (T3), las cuales derivan del aminoácido, tirosina. Dichas hormonas circulan en torrente sanguíneo unidas a proteínas transportadoras transtirenina (TTR), albúmina sérica, pero principalmente unidas a globulina fijadora de tiroxina (TBG). Existen otros transportadores que regulan su expresión en la membrana celular, como los monocarboxilatos (MCT) 8 y 10, polipéptidos de transporte aniónico (OATPs), polipéptido cotransportador Na⁺/taurocolato (familia de portadores de soluto SCL) y transportadores de aminoácidos de tipo L heterodiméricos (LAT1 y LAT2). Todos estos transportadores aceptan una gran cantidad de ligandos, excepto para MCT8, MCT10 y OATP (Visser y cols. 2011). Aproximadamente, el 80% de la cantidad de hormonas tiroideas secretadas a la circulación por la tiroides es la forma T4, mientras el 20% corresponde a la forma activa, T3 (Van Der Spek y cols. 2017). La T3 se puede generar por desyodación en los tejidos periféricos. La conversión de T4 a T3 es catalizada por selenoproteínas denominadas desyodasas en los tejidos blanco, siendo las desyodasas I y II (D1 y D2, respectivamente). La T3 es la hormona más activa, incrementa sus niveles en la circulación y su biodisponibilidad para los receptores de hormonas tiroideas hacia los tejidos blancos (Pascual y Aranda 2013; Fig. 2). La actividad de las desyodasas tiene impacto tanto en los niveles séricos como tisulares de T4 y T3. Adicionalmente a las reacciones de desyodación, las hormonas tiroideas tienen un metabolismo tejido específico que incluye reacciones de sulfatación, glucorinización,

desaminación y descarboxilación con la participación de otras enzimas importantes como la ornitina descarboxilasa y yodotironina desyodasa (Louzada y Carvalho 2018).

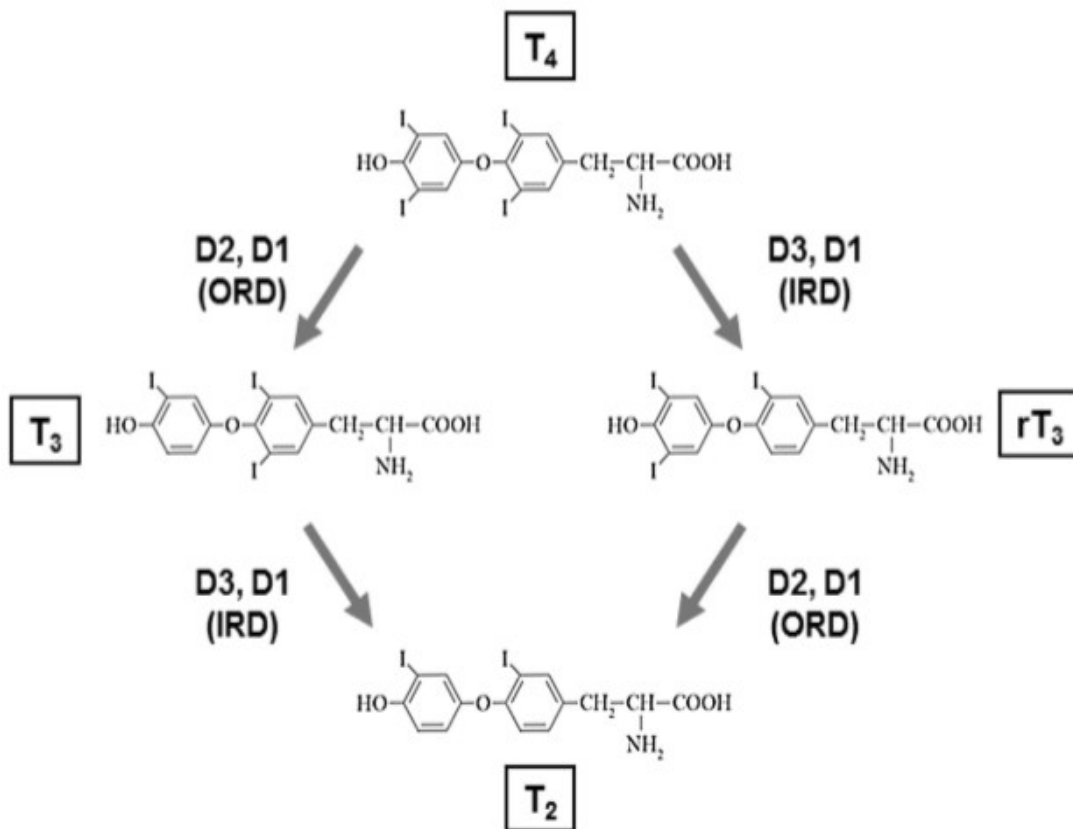


Figura 2. Mecanismo de desyodación de las hormonas tiroideas. Las desyodasas (D1, D2 y D3) son enzimas que eliminan o adicionan átomos de yodo para la formación de las hormonas tiroideas (T₃, T₄). La desyodación del anillo externo de la T₄ da como resultado la formación de T₃, a través de la acción de la D1 y D2. Mientras que D3 y D1 eliminan un ion yoduro del anillo fenólico de la T₃ para formar T₂ (diyodotironina). La desyodación del anillo interno de la T₄ forma la T₃ reversa (rT₃). La rT₃ se puede inactivar por desyodación del anillo dando como resultado la formación de T₂ a través de la acción de la D2 y D1 (tomado de Van Der Spek y cols. 2017).

1.4 Regulación de las hormonas tiroideas

La producción y secreción por la glándula tiroides es regulada por el eje hipotálamo-pituitario-tiroideo, así los niveles séricos de las hormonas tiroideas son altamente regulados bajo condiciones fisiológicas como patológicas (Van Der Spek y cols. 2017). La concentración de hormonas tiroideas en sangre se mantiene equilibrado por la regulación de su secreción por

glándula tiroides, la hormona liberadora de tirotrópina (TRH) y la hormona estimulante de la tiroides (TSH). Esta última es producida células tirotrópicas pituitarias adquiere la función de estimular la secreción de la glándula tiroides. La síntesis de TSH en la pituitaria anterior es estimulada por la hormona liberadora de tirotrópina (TRH) e inhibida por la hormona tiroidea en un circuito clásico de retroalimentación negativa endocrina. La concentración excesiva de T4 y T3 inhibe la síntesis y secreción de TRH y TSH, en el hipotálamo y adenohipófisis, respectivamente; mientras que, el déficit la estimula, así, niveles de TSH anormales podrían indicar enfermedades de la tiroides (Pascual y Aranda 2013; Fig. 3).

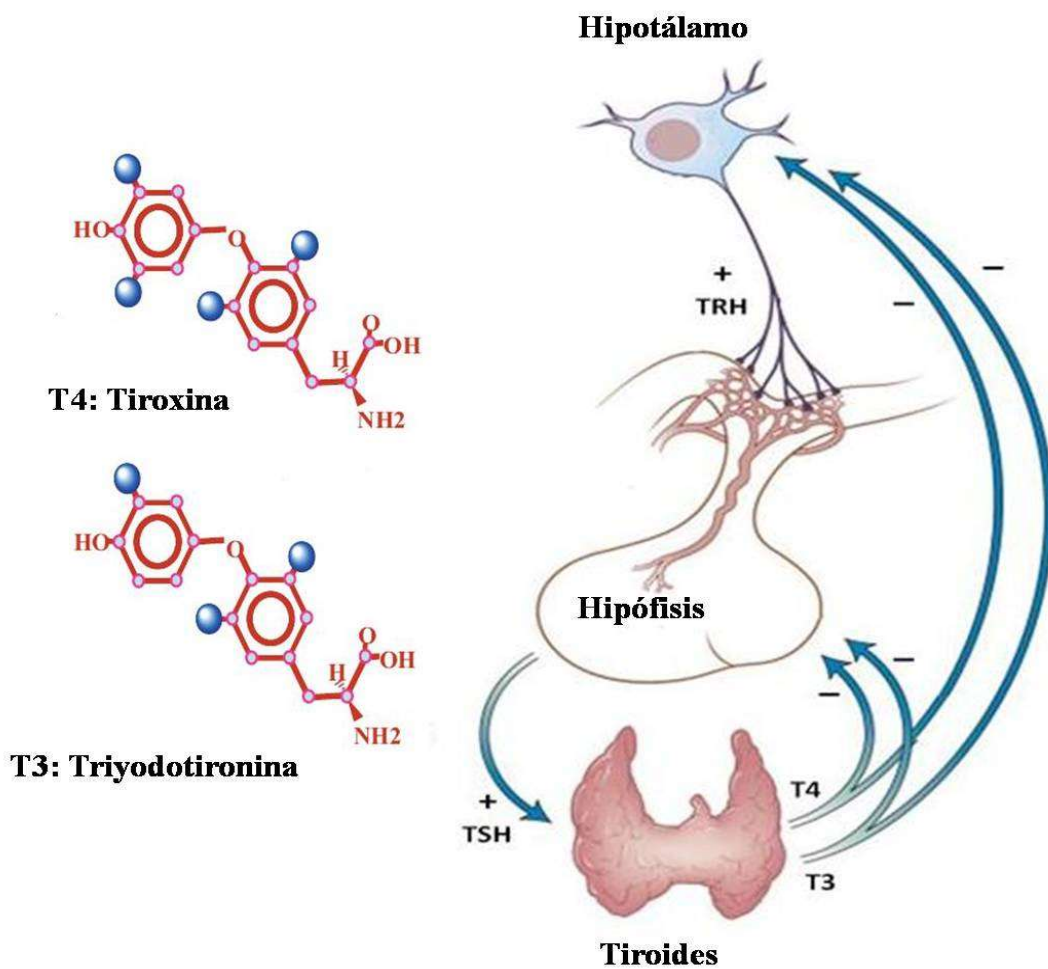


Figura 3. Mecanismo de retroalimentación de síntesis y secreción de las hormonas tiroideas. El hipotálamo libera a la hormona liberadora de tirotrópina (TRH) que estimula a la adenohipófisis para que libere la tirotrópina (TSH) que, a su vez, activa a la tiroides para sintetizar y liberar a las hormonas tiroideas, que son T3 y T4 (tomado y modificado de Gereben y cols. 2008).

La TSH controla la función tiroidea tras su interacción con el receptor de la hormona estimulante de la tiroides (TSHR) acoplado a proteína G. La unión a su receptor en las células de la tiroides TSH conduce a la estimulación de las vías de segundo mensajero que implican predominantemente adenosín monofosfato cíclico (AMPC), inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DAG), resultando en última instancia en la modulación de la expresión génica tiroidea. Las acciones fisiológicas de la TSH, como el consumo y organización del yodo, la producción y liberación de hormonas tiroideas T3 y T4 son indispensables para las funciones normales de los tejidos y órganos, así como la homeostasis de los mismos en etapas de crecimiento y diferenciación celular, especialmente en tracto gastrointestinal, hígado, páncreas, intestino, corazón, sistema nervioso, células neurales, hueso, tejido adiposo, músculo, riñón, testículo, ojo, oído y piel (Szkudlinski y cols. 2002; Pascual y Aranda 2013). Las hormonas tiroideas también participan en la regulación del consumo de oxígeno, control metabólico de carbohidratos, lípidos y proteínas afectando el crecimiento, desarrollo y gasto de energía corporal (Fontenelle y cols. 2016; Louzada y Carvalho 2018).

1.5 Receptores de hormonas tiroideas

Las hormonas tiroideas ejercen potencial influencia en la homeostasis de los lípidos, proteínas, carbohidratos y minerales por medio de la unión a receptores nucleares de hormona tiroidea (TRs) y modular la expresión de genes blanco. En general, los miembros de la superfamilia de TRs regulan la expresión de enzimas y transportadores. Dentro de las acciones de las hormonas tiroideas se involucran aspectos moleculares que inician en el interior del núcleo celular, membrana plasmática, citoplasma y mitocondria, a través de los TRs se modula la actividad biológica de T3, por medio de mecanismos de regulación transcripcional, respuesta a los promotores en los genes para el desarrollo de tejidos, expresión de las isoformas en los receptores nucleares de las hormonas tiroideas y proteínas nucleares co-reguladoras. Éste último mecanismo actúa como co-represor la actividad transcripcional en ausencia de T3, mientras que en presencia de T3 actúa como co-activador de la actividad transcripcional, en este contexto, la función de las hormonas tiroideas es evidente porque mutaciones sobre el gen de TR β induce resistencia a las hormonas tiroideas y disminuye la sensibilidad en órganos de los tejidos diana por T3 (Cheng y cols. 2010; Fig. 4).

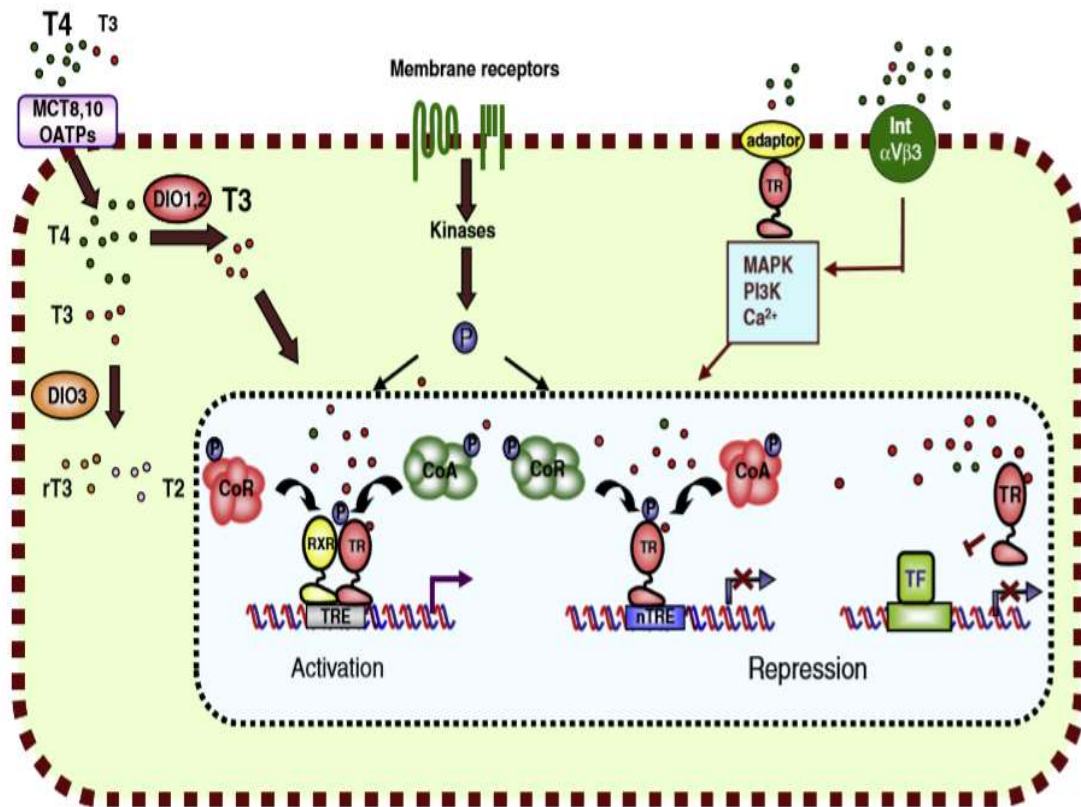


Figura 4. Mecanismo de acción de los receptores de hormonas tiroideas. La T3 y T4 entran a la célula a través de las proteínas transportadoras (MCT, OATs, integrinas y proteína G) dentro de las células, la D1 y D2 convierten la T4 a la forma principal de la hormona tiroidea, T3. Esta se une a sus TRs que activan la transcripción mediante la unión con el ácido retinoico (RXR) y finalmente se activa el TRE, situado en las regiones reguladoras de los genes objetivos. Esta actividad se rige por un intercambio de co-represor y co-activador para que se inicie la transcripción del gen (modificado de Pascual y Aranda 2013).

1.6 Hipotiroidismo y dislipidemias

Existen disfunciones tiroideas como el hipotiroidismo, donde el crecimiento y deterioro del desarrollo implican cambios en el metabolismo de lípidos y colesterol, enfermedades cardiovasculares y la disminución de la tasa metabólica. Los criterios de clasificación del hipotiroidismo de acuerdo al momento de inicio de la enfermedad son: congénito o adquirido. Por criterio de gravedad se clasifica en clínico o subclínico y por su origen en primario y secundario (Ghanbari y Ghasemi 2017).

El hipotiroidismo según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (NHANES III) es común en mujeres con datos de prevalencia de 18 en 1000 y para hombres de 1 en 1000 en el hipotiroidismo manifiesto, en comparación con el hipotiroidismo subclínico de 75 en 1000

mujeres y 28 en 1000 hombres (Ghanbari y Ghasemi 2017). El hipotiroidismo es la segunda causa más frecuente de enfermedades endocrinas después de la DM (Gürel y cols. 2015). En México, la prevalencia de hipotiroidismo primario es de 1%, y de 3-8% para el hipotiroidismo subclínico (IMSS 2016). La presencia de hipotiroidismo se incrementa con la edad (Vanderpump 2005). El hipotiroidismo de origen congénito, secundario, y adquirido se caracteriza por insuficiencia o disminución de la función de la glándula tiroidea originando bajos niveles séricos de hormonas tiroideas T3 y T4, disminución del metabolismo y efectos secundarios como fatiga y aumento de peso. El hipotiroidismo primario es típicamente un resultado de tiroiditis autoinmune o deficiencia de yodo y se evalúa mediante la medición del nivel de la TSH. El hipotiroidismo clínico es una condición en la que se encuentran niveles de TSH altos y niveles de hormonas tiroideas bajas. El hipotiroidismo subclínico corresponde a niveles de TSH normal o alto con T3 y/o T4 normal y en general progresa a hipotiroidismo clínico (Kelley 2016).

2. ANTECEDENTES

2.1 Disfunciones pancreáticas e hipercolesterolemia

El colesterol es necesario para mantener las características funcionales y físico-químicas que confieren fluidez y flexibilidad a los componentes membranales que involucran transportadores, iones, receptores y vesículas para la liberación de proteínas (Perego y cols. 2019). El colesterol se sintetiza a partir del precursor común inicial del metabolismo, la acetil coenzima A (Acetil CoA) que es transformada mediante la enzima hidroximetilglutaril coenzima A reductasa (HMG)-CoA. Esta última es convertida a mevalonato usando (dinucleótido de nicotinamida y adenina fosfato) NADPH. A través de diversas enzimas el mevalonato es transformado a isoprenos, los cuales son convertidos a colesterol (Cerqueira y cols. 2016; Fig. 5).

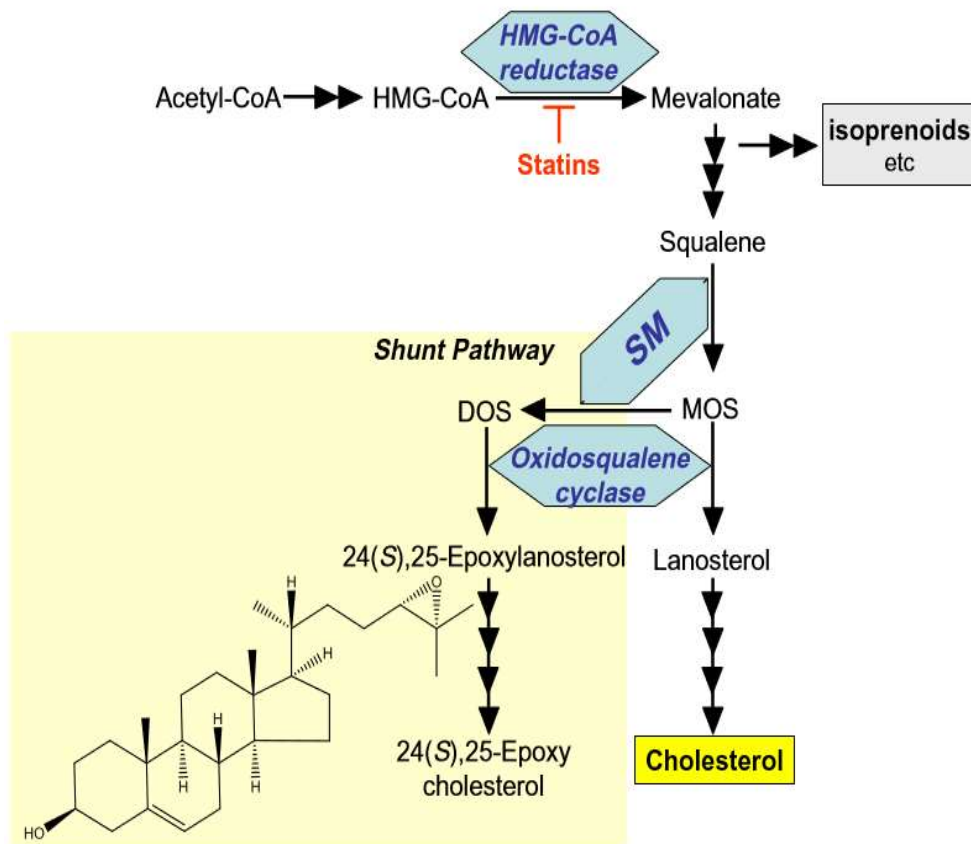


Figura 5. Síntesis *de novo* del colesterol y productos oxisteroles derivados de la vía del mevalonato. MOS: 2,3(s) mono-óxido-escualeno; DOS: 2,3(S);22(S),23-dioxido-escualeno (tomado de Brown y cols. 2009).

El colesterol es precursor de diversas moléculas como son las hormonas esteroideas, las sales biliares. La importancia del colesterol ha aumentado por su asociación con enfermedades cardiovasculares. El colesterol presente en los organismos proviene de dos fuentes: síntesis *de novo* intracelular y de la dieta (Cerqueira y cols. 2016). Las células pueden aumentar su contenido de colesterol intracelular por medio del receptor de la lipoproteína de baja densidad (LDL-R; Sunami y cols. 2018). Las estatinas reducen la expresión de HMG-CoA y promueven la expresión de LDL-R favoreciendo la entrada de colesterol a las células. Al afectarse la síntesis *de novo* por las estatinas, también se reducen los metabolitos intermedios como los isoprenos (Han 2018). Algunos precursores de colesterol, como el lanosterol (Fig. 6), actúan como moléculas activas que pueden unirse a diversos receptores intracelulares y regulan la expresión de genes. El lanosterol es transformado a colesterol mediante la enzima CYP51 (citocromo P450 también conocida como 14 α -desmetilasa; Lepesheva y Waterman 2008). El lanosterol es un ligando endógeno del receptor de farnesoides β (FXR α ; Otte y cols. 2003).

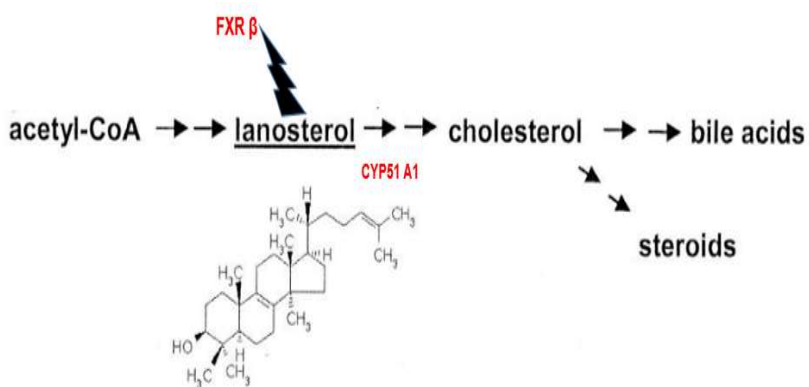


Figura. 6. El lanosterol activa al receptor FXR β . El colesterol se sintetiza a partir de acetyl coenzima A y se cataboliza en ácidos biliares y esteroideos. La enzima CYP51 A1 es la enzima que cataliza la desmetilación del lanosterol. Tomado y modificado de Otte y cols. 2003.

Los niveles de colesterol en el organismo se mantienen por la regulación de su síntesis y absorción en diversos puntos de la ruta metabólica, donde muchos intermediarios son precursores de la biosíntesis de otros compuestos involucrados en diversas funciones como la síntesis de hormonas esteroideas (Cerqueira y cols. 2016). La síntesis de esteroideos es catalizada por diversas enzimas como la citocromo P450_{sc} (P450_{sc}) para producir pregnenolona, la 3- β hidroxideshidrogenasa (3 β HSD) que convierte la pregnenolona en progesterona, moléculas

precursoras de la síntesis de esteroides gonadales (progestágenos, estrógenos y andrógenos), glucocorticoides y mineralocorticoides (Mauvais-Jarvis 2016; Fig. 7).

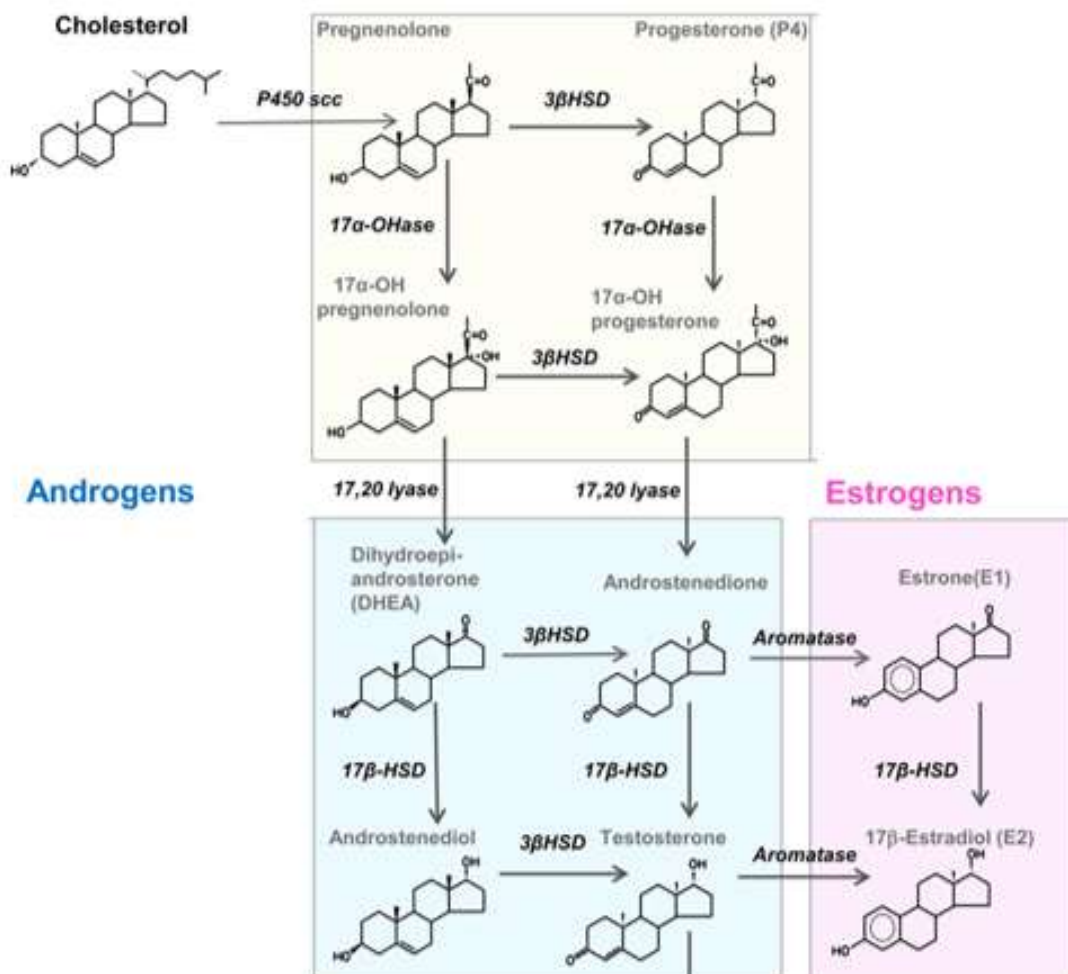


Figura 7. Síntesis de hormonas esteroideas a partir del colesterol (tomado y modificado de Mauvais-Jarvis 2016).

Un exceso de colesterol en las células pancreáticas causa desensibilización en el transporte y cambios morfométricos en los gránulos de insulina, estrés oxidativo, disfunción mitocondrial y activación de la apoptosis. Diversos estudios han mostrado que el aumento de colesterol en suero (hipercolesterolemia) es un factor asociado al daño pancreático (Paul y cols. 2016).

Cáncer pancreático. La expresión elevada de LDL-R y HMG-CoA reductasa se ha asociado a adenocarcinoma ductal en ratones (Sunami y cols. 2018). Delfines con niveles altos

de colesterol de manera crónica muestran un agrandamiento de los islotes pancreáticos y fibrosis pancreática (Colegrove y Venn-Watson 2015).

Diabetes. Mientras que ratas diabéticas inducida mediante estreptozotocina tienen una reducción en el contenido de colesterol pancreático, así como un incremento en la glucoquinasa (GCK) que convierte la glucosa en glucosa 6-fosfato, la cual es importante en la glucólisis y gluconeogénesis (Han 2018). Así, la secreción de insulina y la actividad de la GCK es inverso al contenido páncreas en el páncreas (Hao y cols. 2007). Sin embargo, la dieta rica en grasas promueve la diferenciación de células ductales en células productoras de insulina (Huang y cols. 2019) e hiperglicemia (Liu y cols. 2014). Además, los gránulos con insulina en las células β contienen colesterol, mevalonato y esqualeno, lo que afecta tanto el almacenamiento como secreción de insulina (Han 2018). El estrés oxidativo en el páncreas tiene una participación importante de diversos lípidos. Por ejemplo, ácidos de cadena larga y corta como los malonil-CoA y acil-CoA son capaces de regular la secreción de insulina, modulando la activación de la proteína cinasa C (PKC), canales iónicos, acilación proteica y apoptosis (Haber y cols. 2003). Algunos de los precursores de colesterol también pueden afectar la síntesis de insulina, por ejemplo el lanosterol, un ligando de FXR β , cuya activación en la célula β pancreática de humanos y ratones ejerce acciones protectoras en la lipotoxicidad derivada del estrés metabólico, mejora la capacidad secretora de insulina y no ejerce efectos importantes en la citoarquitectura de los islotes (Popescu y cols. 2010).

Pancreatitis. La pancreatitis está altamente ligada a la presencia de DM y, viceversa, la neuropatía diabética puede inducir pancreatitis (Hardt y Ewald 2011). Además, la pancreatitis, al igual que la DM, ha sido relacionada con los niveles de colesterol circulante. Sólo que, en este caso, tanto bajos como altos niveles de colesterol han sido relacionados con la pancreatitis (Hong y cols. 2019).

2.2 Disfunciones pancreáticas e inflamación

En pacientes y en modelos animales con DM ocurre una inflamación de los islotes con un aumento en la expresión de diversas citocinas (interleucinas 6; factor de necrosis tumoral) e infiltración de células inmunitarias (Ehses y cols. 2009; Lacraz y cols. 2009; Lytrivi y cols. 2018), así como con cambios en la vasculatura, acumulación de tejido graso en el páncreas e

hipercolesterolemia (Giroix y cols. 2011). Las células β son más sensibles al estrés oxidativo que las células α , teniendo menores niveles de catalasa y glutatión peroxidasa, por lo que son más sensibles a sufrir daño en el DNA (Miky y cols. 2018).

La pancreatitis también tiene un origen inflamatorio generado a partir de estrés oxidativo que regula la producción de moléculas de adhesión. Moléculas como la ocludina, claudina, E-cadherina y cateninas participan tanto en el desarrollo de pancreatitis como de cáncer pancreático (Sato y cols. 2018). La inflamación en el tejido pancreático ligado al desarrollo de diabetes tiene una fuerte participación de ligandos grasos y la regulación que éstos ejercen en el estrés oxidativo (Jezek y cols. 2018).

2.3 Hipotiroidismo y afectación del páncreas

En humanos, el hipotiroidismo se correlaciona con pancreatitis en la presencia de anticuerpos (Komatsu y cols. 2005; Shimizuguchi y cols. 2018). El hipotiroidismo también se relaciona con la DM. En pacientes con DM2, el hipotiroidismo incluso el de tipo subclínico agrava las complicaciones de la DM2 (Han y cols. 2015; Bernal y cols. 2016). Z<En modelos animales, el hipotiroidismo farmacológico (en la dosis utilizada metimazol 10 mg/kg) en conejas no modifica los niveles de glucosa e insulina, pero si induce pancreatitis e insulitis (inflamación de los islotes; Rodríguez-Castelán y cols. 2015a y b). El hipotiroidismo aumenta la expresión de insulina en el páncreas y promueve la formación de nuevos islotes en los animales hipotiroideos (Rodríguez-Castelán y cols. en revisión). El páncreas de animales hipotiroideos también muestra un aumento en la lipoperoxidación. Esto aunado a una disminución en el contenido de colesterol en el páncreas, existe la posibilidad que el páncreas de animales hipotiroideos tenga fallas en la síntesis de *novo* de colesterol o bien tenga un exceso de lipoperoxidación (Rodríguez-Castelán y cols. 2019).

3. JUSTIFICACIÓN

Se ha descrito que el hipotiroidismo se asocia con pancreatitis (Komatsu y cols. 2005; Shimizuguchi y cols. 2018) y afecta a las células de los islotes de Langerhans en forma diferencial y funcional dependiendo del tamaño de los islotes (Rodríguez-Castelán y cols. 2015). El hipotiroidismo, la pancreatitis y la DM se asocian con altos niveles circulantes de colesterol. Sin embargo, pocos estudios se han realizado para conocer los efectos de las hormonas tiroideas en el metabolismo de colesterol en el páncreas. En el presente estudio pretendemos analizar la CYP51A1, 3 β -HSD, del FXR β y de algunos indicadores de inflamación como la LDH y lipoperoxidación (dienes conjugados y TBARS). La CYP51A1 es responsable de lanosterol-14-alfa-desmetilación para formar colesterol (Dejong y Wilson 2014), lo que nos daría una pista sobre cómo se encuentra la síntesis *de novo* del colesterol. Mientras que la enzima 3 β -HSD nos indica el metabolismo del colesterol, dirigido hacia la esteroidogénesis. El FXR β se une al lanosterol, un precursor de colesterol.

4. HIPÓTESIS

El hipotiroidismo que induce hipercolesterolemia y daño pancreático, aumenta la expresión de CYP51A1 y FXR β , y aumenta la proliferación de especies reactivas de oxígeno y la expresión de LDH y 3 β -HSD en el páncreas de conejas vírgenes.

5. OBJETIVOS

Objetivo General:

Determinar si el hipotiroidismo afecta la expresión CYP51A1, 3 β -HSD, FXR β y LDH, así como la presencia de marcadores de estrés oxidativo en el páncreas en conejas vírgenes.

Objetivos específicos:

En el páncreas de conejas controles e hipotiroideas:

1. Determinar la expresión del receptor de CYP51A1 mediante Western blot
2. Determinar la expresión de 3 β -HSD mediante Western Blot
3. Determinar la expresión del receptor FXR β mediante Western blot
4. Determinar la expresión LDH mediante Western blot
5. Cuantificar el contenido de dienos conjugados y TBARS por espectrofotometría
6. Determinar el contenido de enzimas antioxidantes

6. METODOLOGÍA

Animales. Para llevar a cabo este estudio, se empleó como modelo animal a la coneja doméstica, específicamente a *Oryctolagus cuniculus* perteneciente a la raza Chinchilla en edad adulta virgen a partir de los 8 meses. Estas conejas fueron mantenidas cautivas en el bioterio proporcionándoles alimento de 180 g al día y agua.

Inducción de hipotiroidismo. La inducción de hipotiroidismo por medio de la administración de un tratamiento en el grupo conejas hipotiroideas, con la administración de metimazol en el agua de consumo diario (0.02% a una dosis de 10 mg/kg) por un lapso de 30 días (Rodríguez-Castelán y cols. 2015).

Western Blot para CYP51A1, 3 β -HSD, FXR- β y LDH. El páncreas extirpado se utilizó para realizar Western Blot, con esta técnica se determinó la presencia de las proteínas CYP51A1, 3 β -HSD, FXR β y LDH. Para la determinación de CYP51A1 (30 μ g de proteína); 3 β -HSD (50 μ g de proteína); FXR β (50 μ g de proteína); y LDH (50 μ g de proteína). Se utilizó proteínas de carga pre-teñidas con peso molecular conocido de Thermo Scientific. Las proteínas se separaron mediante un gel de dodecilsulfato de sodio (SDS) al 10% de acrilamida y se transfirieron a membrana de nitrocelulosa para la inmunotransferencia. Las membranas fueron incubadas para su bloqueo: CYP51A1 (leche al 17% en buffer de salino de fosfatos-Tween, PBS-Tween, al 0.2%); 3 β -HSD (leche al 5 % con PBS-Tween al 0.2 %); FXR β (leche al 17% en PBS-Tween al 0.2%); y LDH (leche al 5% en PBS-Tween al 0.2%). Los anticuerpos primarios usados fueron: CYP51A1 (1:100; código 135723; Abcam incorporation, Cambridge, USA); 3 β -HSD (1:50; sc-30820; Santa Cruz Biotechnology USA); FXR β (1:400; código 48725; Abcam incorporation, Cambridge, USA); y LDH (1:200; 98A-1F9BB1; Abcam incorporation, Cambridge, USA), en los cuales las membranas fueron incubadas por una noche a 4°C. Posteriormente, se lavó la membrana 3 veces cada 5 minutos con PBS-TWEEN al 0.2 %. Como anticuerpos secundarios se utilizaron: CYP51A1 (1:20000; goat-anti-rabbit IgG-HRP; código sc-2004; Santa Cruz Biotechnology); 3 β -HSD (1:1000; goat-anti mouse-IgG; código G-21040; Thermo Fisher Scientific); FXR β (1:20000; goat-anti-rabbit IgG-HRP; código sc-2004; Santa Cruz Biotechnology); y LDH (1:1000; goat-anti mouse-IgG; código G-21040; Thermo Fisher Scientific) diluidos en leche al 1% en PBS-TWEEN al 0.2% durante 1 ó 2 h a temperatura ambiente dependiendo del anticuerpo. Finalmente, la membrana se lavó con solución PBS-

Tween al 0.2% 3 veces cada 5 minutos cada uno. Para visualizar los complejos antígeno-anticuerpo se utilizó Inmobilion Western Chemiluminescent HRP-sustrate, USA. La señal de CYP51A1 y FXR β fue visualizada mediante un equipo de quimioluminiscencia My ECL Imager de Thermo Scientific, USA. Mientras que para 3 β -HSD y LDH, la señal fue detectada con placas fotográficas y con soluciones reveladora y fijadora (Kodak GBX Carestream Dental). La expresión de CYP51A1, 3 β -HSD, FXR β y LDH fue medida por densitometría y normalizada como la proporción entre la densidad de la banda correspondiente y las bandas de teñidas con el colorante Rojo de Ponceau con el programa Image J.

Dienos conjugados. En 200 μ l de PBS (buffer salino de fosfatos) frío se homogeneizaron 150 mg de páncreas. Se tomaron 150 μ l del homogenado y se adicionaron en reactivo de Folch (cloroformo/metanol en relación 2:1). Los otros 50 μ l se designaron para cuantificar proteína por el método de Bradford (Thermo Scientific). El tubo con reactivo de Folch se mezcló en agitador vortéx por 1 minuto. Posteriormente se centrifugo por 10 minutos a 3500 rpm a 22° C. Posteriormente se aspiró la fase del fondo del tubo (clorofórmica) y se transvasó a una celda para su lectura en espectrofotómetro a 325 nm.

Sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS). En 200 μ l de PBS (buffer salino de fosfatos) frío se homogeneizaron 50 mg de páncreas. Del homogenado 50 μ l se designaron para cuantificar proteína por el método de Bradford (Thermo Scientific) y en la porción restante de 150 μ l se adicionaron 100 μ l de reactivo de TCA (ácido tricloroacético 10%), los cuales fueron incubados y centrifugados a 14,000 rpm. Al sobrenadante obtenido se agregaron 100 μ l de TBA (ácido tiobarbitúrico), se agito en vortéx e incubó a 100° C. Posteriormente se centrifugo a 4° C. Con el sobrenadante obtenido se utilizó para su lectura en espectrofotómetro a 525 nm.

Actividad de la Catalasa (CAT). Para determinar la actividad de la enzima CAT, 200 μ l de PBS (buffer salino de fosfatos) frío se homogeneizaron 50 mg de páncreas. Del homogenado 50 μ l se designaron para cuantificar proteína por el método de Bradford (Thermo Scientific) y en la porción restante de los extractos se adiciono peróxido de hidrógeno, fosfato de potasio monobásico, solución Tris 25 mM y dicromato de potasio en proporción 1:3 con ácido acético glacial. Posteriormente se colocaron en Termo blot durante 10 min a 97° C, para posteriormente dejar enfriar a temperatura ambiente tomando un volumen de 200 μ l de para medir su densidad óptica a 570 nm.

Capacidad antioxidante de reducción férrica (FRAP). En 200 μ l de PBS (buffer salino de fosfatos) frío se homogenizaron 50 mg de páncreas. Del homogenado 50 μ l se designaron para cuantificar proteína por el método de Bradford (Thermo Scientific). Se realizó curva de calibración con ácido ascórbico. En microplacas se adicionó 50 μ L de muestra y 100 μ L de solución FRAP y posteriormente se incubaron a 37° C por 60 minutos y se tomaron lecturas a 720 nm.

Actividad de la superóxido dismutasa (SOD). En 200 μ l de PBS (buffer salino de fosfatos) frío se homogenizaron 50 mg de páncreas. Del homogenado 50 μ l se designaron para cuantificar proteína por el método de Bradford (Thermo Scientific). Se realizó curva de calibración con ácido úrico. En microplacas se adicionaron 100 μ L de muestra, 11.5 de pirogarol y 12 μ L de MMT y se incubaron a temperatura ambiente por 10 minutos. Posteriormente se adicionó 100 μ L de DMSO y se tomaron lecturas a 570 nm.

7. RESULTADOS

El hipotiroidismo inducido a través de la administración del fármaco metimazol en el agua de bebida de las conejas designadas como grupo hipotiroideo disminuyó la expresión de la enzima CYP51A1 (Figuras 9A-C), no afectó la expresión de 3 β -HSD en el páncreas de conejas controles e hipotiroideas (Figuras 9D-E), redujo la expresión del receptor FXR β (Figuras 9F-I), y no modificó expresión de la enzima LDH en comparación con el grupo control (Figuras 10A-C). El hipotiroidismo aumentó los niveles de dienos conjugados (Figura 10D) y TBARS (Figura 10E) en el páncreas. Aunque el hipotiroidismo no modificó la actividad de la SOD (Figura 10F), ni el FRAP (Figura 10G), si redujo la actividad de la CAT (Figura 10H) en el páncreas.

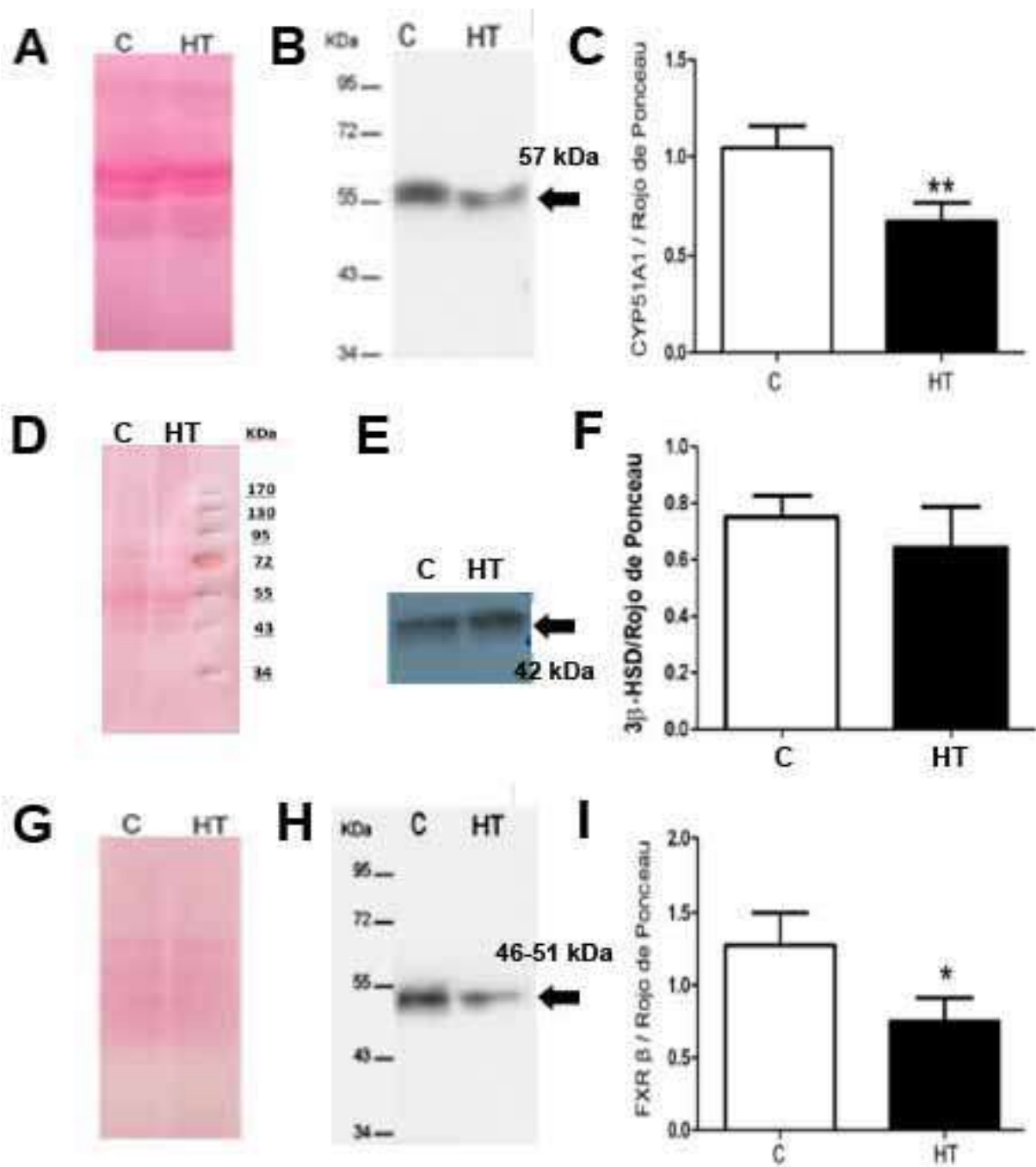


Figura 9. Expresión de CYP51A1 (A-C), 3β-HSD (D-E) y FXRβ (F-I) en el páncreas de conejas vírgenes controles (C) e hipotiroideas (HT). En la primera columna se muestra la membrana teñida con rojo de Ponceau que muestra el total de las proteínas usadas como control de carga en fracciones totales. En la segunda columna se muestra la expresión de las proteínas. En la tercera columna se muestra la cuantificación relativa de las proteínas. Análisis Mann-Whitney (n=6 para cada grupo). KDa; Kilodaltons.

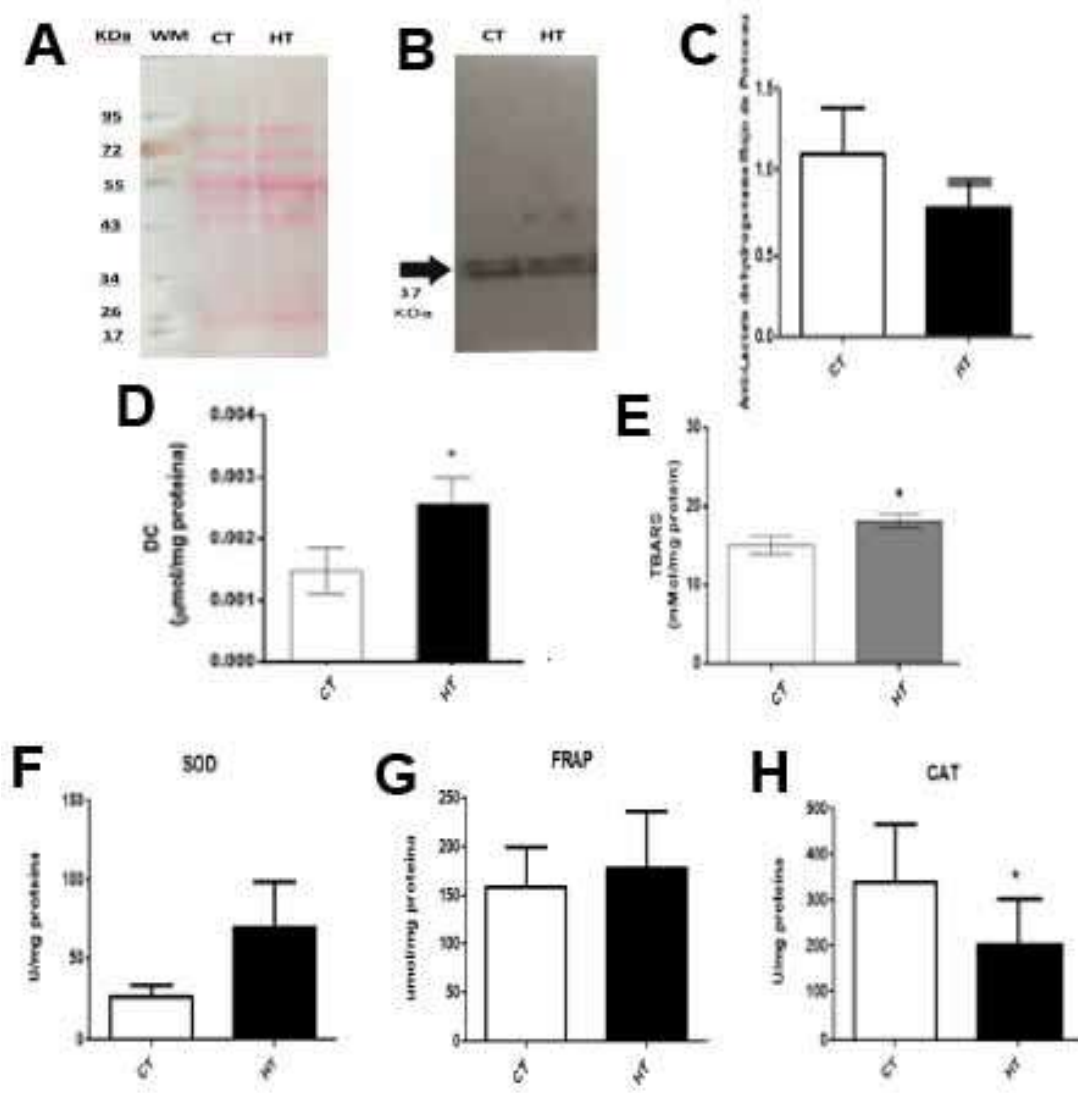


Figura 10. Expresión de LDH (A-C) y cuantificación de lípidos oxidados (D-E) y enzimas antioxidantes (F-H) en el páncreas de conejas vírgenes controles (C) e hipotiroideas (HT). Superior. **A)** Membrana teñida con rojo de Ponceau que muestra el total de las proteínas usadas como control de carga en fracciones totales del páncreas de la coneja control e hipotiroidea. Se utilizó como control positivo al útero. **B)** Expresión de las bandas de LDH en el páncreas de la coneja control e hipotiroidea. **C)** Cuantificación de la expresión de la enzima en el páncreas de la coneja control e hipotiroidea. KDa; Kilodaltons. **D),** Concentración de proteína de dienos conjugados. **E).** Concentración de TBARS. **F).** Actividad de la superóxido dismutasa (SOD). **G).** Poder antioxidante reducción férrica (FRAP). **H).** Actividad de la catalasa (CAT). Análisis Mann-Whitney (n=6 para cada grupo).

8. DISCUSIÓN

Colesterol pancreático y su relación con pancreatitis y DM. Los resultados muestran que el hipotiroidismo afecta la función del páncreas de conejas vírgenes hipotiroideas, donde disminuye la expresión de enzima CYP51 en el tejido pancreático. Este hallazgo es importante dado que esta enzima es clave en la síntesis de colesterol. Estos resultados concuerdan con lo encontrado por Rodríguez-Castelán y cols. (2018). Curiosamente, la disminución en los niveles de colesterol en el páncreas persiste a pesar del aumento de los niveles de colesterol en sangre (Rodríguez-Castelán y cols. 2018). La disminución de CYP51 podría promover la acumulación de lanosterol y afectar la fluidez de la membrana celular, así como causar una mayor producción de ROS (Araldi y cols. 2017). Cabe mencionar que la hipercolesterolemia se ha relacionado con fibrosis pancreática (Colegrove y Venn-Watson 2015), DM (Huang y cols. 2019) y pancreatitis (Hong y cols. 2019). Sin embargo, la concentración de colesterol circulante parece no afectar la concentración de colesterol en el páncreas. El colesterol presente en las células pancreáticas tiene un papel importante en la síntesis de insulina (Hao y cols. 2007; Han 2018) y el desarrollo de pancreatitis (Hirano y cols. 2014). Nuestros resultados muestran que la reducción en la síntesis de colesterol en la coneja podría ser la explicación para entender la relación entre hipotiroidismo y pancreatitis (Komatsu y cols. 2005; Shimizuguchi y cols. 2018) e hipotiroidismo y DM descrita en humanos (Han y cols. 2015; Bernal y cols. 2016).

El colesterol ésta involucrado en múltiples procesos biológicos del metabolismo. Las acciones del colesterol a través de sus derivados: oxisteroles, ácidos biliares y hormonas regulan el medio y las vías metabólicas (Duc y cols. 2019). Por ejemplo, los oxisteroles (formas oxidadas del colesterol) son intermediarios para la síntesis de ácidos biliares que adicionalmente actúan como ligandos para diferentes receptores nucleares como FXR con efectos en la actividad glucoreguladora, de ahí su importancia en enfermedades metabólicas lo que podría relacionarse con este proyecto. El papel de los oxisteroles como mediadores en la migración de células inmunes y respuesta a la inflamación, en enfermedades autoinmunes, así como su posible participación en la DM se explica por la interacción de los mismos con receptores nucleares y membranales como el receptor 2 acoplado a proteína-G inducido por virus de Epstein-Barr (Ebi2) y el receptor huérfano relacionado al receptor de ácido retinoico (ROR) (Duc y cols.

2019). La múltiples rutas metabólicas en la biosíntesis de oxiesteroles conduce a nuevas vías que forman ácidos biliares (Ahmad y cols. 2019; Griffiths y cols. 2019).

Los ácidos biliares, conocidos por su función en los procesos digestivos por la absorción de lípidos y secreción de colesterol biliar pueden verse alterados en su composición, concentración y distribución en condiciones fisiopatológicas que influyen en la glucemia (Ahmad y cols. 2019). Los ácidos biliares como productos finales del catabolismo del colesterol son una vía para la eliminación del exceso de colesterol (Rajani y Jia 2018). El páncreas endocrino expresa receptores específicos para los ácidos biliares conjugados como el ácido taurooursodesoxicólico (TUDCA) sobre la secreción de insulina estimulada por la glucosa dentro de la célula β , a través del receptor 5 acoplado a proteína G-Takeda (TGR5) en un modelo de ratón, así como propiedades anti-apoptóticas (Vettorazzi y cols. 2016; Rajani y Jia 2018). Otros ácidos biliares dependiendo de su composición tienen implicaciones en el desarrollo de neoplasias en esófago, estómago y colón. En humanos, por ejemplo, el ácido desoxicólico genera ROS que causan apoptosis celular (Rees y cols. 2017). En ratas es posible inducir pancreatitis con taurocolato de sodio en el páncreas, el cual produce causa de inflamación y disminución de hormonas tiroideas (Wang y cols. 2018).

Colesterol como fuente de hormonas esteroideas en el páncreas. Si el contenido de colesterol se reduce en el páncreas es posible que la síntesis de esteroideas también se encuentre reducida. Aunque, los animales hipotiroideos que muestran bajo contenido de colesterol en el páncreas (Rodríguez-Castelán y cols. en escritura) debido a una menor síntesis *de novo*, como lo mencionamos anteriormente, no tuvieron una afectación de la 3β -HSD, lo cual refleja que la esteroidogénesis no fue afectada (Cerqueira y cols. 2016). Sin embargo, los páncreas de hembras hipotiroideas muestran una disminución en la expresión de aromatasa sugiriendo una menor síntesis de estrógenos (Rodríguez-Castelán y cols. en escritura). A este respecto, es conocido que las hormonas esteroideas tienen la capacidad de regular la actividad pancreática tanto endocrina y exocrina. La exocrina disminuye la secreción de los gránulos de zimógenos y la endocrina involucra a la hormona progesterona que, a su vez, estimula proliferación celular de células pancreáticas α y β para estimular la secreción de insulina (Morales-Miranda y cols. 2007). Por otra parte, la función endocrina del páncreas está modulada por la acción de los

estrógenos. El 17β -estradiol a través de su receptor de estrógeno acoplado a proteína G (GPR30 ó GPER) se relaciona con un aumento en la liberación de insulina, promueven el transporte de glucosa y suprimen la inflamación (Sehl y cols. 2018).

Importancia del lanosterol en el páncreas. Además del colesterol, algunos lípidos precursores de la ruta del mevalonato son moléculas activas y regulan diversas funciones en el páncreas. Por ejemplo, los gránulos con insulina en las células β contienen colesterol, mevalonato y esqualeno, lo que afecta tanto el almacenamiento como secreción de insulina (Han 2018). En el presente estudio encontramos que el hipotiroidismo disminuye la expresión de FXR β . Aunque existen pocos datos sobre las acciones de este receptor de hormona nuclear en los tejidos, un hallazgo importante en este estudio es su expresión en el páncreas y su participación activa en metabolismo de colesterol. Hacen falta más estudios que involucren las acciones de FXR β en la función pancreática. Hasta el momento solo podemos decir que la acumulación de lanosterol refuerza los procesos de estrés oxidativo derivado de la acumulación de lanosterol y triglicéridos en el páncreas. Considerando que este receptor está presente en todos los tejidos reproductivos de las hembras (Méndez-Tepepa y cols. en prensa), no es descartable la posibilidad de que dicho receptor pudiera estar participando en la esteroidogénesis.

LDH en el páncreas, como un marcador de inflamación. El aumento de LDH en suero (Aybil y cols. 2018) como la hipercolesterolemia (Hong y cols. 2019) son indicadores de pancreatitis. En el presente estudio, evaluamos la expresión de LDH directamente en el páncreas, la cual fue similar entre el grupo control e hipotiroideo. Esto puede deberse a que la inducción de hipotiroidismo por 30 días es un lapso corto de tiempo para presentar daños aún más severos a los ya reportados por Rodríguez-Castelán y cols. (2015a y b; 2019). O bien, que la LDH en suero de pacientes con pancreatitis no necesariamente provenga del páncreas, sino de otras fuentes que responden ante la inflamación de un órgano. A este respecto, algunos estudios respaldan que la administración prolongada de lactato induce lesiones isquémicas importantes por la liberación de proteínas proinflamatorias en un medio celular ácido, similar a lo que ocurre en el cáncer pancreático, donde prevalece un medio hipóxico con incremento de la glucólisis anaerobia y alta expresión del receptor de lactato el GPR81 (Hoque y cols. 2014; Roland y cols. 2014).

Estrés oxidativo en el páncreas. El estrés oxidativo en el páncreas tiene una participación importante de diversos lípidos. Por ejemplo, ácidos de cadena larga y corta como los malonil-CoA y acil-CoA son capaces de regular la secreción de insulina, modulando la activación de proteína cinasa C (PKC), canales iónicos, acilación proteica y apoptosis (Haber y cols. 2003). Algunos de los precursores de colesterol también pueden afectar la síntesis de insulina, por ejemplo el lanosterol, un ligando de FXR β , cuya activación en la célula β pancreática de humanos y ratones ejerce acciones protectoras en la lipotoxicidad derivada del estrés metabólico, mejora la capacidad secretora de insulina y no ejerce efectos importantes en la cito-arquitectura de los islotes (Popescu y cols. 2010). Nuestros resultados de estrés oxidativo indican que la presencia de ROS, como el óxido nítrico (NO), puede estar relacionada con la degradación de CYP51. Se ha reportado que el NO induce un proceso inflamatorio a través de citocinas que regulan a la baja la enzima en los hepatocitos humanos. Esto puede explicarse por la interacción del grupo hemo de la enzima con el NO y formar un compuesto de coordinación (Park y cols. 2018). La actividad de TBARS se aumenta con el hipotiroidismo. Esto se relaciona con el incremento de ROS presentes en el estrés de la célula β al incrementarse la oxidación de los lípidos en páncreas como resultado se genera MDA en el tejido pancreático. De esta manera, las enzimas antioxidantes disminuyen su actividad al prevalecer un ambiente adverso en la célula. (Flores y cols. 2011; Flores y cols. 2016).

A continuación se ilustra un modelo hipotético de las acciones de los receptores y enzimas que interactúan en el páncreas a consecuencia del hipotiroidismo.

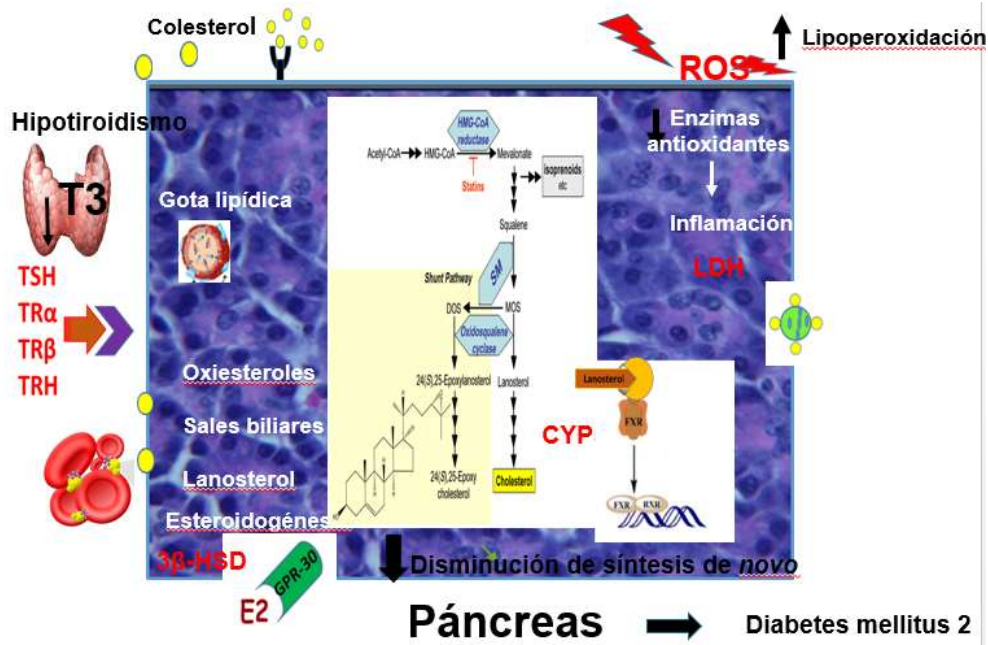


Figura 17. Modelo hipotético del páncreas en interacción con receptores y enzimas.

El páncreas tiene la capacidad de modular la síntesis de colesterol. A través de LDL-R en la membrana celular el colesterol ingresa al órgano donde preceden una serie de reacciones bioquímicas para la formación del mevalonato. A partir de acetil coenzima A, la enzima tiolasa cataliza hacia la formación de acetoacetil-coenzima A, posteriormente la enzima hidroximetilglutaril-coenzima A sintasa cataliza la transformación de acetoacetil-coenzima A y acetil-coenzima A para formar el hidroximetilglutaril-coenzima A, éste, a su vez por medio de la hidroximetilglutaril-coenzima A reductasa da lugar al mevalonato, el cual, por un proceso de diversas reacciones de condensación forman al escualeno. Otra serie de reacciones bioquímicas enzimáticas transforman finalmente al escualeno en lanosterol. El lanosterol formado por una parte es un intermediario metabólico por su unión al ligando de FXR-β modulando la formación de colesterol. La disminución en la expresión de la CYP51A1 disminuyen la formación de oxiesteroles intermediarios que afectan la biosíntesis del colesterol *de novo* en el páncreas. Ambos procesos convergen en la desregulación de la síntesis de insulina estimulada por la glucosa y por los ácidos grasos que aumentan los procesos de lipoperoxidación en el páncreas,

particularmente las células β pancreáticas son más susceptibles al daño por estrés oxidativo y modulan río abajo a la enzima antioxidante catalasa lo que contribuye a desencadenar procesos inflamatorios. Aunque este proceso no parece afectar la LDH, si asegura la expresión de la 3β -HSD formando la pregnenolona que garantiza los procesos reguladores de esteroidogénesis como mecanismo protector al páncreas durante un tiempo prolongado. En este trabajo se sugiere que el hipotiroidismo puede deteriorar la función pancreática por la vía descrita y desencadenar con el transcurso del tiempo el desarrollo de DM. El hipotiroidismo afecta el entorno celular inhibiendo vías de señalización, activación de genes, la expresión de receptores y enzimas para promover células β disfuncionales que favorecen el desarrollo de DM2.

9. CONCLUSIONES

- 1.- El hipotiroidismo reduce la expresión de CYP51A1, lo cual se relaciona con los niveles bajos de colesterol previamente encontrados.
 2. A pesar de la reducción en la síntesis de colesterol, la expresión de 3HSD no cambia por el hipotiroidismo. Lo anterior sugiere que el poco colesterol que se forma podría ser convertido en hormonas esteroideas garantizando su síntesis.
 3. Aunque se desconoce la cantidad de lanosterol formado, dada la reducción de la CYP51A1, podríamos suponer que habría poco lanosterol. Los niveles bajos de lanosterol podrían estar relacionados con la reducción en la expresión de FXR β en las hembras hipotiroideas.
 4. Aunque la LDH es un indicador de inflamación y, previamente, ya hemos reportado que el hipotiroidismo induce pancreatitis e insulinitis. Las hembras hipotiroideas no mostraron cambios en la expresión de LDH; sin embargo, desconocemos la actividad de dicha enzima y la producción de lactato.
- 3.- Los niveles de dienos conjugados y TBARS son altos en una condición de hipotiroidismo, mientras que la catalasa está aumentada. Esto podría ser la causa del proceso inflamatorio ya reportado en el páncreas de hembras hipotiroideas.

10.REFERENCIAS

1. Abayli B, Gençdal G, Değirmencioglu Ş. 2018. Correlation between neutrophil/lymphocyte ratio and Ranson score in acute pancreatitis. *J Clin Lab Anal.* 22437.
2. Ahmad TR, Haeusler RA. 2019. Bile acids in glucose metabolism and insulin signaling-mechanisms and research needs. *Nat Rev Endocrinol.* 15: 701-712.
3. Ahmad W, Ijaz B, Shabbiri K, Ahmed F, Rehman S. 2017. Oxidative toxicity in diabetes and Alzheimer's disease: mechanisms behind ROS/ RNS generation. *J Biomed Sci.* 1: 24: 76
4. Alamri B, Shin K, Chappe V, Anini Y. 2016. The role of ghrelin in the regulation of glucose homeostasis. *Horm Mol Biol Clin Invest.* 26: 1: 3–11.
5. Alba A, Verdaguer J, Vives-Pi M. 2004. Diabetes mellitus tipo 1: autoinmunidad frente a la célula beta. *Endocrinol Nutr.* 51: 3: 121-125.
6. Araldi E, Fernández-Fuentes M, Canfrán-Duque A, Wu D, Fernández-Hernández C, Suárez Y. 2017. Lanosterol modulates TLR4-mediated innate immune responses in macrophages. *Cell Rep.* 19: 13: 2743-2755.
7. Bernal M, Escobar E, Rodríguez González CE. 2016. Prevalence of hypothyroidism and its association with Diabetes Mellitus in patients of an ambulatory clinic. *Bol Asoc Med P R.* 108: 2: 31-34.
8. Bockman D. 1997. Morphology of the exocrine pancreas related to pancreatitis. *Microsc Res Tech.* 37: (5-6): 509-519.
9. Brown A, Jessup W. 2009. Oxyesterols: Sources, cellular storage and metabolism, and new insights into their roles in cholesterol homeostasis. *Mol Aspects Med.* 30: 3: 111-122.
10. Cerqueira N, Oliveira E, Gesto D, Santos-Martins D, Moreira C, Moorthy H, Ramos M, Fernandes P. 2016. Cholesterol Biosynthesis: A Mechanistic Overview. *Biochemistry.* 55: 39: 5483-5506.
11. Cheng S, Leonard J, Davis P. 2010. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr Rev.* 31: 2: 139-170.

12. Claudel T, Staels B, Kuipers F. 2005. The Farnesoid X receptor: a molecular link between bile acid and lipid and glucose metabolism. *Arterioscler thromb vasc biol.* 25: 10: 2020-2030.
13. Colegrove KM, Venn-Watson S. 2015. Histomorphology of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) pancreas and association of increasing islet β -cell size with chronic hypercholesterolemia. *Gen Comp Endocrinol.* 214: 17-23.
14. Collombat P, Xu X, Heimberg H, Mansouri A. 2010. Pancreatic beta cells: from generation to regeneration. *Semin Cell Dev Biol.* 21: 8: 838-844.
15. Cuevas E, Ausó E, Telefont M, Morreale EG, Sotelo C, Berbel. P. 2005. Transient maternal hypothyroxinemia at onset of corticogenesis. alters tangential migration of medial ganglionic eminence-derived. *Eur J Neurosci.* 22: 3: 541-551.
16. Dejong C, Wilson J. 2014. The Cytochrome P450 superfamily complement (CYPome) in the annelid *Capitella teleta*. *Plos One.* 9: 11.
17. Duc D, Vigne S, Pot C. 2019. Oxysterols in Autoimmunity. *Int J Mol Sci.* 20: 18: 4522.
18. Ehses J, Lacraz G, Giroix M, Schmidlin F, Coulaud J, Kassis N, Irminger J, Kergoat M, Portha B, Homo-Delarche F, Donath MY. 2009. IL-1 antagonism reduces hyperglycemia and tissue inflammation in the type 2 diabetic GK rat. *Proc Natl Acad Sci US A.* 106: 33: 13998-14003.
19. Emanuelsson I, Almokhtar M, Wikvall K, Grönbladh A, Svensson A, Svenningsen AF, Norlin M. 2018. Expression and regulation of CYP17A1 and 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in cells of the nervous system: Potential effects of vitamin D on brain steroidogenesis. *Neurochem Int.* 113: 46-55.
20. Flores, C, Márquez, Y, Vilanova, L, Mendoza, C. 2011. Dienes conjugados y malondialdehído como indicadores de lipoperoxidación en semen de toros “Carora”. *Rev. Vet.* 22: 2: 91-94.
21. Flores-C, Meléndez-C, Matheus-N, Marquéz-Y, Lopéz-Ortega AA. 2016. Niveles de dienes conjugados y malondialdehído en hígado de ratas con síndrome metabólico experimental. *Gaceta de Ciencias Veterinarias.* 21: 1: 11-16.
22. Fontenelle LC, Feitosa MM, Severo JS, Freitas TEC, Morais JBS, Torres-Leal FL, Henriques GS, Nascimento Marreiro D do. 2016. Thyroid function in human obesity: Underlying Mechanisms. *Horm Metab Res.* 48: 12: 787-794.

23. Gazda L, Charlton B, Lafferty K. 1997. Diabetes results from a late change in the autoimmune response of NOD mice. *J Autoimmun.* 10: 3: 261-270.
24. Gerber PA, Rutter GA. 2017. The role of oxidative stress and hipoxia in pancreatic beta –cell dysfunction in diabetes mellitus. *Antioxid redox signal.* 26:10: 501-518.
25. Gereben B, Zavacki AM, Ribich S, Kim BW, Huang SA, Simonides WS, Zeöld A, Bianco AC. 2008. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. *Endocr Rev.* 29: 7: 898-938.
26. Ghanbari M, Ghasemi A. 2017. Maternal hypothyroidism: an overview of current experimental models. *Life sci.* 15: 187: 1-8.
27. Giroix MH, Iringer JC, Lacraz G, Noll C, Calderari S, Ehses JA, Coulaud J, Cornut M, Kassis N, Schmidlin F, Paul JL, Kergoat M, Janel N, Halban PA, Homo-Delarche F. 2011. Hypercholesterolaemia, signs of islet microangiopathy and altered angiogenesis precede onset of type 2 diabetes in the Goto-Kakizaki (GK) rat. *Diabetologia.* 54: 2451-2462.
28. González-González J, Castañeda-Sepúlveda R, Martínez-Vázquez M, García-Compean D, Flores-Rendón A, Maldonado-Garza H, Bosques-Padilla F, Garza-Galindo AA. 2012. Características clínicas de la pancreatitis aguda en México. *Revista de Gastroenterología de México.* 77: 4: 167-173.
29. Griffiths WJ, Wang Y. 2019. Oxysterols as lipid mediators: Their biosynthetic genes, enzymes and metabolites. *Prostag Lip Med.* 147: 10638.
30. Gürel A, Dogantekin A, Özkan Y, Aydın S. 2015. Serum apelin levels in patients with thyroid dysfunction. *Int J Clin Exp Med.* 8: 9: 16394–16398.
31. Haber EP, Ximenes HM, Procópio J, Carvalho CR, Curi R, Carpinelli AR. 2003. Pleiotropic effects of fatty acids on pancreatic beta-cells. *J Cell Physiol.* 194:1:1-12.
32. Han C, He X, Xia X, Li Y, Shi X, Shan Z, Teng W. 2015. Subclinical hypothyroidism and Type 2 Diabetes: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 10: 8. E0135233.
33. Han KH. 2018. Functional implications of HMG-CoA reductase inhibition on glucose metabolism. *Korean Circ J.* 48: 11: 951-963.

34. Hao M, Head WS, Gunawardana SC, Hasty AH, Piston DW. 2007. Direct effect of cholesterol on insulin secretion: a novel mechanism for pancreatic beta-cell dysfunction. *Diabetes*. 56: 9: 2328-2338.
35. Hardt PD, Ewald N. 2011. Exocrine pancreatic insufficiency in diabetes mellitus: a complication of diabetic neuropathy or a different type of diabetes?. *Exp Diabetes Res*. Article ID.761950.
36. Hirano K, Saito T, Mizuno S, Tada M, Sasahira N, Isayama H, Matsukawa M, Umefune G, Akiyama D, Saito K, Kawahata S, Takahara N, Uchino R, Hamada T, Miyabayashi K, Mohri D, Sasaki T, Kogure H, Yamamoto N, Nakai Y, Koike K. 2014. Total cholesterol level for assessing pancreatic insufficiency due to chronic pancreatitis. *Gut liver*. 8: 5: 563-568.
37. Hong W, Zimmer V, Basharat Z, Zippi M, Stock S, Geng W, Bao X, Dong J, Pan J, Zhou M. 2020. Association of total cholesterol with severe acute pancreatitis: A U-shaped relationship. *Clin Nutr*. 39: 1: 250-257.
38. Hoque R, Farooq A, Ghani A, Gorelick F, Mehal WZ. 2014. Lactate reduces liver and pancreatic injury in Toll-like receptor– and inflammasome-mediated inflammation via GPR81-mediated suppression of innate immunity. *Gastroenterology*. 146: 7: 1763-1774.
39. Huang W, Su L, Zhang X, Xu X, Li R. 2019. Endocrinological characterization of pancreatic ducts in HFD and HGD fed mice. *J Cell Biochem*. 120: 16153-16159.
40. Instituto Mexicano del Seguro Social. 2016. Diagnóstico y tratamiento de hipotiroidismo primario y subclínico en el adulto. Catálogo maestro de guía de práctica clínica. 2-46. Disponible en: <http://www.cenetec.salud.gob.mx/interior/catalogoMaestroGPC.html>
41. Ježek P, Jabůrek M, Holendová B, Plecítá-Hlavatá L. 2018. Fatty acid-stimulated insulin secretion vs. lipotoxicity. *Molecules*. 23: 1483.
42. Jouvét N, Estall J. 2017. The pancreas: bandmaster of glucose homeostasis. *Exp Cell Res*. 360: 1: 19-23.
43. Kelley S. 2016. Endocrinology update: thyroid disorders. *FP Essent*. 451: 11-16.
44. Kim A, Miller K, Jo J, Kilimnik G, Wojcik P, Hara M. 2009. Islet architecture: a comparative study. *Diabetes*. 58: 2: 129-135.

45. Komatsu K, Hamano H, Ochi Y, Takayama M, Muraki T, Yoshizawa K, Sakurai A, Ota M, Kawa S. 2005. High prevalence of hypothyroidism in patients with autoimmune pancreatitis. *Dig Dis Sci.* 50: 1052-1057.
46. Lacraz G, Giroix MH, Kassis N, Coulaud J, Galinier A, Noll C, Cornut M, Schmidlin F, Paul JL, Janel N, Irminger JC, Kergoat M, Portha B, Donath MY, Ehses JA, Homo-Delarche F. 2009. Islet endothelial activation and oxidative stress gene expression is reduced by IL-1Ra treatment in the type 2 diabetic GK rat. *PLoS One.* 4: 9: e6963.
47. Larsen H, Grapin-Botton A. 2017. The molecular and morphogenetic basis of pancreas organogenesis. 2017. *Semin Cell Dev Biol.* 66: 51-68.
48. Lepesheva, G, Waterman, M. 2007. Sterol 14 α -demethylase cytochrome P450 (CYP51), a P450 in all biological kingdoms. *Biochim Biophys Acta.* 1770: 3: 467–477.
49. Lewińska M, Zelenko U, Merzel F, Golic Grdadolnik S, Murray JC, Rozman D. 2013. Polymorphisms of CYP51A1 from cholesterol synthesis: associations with birth weight and maternal lipid levels and impact on CYP51 protein structure. *Plos one.* 8: 12: e82554.
50. Liu XX, Liu KY, Li P, Han S, Peng XD, Shen L. 2014. Adiponectin is expressed in the pancreas of high-fat-diet-fed mice and protects pancreatic endothelial function during the development of type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 40: 5: 363-372.
51. Louzada R, Carvalho D. 2018. Similarities and differences in the peripheral actions of thyroid hormones and their metabolites. *Front. Endocrinol.* 19: 9: 394.
52. Lytrivi M, Igoillo-Esteve M, Cnop M. 2018. Inflammatory stress in islet β -cells: therapeutic implications for type 2 diabetes? *Curr Opin Pharmacol.* 2018. 43: 40-45.
53. Mancini A, Di Segni C, Raimondo S, Olivieri G, Silvestrini A, Meucci E, Curró D. 2016. Thyroid hormones, oxidative stress and inflammation. *Mediators inflamm.* 2016: 6757154. 1-12.
54. Mauvais-Jarvis F. 2016. Role of sex steroids in β cell function, growth, and survival. *Trends Endocrinol Metab.* 27: 12: 844-855.
55. Méndez-Tepepa M, Zepeda-Pérez D, Nicolás-Toledo L, Arteaga-Casteñeda L, Gutiérrez-Ospina G, Cuevas-Romero E. 2019. Inferring lanosterol functions in the female rabbit reproductive tract based on the immunolocalization of lanosterol 14-demethylase and farnesoid beta-receptor. *Acta Histochemica.* 26: 151472. En prensa.

56. Mietlicki-Baase EG. 2016. Amylin-mediated control of glycemia, energy balance, and cognition. *Physiol Behav.* 162: 130-140.
57. Miki A, Ricordi C, Sakuma Y, Yamamoto T, Misawa R, Mita A, Molano RD, Vaziri ND, Pileggi A, Ichii H. 2018. Divergent antioxidant capacity of human islet cell subsets: a potential cause of beta-cell vulnerability in diabetes and islet transplantation. *PLoS One.* 13: 5.
58. Morales-Miranda A, Robles-Díaz G, Díaz-Sánchez V. 2007. Steroid hormones and pancreas: a new paradigm. *Rev Invest Clin.* 59: 2: 124-129.
59. Moran BM, McKillop AM y O'Harte FP. 2016. Development of novel ligands for peptide GPCRs. *Curr Opin Pharmacol.* 31:57-62.
60. Organización Mundial de la Salud (OMS). 2018. Las 10 principales causas de defunción. Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
61. Otte K, Kranz H, Kober I, Thompson P, Hoefler M, Haubold B, Remmel B, Voss H, Kaiser C, Albers M, Cheruvallath Z, Jackson D, Casari G, Koegl M, Pääbo S, Mous J, Kremoser C, Deuschle U. 2003. Identification of farnesoid X receptor beta as a novel mammalian nuclear receptor sensing lanosterol. *Mol Cell Biol.* 23: 3: 864-872.
62. Park J, Byrd A, Lee C, Morgan E. 2018. Nitric oxide stimulates cellular degradation of human CYP51A1, the highly conserved lanosterol 14 α -demethylase. *Biochem J.* 474: 19: 3241–3252.
63. Pascual A, Aranda A. 2013. Thyroid hormone receptors, cell growth and differentiation. *Biochim Biophys Acta.* 1830: 7: 3908-3916.
64. Paul R, Choudhury A, Choudhury S, Mazumder MK, Borah A. 2016. Cholesterol in pancreatic β -cell death and dysfunction: underlying mechanisms and pathological implications. *Pancreas.* 45: 3: 317-324.
65. Penheiter AR, Deelchand DK, Kittelson E, Damgard SE, Murphy SJ, O'Brien DR, Bamlet WR, Passow MR, Smyrk TC, Couch FJ, Vasmatzis G, Port JD, Marjanska M, Carlson SK. 2018. Identification of a pyruvate-to-lactate signature in pancreatic intraductal papillary mucinous neoplasms. *Pancreat.* 18:1: 46-53.

66. Perego C, Da Dalt L, Pirillo A, Galli A, Catapano A, Norata G. 2019. Cholesterol metabolism, pancreatic β -cell function and diabetes. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 1865: 9: 2149-2156.
67. Popescu IR, Hellboid-Chapman A, Lucas A, Vandewalle B, Dumont J, Bouchaert E, Deudas B, Kerr-Conte J, Caron S, Pattou F, Staels B. 2010. The nuclear receptor FXR is expressed in pancreatic β -cells and protects human islets from lipotoxicity. *Febs letters.* 584: 13: 2845-2851.
68. Punthakee Z, Goldenberg R, Katz P. 2018. Definition, classification and diagnosis of diabetes, prediabetes and metabolic syndrome. *Can J Diabetes.* 42: 1: S10-S15.
69. Rajani C, Jia W. 2018. Bile acids and their effects on diabetes. *Front Med.* 12: 6: 608-623.
70. Rees DO, Crick PJ, Jenkins GJ, Wang Y, Griffiths WJ, Brown TH, Al-Sarireh B. 2017. Comparison of the composition of bile acids in bile of patients with adenocarcinoma of the pancreas and benign disease. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 174: 290-295.
71. Rodríguez-Benítez E. 2019. Efecto del hipotiroidismo sobre las características histológicas y la expresión de insulina de islotes pancreáticos. Tesis de Licenciatura en Química Clínica. En proceso.
72. Rodríguez-Castelán J, Delgado-González E, Rodríguez-Benítez E, Castelán F, Aceves C, Cuevas-Romero E. 2019. Protective effect of moderated dose of iodine in pancreatic alterations during hypothyroidism. *J Endocr Soc.* 3: 1: SAT-561.
73. Rodríguez-Castelán J, Martínez-Gómez M, Castelán F, Cuevas E. 2015a. Hypothyroidism Affects Vascularization and Promotes Immune Cells Infiltration into Pancreatic Islets of Female Rabbits. *Int J Endocrinol.* Article ID 917806.
74. Rodríguez-Castelán J, Nicolás L, Morimoto S, Cuevas E. 2015b. The Langerhans islet of female rabbits are differentially affected by hypothyroidism depending on the islet size. *Endocrin.* 48: 3: 811-817.
75. Rodríguez-Castelán J, Zepeda-Pérez D, Rojas-Juárez R, Aceves-C, Castelán F, Cuevas-Romero E. Hypothyroidism increases the expression of proinsulin and GLUT4, and islet neogenesis associated with estrogens actions in female rabbits. 2. En revisión.

76. Rodríguez-Seguel E, Mah N, Naumann H, Pongrac I, Cerdá-Esteban N, Fontaine J, Wang Y, Chen W, Andrade-Navarro M, Spagnoli F. 2013. Mutually exclusive signaling signatures define the hepatic and pancreatic progenitor cell lineage divergence. *Genes Dev.* 1: 27: 17: 1932-1946.
77. Roland CR, Arumugam T, Deng D, Liu SH, Philip B, Gomez S, Burns WR, Ramachandran V, Wang H, Cruz-Monserrate Z, Logsdon CD. 2014. Cell surface lactate receptor GPR81 is crucial for cancer cell survival. *Cancer Res.* 74: 18: 5301-5310.
78. Ropero AB, Pang Y, Alonso-Magdalena Y, Thomas P, Nadal A. 2012. Role of ER β and GPR30 in the endocrine pancreas: A matter of estrogen dose. *Steroids.* 77: 10: 951-958.
79. Sato T, Shibata W, Maeda S. 2019. Adhesion molecules and pancreatitis. *J Gastroenterol.* 54: 2: 99-107.
80. Schitenhelm B, Wagner R, Kähny V, Peter A, Krippeit-Drews P, Düfer M, Drews G. 2014. Role of FXR in β -Cells of lean and obese mice. *Endocrinology.* 156: 4: 1263-1271.
81. Sehl ME, Ganz PA. 2018. Potential mechanisms of age acceleration caused by estrogen deprivation: Do endocrine therapies carry the same risks?. *JNCI Cancer spectrum.* 2: 3: 1-10.
82. Shimizuguchi R, Kamisawa T, Endo Y, Kikuyama M, Kuruma S, Chiba K, Tabata T, Koizumi S. 2018. Hypothyroidism in patients with autoimmune pancreatitis. *World J Gastrointest Pharmacol Ther.* 9:2:16-21.
83. Sunami Y, Rebelo A, Kleeff J. 2018. Lipid metabolism and lipid droplets in pancreatic cancer and stellate cells. *Cancers.* 10: 1: 3.
84. Szkudlinski MW, Fremont V, Ronin C, Weintraub BD. 2002. Thyroid-stimulating hormone and thyroid-stimulating hormone receptor structure-function relationships. *Physiol Rev.* 82: 473-502.
85. Tsuchiya M, Hosaka M, Moriguchi T, Zhang S, Suda M, Hashimoto HY, Shinozuka K, Takeuchi T. 2010. Cholesterol biosynthesis pathway intermediates and inhibitors regulate glucose-stimulated insulin secretion and secretory granule formation in pancreatic β -cells. *Endocrinology.* 151: 10: 4705–4716.
86. Van Der Spek AH, Fliers E, Boelen A. 2017. The classic pathways of thyroid hormone metabolism. *Mol Cell Endocrinol.* 15: 458: 29-38.

87. Vanderpump MPJ. 2011. The epidemiology of thyroid disease. *Br Med Bull.* 99: 39-51.
88. Vettorazzi JF, Ribeiro RA, Borck PC, Souto Branco RC, Soriano S, Merino B, Boschero AC, Nadal A, Quesada I, Carneiro EM. 2016. The bile acid TUDCA increases glucose-induced insulin secretion via the cAMP/PKA pathway in pancreatic β cells. *Metabolism.* 65: 3: 54–63.
89. Visser WE, Friesema ECH, Visser T. 2011. Minireview: Thyroid hormone transporters: the knowns and the unknowns. *Mol Endocrinol.* 25: 1: 1-14.
90. Wang CY, Zhao L, Hong YP, Mei FC, Zhou Y, Shi Q, Guo WY, Deng WH, Chen C, Yu J, Wang WX. 2018. Serum thyroid hormones levels are significantly decreased in pregnant rats with acute pancreatitis. *Biochem Biophys Res Commun.* 505: 3: 657-663.

11. GLOSARIO DE TÉRMINOS

Apoptosis: Forma de muerte celular programada. La apoptosis retira las células durante el desarrollo, elimina las células infectadas de virus y las potencialmente cancerosas, y mantiene el equilibrio en el organismo.

Beta-oxidación: Proceso catabólico de los ácidos grasos en el cual sufren remoción, mediante la oxidación, de un par de átomos de carbono sucesivamente en cada ciclo del proceso, hasta que el ácido graso se descompone por completo en forma de moléculas acetil-CoA, que serán posteriormente oxidados en la mitocondria para generar energía química en forma de (ATP).

Esteroidogénesis: Conjunto de reacciones metabólicas que hacen posible la síntesis de hormonas esteroideas en un determinado órgano o tejido.

Homeostasis: Mecanismos que mantienen constantes las condiciones del medio interno de un organismo, a pesar de grandes oscilaciones en el medio externo.

Metimazol: Profármaco del tiamizol que interfiere en la síntesis de las hormonas tiroideas, sin ejercer efecto sobre la hormona preformada.

Proliferación: Incremento de la cantidad o el número de algo de forma rápida.