



# Universidad Autónoma de Tlaxcala

---

Posgrado en Ciencias Biológicas

**EFFECTO DEL HIPOTIROIDISMO SOBRE LA  
INMUNOLocalización DEL RECEPTOR ACTIVADO POR  
PROLIFERADORES DE PEROXISOMAS (*PPAR*  $\beta$ ) EN EL PÁNCREAS DE  
LA CONEJA ADULTA**

## TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

Yoselin Hernández Rodríguez

**Directora de tesis**

Dra. Estela Cuevas Romero



# Universidad Autónoma de Tlaxcala

---

Posgrado en Ciencias Biológicas

**EFEECTO DEL HIPOTIROIDISMO SOBRE LA  
INMUNOLocalIZACIÓN DEL RECEPTOR ACTIVADO POR  
PROLIFERADORES DE PEROXISOMAS (*PPAR*  $\beta$ ) EN EL PÁNCREAS DE  
LA CONEJA ADULTA**

## TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

Yoselin Hernández Rodríguez

**Comité Tutoral**

Dra. Estela Cuevas Romero

Dra. Leticia Nicolás Toledo

Dra. Lidya Sumiko Morimoto Martínez



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



COORDINACIÓN MAESTRÍA 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 **Yoselin Hernández Rodríguez** realiza para la obtención del grado de Maestra en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es: **“Efecto del hipotiroidismo sobre la inmunolocalización del receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR $\beta$ ) en el páncreas de la coneja adulta”.**

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
TLAXCALA, TLAX., NOVIEMBRE 18 DE 2016

  
DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO

  
DRA. LETICIA NICOLÁS TOLEDO

DRA. LYDIA SUMIKO MORIMOTO MARTÍNEZ

  
DR. FRANCISCO CASTELÁN

  
DRA. MARGARITA CERVANTES RODRÍGUEZ



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.

## DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS

Dedico esta tesis a las personas más importantes de mi vida:

Por su puesto mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización de la presente tesis:

Gracias a mi hijo Mateo, quien es mi principal motivación y quien me impulsa para superarme, su afecto y cariño son detonantes de mi felicidad, de mi esfuerzo de mis ganas de buscar lo mejor para él. Aun a tu corta edad, me has demostrado el valor de la vida ¡te amo! A mi esposo Juan Fernández por su apoyo, amor, paciencia y comprensión.

Gracias a mi mamá Maribel Rodriguez y mi papá Daniel Hernández por el apoyo incondicional e ilimitado que me brindan en mis decisiones de mi vida, por ser mi motivación y mí ejemplo de fortaleza.

Mis hermanas, Giselle, Daniela y Estrella por estar a mi lado y apoyarme como amigas. Siempre fueron mis confidentes gracias por todo a pesar de peleas somos hermanas y siempre estaremos juntas. A mi sobrino Ángel Daniel y cuñado Miguel Ángel por su compañía.

Dra. Estela Cuevas Romero, gracias por su apoyo cuando más lo necesite, por su dirección, paciencia, orientación y valiosos consejos durante el seguimiento y la supervisión continúa en la presente investigación, y por la motivación. Pero además por permitir culminar mi formación como persona mi más grande admiración, así como sentirme en deuda con ella por todo lo recibido durante el periodo de tiempo que ha durado esta tesis de maestría. Jamás lo hubiera logrado sin usted.

Dra. Leticia Nicolás Toledo Dra. Lidya Sumiko Morimoto Martínez, Dr. Francisco Castelán y Dra. Margarita Cervantes Rodríguez gracias por su tutoría, comentarios, correcciones y sugerencias para el mejoramiento de la presente tesis.

Compañeros de laboratorio: Julia, Adriana, Yadira, Dafne, Marlen, Maribel, Yeimy, Alexis y Cristhian gracias por su apoyo, convivencias y sobre todo por sus ánimos.

Amigos: Arcadio, Patricia, Rosaura, Alejandro y Marlen. Por sus valiosos consejos, momentos divertidos y risas. Gracias por su amistad ¡los quiero!

Al Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta gracias por permitirme formar parte del posgrado y por el apoyo para la realización de la presente tesis. ¡Gracias!

## RESUMEN

El páncreas es un órgano que realiza múltiples funciones metabólicas y homeostáticas. Dicho órgano se compone de células acinares, secretoras de diversas enzimas que son liberadas al intestino delgado para regular el metabolismo, y células de islote capaces de sintetizar diferentes hormonas que participan en el control de los niveles de glucosa. Tanto las células acinares como las de los islotes tienen diversos receptores nucleares como los receptores de hormonas tiroideas (TRs), el receptor de farnesoides (FXR), el receptor X del hígado (LXR) y el receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR), los cuales participan en varios mecanismos celulares, tales como el metabolismo, proliferación y secreción del páncreas.

El subtipo  $\gamma$  del PPAR ha sido relacionado con el proceso inflamatorio observado en pacientes con pancreatitis y diabetes. Mientras que el subtipo  $\beta$  participa en la regeneración del páncreas, en la función endocrina y exocrina de este órgano, y en la regulación del sistema inmune. Por su parte, los TRs regulan la proliferación celular, angiogénesis y los procesos inflamatorios del páncreas. Existe una importante relación entre las hormonas tiroideas y los PPAR. Particularmente, TR $\beta$  compite con PPAR en la unión con el receptor de ácido retinoico (RXR).

En el presente estudio se analizó el efecto del hipotiroidismo sobre la inmunolocalización de PPAR $\beta$  en el páncreas de la coneja adulta. Para ello se utilizaron conejas controles e hipotiroideas (10 mg/kg de metimazol por 30 días). Se extrajeron los páncreas y se procesaron con la técnica de inmunohistoquímica para la detección de PPAR $\beta$ . Encontramos que el hipotiroidismo disminuyó la intensidad de la señal inmunolocalizada de este receptor en acinos pancreáticos, en islotes grandes y medianos, así como en las células del sistema inmune presentes en islotes y acinos. Estos resultados sugieren que los efectos del hipotiroidismo en el páncreas podrían estar mediados por el PPAR $\beta$ .

## ÍNDICE

1.	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1	Generalidades del páncreas .....	1
1.1.1	Función exocrina del páncreas .....	3
1.1.2	Función endocrina del páncreas .....	4
1.1.3	Diferenciación y regeneración del páncreas.....	6
1.1.4	Páncreas y células inmunitarias .....	8
1.2	Generalidades hormonas tiroideas .....	9
1.2.1	Hipotiroidismo .....	12
1.2.2	Hormonas tiroideas y sistema inmune .....	12
1.3	Generalidades del receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR) .....	13
1.3.1	PPAR $\beta$ y páncreas.....	16
1.3.2	PPAR $\beta$ y sistema inmune.....	16
1.3.3	PPAR $\beta$ y hormonas tiroideas .....	17
2.	<b>ANTECEDENTES</b> .....	19
2.1	Hipotiroidismo y páncreas .....	19
3.	<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	21
4.	<b>HIPÓTESIS</b> .....	22
5.	<b>OBJETIVOS</b> .....	22
6.	<b>METODOLOGÍA</b> .....	23
7.	<b>RESULTADOS</b> .....	26
7.1	Inmunoreactividad de PPAR $\beta$ en células acinares .....	26
7.2	Inmunoreactividad de PPAR $\beta$ en células de islotes .....	26
8.	<b>DISCUSIÓN</b> .....	29
8.1	Presencia de PPAR $\beta$ en células pancreáticas .....	29
8.2	Efecto del hipotiroidismo en células acinares .....	29
8.3	Efecto del hipotiroidismo en células de los islotes.....	30
8.4	Regulación de PPAR $\beta$ por hormonas tiroideas .....	31
9.	<b>CONCLUSIONES</b> .....	32
10.	<b>PERSPECTIVAS</b> .....	33
11.	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	34
12.	<b>GLOSARIO</b> .....	42

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Generalidades del páncreas

El páncreas en el humano es un órgano en forma de “J”, suave, lobulada retroperitoneal. Está situado transversalmente a través de la pared abdominal posterior, en la parte posterior de las regiones epigástrica e hipocondrio izquierdo a nivel de la región lumbar de la columna. En los adultos, el páncreas mide de 15-20 cm de largo, 1-1.5 cm de espesor y pesa aproximadamente 90-100 g. El principal conducto pancreático se llama conducto de Wirsung y atraviesa toda la longitud de la glándula. La arteria pancreático-duodenal superior de la arteria gastroduodenal y la arteria pancreático-duodenal inferior de la arteria mesentérica superior, funciona en el contorno cóncavo de la segunda parte del duodeno para abastecer a la cabeza del páncreas (Uma y cols. 2013; figura 1). De acuerdo con sus características anatómicas, el páncreas se puede dividir en 3 partes principales, cabeza, cuerpo y cola, no hay fronteras claras entre estas partes. Generalmente, la cabeza del páncreas es una pieza en forma de C-alineado con la curvatura superior del duodeno. El cuerpo estrecho plano del páncreas se encuentra debajo del estómago que se extiende casi horizontalmente en el plano medial. Se cruza con la arteria mesentérica superior y la vena, aorta abdominal, vena cava inferior y la vena portal. La cola del páncreas toca el hilio del bazo. El páncreas está rodeado por una cápsula fibrosa de la cual, tabiques de tejido conectivo se extienden en la glándula dividiendo su parénquima en lóbulos y lobulillos (Jurij y cols. 2015; figura 1). En roedores, el páncreas es una glándula irregular, difusa y arborescente, que cruza transversalmente la pared posterior del abdomen. Se encuentra ubicada detrás del estómago, entre el bazo (lado izquierdo) y del duodeno (lado derecho) se encuentra debajo del hígado, por arriba del duodeno y esta sostenido por tejido adiposo. Se compone en dos porciones: lóbulo derecho y lóbulo izquierdo (Brewer 2006).

Independientemente de la especie animal, el páncreas es un órgano que realiza múltiples funciones metabólicas y homeostáticas. El tejido exocrino de este órgano asciende a 96-99%

de volumen total de páncreas (figura 1). Cada lóbulo del páncreas se compone de varios lobulillos. Su tamaño es proporcional al tamaño del organismo. En humanos, los lóbulos miden 1-10 mm de diámetro. Cada lóbulo pancreático se compone de estructuras llamadas acinos. Un acino es un grupo de células piramidales que forman una estructura en forma de cúpula que canaliza las secreciones de polos apicales de las células acinares en el lumen de lo que se llama un conducto de intercalado. Los conductos intercalares drenan en conductos intralobulillares (ubicados dentro de los lóbulos) y éstos, al salir de los lóbulos, drenan en conductos interlobulares de mayor diámetro (que se encuentra entre los lóbulos; figura 1). La principal función de los acinos es sintetizar y secretar enzimas en el tracto digestivo (Reichert y cols. 2011).

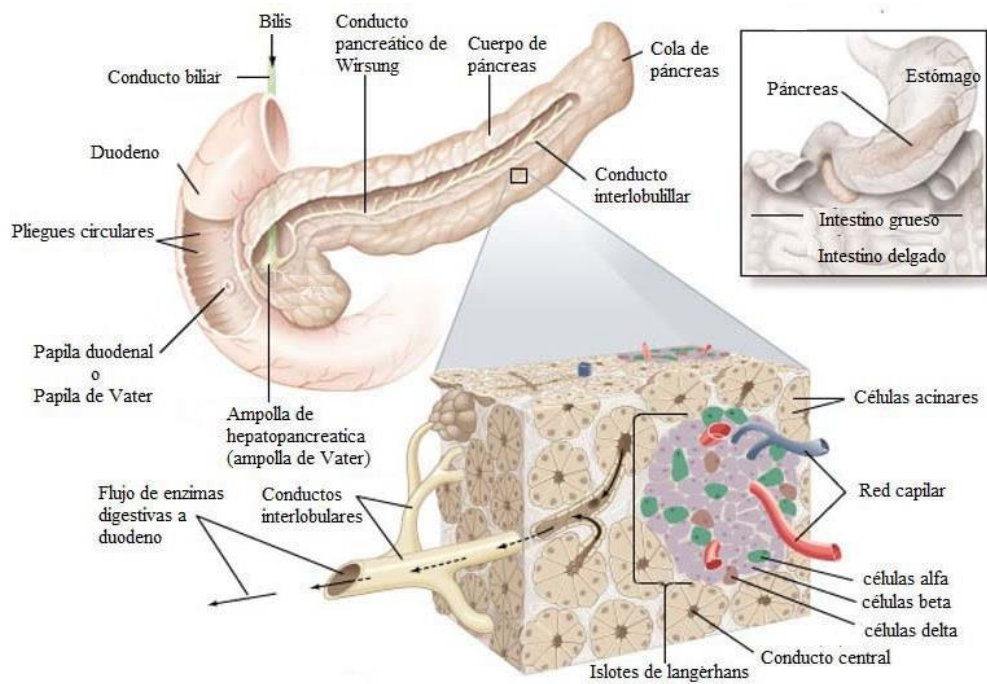


Figura 1. Anatomía e histología del páncreas humano. Se muestra la ampliación de una porción de páncreas que revela los lóbulos e islotes de Langerhans, basado en la formación del islote la zona de células  $\beta$  que sintetizan y secretan insulina, células alfa secretan glucagón, células delta y las células PP que secretan somatostatina y polipéptido pancreático (modificada de Jurij y cols. 2015).

En su función endócrina, el páncreas juega un rol importante en el control del metabolismo carbohidratos, lípidos y proteínas por la interacción de diversas hormonas, que son secretadas por los islotes pancreáticos de Langerhans. Estos ocupan el 1-4% restante de volumen total de páncreas. Los islotes tienen formas circulares e irregulares (Rupnik y cols. 2009),



contienen células  $\beta$  que constituyen el 60- 80% de las células en los islotes su función es sintetizan y secretan insulina. También contienen células alfa (20-40%) que secretan glucagón. Dentro de los islotes, se localizan células delta y las células que liberan somatostatina y polipéptido pancreático, respectivamente (Kim y cols. 2009; figura 1).

### **1.1.1 Función exocrina del páncreas**

La función exocrina del páncreas está dada por las células de los acinos pancreáticos, que son más abundantes y tiene una forma redonda u oval con una única capa de células epiteliales piramidales. Posee un sistema de conductos excretores que comprende conductos intercalares que van desde el centro del acino. Este sistema vierte su secreción en conductos intralobulillares que comunican a las diferentes conformaciones acinares de un mismo tabique. Estos últimos conductos se comunican con los conductos interlobulillares para verter su secreción en los ductos principal Wirsung o en Santorini. El conducto de Wirsung tiene su origen en la cola del páncreas, atraviesa el cuerpo y sale por la cabeza del mismo órgano, tiene la función de recoger el jugo pancreático y secretarlo por el colédoco. Por su parte, el conducto de Santorini tiene la misma actividad solo que únicamente en la porción de la cabeza del páncreas (Yule 2010). Las células acinares tienen la función de secretar jugo pancreático que contiene enzimas que degradan los carbohidratos, lípidos y proteínas de la dieta. Las diferentes enzimas son: tripsina, quimiotripsina y carboxipeptidasas que degradan proteínas. Además está la amilasa pancreática que hidroliza los carbohidratos como almidón o glucógeno, en disacáridos; y la lipasa pancreática que degrada los triacilglicéridos, ácidos grasos y glicerol (Hayashi y cols. 2016).

Los factores que regulan las funciones exocrinas del páncreas son diversos. A continuación describiremos los factores nerviosos y hormonales. La secreción de las células acinares es regulada por estímulos colinérgicos. La acetilcolina al activar a receptores muscarínicos en el páncreas aumenta la liberación de enzimas pancreáticas. El agonista de serotonina (5-HT) estimula la secreción exocrina del páncreas (Chandra y cols. 2009). La serotonina y la colecistoquinina (CCK) estimula las vías colinérgicas vagales, la secreción exocrina del páncreas (Chandra y cols. 2014). La secreción de las células acinares está regula por hormonas como la CCK que aumenta a la secreción de enzimas pancreáticas mediante la

activación de la proteína quinasa C. Por su parte, la secretina aumenta la cantidad de jugo pancreático. Los receptores de melatonina estimulan la secreción de enzimas pancreáticas. Mientras que la grelina aumenta la secreción de amilasa (Cleveland y cols. 2012; Satoh y cols. 2016).

Además de los factores ya descritos, la síntesis y secreción de enzimas pancreáticas depende de la dieta. En condiciones normales, las principales enzimas pancreáticas actúan simultáneamente al disminuir el quimo. La amilasa y la lipasa pancreática disminuyen su actividad por ausencia de lípidos. Mientras que la ingesta de lípidos estimula la secreción de la lipasa pancreática (Pezzilli y cols. 2013). Así, los ácidos grasos monoinsaturados mantienen la microestructura del páncreas y la función exocrina (González y cols. 2015). Además, la ingesta alta y prolongada de ácidos grasos conduce a la hipertrigliceridemia y ocasiona pancreatitis<sup>1</sup>, cáncer de páncreas<sup>2</sup> y la infiltración de grasa alrededor del páncreas (Xian y cols. 2003). Por su parte, la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados causa una elevación de marcadores de estrés oxidativo<sup>3</sup> en acinos pancreáticos. La dieta alta en grasas induce pancreatitis y aumento de la apoptosis de las células acinares. En animales alimentados con ácidos grasos poliinsaturados desarrollan fibrosis en acinos pancreáticos e infiltración de macrófagos (González y cols. 2015).

### **1.1.2 Función endocrina del páncreas**

La función endocrina de páncreas está dada por los islotes de Langerhans que poseen cuatro tipo de células distintas como las células  $\beta$  que secretan insulina y péptido amiloide, las células  $\alpha$  que secretan glucagón, las células  $\delta$  que secretan somatostatina y las células que secretan polipéptido pancreático (PP; Brewer 2006). Las células están interrelacionadas. De manera que, la secreción de un tipo de célula regula de manera paracrina la secreción de las células adjuntas. La somatostatina, secretada por las células  $\delta$ , regula la función de las células  $\alpha$  y  $\beta$  afectando la síntesis de glucagón e insulina. Esta acción la lleva a cabo a través de los receptores de somatostatina localizados en las células cercanas. También la insulina

---

<sup>1</sup> Ver glosario

<sup>2</sup> Ver glosario

<sup>3</sup> Ver glosario

regula la secreción de glucagón por la células  $\alpha$ . El glucagón actúa sobre el hígado para regular la producción de glucosa en casos de estrés o hipoglucemia (Taborsky 2010). Los niveles de glucosa regulan la viabilidad y actividad de todos los tipos de células pancreáticas (Wei y cols. 2009). Las células  $\beta$  secretan insulina y polipéptido amiloide, el cual regula la propia secreción de la insulina y glucagón. La secreción de insulina está regulada por las concentraciones de glucosa en la sangre, así como por hormonas y péptidos (Reinhardt y cols. 2016).

Los factores que regulan las funciones endócrinas del páncreas son diversos, como describiremos a continuación.

**Hormonas secretadas por el islote.** Los receptores de secretina están implicados en la homeostasis de la glucosa al expresarse en las células  $\beta$  del páncreas (Chandra y cols 2014). Mientras que las bajas concentraciones de grelina inhiben la apertura de los canales de calcio lo cual evita la apertura de vesículas y con ello inhibe la liberación de insulina (Dezaki y cols. 2008). El péptido similar a glucagón (GLP1) en el páncreas, estimula la secreción de insulina mediada por la proteína quinasa activada por adenosín monofosfato (AMP). El glucagón y la somatostatina inhiben la secreción de insulina uniéndose a sus receptores específicos receptores en las células  $\beta$  (Yu y cols. 2007).

**Otras hormonas.** La hormonas adrenalina y noradrenalina inhiben la secreción de insulina uniéndose a receptores adrenérgicos en las células  $\beta$  (Chandra y cols. 2014). La secreción de adrenocorticotropina mejora la liberación de insulina mediante los receptores de arginina vasopresina (Chandra y cols. 2009). En el páncreas de ratas se ha identificado la angiotensina tipo 1 y el receptor a angiotensina tipo 1, quien tras la unión de su ligando regula la secreción de insulina (Keung y cols. 2008). La administración de testosterona en cultivos primarios de islotes pancreáticos aumenta la expresión del gen de la insulina y la secreción de esta hormona (Morimoto y cols. 2001). El efecto de la progesterona sobre células  $\beta$  pancreáticas también se ha estudiado in vitro, y se ha encontrado que estimula la proliferación de células  $\alpha$  y  $\beta$  aumenta la secreción de insulina y activa la expresión de glucoquinasa (Shao y cols. 2004). Por su parte, el estradiol aumenta la viabilidad celular, favorece la proliferación de células alfa y beta de los islotes y la secreción de insulina (Nadal y cols. 2004).

**Dieta lipídica.** La secreción de insulina también es promovida por ácidos grasos libres insaturados, los cuales en condiciones normales estimulan la síntesis de insulina por la despolarización de las células pancreáticas, y de forma crónica la inhiben. Así, los ácidos grasos poliinsaturados conservan y mejoran la secreción de insulina. Estudios en ratas obesas e hipertensas alimentadas con una dieta alta en carbohidratos han demostrado que la suplementación de ácidos grasos esenciales, como el ácido linoleico (ALA), ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) durante 8 semanas, mejora la sensibilidad a la insulina (Bhaswant y cols. 2015). Además, la administración de ALA induce la secreción de insulina de las células  $\beta$  a través de un mecanismo mediado por el GLP1 (Bhaswant y cols. 2015). En los islotes aislados de ratas, ALA induce la secreción de insulina de manera similar con la glucosa (Bhaswant y cols. 2015). Además, niveles elevados en plasma del ácido 9-Hydroxyoctadecadienoico (9-HODE), 13-hidroxi octadecanoico (13-HODE) y ácido palmítico, en conjunto con altos niveles de glucosa, son indicadores de lipoperoxidación. Los efectos citotóxicos de los ácidos grasos saturados elevados en las células  $\beta$  generan altos niveles de peróxido de hidrogeno y una actividad reducida de enzimas antioxidantes (Gehrmann y cols. 2010). En ratas, la apoptosis de células  $\beta$  fue inducida con ácido palmítico y glucosa generando susceptibilidad de estas células a la glucotoxicidad y al estrés oxidativo (Gehrmann y cols. 2010; López y cols. 2014; Cohen y cols. 2015).

### **1.1.3 Diferenciación y regeneración del páncreas**

El desarrollo del páncreas está regulado por diversas moléculas y factores de transcripción. En el páncreas, los factores de transcripción se expresan como la caja pancreática duodenal (PDX1) y neurogenina (ngn3) figura 2; Edlund 2001; Murtaugh y cols. 2015). Todas las células pancreáticas (tejido endocrino y exocrino) se derivan a partir del endodermo y células epiteliales (Edlund 2001). Las células embrionarias son diferenciadas mediante factores de transcripción como PDX1 y ngn3. Las células endocrinas diferenciadas se acumulan en los conductos y vasos sanguíneos generando los islotes pancreáticos (George 2009). Consisten en las células  $\beta$ , células  $\alpha$ , células  $\gamma$  y las células productoras de somastatina (George 2009).

El páncreas adulto conserva una capacidad limitada para generar nuevas células  $\beta$ , ya que existen células progenitoras que expresan nestina<sup>4</sup> en las células de los islotes, conductos pancreáticos y células  $\alpha$  (Wu y cols. 2013). Por su parte, las células  $\alpha$  también se pueden generar a partir de los conductos pancreáticos (Weir y cols. 2001). En condiciones patológicas, la conversión de células  $\alpha$  en células  $\beta$ , después de la pérdida extrema de células  $\beta$  y la diferenciación de células exocrinas a células  $\beta$  ocurre por la participación de factores de transcripción como *ngn3* y *PDX1* (Wu y cols. 2013). Otros estudios reportan que las células  $\beta$  se generan a través de la replicación después de la ligadura parcial del conducto pancreático, pero algunas derivan de tejido acinar y el conducto ductal, aparentemente, a través de *ngn3* (Li y cols. 2010; Yuchi y cols. 2015). La regeneración del páncreas. En condiciones normales ocurre por mecanismo de reprogramación donde las células beta pueden regenerarse por la replicación de células beta pre-existentes sino también a través de la conversión de las células exocrinas (Kordowich y cols. 2011). En procesos patológicos como en la pancreatitis, el páncreas activa los mecanismos protectores de las células epiteliales, tales como la muerte celular y un incremento de la proliferación para regenerar el parénquima perdido. Los anteriores mecanismos, si bien pueden tener función benéfica al tratar de regenerar el órgano, también producen un incremento en el recambio celular, lo que favorece la acumulación de daños de ADN, provocando un incremento en posibles mutaciones de algunas células (Jura y cols. 2005). Mientras que en adultos, la regeneración del tejido exocrino está regulada por células acinares, células epiteliales ductales, células inmunes y fibroblastos. Existen tres mecanismo que regulan la proliferación del tejido exocrino del páncreas: en primer lugar, en procesos patológicos como en la pancreatitis, la regeneración del tejido exocrino del páncreas está mediando por la proliferación de células supervivientes acinares (neogénesis). En la pérdida parcial del páncreas (pancreatectomía), la regeneración de las células depende de la diferenciación de las células epiteliales ductales e células acinares. Después de una lesión del páncreas, la regeneración del tejido exocrino es por la metaplasia<sup>5</sup> de células acinares a ductuales. (Cleveland y cols. 2012).

---

<sup>4</sup> Ver glosario

<sup>5</sup> Ver glosario

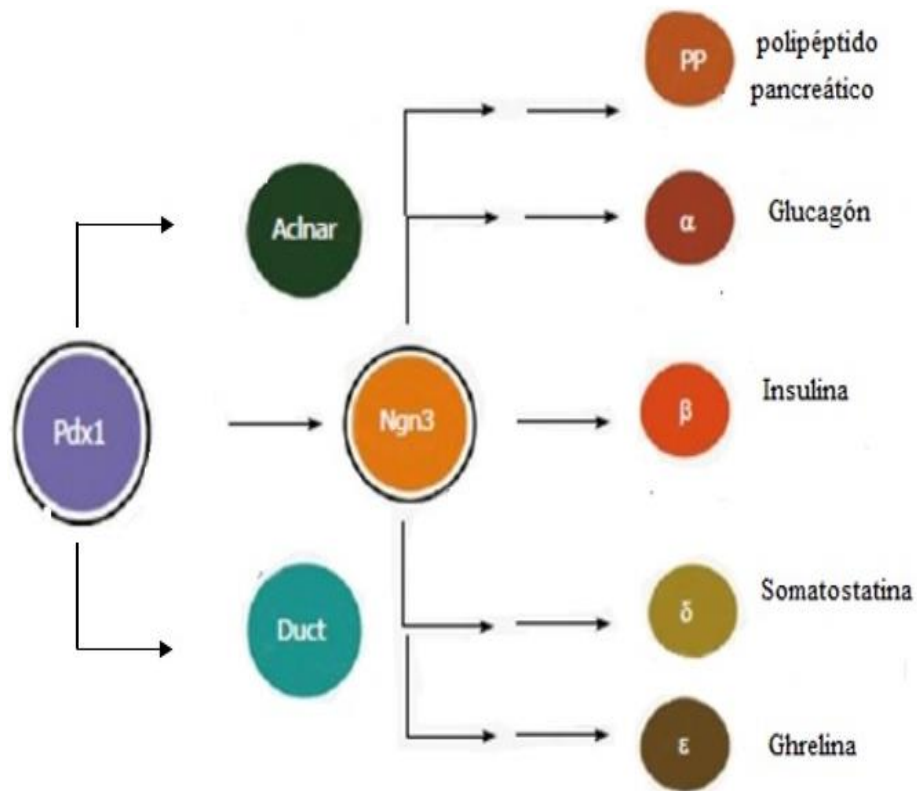


Figura 2. El desarrollo del páncreas. Las células pancreáticas se forman durante la etapa embrionaria, provienen de células endodérmicas que son diferenciadas por factores de transcripción como la proteína de la caja pancreática duodenal (PDX1) dando lugar a células progenitoras como exocrinas y epitelio ductal. Posteriormente, la expresión de neurogenina (ngn3) diferencia en cinco tipos de células de los islotes:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ , polipéptido pancreático (PP) y  $\epsilon$  (ghrelina) (modificada de Fang y cols. 2015).

### 1.1.4 Páncreas y células inmunitarias

En el páncreas, el sistema inmune es capaz de iniciar una respuesta patógena, al mismo tiempo debe proteger al páncreas de agentes infecciosos. Los macrófagos anti-inflamatorios, llamados macrófagos tipo 2 (M2), se encuentran dentro del mesénquima y mejoran el desarrollo del páncreas. Los neutrófilos son los más abundantes y se encargan de modular al sistema inmune. Mientras que los linfocitos T regulan la inflamación de los islotes pancreáticos (Mahne y cols. 2015). Los macrófagos secretan quimiocinas como las interleucinas (IL) IL-1 $\beta$ , IL-6 y IL-10; los neutrófilos secretan factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) y IL-8; y los linfocitos secretan IL-6 y IL-10. Las quimiocinas secretadas por las células del sistema inmune provocan inflamación, necrosis y disminución de factores de transcripción para el desarrollo del páncreas como PDX1 (Dygai y cols. 2016). Mientras que

en los acinos pancreáticos, en procesos patológicos como pancreatitis, las citocinas inflamatorias como el  $\text{TNF}\alpha$ , secretadas por macrófagos, son inductores de la reprogramación de las células acinares a células ductales (metaplasia) ocasionado cáncer de páncreas (Liou y cols. 2013). La polarización de macrófagos tipo 1 (M1), considerados anti-inflamatorios, participan en la remodelación del tejido exocrino en presencia de inflamación (Liou y cols. 2015). La infiltración de neutrófilos en acinos pancreáticos en respuesta a procesos inflamatorios ocasiona vacuolización de las células y necrosis (Frossard y cols. 1999). En respuesta a procesos patológicos, como la pancreatitis y cáncer de páncreas, los linfocitos cursan un proceso de apoptosis debido a la expresión del receptor fas (DC9; Pinhu y cols. 2014).

## **1.2 Generalidades hormonas tiroideas**

Las hormonas tetrayodotironina (T4), triyodotironina (T3) son secretadas por los tirocitos (rodeado por una sola capa de células foliculares y lleno de material proteico tipo coloide) que conforman la glándula tiroidea que está situada en la región anterior del cuello. Se compone de dos lóbulos laterales conectados por un puente de tejido llamado istmo tiroideo. Durante la síntesis de hormonas, los tirocitos realizan funciones especializadas, tales como captar el yoduro mediante transportadores de yodo soluble, transportarlo desde la membrana basal hacia la membrana apical de la célula mediante el transportador  $\text{Na}^+/\text{T}$ , donde el yoduro sale al coloide por la proteína pendrina localizada en la membrana apical del tirocito. Consecuentemente se produce la oxidación del yodo (debido al peróxido de hidrógeno) por acción del enzima específica denominada tiroperoxidasa (TPO), así el yoduro se incorpora a la tiroglobulina mediante la TPO para producir yodotirosinas, monoyodotirosinas y diyodotirosinas, moléculas que forman a las hormonas tiroideas. Las hormonas tiroideas, una vez sintetizadas y para que realicen su mecanismo de acción, son transportadas al torrente sanguíneo por proteínas como la globulina fijadora de tiroxina, transtirrenina y albúmina (Bizhanova y Kopp 2009). La homeostasis de las hormonas tiroideas ocurre mediante el mecanismo de retroalimentación del hipotálamo-adenohipófisis-tiroideas. El hipotálamo secreta la hormona liberadora de tirotropina (TRH), que estimula la síntesis y secreción de la hormona estimulante de la tiroidea (TSH) en la adenohipófisis. La

TSH a su vez estimula a la glándula tiroides para que sintetice T4 y T3 (Kyriacou y cols.2015; figura 3).

Las hormonas tiroideas son sintetizadas y metabolizadas con ayuda de las enzimas desyodasas. La desyodasa tipo 1 (D1) se expresa en el hígado, endometrio y riñón; la D2 en el tejido adiposo, placenta, sistema nervioso central y endometrio<sup>6</sup>; y la D3 que es expresada en la placenta, sistema nervioso central y endometrio. Estas enzimas forman a las hormonas tiroideas mediante dos vías: la D1 y D2 eliminan un ion yoduro de la posición 5' del anillo fenólico de la molécula T4 para formar T3 y la otra vía conocida como T3 reversa o T3 inactiva, donde la D3 cataliza un ion yoduro de la posición 3 del anillo tirosil generando diyodotirosina a partir de la T3. Por su parte la T4 se convierte en la hormona activa T3, por monodesyodación de la enzima específica D3 (Bianco y Kim 2006; Figura 3).

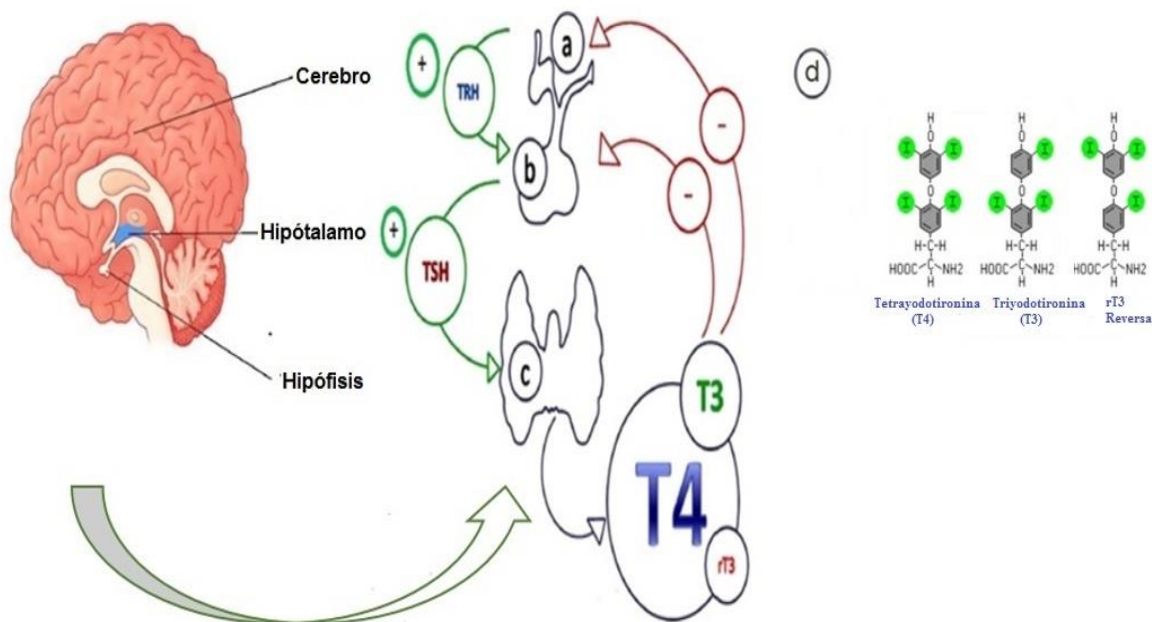


Figura 3. Mecanismo de regulación de la síntesis de hormonas tiroideas. Cuando la T3 y T4 se encuentran disminuidas, aumenta la secreción de hormona estimulante de la tiroides o tiotropina (TRH) por parte del hipotálamo (a). Esta hormona favorece la secreción de hormona estimulante de tiroides o tiotropina (TSH) secretada por hipófisis anterior (b) estimulando la síntesis de hormonas tiroideas (T3 y T4) producida por la glándula tiroides (c). Una vez alcanzando los niveles óptimos se interrumpe la señal y se deja de secretar TRH (modificada de Kyriacou y cols. 2015).



En la célula, el mecanismo de acción de las hormonas tiroideas depende principalmente de la unión a sus ligandos nucleares específicos (receptores de hormonas tiroideas, TRs). Dichas hormonas actúan principalmente a través de sus receptores nucleares TR $\alpha$  y TR $\beta$  que se expresan diferencialmente en los tejidos. Las hormonas tiroideas son introducidas a la célula por acción de sus transportadores (monocarboxilato 8, proteínas transportadoras de aniones orgánicos y la proteína G), para posteriormente unirse a sus TRs. Los TRs unidos como heterodímeros al receptor del ácido retinoico (RXR), activan un fragmento de ADN donde se inicia la transcripción o bloqueo de un gen. Este mecanismo es conocido como activación del elemento de respuesta a hormonas tiroideas (TRE) presente en algunos genes (Brix y cols. 2011; Pascual y Aranda 2012; Figura 4).

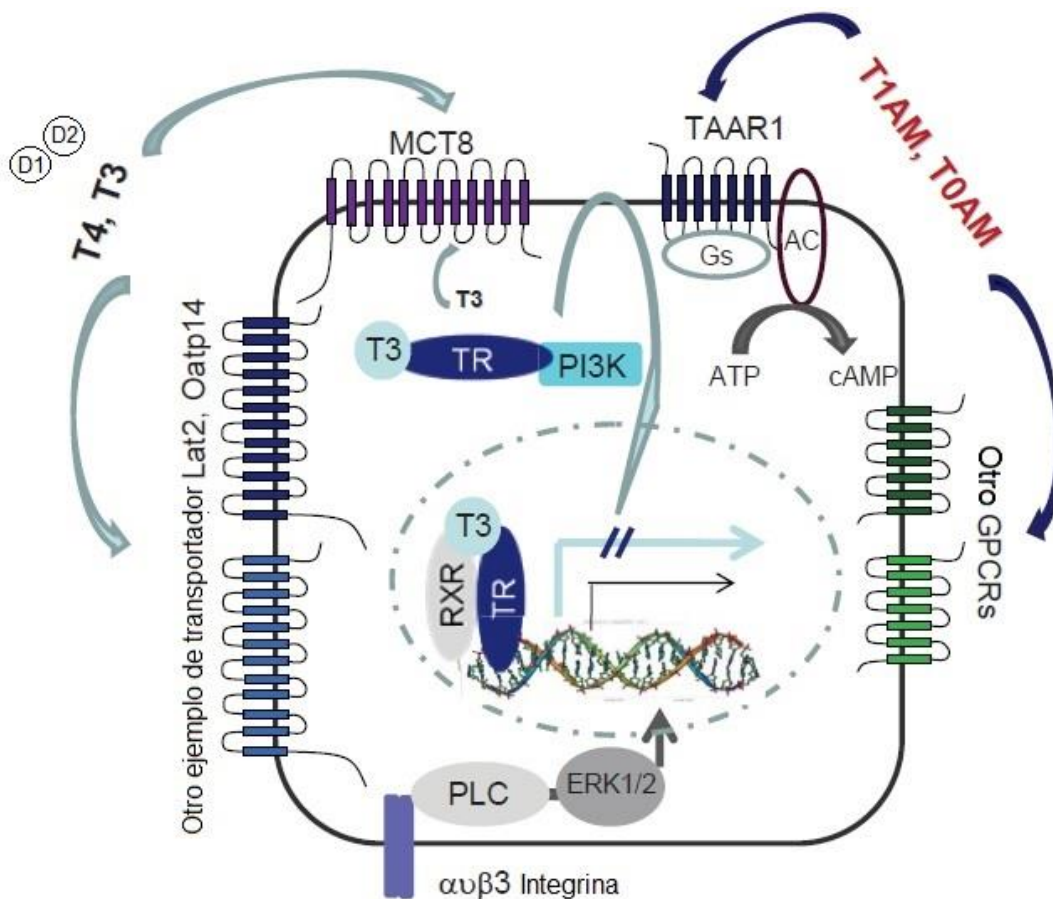


Figura 4. Mecanismo de acción de los receptores y transportadores de hormonas tiroideas. Las hormonas T3 y T4 entran a la célula a través de las proteínas transportadoras (monocarboxilato, OATs, integrinas y proteína G). Dentro de las células, las D1 y D2 convierten la T4 en la forma principal de la 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 de la transcripción del gen (modificada de Brix y cols. 2011).

### **1.2.1 Hipotiroidismo**

Existe dos patologías relacionadas con la inadecuada función de la glándula tiroidea: hipertiroidismo e hipotiroidismo. El déficit de las hormonas tiroideas es conocido como hipotiroidismo, se define como el resultado de una producción inadecuada de la hormona tiroidea o la acción inadecuada de la misma en los tejidos diana. Un nivel elevado de TSH en suero elevada con niveles bajos de hormonas tiroideas. Estos niveles de hormonas tiroideas afecta a alrededor del 3% de los hombres y el 8% de las mujeres, respectivamente (Kyriacou y cols. 2015). Esta patología ocasiona un metabolismo lento y, por lo tanto, la manifestación de síntomas como aumento de peso, fatiga, bocio, depresión, fatiga, piel reseca, alopecia, esterilidad, falla cardíaca, anemia y dislipidemias (Franklyn 2013).

Las causas del hipotiroidismo son numerosas, entre ellas el consumo disminuido de yodo, exposición a radiaciones, anomalías congénitas y presencia de anticuerpos anti-tiroideos principalmente anti-peroxidasa (TPOab) o anti-tiroglobulina (TGAb) (Takasu y Yoshimura 2008).

### **1.2.2 Hormonas tiroideas y sistema inmune**

Las hormonas tiroideas son moduladoras de la respuesta inmune tales como quimiotaxis, fagocitosis, la generación especies reactivas de oxígeno, citoquinas en monocitos, macrófagos, leucocitos y linfocito (De vito y cols. 2011). En el hipotiroidismo inducido con metimazol aumenta la infiltración de células del sistema inmune en acinos pancreáticos y, afecta la función de los islotes (Rodriguez- Castelan 2015;A). El efecto del hipotiroidismo, aumenta la expresión de moléculas proinflamatorias tales como proteína inflamatoria de macrófagos M1 y la interleucina-1 $\beta$  (De vito y cols. 2011).

### **1.3 Generalidades del receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR)**

Los PPAR comprenden tres isotipos PPAR $\alpha$  (NR1C1),  $\beta$  (NUC1, NR1C2) y  $\gamma$  (NR1C3) codificadas por distintos genes, situados en los cromosomas 22, 6, y 3, respectivamente, se expresa en humanos y mamíferos (Bogacka y cols. 2015). Los PPAR tienen una estructura de cuatro dominios funcionales. El dominio N-terminal independiente de ligando (transactivación) (A/B de dominio). El dominio de unión de ADN (DBD o dominio C). La región bisagra (dominio D) y el dominio carboxi-terminal o AF-2, que incluye el dominio de unión al ligando y el dominio de trans-activación dependiente de ligando (ver figura 5A). Para ser transcripcionalmente activo, los PPAR necesitan heterodimerizarse con el receptor del ácido 9-cis retinoico (RXR). El heterodímero PPAR-RXR se unen a elementos de respuesta de proliferadores de peroxisomas (PPRE) situados en las regiones promotoras de sus genes diana, lo que aumenta la transcripción de dichos genes de una manera dependiente de ligando (trans-activación) (ver figura 5B). En ausencia de ligando, se forma el heterodímero PPAR-RXR y proteínas co-represoras nucleares, tales como el receptor co-represor nuclear (NCoR1), el mediador de silenciamiento del ácido retinoico y del receptor de hormonas tiroideas (SMRT), que bloquean la activación de la transcripción secuestrando el heterodímero promotor (Vázquez y cols. 2016). La unión del ligando a PPAR induce un cambio conformacional que resulta en la disociación de las proteínas co-represor, de modo que el heterodímero PPAR-RXR continua y puede unirse a elemento de respuesta de proliferadores de peroxisoma (PPRE). La regulación de la transcripción de genes por los PPAR se extiende más allá de su capacidad de trans-activación de genes específicos de una manera dependiente del agonista. También los PPAR regulan la expresión génica de forma independiente de la unión a PPRE (Palomer y cols. 2016; Vázquez y cols. 2016).

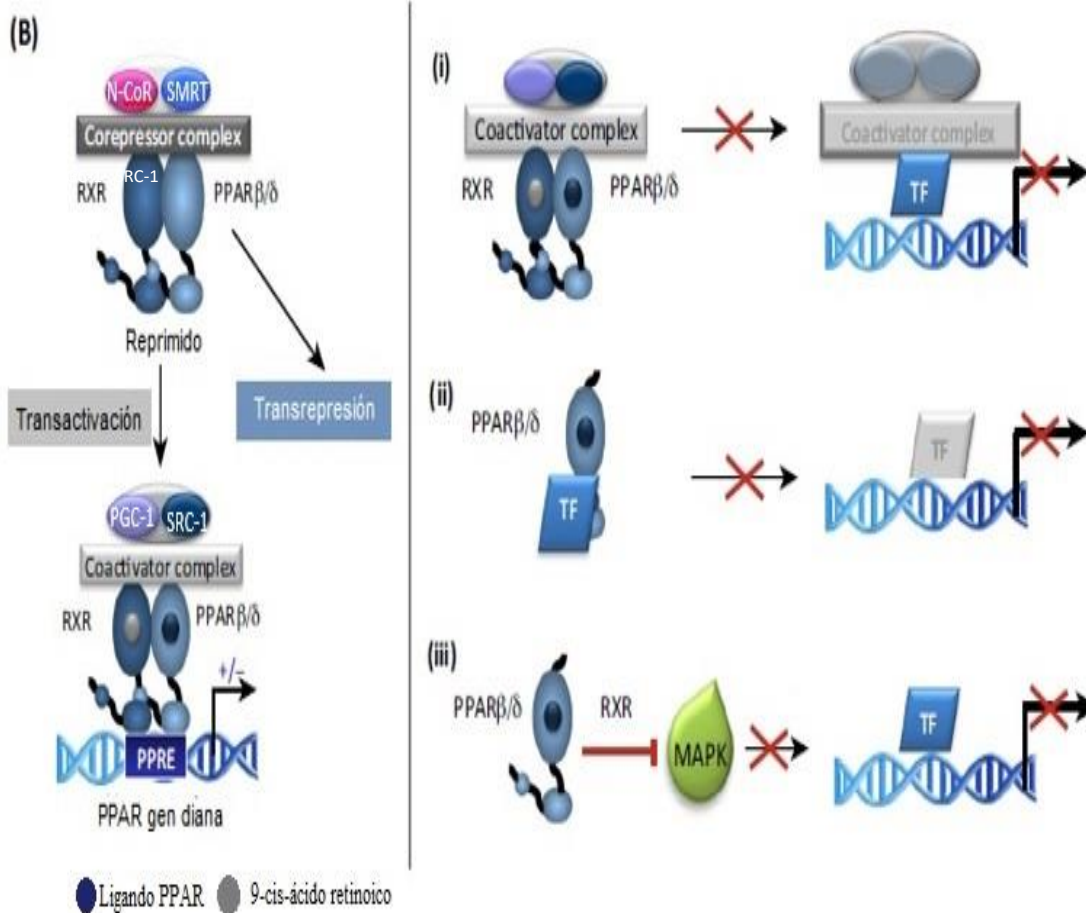
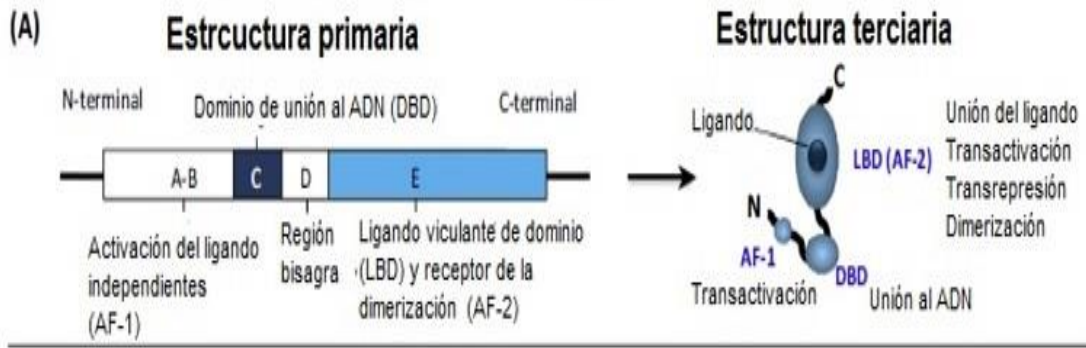


Figura 5. Estructura y función de los PPAR $\beta$ . (A) Se muestran las estructuras primarias y terciarias de PPAR. El dominio de unión a ligando (LBD) contiene funciones de trans-activación, trans-represión, y de dimerización. (B) Se muestran los modos de trans-activación y trans-represión por el heterodímero PPAR-RXR. Se muestran los tres mecanismos diferentes de la trans-activación (modificada de Palomer y cols. 2016).

Los tres isotipos de PPAR tienen tanto ligandos naturales como sintéticos (Figura 5); para PPAR $\alpha$  incluyen ácidos grasos insaturados como leucotrienos, ácido hidroxieicosatetraicoico y fármacos hipolipemiantes y sintéticos como fibratos. Los ligandos de PPAR $\beta$  son menos conocidos pero se han reportado los ácidos grasos libres mientras que los ligandos sintéticos de PPAR $\beta$  son ácido tetradeciltioacetico y Cardarine (GW501516) (L-165,041). Para PPAR $\gamma$ , los ligando son acidos grasos poliinsaturados mientras que los ligandos sintéticos son rosiglitazonas y pioglitazona de la clase de las tiazolidinedionas (Changxue y cols. 2010).

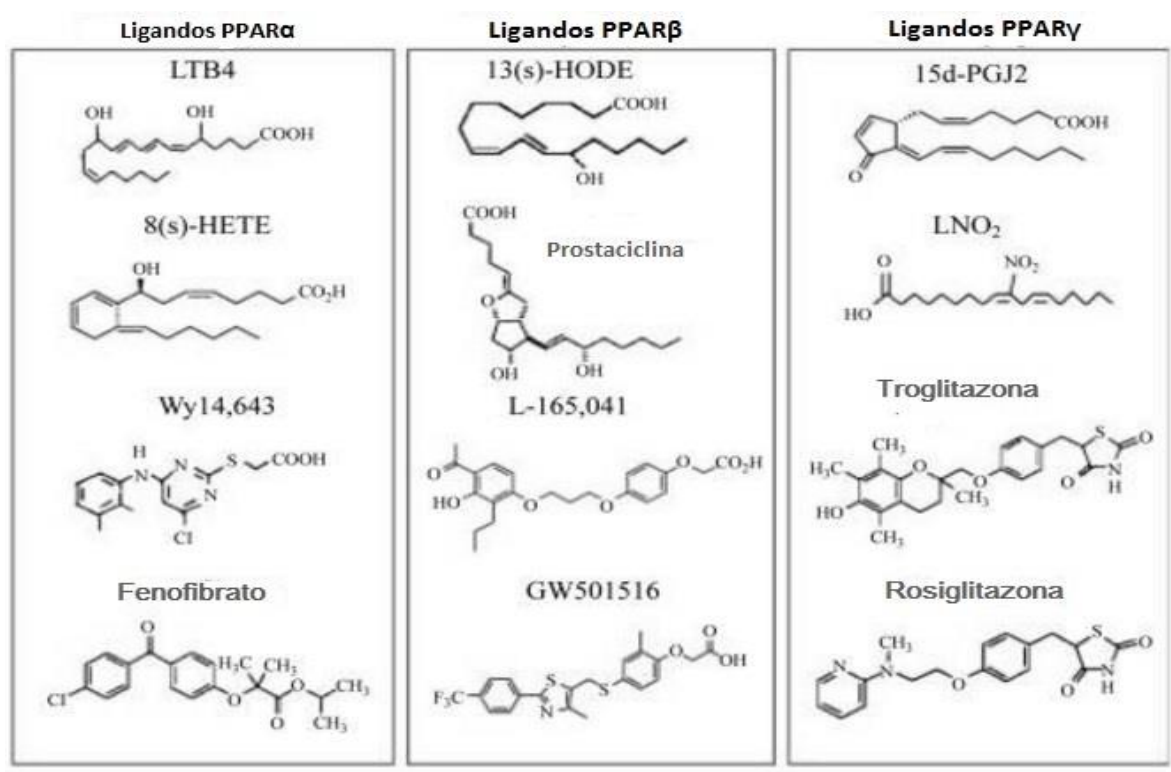


Figura 6. Estructuras de ligandos sintéticos de PPAR. Las estructuras químicas de los tres ligandos para los tres isotipos de PPAR. Los ligando sintéticos de PPAR $\alpha$ . leucotrieno (LTB4) ácido hidroxieicosatetraicoico (8- HETE) 4- cloro- 6- [(2,3- dimetilfenil) amino] - 2- pirimidinil - ácido acético (WY14643) y fenofibrato. Los ligandos de PPAR $\beta$ : (13-HODE), prostaciclina, ácido tetradeciltioacetico (L-165,041), Cardarine (GW501516). Los ligandos de PPAR $\gamma$ : J2 15-desoxi-Delta-12,14-prostaglandina (15-PGJ2), nitrolinoleate (LNO<sub>2</sub>), Troglitazona y Rosiglitazona (modificada Changxue y cols. 2010).

### **1.3.1 PPAR $\beta$ y páncreas**

El isotipo PPAR $\beta$  se encuentra en el páncreas (Paterniti y cols. 2012). Su activación reduce los niveles de amilasa y lipasa, el contenido de agua, disminuye la expresión de citoquinas pro-inflamatorias e inhibe la apoptosis, al disminuir la expresión de linfoma folicular humano células B (BCL-2) proteínas implicadas en la apoptosis. Así mismo, este receptor disminuye la expresión del radical óxido nítrico (NO) y la formación de nitrotirosina generado por especies reactivas de oxígeno (Paterniti y cols. 2012). En los islotes, la activación del PPAR $\beta$  aumenta la capacidad de oxidación de ácidos grasos en las células  $\beta$ , aumenta la secreción de insulina estimulada por glucosa y protege a los islotes contra los efectos adversos de la exposición prolongada a ácidos grasos (Ravnskjaer y cols. 2009). En ratas con diabetes mellitus tipo 2 inducida, el PPAR $\beta$  potencia la producción de GLP-1 y, por consiguiente, aumenta la secreción de insulina y mejora las concentraciones de glucosa (Daoudi y cols. 2011).

El PPAR $\beta$  protege a las células  $\beta$  pancreáticas de la apoptosis mediante el GLP-1R, en condiciones lipotóxicas (Huang y cols. 2016; Yang y cols. 2015). La activación de PPAR $\beta$  por su ligando GW501516 inhibe la inflamación y la resistencia a la insulina causada por ácidos grasos saturados (ácido palmítico) al bloquear la actividad de unión a ADN de NF- $\kappa$ B (Coll y cols. 2010). Así, el PPAR $\beta$  controla la señalización de macrófagos M2 (Vázquez 2016). Este receptor inhiben la expresión génica de citocinas pro-inflamatorias como el TNF- $\alpha$  - $\gamma$  (Serrano y cols. 2011; Čavojský y cols. 2016).

### **1.3.2 PPAR $\beta$ y sistema inmune**

En los macrófagos, PPAR $\beta$  modula la polarización de los macrófagos residentes a través de la cascada de señalización de la citoquina Th2 y reduce la inflamación. Se ha indicado que agonistas PPAR $\beta$  reprimen la expresión de genes inflamatorios mediante la liberación de la transcripción co-represor BCL-6 en los macrófagos. Además, PPAR $\beta$  ha sido propuesto para atenuar la señalización del receptor de quimioquinas por la inducción de proteínas RGS, que están implicadas en la terminación de la señal de la proteína G. Sin embargo, los mecanismos

que sustentan propiedades anti-inflamatorias de PPAR $\beta$  no han sido completamente entendidos (Tanaka y cols. 2013).

### **1.3.3 PPAR $\beta$ y hormonas tiroideas**

Existe una importante relación entre las hormonas tiroideas y PPAR $\beta$ . Tal relación va en dos direcciones. Por un lado, la activación de PPAR $\beta$  regula la síntesis de hormonas tiroideas, y en sentido opuesto, las hormonas tiroideas regulan a los PPAR (Changxue y cols. 2010). Así tenemos que la regulación recíproca entre PPAR $\beta$  y TRs (Figura 6). PPAR $\beta$  señalizan a través del heterodimerización con RXR, como ya mencionamos anteriormente, los TR $\beta$  compiten con PPAR $\beta$  para la unión con el heterodímero con RXR para reprimir la actividad transcripcional de PPAR $\beta$  (De Lange y cols. 2007; Changxue y cols. 2010). Además, agonistas de PPAR $\beta$  regulan T3 y T4 en circulación y la unión de estas hormonas a sus receptores (Outi y cols. 2006; Jatwa y cols. 2007). El TR $\alpha$  se une al PPRE, inhibiendo la unión de PPAR $\beta$  a PPRE y la formación del heterodímero PPAR-RXR. Además, los TR $\alpha$  estimulan la transactivación por heterodímeros PPAR $\beta$ -RXR (Hunter y cols. 1996) y el mecanismo de la competencia por RXR.

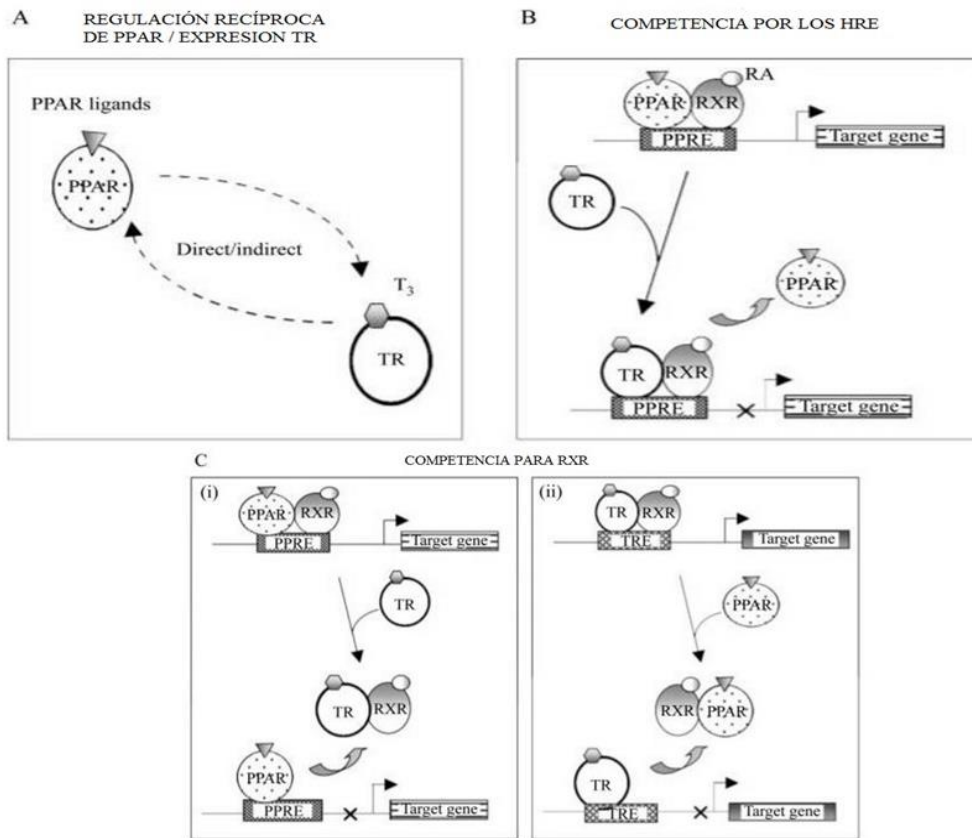


Figura 7. Mecanismos moleculares en PPAR y TR. Se observa (A) la regulación recíproca de la expresión de PPAR y TR. (B) La competencia por la unión de HRE, los TR se unen competitivamente a PPRE de PPAR en genes diana. (C) La competencia por la asociación de RXR. Cualquiera de los TR (i) o PPAR (ii) compiten por la unión a RXR (modificada de Changxue y cols. 2010).



## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Hipotiroidismo y páncreas

**Función exócrina.** En pacientes con hipotiroidismo se ha observado el desarrollo de pancreatitis (De sola y cols. 1998). El hipotiroidismo también disminuye la secreción de las enzimas pancreáticas (Gullo y cols. 1991). En modelos animales, las hormonas tiroideas inducen la diferenciación del páncreas exocrino a células  $\beta$  pancreáticas (Furuya y cols. 2010; Kwalik y cols. 2010; Aiello y cols. 2014). En los islotes de Langerhans, las hormonas tiroideas regulan la proliferación y supervivencia de las células de los islotes, la sensibilidad a la insulina y la síntesis de insulina (Vergara y cols. 2006; Falzacappa y cols. 2010; Oda y cols. 2014). El hipotiroidismo inducido favorece la presencia de adipocitos, aumenta la cantidad de colágeno y proteoglicanos en los septos interlobulares y la infiltración de células del sistema inmune en el tejido exocrino del páncreas y son considerados indicadores de pancreatitis (Rodríguez y cols. 2015). Estudios en ratas han mostrado que el hipotiroidismo causa edema intersticial y reduce el número y tamaño de los gránulos zimógeno (Blanco y cols. 1991).

**Función endócrina.** En pacientes con hipotiroidismo hay una mayor prevalencia de diabetes mellitus tipo 2<sup>7</sup> (Han y cols. 2015). Sin embargo, la acción de las hormonas tiroideas en el metabolismo de carbohidratos es contradictoria. Algunos estudios reportan que en pacientes con hipotiroidismo, los niveles de glucosa e insulina se mantiene normales por lo cual en metabolismo de carbohidratos no se modifica (Nada 2013). Mientras que otros estudios reportan que el hipotiroidismo ocasiona un aumento en las concentraciones de insulina y bajos niveles de glucosa, favoreciendo la aparición de resistencia a la insulina (Kapadia y cols. 2012). Otros autores mencionan que el hipotiroidismo se asocia con el deterioro del metabolismo de la glucosa, y este efecto es acompañado por la reducción de las concentraciones plasmáticas de insulina pero el aumento las concentraciones de glucagón (Handisurya y cols. 2008). Otro estudio reporta que el riesgo de hipotiroidismo incrementa con un mal control de la glucemia, en especial por un aumento de hemoglobina glucosilada

---

<sup>7</sup> Ver glosario

>9%. También el efecto del hipotiroidismo ocasiona resistencia a la insulina ocasionando un deterioro en la disposición de glucosa estimulada por insulina y causa alteraciones en la translocación del transportador de glucosa (GLUT 4) (Cho y cols. 2016). Estudios en animales con hipotiroidismo son igualmente discordantes. Estudios en coneja reportan que el hipotiroidismo no modifica los niveles de glucosa e insulina (Rodríguez-Castelán y cols. 2015a). Mientras que en ratas zucker, el hipotiroidismo promueve niveles bajos de glucosa e insulina (Hwang y cols. 2009). Los animales con hiperglucemia inducida mediante estreptozotocina reportan niveles bajos de hormonas tiroideas y la administración de un tratamiento antidiabético eleva los niveles de hormonas tiroideas (Saravanan y Ponmurugan 2012). A pesar de la falta de cambios en los niveles de glucosa, el hipotiroidismo modifica las características de los islotes afectando la proliferación celular, la vascularización y la infiltración de células inmunes favoreciendo un proceso de insulitis (Farahani y cols. 2013; Rodríguez-Castelán y cols. 2015a; 2015b).

### 3. JUSTIFICACIÓN

- El hipotiroidismo afecta la función de diversos epitelios: aumenta el tamaño de las células epiteliales en oviducto, el contenido de glucógeno, colesterol y disminuye a PPAR $\beta$ , los triglicéridos, aromatasa, y el tamaño de los folículos en todos los estadios en ovario, entre otros. En el páncreas, el hipotiroidismo disminuye el área y diámetro del islote, aumenta la presencia de adipocitos proteoglicanos y la cantidad de colágeno debido a cambios en el metabolismo o función de las células (Hwang y cols. 2009; Ahmed y cols. 2012, Farahani y cols. 2013; Rodriguez- Castelán 2015; B, Rodriguez- Castelán y cols. en proceso).
- En el páncreas, las diversas funciones metabólicas dependen carbohidratos y lípidos. Diversos receptores nucleares (FXR, TR, LXR) participan en varios mecanismos celulares tales como el metabolismo, proliferación y diferenciación (Chiara y cols. 2008, Schittenhelm y cols. 2015). Considerando que existe una estrecha relación entre el PPAR $\beta$  y las hormonas tiroideas en tejidos metabólicos, pues la activación PPAR $\beta$  es modulada por la señalización T3 y receptores de hormonas tiroideas (TR) (De Lange y cols.2007).En el presente estudio, analizamos el efecto del hipotiroidismo en el contenido de células inmunoreactivas a PPAR $\beta$  en páncreas, especialmente por la poca información que se tiene sobre este receptor en este órgano.

#### **4. HIPÓTESIS**

El hipotiroidismo disminuye la expresión del PPAR $\beta$  en tejido pancreático de la coneja adulta.

#### **5. OBJETIVOS**

##### **Objetivo general**

- Determinar el efecto del hipotiroidismo en la inmunolocalización de PPAR $\beta$  en tejido pancreático en conejas adultas.

##### **Objetivos particulares**

- Determinar el impacto del hipotiroidismo en la presencia del PPAR $\beta$  en células de islotes pancreáticos.
- Determinar el impacto del hipotiroidismo en la presencia del PPAR $\beta$  en células inmunes infiltradas en islotes pancreáticos.
- Determinar el impacto del hipotiroidismo en la presencia del PPAR $\beta$  en células acinares.
- Determinar el impacto del hipotiroidismo en la presencia del PPAR $\beta$  en células inmunes infiltradas en los acinos pancreáticos.

## 6. METODOLOGÍA

**Animales.** Se utilizaron conejas adultas de 9-10 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 estaba 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 de 13 meses.

**Inducción de hipotiroidismo.** La inducción del hipotiroidismo se llevó a cabo mediante tratamiento con el fármaco anti-tiroideo metimazol (Sigma), el cual se administró en el agua de bebida a una concentración de 0.02% durante treinta días (Rodríguez-Castelán y cols. 2014). Al término del tratamiento, ambos grupos se pesaron y anestesiaron profundamente con pentobarbital sódico (i.p. 60mg/kg, Pfizer).

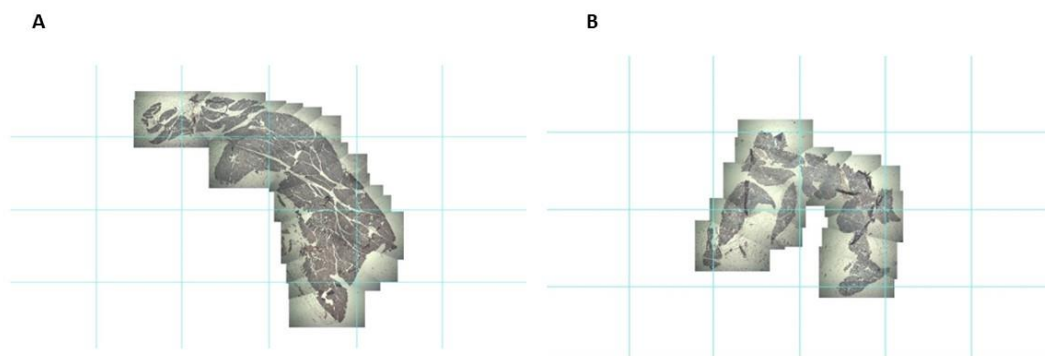
**Histología del páncreas.** Después de la eutanasia con una sobredosis de anestésico, se extrajo el lóbulo derecho del páncreas, y se fijó con la solución de Bouin-Duboscq por 12 h. Se deshidrató con alcoholes en concentración ascendentes (60-100%), y se incluyó en parafina. Se realizaron cortes transversalmente de 5  $\mu$ m con un microtomo y se colocaron 6 cortes por laminilla. Al finalizar los cortes se fijaron con resina y cubrieron con cubreobjetos. Se escogió de la laminilla un corte, tomando en cuenta que no estuviera roto.

**Inmunohistoquímica para PPAR $\beta$ .** Una laminilla por región/coneja fue utilizada para realizar la técnica de inmunohistoquímica, con el método avidina-biotina-peroxidasa (ABC), donde los cortes, ya hidratados, se incubaron en una solución buffer de citratos (pH= 6) durante tres noches. Posteriormente, los cortes se incubaron con el anticuerpo primario (anti-PPAR $\beta$ ; 1:500; Santa Cruz Biotechnology Inc.) en una cámara húmeda a 4°C durante una noche. Seguido de ello, los cortes se incubaron con un anticuerpo secundario anti IgG de cabra, desarrollado en ratón (1:250; Abcam) durante dos horas a temperatura ambiente. Después, los cortes se lavaron con una solución de fosfatos (PBS; pH= 7.2) y se incubaron con el ABC durante 1 h. Después, se realizó el revelado con una solución de diaminobenzidina (DAB) al 0.05% y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3% en PBS hasta obtener el marcaje de las

células. Finalmente, se utilizó la tinción de hematoxilina de Mayer para contrastar el marcaje de los núcleos inmunoreactivos, se deshidrataron los cortes en alcoholes de concentraciones ascendentes y se cubrieron con Cytoseal TM 60 y un cubreobjetos.

**Cuantificación de células acinares PPAR $\beta$  positivas.** Se realizaron reconstrucciones de los cortes de páncreas (ver figura 8). Se utilizó una cuadrícula de 25x25 cm, se seleccionó al azar uno de cada dos cuadrantes. De los cuadrantes seleccionados, se localizaron los islotes y se fotografiaron a 100x. Se midieron las áreas de los islotes por medio del programa Axionvision Rel 4.8 con fotografías a **100X** mediante el uso del programa Adobe PhotoShop 8.0.1.

Para evaluar la inmunolocalización de núcleos positivos se observó cada laminilla con un microscopio de luz visible (Nikon ECLIPSE E600) y se tomaron fotografías a **100X** de campos alejados de los vasos centrales y campos cercanos a los vasos centrales, contando la proporción de células inmunoreactivas a PPAR $\beta$  (núcleos cafés) vs las células negativas (núcleos azules), apoyándose posteriormente en el uso del programa Adobe ImageReady CS. Los valores obtenidos de los diferentes conteos se analizaron mediante una prueba de ANOVA o U de Mann Whitney, según sea el caso; usando el programa GB-STAT V.6. El conteo de células inmunes fue considerando en los mismos campos y se contaron sólo aquellas células presentes en los sinusoides.



**Figura 8.** Imagen representativa de la reconstrucción del páncreas de conejas pertenecientes al grupo control (A) e hipotiroideo (B).

**Cuantificación de células del islote PPAR $\beta$  positivas.** Se utilizó el programa Axionvision Rel 4.8 para contabilizar las células dentro de los islotes marcadas como células positivas (color café). Para ello, se tomaron fotos a 100x de los islotes considerando 8 campos al azar por coneja, utilizando una cuadrícula 4 x 4 cm. Para el ajuste de células, se normalizaron considerando la clasificación del tamaño de islote, se clasificaron en tres grupos: pequeños ( $<4000\mu\text{m}^2$ ), medianos ( $4000-7000\mu\text{m}^2$ ) y grandes ( $> 7000 \mu\text{m}^2$ ) y se consideró el porcentaje total de células inmunoreactivas positivas y se promedió el porcentaje de células positivas. En este conteo no se consideraron las células inmunes. Para el conteo de células inmunes, solo se consideraron aquellas que se encontraban en la matriz extracelular.

Los valores obtenidos de las diferentes variables estudiadas se analizaron mediante las pruebas estadísticas t student en el caso de acinos. Diferencias entre grupos derivadas del tamaño de los islotes fueron analizadas con una ANOVA de dos vías y las interacciones por medio de una prueba de Newman. Para todas las pruebas se usó el programa GB-STAT V 6.0 y el Graph Pad Prisma v5. Se consideró un valor de  $P<0.05$  como significativo estadísticamente. Los valores son los promedios del porcentaje de células positivas con error estándar.

## **7. RESULTADOS**

### **7.1 Inmunoreactividad de PPAR $\beta$ en células acinares**

La inmunoreactividad de PPAR $\beta$  fue detectada en células de acinos. (Figuras 9A-B). En comparación con el grupo control, los acinos del grupo hipotiroideo tuvieron un menor número de núcleos inmunoreactivos a PPAR $\beta$  (figuras 9 B-C).

La inmunoreactividad de PPAR $\beta$  fue detectada en células inmunes presentes entre los acinos (figuras 9A-C). En comparación con el grupo control, el grupo hipotiroideo tuvo menor número de núcleos inmunoreactivos PPAR $\beta$  (figura 9D).

### **7.2 Inmunoreactividad de PPAR $\beta$ en células de islotes**

La inmunoreactividad de PPAR $\beta$  fue detectada en todos los tamaños de los islotes (alrededor de 20 islotes por animal) (figuras 11A-F). En comparación con el grupo control, los islotes del grupo hipotiroideo tuvieron un menor número de núcleos inmunoreactivos dentro del islote (Figura 11G). De acuerdo con el tamaño del islote, en el grupo hipotiroideo se observó un menor número de núcleos en los islotes grandes y medianos (figura 11H). No se encontraron diferencias en los islotes chicos.

La inmunoreactividad de PPAR $\beta$  fue detectada en las células inmunes de los islotes (figuras 12A-F). Los islotes grandes mostraron más infiltración de células inmunes que los islotes pequeños. Este patrón fue observado tanto en los islotes de animales controles como hipotiroideos (Figura 12G). Sin embargo, los islotes de animales hipotiroideos tuvieron mayor infiltración de células inmunes que los controles del mismo tamaño (Figura 12G). En comparación con el grupo control, el grupo hipotiroideo tuvo un menor número de núcleos inmunoreactivos a PPAR $\beta$  (figura 12H). La comparación por tamaños de islotes mostró que el porcentaje de células inmunes positivas a PPAR $\beta$  fue menor en los islotes de todos los tamaños de animales hipotiroideos vs. Controles (figura 12HI).



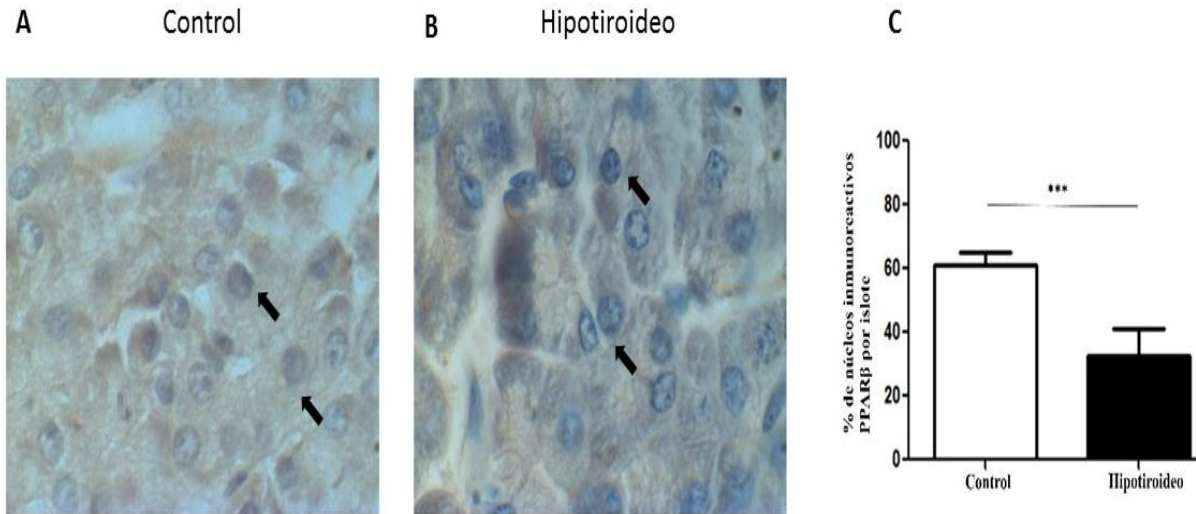


Figura 9. Inmunomarcaje de PPAR $\beta$  en los acinos pancreáticos correspondiente al grupo de conejas control e hipotiroideo. Las flechas negras indican los núcleos inmunoreactivos (color café) y no inmunoreactivos (color azul). En la gráfica se indica el porcentaje de núcleos inmunoreactivos para PPAR $\beta$  en los acinos. \*\*\*  $p < 0.001$ .

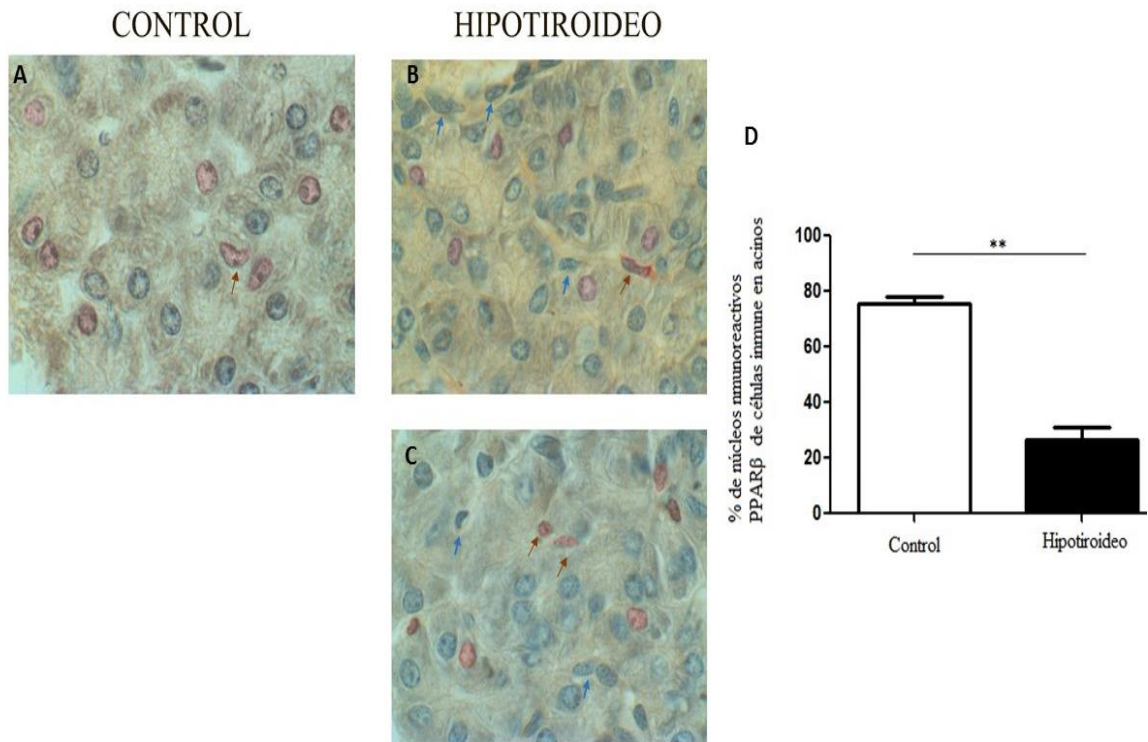


Figura 10. Inmunomarcaje de PPAR $\beta$  en células inmunes interacinares de conejas controles e hipotiroideas (A-C). Las flechas cafés indican los núcleos inmunoreactivos (color café) y no inmunoreactivos (color azul). La gráfica indica el porcentaje de núcleos inmunoreactivos de células inmune para PPAR $\beta$  en los acinos (D). \*\* $p < 0.01$ .

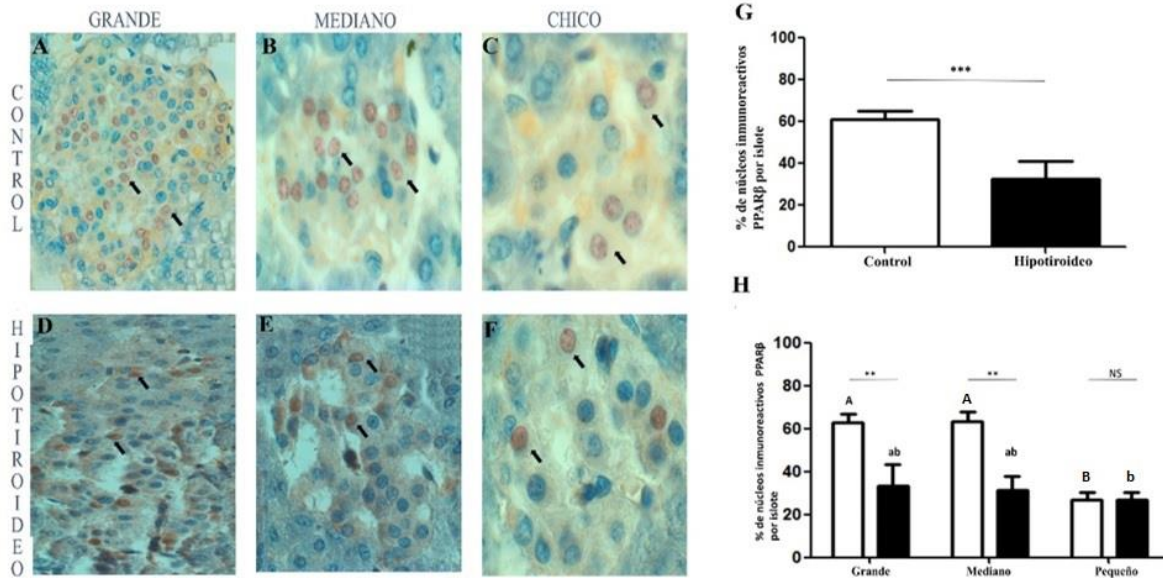


Figura 11. Inmunomarcaje del PPAR $\beta$  en los islotes de Langerhans grandes, medianos y pequeños de conejas controles e hipotiroideas (A-F). Las flechas negras indican los núcleos inmunoreactivos (color café) y no inmunoreactivos (color azul). Las gráficas muestran el porcentaje de núcleos inmunoreactivos para PPAR $\beta$  en células de islotes (G-H). Las letras mayúsculas indican islotes controles y letras minúsculas indican islotes hipotiroideos. Las diferentes letras indican diferencia estadística entre islotes por tamaño. \*\* $p < 0.01$  y \*\*\* $p < 0.001$ ; NS, no significativo.

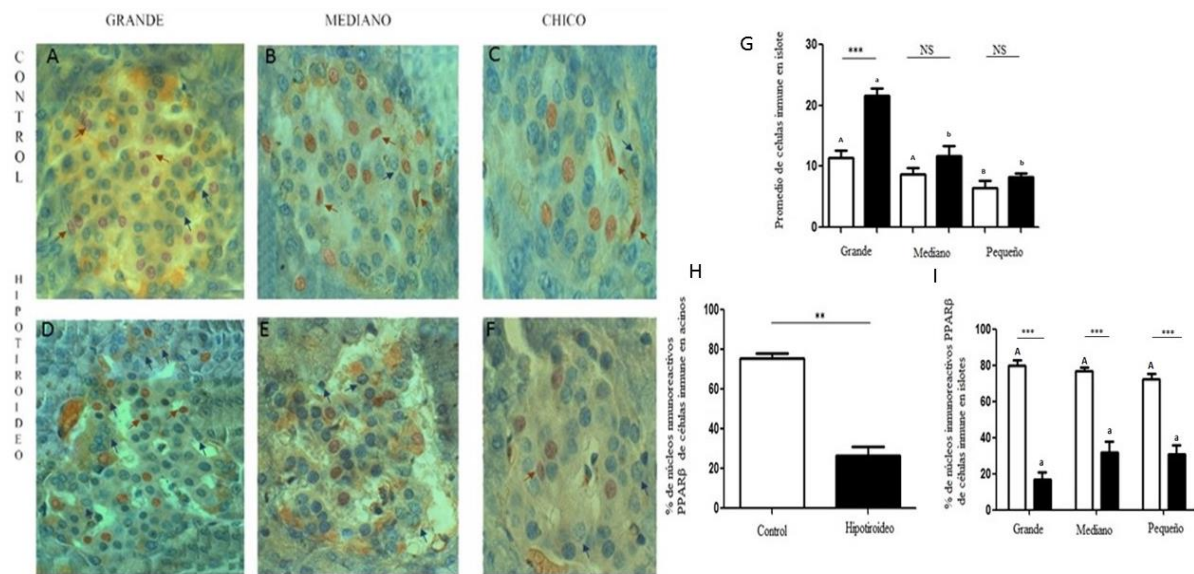


Figura 12. Inmunomarcaje del PPAR $\beta$  de células inmunes en islotes de Langerhans grandes, medianos y pequeños de conejas controles e hipotiroideas (A-F). Las flechas negras indican los núcleos inmunoreactivos (color café) e inmunoreactivos de células inmunes (color azul). Las gráficas indican el porcentaje de núcleos inmunoreactivos para PPAR $\beta$  en células inmune dentro de los islotes (G-H). Las letras mayúsculas indican islotes controles y letras minúsculas indican islotes hipotiroideos. Las diferentes letras indican diferencia estadística entre islotes por tamaño. \*\* $p < 0.01$  y \*\*\* $p < 0.001$ ; NS, no significativo.

## **8. DISCUSIÓN**

### **8.1 Presencia de PPAR $\beta$ en células pancreáticas**

Encontramos que el PPAR $\beta$ , en ratas se expresa en células endocrinas y exocrinas del páncreas, Esto coincide con reportes previos (Paterniti y cols. 2012; Braissan y cols. 1996). Sin embargo se demostró que el PPAR $\beta$  se expresa en células inmune en este órgano, lo cual es un punto innovador y la importancia que tiene nuestro trabajo, ya que a pesar de su relación con dichas células (Huang y cols. 2016), no había sido reportada la presencia de PPAR $\beta$  en células inmune presentes en islotes y acinos pancreáticos.

### **8.2 Efecto del hipotiroidismo en células acinares**

En nuestros resultados se observó una disminución de la inmunoreactividad de PPAR $\beta$  en los acinos pancreáticos (células acinares y células inmunitarias interacinares) del grupo hipotiroideo comparado con el control. Estos resultados podría ayudar a entender el efecto del hipotiroidismo sobre el aumento de la presencia de adipocitos, la fibrosis, el edema, y los focos de infiltración de células inmunes observado previamente (Rodríguez y cols. 2015). Ya que se sabe que el PPAR $\beta$  participa en el metabolismo de lípidos y carbohidratos en muchos tejidos (Giordano y cols. 2015). En el páncreas, el PPAR $\beta$  aumenta la expresión de genes implicados en la oxidación de los ácidos grasos y reduce la acumulación de diacilgliceridos y triglicéridos (Wan y cols. 2010). También el PPAR $\beta$  regula enzimas como la carnitina palmitoiltransferasa 1 y la piruvato deshidrogenasa quinasa, las cuales regulan la oxidación de ácidos grasos (Wan y cols. 2010). De manera que la menor expresión de PPAR $\beta$  se favorecería la acumulación de grasa.

Estos hallazgos apoyan la propuesta de que el hipotiroidismo se relaciona con pancreatitis. Ya que en la pancreatitis hay un reclutamiento de células inflamatorias, tales como neutrófilos y macrófagos (Makhija y Kingsnorth 2002). El reclutamiento y activación de diversas células inflamatorias provocan la muerte de las células acinares. También se elevan varios mediadores pro-inflamatorios, como el TNF- $\alpha$  e interleucinas (IL1, IL-2, IL-6)

(Makhija y Kingsnorth 2002). Más estudios son necesarios para confirmar cambios en el páncreas

### **8.3 Efecto del hipotiroidismo en células de los islotes**

La inmunoreactividad de PPAR $\beta$  fue menor en células de los islotes grandes y medianos del grupo hipotiroideo, pero no en los pequeños. Esto podría ayudar a entender porque los islotes pequeños son menos susceptible al daño provocado por el hipotiroidismo, como ya previamente describió nuestro grupo de trabajo (Rodríguez y cols. 2015a, b). En animales hipotiroideos, los islotes pequeños mantienen su tasa de proliferación y un número de células y vasos sanguíneos constante, a diferencia de los islotes medianos y grandes. A este respecto, el PPAR $\beta$  regula procesos de angiogénesis (Khazaei y cols. 2012), proliferación celular (Giordano y cols. 2015) y secreción de insulina (Giordano y cols. 2015). En apoyo a nuestros resultados, la delección del gen de PPAR $\beta$  aumenta del número de islotes y la secreción de insulina (Iglesias y cols. 2012). La activación de PPAR $\beta$  aumenta la producción de GLP-1, preservando la morfología y función de las células  $\beta$  pancreáticas (Daoudi y cols. 2011).

También encontramos que los islotes grandes de los animales hipotiroideos muestran una mayor infiltración de células inmunes, confirmando lo ya previamente descrito por (Rodríguez y cols. 2015b). Sin embargo, en los islotes de los 3 diferentes tamaños, el porcentaje de células inmunes positivas a PPAR $\beta$  fue menor en los animales hipotiroideos. Esto confirma el proceso de insulitis previamente propuesto (Rodríguez y cols. 2015b). A este respecto, el PPAR $\beta$  participa en la protección del páncreas al inhibir los procesos inflamatorios, aumentando la expresión de macrófagos tipo dos (M2) considerados anti-inflamatorios (Minamiyama y cols. 2010). De manera que una menor inmunoreactividad del PPAR $\beta$  podría disminuir la presencia de M2 y aumentar la infiltración de células inmunes consideradas pro-inflamatorias. Además, la menor inmunoreactividad de PPAR $\beta$  podría asociarse con procesos inflamatorios ocasionando una disminución de óxido nítrico, lo cual generaría dos condiciones, por un lado promovería la presencia de angiogénesis y el aumento de las especies reactivas de oxígeno y, por consiguiente, disminuiría las enzimas antioxidantes como la catalasa, su peróxido dismutasa y glutatión peroxidasa (Khazaei y cols. 2012).

Los cambios previamente reportados (Rodríguez y cols. 2015a, b) y los ahora presentados, podrían ayudar a entender la relación existente entre hipotiroidismo y el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2. En esta patología ocurre un proceso inflamatorio que se caracteriza por la acumulación en la infiltración de células inmune (macrófagos y leucocitos), citoquinas, células apoptóticas, depósitos de amiloide y fibrosis (Ehsesy cols. 2008). El proceso inflamatorio ocasiona la resistencia periférica a la insulina, alteración en la secreción de insulina y reducción de la masa de células  $\beta$ . Los mecanismos que subyacen a la insuficiencia de las células  $\beta$  incluyen glucotoxicidad<sup>8</sup>, lipotoxicidad<sup>9</sup>, estrés del retículo endoplasmático y estrés oxidativo<sup>10</sup> (Tharaheswari y cols. 2014).

#### **8.4 Regulación de PPAR $\beta$ por hormonas tiroideas**

Nuestros resultados confirman la estrecha relación existente entre hormonas tiroideas y el PPAR $\beta$ . De acuerdo con lo observado, el hipotiroidismo reduce la expresión de este receptor en células acinares, del islote e inmunes. De manera que podemos apreciar que dicho receptor es regulado a la alta por las hormonas tiroideas. Esto confirma lo previamente propuesto, la relación entre hormonas tiroideas y el PPAR $\beta$  va en dos direcciones. Por un lado, la activación de los PPAR $\beta$  regula la síntesis de hormonas tiroideas, y en sentido opuesto, las hormonas tiroideas regulan a los PPAR $\beta$ . Así tenemos la regulación recíproca entre PPAR $\beta$  y TRs (Changxue y cols. 2010).

---

<sup>8</sup> Ver glosario

<sup>9</sup> Ver glosario

<sup>10</sup> Ver glosario

## 9. CONCLUSIONES

El hipotiroidismo reduce la expresión de PPAR $\beta$  en islotes y acinos del páncreas, el cual podría estar relacionado con cambios en la actividad metabólica y secretora tanto en islotes y acinos pancreáticos así como la función y señalización que las moléculas ejercen.

El hipotiroidismo reduce la expresión de PPAR $\beta$  y aumenta el número de células inmune tanto en islotes y acinos pancreáticos, el cual podría estar relacionado con procesos inflamatorios.

## 10. PERSPECTIVAS

El hipotiroidismo ocasiona una menor expresión de PPAR $\beta$  en acinos podría afectar la secreción de enzimas pancreáticas pues la activación de PPAR $\beta$  reduce los niveles de amilasa y lipasa. Debido a ello creemos que es importante un estudio específico para evaluar las enzimas pancreáticas que se encuentran asociadas a la homeostasis de los metabolismos de lípidos e intervienen en los procesos de digestivos.

Si bien reportamos que el hipotiroidismo favorece una mayor infiltración de células inmunes, el porcentaje de células inmunes positivas a PPAR $\beta$  fue menor en los animales hipotiroideos por lo que creemos que un análisis de indicadores de la clasificación y número de células inmune (macrófagos). Estas células inmune se encuentran asociadas a procesos inflamatorios lo que con lleva a estrés oxidativo. Por ello consideramos un análisis del estrés oxidativo (TBARS) y el sistema antioxidante como superoxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

1. **Ahmed** OM, Gabar MA, Ali TM (2012). Impacts of the coexistence of diabetes and hypothyroidism on body weight gain, leptin and various metabolic aspects in albino rats. *Jdiabetes complications*. 26 (6): 49-50.
2. **Aiello** V, Moreno A A, Servitja JM, Martín M (2014). Thyroid hormones promote endocrine differentiation in the cost of exocrine tissue. 322: 236–248.
3. **Bhaswant** M, Poudyal H y Brown L (2015) Mechanisms of enhanced insulin secretion and sensitivity with n-3 unsaturated fatty acids. *Journal of Nutritional Biochemistry*.26: 571-584.
4. **Bizhanova** A y Kopp P (2009). Minireview: The sodium-iodide symporter NIS and pendrin in iodide homeostasis of the thyroid. *Endocrinology*. 150: 1084-109.
5. **Blanco** A, González JA , Torre J , López J , Nicolás M , Pérez F (1991). Hypothyroidism effects on the ultrastructure of pancreatic acinar cells rat: stereo analysis. *Histol Histopathol*. 6: 37-42.
6. **Bogacka** I, Kurzynska A, Bogacki M, Chojnowska K (2015). Peroxisome proliferator-activated receptors in the regulation of female reproductive functions. *Polish Society for Histochemistry and Cytochemistry Folia Histochem Cytobiol*.53:189–200.
7. **Brix** K, Führer D, Biebermann H (2011). Molecules important for thyroid hormone synthesis and action - known facts and future perspectives. *Thyroid Research*. 4(1):2-6.
8. **Chandra** R, Liddle RA (2009). Neural and Hormonal Regulation of Pancreatic Secretion. *Curr Opin Gastroenterol*. 25: 441–446.
9. **Chandra** R, Liddle RA (2014). Recent Advances in the Regulation of Pancreatic Secretion. *Curr Opin Gastroenterol*. 30(5): 490–494.
10. **Changxue** L y Sheue-Y C (2010). Thyroid hormone receptors regulate adipogenesis and carcinogenesis via crosstalk signaling with peroxisome proliferator-activated receptors. *J Mol Endocrinol*; 44(3):143–154.



11. **Cho J**, Kim JM , Lee JH, Park R, Moon SJ, Ji Sung Yoon, Lee IY, Won KC, Lee WH (2016). Poor glycemic control is associated with the risk of subclinical hypothyroidism in patients with type 2 diabetes mellitus. *The Korean Journal of Internal Medicine.* 31:704- 711.
12. **Cleveland M**, Sawyer J, Afelik S, Lecah S (2012). Exocrine ontogenies: on the development of pancreatic acinar, ductual and centroacinar cells. *Semin cell dev biol.* 23 (6):711-7119.
13. **Cohen G**, Shamni O, Avrahami Y, Cohen O, Broner E.C, Filippo N, (2015). Beta cell response to nutrient overload involves phospholipid remodelling and lipid peroxidation. *Diabetologia* 58 (6):1333–1343.
14. **Coll T**, Ivarez A, Barroso E, Gomez- AM, Palomer X, Laguna JC N y Vazquez M. (2010). Activation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\alpha$  by GW501516 Prevents Fatty Acid-Induced Nuclear Factor- $\kappa$ B Activation and Insulin Resistance in Skeletal Muscle Cells. *Endocrinology*, 151(4):1560–1569.
15. **Daoudi M**, Hennuyer NA, Borland M G, Touche V, Duhem C, Gross B, Caiazzo R, Kerrconte J, Pattou F, Peters JM, Staels B (2011). PPAR $\beta$  activation Induces enteroendocrine L Cell GLP-1 Production. *Gastroenterology.* 140:1564–1574.
16. **De Lange P**, Feola A, Ragni M, Senese R, Moreno M, Lombardi A, Silvestri E, Amat R, Villarroya F, Goglia F (2007) Differential 3,5,3'-triiodothyronine-mediated regulation of uncoupling protein 3 transcription: role of fatty acids. *Endocrinology.* 148:4064-4072
17. **De Sola C** , Redondo M , Pallarés F , Redondo E , Hortas ML , Morell M (1998) Thyroid function in acute pancreatitis. *Rev Esp Enferm Dig.* 90:15-22.
18. **De vito Incerpi S , Pedersen JZ , Luly P, Davis FB , Davis PJ** (2011) Thyroid hormones as modulators of immune activities at the cellular level. *Tiroides.* 21: 879-90
19. **Dezaki K**, Sone H, Yada T (2008). Ghrelin is a physiological regulator of insulin release in pancreatic islets and glucose homeostasis. *Pharmacology & Therapeutics* 118: 239–249.
20. **Dygai AM**, Skurikhin EG, Pershina OV, Ermakova NN, Krupin VA, Ermolaeva LA, Stakheeva MN, Choinzonov EL, Goldberg VE, Reikhart DV, Ellinidi VN, Kravtsov

- VY (2016) Role of Hematopoietic Stem Cells in Inflammation of the Pancreas during Diabetes Mellitus. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 4: 474-479.
21. **Ehse** J.A, Schnetzler M.B, Faulenbach M, Donath MY (2008) Macrophages, cytokines and  $\beta$ -cell death in Type 2 diabetes. *Biochemical Society Transactions*.36 (3):330-342.
  22. **Falzacappa** C, Mangialargo C,Raffa S, Mancuso A, Piergrossi P, Morriggi G, Piro S, Stigliano A, Torrisi MR, Brunetti E, Toscano V, Misiti S (2010). The thyroid hormone T3 improves function and survival of rat pancreatic islets during in vitro culture. *Islets* 2(2): 96-103.
  23. **Farahani** H, Ghasemi A, Roghani M, Zahediasl S (2013). Effect of neonatal hypothyroidism on carbohydrate metabolism, insulin secretion and pancreatic islet. *JEndocrinol Invest*. 36(1):44-9.
  24. **Furuya** F, Shimura H, Yamashita S, Endo T, Kobayashi T (2010). Liganded Thyroid Hormone Receptor  $\alpha$ Enhances Proliferation of Pancreatic $\beta$  Cells. *J Biol Chem* 285:24477–24486.
  25. **Frossard** JL, Saluja S, Bhagat L, Lee HS, Bhatia M, Hofbauer B, Steer ML (1999) The role of intercellular adhesion molecule 1 and neutrophils in acute pancreatitis and pancreatitis-associated lung injury. *Gastroenterology*. 116: 694–701.
  26. **Gehrmann**, W, Elsner M, Lenzen S, (2010). Role of metabolically generated reactive oxygen species for lipotoxicity in pancreatic beta-cells. *Diabetes Obes. Metab.* 12 (2):149–158.
  27. **George** K G (2009) Developmental biology of the pancreas: A comprehensive review. *International Journal of Endocrinology*. 326: 4–35.
  28. **González** A, Tortosa C, López A, Roche E, Arribas M, Tortosa M, Francesca Giampieri, Ochoa J, Quiles J (2015). Sunflower oil but not fish oil resembles positive effects of virgin olive oil on aged pancreas after life-long coenzyme Q addition. *Int. J. Mol. Sci*, 16, 23425-23445.
  29. **Gullo** L, Pezzilli R, Bellanova B, D'Ambrosi A, Alvisi V, Barbara L (1991). Influence of the thyroid on exocrine pancreatic function. *Gastroenterology*. 5:1392-1396.
  30. **Han** C, He X, Xia X, Li Y, Shi Y, Shan Z, Teng W (2015) Subclinical Hypothyroidism and Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Plos one*.10:1-2.

31. **Handisurya** A, Pacini G, Tura A, Gessl A & Kautzky-Willer A (2008). Effects of T4 replacement therapy on glucose metabolism in subjects with subclinical (SH) and overt hypothyroidism (OH). *Clinical Endocrinology* 69: 963–969.
32. **Huang** W, MD, Szatmary, BChir, Wan M, Bharucha S, Awais M, Tang W, Criddle DN, Xia O, y Sutton R (2016). Translational Insights into Peroxisome Proliferator-Activated Receptors in Experimental Acute Pancreatitis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 271: 116–119.
33. **Hunter** J, Kassam A, Winrow C J, Rachubinski R A, Capone JP. (1996) Crosstalk between thyroid hormone and activated peroxisome proliferator in the regulation of genes responsive peroxisome proliferator receptors. *Mol. Cell. Endocrinol.* 116: 213–221.
34. **Hwang** IK, Kim YN, Yi SS, Lee IS, Park IS, Won MH, Yoon YS, Seong JK (2009.) Effects of methimazole on the onset of type 2 diabetes in lept receptor- deficient rats. *J pharma pharmacother.* 3(2):15-60.
35. **Jatwa** R, Parmar HS, Panda S, Kar A (2007). Amelioration of corticosteroid-induced type 2 diabetes mellitus by rosiglitazone is possibly mediated through stimulation of thyroid function and inhibition of tissue lipid peroxidation in mice. *Basic Clinical Pharmacology & Toxicology.*101:177–180.
36. **Jura** N, Archer H, Bar-Sagi D (2005). Chronic pancreatitis, pancreatic adenocarcinoma and the black box in-between. *Cell Res.* 15 (1): 72-7.
37. **Jurij** D, Marjan SR y Andraž S (2015). Structural similarities and differences between the human and the mouse páncreas. *Islets.* 7 (1): 1-13.
38. **Kapadia** KB, Bhatt P A, Shah JS (2012) Association between altered thyroid state and insulin resistance. *J Pharmacol Pharmacother.* 3: 156–160.
39. **Keung** K, Leung PS (2008). Effects of Hyperglycemia on Angiotensin II Receptor Type 1 Expression and Insulin Secretion in an INS-1E Pancreatic Beta-Cell Line. *JOP. J Pancreas.* 9(3):290-299.
40. **Kim** AK, Miller J, Kilimnik JG, Wojcik P, Hara M (2009). Islote architecture: a comparative study. *Islets.* 1: 129-36.
41. **Kyriacou** A, McLaughlin J, Akheel A. (2015). Thyroid disorders and gastrointestinal and liver dysfunction. *European journal of internal of internal medicine.*

42. **Lee C H**, Olson P, Evans RM (2003). Minireview: Lipid Metabolism, Metabolic Diseases, and Peroxisome Proliferator-Activated Receptors. *Endocrinology* 144(6):2201–2207.
43. **Li WC**, Rukstalis JM, Nishimura W, Tchipashvili V, Habener JF, et al. (2010). Activation of pancreatic-duct-derived progenitor cells during pancreas regeneration in adult rats. *J Cell Sci.*123: 2792–2802.
44. **Mahne AE**, Klementowicz JE, Chou A, Nguyen V, Tang Q (2015). Therapeutic regulatory T cells subvert effector T cell function in inflamed islets to halt autoimmune diabetes. *J Immunol.* 194(7): 3147–3155
45. **Makhija R** y Kingsnorth (2002) Cytokine storm in acute pancreatitis. *J Surg Pancreat hepatobiliar.* 9: 401-410.
46. **Morimoto S**, Fernandez C, Romero G, Morales N y Díaz V (2001) Testosterone Effect on Insulin Content, Messenger Ribonucleic Acid Levels, Promoter Activity, and Secretion in the Rat. *Life Sciences.* 68:2097-2985.
47. **Nada AM** (2013). Effect of treatment of overt hypothyroidism on insulin resistance. *World J Diabetes.* 4(4): 157-161.
48. **Nadal A**, Ropero AB, Fuentes E, Soria B, Ripoll C (2004). Estrogen and xenostoge actions on endocrine pancreas: from ion channel modulation to activation of nuclear function. *Steroid.* 69: 531-6.
49. **Liou GY**, Döppler H, Necela B, Krishna M, Crawford CH, Raimondo M, Storz P (2013). Macrophage-secreted cytokines drive pancreatic acinar-to-ductal metaplasia through NF and MMPs. *JCB.* 3: 563-576.
50. **Liou GY**, Storz P (2015) inflammatory macrophages in pancreatic acinar cell metaplasia and initiation of pancreatic cancer. *Oncoscience.* 2: 247-250.
51. **Lopez AG**, Valdés R y Martínez B (2014) Type 2 Diabetes, PUFAs, and Vitamin D: Their Relation to Inflammation. *Journal of Immunology Research.* 2014: 1-13
52. **Oda T**, Taneichi H, Takahashi K, Togashi H, Hangai M, Nakagawa R, Ono M, Matsui M, Sasai T, Nagasawa K, Honma H, Kajiwara T, Takahashi Y, Takebe N, Ishigaki Y y

- Satoh J. (2014). Positive association of free triiodothyronine with pancreatic b-cell function in people with prediabetes. *Diabet. Med.* 32: 213–219.
53. **Outi M Hi y.** Portman MA (2006). Molecular Mechanisms of Cross-talk between Thyroid Hormone and Peroxisome Proliferator Activated Receptors: Focus on the Heart. *Cardiovasc Drugs Ther.* 20: 463–469.
54. **Palomer X,** Barroso E, Zarei M, Botteri G y Vázquez M (2016). PPAR $\beta/\delta$  and lipid metabolism in the heart. *Biochimica ET Biophysica Acta.*
55. **Pandol SJ,** Saluja AK, Clement WI y Banks PA (2007). Reviews in basic and clinical gastroenterology. *Gastroenterology* 132:1127–1151.
56. **Paterniti I,** Mazzon E, Riccardi L, Galuppo M, Impellizzeri D, Esposito E, Bramanti P, Cappellani A y Cuzzocrea S (2012). Peroxisome proliferator-activated receptor b/d agonist GW0742 ameliorates cerulein- and taurocholate-induced acute pancreatitis in mice. *Surgery* .152(1): 90-106.
57. **Pezzilli R,** Andriulli A, Bass Ci, Balzano G, Cantore M, Delle Fave G, Falconi M, Frulloni L (2013). Exocrine pancreatic insufficiency in adults: A shared position statement of the Italian association for the study of the pancreas. *World J Gastroenterol.* 19(44): 7930-7946.
58. **Pinhu L,** Qin Y, Xiong B, You Y, Li J, Sooranna SR (2014). Overexpression of fas and fasl is associated with infectious complications and severity of experimental severe acute pancreatitis by Promoting Apoptosis of Lymphocytes. *Inflammation.* 37. 1202-1212.
59. **Ravnskjaer K ,** Frigerio F , M , Nielsen T , Maechler y Mandrup S (2009). PPAR $\delta$  is a fatty acid sensor that enhances mitochondrial oxidation in insulin-secreting cells and protects against fatty acid-induced dysfunction. ; 51 (6): 9-1370.
60. **Reichert M,** Rustgi AK (2011). Pancreatic ductal cells in development, regeneration and neoplasia. *J Clin Invest* 2011.121: 4572-8.
61. **A) Rodríguez J,** Martínez M, Castelán F y Cuevas E (2015). Hypothyroidism affects vascularization and promotes immune cells infiltration into pancreatic islets of female rabbits. *Hindawi Publishing Corporation International Journal of Endocrinology.* 2015:8.

62. **B) Rodríguez J**, Nicolás L, Morimoto S y Cuevas E (2015). The langerhans islet cells of female rabbits are differentially affected by hypothyroidism depending on the islet size".*Endocrine*. 48. 3811–17.
63. **Rupnik M** (2009). The physiology of pancreatic beta cells of rodents into slices. *Physiologica Ac.*195: 123-38.
64. **Satoh K**, Narita T, Katsumata-Kato S, Sugiya H, Seo Y. (2016) Involvement of myristoylated alanine-rich C kinase substrate phosphorylation and translocation in cholecystokinin-induced amylase release in rat pancreatic acini.
65. **Saravanan G**, Ponmuruga P (2012). Antidiabetic effect of S- allylcyteine: Effect on thyroid hormone and circulatory antiocxidnt system in experimental diabeti rats. *J Diabetes complications*. 26:280-285.
66. **Serrano L-**, Rodríguez MR, Kochairi I, Palomer X, Michalik L, Wahli W y Vázquez-Carrera M (2011). Activation of Peroxisome Proliferator–Activated Receptor-b/-d (PPAR-b/-d) Ameliorates Insulin Signaling and Reduces SOCS3 Levels by Inhibiting STAT3 in Interleukin-6–Stimulated Adipocytes. *Diabetes*. 60(7):1990-1999.
67. **Shao J**, Qiao L, Friedman J.E. (2004) Prolactin, progesterone, and dexamethasone coordinately and adversely regulate glucokinase and cAMP/PDE cascades in MIN6 beta-cells. *Am.J.Physiol*. 286 (2): 304–310.
68. **Taborsky GJ** (2010).The physiology of glucagon. *J diabetes sci technol*. 4:1338-1344.
69. **Tharaheswari M**, Jayachandra N, Kumar K. C, Varshney, M. Kannan S y Rani S (2014). Trigonelline and diosgenin attenuate ER stress, oxidative stressmediated damage in pancreas and enhance adipose tissue PPAR $\gamma$  activity in type 2 diabetic rats. *Mol Cell Biochem*. 396:161–174.
70. **Weir GC**, Laybutt DR, Kaneto H, Bonner-WS y Sharma A (2001).Cell Adaptation and Decompensation During the Progression of diabetes.*Diabetes*50(1):154-15.
71. **Yang Z**, Meng X, Xu P (2015) Central role of neutrophil in the pathogenesis of severe acute pancreatitis. *J. Cell. Mol. Med*.19: 2513-2520.
72. **Yuchi Y**, Cai Y, Legein B Groef S, Leuckx G, Coppens E, Overmeire V, Staels,Nico De Leu N , Martens G, Ginderachter J, Heimberg H, Van de Castele

- M (2015). Estrogen receptor  $\alpha$  regulates beta cell formation during pancreas development and following injury. *American Diabetes Association*. 64(9): 3218-3228.
73. **Yu R**, Hui S, Melmed S (2007). *Insuline secretion and action*. *Endocrinolog: Basic and clinicla principles, seconds' edition*. Humana press inc,totowan.
74. **Yule D** (2010). Pancreatic acinar cells: Molecular insight from studies of signal-transductions using transgenic animals. *Int J Biochem Biol*. 42: 1757-1761.
75. **Wei P**, Shi M, Barnum, Cho H, Carlson T, Fraser JD (2009). Effects of glucokinase activators GKA50 and LY2121260 on proliferation and apoptois in pancreatic INS-1 beta cells. *Diabetologia*. 52:2142-2150.
76. **Wu F**, Guo L, Jakubowski A, Su L, Chun Li2, Bonner-WS, Burkly LC. (2013). TNF-Like Weak Inducer of Apoptosis (TWEAK) Promotes Beta Cell Neogenesis from Pancreatic Ductal Epithelium in Adult Mice. *PLOS ONE*. 8 (8):1-10.
77. **Xian ZD**, Hennig R, Thomas E A (2003). Lipoxygenase and cyclooxygenase metabolism: new insights in treatment and chemoprevention of pancreatic cancer. *Molecular Cancer*. 2: 1-12.

## 12. GLOSARIO

1. Pancreatitis. La pancreatitis es una enfermedad caracterizada por un proceso inflamatorio agudo del páncreas que con frecuencia implica tejidos peri-pancreáticos. Aunque el abuso del alcohol, la presencia de cálculos biliares y un aumento en los triglicéridos son la causa del 70-80% de los casos de pancreatitis aguda, los mecanismos exactos por los que éstos factores inician la pancreatitis aguda son actualmente desconocidos (Pandol y cols. 2007). Otras causas metabólicas de pancreatitis incluyen hipercalcemia y aminoacidurias.
2. Cáncer de páncreas. Es una enfermedad en la que se forman células malignas (cancerosas) en los tejidos del páncreas.
3. Estrés oxidativo. Es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y la capacidad de un sistema biológico de decodificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante.
4. Lipógenesis. Es la reacción bioquímica por la cual son sintetizados los ácidos grasos y esterificados o unidos con el glicerol para formar triglicéridos o grasas de reserva.
5. Nestina. Marcador de proliferación.
6. Glucotoxicidad. Mecanismo por el cual la hiperglucemia, puede dañar la función de la célula beta del páncreas, empeorando su capacidad secretora
7. Lipotoxicidad. hace referencia a los efectos deletéreos del exceso de los ácidos grasos, y la acumulación de la grasa ectópica que provocan muerte celular o disfunción orgánica. Al existir una gran cantidad de ácido grasos disponibles, y si los requerimientos celulares no precisan de ellos, entonces se produce una  $\beta$ -oxidación compensatoria, para mantener el equilibrio dentro de la célula.
  
8. Amiloide. Sustancias que tienen en común estar constituidas por proteína fibrilar b-plegada.
9. Fibrosis. Formación patológica de tejido fibroso en un órgano del cuerpo.
10. Macrófagos. Son células del sistema inmunitario que se localizan en los tejidos. Proceden de células precursoras de la médula ósea que se dividen dando monocitos, que tras atravesar las paredes de los capilares y penetrar en el tejido conjuntivo se



convierten en macrófago, Tienen funciones homeostáticas que incluyen reparación, modelación y angiogénesis de los tejidos y proveen protección al poner en marcha mecanismos inmunes innatos e iniciar el desarrollo de respuestas inmunes específicas a través del procesamiento y presentación antigénicos, la expresión de moléculas coestimuladoras y la producción de citocina

11. Antioxidantes. Es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas.
12. Apoptosis. Es una destrucción o muerte celular programada o provocada por el mismo organismo, con el fin de autocontrolar su desarrollo y crecimiento, está desencadenada por señales celulares controladas genéticamente.
13. Triglicéridos. Son un tipo de lípidos formados por una molécula de glicerol esterificado con tres ácidos grasos, que suelen ser distintos. Son el lípido más común y se almacenan principalmente en forma de una gran gota ocupando todo el citoplasma del adipocito.
14. Aminoacidurias. Es una cantidad anormal de aminoácidos en la orina.
15. Homeostasis. Es el equilibrio interno estable compensando los cambios en su entorno mediante el intercambio regulado de materia y energía con el exterior.
16. Endometrio. Membrana mucosa que recubre la cavidad del útero.