

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA



# Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del hipotiroidismo sobre las  
características histológicas del páncreas y los  
niveles de glucosa e insulina de la coneja adulta

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

**Julia de Guadalupe Rodríguez Castelán**

**Directora de tesis**

Dra. Estela Cuevas Romero

Tlaxcala, Tlax.

Septiembre 2014



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA



# Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del hipotiroidismo sobre las  
características histológicas del páncreas y los  
niveles de glucosa e insulina de la coneja adulta

## T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

**Julia de Guadalupe Rodríguez Castelán**

**Directora de tesis**

Dra. Estela Cuevas Romero

**Comité tutorial**

Dra. Leticia Nicolás Toledo

Dra. Lidya Sumiko Morimoto Martínez

Tlaxcala, Tlax.

Septiembre 2014

La presente tesis fue realizada en el laboratorio de Endocrinología del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, bajo la dirección de la Dra. Estela Cuevas Romero. Se contó con el financiamiento de Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT 106226 a EC y 487362 a JR); el Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP-SEP; UATLX-PTC-085 a EC), el Apoyo al Cuerpo Académico de Fisiología del Comportamiento, UATx (CACyPI-UATx-2014).



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



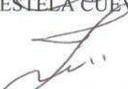
COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA  
P R E S E N T E

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Proyecto de tesis que **Julia de Guadalupe 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 las características histológicas del páncreas y los niveles de glucosa e insulina de la coneja adulta**”.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

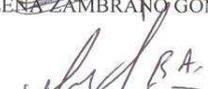
ATENTAMENTE  
TLAXCALA, TLAX., JULIO 26 DE 2014

  
\_\_\_\_\_  
DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO

  
\_\_\_\_\_  
DRA. LETICIA NICOLÁS TOLEDO

  
\_\_\_\_\_  
DRA. LIDYA SUMIKO MORIMOTO

  
\_\_\_\_\_  
DRA. ELENA ZAMBRANO GONZÁLEZ

  
\_\_\_\_\_  
DR. JORGE RODRIGUEZ ANTOLÍN



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.

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, quiero agradecer al posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, por permitir mi formación académica como Maestra.

Al CONACyT por la concesión de una Beca para financiar mis estudios durante toda la maestría (487362-JR)

También, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi directora de tesis, la Dra. Estela Cuevas Romero, por todos aquellos conocimientos que ha logrado transmitirme en el tiempo que hemos pasado juntas en los últimos dos años, por su paciencia y apoyo, pero principalmente por haber confiado en mí y estimularme para abrir mi visión del mundo y de esta manera seguir creciendo de manera intelectual.

A mi comité tutorial: Dra. Lydia Sumiko Morimoto Martínez y a la Dra. Leticia Nicolás Toledo por sus relevantes comentarios, críticas, aportes y sugerencias que enriquecieron este trabajo, así mismo por su disposición para aclarar dudas.

Al comité evaluador: Dra. Elena Zambrano González y al Dr. Jorge Rodríguez Antolín Castelán por sus valiosas aportaciones y correcciones.

## AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Por esta tesis, pero sobre todo por compartir y ser parte de mi vida:

A mi Ommá por todo el amor que me ha dado, por el apoyo ilimitado e incondicional que me ha brindado en todas las decisiones de mi vida, por ser mi gran ejemplo de fortaleza... Recuerda que eres la “co-autora” en mis metas profesionales, y que, a pesar de que no hay palabras en este mundo para agradecerte todo lo que hiciste y sigues haciendo por mí, creo que por el momento te lo puedo resumir en un “Te amo”.

A ese angelito que sigue acompañándome y motivándome a dar mi mayor esfuerzo, porque aún sigo amándote y guardándote en mi memoria.

A mis dos sobrinas, porque a pesar de que no eh estado mucho tiempo en sus vidas, sus sonrisas y sus “te quiero” han llenado mi corazón y mi espíritu. Especialmente a Chiky, porque es mi ejemplo más grande de que cualquier esfuerzo tiene una recompensa, por enseñarme que todo en esta vida es posible.

A mis hermanas, Sheyla y Ana por todos sus consejos y todo el amor que me han brindado desde pequeña, porque hemos vivido juntas las mayores alegrías.

A todos aquellos miembros de la familia Castelán que me han apoyado, particularmente a Paco y Estela, por brindarme su confianza y apoyo cuando lo he necesitado, gracias por regalarme un poquito de amor familiar, que me ayudó a no sentirme tan sola.

A Valentín... por aprender conmigo lo que es el “mundo científico”, por impulsarme siempre a seguir mis metas y por estar presente cuando necesité apoyo, cariño y comprensión en dosis extremadamente elevadas.

A aquellos amigos... Carlos, Cristhian, Isis y Abish, por aparecer y permanecer en mi vida, por escucharme, aconsejarme y echarme porras desde donde sea que se encontraran, por darme muchas de mis alegrías y por ayudarme a que la transición fuera más sencilla. Especialmente quiero agradecer a Arely, porque además de enseñarme muchas técnicas en el laboratorio, se ha convertido en una gran confidente y amiga, gracias por cada carcajada

que hacía los tiempos difíciles más soportables, por cada palabra de aliento, y por intentar conocerme mejor.

A mis compañeros de laboratorio: Maribel, Adriana, Yadira, Kenia y Arturo, por esos momentos de relajo y de bromas, que en muchas ocasiones necesitaba.

Al orquestador de todo en el mundo... Dios

A todos los que se escaparon de mi memoria pero que forman parte de mi Corazón...

## RESUMEN

En humanos, la Diabetes Mellitus Tipo II y el hipotiroidismo están relacionadas. En modelos animales adultos, los efectos del hipotiroidismo sobre los niveles de glucosa e insulina son contradictorios y su impacto sobre la morfometría en los islotes pancreáticos ha sido escasamente estudiado. Se han localizado la presencia de receptores de hormona tiroidea (TRs)  $\alpha$  y  $\beta$  en células de los islotes, pero la presencia del receptor de tirotrópina (TSHR) es desconocida. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del hipotiroidismo sobre las concentraciones de glucosa e insulina, la morfometría de los islotes y la inmunoreactividad de TRs y TSHR. Se utilizaron conejas *chinchilla* adultas: control (n=6) e hipotiroideas (n=6; 0.02% de *metimazol* por 30 días), a las que se les midió la glucosa e insulina séricas, densidad de islotes, área transversal de los islotes, número de células por islote, porcentaje de proliferación y de inmunoreactividad a TR $\alpha$ 1-2, TR  $\beta$ 1 y TSHR de las células de los islotes. Los islotes fueron arbitrariamente clasificados en grandes, medianos y chicos. Los datos fueron analizados con una *U* de Mann Whitney, *t* de Student y ANOVA de dos vías. La concentración de glucosa e insulina, la densidad de islotes, el área transversal y el número de células por islote fueron similares entre los grupos. El hipotiroidismo disminuyó el número de células en los islotes grandes y medianos, pero no en los islotes chicos. La proliferación celular fue mayor en los islotes chicos. La inmunoreactividad de TR $\alpha$ 1-2, TR  $\beta$ 1 y TSHR fue incrementada por el hipotiroidismo en todos los islotes. El hipotiroidismo afecta diferencialmente a las células de los islotes dependiendo el tamaño de los islotes, lo cual podría relacionarse con una función específica de los islotes.



## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	2
1.1 Diabetes .....	2
1.1.1 Factores relacionados con la DM.....	3
1.2. Hormonas tiroideas y sus receptores .....	5
1.2.1 Hipotiroidismo .....	7
2. ANTECEDENTES.....	9
2.1 Hipotiroidismo y metabolismo de carbohidratos.....	9
2.2 Hipotiroidismo e histología del páncreas.....	9
3. JUSTIFICACIÓN .....	11
4. HIPÓTESIS.....	12
4.1 Predicciones .....	12
5. OBJETIVOS.....	13
5.1 Objetivo General.....	13
5.2 Objetivos Específicos .....	13
6. METODOLOGÍA .....	14
6.1 Animales .....	14
6.2 Inducción del hipotiroidismo .....	14
6.3 Medición de glucosa e insulina.....	14
6.4 Histología del páncreas .....	14
6.5 Inmunodetección de TRs y TSHR .....	17
6.6 Análisis estadístico .....	18
7. RESULTADOS.....	19
7.1 Metabolismo de carbohidratos.....	19
7.2 Características cualitativas del páncreas.....	19
7.3 Características cuantitativas de islotes.....	21

7.4 Inmunoreactividad de receptores a hormonas tiroideas y TSH .....	24
8. DISCUSIÓN.....	26
9. CONCLUSIONES .....	30
10. PERSPECTIVAS .....	31
11. ANEXOS.....	32
ANEXO 1. Generalidades del páncreas .....	32
1.1 Inervación del páncreas .....	34
ANEXO 2. Modelo del efecto del hipotiroidismo sobre los islotes de Langerhans .....	36
12. REFERENCIAS .....	37
13. GLOSARIO.....	45
14. PUBLICACIONES .....	49

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Diabetes

La diabetes mellitus (DM) es un conjunto de trastornos metabólicos caracterizados por hiperglicemia, que son resultados de la baja producción de insulina o de la deficiencia de sus mecanismos de acción (Asociación Americana de la Diabetes 2010). La DM se ha clasificado en diversos tipos: tipo 1 (insulino-dependiente), que aparece en la niñez y por la cual los pacientes requieren inyectarse insulina; tipo 2, con una aparición más tardía y cuyo tratamiento consta de medicamentos que inhiben la formación de glucosa a partir de aminoácidos (gluconeogénesis) o la degradación del glucógeno; gestacional que aparece durante el embarazo y que puede tener como resultado productos macrosómicos (Robinson y cols. 2011); y el tipo MODY, que puede aparecer desde la niñez o en la juventud y que es causada por alteraciones genéticas (Giuffrida y Reis 2005).

Datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2000, indicaron que la prevalencia de DM del tipo II (DMII) es similar entre hombres y mujeres jóvenes. Sin embargo, es más común en mujeres después de los 55 años. En México, de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2006, la prevalencia DMII es también mayor en mujeres que en hombres después de los 55 años, y aumenta con la edad (Olaiz y cols. 2006). Lo anterior se relaciona con la presencia de estrógenos y progesterona que actúan como protectores de las células  $\beta$ , respectivamente, en las mujeres jóvenes, y dicha protección se pierde después de la menopausia (Morimoto y cols. 2010).

Algunas complicaciones derivadas de la DMII comprenden retinopatía con pérdida de la visión, falla renal, y neuropatía. Esta última puede ser periférica causando úlceras en los pies (pie diabético), y autonómica con disfunciones gastrointestinales, urinarias y sexuales. Los pacientes con DMII tienen anormalidades en el metabolismo de lípidos, por lo cual tienen mayor incidencia a padecer aterosclerosis, hipertensión y enfermedades cerebro-vasculares (Asociación Americana de la Diabetes 2010).

La secreción de insulina es esencial para el desarrollo de la DMII. Tal hormona es sintetizada y secretada por las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans en el páncreas (Katsumichi y Pour 2007; Yule 2010, ver anexo 1). Así, la DMII es considerada como una

disfunción en las células  $\beta$ , que incluye un incremento en el tamaño del islote y una pérdida de la masa de la célula, con lo cual la secreción de insulina disminuye (Marchetti y cols. 2008). En pacientes con DM (tanto I como II), las células beta y las células PP disminuyen por un aumento en la apoptosis (Tomita 2011); mientras que, las células  $\alpha$  y delta aumentan (Katsumichi y Pour 2007).

Tales modificaciones en la histología del páncreas relacionada con la DM han sido estudiadas en animales de laboratorio. Así, en ratones con hiperglucemia farmacológicamente inducida muestran apoptosis de las células pancreáticas, así como disminución o nula proliferación de las células beta (Nir y cols. 2007). Aunque, al inicio de la enfermedad, la hiperglicemia impulsa un aumento temporal de la masa de células del islote; posteriormente el número de células  $\beta$  disminuye, disminuyendo la secreción de insulina (Cubillos y cols. 2008). Por el contrario, las células  $\alpha$  y delta aumentan su proliferación y su secreción (Levine e Itkin-Ansari 2008). Además, células del islote pierden la membrana y el núcleo (Zhang y cols. 2012). También el número de islotes disminuye a pesar del aumento en la proliferación de las células de los ductos (Cubillos y cols. 2008). De manera, que aún es controversial si la diabetes es consecuencia de la muerte de células productoras de insulina, la sobrevivencia de las células productoras de glucagon o la acumulación del péptido amiloide. $\beta$

### **1.1.1 Factores relacionados con la DM**

Los cambios en la histología del páncreas en relación a la DM ya mencionados pueden ser favorecidos por diversos factores como son edad, dieta, genes y diversas hormonas.

**Edad.** Las células pancreáticas se forman durante la etapa embrionaria, provienen de células endodérmicas que son diferenciadas gracias a factores de transcripción como la familia de los factores nucleares del hepatocito (HNF), la caja pancreática y duodenal 1 (Pdx1), el neuropéptido D (NeuroD) y la neurogenina (ngn3), siendo estos últimos los que determinan si son células acinares, ductales o de los islotes de Langerhans. Durante los primeros tres años de vida, el Pdx1 replica las células en los islotes de Langerhans, aumentando su número y masa. Posteriormente, el número de células permanece constante por regeneración regulada por Pdx1, ngn3, neuro D, INS-1 y FOXA (Zaret y Grompe 2008). En el adulto, las células  $\beta$  y

ductales proliferan por medio de: a) replicación de células preexistentes por acción de la *ngn3* (Xiao y cols. 2013), b) aumento de glucosa por acción de *INS-1*, *Foxa1*, *Foxa2* y ciclina *D2* (Metukuri y cols. 2012), y c) reprogramación de células ductales, acinares y  $\alpha$  a células  $\beta$ . (Kordowich y cols. 2010). Aunado a la activación de genes y factores de transcripción, la hormona del crecimiento (hGH) participa activando la proliferación en el páncreas, por tal motivo conforme el organismo envejece, disminuye la proliferación de las células del páncreas (Parnaud y cols. 2008). Por ello, la prevalencia de DM aumenta con la edad, como fue descrito anteriormente.

**Dieta.** En animales de laboratorio, dietas altas en sacarosa, disminuyen el volumen de los islotes, el número de células por islote y el tamaño y el número de la célula  $\beta$  (Del Zotto y cols. 1999). De igual manera, dietas altas en sacarosa por tiempos prolongados disminuyen la actividad de la glucoquinasa<sup>1</sup> e incrementan la expresión de *PPAR $\delta$* <sup>2</sup> (Ferreira y cols. 2010). Por otro lado, dietas altas en lípidos, elevan los lípidos en sangre (colesterol y triglicéridos) y promueven intolerancia a la insulina (Srinivasan y cols. 2005). Además, se ha reportado que la disminución de vitaminas y minerales, como la vitamina D y el calcio, podrían aumentar la glicemia y, con ello, aumentar el riesgo a padecer DMII (Pittas y cols. 2007). Por lo que la dieta y los estilos de vida pueden ser un factor determinante para desarrollar DMII, razón por la que muchos pacientes diabéticos padecen también obesidad (Ramarao y Kaul 1999)

**Genes.** Mutaciones en el cromosoma 12 inactivan a los genes de glucoquinasa, *HNF1 $\alpha$* , *HNF4 $\alpha$* <sup>3</sup> e *IPF1*<sup>4</sup>, relacionándose con una disminución de la secreción de insulina y la proliferación de células en los islotes. Dichas fallas, promueven la presencia de DMII a temprana edad. A este grupo de diabetes se les ha denominado diabetes MODY (Hattersley 1998). El síndrome de Rabson-Mendenhall<sup>5</sup> y el síndrome de Donohue<sup>6</sup> promueven una mutación en el receptor de insulina, con lo que también presentan DMII (Asociación Americana de Diabetes 2010).

---

<sup>1</sup> Ver glosario

<sup>2</sup> Ver glosario.

<sup>3</sup> Ver glosario

<sup>4</sup> Ver glosario

<sup>5</sup> Ver glosario

<sup>6</sup> Ver glosario

**Hormonas gonadales.** El estradiol regula la transcripción de algunos genes como el de glucoquinasa, induciendo la secreción de insulina. La ausencia de estrógenos incrementa la concentración plasmática de glucosa, pues disminuye la secreción de insulina y aumenta el glucagon (Morimoto y cols. 2010). Tales acciones están dadas por receptores de estrógenos de tipo  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) que protegen a las células  $\beta$  de apoptosis por estrés oxidativo y promueven síntesis de insulina (Le May y cols. 2006). Así mismo, se ha observado que ratas ovariectomizadas con suplementación de estradiol muestran una menor apoptosis en células  $\beta$  (Louet y cols. 2004). La administración de estradiol también aumenta la secreción de insulina en ratas con hiperglucemia inducida con estreptozotocina (Le May y cols. 2006). El efecto del estradiol sobre la histología del páncreas también se ha estudiado in vitro, y se ha encontrado que aumenta la viabilidad celular, favorece la proliferación de células de los islotes y activa al factor de transcripción CREB<sup>7</sup> (Nadal y cols. 2004).

**Hormonas tiroideas.** Las hormonas tiroideas se han relacionado con la presencia de DM. En estudios longitudinales en humanos, un incremento de tirotropina (TSH) en un plazo de seis años conlleva a DMII (Warren y cols. 2004). Las hormonas tiroideas regulan genes que participan en procesos como la glucólisis, gluconeogénesis y señalización de la insulina. Estos genes son glucosa 6 fosfatasa, proteína cinasa B (Akt2), ChREBP, piruvato carboxilasa y GLUT2 (Wang 2013). Por otra parte, fallas en el gen de la desyodasa tipo 2 (D2) aumenta el riesgo de padecer DMII (Medina y cols. 2011). Más información sobre la relación entre hormonas tiroideas y diabetes es mostrada en la sección de antecedentes.

## 1.2. Hormonas tiroideas y sus receptores

La glándula tiroides está situada en la parte media del cuello, a ambos lados de la laringe inferior y por arriba de la tráquea. Está compuesta por dos lóbulos (derecho e izquierdo), los cuales están unidos por un istmo transversal que se encuentra delante de la tráquea. Esta glándula se compone de células foliculares que secretan tetrayodotironina (T4), que es el producto de secreción principal y funciona como prohormona, y la triiodotironina (T3), la forma biológicamente más activa (Song y cols. 2011).

---

<sup>7</sup> Ver glosario.

Las hormonas tiroideas pueden ser secretadas por exocitosis, y posteriormente transportadas en la sangre unidas a proteínas plasmáticas como globulina transportadora de tiroxina, albúmina y transtirrenina (Brent 2012). La síntesis de hormonas tiroideas es regulada por las hormonas TSH y la hormona liberadora de tirotropina (TRH; secretada por el hipotálamo) en un mecanismo de retroalimentación negativa (Fig. 1). Así, niveles altos de hormonas tiroideas disminuyen la secreción de TSH y TRH; mientras que niveles bajos la inducen (Pascual y Aranda 2013).

Las hormonas tiroideas participan en diversos procesos fisiológicos, como son: a) la maduración del sistema nervioso central y crecimiento, b) el metabolismo de hidratos de carbono, lípidos y proteínas, y c) el desarrollo de huesos, hígado, pulmones, riñones, corazón y músculo (Pascual y Aranda 2013), así como en procesos de proliferación celular en diversos tejidos como el hígado y transcripción de genes (Gnocchi y cols. 2012). Las acciones de las hormonas tiroideas en el metabolismo de carbohidratos serán descritas en la sección de los antecedentes.

Las acciones de las hormonas tiroideas son llevadas a cabo en las células que presentan receptores nucleares para estas hormonas (TRs). Existen dos tipos de TRs: TR $\alpha$  y TR $\beta$ , siendo el  $\alpha$  el que tiene más afinidad por la T<sub>3</sub>. Del gen TR $\alpha$  existen diferentes isoformas incluyendo TR $\alpha$ 1, TR $\Delta\alpha$ 1, TR $\alpha$ 2, TR $\Delta\alpha$ 2 y TR $\alpha$ 3, sus funciones son diversas relacionadas con metabolismo y con activación o represión de genes diana; mientras que del gen TR $\beta$  están las isoformas TR $\beta$ 1 TR $\beta$ 2 TR $\beta$ 3 y TR $\beta\Delta$ 3 (Cheng y cols. 2010), las cuales cumplen funciones de proliferación en tejidos como el hígado y el páncreas, así como en la activación de complejos de mitógenos activados por proteínas quinasa (MAPK) (Columbano y cols. 2006). Los TRs se regulan, de acuerdo al tejido en donde se encuentren, pueden ser regulados positivamente o negativamente por las propias hormonas tiroideas (Pascual y Aranda 2013). Además de los TRs, las hormonas tiroideas pueden unirse a receptores localizados en la membrana plasmática, citoplasma y mitocondrias. La unión de la hormona a este tipo de receptores promueve cascadas de señalización, que finalizan en la modulación de iones sodio, calcio, potasio, transporte de glucosa, regulación del metabolismo de fosfolípidos y proliferación celular entre otras acciones (Pascual y Aranda 2013).

### 1.2.1 Hipotiroidismo

Los niveles sanguíneos de las hormonas tiroideas pueden ser afectados por diversos factores, entre los que tenemos una dieta baja en yodo, la presencia de tumores en la glándula tiroidea, la presencia de anticuerpos que bloquean la síntesis de hormonas tiroideas y malformaciones de la glándula. Existen dos patologías relacionadas con la inadecuada función de la glándula tiroidea: hipertiroidismo e hipotiroidismo. Sin embargo es el hipotiroidismo es el que tiene un mayor impacto en la salud. Así, el hipotiroidismo es una patología caracterizada por la disminución de las hormonas tiroideas y un aumento de la TSH que ocasionan un metabolismo lento y, por lo tanto, la manifestación de síntomas como aumento de peso, decaimiento, depresión, cabello quebradizo, fatiga, piel reseca, ciclos menstruales irregulares en mujeres y síndrome de ovario poliquístico<sup>8</sup>, problemas de infertilidad, dislipidemias<sup>9</sup> y DMII (Vanderpump 2011). Además, se le ha dividido en dos etapas, el hipotiroidismo subclínico, donde únicamente hay un aumento de TSH, y el hipotiroidismo clínico donde aumenta la TSH y disminuyen las hormonas tiroideas (Chubb y cols. 2005).

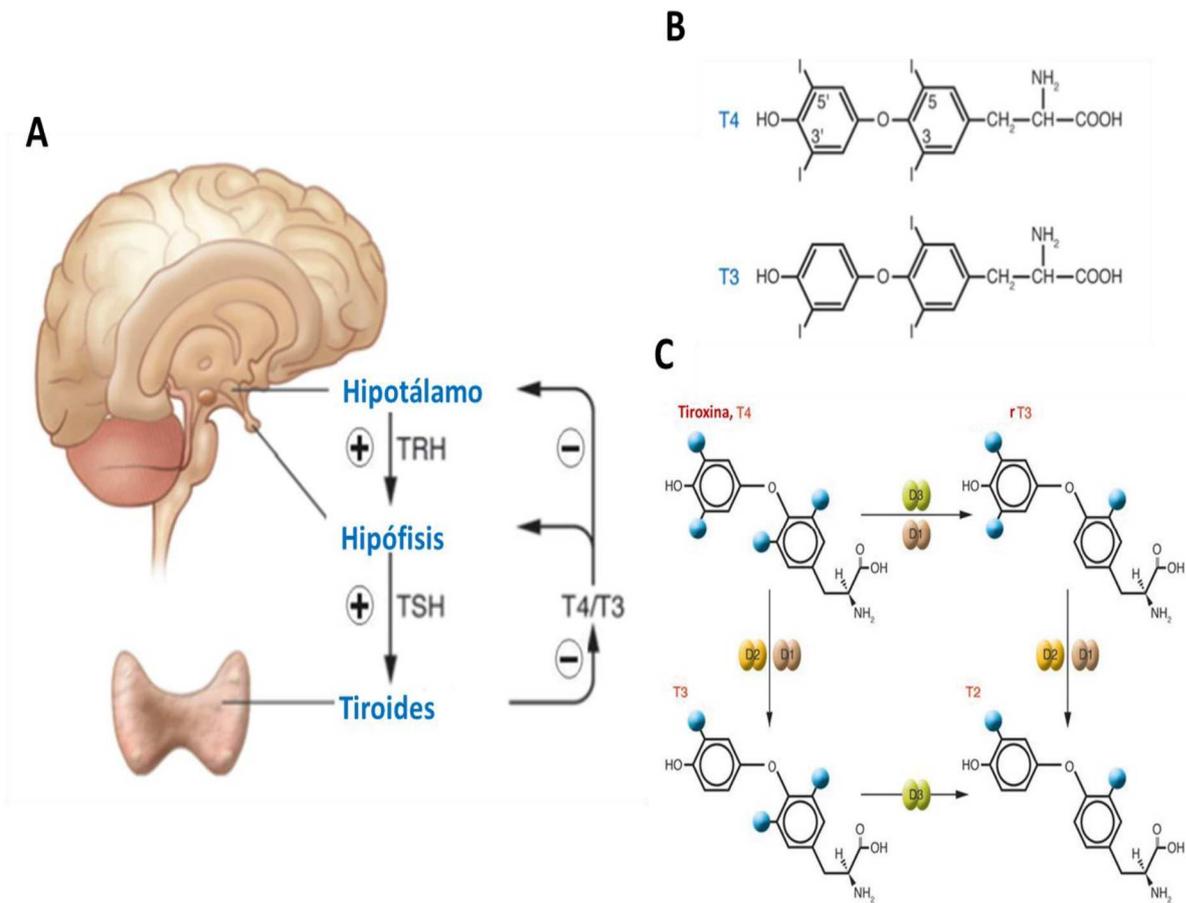
Las causas del hipotiroidismo son diversas, entre ellas el consumo disminuido de yodo en la dieta, la exposición a radiación o a compuestos organoclorados<sup>10</sup>, anomalías congénitas y, la causa más común, la presencia de anticuerpos anti-tiroideos principalmente anti-peroxidasa (TPOAb) o anti-tiroglobulina (TGAb) (Takasu y Yoshimura 2008). El hipotiroidismo está presente en la población en un 7%, siendo 10 veces más frecuente en mujeres que en hombres, aumentando con la edad. Particularmente, el hipotiroidismo se ha relacionado con la presencia de DM (Vanderpump 2011).

---

<sup>8</sup> Ver en glosario

<sup>9</sup> Ver en glosario.

<sup>10</sup> Ver en glosario.



**Figura 1. A.** Mecanismo de regulación de la síntesis de hormonas tiroideas. Cuando la T3 y T4 se encuentran disminuidas, aumenta la secreción de hormona liberadora de tirotrópina (TRH) por parte del hipotálamo. Esta hormona favorece la secreción de hormona estimulante de la tiroides o tirotrópina (TSH) secretada por la hipófisis anterior, para que estimule la síntesis de hormona tiroidea (T3 y T4). Una vez alcanzados los niveles óptimos se interrumpe la señal y se deja de secretar TRH. **B.** Principales hormonas tiroideas T4 y T3 (Modificado de Brent 2012). **C.** Mecanismo de acción de los enzimas desyodasas (tomado de Medina y cols. 2011).

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Hipotiroidismo y metabolismo de carbohidratos

En personas con DMII hay una prevalencia de hipotiroidismo subclínico<sup>11</sup> de 8.6% y para hipotiroidismo clínico<sup>12</sup> de 10.8%. Aunque se desconoce si la hiperglucemia fue antes o después que el hipotiroidismo (Chubb y cols. 2005). La acción de las hormonas tiroideas sobre el metabolismo de carbohidratos es contradictoria. Algunos autores han reportado que en pacientes con hipotiroidismo, los niveles de glucosa e insulina se mantienen, lo cual indica que el metabolismo de carbohidratos no se altera (Nada 2013). Mientras que otros proponen un aumento en las concentraciones de insulina (hiperinsulinemia) y bajos niveles de glucosa en pacientes hipotiroideos, favoreciendo la aparición de resistencia a la insulina (Kapadia y cols. 2012).

El efecto del hipotiroidismo sobre los niveles de glucosa e insulina ha sido estudiado en animales de laboratorio, en los cuales los resultados son confusos. Algunos estudios en conejos y perros reportan que el hipotiroidismo induce un aumento en las concentraciones de insulina; mientras que los niveles de glucosa se mantienen normales (Dariyerli y cols. 2003, Mazaki-Tovi y cols. 2010). En ratas zucker, el hipotiroidismo induce niveles bajos de glucosa e insulina (Hwang y cols. 2009). Los animales con hiperglucemia inducida (por administración de estreptozotocina) tienen niveles bajos de hormonas tiroideas y el tratamiento con medicamentos antidiabéticos los eleva (Saravanan y Ponmurugan 2012). En cuanto a la TSH, se ha reportado que su disminución sérica ocasiona resistencia a la insulina en perros (Renauld y cols. 1978).

### 2.2 Hipotiroidismo e histología del páncreas

En ratas Wistar macho, provenientes de madres hipotiroideas, ocurre una disminución significativa en el área y diámetro de los islotes, así como aumento en la glucosa sérica (Farahani y cols. 2013). En ratas zucker, el hipotiroidismo disminuye el área de los islotes (Hwang y cols. 2009), y en ratas con hiperglicemia inducida con estreptozotocina, el

---

<sup>11</sup> Ver glosario

<sup>12</sup> Ver glosario

hipotiroidismo aumenta el número de islotes, su área y el tamaño de las células que contienen (Ahmed y cols. 2012).

### **2.3 Inmunolocalización de TRs y TSHR en páncreas**

En cuanto a la presencia de TRs y receptores de TSH (TSHR) en el páncreas, se ha encontrado que los TR $\alpha$  y TR $\beta$  se expresan en células  $\alpha$  y  $\beta$  (Zinke y cols. 2003, Verga-Falzacappa y cols. 2009). La cantidad de receptores presentes en el páncreas es dependiente de la edad, así el TR $\alpha$  se expresa en mayor cantidad en edades tempranas, mientras que el TR $\beta$  es el que predomina en la adultez (Aguayo-Mazzucato y cols. 2013). Así mismo se ha encontrado que en ratones con hiperglucemia por tratamiento con estreptozotocina, por medio de la acción del TR $\alpha$ , aumenta la masa de las células  $\beta$ , con lo cual hay una restauración en la secreción de insulina y una disminución de la hiperglicemia (Furuya y cols. 2010); mientras que en ratas macho, se ha reportado que el TR $\beta$  promueve la proliferación en islotes (Columbano y cols. 2006). Además, en astrocitos, los TRs participan en la acumulación de material extracelular (Trentin y cols. 2003). En cuanto a la expresión del TSHR, hasta el momento no se ha reportado su presencia en el páncreas; sin embargo, la activación de los TSHR promueven la proliferación celular en células del músculo liso (Tian y cols. 2014) y en tejido adiposo (Lu y cols. 2010). Además de que los TSHR participan en la activación de genes de la lipólisis en los adipocitos (Elgadi y cols. 2010)

### 3. JUSTIFICACIÓN

1. Existe una relación entre la DMII e el hipotiroidismo, siendo posiblemente esta última una de las causas de la DM (Chubb y cols. 2005).
2. En modelos animales, los resultados que relacionan al hipotiroidismo con niveles de glucosa e insulina son contradictorios. Algunos estudios proponen un aumento en la insulina y una disminución de glucosa (Kapadia y cols. 2012); mientras que en otros no hay afectación (Nada 2013). Cabe mencionar que estos estudios solo han sido realizados en machos.
3. Las hormonas tiroideas, a través de los TRs, regulan la proliferación celular en células beta (Columbano y cols. 2006), sin embargo cómo es esta regulación durante el estado hipotiroideo, aún es desconocida.
4. En ratas Zucker, en ratas hijas de madres hipotiroideas, y en ratas tratadas con estreptozotocina, el hipotiroidismo aumenta el área y el número de células de los islotes (Hwang y cols. 2009, Ahmed y cols. 2012, Farahani y cols. 2013). Hasta el momento no se ha realizado ningún trabajo en animales machos adultos.
5. Se sabe que las células  $\beta$  expresan TR $\alpha$  y TR $\beta$  (Zinke y cols, 2003, Verga-Falzacappa y cols. 2009). Además, los TRs participan en la secreción de insulina (Furuya y cols. 2010). En ratas Sprague-Dowley postnatales, el hipotiroidismo aumenta los TR $\alpha$ . A pesar de que se desconoce qué ocurre con estos receptores en el páncreas durante el hipotiroidismo, se ha reportado que en el hígado son regulados negativamente (López-Fontal y cols. 2010).
6. La presencia de TSHR se ha evaluado en células del músculo liso (Tian y cols. 2014) y en adipocitos (Lu y cols. 2012), en el páncreas se desconoce su expresión.

#### **4. HIPÓTESIS**

El hipotiroidismo aumenta los niveles de glucosa e insulina y afecta las características histológicas de los islotes pancreáticos en la coneja adulta.

##### **4.1 Predicciones**

Los islotes pancreáticos tienen TR $\alpha$  y TR $\beta$ .

Los islotes pancreáticos tienen TSHR.

El hipotiroidismo induce:

- a) Mayores niveles séricos de insulina y glucosa
- b) Resistencia a la insulina
- c) Menor densidad de islotes
- d) Mayores áreas y números de células en los islotes.
- e) Aumento en la proliferación de las células de los islotes.
- f) Disminución de células inmunoreactivas a TR $\alpha$ , TR $\beta$  y TSHR en los islotes

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo General

Determinar el efecto del hipotiroidismo sobre los niveles de glucosa e insulina y las características histológicas de los islotes pancreáticos en conejas adultas

### 5.2 Objetivos Específicos

#### **En conejas controles e hipotiroideas:**

1. Medir los niveles séricos de glucosa e insulina.
2. Calcular el índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR).
3. Cuantificar la densidad de islotes por páncreas
4. Cuantificar el área y el número de células por islote
5. Determinar la proliferación de las células de los islotes.
6. Cuantificar las células inmunoreactivas TR $\alpha$ , TR $\beta$ , y TSHR en islotes

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 Animales

Se utilizaron conejas de la raza Chinchilla (*Oryctolagus cuniculus*) de 7-13 meses de edad, alojadas en jaulas de acero inoxidable de 50 x 60 x 40. Los animales fueron proporcionados por el animalario del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta. Durante el desarrollo de los experimentos, las conejas permanecieron en condiciones controladas de ciclo luz/oscuridad (16/8 h), a una temperatura de  $22 \pm 2$  °C, mantenidas con alimento purina con acceso controlado (180 g diarios) y agua *ad libitum*. Las conejas se dividieron en dos grupos: el control (sin tratamiento; n=6) y las hipotiroideas (n=6). El Hipotiroidismo se indujo mediante tratamiento con el fármaco anti-tiroideo metimazol (Sigma).

### 6.2 Inducción del hipotiroidismo

El hipotiroidismo fue inducido mediante la administración de metimazol (Sigma), el cual se proporcionó en el agua de bebida a una concentración de 0.02% (Al-jamal y cols. 2004) equivalente a una dosis de 10 µg/Kg/día, durante treinta días. Los niveles de las hormonas tiroideas están mostrados en Carrillo-Portillo 2012.

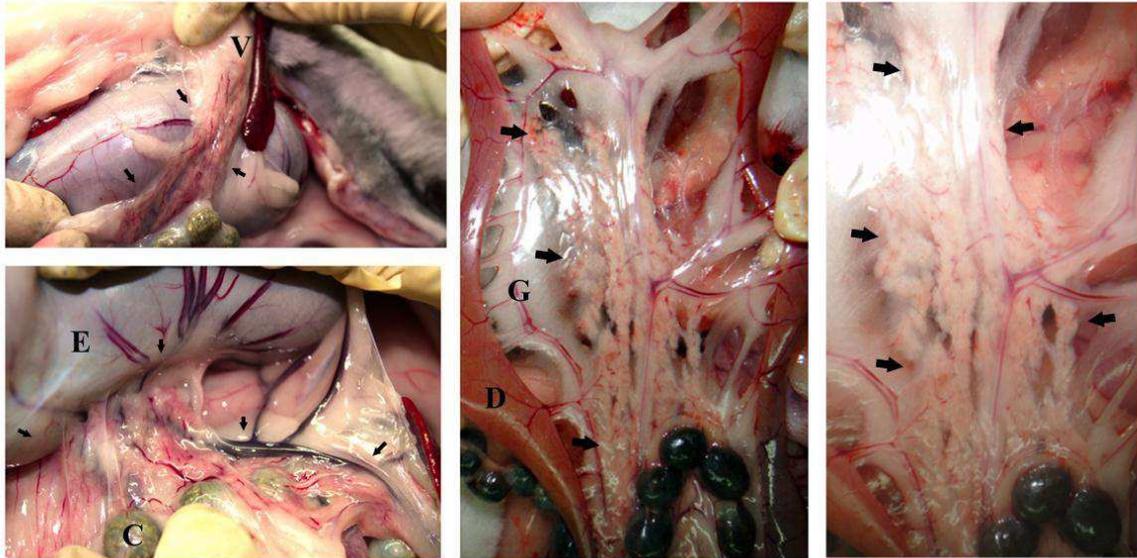
### 6.3 Medición de glucosa e insulina

En suero, se midieron los niveles de glucosa con el método glucosa oxidasa, y los niveles de insulina por quimioluminiscencia (CARPERMOR). Se calculó la resistencia a la insulina mediante la fórmula de HOMA-IR = (insulina x glucosa)/405.

### 6.4 Histología del páncreas

Después del sacrificio, se extrajo el lóbulo derecho del páncreas (Fig. 2) y se fijó con una solución de Bouin-Duboscq por 12 h. Se deshidrató con alcoholes en concentración ascendente (60-100%) y se incluyó en parafina. Los segmentos de páncreas fueron cortados longitudinalmente a 5 µm con un microtomo y se colocaron 4 cortes por laminilla. Los cortes fueron divididos en cinco series, de las cuales se tomó el corte central de una para teñirse. Para la tinción, los cortes se desparafinaron en xileno y se deshidrataron en alcoholes en

concentraciones descendentes (100-60%). Al finalizar las tinciones, los cortes se fijaron con resina y cubrieron con un cubreobjetos. Se escogió de la laminilla un corte, tomando en cuenta que no estuviera roto y que la tinción fuera uniforme.



**Figura. 2.** Localización del páncreas de la coneja, ubicado a un lado del vaso (V), debajo del estómago (E), y rodeado del colon (C) y del duodeno (D), así como de grasa (G). Las flechas negras indican el páncreas.

**Análisis cualitativo.** Los cortes teñidos fueron observados al microscopio.

**Densidad.** Se realizaron reconstrucciones de los páncreas con fotografías a 10x mediante el uso del programa Adobe PhotoShop C56 (Fig. 3A-B). Para medir la densidad de islotes se utilizó un cuadrado de  $250,000 \mu\text{m}^2$  sobrepuesto en todas las reconstrucciones de los páncreas. Se cuantificó el número de islotes dentro de ese cuadrado.

**Área transversal de islotes.** Utilizando las reconstrucciones de los páncreas (Fig. 3A-B) de apartados anteriores, y utilizando una cuadrícula de 24 x 20 cm y se seleccionó uno de cada tercer cuadrante. De los cuadrantes seleccionados, se localizaron los islotes y se fotografiaron a 40x. Se midieron las áreas de los islotes por medio del programa Axio Vision REL 4.8 e.

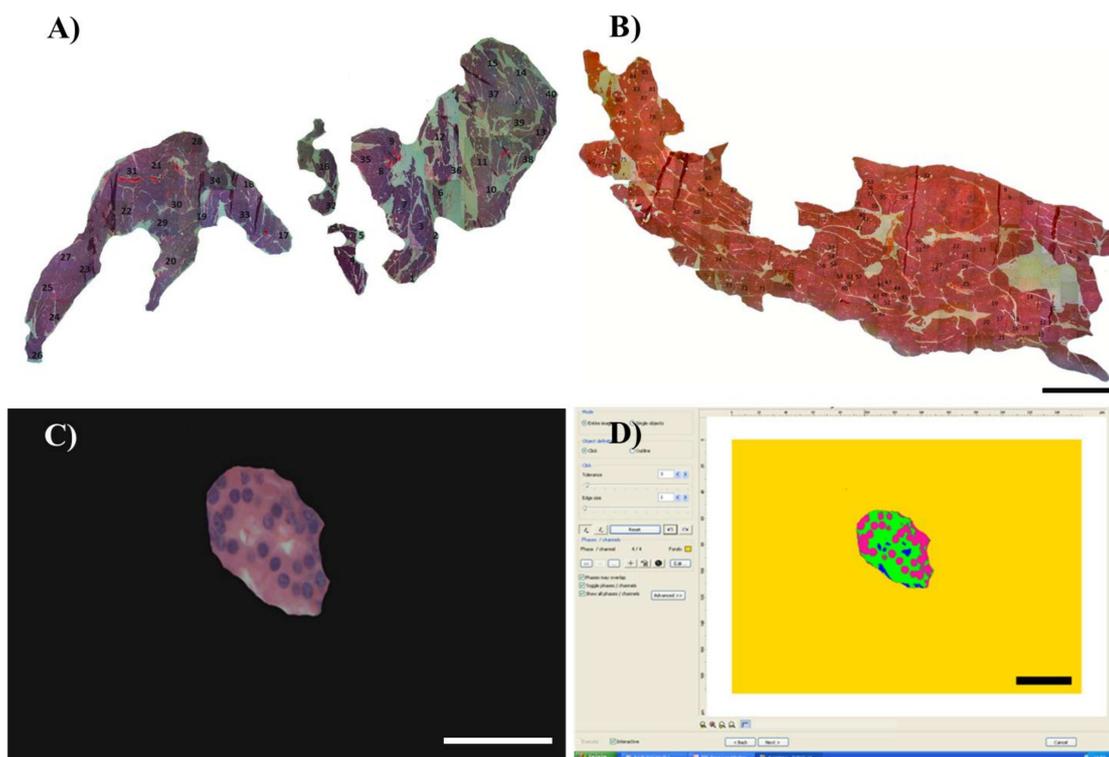
Los islotes fueron arbitrariamente clasificados en tres grupos: grandes (menos de 4000  $\mu\text{m}^2$ ), medianos (entre 4000 y 7000  $\mu\text{m}^2$ ) y chicos (más de 7000  $\mu\text{m}^2$ ).

**Número de células.** Utilizando los islotes previamente muestreados (apartado anterior), se cuantificaron los núcleos de cada uno mediante el programa Image J.

**Área extracelular** Se utilizaron fotografías a 40x de los islotes que previamente fueron muestreados, y se midió el área neta ocupada por el núcleo, el citoplasma y los espacios en blanco de cada islote (área extracelular) por medio del programa Axio Vision REL 4.8 (Fig. 3C-D). Como la fotografía contenía partes de tejido acinar, se optó por excluirlo colocando color negro dejando únicamente los islotes (Fig. 3C). Se normalizó de acuerdo al área de los islotes y se obtuvo un porcentaje.

**Proliferación.** Para la inmunodetección de células en proliferación celular en el páncreas, los tejidos fueron desparafinados en xilol y alcoholes de graduación ascendente. Enseguida, los cortes se incubaron en una solución de citrato de sodio (10 mM, pH 6) durante tres noches a 4°C para el destape de antígenos, seguido de su calentamiento en un microondas durante dos minutos. Posteriormente, los cortes se incubaron en una solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3% durante 30 minutos, y se lavaron en soluciones de PBS y PBS-tritón. A continuación, los cortes fueron incubados en suero de cabra (NGS) al 5% durante una hora. Los cortes se lavaron con solución de PBS-tritón y se incubaron con el anticuerpo primario anti-Ki67 (Abcam, 1:100) por 12 h. Pasado el tiempo, los cortes fueron lavados con PBS-tritón y se incubaron durante dos horas a temperatura ambiente con el anticuerpo secundario biotinilado (goat anti-mouse IgM) diluido a una concentración de 1:250. Los cortes se lavaron con PBS-tritón y PBS. Se incubaron durante 1 hora con el complejo avidina biotina (ABC; 1:200), y se lavaron con PBS. La presencia del antígeno fue revelada con el cromógeno diaminobencidina (DAB) a una concentración de 0.3%. Finalmente, los cortes fueron contrateñidos con hematoxilina de Mayer, se deshidrataron en alcoholes con concentración ascendente, se aclararon con xileno y se montaron con resina. Se realizaron fotomontajes a 4X para seleccionar los islotes utilizando el mismo criterio de apartados anteriores. Los islotes muestreados fueron fotografiados a 100X

y se contó por islote la proporción de células inmunoreactivas a los anticuerpos utilizados. Para dividirlos en las categorías por área ya establecidas, se midieron las áreas de los islotes muestreados como se indicó en apartados anteriores.



**Figura 3.** Reconstrucciones de los páncreas de conejas pertenecientes al grupo control (A) e hipotiroideo (B). C. Exclusión del tejido acinar. D. Medición del área nuclear (rojo), citoplasmática (verde) y de espacios en blanco (azul). La barra para A y B representa 2000  $\mu\text{m}$ , para C y D 50  $\mu\text{m}$ .

## 6.5 Inmunodetección de TRs y TSHR

Para la inmunodetección de TRs tipo  $\alpha 1-2$ ,  $\beta 1$  y TSHR, se utilizó el mismo procedimiento del apartado de proliferación celular, los anticuerpos primarios utilizados fueron anti-TR $\alpha 1-2$  (1:50, Santa Cruz Biotechnology), anti-TR $\beta 1$  (1:50, Santa Cruz Biotechnology) y anti-TSHR (Abcam 1:50). Los TRs fueron incubados durante 72 horas y TSHR durante 12 h. Se utilizó anticuerpo secundario goat anti-mouse IgG.

## **6.6 Análisis estadístico**

Los valores obtenidos de las diferentes variables estudiadas se analizaron mediante una prueba t de Student o U Mann Whitney, según fue el caso; así mismo se usó el índice de correlación de Pearson o Spearman según fue el caso. Diferencias entre los 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 Prism v5. Las distribuciones de frecuencias se analizaron mediante pruebas de Fisher. Se consideró un valor de  $P \leq 0.05$  como significancia estadística. Los valores son mostrados como medias  $\pm$  error estándar (EE), o porcentaje en el caso de los histogramas.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Metabolismo de carbohidratos

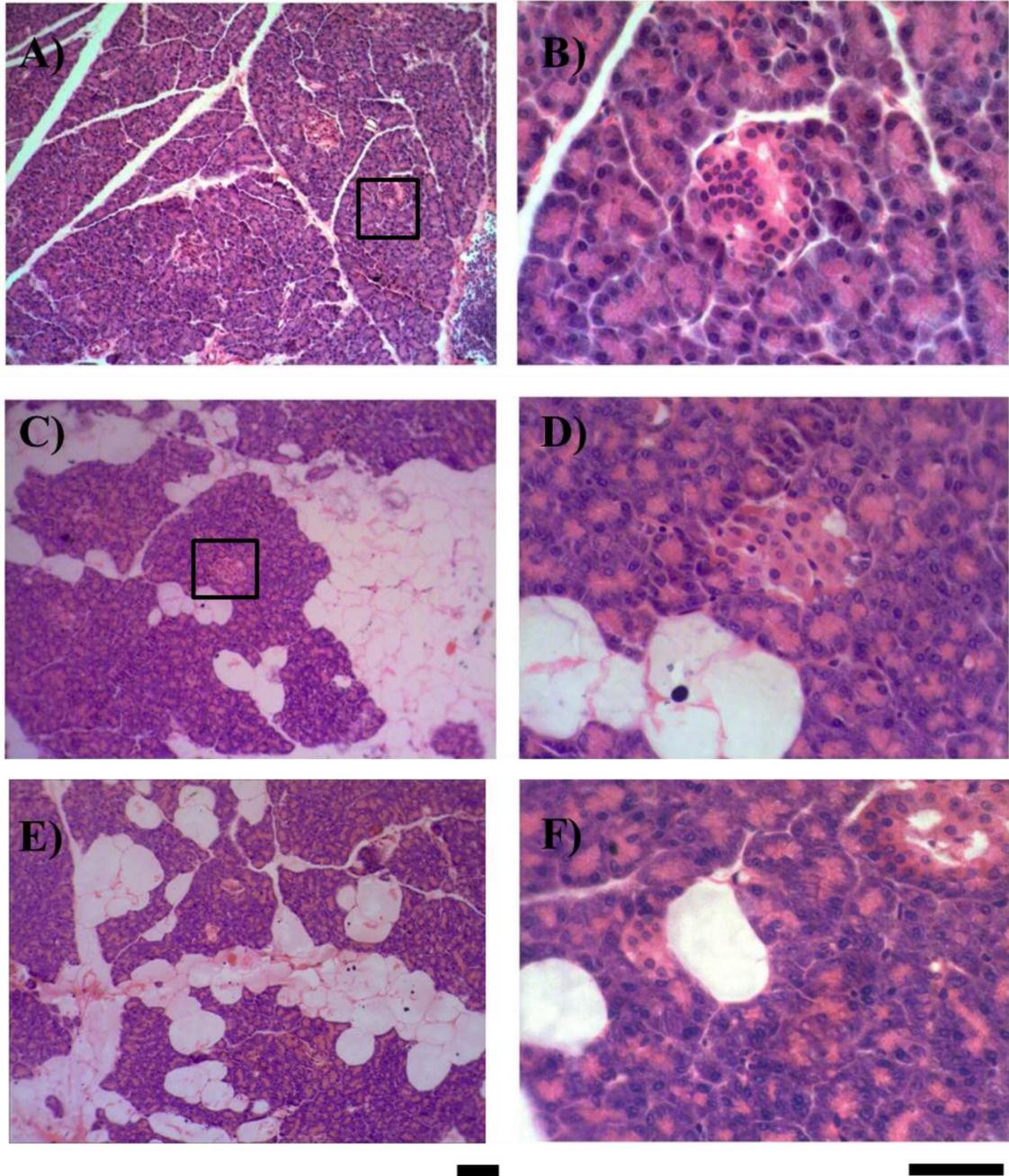
Los niveles séricos de glucosa e insulina son similares entre el grupo control y el hipotiroideo (Tabla 1). Por otra parte no hay diferencia en el peso corporal de las conejas, con un promedio para las conejas control (n=6) de  $4.3 \pm 0.1$  kg y el de las tratadas (n=6) de  $4.2 \pm 0.1$  kg.

Parámetro	Grupo control n=6	Grupo hipotiroideo n=6	Estadística
Glucosa (mg/dl)	$184.5 \pm 13.0$	$171.0 \pm 13.9$	Ns
Insulina ( $\mu$ UI/ml)	$5.8 \pm 1.3$	$4.3 \pm 0.6$	Ns
IR (HOMA)	$2.7 \pm 0.6$	$1.8 \pm 0.2$	Ns

**Tabla 1.** Medición de parámetros bioquímicos: glucosa, insulina y resistencia a la insulina. Los datos están expresados como media  $\pm$  error estándar y fueron analizados con U de Mann Whitney. Ns, no significativo.

### 7.2 Características cualitativas del páncreas

En cuanto a las características del páncreas, no se observaron diferencias entre el grupo control e hipotiroideo; los islotes de ambos grupos, en general, se encontraron con distintos tamaños y sin una forma definida (Fig.4A-D). Además en los páncreas pertenecientes al grupo hipotiroideo, se encontraron gotas de lípidos dentro del tejido acinar (Fig. 4E-F).



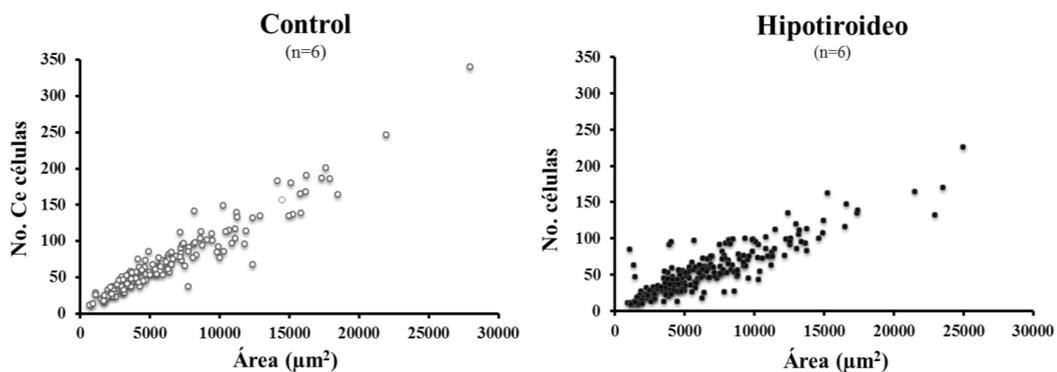
**Figura 4.** Microfotografías representativas de cortes de páncreas teñidos con hematoxilina-eosina, provenientes de grupo control (A y B) y grupo hipotiroideo (C y D). El cuadro negro en las microfotografías de A y C indica el aumento de las microfotografías en B y D. E y F. Microfotografías que muestran gotas de lípidos en los acinos del páncreas. Las Barras representan 50  $\mu\text{m}$ .

### 7.3 Características cuantitativas de islotes

En cuanto a la densidad, área, distribución de islotes por área y número de islotes, no se encontraron diferencias entre grupos (Tabla 2). Fueron evaluados un total de  $24.5 \pm 4.0$  islotes para el grupo control, mientras que para el grupo hipotiroideo fueron  $30.5 \pm 3.1$ , sin encontrarse diferencias significativas entre grupos. Al correlacionar el área de los islotes de Langerhans de conejas controles ( $r=0.9$ ,  $p<0.0001$ ) y tratadas ( $r=0.8$ ,  $p<0.0001$ ) con el número de células que contenía cada islote se encontró una correlación positiva, es decir, a mayor área del islote, mayor número de células (Fig. 5).

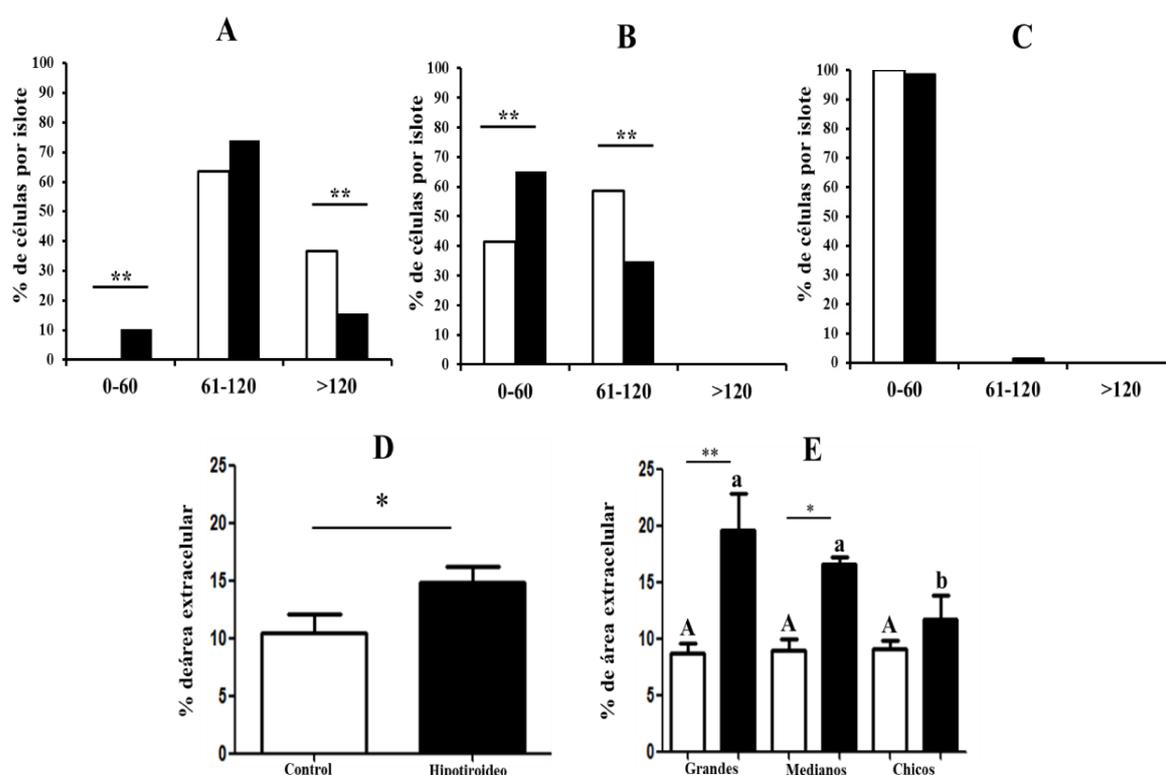
Medición	Grupo control (n=6)	Grupo hipotiroideo (n=6)	Estadísticos
Densidad (islotes/250,00 $\mu\text{m}^2$ )	$15 \pm 2.2$	$19.5 \pm 3.1$	Ns
Área transversal promedio ( $\mu\text{m}^2$ )	$6769 \pm 940.2$	$5933 \pm 541.2$	Ns
% de islotes grandes	36.6	33.0	Ns
% de islotes medianos	27.5	21.0	Ns
% de islotes chicos	35.9	34.0	Ns
Número de células por islote	$74.1 \pm 4.0$	$52.1 \pm 2.1$	Ns

**Tabla 2.** Características histológicas de los páncreas del grupo control y grupo hipotiroideo. Los datos están expresados como media  $\pm$  error estándar y fueron analizados con la prueba U de Mann Whitney para el área y con *t* de Student para densidad y número de células por islote. Ns, no significativo.



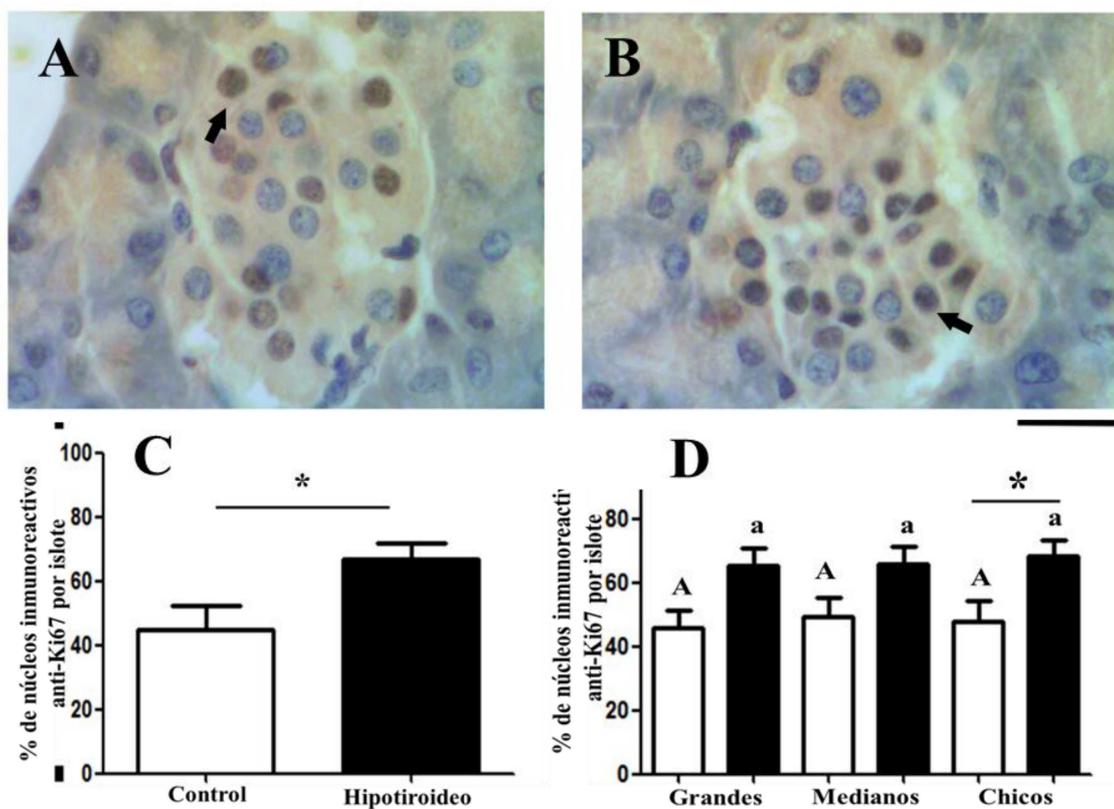
**Figura 5.** Correlación entre el área de los islotes ( $\mu\text{m}^2$ ) y el número de células que contiene cada islote de grupo control e hipotiroideo. Los datos fueron analizados con el índice de correlación de Spearman.

En la distribución de frecuencias de número de células por tamaño de los islotes, se encontró que los islotes grandes y medianos del grupo hipotiroideo poseen menos núcleos con respecto al grupo control, mientras que esta condición no ocurre en islotes chicos (Fig. 6A-C). Al medir el área extracelular se encontraron diferencias entre grupos (Fig. 6D), mientras que por tamaño del islote sólo se encontraron diferencias en los islotes grandes y medianos (Fig. 6E, tratamiento,  $F_{1,30}=1.3$ ,  $p<0.001$ ; área de islote  $F_{2,30}=23.6$ ,  $p>0.05$ ; e intersección  $F_{1,30}=12.3$ ,  $p\leq 0.05$ ).



**Figura 6.** Distribución del número de células por tamaño del islote en grandes (A), medianos (B) y chicos (C) de conejas controles (barras blancas) e hipotiroideas (barras negras). D. Porcentaje de área ( $\mu\text{m}^2$ ) extracelular ocupada en grupo control e hipotiroideo. E. Porcentaje de área intracelular por tamaño del islote. Letras mayúsculas indican islotes controles y las letras minúsculas islotes de hembras hipotiroideas. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre los islotes por tamaño. Los datos fueron analizados mediante una prueba de Fisher, *t* de Student o ANOVA de dos vías. Las diferencias entre grupos están representadas por asteriscos \*\*  $p<0.01$ , \*  $p\leq 0.05$ .

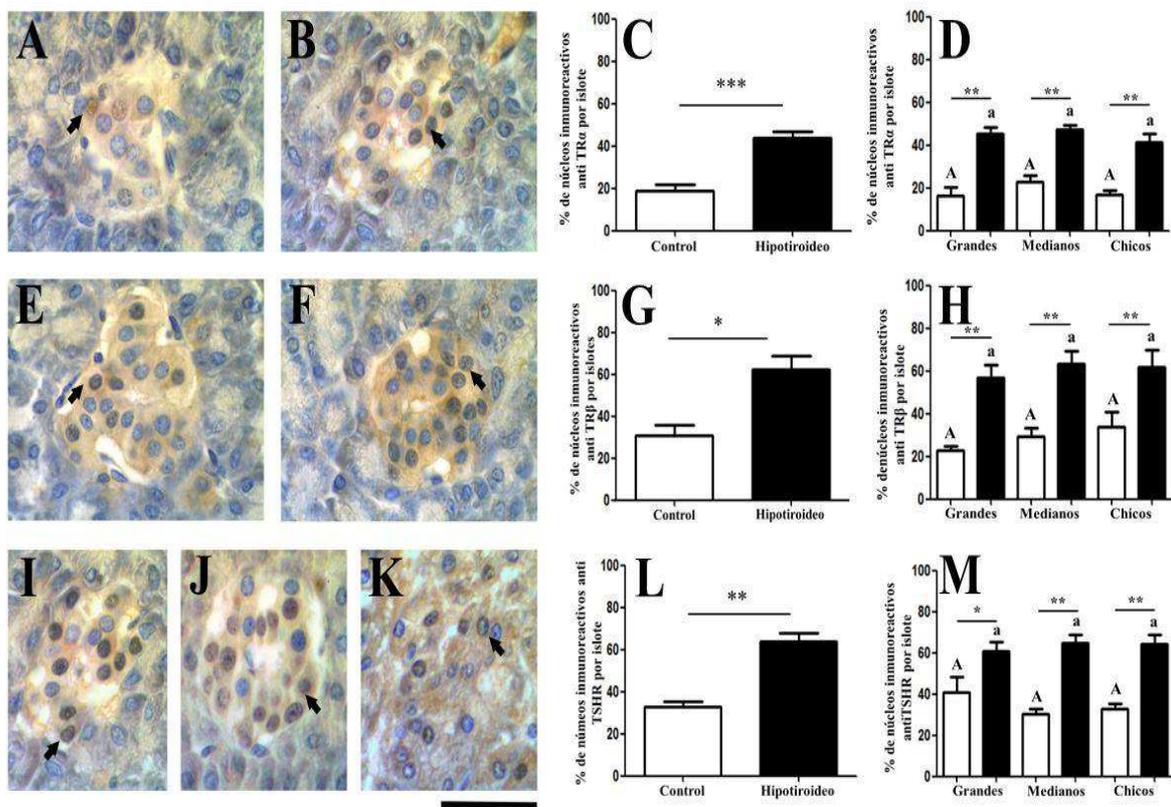
En cuanto a la proliferación celular se encontraron diferencias significativas entre grupo control e hipotiroideo (Fig. 7A-C). En cuanto al tamaño del islote, sólo se encontraron diferencias en los islotes chicos (Fig. 7D, tratamiento,  $F_{1,30}=15.6$ ,  $p<0.001$ ; área de islote  $F_{2,30}=0.1$ ,  $p>0.05$ ; e intersección  $F_{1,30}=0.1$ ,  $p>0.05$ ). Se pudo observar que la proliferación en los tejidos controles se lleva a cabo mayoritariamente en las células de la periferia de los islotes, situación que se modifica en los tejidos hipotiroideos, ya que en estos se lleva a cabo más homogéneamente (Fig. 7A-B).



**Figura 7.** Arriba. Microfotografías a 100x de la localización de núcleos inmunoreactivos para Ki67 el grupo control (A) y el hipotiroideo (B). Abajo. Porcentaje de núcleos inmunoreactivos para ki67 en ambos grupos (C) y porcentaje de inmunoreactividad por tamaño del islote (D). Las flechas negras indican los núcleos inmunoreactivos. La barra representa 20  $\mu$ m. Los datos fueron analizados mediante una U de Mann Whitney y una ANOVA de dos vías. Letras mayúsculas indican islotes controles y las letras minúsculas islotes de hembras hipotiroideas. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre los islotes por tamaño. Las diferencias entre grupos están representadas por asteriscos \*  $p<0.05$ .

#### **7.4 Inmunoreactividad de receptores a hormonas tiroideas y TSH**

La inmunodetección de TR $\alpha$  posee un porcentaje de inmunomarcaje mayor en el grupo hipotiroideo (Fig. 8A-C). De acuerdo al tamaño del islote, se encontraron diferencias entre todos los tamaños (Fig. 8D, tratamiento,  $F_{1,11}=94.4$ ,  $p<0.0001$ , área de islote  $F_{2,11}=1.7$ ,  $p>0.05$ , intersección,  $F_{1,11}=0.3$ ,  $p>0.05$ ). La expresión TR $\beta$  se encontró aumentada en el grupo hipotiroideo con respecto del grupo control (Fig. 8E-G), esto se mantiene en todos los tamaños (Fig. 8H, tratamiento,  $F_{1,11}=42.9$ ,  $p<0.0001$ , área de islote,  $F_{2,11}=0.4$ ,  $p>0.05$ , intersección,  $F_{1,11}=0.2$ ,  $p>0.05$ ). En la inmunodetección de receptores de TSH se observó que el grupo control contenía un menor inmunomarcaje con respecto al grupo hipotiroideo (Fig. 8I, J, L). En cuanto al tamaño de los islotes, se encontraron diferencias para todos los tamaños (Fig. 8M, tratamiento,  $F_{1,11}=58.6$ ,  $p<0.0001$ , área de islote  $F_{2,11}=0.2$ ,  $p>0.05$ , intersección  $F_{1,11}=1.5$ ,  $p>0.05$ ); además se observó que el marcaje se presenta también en los acinos pancreáticos (Fig 10-K).



**Figura 8. Derecha.** Inmunomarcaje para anti-TR $\alpha$ , TR $\beta$ , y TSHR para el grupo control (A, E, I, y K respectivamente) y grupo hipotiroideo (B, F, y J, respectivamente) en islotes y en células acinares (K). Las flechas negras representan los núcleos inmunoreactivos. La barra equivale a 20  $\mu$ m. **Centro.** Porcentaje de núcleos inmunoreactivos por islote para anti-TR $\alpha$ , TR $\beta$ , y TSHR (C, G y L, respectivamente). **Izquierda.** Porcentaje de núcleos inmunoreactivos de acuerdo al tamaño del islote (D, H y M). Los datos fueron analizados mediante una *t* de Student, y una ANOVA de dos vías. Letras mayúsculas indican islotes controles y las letras minúsculas islotes de hembras hipotiroideas. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre los islotes por tamaño. Las diferencias entre grupos están representadas por asteriscos \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , and \*\*\* $p < 0.001$ .

## 8. DISCUSIÓN

El hipotiroidismo inducido con metimazol, en nuestro estudio, no modifica los niveles de glucosa ni de insulina, lo cual coincide con otros estudios realizados en conejos y en perros (Dariyerli y cols. 2003, Mazaki-Tovi y cols. 2010). A su vez tampoco se encontró evidencia de resistencia a la insulina en la coneja, en contraste a estudios realizados en conejo macho (Dariyerli y cols. 2003). Esto sugiere que las modificaciones a nivel de metabolismo de hidratos de carbono, por efecto de las hormonas tiroideas, no se llevan a cabo en la coneja. Sin embargo nuestros resultados podrían resultar contradictorios a otros por diversos factores donde entre los que destacan el tiempo del tratamiento, las dosis utilizadas y el modelo animal tal como se ha visto en ratas macho wistar donde usan dosis seis veces mayores a las nuestras y ven modificaciones histológicas en lengua, hígado, corazón y bazo (Cano-Europa y cols. 2009). El género podría ser un factor importante a considerar; ya que los estrógenos pueden regular los niveles de insulina (Morimoto y cols. 2010). A este respecto, a pesar de que las conejas se encuentren en fase de proestro temprano, se ha evidenciado que el estradiol en pocas cantidades afecta la histología pancreática, así como la glucosa e insulina séricas (Hooper-Inteeworn y cols. 2012).

En pacientes con DMII, resistencia a la insulina e hipertrigliceridemia, se ha reportado la presencia de gotas de lípidos lo cual está relacionado con el deterioro de la función pancreática (Gulcan y cols. 2007); así mismo, en pacientes obesos (Smits y Greenen, 2011). De manera que las gotas de lípidos en el páncreas de conejas hipotiroideas podría manifestar un estado de acumulación de triglicéridos, esto fue independiente del peso corporal de los animales. Contrario a lo reportado en otros trabajos (Hwang y cols. 2009), el hipotiroidismo en la coneja no modificó el peso corporal de los animales estudiados.

En la histología del páncreas de ambos grupos, se observaron islotes de Langerhans en formas variables a lo largo del páncreas, contrario a otros estudios donde observan formas simétricas en los grupos controles y formas asimétricas en animales hipotiroideos (Hwang y cols. 2009). A diferencia de la rata, donde los islotes chicos predominan (Chamson-Reig y cols. 2006), en la coneja los islotes estuvieron distribuidos de forma similar entre grandes, medianos y chicos. En ratas zucker, en ratas hijas de madres hipotiroideas y en ratas con

hiperglicemia inducida con estreptozotocina, las áreas de los islotes suelen ser de mayor tamaño (Hwang y cols. 2009, Ahmed y cols. 2012, Farahani y cols. 2013); sin embargo en nuestro estudio encontramos un porcentaje similar de islotes grandes, medianos y pequeños. En cuanto al número de células por islote, no se encontraron diferencias, sin embargo, de acuerdo al tamaño de los islotes, los grandes y medianos en el grupo hipotiroideo tuvieron un menor número de células. El área extracelular aumentada en el grupo hipotiroideo indicó por qué a pesar de que los islotes grandes y medianos poseen menos células conservan el área. El espacio extracelular, sugiere infiltración de tejido conectivo no del tipo colágeno, ya que no se marca con tricrómica de Masson (datos no mostrados); o bien, líquido extracelular. En este sentido, en ratas con hiperglucemia inducida por dieta, la acumulación de líquido extracelular en el islote es un indicador de proliferación o apoptosis (Del Zotto y cols. 2004).

En nuestros resultados, la proliferación celular en los islotes fue mayor en animales hipotiroideos, similar a lo que ocurre en ratas con hiperglicemia inducida (Nir y cols. 2007). En el grupo control, la inmunoreactividad anti-Ki67 estuvo presente mayoritariamente en la periferia de los islotes; mientras que en el grupo hipotiroideo se observó en todo el islote. Esto podría indicar que la regeneración del páncreas, en condiciones normales, ocurre por mecanismos de reprogramación principalmente, mientras que durante el hipotiroidismo promueve mecanismos de replicación y de reprogramación celular con la finalidad de compensar una posible apoptosis celular (Kordowich y cols. 2010, Xiao y cols. 2013). En cuanto a la proliferación por tamaño del islote, se pudo observar que únicamente los islotes de tamaño chico son los que modificaron su proliferación. Esto explica por qué no hay diferencias en cuanto al número de células en este tamaño de islote. Además se ha reportado la importancia de los islotes chicos, ya que contienen mayoritariamente células  $\beta$  y, por ende, secretan mayor cantidad de insulina (Farhat y cols. 2013). Por lo que como mecanismo de compensación, al aumentar su proliferación, podrían estar secretando más insulina, y quizá sea la razón por la que no encontramos diferencias en los niveles séricos de esta hormona.

En cuanto a los TRs, se la presencia de TR $\alpha$ 1-2 y TR $\beta$ 1 en islotes de conejos coincide con estudios realizados en ratas (Zinke y cols 2003; Verga-Falzacappa y cols. 2009). En nuestro trabajo pudimos observar que la expresión de estos receptores únicamente se lleva a cabo en los islotes de Langerhans, tal como ya habían sugerido los trabajos antes

mencionados. Nuestro estudio es el primero en proponer que la regulación de los TRs en el estado hipotiroideo es a la alta, contrario a lo que ocurre en otros tejidos como el hígado (López-Fontal y cols. 2010). Además, a diferencia de la rata, nosotros no encontramos diferencias entre la inmunoreactividad de los TRs (Aguayo-Mazzucato y cols. 2013). El aumento en la activación del TR $\alpha$ 1-2 podría estar incrementando la activación de genes como el de la glucosa 6 fosfato, piruvato carboxilasa, del ChREB, y de algunos GLUT como el 1, 2 y 4 que son importantes para el metabolismo de glucosa (Brenta 2011). Se ha reportado que el TR $\alpha$  promueve la proliferación (a través de la activación de ciclinas) y la secreción de insulina (Furuya y cols. 2010). En cuanto a la expresión de TR $\beta$ 1, esta se duplica en la condición del hipotiroidismo. Este receptor, modula MAPK que aumentan factores de transcripción relacionados con la proliferación celular (Columbano y cols. 2006). Además los TR durante la etapa posnatal en el páncreas, regulan procesos de regeneración vía PI3K (Furuya y cols. 2010) y en embriones a través de reprogramación celular (Aiello y cols. 2014). Las hormonas tiroideas regulan factores de transcripción como Pdx1, el cual ejerce un papel fundamental en la maduración de la célula  $\beta$  y en la síntesis de insulina (Campbell y Macfarlane 2010).

De igual manera se pudo determinar la presencia de TSHR, lo cual es un punto innovador de nuestro trabajo, ya que a pesar de que se ha visto su presencia en diversos tejidos metabólicos (Williams 2011), no había sido reportada su presencia en células pancreáticas. Cabe destacar que pese a que únicamente cuantificamos la presencia de TSHR en islotes de Langerhans también tiene expresión en los acinos pancreáticos, por lo cual podrían estar ejerciendo acciones relacionadas con síntesis y excreción de enzimas indispensables para la digestión, tal como se ha visto con la TRH (Luo y cols. 2008). En cuanto a su expresión en los islotes pancreáticos, pudimos observar que aumenta al doble en el grupo hipotiroideo con respecto al grupo control. En células vasculares de músculo liso (Tian y cols. 2014) y en adipocitos (Lu y cols. 2012) promueve la activación de ciclinas, adenilato ciclasa, cAMP y MAPK (Vassart y Dumont 1992). Así mismo, regula la activación de receptores de insulina en los tirocitos (Van Keymeulen y cols. 2000). Además, los TSHR modulan genes diana para el metabolismo lipídico (Elgadi y cols. 2010). En conjunto, la expresión de TRs y de TSHR, podrían estar promoviendo expresión de factores de transcripción relacionados tanto con proliferación de islotes pancreáticos así como con secreción de insulina.

Todos nuestros hallazgos, ponen de manifiesto la importancia que tiene estudiar el metabolismo utilizando modelos animales con hembras. Estudios realizados en humanos, reportan que la mayoría de las enfermedades metabólicas tienen una mayor prevalencia en mujeres, y lo mismo ocurre en el hipotiroidismo (Vanderpump 2011). La importancia de estudiar el hipotiroidismo en modelos animales de hembras radica en que las hormonas tiroideas regulan receptores a FSH (hormona folículo estimulante) y a estrógenos en diversos tejidos (Brent 2012). El modelo de la coneja es aconsejable debido a la estabilidad hormonal, pues es un ovulador reflejo que requiere de la cópula para cambiar de fase de ciclo (Tsiglianni y cols. 2004).

## 9. CONCLUSIONES

1. Los islotes de Langerhans expresan TRs  $\alpha$  y  $\beta$ .
2. Los islotes de Langerhans y acinos pancreáticos expresan TSHR.
3. El hipotiroidismo en la coneja:
  - a) No afecta los niveles de glucosa e insulina, ni el índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR).
  - b) No altera la densidad de islotes pancreáticos.
  - c) No modifica el área de los islotes ni el número de células por islote, pero disminuye la proporción de células en los islotes medianos y grandes.
  - d) Aumenta la proliferación de células de los islotes de Langerhans, específicamente en islotes chicos.
  - e) Incrementa la expresión de TRs  $\alpha$  y  $\beta$ , así como de TSHR en todos los tamaños de islotes.

## 10. PERSPECTIVAS

Con base en nuestros resultados, y debido a que no está claro cuál es el mecanismo involucrado en los cambios histológicos y en el incremento de inmunoreactividad de TRs y TSHR se sugiere que se evalúe: a) la presencia de Pdx1, pues está reportado que las hormonas tiroideas regulan este factor (Campbell y Macfarlane 2010) y que ejerce un papel fundamental en la secreción de insulina, en la proliferación y maduración de células  $\beta$ , así como en la traslocación de GLUTs (Humphrey y cols. 2010); b) la expresión de hexoquinasa, puesto que esta enzima está regulada por las hormonas tiroideas y participa en el metabolismo de glucosa (Al-jamal 2004); c) la apoptosis celular, debido a que durante las primeras etapas de la DM aumenta (Nir y cols. 2007), y probablemente se estén llevando a cabo procesos de proliferación y apoptosis al mismo tiempo, por lo cual no encontramos diferencias en el número de células; y d) la presencia de vasos sanguíneos en los islotes, ya que durante la DM, se promueve la angiogénesis de diversos tejidos ocasionando su deterioro (Martin y cols. 2003).

Tomando a consideración la presencia de gotas de lípidos, considerar evaluar marcadores de metabolismo lipídico como a) presencia de triglicéridos, ya que la acumulación de lípidos en los islotes de Langerhans da como resultado la falla de las células característica de la DM (Gulcan y cols. 2007); b) presencia de FXR, debido a que la DM se origina por la lipotoxicidad de la célula  $\beta$ , y estos receptores impiden la acumulación de triglicéridos (Renga y cols. 2010) y c) presencia de PPARs, debido a que su inactivación participa en la resistencia a la insulina (Lee y cols. 2003).

## 11. ANEXOS

### **ANEXO 1. Generalidades del páncreas**

El páncreas es una glándula de secreción mixta accesoria, que en humanos es alargada y retroperitoneal; mientras que en conejos es irregular, difusa y arborescente, que cruza transversalmente la pared posterior del abdomen. Se encuentra ubicada detrás del estómago, entre el bazo (de lado izquierdo) y el duodeno (de lado derecho) en el humano y en el conejo se encuentra debajo del hígado, por arriba del duodeno y está sostenido por tejido adiposo (Brewer 2006). Se compone principalmente de cuatro partes: cabeza, cuello, cuerpo y cola, siendo la cabeza la parte más cercana al bazo y en conejos de dos porciones, un lóbulo derecho y un lóbulo izquierdo que se encuentra por debajo del estómago (Harcourt-Brown 2002). Se encuentra rodeado de una delgada capa de tejido conectivo de tipo laxo que lo divide en finos tabiques o lobulillos (Brewer 2006).

Funcionalmente, el páncreas tiene dos tipos de secreción: exocrina y endócrina. La función exocrina está dada por las células de los acinos pancreáticos, que son las más abundantes y tienen una forma redonda u oval con una única capa de células epiteliales piramidales, cuyo ápice<sup>13</sup> está orientado hacia el centro. Posee un sistema de conductos excretores, que comprenden conductos intercalares que van desde el centro del acino y vierten su secreción en conductos intralobulillares que comunican a las diferentes conformaciones acinares de un mismo tabique, estos últimos ductos se comunican con los conductos interlobulillares para verter su secreción en los ductos principal o también llamado de Wirsung o en el accesorio de 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 jugo pancreático y secretarlo por el colédoco, mientras que el conducto de Santorini tiene la misma actividad sólo que únicamente en la porción de la cabeza (Yule 2010). Las células acinares tienen la función de secretar jugo pancreático, que contiene enzimas que degradan los diversos macronutrientes de la dieta. Entre estas enzimas tenemos a la tripsina, quimiotripsina y carboxipeptidasas que degradan las proteínas; la amilasa pancreática que hidroliza los hidratos de carbono, como el almidón o el glucógeno<sup>14</sup>, en disacáridos; o la lipasa pancreática que

---

<sup>13</sup> Ver en glosario.

<sup>14</sup> Ver en glosario.

degrada los triacilglicéridos<sup>15</sup> a glicerol<sup>16</sup> y ácidos grasos. Además de la regulación nerviosa parasimpática, la secreción de los acinos es afectada por hormonas como la secretina<sup>17</sup> y la colecistoquinina<sup>18</sup>, la primera aumentando la cantidad de jugo pancreático; mientras que la segunda aumenta la secreción enzimática. La regulación nerviosa tiene la misma función que la colecistoquinina (Cleveland y cols. 2012).

La secreción endocrina del páncreas está dada por los islotes de Langherhans, que poseen cuatro tipos de células distintas que secretan insulina y péptido amiloide<sup>19</sup> (células  $\beta$ ), glucagon (células  $\alpha$ ), somatostatina<sup>20</sup> (células  $\delta$ ) y polipéptido pancreático<sup>21</sup> (células PP). Histológicamente, los islotes de Langherhans se encuentran ubicados en toda la glándula, aunque son más abundantes y con menor actividad en la cola que en la cabeza (Brewer 2006). En pacientes sanos, las células  $\beta$  constituyen el 64%, las células  $\alpha$  el 26%, las delta el 8%, y las células secretoras de polipéptido pancreático el 0.3%. Los tamaños y formas de los islotes de Langherhans son muy variados, se ha encontrado que las células PP se encuentran en mayor número en el centro del islote, seguidas de las células delta, mientras que en la periferia se encuentran las células  $\beta$  y  $\alpha$ . Las células están interrelacionadas, de manera que la secreción de un tipo de célula regula de manera paracrina<sup>22</sup> la secreción de las adjuntas. Así, la somatostatina secretada por las células delta regula la función de las células  $\alpha$  y  $\beta$ , afectando la síntesis de glucagon e insulina en los islotes, mientras que en los acinos regula la secreción de jugo pancreático. Esta acción la lleva a cabo a través de los receptores de somatostatina localizados en las células cercanas. También la insulina regula la secreción del glucagon por las células  $\alpha$ . El glucagon actúa sobre el hígado para regular la producción de glucosa en casos de estrés o hipoglicemia (Taborsky 2010). Los niveles de glucosa regulan la viabilidad y actividad de todos los tipos de células pancreáticas (Wei y cols. 2009). Las células  $\beta$ , además de la insulina, secretan al polipéptido amiloide, el cual regula la propia secreción de la insulina

---

<sup>15</sup> Ver en glosario.

<sup>16</sup> Ver en glosario.

<sup>17</sup> Ver en glosario.

<sup>18</sup> Ver en glosario.

<sup>19</sup> Ver en glosario.

<sup>20</sup> Ver en glosario.

<sup>21</sup> Ver en glosario.

<sup>22</sup> Ver en glosario.

y glucagon, y a distancia regulan la secreción de gastrina<sup>23</sup> (el hambre y el vaciamiento gástrico) (Westermarck y cols. 2011).

La secreción de insulina está regulada por las concentraciones de glucosa en la sangre, así como por diversas hormonas y péptidos. La regulación hormonal comprende al glucagón y a la somatostatina, inhibiendo su secreción, así como a adrenalina y noradrenalina, que inhiben la secreción de insulina uniéndose con receptores adrenérgicos en las células  $\beta$  (Yu y cols. 2007); así como a la grelina, que inhibe la apertura de canales de calcio, lo cual evita la apertura de vesículas y con ello la liberación de insulina (Dezaki y cols. 2008). El péptido inhibidor gástrico (GIP) que es un péptido liberado por células del intestino delgado, estimula la secreción de insulina después de la ingesta de glucosa (Yu y cols. 2007). La secreción de insulina también es promovida por ácidos grasos libres insaturados, los cuales de forma aguda estimulan la síntesis de insulina por depolarización de las células pancreáticas, y de forma crónica la inhiben. Este efecto es independiente de los niveles de glucosa. La presencia de altas concentraciones de ácidos grasos libres durante mucho tiempo puede ser tóxica para las células  $\beta$  debido a su metabolismo en los peroxisomas<sup>24</sup> que genera especies reactivas de oxígeno que dañan a las células (Gehrmann y cols. 2010).

### **1.1 Inervación del páncreas**

La cabeza del páncreas está irrigada por las arterias pancreático-duodenales, derivadas de la arteria hepática; mientras que el resto de la glándula es irrigado por ramas de las arterias esplénica y mesentérica superior. El drenaje venoso del páncreas está formado por venas pancreático-duodenales, que desembocan en las venas esplénica, mesentérica superior y porta. El páncreas recibe inervación tanto parasimpática (colinérgica) como simpática (noradrenérgica), ambas relacionadas con la modulación de los niveles sanguíneos de glucosa y la secreción de jugo pancreático<sup>25</sup>. La inervación colinérgica incrementa la producción de insulina<sup>26</sup> por las células  $\beta$ , durante la ingesta de alimentos y promueve la secreción de jugo

---

<sup>23</sup> Ver en glosario.

<sup>24</sup> Ver en glosario.

<sup>25</sup> Ver en glosario.

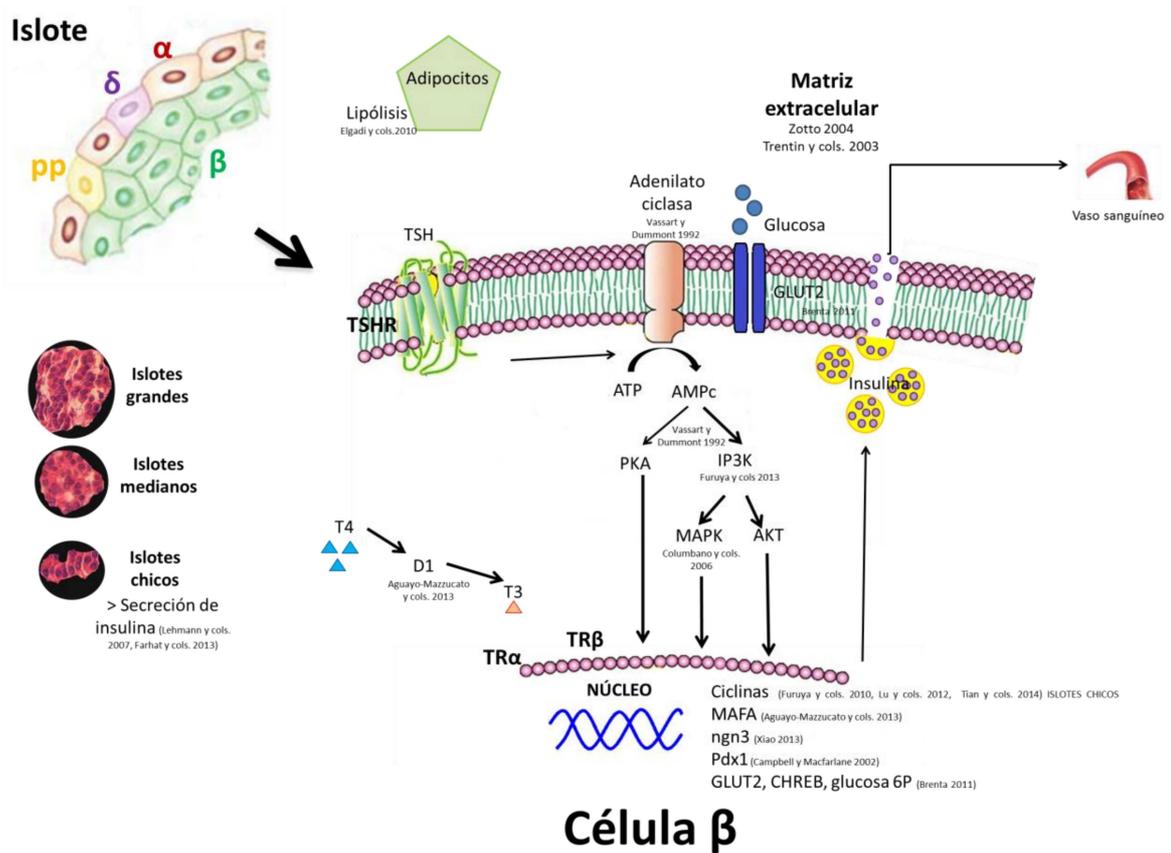
<sup>26</sup> Ver en glosario.

pancreático. Por su parte, la inervación noradrenérgica favorece la producción de glucagon<sup>27</sup> en las células  $\alpha$ , con lo que inhibe la producción de insulina, y en los acinos inhibe la producción de jugo pancreático (Robinson y cols. 2011).

---

<sup>27</sup> Ver en glosario.

## ANEXO 2. Modelo del efecto del hipotiroidismo sobre los islotes de Langerhans



**Figura 9.** Efecto de las hormonas tiroideas sobre la histología de los islotes pancreáticos. Las hormonas tiroideas regulan la expresión y actividad de genes que participan en el funcionamiento de la célula  $\beta$  y el metabolismo de la glucosa. De tal manera que al disminuir se modifica la función de la célula  $\beta$  en todos los tamaños de los islotes para que no se altere el metabolismo de la glucosa. En los islotes chicos se aumenta el número de TSHR, por lo cual se activa adenilato ciclasa y AMPc dando como resultado el aumento en la proliferación celular. Así mismo, el TSHR disminuye la activación de genes relacionados con la lipólisis en todos los tamaños de los islotes, por lo que adipocitos presentes en el tejido pancreático comienzan a almacenar triglicéridos aumentando su tamaño. Por otra parte, debido a que el islote pancreático es capaz de activar la HT a través de la presencia de D1, incrementa el número de TRs. Este aumento de TRs da como resultado la activación de factores de transcripción como lo son MAFA, ngn3 y Pdx1; de tal manera que promueven la maduración de la célula  $\beta$ , así como el aumento en la secreción de insulina. Además, este aumento de TRs, disminuye el contenido de material extracelular. Todas estas modificaciones a nivel celular, permiten que los niveles de glucosa e insulina séricos se mantengan estables.

## 12. REFERENCIAS

- Aguayo-Mazzucato C**, Zavacki AM, Marinelarena A, Hollister-Lock J, El Khattabi I, Weir GC, Sharma A, Larsen PR, Bonner-Weir S. 2013. Thyroid hormone promotes postnatal rat pancreatic  $\beta$ -cell development and glucose-responsive insulin secretion through MAFA. *Diabetes*. 62(5): 1569-80.
- 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. *J Diabetes Complications*. 26(6):491-500.
- Aiello V**, Moreno-Asso A, Servitja JM, Martin M. 2014. Thyroid hormones promote endocrine differentiation at expenses of exocrine tissue. *Exp Cell Res*. 322(2), 236-48.
- Al-jamal J**. 2004. Effect of different thyroid states on mitochondrial porin synthesis and hexokinase activity in developing rabbit brain. *J Biochem*. 135(2):253-8.
- American Diabetes Association**. 2010. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 33(1):S62-9.
- Brent AB**. 2012. Mechanism of thyroid hormone action. *J Clin Invest*. 122(9):3035-43.
- Brenta G**. 2011. Why can insulin resistance be a natural consequence of thyroid dysfunction? *J Thyroid Res*. 2011:152850.
- Brewer NR**. 2006. Historical special topic overview on rabbit comparative biology. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 45:8-24.
- Campbell SC**, Macfarlane WM. 2002. Regulation of the *pdx1* gene promoter in pancreatic  $\beta$ -cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 299(2):277-84.
- Cano-Europa E**, Blas-Valdivia V, Franco-Colin M, Gallardo-Casas CA, Ortíz-Butron R. 2009. Methimazole-induced hypothyroidism causes cellular damage in the spleen, heart, liver, lung and kidney. *Acta Histochem*. 113:1-5.
- Carrillo-Portillo Y**. 2012. Efecto del hipotiroidismo en el metabolismo lipídico de la coneja adulta. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala, México.
- Chamson-Reig A**, Thyssen SM, Arany E, Hill DJ. 2006. Altered pancreatic morphology in the offspring of pregnant rats given reduced dietary protein is time and gender specific. *J Endocrinol*. 191(1):83-92.

- Cheng SY**, Leonard JL, Davis PJ. 2010. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr Rev.* 31(2):139-70.
- Chubb SAP**, Davis WA, Inman Z, Davis TME. 2005. Prevalence and progression of subclinical hypothyroidism in women with type 2 diabetes: the Fremantle Diabetes Study. *Clin Endocrinol (Oxf).* 62(4):480–6.
- Cleveland M.**, Sawyer J., Afelik S., Jensen J., Lecah S. 2012. Exocrine ontogenies: On the development of pancreatic acinar, ductal and centroacinar cells. *Semin Cell Dev Biol.* 23 (6):711-9.
- Columbano A**, Pibiri M, Deidda M, Cossu C, Scanlan TS, Chiellini G, Muntoni S, Ledda-Columbano GM. 2006. The thyroid hormone receptor- $\beta$  agonist GC-1 induces cell proliferation in rat liver and pancreas. *Endocrinology.* 147(7):3211-18.
- Cubillos V**, Lopez C, Alberdi A. 2008. Histopathology and immunohistochemical study of pancreas in alloxan-induced diabetic dogs. *Arch Med Vet.* 40:169-177.
- Dariyerli N**, Andican G, Catakoğlu AB, Hatemi H, Burçak G. 2003. Hyperuricemia in hypothyroidism: is it associated with post-insulin infusion glycemic response? *Tohoku J Exp Med.* 199(2):59-58.
- Del Zotto H**, Massa L, Gómez Dumm CL, Gagliardino J. 1999. Changes induced by sucrose administration upon the morphology and function of pancreatic islets in the normal hamster. *Diabetes Metab Res Rev.* 15(2):106-12.
- Del Zotto H**, Borelli MI, Garcia ME, Gomez Dumm CL, Chicco A, Lombardo YB, Gagliardino JJ. 2004. Islet neogenesis: an apparent key component of long-term pancreas adaptation to increased insulin demand. *J Endocrinol.* 183(2):321-30.
- Dezaki K**, Sone H, Yada T. 2008. Ghrelin is a physiological regulator of insulin release in pancreatic islets and glucose homeostasis. *Pharmacol Ther.* 118(2): 239-49.
- Elgadi A**, Zemack H, Marcus C, Norgren S. 2010. Tissue-specific knockout of TSHr in white adipose tissue increases adipocyte size and decreases TSH-induced lipolysis. *Biochem Biophys Res Commun.* 393(3):526-30.
- Farahani H**, Ghasemi A, Roghani M, Zahediasl S. 2013. Effect of neonatal hypothyroidism on carbohydrate metabolism, insulin secretion and pancreatic islets. *J Endocrinol Invest.* 36(1):44-9.

- Farhat B**, Almelkar A, Ramachandran K, Williams SJ, Huang HH, Zamierowski D, Novikova L, Stenho-Bittel L. 2013. Small human islets comprised of more  $\beta$ -cells with higher insulin content than large islets. *Islets*. 5(2):87-94.
- Ferreira M**, Lombardo Y, Chicco A. 2010. B-cell adaptation/dysfunction in an animal model of dyslipidemia and insulin resistance induced by the chronic administration of a sucrose-rich diet. *Islets*. 2(6):367-73.
- 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(32):24477-86.
- 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):149-58.
- Giuffrida FM**, Reis AF. 2005. Genetic and clinical characteristics of maturity-onset diabetes of the young. *Diabetes Obes Metab*. 7(4):318-26.
- Gnocchi D**, Leoni S, Incerpi S, Bruscalupi G. 2012. 3,5,3'-triiodothyronine (T3) stimulates proliferation through the activation of the PI3K/Akt pathway and reactive oxygen species (ROS) production in chick embryo hepatocytes. *Steroids*. 77(6):589-95.
- Gulcan E**, Gulcan A, Ozbek O. 2007. Is there a role of pancreatic steatosis together with hypertriglyceridemia on the pathogenesis of diabetes in a patient with type 2 diabetes mellitus? *Med Hypotheses*. 68(4):912-29.
- Harcourt-Brown F**. 2002. Textbook of rabbit medicine. Biological characteristics. Butterworth-Heinemann. Oxford.
- Hattersley AT**. 1998. Maturity-onset diabetes of the young clinical heterogeneity explained by genetic heterogeneity. *Diabet Med*. 15(1):15-24.
- Hooper-Inteeworn N**, Panciera DL, Monroe WE, Saker KE, Davies RH, Refsal KR, Kemnitz JW. 2012. Effect of hypothyroidism on insulin sensitivity and glucose tolerance in dogs. *Am J Vet Res*. 73(4):529-38.
- Humphrey RK**, Yu SM, Flores LE, Jhala US. 2010. Glucose regulates steady-state levels of PDX1 via the reciprocal actions of GSK3 and AKT kinases. *J Biol Chem*. 285(5):3406-16.

- Hwang IK**, Kim IY, Kim YN, Yi SS, Lee YH, Ju EJ, Lee IS, Park IS, Won MH, Yoon YS, Seong JK. 2009. Effects of methimazole on the onset of type 2 diabetes in leptin receptor-deficient rats. *J Vet Med Sci.* 71(3): 275-80.
- Kapadia KB**, Bhatt PA, Shah JS. 2012. Association between altered thyroid state and insulin resistance. *J Pharma Pharmacother.* 3(2):156-60.
- Katsumichi I**, Pour PM. 2007. Diabetes mellitus in pancreatic cancer: is it a causal relationship? *Am J Sur.* 194(4):S71-5.
- Kordowich S**, Mansouri A, Collombat P. 2010. Reprogramming into pancreatic endocrine cells based on developmental cues. *Mol Cell Endocrinol.* 323(1):62-9.
- Lee CH**, Olson P, Evans RM. 2003. Minireview: lipid metabolism, metabolic diseases, and peroxisome proliferator-activated receptors. *Endocrinology.* 144(6):2201-7.
- Le May C**, Chu K, Hu M, Ortega CS, Simpson ER, Korach KS, Tsai M, Mauvais-Jarvis F. 2006. Estrogens protect pancreatic  $\beta$ -cells from apoptosis and prevent insulin-deficient diabetes mellitus in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 103(24):9732-7.
- Levine F**, Itkin-Ansari P. 2008. Beta-cell regeneration: Neogenesis, replication or both? *J Mol Med.* 86:247-58.
- López-Fontal R**, Zeini M, Través PG, Gómez-Ferrería M, Aranda A, Sáez GT, Cerdá C, Martín-Sanz P, Hortelano S, Boscá L. 2010. Mice lacking thyroid hormone receptor Beta show enhanced apoptosis and delayed liver commitment for proliferation after partial hepatectomy. *PLoS One.* 5(1):e8710.
- Louet JF**, Le May C, Mauvais-Jarvis F. 2004. Antidiabetic actions of estrogen: insight from human and genetic mouse models. *Curr Atheroscler Rep.* 6(3):180-5.
- Lu S**, Guan Q, Liu Y, Wang H, Xu W, Li X, Fu Y, Gao L, Zhao J, Wang X. 2012. Role of extrathyroidal TSHR expression in adipocyte differentiation and its association with obesity. *Lipids Health Dis.* 11-17.
- Luo LG**, Luo J, Jackson I. 2008. Thyrotropin-releasing hormone (TRH) reverses hyperglycemia in rat. *Biochem Biophys Res Commun.* 374:69-73.
- Marchetti P**, Dotta F, Lauro D, Purrello F. 2008. An overview of pancreatic beta-cell defects in human type 2 diabetes: implications for treatment. *Regul Pept.* 146(1-3):4–11.

- Martin A**, Komada MR, Sane DC. 2003. Abnormal angiogenesis in diabetes mellitus. *Med Res Rev.* 23(2):117-45.
- Mazaki-Tovi M**, Feuermann Y, Segev G, Klement E, Yas-Natan E, Farkas A, Kol A, Shamay A. 2010. Increased serum leptin and insulin concentrations in canine hypothyroidism. *Vet J.* 183(1):109-14.
- Medina MC**, Molina J, Gadea Y, Fachado A, Murillo M, Simovic G, Pileggi A, Hernandez A, Edlund H, Bianco AC. 2011. The Thyroid Hormone-Inactivating Type III Deiodinase Is Expressed in Mouse and Human -Cells and Its Targeted Inactivation Impairs Insulin Secretion. *Endocrinology.* 152(10):3717–27.
- Metukuri MR**, Zhang P, Basantani MK, Chin C, Stamateris RE, Alonso LC, Takane KK, Gramignoli R, Strom SC, O'Doherty RM, Stewart AF, Vasadava RC, García-Ocaña A, Scott DK. 2012. ChREBP mediates glucose-stimulated pancreatic beta-cell proliferation. *Diabetes.* 61:2004-15.
- Morimoto S**, Morales A, Zambrano E, Fernández-Mejía C. 2010. Sex steroids effects on the endocrine pancreas. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 122(4):107-13.
- Nada AM**. 2013. Effect of treatment of overt hypothyroidism on insulin resistance. *World J Diabetes.* 4(4):157-61.
- Nadal A**, Ropero AB, Fuentes E, Soria B, Ripoll C. 2004. Estrogen and xenostrogen actions on endocrine pancreas: from ion channel modulation to activation of nuclear function. *Steroids.* 69:531-6.
- Nir T**, Melton DA, Dor Y. 2007. Recovery from diabetes in mice by beta cell regeneration. *J Clin Invest.* 117(9):2553-61.
- Olaiz G**, Rivera J, Shamah T, Rojas R, Villalpando S, Hernández-Avila M, Sepúlveda J. 2006. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública. Pag.80.
- Parnaud G**, Bosco D, Berney T, PAttou F, Kerr-Conte J, Donath MY, Bruun C, Mandrup-Poulsen T, Billestrup N, Halban PA. 2008. Proliferation of sorted human and rat beta cells. *Diabetologia.* 51:91-100.
- Pascual A**, Aranda A. 2013. Thyroid hormone receptors, cell growth and differentiation. *Biochim Biophys Acta.* 1830(7):3908-16.

- Pittas A**, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. 2007. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 92(6):2017-29
- Ramarao P**, Kaul CL. 1999. Insulin resistance: current therapeutic approaches. *Drug Discovery Today.* 35:895-911.
- Renauld A**, Sverdlik R, Andrade L, Rodriguez R. 1978. Effects of chronic TSH treatment on blood sugar, serum IRI and FFA levels of thyroidectomized dogs. *Acta Diabetol Lat.* 15(3-4):119-32.
- Renga B**, Mencarelli A, Vavassori P, Brancaleone V, Fiorucci S. 2010. The bile acid sensor FXR regulates insulin transcription and secretion. *Biochim Biophys Acta.* 1802(2010):363-372.
- Robinson AL**, Verbalis JG. Posterior Pituitary. In: Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, eds. 2011. *Williams Textbook of Endocrinology.* 12th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier: chap 10.
- Saravanan G**, Ponmurugan P. 2012. Antidiabetic effect of S-allylcysteine: Effect on Thyroid hormone and circulatory antioxidant system in experimental diabetic rats. *J Diabetes Complications.* 26(4):280-5.
- Smits MM**, Greenen E. 2011. The clinical significance of pancreatic steatosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 8(3):169-77.
- Song Y**, Yao X, Ying H. 2011. Thyroid hormone action in metabolic regulation. *Prot Cell.* 2:358-68.
- Srinivasan K**, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. 2005. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res.* 52(4):313-20.
- Taborsky GJ**. 2010. The physiology of glucagon. *J Diabetes Sci Technol.* 4:1338-44.
- Takasu N**, Yoshimura N. 2008. Hashimoto's thyroiditis: TGAbs, TPOAbs, TRAbs and recovery from hypothyroidism. *Expert Rev Clin Immunol.* 4(2):221-37.
- Trentin AG**, De Aguiar CB, Garcez RC, Alvarez-Silva M. 2003. Thyroid hormone modulates the extracellular matrix organization and expression in cerebellar astrocyte: effects on astrocyte adhesion. *Glia.* 42(4):359-69.

- Tian L**, Ni J, Guo T, Liu J, Dang Y, Guo Q, Zhang L. 2014. TSH stimulates the proliferation of vascular smooth muscle cells. *Endocrine*. [Epub ahead of print].
- Tomita T**. 2011. Islet amyloid polypeptide in pancreatic islets from type 1 diabetic subjects. *Islets*. 3:166-74.
- Tsiglianni T**, Saratsi A, Besenfelder U, Anastasiadis A, Vainas E, Saratsis P, Brem G. 2004. The use of cytological examination of vaginal smears (CEVS) in the selection of rabbits for superovulation. *Theriogenology*. 61, 989-995
- Vanderpump MP**. 2011. The epidemiology of thyroid disease. *Br Med Bull*. 99:39-51.
- Van Keymeulen A**, Dumont JE, Roger PP. 2000. TSH induces insulin receptors that mediate insulin costimulation of growth in normal human thyroid cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 279:202-7.
- Verga-Falzacappa C**, Patriarca V, Bucci B, Mangialardo C, Michienzi S, Moriggi G, Stigliano A, Brunetti E, Toscano V, Misiti S. 2009. The TRbeta1 is essential in mediating T3 action on Akt pathway in human pancreatic insulinoma cells. *J Cell Biochem*. 106(5):835-48.
- Vassart G**, Dumont JE. 1992. The thyrotropin receptor and the regulation of thyrocyte function and growth. *Endocr Rev*. 13:596-611.
- Wang C**. 2013. The relationship between type 2 diabetes mellitus and related thyroid diseases. *J Diabetes Res*. 2013:1-9.
- Warren RE**, Perros P, Nyirenda MJ, Frier BM. 2004. Serum thyrotropin is a better predictor of future thyroid dysfunction than thyroid autoantibody status in biochemically euthyroid patients with diabetes: implications for screening. *Thyroid*. 14(10):853-7.
- Wei P**, Shi M, Barnum S, Cho H, Carlson T, Fraser JD. 2009. Effects of glucokinase activators GKA50 and LY2121260 on proliferation and apoptosis in pancreatic INS-1 beta cells. *Diabetologia*. 52:2142-50.
- Westermarck P**, Andersson A, Westermarck GT. 2011. Islet amyloid polypeptide, islet amyloid, and diabetes mellitus. *Physiol Rev*. 91:795-826.
- Williams GR**. 2011. Extrathyroidal expression of TSH receptor. *Ann Endocrinol*. 72:68-73.
- Xiao X**, Chen Z, Shiota C, Prasad K, Guo P, El-Gohary Y, Paredes J, Welsh C, Wiersch J, Gittes GK. 2013. No evidence for beta-cell neogenesis. *J Clin Invest*. 123: 2207-17.

- Yu R**, Hui S, Melmed S. 2007. Insuline secretion and action. *Endocrinology: Basic and Clinical Principles*, Second Edition. Humana Press Inc., Totowa, N.
- Yule D**. 2010. Pancreatic acinar cells: Molecular insight from studies of signal-transductions using transgenic animals. *Int J Biochem Cell Biol*. 42:1757-61.
- Zaret KS**, Grompe M. 2008. Generation and regeneration of cells of the liver and pancreas. *Science*. 322:1490-4.
- Zhang Y**, Zhang Y, Bone R, Cui W, Peng J, Siegal G, Wang H, Wu H. 2012. Regeneration of Pancreatic Non- $\beta$  Endocrine Cells in Adult Mice following a Single Diabetes-Inducing Dose of Streptozotocin. *PLoS One*.7(5):e36675.
- Zinke A**, Schmoll D, Zachmann M, Schmoll J, Junker H, Grempler R, Kirsch G, Walther R. 2003. Expression of Thyroid Hormone Receptor Isoform  $\alpha 1$  in Pancreatic Islets. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 111(4):198-202.

### 13. GLOSARIO

1. Glucoquinasa: enzima que fosforila la glucosa, por lo cual participa en la glucólisis que es la principal ruta de obtención de energía.
2. PPARs: Receptores activados por proliferadores de peroxisoma. Son un grupo de receptores nucleares que tienen la función de regular la expresión de genes, para promover diferenciación celular, desarrollo y metabolismo. Su ligando son los ácidos grasos libres.
3. HNF4 $\alpha$ : Factor nuclear 4  $\alpha$  de hepatocito. Es un factor de transcripción, importante para el desarrollo de hígado, riñones, intestinos y páncreas.
4. IPF1: Factor promotor de insulina 1. Es un factor de transcripción que regula el desarrollo y mantenimiento de la masa de las células  $\beta$ . También es conocido como Pdx1.
5. Síndrome de Rabson-Mendenhall: Es una enfermedad genética transmitida por un rasgo recesivo de padres consanguíneos. Tiene una prevalencia desconocida y es perteneciente al grupo de resistencia extrema de insulina. Aparece durante los primeros años de vida, con hiperglicemia e hipoinsulinemia extrema, así como cetoacidosis recurrentes.
6. Síndrome de Donohue: También conocido como Leprechaunismo. Es una enfermedad genética, dada por una mutación en el cromosoma 19. Los pacientes son insulino resistentes y tienen una corta esperanza de vida. Los rasgos que presentan son orejas y nariz alargada, labios gruesos, en mujeres los pechos y el clítoris es alargado; presentan un enanismo severo
7. CREB: Elemento de respuesta de AMPc. Es un factor de transcripción que se une al AMPc dando lugar a proliferación celular entre otras acciones.
8. Ovario poliquístico: Enfermedad causada por el desequilibrio de las hormonas sexuales (Progesterona y estrógenos) y de andrógenos en la mujer, que puede generar desequilibrios en el ciclo menstrual, aumento del vello corporal, marcas oscuras en los pliegues cutáneos, caída de cabello, quistes ováricos, dificultad para embarazarse o infertilidad.

9. Dislipidemia: alteración en el metabolismo de los lípidos, aumentando como consecuencia las concentraciones de lipoproteínas (HDL, LDL, VLDL) y triglicéridos.
10. Organoclorados: compuesto químico orgánico, en el cual un átomo de carbono que originalmente está unido a hidrógeno se une con cloro lo cual genera toxicidad.
11. Hipotiroidismo subclínico: Consiste en un aumento en los niveles circulantes de TSH, sin disminución de las hormonas tiroideas, los pacientes pueden o no presentar sintomatología.
12. Hipotiroidismo clínico: Es el aumento en los niveles circulantes de TSH con una disminución de las hormonas tiroideas. Los pacientes presentan toda la sintomatología.
13. Ápice: extremo superior o punta de una cosa.
14. Glucógeno: polisacárido conocido por su cualidad de ser una reserva energética, es sintetizado cuando la glucosa entra en el organismo gracias a la intervención de la insulina, mientras que es degradado por acción del glucagón.
15. Triacilglicéridos: lípido formado por una molécula de glicerol en la cual están esterificados tres de sus ramas hidroxílicas por ácidos grasos. Su función principal es ser la reserva energética más importante de un organismo, ya sea en forma de grasa (en animales) o de aceites (vegetales).
16. Glicerol: alcohol con tres grupos hidroxilos y es component principal de los lípidos como los triglicéridos o fosfolípidos.
17. Secretina: hormona gastrointestinal, liberada en el duodeno cuando ácido proveniente del estómago llega ahí; su función es estimular la secreción de jugo pancreático.
18. Colecistoquinina: hormona producida en el duodeno y yeyuno cuya función principal es estimular la secreción de enzimas pancreáticas y de bilis en la vesícula biliar.
19. Péptido amiloide: también llamado amilina, es una hormona secretada por las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans al mismo tiempo que la insulina, tiene la función de disminuir los niveles sanguíneos de glucosa, trabajando de forma sinérgica con la insulina.
20. Somatostatina: Hormona secretada por las células delta de los islotes de Langerhans, y cumple acciones paracrinas, modulando la secreción de las otras hormonas pancreáticas.

21. Polipéptido pancreático: Hormona secretada por las células PP de la cual aún se desconocen las funciones.
22. Paracrina: Tipo de comunicación celular en la cual la secreción química de una célula tiene efecto sobre otra que se encuentre cerca.
23. Gastrina: Hormona polipeptídica secretada por la sección del antro del estómago, estimula la secreción de ácido clorhídrico, por lo cual está relacionada con el hambre y el vaciamiento gástrico.
24. Peroxisoma: organelos de las células eucariotas en forma de vesicular que tienen la función de secretar enzimas como catalasas y oxidasas que van a tener función en la detoxificación celular.
25. Jugo pancreático: secreción exocrina del páncreas por medio de los acinos, compuesta de agua, sales, bicarbonato de sodio y enzimas como la tripsina y la amilasa pancreática.
26. Insulina: La insulina es una molécula proteica pequeña compuesta por dos cadenas polipeptídicas, la cadena A formada por 21 aminoácidos y la B por 30 aminoácidos, unidas por puentes disulfuro. Se sintetiza en las células  $\beta$  en forma de preproinsulina que es una única cadena que posteriormente se une con otra por medio de puentes disulfuro formando proinsulina, que es la insulina inactiva. Para la activación de la insulina una secuencia de aminoácidos es separada por medio de enzimas de la proinsulina. Las funciones de esta hormona son muy variadas, entre ellas se encuentran: 1) la estimulación del transporte de glucosa a través de la membrana de las células; 2) favorece la síntesis de glucógeno, proteínas y ácidos grasos en los músculos, tejido adiposo e hígado, 3) permite la expresión de genes que regulan casadas de señalización en diversos tejidos.
27. Glucagon: El glucagon es un péptido secretado por las células  $\alpha$  de los islotes de Langerhans y tiene un efecto opuesto al de la insulina, es decir eleva las concentraciones de glucosa cuando el organismo lo necesita. El glucagon degrada el glucógeno contenido en los hepatocitos aumentando la actividad de la fosforilasa por vía del AMP cíclico. EL mecanismo de regulación del glucógeno obedece a las

concentraciones de glucosa, así cuando la glucosa se encuentra disminuida se secreta en mayor cantidad.

## 14. PUBLICACIONES

LVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas



### **C - 197      Inmunolocalización del receptor de Farnesoide X en tejidos reproductivos en la coneja**

Rodríguez-Castelán JG (1), Anaya-Hernández A (2), Méndez-Tepepa M (3), Castelán F (3), Cuevas E (3). (1) Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, (2) Doctorado en Neuroetología, Universidad Veracruzana, (3) Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

El receptor de farnesoide X (FXR) es un miembro de la familia de receptores nucleares activado por ácidos biliares. El FXR participa en la regulación de la síntesis de ácidos biliares, en el metabolismo de lípidos (síntesis de colesterol y triglicéridos), lipoproteínas (apoC-II, apoC-III, apoA-I) y carbohidratos (gluconeogénesis y glucogenólisis), así como en la relajación vascular, proliferación y diferenciación celular, apoptosis, procesos inflamatorios y modulación del sistema inmunitario. Su expresión se ha reportado en hígado, intestino, vesícula biliar, riñón, glándula adrenal, lengua, esófago, estómago, ojo, arterias y piel. Sin embargo, su expresión en tejidos reproductivos ha sido escasamente estudiada. Tan solo se han descrito en cultivo de células de Leydig tu morales (rata) y en células de la granulosa (humano), en donde los FXR inhiben la acción de la aromataasa. Por lo que se desconoce la expresión de FXR en otros tejidos reproductivos de la hembra. OBJETIVO. Investigar la expresión de FXR en ovario, oviducto y útero. METODOLOGÍA. Se utilizaron conejas adultas nulíparas (*Oryctolagus cuniculus*; n=3). Se sacrificaron para extraer los ovarios y oviductos izquierdos, así como el útero. En cortes transversales (7 µm) se realizó la técnica de inmunohistoquímica anti-FXR (1:20; método avidina-biotina-peroxidasa). Utilizando un microscopio (Nikon ECLIPSE E600) se identificó la localización celular y regional de la expresión del FXR. RESULTADOS. Se observaron núcleos inmunoreactivos a FXR en ovario (células del estroma, células de la granulosa y de la teca de folículos primordiales, primarios, secundarios, terciarios y de Graaf); oviducto (células epiteliales ciliadas y secretoras -incluyendo las criptas-, submucosa y fibras musculares lisas de todas las regiones (fimbria, infundíbulo, ámpula, istmo y útero-tubal); y en útero (células epiteliales, criptas, submucosa y fibras de músculo liso). CONCLUSIÓN. La expresión de FXR en ovario, oviducto y útero sugiere su posible participación en la fisiología reproductiva que pudiera incluir la regulación de aromataasa, proliferación celular y regulación de las células inmunitarias presentes en el aparato reproductor.

Agradecimientos:

Proyecto financiado por CONACyT (EC 106226, JRC 487362, AA 367041).



**Inmunolocalización del receptor de hormona Tiroidea  $\beta 1$  en tejidos reproductivos de la Coneja.**



**Rodríguez Castelán J<sup>1</sup>, Anaya Hernández A<sup>2</sup>, Castelán F<sup>3</sup>, Cuevas E<sup>3</sup>**

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

<sup>2</sup>*Doctorado en Neuroetología, Universidad Veracruzana,*

<sup>3</sup>*Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala.*

Los receptores de hormonas tiroideas (TRs) son un grupo de receptores nucleares codificados por dos genes  $\alpha$  y  $\beta$ , dando lugar a las isoformas  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  y  $\beta 3$ . Los TR $\alpha$  han sido ampliamente estudiados; mientras que la información que se tiene los TR $\beta$  es escasa. El TR $\beta 1$  se ha localizado en hígado, páncreas y piel, en donde participa en el metabolismo de lípidos, síntesis de colesterol, y esteroidogénesis y proliferación celular. Su rol en la reproducción femenina no ha sido descrito, aunque se ha detectado por Western-blot en células del estroma y la granulosa de los folículos ováricos (rata, gallina y mujer) y útero (macaco y mujer). OBJETIVO. Determinar la localización de TR $\beta 1$  en ovario, oviducto, útero y vagina de conejas adultas nulíparas, mediante la técnica de inmunohistoquímica, utilizando el método avidina-biotina-peroxidasa (ABC). Cortes de 7 $\mu$ m se incubaron con el anticuerpo primario (anti-TR $\beta 1$ ; 1:25; Santa Cruz Biotechnology, Inc.) y un anticuerpo secundario contra ratón hecho en cabra (1:250; Abcam). Se tomaron microfotografías de los diversos tejidos y tipo celulares para identificar la inmuno-localización del TR $\beta 1$ . RESULTADOS. Se observaron núcleos inmunoreactivos a TR $\beta 1$  en: 1) células del estroma, granulosa y teca de folículos primordiales, primarios, secundarios, terciarios y de Graaf, así como en cuerpos lúteos; 2) células epiteliales ciliadas y secretoras, criptas, submucosa y fibras musculares lisas de todas las regiones del oviducto (fimbria, infundíbulo, ámpula, istmo y útero-tubal); 3) células epiteliales, criptas, submucosa y fibras de músculo liso del útero, d) células epiteliales, submucosa y fibras musculares de las regiones abdominal, pélvica y perineal de la vagina, así como en la glándula inguinal y los ganglios paravaginales; y e) en células inmunes de todas las estructuras reproductivas. CONCLUSIÓN. La expresión de TR $\beta 1$  en todas las estructuras reproductivas femeninas sugiere un rol importante en la producción. Sus acciones podrían regular la proliferación celular, metabolismo celular y función de las células inmunitarias presentes en el aparato reproductor. Proyecto financiado por CONACyT (EC 106226, JR 487362 AA 367041).