

2020

Función tiroidea de ratones obesos y delgados de *Neotomodon alstoni* y su relación con los patrones de motilidad a distintas temperaturas.

María Teresa De La Vega García



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales

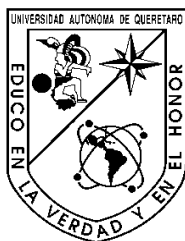
FUNCIÓN TIROIDEA DE RATONES OBESOS Y DELGADOS DE *Neotomodon alstoni* Y SU RELACIÓN CON LOS PATRONES DE MOTILIDAD A DISTINTAS TEMPERATURAS

Tesis Individual

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Licenciado en Biología

Presenta

María Teresa De La Vega García



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales



FUNCIÓN TIROIDEA DE RATONES OBESOS Y DELGADOS DE *NEOTOMODON ALSTONI* Y SU RELACIÓN CON LOS PATRONES DE MOTILIDAD A DISTINTAS TEMPERATURAS

Tesis Individual

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Licenciado en **Biología**

Presenta:

María Teresa De La Vega García

Dirigido por:

Manuel Miranda Anaya

SINODALES

Manuel Miranda Anaya

Presidente

Firma

Margarita Teresa De Jesús García Gasca

Secretario

Firma

Moisés Pérez Mendoza

Vocal

Firma

Marco Antonio Sánchez Ramos

Vocal

Firma

Centro Universitario
Querétaro, Qro.

Marzo, 2020

México

Resumen

Las enfermedades tiroideas provocan un desequilibrio en la cantidad de hormonas tiroideas circulantes en la sangre, el hipotiroidismo causa bajos niveles de T3 y T4, y con ello un metabolismo lento, sueño constante, a menudo problemas de obesidad y cansancio excesivo. En este estado, la termorregulación es ineficiente, frecuentemente ligado a cambios de temperatura y capacidad de activación motora. La glándula tiroidea se compone de dos lóbulos situados en la tráquea superior, producen la prohormona tetrayodotironina (T4) y la hormona activa triyodotironina (T3) que se liberan al torrente sanguíneo y son importantes reguladoras de varias funciones metabólicas y fisiológicas del resto de los tejidos. La liberación de estas hormonas tiene un patrón circadiano por lo que las funciones que dependen de ella varían entre el día y la noche. El ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni* en cautiverio tiende a obesidad y permite investigar en ellos las alteraciones fisiológicas y conductuales existen en esta condición. En este estudio se plantea comparar en ratones obesos y delgados si ante un reto de pulsos de frío de dos horas, no inductores de letargo, existe una respuesta distinta en el patrón conductual de actividad locomotora entre el día y la noche y si la condición de obesidad se asocia en esta especie a cambios en la estructura histológica de la glándula tiroidea y en la concentración circulante de la hormona tiroidea T4.

Palabras clave:

Hormonas tiroideas, *Neotomodon alstoni*, ritmos circadianos, actividad locomotora.

Summary

Thyroid diseases cause an imbalance in circulating thyroid hormones. Hypothyroidism cause low levels of T3 and T4, and with that a slow metabolism, constant sleepiness, often related to obesity and excessive tiredness. The thermoregulation is inefficient frequently linked to low regulation of body temperature and motor activation capacity. The thyroid gland, formed by two lobes located in the upper trachea, release to blood stream the prohormone tetraiodothyronine (T4) and the active hormone triiodothyronine (T3), important regulators of various metabolic and physiological functions in diverse tissues. The release of these hormones has a circadian pattern so the functions that depend on it vary between day and night. The mouse *Neotomodon alstoni* (volcano mouse) when in captivity, some organisms become obese and some individuals don't, thus allows to study the physiological and behavioral alterations between lean and obese mice. In this study, it is proposed to compare if a two-hour cold pulse given at opposite times of day induce different response in the behavioral pattern of locomotive activity and if the condition of obesity is associated in this species with changes in the histological structure of the thyroid gland and in the circulating concentration of the thyroid hormone T4.

Key words:

Thyroid hormones, *Neotomodon alstoni*, circadian rhythms, locomotor activity.

Dedicatorias

A mis padres, gracias por creer en mí, gracias a ustedes este sueño se cumplió.

Abuelita Coco, Abuelito Joaquín, sé que siempre quisieron verme triunfar, los extraño todos los días.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

Agradecimientos

A mi alma máter, la Universidad Autónoma de Querétaro, por cobijarme 5 maravillosos años, darme la mejor etapa académica y forjarme con las herramientas tanto profesionales como personales para ser la persona en la que hoy me he convertido.

Gracias a la Unidad de Microscopia de la UNAM, por ayudarme a realizar la histología de mis tejidos, en especial a la Dra. Erika Alejandra de los Ríos Arellano, al M en C. Agustín Carmona Castro por el mantenimiento de la Colonia de *Neotomodon* en la Facultad de Ciencias de la UNAM y a la Bióloga María Eugenia Ramos Aguilar, por proporcionarme parte del material para histología y apoyarme y estar al pendiente del progreso del proyecto.

A mi director Dr. Manuel Miranda Anaya, por aceptarme como su tesista y lograr este proyecto. A mis sinodales, Dr. Moisés Pérez, Dra. Teresa García Gasca y Dr. Marco Antonio Sánchez (por también abrirme las puertas a experimentar y darle la importancia que se merece a la divulgación científica).

A mi mamá, la Q.B Teresa García Jiménez, por apoyarnos con los análisis de laboratorio.

Al Dr. Reynaldo Abraham Alvarado, por darme la oportunidad de trabajar por primera vez en un proyecto en el Laboratorio de Conducta Sexual y Plasticidad Neuronal, en el INB- UNAM, a la Dra. Patricia Herrera, por el apoyo y la amistad formada en los años de la carrera, por abrirle los brazos y el corazón a aquellos embriones de biólogos del 2014.

Al team Costa Rica, Roger y El Niño (y Juano, aunque no nos pudo acompañar al final), mis hermanos del alma, por lograr nuestros sueños, por irnos juntos a la aventura de salir por primera vez de país y crear nuevas memorias haciendo lo que más nos gusta, junto con Nancy, Natas, Ale, Jorge, Paola, Fátima, por nuestros años maravillosos en la universidad, por las memorias, las lágrimas, los momentos de sinceridad, de estrés y de completo apoyo. Los amo y los llevo siempre en mi corazoncito.

A mis mejores amigas, Paty Gutiérrez Copado, gracias por apoyarme en todo, escucharme y estar conmigo sin importar la situación, por vivir conmigo los buenos y malos momentos, por permanecer, igualmente a Lilia Mendieta Moreno, por siempre tener palabras de aliento para mí, por motivarme a salir de mi zona de confort cuando más lo necesitaba y por seguir a mi lado a lo largo de los años, las amo.

A mi hermano, Jesús Fernando De La Vega García un verdadero dolor de cabeza, pero siempre apoyando, escuchándome y sosteniéndome en los momentos difíciles, te amo.

Finalmente a Víctor Hugo Deveze Medina, por el apoyo, el amor incondicional, la paciencia y la entrega a nuestra relación. Gracias por construir nuestros sueños juntos, por hacerme sentir capaz de todo cuando mi panorama se pone difícil y la confianza en mí misma se debilita. Eres la persona más decidida, humilde, empática y amorosa que conozco. Soy afortunada de compartir mi vida contigo, eres mi presente y mi futuro. Gracias por cobijarme en una nueva familia, te amo con todo mi ser.

Y a todos los que creyeron en mí y me mostraron su apoyo a lo largo de este camino ¡gracias!

EL PRESENTE TRABAJO SE LLEVÓ A CABO EN EL LABORATORIO DE CRONOBIOLOGÍA, EN LA UNIDAD MULTIDISCIPLINARIA DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN, BAJO LA DIRECCIÓN DEL DR. MANUEL MIRANDA ANAYA Y CON EL APOYO DE UNAM-DGAPA, PAPIIT IN 212118 E IN. 200620.

Índice

Resumen	1
Summary.....	2
Dedicatorias.....	3
Agradecimientos.....	4
I. INTRODUCCIÓN	
1.1 Obesidad como problema de salud a nivel mundial y nacional.....	8
1.2 Disfunción tiroidea y la condición de obesidad.....	9
1.3 Regulación circadiana del metabolismo y la termorregulación.....	10
II. ANTECEDENTES	
2.1 Descripción general de la fisiología tiroidea.....	13
2.2 Anatomía de la glándula tiroidea en roedores múridos.....	19
2.3 Hiper e hipotiroidismo en múridos y su relación con el cambio en la conducta....	21
2.4 Cambios en la termorregulación relacionados con la condición de obesidad.....	22
2.5 El ratón de los volcanes como modelo de estudio de obesidad y ritmos circadianos.....	23
III. HIPÓTESIS.....	25
IV. OBJETIVOS.....	25
V. JUSTIFICACIÓN (pregunta de investigación).....	26
VI. MÉTODOS	
6.1 Animales.....	26
6.2 Registro de actividad locomotora.....	27
6.3 Extracción de muestras biológicas.....	29
6.4 Histología: inclusión en sacarosa y tinción con Hematoxilina-Eosina.....	30
6.5 Análisis de hormonas tiroideas.....	31
6.6 Análisis de datos.....	32
VII. RESULTADOS	
7.1 Actividad motora.....	33
7.2 Efecto de pulsos de ambiente frío sobre la expresión de la actividad motora en ratones delgados y obesos.....	34
7.3 Histología de glándula tiroidea y conteo de folículos tiroideos.....	38
7.4 Hormona T4 circulante.....	40
VIII. DISCUSIÓN.....	41
IX. CONCLUSIONES.....	46
Perspectivas.....	46
X. ANEXO.....	47
XI. LITERATURA CITADA.....	48

Índice de cuadros

Tabla 1. Características y condición de cada individuo en estudio	27
Tabla 2. Individuos seleccionados para cortes histológicos y condición metabólica.....	31

Índice de figuras

Figura 1. Mecanismo molecular del reloj circadiano.....	11
Figura 2. Eje hipotálamo- hipófisis- tiroides.....	15
Figura 3. Mecanismo de síntesis de hormonas tiroideas.....	17
Figura 4. Micrografía óptica del folículo tiroideo de rata.....	20
Figura 5. Distribución geográfica de <i>Neotomodon alstoni</i>	24
Figura 6. Esquema del registro de actividad locomotora.....	28
Figura 7. Perfil promedio de la actividad locomotora.....	34
Figura 8. Perfil diario promedio de actividad locomotora en ratones delgados.....	35
Figura 9. Perfil diario promedio de actividad locomotora en ratones obesos.....	36
Figura 10. Actividad porcentual de cada individuo.....	37
Figura 11. Histología de glándula tiroides.....	39
Figura 12. Cantidad de folículos tiroideos en obesos y delgados.....	40
Figura 13. Comparación de hormona T4 circulante.....	40

I INTRODUCCIÓN

1.1 Obesidad como problema de salud a nivel mundial y nacional

La obesidad es considerada una fisiopatología que incluye factores genéticos, ambientales, conductuales, fisiológicos y metabólicos. La obesidad está definida como la acumulación anormal o excesiva de grasa. Sus causas pueden ser desde origen genético hasta el estilo de vida; sus consecuencias negativas son la diabetes, la resistencia a la insulina, las enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Pi- Sunyer, 2009). La obesidad se define como la epidemia del siglo XXI, ya que cerca de 1900 millones de personas tienen sobrepeso, está asociada a 34 millones de muertes en el mundo, al 4% del ajuste de años perdidos por discapacidad (DALYs, por sus siglas en inglés) y los niños que tienen obesidad aumentan el riesgo de una muerte prematura (Bass y Eneli, 2015).

La obesidad es una carga para los sistemas de salud y la baja expectativa de vida, el costo de la atención médica en personas con obesidad aumenta un 30% y se predice que doblen el costo cada década (Withrow y Alter, 2011). En adolescentes y niños, la obesidad conduce a desordenes metabólicos y hormonales que se reducen en cuanto el peso se normaliza. Entre las múltiples causas que se vinculan con el desarrollo de la obesidad se encuentra frecuentemente la disfunción tiroidea (Reinher, 2010). En México, ENSANUT reporta que la prevalencia de sobre peso y obesidad está en 36.3% de adolescentes, y de 72.5% en adultos mayores de 20, siendo el sexo femenino el más afectado (López, 2016).

1.2 Disfunción tiroidea y la condición de obesidad.

La glándula tiroidea regula el metabolismo lipídico y la tasa metabólica, su mal funcionamiento se relaciona con el aumento de peso. Las alteraciones en la función tiroidea son respuestas adaptativas que intentan incrementar el gasto energético y en ello se reduce la ganancia de peso. Los mecanismos más frecuentes que facilitan la obesidad son la resistencia a la leptina, resistencia de hormonas tiroideas y disfunción mitocondrial. La leptina, producida por los adipocitos, retroalimenta al SNC sobre cuánto tejido adiposo hay; también modula la sensación de saciedad y las respuestas conductuales de la sobrealimentación, lo que a su vez regula la cantidad de comida que se consume y el gasto energético. La leptina también puede modificar la función tiroidea a partir de los ejes hipotalámico- hipófisis, que causa cambios en la liberación de la TRH y a su vez de la TSH y TH (Menendez *et al.*, 2003).

En personas obesas, la concentración elevada de TSH se vincula a la resistencia a la señalización de la T3 lo que reduce la retroalimentación negativa entre los receptores de hormonas tiroideas en la glándula pituitaria y el TSH (Biondi, 2010).

Las hormonas de la glándula tiroidea promueven la lipólisis y la degradación de ácidos grasos, por lo que reducen la acumulación de lípidos y el peso corporal (Michalaki *et al.*, 2006). En ratones obesos, la cantidad de hormonas T3 y T4 en el plasma sanguíneo fue considerablemente menor cuando ocurre pérdida de peso (Duntas y Biondi, 2013); aquellos ratones resistentes a la obesidad mantienen niveles óptimos de T3 indicando que la regulación las hormonas tiroideas juegan un

papel crítico en los mecanismos que ajustan la tasa metabólica en base a la energía disponible (Xia *et al.*, 2015). Un correcto nivel de T3 y T4 en la sangre promueve una mayor actividad locomotora y por ende, el aumento de gasto energético (Jonas *et al.*, 2015).

1.3 Regulación circadiana del metabolismo y la termorregulación

La fisiología y conducta en un organismo se presentan en ciclos de 24 h acoplados a los cambios del día y la noche. Estos ritmos persisten en condiciones constantes con un periodo cercano a las 24 h por lo que reciben el nombre de “circadiano”. El metabolismo no es la excepción y es influenciado por factores endógenos como la herencia genética y funcionamiento celular, y exógenos, como el ambiente. En condiciones ambientales constantes (luz y disponibilidad de comida) los ciclos endócrinos y metabólicos persisten en una amplia diversidad de organismos. Los ritmos endócrinos y metabólicos son altamente dependientes de horas específicas, y sus oscilaciones se ven relacionadas con cambios conductuales a lo largo del día (Aschoff, 1965).

Los ritmos circadianos se basan en un mecanismo molecular llamado “reloj circadiano” (Figura 1) que consiste en la interacción de asas de transcripción-traducción de los llamados genes de reloj y sus proteínas, y que se completa en cerca de 24 horas. El dímero de proteínas BMAL1 y CLOCK funcionan como factores de transcripción y se unen a la región promotora (E-BOX) de varios genes del reloj circadiano, entre los cuales destacan los genes que dan lugar a las proteínas PER (periodo) y CRY (criptocromo). Estas se acumulan y dimerizan en el

citoplasma y se translocan de nuevo en el núcleo inhibiendo la actividad transcripcional de CLOCK- BMAL1 (Miyamoto y Sancar, 1998). Existe otro bucle de retroalimentación negativa en el que se ven involucradas las proteínas ROR y REV-ERB α . El resultado de su acumulación refleja una represión en la transcripción de BMAL1 (Preitner *et al.*, 2002). En mamíferos, el Núcleo Supraquiasmático del hipotálamo contiene al reloj circadiano que funciona como marcapasos y regula vía neuroendocria al resto de relojes en otros tejidos (Buijs y Kalsbeek, 2001).

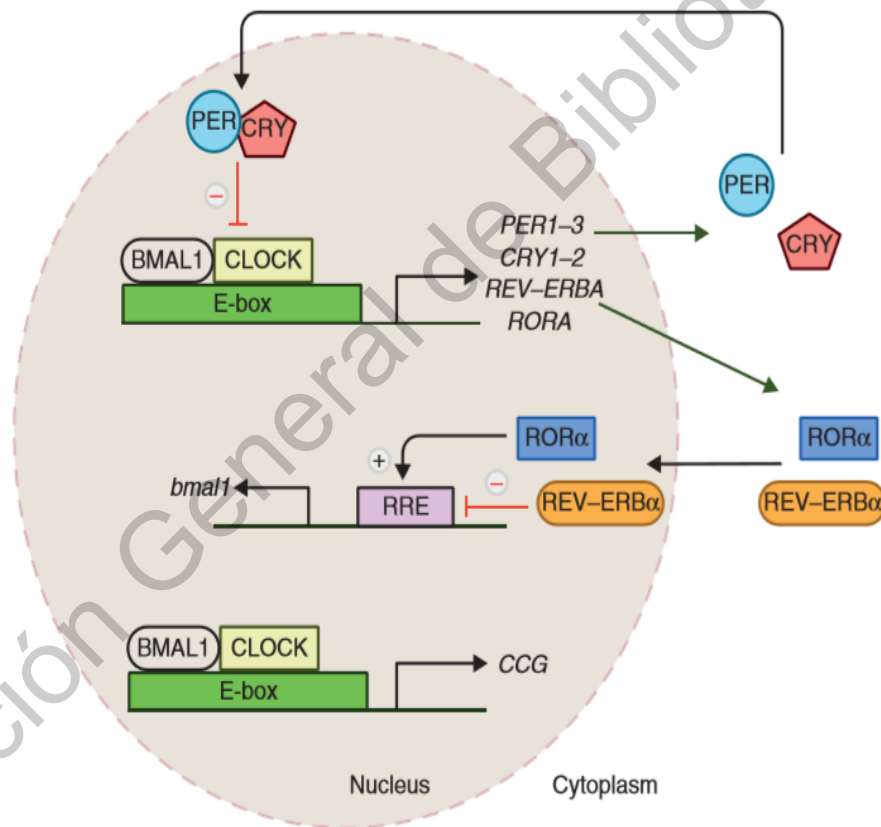


Figura 1. Mecanismo molecular del reloj circadiano. Se ilustra la unión de BMAL1 y CLOCK a la E- box, promoviendo la transcripción de *per* y *cry*, sus proteínas PER y CRY, después de acumularse en el citosol translocan al núcleo e inhiben la actividad de BMAL1 y CLOCK. Las proteínas REV- EBR α , que al unirse a Ror α , reprime la transcripción de BMAL1. CCG representa a otros genes controlados por reloj circadiano (Bailey, 2014).

En mamíferos el metabolismo requiere de una variación radical a lo largo del día en la disponibilidad de glucosa, en momentos de incremento de actividad física aumenta el uso de glucosa mediada por insulina (Rose y Ritcher, 2005). Hay más demanda de glucosa en los periodos de actividad que en los de descanso. La homeostasis de la glucosa se logra coordinando mecanismos exógenos (ingestión/digestión, absorción) y endógenos (gluconeogénesis). El reloj circadiano de los hepatocitos juega un papel importante en algunos procesos de la glucogenólisis así como de una regulación circadiana de la disponibilidad de glucosa por parte de los corticosteroides. Además, la síntesis de melatonina y el glucagón son regulados por el núcleo supraquiasmático en el hipotálamo (Bailey, 2014).

El metabolismo de los lípidos y de la glucosa es paralelo a la actividad física a lo largo del día acoplada a la actividad del sistema digestivo. Después de la ingesta de alimento el consumo de grasas requiere emulsificación mecánica, rompimiento lipídico y absorción de las células epiteliales del intestino. Durante la digestión y absorción de alimentos el tracto digestivo tiene más movilidad gastrointestinal, hay secreción exocrina de enzimas digestivas para la absorción de macronutrientes. Observaciones en enterocitos aislados del yeyuno de ratas indican que los niveles de absorción de colesterol y lípidos son más altos en las horas de más actividad (fase oscura) y menor absorción en horas de reposo. En ratas con mutación en el gen *clock* se observó una absorción de lípidos similar tanto en la fase luminosa como nocturna, a comparación de ratas sin mutación, donde existía variación en la absorción de lípidos. Varios de los genes involucrados en los procesos de digestión y absorción de lípidos en el intestino presentan ritmos diurnos (Pan y Hussain,

2009). La correcta funcionalidad del reloj circadiano en las células epiteliales del intestino es necesaria para mantener la homeostasis entre el epitelio intestinal y el microbiota, la importancia de esta relación se ve fuertemente afectada en el intestino por la disrupción del reloj circadiano (Swanson *et al.*, 2011).

Por otra parte, los diferentes tipos de tejido adiposo cumplen una amplia gama de funciones biológicas, desde el almacenamiento de energía hasta la secreción hormonal y la termogénesis, muchas de las cuales muestran variaciones pronunciadas a lo largo del día. Dichos ritmos de 24 h en fisiología y comportamiento están coordinados por una parte por los relojes circadianos endógenos en los adipocitos y por la regulación general desde el núcleo supraquiasmático (Kiehn *et al.*, 2017).

II ANTECEDENTES

2.1 Descripción general de la fisiología tiroidea.

La glándula tiroides se compone de dos lóbulos muy vascularizados, situados cada uno a los lados en la tráquea superior. La unidad funcional de la glándula tiroidea es el folículo tiroideo delimitado principalmente por tejido epitelial. El folículo contiene las hormonas tiroideas (TH) formadas en el epitelio a partir de las yodotironinas, que están constituidas por dos pares de moléculas de tirosina yodada. La síntesis de T4 y T3 requiere el uso del yodo y el 90% del producto de la glándula tiroidea que se encuentran fuera de los folículos es la 3, 5, 3', 5'-tetrayodotironina (T4); el 10% restante es la 3, 5, 3'-triyodotironina (T3) y se forma

en las células epiteliales a partir de la desyodación de T4 por desyodinasas tironina-específicas a través de los receptores TR α 1 y TR β que regulan la expresión genética (Berne, 1987). La triyodotironina (T3) es considerada la hormona activa y controla la energía metabólica, tiene gran influencia en el peso corporal, termogénesis y metabolismo lipídico (Guyton, 2002).

La regulación de la síntesis y liberación de las hormonas tiroideas se da en el eje Hipotalámico-Pituitaria-Tiroides. La TRH (hormona liberadora de la tirotropina) es una hormona producida en el hipotálamo y que actúa sobre los tirótrofos de la glándula pituitaria, uniéndose a una proteína G, acoplada con receptores de TRH, lo cual resulta en un incremento de cAMP intracelular y subsecuentemente liberación a sangre de la TSH (hormona estimuladora de la tiroides) (Mullur *et al.*, 2014). La TSH en la glándula tiroides se une a una proteína G acoplada a un receptor de una célula tiroidea folicular, y estimula la producción y liberación de hormonas tiroideas. Las hormonas como la dopamina, somatostatina y leptina poseen efectos moduladores sobre la secreción de TSH en la pituitaria y ello afecta la liberación de hormonas tiroideas (TH). La secreción de TSH y su sensibilidad a la estimulación de TRH se puede ver afectada por insuficiencia renal, inanición, privación del sueño, depresión, y el efecto de hormonas como cortisol, hormona del crecimiento y esteroides sexuales (Gary, 1996). La producción de TH también puede ser influida por hormonas como la leptina, o bien por la señalización adrenérgica y el cortisol, el estado nutricional, los ritmos circadianos de actividad-reposo y los niveles de estrés (Ghamari, 2010). La prohormona T4 es el primer producto secretado de la glándula tiroidea, y que utiliza MCT8 (Transportador monocarboxilado 8, transportador de

hormonas tiroideas) para la secreción. La conversión local de T4 a T3, se da mediante la enzima D2 (Desyodinasas tipo 2). Las hormonas T3 y T4 retroalimentan negativamente a los tirótopos (células productoras de TSH) en la glándula pituitaria y tanicitos en el hipotálamo (Guyton, 2002; Figura 2).

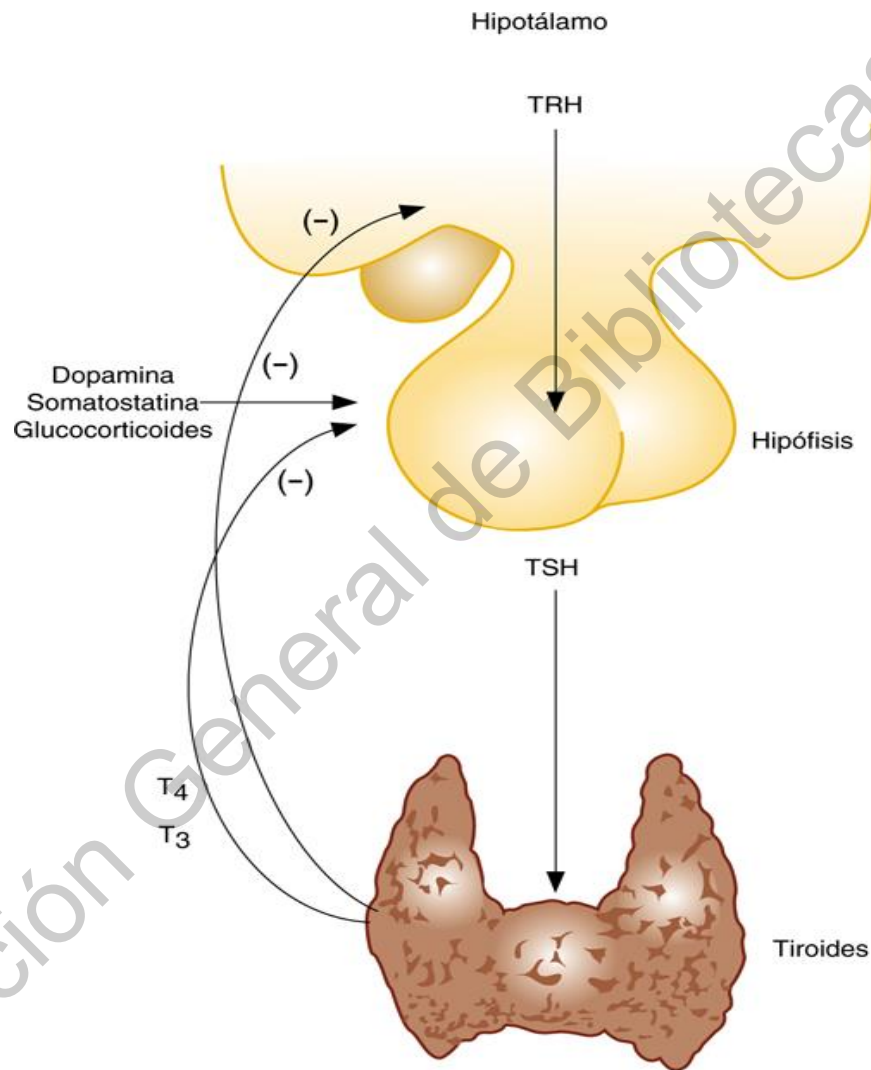


Figura 2. Eje hipotálamo- hipófisis- tiroides. La síntesis de hormonas tiroideas se regula por medio de un mecanismo de retroalimentación negativa. El hipotálamo libera la TRH, que estimula a la hipófisis a secretar TSH, la que a su vez produce y libera Hormonas tiroideas T3 y T4 las cuales retroalimentan negativamente a sus células secretoras (tomado de Guyton y Hall, 2002).

El decremento de producción de TSH y TRH se refleja en la adecuación de los niveles de TH en los tejidos. La estricta regulación de esta asa de respuesta permite usar el TSH del suero como indicador para diagnosticar y manejar enfermedades tiroideas primarias como hipotiroidismo e hipertiroidismo; así los pequeños cambios de T4 en el suero son amplificadas en cambios de TSH en el suero (Mullur, 2014). La TSH posee receptores en preadipocitos e induce diferenciación a adipocitos. Los adipocitos hipertrofiados estimulan la formación de adipocitos nuevos (hiperplasia) para así incrementar la capacidad de almacenamiento de grasas. Los adipocitos, influenciados por factores ya sea genéticos o ambientales tienden a incrementar en número y tamaño y la energía es almacenada en forma de triglicéridos (Reinher, 2010). En la fisiología tiroidea, el yodo juega un papel central como constituyente de las hormonas tiroideas y como regulador de la función de la glándula tiroidea (Figura 3). Dentro de la célula se encuentran los transportadores de yodo y una gran cantidad de ATPasas y receptores a TSH. Para la secreción hormonal se requiere la pinocitosis de tiroglobulina, seguida de la fusión de pequeñas gotas con lisosomas y proteólisis, que libera monoyodotirosina (MIT), diyodotirosina (DIT), T3 y T4, ambas hormonas (T3 y T4) son liberadas al torrente sanguíneo junto con tiroglobulina. El yodo es transportado a través de las células desde el lado basal (vascular) hasta el apical (folicular-luminal). La tiroglobulina es expulsada continuamente y entonces yodada para convertirla en MIT y DIT; después de ser yodadas, dos moléculas DIT se emparejan para formar T4, mientras que una molécula de MIT y una de DIT forman T3. El apareamiento de moléculas es llevado a cabo por peroxidasa tiroidea, enzimas catalizadoras que abarcan la membrana

apical de la glándula. Una vez que la tiroglobulina es yodada se almacena en el lumen como coloide y se une al receptor megalina para que T3 y T4 sean liberadas al torrente sanguíneo, seguido de la endocitosis y degradación lisosomal de la tiroglobulina (Soto y Verbeke, 2015).

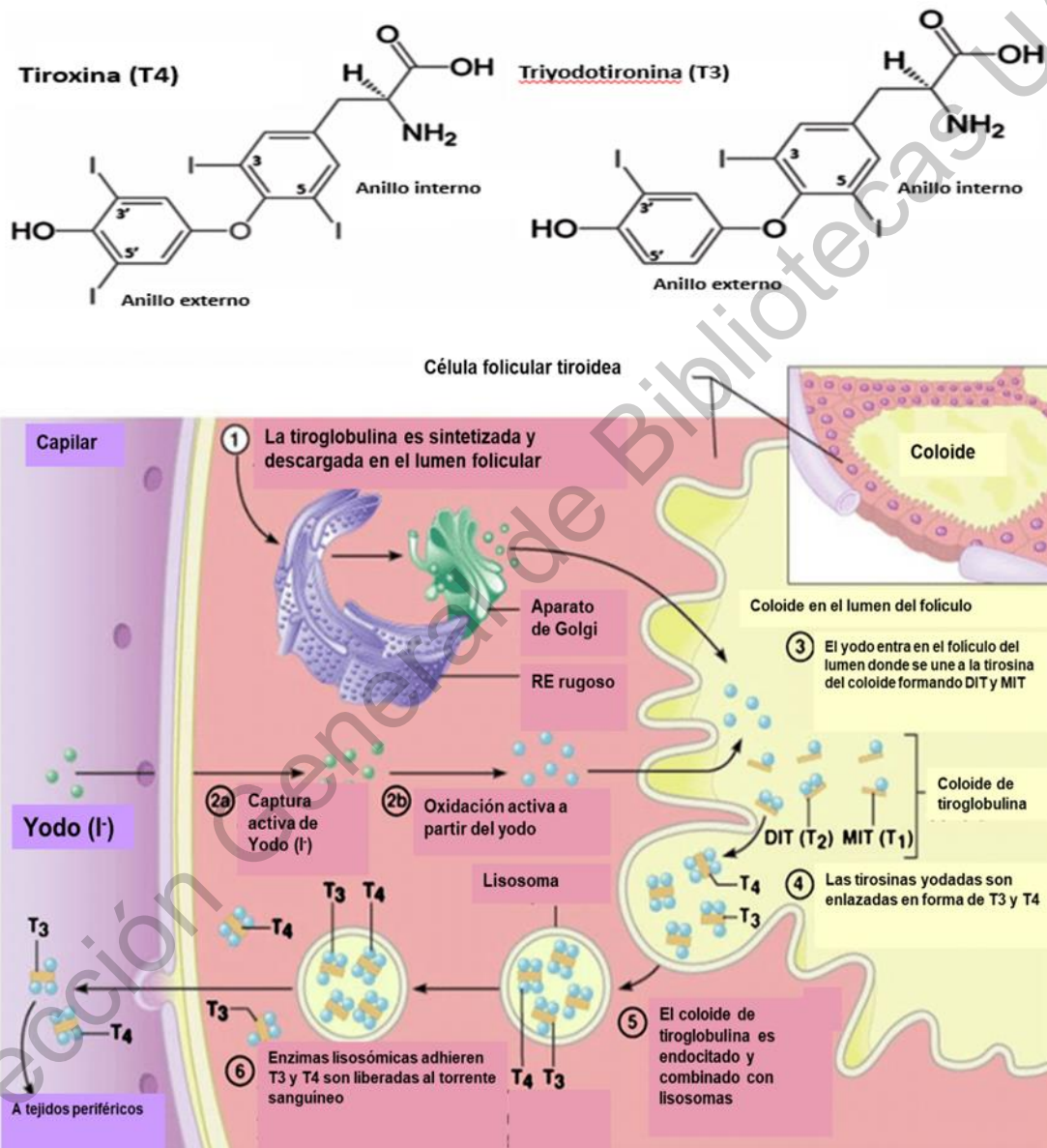


Figura 3. Mecanismo de síntesis de hormonas tiroideas. Arriba, la estructura molecular de hormonas T3 y T4 y abajo, su mecanismo de síntesis en las células foliculares de la tiroides (modificado de Arrangoiz, 2018).

Las hormonas tiroideas actúan directamente en todas las células y tejidos, además de modular acciones de otras hormonas y neurotransmisores. Su déficit o exceso están vinculados a las enfermedades endocrinas más comunes. A nivel cardiovascular, la hormona T3 aumenta el ritmo cardíaco y aumenta la circulación arterial en los tejidos, también incrementa el ritmo de respiración en reposo, ventilación por minuto y respuesta de ventilación. Cuando la función tiroidea disminuye se presentan síntomas de bradicardia sinusal, hipertensión arterial leve, baja del pulso, fatiga e intolerancia al frío. Los efectos de la T3 se llevan a cabo por medio de transcripción génica y extragénica; la hormona interacciona con receptores nucleares de hormonas tiroideas (RT3) y promueve la transcripción óptima de genes que codifican proteínas reguladoras y estructurales relacionadas con la función contráctil del músculo, tanto de forma positiva y negativa (Soto y Verbeke, 2015).

Las hormonas tiroideas promueven la maduración y crecimiento de tejidos, además de neurogénesis y un correcto desarrollo de los huesos, son esenciales para el correcto desarrollo del cerebro de los vertebrados (Forrest, 2004), neurogénesis fetal (Ausó *et al.*, 2004) y transporte de hormonas de la madre a la cría (Versloot *et al.*, 1998), además de regular ciclos reproductivos. Respecto al metabolismo, las TH incrementan el rango basal de consumo de oxígeno, aumentan el desacoplamiento mitocondrial de proteínas en todos los tejidos excepto cerebro, gónadas y bazo. La termogénesis incrementa también al tener más acceso a O₂ y T3 aumenta también la absorción de glucosa desde el tracto intestinal (Berne, 1987).

2.2 Anatomía de la glándula tiroidea en roedores múridos.

La glándula tiroidea presenta dos lóbulos unidos centralmente por un istmo. Se encuentra debajo de la laringe rodeando la tráquea. La glándula tiroidea se encuentra irrigada en la parte superior por la arteria carótida externa. Las TH son secretadas desde los folículos tiroideos por la estimulación de TSH. Las células parafoliculares se encuentran en la periferia del epitelio folicular, poseen un citoplasma claro y se distribuyen de manera individual o en pequeños grupos (Figura 4). Al interior de la glándula, existen células con vesículas secretoras y complejo de Golgi prominente, el cual produce y libera la hormona calcitonina que regula los niveles de calcio en la sangre (Cornejo, 2017).

Los folículos o acinos tiroideo son la unidad funcional de la glándula tiroidea los cuales tienen un diámetro de 0.2 a 0.9 mm y se constituyen por espacio extracelular que contiene el material coloide en forma de una sustancia viscosa constituida por proteínas y glicoproteínas, principalmente tiroglobulina y hormona tiroidea (se tiñe histológicamente de rosado con la tinción de eosina). Las células foliculares o tirocitos forman un epitelio simple que tapiza el folículo en su parte interna; cuando las células son estimuladas por la TSH presentan formas cúbicas y cilíndricas. Las células parafoliculares o células C están localizadas en forma solitaria entre los tirocitos (no forman grupos) en la lámina basal del folículo, no hacen contacto con el coloide y tienen por función la síntesis de calcitonina. La lámina basal es el tejido donde descansa el borde basolateral las células foliculares. El tabique folicular presenta prolongaciones o tabicaciones de la cápsula de tejido conectivo.

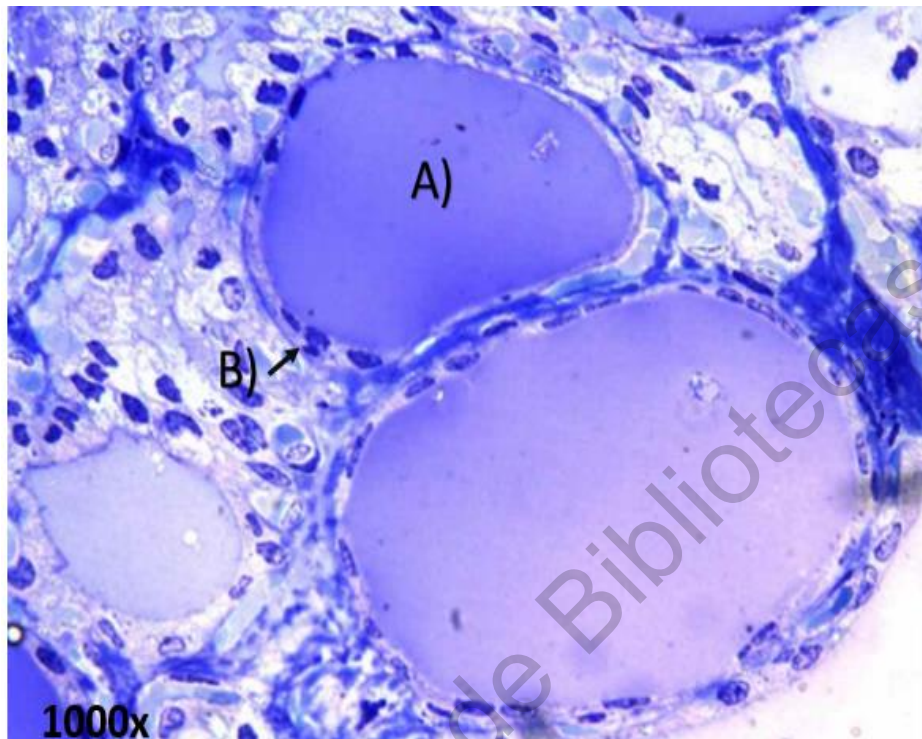


Figura 4. Micrografía óptica del folículo tiroideo de rata. Se muestra A) el coloide y B) las células foliculares tiroideas rodeando el coloide, tinción con azul de toluidina, observadas en microscopio óptico a 1000x (Cornejo, 2017).

2.3 Híper e hipotiroidismo en múridos y su relación con el cambio en la conducta.

Algunas anomalías en el funcionamiento tiroideo son el hipotiroidismo, que es la reducción en el tamaño de la glándula con la baja producción de hormonas tiroideas, y el hipertiroidismo, que al contrario, es un aumento en el tamaño de la glándula y de hormonas tiroideas.

El hipotiroidismo se asocia con enfermedades cardiovasculares (Goldey *et al.*, 1995) así como un mal desarrollo y partos prematuros (Hack, 2000); causa cambios en el comportamiento como bajos niveles de rendimiento en la memoria, depresión y

manía (Van-Boxtel *et al.*, 2004), y está asociado a una baja producción de TSH (Prangue *et al.*, 1972). El hipertiroidismo se asocia con intolerancia al calor y pérdida notable de peso (Hall, 2017).

En ratas adultas, el hipertiroidismo incrementa la actividad motora en pruebas de campo abierto (Redei, 2001; Sala-Roca *et al.*, 2002). Tanto hipo como hipertiroidismo incrementan la inmovilidad al momento de pruebas conductuales de nado forzado, (Kulikov *et al.*, 1997; Redei, 2001). Las consecuencias conductuales de desarrollar alguna disfunción tiroidea en la adultez están mediadas tanto por la acción de las hormonas tiroideas (cantidad) como de sus receptores (TR), usualmente mediante una alteración en la regulación transcripcional de los genes de las hormonas tiroideas (Oppenheimer y Schwartz, 1997). En ratones, la delección de algunas isoformas de receptores de hormonas tiroideas acentúa la inhibición del comportamiento, como por ejemplo en los periodos de descanso y la reducción de horas de actividad en laberintos experimentales, además del déficit en la memoria y aprendizaje espacial (Wilcoxon *et al.*, 2007). En ratas, al reducir el nivel de T3 hay reducción de ansiedad, además de un menor tiempo empleado en aseo y acicalamiento, contrario a un aumento de ansiedad en ratas con una mayor concentración de T3 (Wirth *et al.*, 2009).

2.4 Cambios en la termorregulación relacionados con la condición de obesidad.

En mamíferos, el tejido adiposo pardo es el sitio con mayor producción de calor en la termogénesis no tiritante y juega un papel importante en la termogénesis inducida.

La termorregulación también es regulada en el Sistema Nervioso Central (SNC) tanto en el control de la acción de tiritar como en la retención del calor a partir de la vasoconstricción (Horwitz, 1979). La sobrealimentación en periodos cortos incrementa la actividad del SNC en el tejido adiposo pardo, en un intento de elevar la quema de calorías (Young *et al.*, 1982). En el caso de la obesidad, el peso del tejido adiposo pardo refleja el depósito de lípidos, paralelo a la expansión de los depósitos de tejido graso blanco. El tejido adiposo blanco no es usado comúnmente como indicador de la actividad termogénica como lo es el tejido pardo, dado que la cantidad de mitocondrias es considerablemente menor y hay una mayor densidad de lípidos (Trayhurn, 2017).

Cuando los animales obesos son expuestos al frío (4°C) su temperatura corporal decrece mucho más rápido de lo normal y mueren aproximadamente 2.2 horas después de la exposición. La hipotermia se encuentra asociada a un bajo metabolismo; los ratones obesos tratados con tiroxina no presentan hipotermia ni hipertiroidismo lo cual refleja que la glándula tiroidea juega un papel importante en la regulación de la temperatura y la condición de obesidad (Joosten y Van Der Kroon, 1974). Al exponer a los ratones obesos a temperaturas bajas por un periodo de tiempo corto, aquellos que se les había tratado con L-T3, lograron termorregular más eficientemente que aquellos que no se les administró L-T3. Después de terminados los experimentos se procedió a extraer las glándulas tiroideas de los ratones obesos, aquellos tratados con L-T3 presentaban un peso en el tamaño de la glándula tiroidea menor a aquellos que no fueron tratados (Ohtake y Azukizawa, 1977).

2.5 El ratón de los volcanes como modelo de estudio de obesidad y ritmos circadianos

El ratón de los volcanes, *Neotomodon alstoni*, pertenece a la Familia Cricetidae, Orden Rodentia. Es una especie endémica de la Faja Neovolcánica Transversal Mexicana en el centro del país; se distribuye desde el centro-oeste de Michoacán hasta el centro de Veracruz (Musser y Carleton, 2005). *N alstoni* habita en una altitud de entre 2,500 a 4,300 m (Williams *et al.*, 1985). Su estado de protección se encuentra en la categoría de baja preocupación según la IUCN (Álvarez-Castañeda y Castro-Arellano, 2016) (Figura 5). La especie alcanza una longitud corporal de 13 cm desde la cabeza hasta el torso, y la cola mide en promedio entre 8 y 11 cm; pesan entre 40 y 60 g en condiciones naturales. Presenta un pelaje denso y suave de color gris oscuro en el dorso, amarillento en los flancos y color blanco en la parte ventral, los juveniles son de color gris oscuro uniforme. Las orejas son grandes y sin pelo (Chávez, 2005). Este ratón desarrolla obesidad de forma espontánea en algunos organismos cuando se encuentran en condiciones de aislamiento y con libre acceso a comida (Miranda-Anaya *et al.*; 2019). Los animales obesos suelen pesar por arriba de los 60 g y presentan alteraciones en la amplitud del ritmo circadiano de la actividad motora, así como en las variaciones diarias de señalización en diversas hormonas involucradas en la conducta alimentaria y del metabolismo como la leptina, la ghrelina, la insulina y los corticosteroides (Carmona-Alcocer *et al.*, 2012; Pérez-Mendoza *et al.*, 2017, Miranda-Anaya 2017; Luna-Moreno *et al.*, 2017). Los animales obesos presentan un déficit en la sincronización por temperatura y a fotoperiodos largos (Miranda-Anaya *et al.*, 2017, 2019).

Estudios preliminares en nuestro laboratorio indican que la temperatura corporal en los ratones obesos está por debajo de la que presentan los individuos delgados. Los ratones obesos también presentan menor tasa metabólica y ante un reto de termorregulación, la temperatura corporal en algunos de los obesos decae después de la primera hora de exposición a un ambiente fresco (10°C) (Herrera-García et al., 2019). Lo anterior lleva a plantear la pregunta si el déficit en termorregulación en los animales obesos se puede vincular a una baja respuesta motora durante la exposición al frío y si la condición de obesidad está asociada a una baja presencia de hormonas tiroideas.

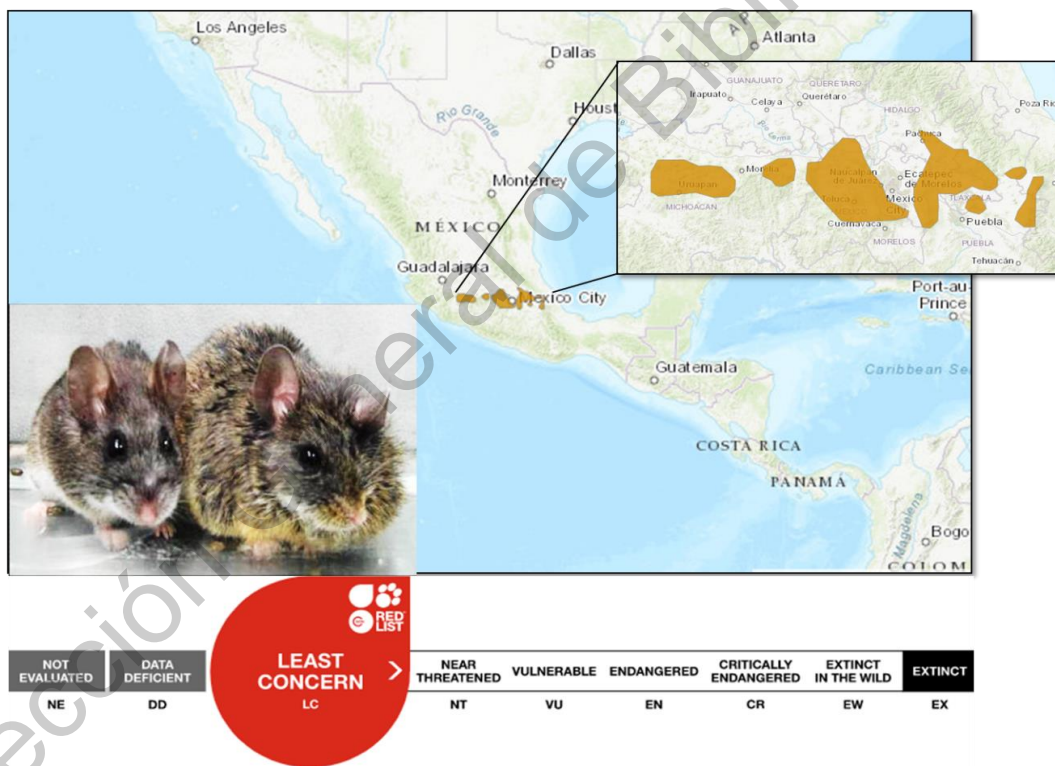


Figura 5. Distribución geográfica de *Neotomodon alstoni*. Categoría en la IUCN y un ejemplo de un ejemplar delgado y un obeso.

III JUSTIFICACIÓN

La obesidad en *Neotomodon alstoni* nos permite estudiar las afectaciones producidas por la condición de obesidad en diversos parámetros fisiológicos y conductuales, en un modelo en que la obesidad es espontánea, es decir, animales delgados y obesos se encuentran bajo las mismas condiciones ambientales y nutricionales y diferencialmente algunos animales desarrollan la condición de obesidad, por lo que no existe el efecto directo de una inducción por dietas ricas en grasas o azúcares. En este estudio es de interés vincular una posible disfunción tiroidea con las respuestas conductuales asociadas a la termorregulación. Permitiendo conocer mejor la biología de esta especie en su condición de obesidad espontánea.

Teniendo en cuenta que la obesidad representa un problema de salud a nivel mundial, la presente investigación sienta las bases de conocimiento nuevo, al complementar la información sobre los procesos fisiológicos que se ven alterados en la condición de obesidad en mamíferos y que sean referencia para comprender y estudiar mejor la fisiología humana en el estado de obesidad ofreciendo en un futuro cercano soluciones puntuales para su tratamiento.

IV HIPÓTESIS

Los ratones obesos presentan déficit en la actividad motora durante una exposición aguda a una caída brusca de temperatura, lo que podría estar relacionado con un

déficit de hormona tiroidea T4. La respuesta durante el día será menor que en la noche en función de la fase de actividad o de reposo.

V OBJETIVO GENERAL

Determinar si en *Neotomodon alstoni* la termorregulación por conducta locomotora ante un pulso de frío es negativamente afectada por la condición de obesidad y si esta diferencia se vincula a una disfunción tiroidea.

5.1 Objetivos específicos

Comparar entre ratones delgados y obesos:

- a) la magnitud del cambio de la actividad locomotora ante una exposición aguda al ambiente frío (12°C) tanto a la mitad de la fase activa como la de reposo.
- b) si existen diferencias en la concentración circulante de hormonas tiroideas T4.
- c) si existen diferencias en la morfología histológica de la glándula tiroides.

VI MÉTODOS

6.1 Especie de estudio.

Los ratones *N. alstoni* fueron obtenidos de la colonia de reproducción que se maneja en el bioterio de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México. Se usaron 12 ratones adultos machos y 8 hembras, con peso corporal indicado en la Tabla 1 y edad entre los 8 y 14 meses. Los ratones fueron aclimatados en una habitación con temperatura y fotoperiodo controlado (23±3 °C). Los protocolos en el manejo de los animales empleados en este estudio fueron

autorizados por la Comisión de Ética Académica y Responsabilidad Científica de la Facultad de Ciencias, UNAM (Anexo 1).

Tabla 1. Características y condición de cada individuo. Grupos de ratones que formaron parte de este estudio.

Grupo 1				Grupo 2			
# Ratón	Sexo	Peso (g)	Condición	# Ratón	Sexo	Peso (g)	Condición
18	Macho	45	Delgado	6	Hembra	51.7	Preobeso
25	Macho	43	Delgado	7	Macho	45.1	Delgado
5	Macho	53	Preobeso	8	Hembra	46	Delgado
15	Macho	49.3	Delgado	9	Macho	52	Preobeso
16	Hembra	42.1	Delgado	21	Macho	45	Delgado
3	Hembra	64	Obeso	14	Hembra	57.6	Preobeso
2	Macho	77	Obeso	22	Macho	49	Delgado
12	Macho	72	Obeso	23	Hembra	45.6	Delgado
27	Hembra	49.7	Delgado	13	Macho	47.4	Delgado
4	Macho	55	Preobeso	17	Hembra	46.5	Delgado

6.2 Registro de actividad locomotora

El registro de actividad locomotora se logró mediante un sistema electrónico de cruces de sensores-interruptores infrarrojos ubicados en las cajas de acrílico en que se mantuvo a cada ratón (Figura 6). La actividad locomotora en los ratones se cuantificó mediante la suma de cruces cada 10 min mediante la ayuda del sistema computarizado AMOS (desarrollado por el Dr. Ivo Neftalí Ayala-García y el estudiante Irvin Herrera-Argomaniz, de la UTEQ, Qro; Miranda-Anaya et al; 2019) y

capturados en una PC mediante el software AMOS 3.3 (desarrollado por la estudiante de la UTEQ- Melissa y Mendoza-Ávila). El registro de actividad se llevó a cabo dentro de una cámara de ambiente controlado (CONVIRON, Adaptis 1000) donde se monitorearon 10 individuos simultáneamente.

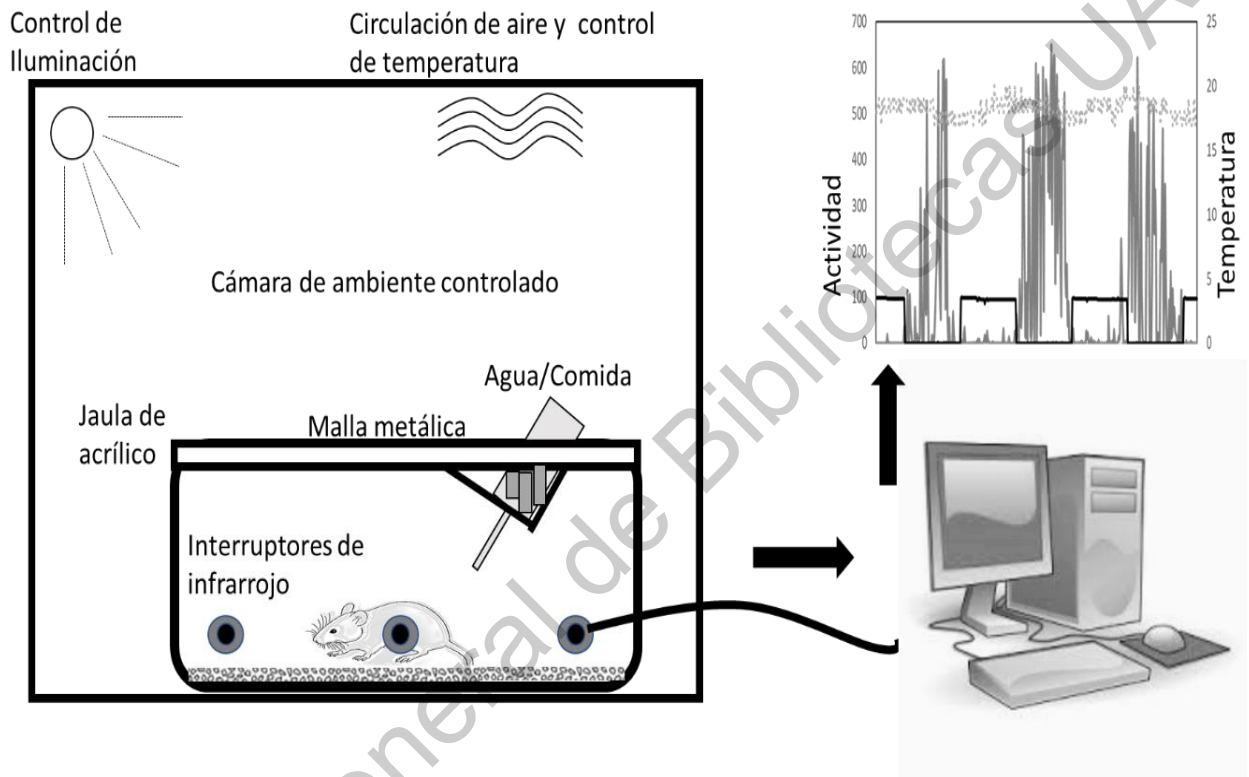


Figura 6. Esquema del registro de actividad locomotora. Disposición de los elementos que conforman el sistema de mantenimiento experimental y registro de actividad.

Se usaron 20 ratones, divididos en dos grupos de 10 individuos cada uno, que fueron mantenidos en ambiente controlado de temperatura (25°C) y humedad relativa (50%). La iluminación de la cámara se mantuvo en fotoperiodo 12 h de luz y 12 h de oscuridad, a una intensidad aproximada de 300-350 lx, mediante el uso de tiras de emisores LED de luz blanca, y controladas por un temporizador doméstico.

Los ratones fueron usados como su propio control en un protocolo experimental de medias repetidas. Los primeros 3 días se mantuvieron en ambiente estable (25°C). Se consideró como referencia el promedio la actividad durante 2 h, los tres días previos en los horarios en que posteriormente se dieron los pulsos de frío, tanto en la fase diurna y nocturna.

Luego, se programó en la cámara de ambiente controlado dos pulsos fríos de 2 h que consistieron en un cambio de temperatura de 25°C a 12°C. Los pulsos se dieron de 12:00 a 14:00h y de 24:00 a 02:00, por los 3 días restantes. Posteriormente los ratones fueron mantenidos por una semana en condiciones de temperatura y fotoperiodo equivalentes al control.

6.3 Extracción de muestras biológicas

Después de una semana en un ambiente de condiciones control, los ratones se sacrificaron mediante anestesia profunda con pentobarbital sódico intraperitoneal (1mg/kg; 6.6g/100ml; Cheminova) para proceder a la perfusión de tejidos. Antes de la perfusión se colectó sangre de la vena cava con una jeringa de 10 ml. Posteriormente se inició la perfusión con ayuda de una bomba de perfusión para fijación de tejidos, primero con una solución de buffer de fosfatos (PBS) y luego con solución formaldehído (PFA) al 4%, vía intraventricular. Una vez completada la perfusión se colectó la glándula tiroideas. Otros tejidos de estos animales fueron destinados a objetivos distintos a esta tesis, con el fin de aprovechar en la mejor medida el material biológico. Las glándulas tiroideas se disecaron y se conservaron primero en PBS y posteriormente se movieron a una solución de para formaldehído al 10% y fueron mantenidas en refrigeración hasta su posterior análisis.

La perfusión y la colecta de tejidos se hicieron en una cámara con extracción continua de gases, con protección básica de laboratorio (bata, guantes, cubrebocas y gafas de acrílico) en condiciones de asepsia. El manejo de animales de laboratorio, muestras, perfusión fueron asistidos por el tutor del presente trabajo, bajo los procedimientos autorizados por el comité de bioética de la Facultad de Ciencias, de la UNAM.

6.4 Histología: inclusión en sacarosa y tinción con Hematoxilina-Eosina

Fueron usadas 3 muestras glándula tiroidea de individuos delgados y 3 de obesos (Tabla 2). Para el procesamiento histológico, las muestras de tejido fijado en para formaldehído al 10% y fueron transferidas a una solución de sacarosa al 30%, durante una semana y posteriormente sumergidas en una solución de Tissue-Tek, el cual congelado forma un cubo sólido que permite hacer cortes sagitales de 30 μm en criostato (Leica, mod 3050S), a una temperatura de -20°C , depositando los cortes y extendiéndolos directamente en portaobjetos electro cargados, para una mejor adhesión. Después, las muestras fueron teñidas mediante la técnica Hematoxilina- Eosina (Salazar, 2017) para su evaluación mediante microscopio óptico. Los procedimientos histológicos se hicieron en el Instituto de Neurobiología, bajo la supervisión y apoyo técnico de Erika, A. de los Ríos Arellano.

Tabla 2. Individuos seleccionados para cortes histológicos y condición metabólica.

# individuo	Condición
2	Delgado
3	Delgado
12	Delgado
7	Obeso
16	Obeso
21	Obeso

6.5 Análisis de hormonas tiroideas.

Las muestras de sangre colectadas se mantuvieron en tubos de centrífuga (1.5 ml) embebidos en hielo, luego las muestras se centrifugaron durante 5 min a 3000 rpm, posteriormente se extrajo el plasma remanente y se conservó en ultracongelación a -80°C hasta su posterior análisis. Las muestras de plasma de 6 ratones fueron enviadas a Laboratorios Láser ® para ser analizadas en las concentraciones de hormona T4, por medio de la técnica estandarizada de quimioluminiscencia, utilizando el método de generación de complejos AG-AP (Abbott, 2017). Al no existir un protocolo estandarizado para *Neotomodon alstoni*, se usó el protocolo en muestras de sangre de humanos para Tiroxina (T4).

6.6 Análisis de datos.

a) Actividad locomotora: se promedió la actividad de cada individuo durante las 2h en que se daría el pulso, tanto en la fase luminosa como en la fase oscura, de los tres días previos a la exposición a los pulsos fríos de 12° C.

Posteriormente, se dividieron los datos en dos secciones: actividad motora diurna y actividad motora nocturna, donde, para cada grupo se aplicó una diferencia de promedios de la actividad motora durante el pulso frío menos el promedio de la actividad motora en condición control ($\Delta = \underline{x}_{pulso\ frío} - \underline{x}_{control}$). Los resultados obtenidos fueron graficados en un histograma, donde “x” representa el peso de cada individuo, mientras “y” el delta de actividad obtenido. Todos los datos fueron ordenados del peso más bajo al más alto. Los datos se graficaron individualmente.

A partir de la dispersión de los datos de actividad en relación al peso de los animales, se decidió arbitrariamente hacer una comparación entre el grupo de delgados (peso menor a 50 g) y el conjunto de pre-obesos y obesos (peso mayor a 50g) se promedió el delta de actividad de cada grupo y se obtuvo la Desviación Estándar y el Error Estándar de los grupos, los cuales también fueron graficados en un histograma donde la abscisa “x” representa los grupos (delgados y obesos) y la ordenada “y” el delta de actividad calculado. Los datos fueron comparados mediante ANOVA de una vía y contrastados con la prueba de Tukey. Se consideraron significativas las diferencias con un valor de $P < 0.05$.

b) T4 circulante: fueron seleccionados 3 obesos y 3 delgados con base en el volumen de plasma colectado mayor o igual a 0.03 ml, debido al volumen mínimo requerido para su análisis. Las concentraciones promedio fueron graficadas y comparadas mediante la prueba de U Mann Whitney.

c) Histología y registro micrográfico: Las preparaciones fueron fotografiadas mediante en el microscopio AXIO LAB Zeiss, (con cámara AXIO Cam ERc5s) con el objetivo 10 y 40X, mediante el programa ZEN-Blue (Zeiss). Las estructuras fotografiadas fueron evaluadas cualitativamente, describiendo anatómicamente las partes que lo conforman. Al final se contaron los folículos manualmente a partir de fotografías tomadas previamente en el microscopio con el objetivo 10X.

VII RESULTADOS

7.1 Actividad motora

Neotomodon alstoni es un roedor nocturno por lo que su mayor actividad locomotora ocurre durante la noche. En la Figura 7 se muestra el perfil promedio diario de actividad de un animal delgado (líneas continuas) y uno obeso (punteadas) en condiciones iniciales de LO 12:12 y temperatura constante. Los animales obesos presentaron un perfil de actividad nocturna con menor amplitud que los animales delgados, así como más actividad dispersa durante la primera mitad del día.

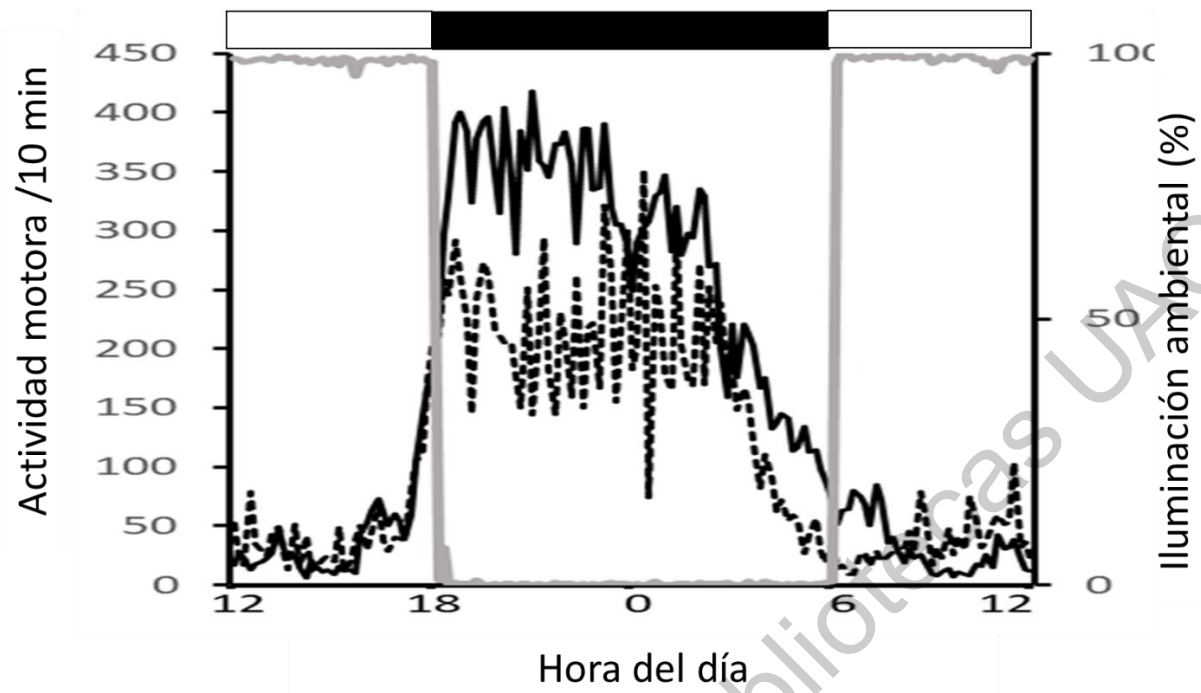


Figura 7. Perfil promedio de la actividad locomotora. Ratones delgados (línea continua) y ratones obesos (línea punteada) en condiciones de temperatura constante. El eje derecho indica los cambios en la iluminación (%) representados con la línea gris y con barras clara y oscura en la parte superior.

7.2 Efecto de pulsos de ambiente frío sobre la expresión de la actividad motora en ratones delgados y obesos

En los registros en que se presentaron pulsos fríos de 2 h, tanto a la mitad de la noche como a la mitad del día, se observaron resultados variables entre los individuos estudiados. La Figura 8 muestra el perfil promedio de actividad de tres ratones delgados, donde se muestra además el cambio en la temperatura ambiental (línea gris). Durante los pulsos, la actividad locomotora aumentó respecto al estado previo. El brote de actividad es significativamente diferente durante el pulso frío tanto de día como de noche. Cuando la temperatura es estable, la fase de reposo muestra cambios aislados y de baja amplitud.

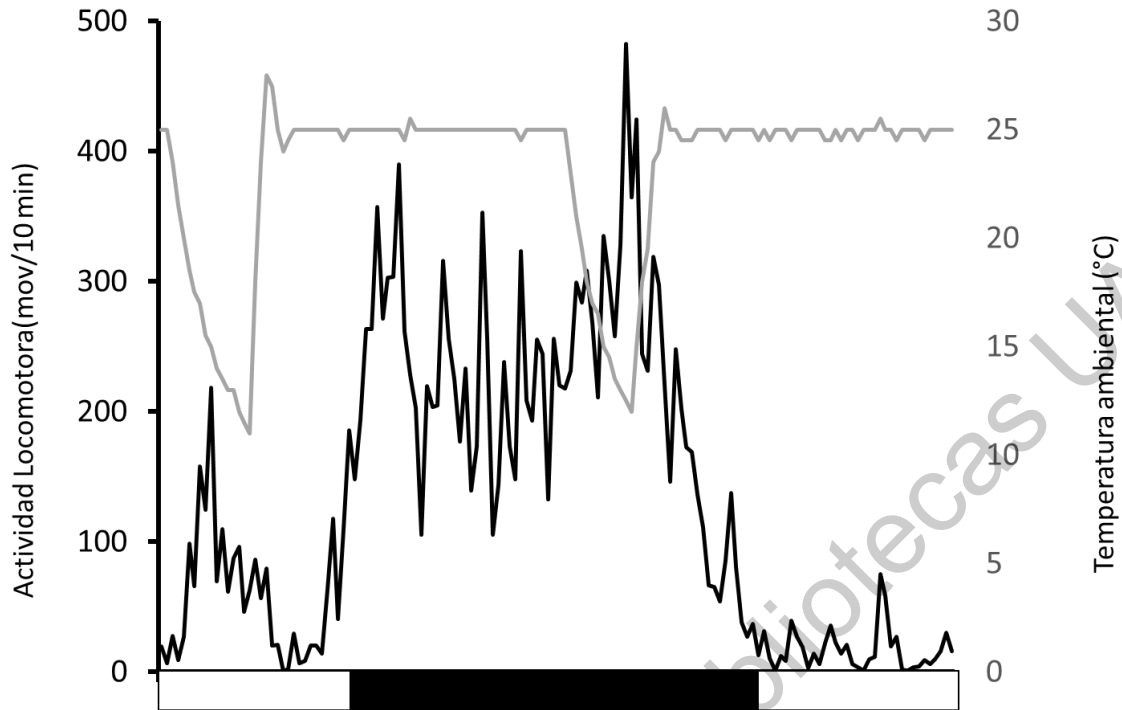


Figura 8. Perfil diario promedio de actividad locomotora en ratones delgados; en gris se representa la temperatura ambiental.

En la Figura 9 se muestra el perfil promedio de actividad motora de tres ratones obesos. Los cambios en la amplitud en la actividad durante los pulsos son menos contrastantes que lo observado en los ratones delgados y se nota una caída de temperatura al final del pulso frío nocturno, mientras que, a medio día, los cambios en la actividad son semejantes a los que ocurren espontáneamente sin la presencia del pulso.

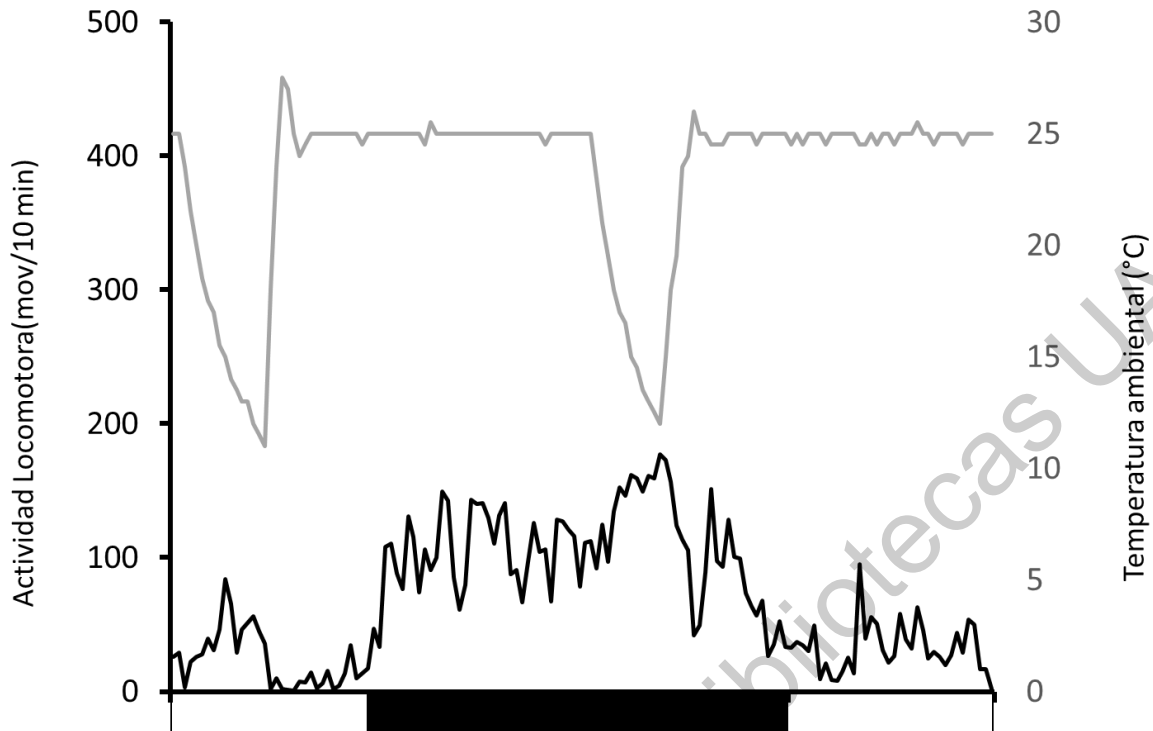


Figura 9. Perfil diario promedio de actividad locomotora en ratones obesos; en gris se representa la temperatura ambiental.

La evaluación del cambio en la actividad locomotora como el cambio porcentual respecto a la actividad presente las dos horas previas al pulso, tanto para mitad del día como de la noche, se muestra en la Figura 10 para cada organismo según su peso corporal.

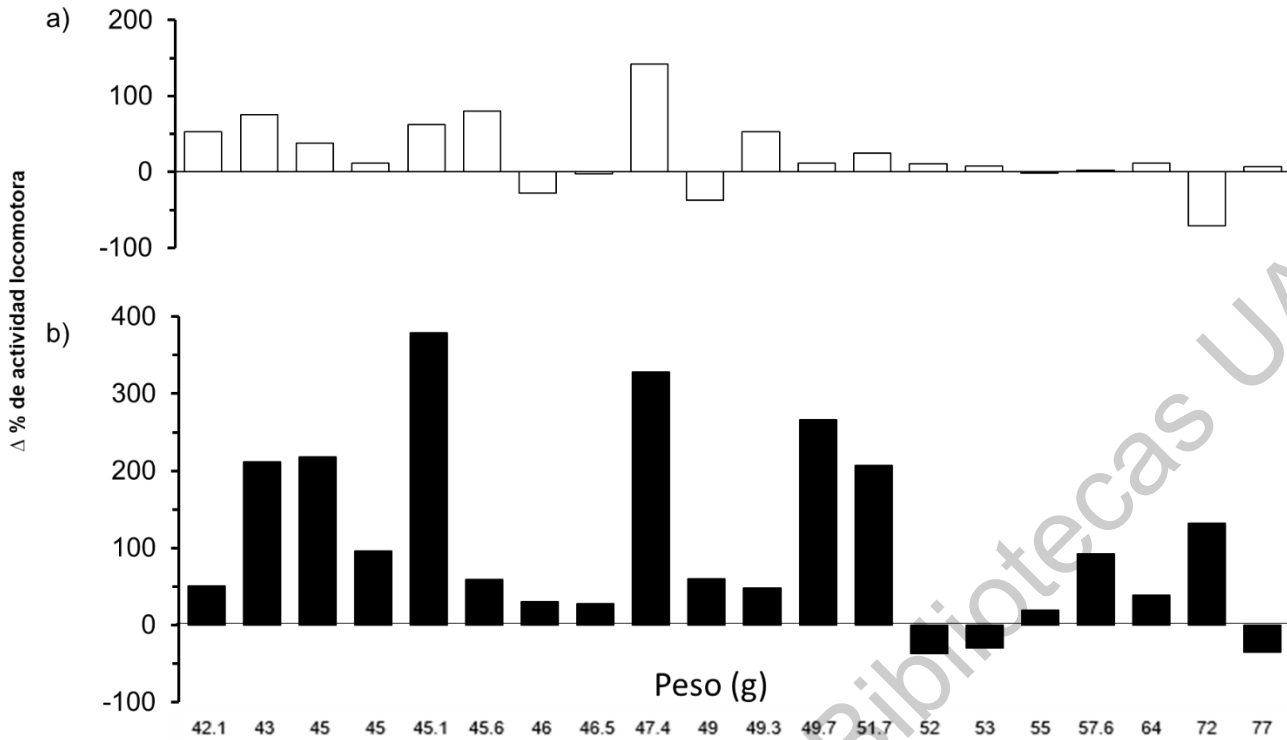


Figura 10. Actividad porcentual de cada individuo. Se muestra la diferencia porcentual del movimiento que presentó cada uno de los individuos sometidos al experimento durante los pulsos de día (a) barras blancas, y de noche (b) barras oscuras, en relación con el peso corporal (abcisas).

Durante los pulsos fríos programados al mediodía (Figura 10a, barras blancas) se observó que la mayoría de los individuos delgados entre los 42 y los 50 g mostraron un incremento en la actividad locomotora, sin embargo, la proporción del cambio entre individuos fue variable. Solo un par de animales tuvieron una caída en la amplitud. En los ratones obesos, la mayor parte de los animales mostraron cambios muy ligeros de actividad a partir de los 52g de peso. En cambio, durante la noche (Figura 10b, barras negras) fue más claro el aumento de actividad (en algunos casos

arriba del 200%). Nuevamente la magnitud del cambio fue menor en ratones obesos.

7.3 Histología de glándula tiroidea y conteo de folículos tiroideos

El tejido tiroideo está compuesto por una vasta cantidad de vesículas, donde se reconocen diferentes estructuras con funciones específicas. La Figura 11 muestra a dos distintos aumentos, dos ejemplos representativos de tejido tiroideo de un ratón delgado (fotos superiores) y un ratón obeso (fotos inferiores). Se distinguen las células parafoliculares o células C (Figura 11 A), que secretan la hormona calcitonina, su forma es voluminosa, con núcleo ovoide y citoplasma claro; y los folículos (células activas) caracterizadas por poseer un núcleo esférico con uno o más nucléolos prominentes, que sintetizan la hormona T4 y T3. En los folículos se pueden reconocer algunas estructuras, tales como la membrana basal y las células foliculares (Figura 11 C y D) las últimas, de aspecto quístico esférico, dispuestas en una sola capa, no obstante, en las fotografías no se distingue el coloide (Figura 11 B) posiblemente como consecuencia del procesamiento del tejido para los cortes y tinte. En las laminillas procesadas los individuos obesos parecen mostrar una mayor cantidad de folículos (Figura 11; 1), mientras que los delgados podrían mostrar una mayor cantidad de células parafoliculares (Figura 11; 3).

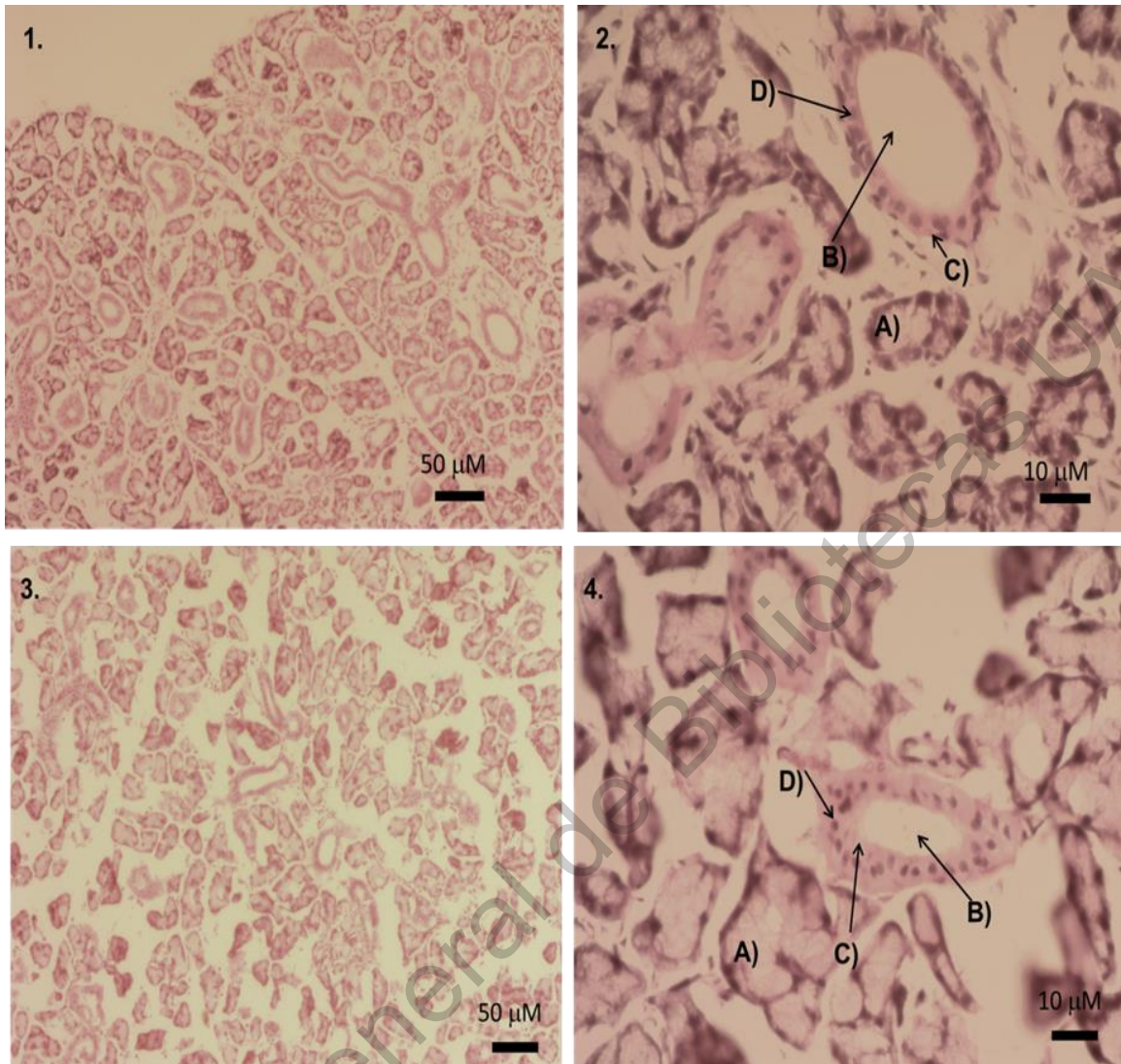


Figura 11. Histología de glándula tiroides (hematoxilina/eosina) a dos distintos aumentos. Arriba, obtenido de un ratón delgado y debajo de un obeso. Se reconocen en las aumentadas: A) células parafoliculares B) coloide folicular, C) membrana basal, D) células foliculares.

La cantidad de folículos tiroideos presenta diferencias significativas en ambos grupos, en obesos ($\bar{x} = 28.25$), mientras que en delgados el promedio fue ($\bar{x} = 45.25$) (Figura 12). Área estimada $45,000 \mu^2$

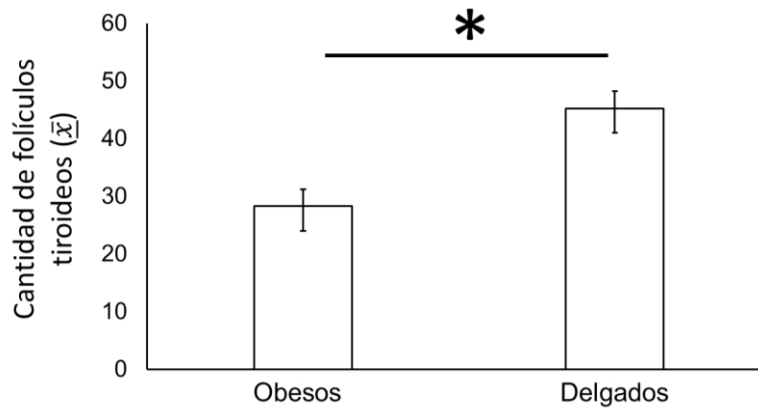


Figura 12. Cantidad de folículos tiroideos en obesos y delgados. Se presentan diferencias significativas entre los promedios de células foliculares tiroideas de ambos grupos (diferencias * $P < 0.05$, T de Student).

7.4 Hormona T4 circulante

La concentración plasmática de hormona T4 de seis organismos representativos se muestra en la Figura 13. Entre los delgados solo 1 ratón tuvo concentración por arriba de $1.8 \mu\text{g/dL}$, y los tres obesos tuvieron concentraciones de $1.8 \mu\text{g/dL}$ o más, por lo que, aunque no existen diferencias significativas, hay tendencia a una concentración de T4 más alta en los individuos obesos.

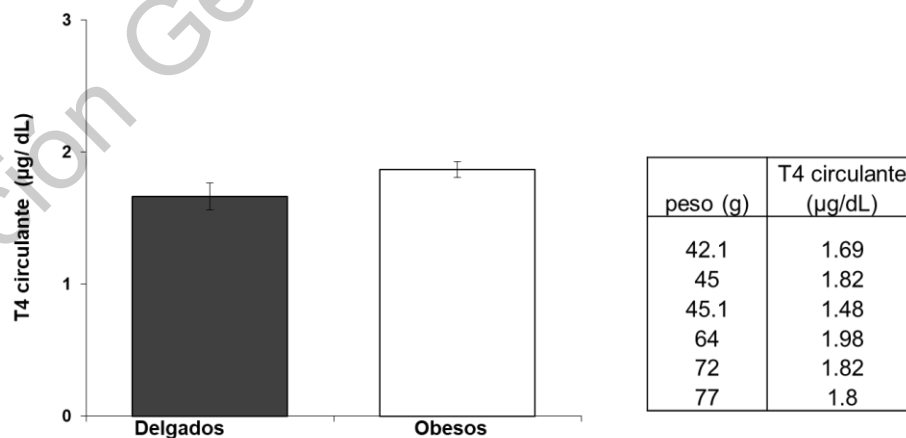


Figura 13. Comparación de hormona T4 circulante en seis ratones correspondientes al grupo de delgados y obesos. No se detectaron diferencias significativas (prueba T de Student).

VIII DISCUSIÓN

En temperatura ambiental estable (18-23°C), las fluctuaciones de actividad dependen principalmente de la regulación circadiana en combinación con los ciclos de luz- oscuridad, siendo los individuos delgados los que tienen mayor amplitud promedio; sin embargo, durante el día los ratones obesos presentaron más actividad que los delgados (Miranda-Anaya, 2018; Figura 7).

Durante los pulsos fríos, los individuos delgados presentan un aumento porcentual de actividad locomotora respecto a los obesos, en especial en los pulsos de frío durante la noche (Figura 8 y 11). Estas diferencias se explican a que, ante el frío, los animales delgados se mueven más que los obesos para, posiblemente, producir más calor. Sin embargo, la diferencia porcentual estimada es menor en los obesos, por lo que no solo es el cambio neto de los niveles de actividad sino también la variación relativa a los valores de referencia. Lo anterior indica que el frío induce en los animales obesos una respuesta conductual atenuada para compensar la producción de calor.

La homeotermia es una característica asociada particularmente de los mamíferos y aves e implica la capacidad de generar y mantener calor a partir de reacciones metabólicas y se complementa con cambios conductuales. Existen dos tipos de termorregulación, tal como la termogénesis facultativa y no facultativa. La termogénesis por actividad motora o tiritante, se basa en el movimiento muscular, ya sea tiritante o locomotor para mantener la temperatura basal del cuerpo

(Chouchani *et al.*, 2018). La termogénesis facultativa o no tiritante consiste en la generación metabólica de calor para el mantenimiento de la temperatura corporal después de que los individuos han sido expuestos a temperaturas frías e incrementa el gasto de energía después del forrajeo (acción dinámica específica). En roedores, el sitio más importante de esta termogénesis es el Tejido Adiposo Pardo (Cannon y Nedergaad, 2004). Para aumentar la temperatura corporal por termogénesis no tiritante son necesarios tanto la regulación del Sistema Nervioso Simpático (SNS) como las HT (Silva y Rabelo, 1997), además se ha descrito que la inhibición de la D2 en ratones sin estrés térmico desarrolla obesidad, intolerancia a la glucosa y esteatosis hepática. La inhibición de D2 puede causar también el desarrollo de hipotermia, y el constante tiriteo para mantener la temperatura corporal, mientras que aquellos expuestos a bajas temperaturas oxidan grasa (Castillo, 2011). Es posible que en los ratones obesos *N. alstoni* exista una combinación de deficiencias en la regulación neural y endócrina que median la baja actividad y la posible baja influencia tiroidea.

Los ritmos endócrinos y metabólicos se basan en un reloj circadiano, donde hay ciclos de diferentes reacciones y conductas en periodos de 24 h (Aschoff, 1965). En *N. alstoni* se tienen bien documentados los periodos de actividad y el promedio de la cantidad de movimiento realizado de acuerdo con sus ritmos circadianos. Los individuos delgados, ante un pulso de frío, presentaron mayor actividad durante la noche que la que mostraron los animales obesos, y los obesos presentaron porcentajes de actividad significativamente menores, sobre todo en la noche (Figura 11). De particular interés es que la magnitud del cambio en la actividad fue menor

durante el día que durante la noche para el mismo individuo, lo que hace suponer que en parte sea debido a la respuesta en la secreción de hormonas tiroideas y su regulación circadiana. En los ratones delgados, el cambio en la intensidad de la actividad llegó a duplicarse o triplicarse respecto a la presente durante el día, mientras que en los obesos se llegó a ver una reducción respecto a los valores de referencia. Ello permite suponer que la regulación circadiana de la función tiroidea también está reducida en ratones obesos.

En un estudio en curso (Herrera-García et al; 2019) se muestra que el metabolismo de los ratones *N. alstoni*, evaluado mediante la cantidad de O₂ consumido, la producción de CO₂, kilocalorías gastadas y coeficiente respiratorio, los ratones obesos presentan valores menores a los delgados, siendo más evidente la diferencia en el consumo de oxígeno y el coeficiente respiratorio. Además, se han hecho registros de la temperatura corporal en cámara de ambiente controlado, aplicando los pulsos fríos, y se observa nuevamente que la temperatura corporal de algunos ratones obesos es menor a la de los delgados, y la termorregulación ante el frío es deficiente.

Los cambios conductuales observados en el presente experimento se ven directamente relacionados a las diferencias metabólicas y la temperatura corporal de los individuos, lo cual podría explicar la poca actividad de los obesos, relacionados a una tasa metabólica de menor rendimiento y consumo energético principalmente de carbohidratos, presentando una termorregulación adaptativa facultativa no tiritante, ya que usan sus reservas de tejido adiposo para sobrellevar el estrés térmico, moviéndose poco. No obstante, se ha detectado que existe menor

cantidad de proteínas desacoplantes en el tejido adiposo pardo (UCP1) de ratones obesos (Mullur, 2014).

En el estudio de las hormonas tiroideas de *Neotomodon alstoni* se buscó el análisis de la cantidad de T4 circulante, debido a que es la base para la forma activa, de haber un déficit en la producción de T4 se infiere uno igual en T3. Desafortunadamente el análisis del contenido de T3 no fue posible hacerlo debido a la baja cantidad de plasma obtenido. Los resultados indican que en los ratones delgados la prevalencia es menor cantidad de hormona que en los obesos, contrario a una obesidad asociada a hipotiroidismo, en la que se esperaría menor cantidad de T4. Es posible entonces que exista un déficit en la síntesis de T3, la forma activa para notar si el estado de obesidad en *Netomodon* está asociada a una disfunción tiroidea. Sin embargo, se podría analizar el perfil tiroideo completo; evaluando T3, TSH y TRH en la sangre y en particular en muestras al final de las dos horas del pulso de frío. En este estudio se hizo la colecta de sangre una semana después de la recuperación al protocolo, por lo que los niveles de T4 se consideran basales en la fase de reposo del animal.

Un estudio más amplio sobre el perfil tiroideo ayudaría a entender también el inicio de otros desórdenes metabólicos y si son causados en principio por un desbalance hormonal tiroideo. La comparación del perfil hormonal completo en el control y después del experimento serviría como rastreador para encontrar desde dónde empieza el desorden tiroideo, sea desde la síntesis de TRH y TSH o T3 y T4, donde podría estar implicado un error dentro de los receptores para la correcta señalización de las hormonas.

Finalmente, la apariencia del tejido tiroideo muestra algunas diferencias entre ambos grupos (figura 12). Los obesos poseen menos folículos tiroideos, no obstante, el nivel circulante de T4 es más alto. En cuanto al grupo de los obesos, debido a su condición fisiológica, los folículos podrían forzar la producción de T4, generando mayor cantidad, mientras que los delgados, al existir mayor cantidad de folículos no se ve forzada la generación de T4. Es posible, además, que los niveles de T3 en obesos sean menores a los de los delgados, lo cual se podría ver relacionado con un mal funcionamiento de la enzima D2, que está directamente relacionada con la conversión de T4 a T3 (Castillo, 2011).

IX CONCLUSIONES

El presente trabajo demuestra:

- 1) Los cambios en la magnitud de la actividad locomotora inducidos por el frío son distintos en función de la hora del día.
- 2) La condición de obesidad afecta la capacidad de los animales de lograr estos cambios.
- 3) Hay diferencias notables en la histología, posiblemente relacionadas a las condiciones de los individuos.

Perspectivas.

Es importante continuar la investigación en torno a la influencia que tienen las hormonas tiroideas en la condición de obesidad, pues existe una tendencia que sugiere una posible diferencia, posiblemente en la activación de la T3. Lo anterior con la finalidad de determinar si esta condición forma parte del cuadro de desorganización fisiológica que se presenta en la condición de obesidad en esta especie.

X ANEXO



FACULTAD DE CIENCIAS

Facultad de Ciencias, UNAM
Cto. Exterior s/n, C.U., 04510
Ciudad de México, CDMX

Folio: T_2019_02_032

Nombre de la comisión: Comisión de Ética y Responsabilidad Científica de la Facultad de Ciencias

Nombre del autor del protocolo: Teresa de la Vega García

Título del proyecto: Función tiroidea de ratones obesos y delgados de *Neotomodon alstoni* y su relación con los patrones de motilidad a distintas temperaturas.

Fecha de recepción: 27 de junio de 2019

Nombre de la institución y sede de la aplicación del protocolo: UMDI, Juriquilla, Facultad de Ciencias, UNAM

Estimado Dr. Manuel Miranda Anaya

El subcomité de Bioética de la Comisión de Ética y Responsabilidad Científica de la Facultad de Ciencias revisó el protocolo arriba mencionado.

El comité resolvió que tanto la metodología como los procedimientos de la investigación cumplen con los lineamientos bioéticos relacionados con el uso y manejo de animales de laboratorio.

Los miembros del comité dan un dictamen favorable sobre la investigación y las formas de aplicación de los procedimientos.

Dictamen: APROBADO

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA, HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cd. Universitaria, CDMX, a 6 de septiembre de 2019

Dr. Ricardo Noguera Solano

Coordinador de la Comisión de Ética Académica y Responsabilidad Científica de la Facultad de Ciencias, UNAM

cearc@ciencias.unam.mx



CEARC
Comisión de Ética Académica
y Responsabilidad Científica
FC - UNAM



XI LITERATURA CITADA

Adams, P. M., Stein, S. A., Palnitkar, M., Anthony, A., Gerrity, L., & Shanklin, D. R. (1989). Evaluation and characterization of the hypothyroid hyt/hyt mouse I: Somatic and behavioral studies. *Neuroendocrinology*, 49(2), 138-143.

Álvarez-Castañeda, S.T. & Castro-Arellano, I. (2016). *Neotomodon alstoni*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T14600A22345400. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T14600A22345400.en>. Downloaded on 25 August 2018.

Arrangoiz, R., Cordera, F., Caba, D., Muñoz, M., Moreno, E., & de León, E. L. (2018). Comprehensive Review of Thyroid Embryology, Anatomy, Histology, and Physiology for Surgeons. *International Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*, 7(04), 160.

Aschoff, J. (1965). Circadian rhythms in man. *Science*, 148(3676), 1427-1432.

Ausó, E., Lavado-Autric, R., Cuevas, E., del Rey, F. E., Morreale de Escobar, G., & Berbel, P. (2004). A moderate and transient deficiency of maternal thyroid function at the beginning of fetal neocortigenesis alters neuronal migration. *Endocrinology*, 145(9), 4037-4047.

Bailey, S. M., Udoh, U. S., & Young, M. E. (2014). Circadian regulation of metabolism. *Journal of Endocrinology*, 222(2), R75-R96.

Bass, R., & Eneli, I. (2015). Severe childhood obesity: an under-recognised and growing health problem. *Postgraduate medical journal*, 91(1081), 639-645.

Berne, R. M., Levy, M. N., & Ochoa, E. L. (1987). *Fisiología*. Panamericana.

Biondi, B. (2010). Thyroid and obesity: an intriguing relationship. Carmona-Alcocer, V., Fuentes-Granados, C., Carmona-Castro, A., Aguilar-González, I., Cárdenas-Vázquez, R., & Miranda-Anaya, M. (2012). Obesity alters circadian behavior and metabolism in sex dependent manner in the volcano mouse *Neotomodon alstoni*. *Physiology & behavior*, 105(3), 727-733.

Cannon, B., & Nedergaard, J. A. N. (2004). Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiological reviews*, 84(1), 277-359.

Chávez, Catalina, B. 2005. *Ratón de los volcanes*. *Neotomodon alstoni*. En: *Los mamíferos silvestres de México*. Gerardo Ceballos y Gisselle Oliva (Coordinadores). Fondo de Cultura Económica. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.

Chouchani, E. T., Kazak, L., & Spiegelman, B. M. (2018). New advances in adaptive thermogenesis: UCP1 and beyond. *Cell metabolism*.

Carmona-Alcocer, V., Fuentes-Granados, C., Carmona-Castro, A., Aguilar-González, I., Cárdenas-Vázquez, R., & Miranda-Anaya, M. (2012). Obesity alters circadian behavior

and metabolism in sex dependent manner in the volcano mouse *Neotomodon alstoni*. *Physiology & behavior*, 105(3), 727-733.

Cornejo, R., Jaramillo, R., Garrido, O., & Vergara, L. (2017). Tejido Tiroideo y Láser Infrarrojo: Un Estudio Morfométrico. *International Journal of Morphology*, 35(3), 1091-1094.

Castillo, M., Hall, J. A., Correa-Medina, M., Ueta, C., Kang, H. W., Cohen, D. E., & Bianco, A. C. (2011). Disruption of thyroid hormone activation in type 2 deiodinase knockout mice causes obesity with glucose intolerance and liver steatosis only at thermoneutrality. *Diabetes*, 60(4), 1082-1089.

Duntas LH, Biondi B. The interconnections between obesity, thyroid function, and autoimmunity: the multifold role of leptin. *Thyroid* 2013;23(6):646–53.

Forrest, D. (2004). The developing brain and maternal thyroid hormone: finding the links. *Endocrinology*, 145(9), 4034-4036.

Gary, K. A., Winokur, A., Douglas, S. D., Kapoor, S., Zaugg, L., & Dinges, D. F. (1996). Total sleep deprivation and the thyroid axis: effects of sleep and waking activity. *Aviation, space, and environmental medicine*, 67(6), 513-519.

Ghamari-Langroudi, M., Vella, K. R., Srisai, D., Sugrue, M. L., Hollenberg, A. N., & Cone, R. D. (2010). Regulation of thyrotropin-releasing hormone-expressing neurons in paraventricular nucleus of the hypothalamus by signals of adiposity. *Molecular Endocrinology*, 24(12), 2366-2381.

Goldey, E. S., Kehn, L. S., Lau, C., Rehnberg, G. L., & Crofton, K. M. (1995). Developmental exposure to polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) reduces circulating thyroid hormone concentrations and causes hearing deficits in rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 135(1), 77-88.

Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2002). *Manual de fisiología médica*. McGraw-Hill Interamericana.

Hak, A. E., Pols, H. A., Visser, T. J., Drexhage, H. A., Hofman, A., & Witteman, J. C. (2000). Subclinical hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: the Rotterdam Study. *Annals of internal medicine*, 132(4), 270-278.

Hall, J. E. (2017). *Guyton E Hall Tratado De Fisiología Médica*. Elsevier Brasil.

Horwitz, B. A. (1979, July). Cellular events underlying catecholamine-induced thermogenesis: cation transport in brown adipocytes. In *Federation proceedings* (Vol. 38, No. 8, pp. 2170-2176).

Jonas, W., Lietzow, J., Wohlgemuth, F., Hoefig, C. S., Wiedmer, P., Schweizer, U., ... & Schürmann, A. (2015). 3, 5-Diiodo-L-thyronine (3, 5-T2) exerts thyromimetic effects on hypothalamus-pituitary-thyroid axis, body composition, and energy metabolism in male diet-induced obese mice. *Endocrinology*, 156(1), 389-399.

- Joosten, H. F., & van der Kroon, P. H. (1974). Role of the thyroid in the development of the obese-hyperglycemic syndrome in mice (obob). *Metabolism*, 23(5), 425-436.
- Kiehn, J. T., Tsang, A. H., Heyde, I., Leinweber, B., Kolbe, I., Leliavski, A., & Oster, H. (2011). Circadian rhythms in adipose tissue physiology. *Comprehensive Physiology*, 7(2), 383-427.
- Kulikov, A., Torr sani, J., & Jeanningros, R. (1997). Experimental hypothyroidism increases immobility in rats in the forced swim paradigm. *Neuroscience letters*, 234(2-3), 111-114.
- López-Ridaura R. Metodología y validez del cuestionario de frecuencia de consumo utilizado en la ENSANUT 2012 de México. Salud Pública M x 2016;58:6. Disponible en: <https://ensanut.insp.mx/ensanut2016/index.php>
- Luna-Moreno, D., Pérez-Mendoza, M., Carmona-Castro, A., & Miranda-Anaya, M. (2018). Daily profile in ghrelin and hypothalamic ghrelin receptors in obese and lean mice *Neotomodon alstoni*. *Biological rhythm research*, 49(4), 515-520.
- Menendez, C., Baldelli, R., Camina, J. P., Escudero, B., Peino, R., Dieguez, C., & Casanueva, F. F. (2003). TSH stimulates leptin secretion by a direct effect on adipocytes. *Journal of Endocrinology*, 176(1), 7-12.
- Michalaki, M. A., Vagenakis, A. G., Leonardou, A. S., Argentou, M. N., Habeos, I. G., Makri, M. G., ... & Kyriazopoulou, V. E. (2006). Thyroid function in humans with morbid obesity. *Thyroid*, 16(1), 73-78.
- Miranda-Anaya, M., Pérez-Mendoza, M., Juárez-Tapia, C. R., & Carmona-Castro, A. (2019). The volcano mouse *Neotomodon alstoni* of central Mexico, a biological model in the study of breeding, obesity and circadian rhythms. *General and comparative endocrinology*, 273, 61-66.
- Miyamoto, Y., & Sancar, A. (1998). Vitamin B2-based blue-light photoreceptors in the retinohypothalamic tract as the photoactive pigments for setting the circadian clock in mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(11), 6097-6102.
- Mullur, R., Liu, Y. Y., & Brent, G. A. (2014). Thyroid hormone regulation of metabolism. *Physiological reviews*, 94(2), 355-382.
- Musser, G.G. and Carleton, M.D. (2005). Superfamily Muroidea. In: D.E. Wilson and D.A. Reeder (eds), *Mammal Species of the World: a geographic and taxonomic reference*, pp. 894-1531. The John Hopkins University Press, Baltimore, USA.
- Oppenheimer, J. H., & Schwartz, H. L. (1997). Molecular basis of thyroid hormone-dependent brain development. *Endocrine reviews*, 18(4), 462-475.
- Ohtake, M., Bray, G. A., & Azukizawa, M. (1977). Studies on hypothermia and thyroid function in the obese (ob/ob) mouse. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 233(3), R110-R115.
- Pan, X., & Hussain, M. M. (2009). Clock is important for food and circadian regulation of macronutrient absorption in mice. *Journal of lipid research*, 50(9), 1800-1813.
- Pérez-Mendoza, M., Luna-Moreno, D., Carmona-Castro, A., Rodríguez-Guadarrama, H. A., Montoya-G mez, L. M., Díaz-Muñoz, M., & Miranda-Anaya, M. (2017). *Neotomodon*

- alstoni mice present sex differences between lean and obese in daily hypothalamic leptin signaling. *Chronobiology international*, 34(7), 956-966.
- Pi-Sunyer X. (2009). The medical risks of obesity. *Postgraduate medicine*. 121(6):21–33.
- Prange Jr, A. J., Lara, P. P., Wilson, I. C., Alltop, L. B., & Breese, G. R. (1972). Effects of thyrotropin-releasing hormone in depression. *The Lancet*, 300(7785), 999-1002.
- Preitner, N., Damiola, F., Zakany, J., Duboule, D., Albrecht, U., & Schibler, U. (2002). The orphan nuclear receptor REV-ERB α controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell*, 110(2), 251-260.
- Reinehr, T. (2010). Obesity and thyroid function. *Molecular and cellular endocrinology*, 316(2), 165-171.
- Rose, A. J., & Richter, E. A. (2005). Skeletal muscle glucose uptake during exercise: how is it regulated?. *Physiology*, 20(4), 260-270.
- Sala-Roca, J., Martí-Carbonell, M. A., Garau, A., Darbra, S., & Balada, F. (2002). Effects of dysthyroidism in plus maze and social interaction tests. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 72(3), 643-650.
- Salazar, L., & Moreno, F. (2017). Comparación de tres tipos de tinciones histoquímicas en secciones histológicas de paladar y lengua de rata Wistar. *Salutem Scientia Spiritus*, 2(2).
- Silva, J. E., & Rabelo, R. (1997). Regulation of the uncoupling protein gene expression. *European Journal of Endocrinology*, 136(3), 251-264.
- Soto, J. R., & Verbeke, B. S. M. (2015). Disfunción tiroidea y corazón. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 26(2), 186-197.
- Swanson, G., Forsyth, C. B., Tang, Y., Shaikh, M., Zhang, L., Turek, F. W., & Keshavarzian, A. (2011). Role of intestinal circadian genes in alcohol-induced gut leakiness. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 35(7), 1305-1314.
- Trayhurn, P. (2017). Origins and early development of the concept that brown adipose tissue thermogenesis is linked to energy balance and obesity. *Biochimie*, 134, 62-70.
- Van Boxtel, M. P. J., Menheere, P. P. C. A., Bekers, O., Hogervorst, E., & Jolles, J. (2004). Thyroid function, depressed mood, and cognitive performance in older individuals: the Maastricht Aging Study. *Psychoneuroendocrinology*, 29(7), 891-898.
- Versloot, P. M., Van Der Heide, D., Schroder-Van Der Elst, J. P., & Boogerd, L. (1998). Maternal thyroxine and 3, 5, 3'-tri-iodothyronine kinetics in near-term pregnant rats at two different levels of hypothyroidism. *European journal of endocrinology*, 138(1), 113-119.
- Wilcoxon, J. S., Nadolski, G. J., Samarut, J., Chassande, O., & Redei, E. E. (2007). Behavioral inhibition and impaired spatial learning and memory in hypothyroid mice lacking thyroid hormone receptor α . *Behavioural brain research*, 177(1), 109-116.
- Williams, S. L., Ramírez-Pulido, J., & Baker, R. J. (1985). *Peromyscus alstoni*. *Mammalian species*, (242), 1-4

Wirth, E. K., Roth, S., Blechschmidt, C., Hölter, S. M., Becker, L., Racz, I., ... & Wurst, W. (2009). Neuronal 3', 3, 5-triiodothyronine (T3) uptake and behavioral phenotype of mice deficient in Mct8, the neuronal T3 transporter mutated in Allan–Herndon–Dudley syndrome. *Journal of Neuroscience*, 29(30), 9439-9449.

Withrow, D., & Alter, D. A. (2011). The economic burden of obesity worldwide: a systematic review of the direct costs of obesity. *Obesity reviews*, 12(2), 131-141.

Xia, S. F., Duan, X. M., Hao, L. Y., Li, L. T., Cheng, X. R., Xie, Z. X., ... & Le, G. W. (2015). Role of thyroid hormone homeostasis in obesity-prone and obesity-resistant mice fed a high-fat diet. *Metabolism*, 64(5), 566-579.

Young, J. B., Saville, E., Rothwell, N. J., Stock, M. J., & Landsberg, L. (1982). Effect of diet and cold exposure on norepinephrine turnover in brown adipose tissue of the rat. *The Journal of clinical investigation*, 69(5), 1061-1071.

Dirección General de Bibliotecas UNQ