

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“ONTOGENIA DE LOS COMPONENTES DE LA
SEÑALIZACIÓN TIROIDEA DURANTE EL DESARROLLO DE
LA RETINA DEL PEZ CEBRA (*Danio rerio*)”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

MARÍA FERNANDA MALDONADO LIRA

DIRIGIDA POR

Dra. ANGELINA RODRÍGUEZ TORRES

CODIRIGIDA POR

Dr. IVÁN LAZCANO SÁNCHEZ

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2025.

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“ONTOGENIA DE LOS COMPONENTES DE LA
SEÑALIZACIÓN TIROIDEA DURANTE EL DESARROLLO DE
LA RETINA DEL PEZ CEBRA (*Danio rerio*)”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO EN BIOECNOLOGÍA

PRESENTA

MARÍA FERNANDA MALDONADO LIRA

DIRIGIDA POR

Dra. ANGELINA RODRÍGUEZ TORRES

CODIRIGIDA POR

Dr. IVÁN LAZCANO SÁNCHEZ

SINODALES

Dra. ANGELINA RODRÍGUEZ TORRES
DIRECTORA

Dr. IVÁN LAZCANO SÁNCHEZ
CODIRECTOR

Dr. SANTIAGO MARTÍN PECH POOL
SINODAL

Dra. LAURA CRISTINA BERUMEN SEGURA
SINODAL

Dra. ANA GABRIELA HERNÁNDEZ PUGA
SINODAL

*A la persona más importante en mi vida,
mi mamá.*

AGRADECIMIENTOS

La culminación de este trabajo es también el final de una de las etapas más importantes de mi vida que no hubiera sido posible sin el apoyo mi familia, mis amigos, mis profesores y asesores.

Quiero agradecer al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) IN206724 y IN210823, cuyos donativos fueron para la realización de este proyecto. A la comunidad del INB, a Erika A. de los Ríos, Nydia Hernández Ríos y a Adriana González Gallardo por su apoyo técnico, y quienes me recordaron que la ciencia no es individualista sino el conjunto de esfuerzos colectivos. Al laboratorio D03 de Receptores Nucleares y Neurobiología donde realicé este trabajo. A Samuel, David e Isela por hacerme sentir parte del grupo y brindarme un espacio seguro dentro y fuera del laboratorio. A la Dra. Aurea Orozco por abrirme las puertas del laboratorio. Y especialmente al Dr. Iván Lazcano Sánchez y al Dr. Santiago Martín Pech Pool, que fueron más que la directriz de este proyecto, fueron mis mentores, un referente invaluable de que la ciencia debe hacerse con cariño y entusiasmo, y quienes me recordaron que siempre debemos sentirnos orgullosos de nuestro lugar de origen.

Agradezco al resto de las integrantes de mi sínodo, comenzando por mi directora de tesis, la Dra. Angelina Rodríguez Torres por creer en mí, por su interés en mi salud mental y por su acompañamiento, incluso en la distancia. A la Dra. Laura Cristina Berumen Segura por su constante preocupación y asistencia, por siempre desbordar y contagiarnos de su afabilidad. A la Dra. Ana Gabriela Hernández Puga, por ser cómplice de este proyecto y con quien fue muy grato volver a coincidir gracias a un

mismo laboratorio. Gracias a las tres por ser increíbles docentes, inspirarme con su conocimiento en cada clase y ser un referente de que las mujeres en la ciencia somos importantes.

Gracias a la Universidad Autónoma de Querétaro y a la Facultad de Química por brindarme las herramientas para crecer como profesionista y haber dado los mejores años de mi vida estudiantil. Estoy agradecida con todos y cada uno de mis profesores a lo largo de mi vida, de quienes llevo un pedacito invaluable de sus conocimientos y dedicación. En particular al Dr. Sergio de Jesús Romero Gómez, por la mejor clase de empoderamiento femenino con fundamentos genéticos, por confiar en mí y hacerme sentir suficiente dentro del ámbito científico. Y, sobre todo, por recordarme que no se me está haciendo tarde en la vida, aunque a veces se sienta así.

A las familias Martínez Ledesma, Pérez Maldonado y Borges García, por hacerme sentir como en casa y brindarme un espacio en sus hogares, cuando el mío estaba a más de 300 kilómetros.

A Dante, mi confidente y quien se convertiría en más que mi mejor amigo de la carrera. Gracias por apoyarme en todo momento y por ser una luz en medio del abismo del que constantemente no sabía cómo salir.

A mis amigos: Grecia, Edwin, Katy y Alejandro. Por animarme a seguir con este proyecto y estar cuando más necesitaba una palabra de aliento o simplemente alguien que me escuchara.

Y lo más importante, a mi familia. Empezando por mi hermanita Alondra que me enseñó a volver a maravillarme de la vida y que nunca voy a tener suficientes respuestas para sus “porqués”. Y, especialmente, a mi mamá, Susana Lira Tovar, de

quien no solo heredé el apellido y su ADN mitocondrial, sino también su sensibilidad.

Gracias por haberme criado con tanto amor y paciencia, por celebrar mis logros como si fueran tuyos, porque también lo son. Por ser la mujer más fuerte, valiente y resiliente que conozco, a quien admiraré y estaré agradecida el resto de mi vida.

Por último, a Fer chiquita, aquella que creció entre árboles frondosos que albergaban escondites, entre imágenes de parvadas al atardecer, y el traqueteo de los trenes que, junto con los abrazos de mamá, eran sinónimo de hogar.

¡Lo logramos!

ÍNDICE GENERAL

| Contenido | Página |
|--|--------|
| ÍNDICE GENERAL | i |
| ÍNDICE DE CUADROS | iii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | iv |
| RESUMEN | |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1. ANTECEDENTES | 3 |
| 1.1 Estructura de la glándula tiroides | 3 |
| 1.1.1 Hormonas tiroideas (HTs) | 5 |
| 1.1.2 Aspectos generales del transporte de las HTs | 7 |
| 1.1.3 Activación e inactivación de las HTs | 9 |
| 1.1.4 Acción de las HTs | 11 |
| 1.2 El sistema visual | 17 |
| 1.2.1 La retina | 18 |
| 1.2.2 Los fotorreceptores | 20 |
| 1.3 HTs y desarrollo de la retina | 23 |
| 1.3.1 Papel de los TR en la diferenciación de los conos | 23 |
| 1.4 El pez cebra como modelo de estudio de la retina | 24 |
| 1.4.1 Papel de los componentes de la señalización tiroidea en el desarrollo de la retina del pez cebra | 26 |
| 1.5 Manipulaciones del estatus tiroideo en modelos animales | 27 |
| 2. HIPÓTESIS | 30 |
| 3. OBJETIVOS | 31 |
| 3.1 General | 31 |
| 3.2 Específicos | 31 |
| 4. METODOLOGÍA | 32 |
| 4.1 Materiales | 32 |
| 4.1.1 Nomenclatura | 32 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.1.2 | Animales | 32 |
| 4.1.3 | Reactivos | 33 |
| 4.1.4 | Equipos | 34 |
| 4.2 | Métodos | 34 |
| 4.2.1 | Inducción de estados hipo e hipertiroideos | 34 |
| 4.2.2 | Histología | 34 |
| 4.2.3 | Análisis conductual | 35 |
| 4.2.4 | Disección de retinas | 35 |
| 4.2.5 | Extracción de ARN | 36 |
| 4.2.6 | RT-PCR | 37 |
| 4.2.7 | qPCR | 37 |
| 4.2.8 | Análisis estadístico | 39 |
| 4.2.9 | Manejo de residuos | 39 |
| 5. | RESULTADOS | 40 |
| 5.1 | Ontogenia de los componentes de la señalización tiroidea en la retina del pez cebra | 40 |
| 5.2 | Efectos del tratamiento farmacológico con T3 o IOP en la expresión génica de los componentes de la señalización tiroidea | 42 |
| 5.3 | Efectos del tratamiento farmacológico con T3 o IOP sobre la morfología de las capas de la retina | 44 |
| 5.4 | Efectos del tratamiento farmacológico con T3 o IOP en la preferencia de color | 47 |
| 6. | DISCUSIÓN | 49 |
| 7. | CONCLUSIÓN | 57 |
| | BIBLIOGRAFÍA | 58 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro | Página |
|--|--------|
| 1. Genes regulados transcripcionalmente por T3 en células cerebrocorticales primarias. | 13 |
| 2. Regulación de genes mediada por la acción de las HTs. | 17 |
| 3. Función de los fotorreceptores. | 20 |
| 4. Oligonucleótidos para qPCR. | 38 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | Página |
|--|--------|
| 1. Anatomía de los folículos tiroideos. | 4 |
| 2. El eje HPT y su autorregulación mediante la secreción de HTs. | 5 |
| 3. La desyodinación de hormonas tiroideas mediada por DIO1, DIO2 y DIO3. | 11 |
| 4. Diagrama de la retina de los vertebrados. | 19 |
| 5. Diagrama de la sensibilidad de la visión y los fotorreceptores a longitudes de onda de luz diferentes. | 22 |
| 6. Expresión relativa de ARNm de desyodasas, transportadores y receptores de HT durante el desarrollo del pez cebra. | 42 |
| 7. Regulación de la expresión génica mediada por T3 exógena o IOP. | 44 |
| 8. Morfología de las capas de la retina del pez cebra después de los tratamientos con T3 o IOP. | 46 |
| 9. Prueba de preferencia de color en un laberinto de cruz de colores. | 48 |

RESUMEN

La retina es un órgano fundamental del sistema visual en los vertebrados, ya que alberga los fotorreceptores (conos y bastones), cuya función principal es convertir la luz en señales eléctricas interpretadas por el cerebro. Un desarrollo deficiente de los fotorreceptores puede causar visión anormal e incluso ceguera. Las hormonas tiroideas (HTs) son esenciales para el desarrollo de distintas células y tejidos, como la retina, regulando la especificación de conos y la expresión de opsinas. Las HTs se sintetizan en la tiroides principalmente como tiroxina (T4), la T4 entra al torrente sanguíneo donde se convierte en triyodotironina (T3) mediada por la enzima desyodasa 2 (DIO2). La T3 se une a los receptores tiroideos nucleares (TRs) que pueden modular la transcripción génica. Sin embargo, la regulación de la expresión temporal de estos componentes de la señalización tiroidea en el desarrollo la retina no ha sido explorada de manera integral. Este estudio tuvo como objetivo investigar la regulación de estos componentes durante el desarrollo de la retina en larvas de pez cebra, tanto en condiciones control como tras manipulaciones farmacológicas con ácido iopanoico (IOP, 5 μ M) para inducir un estado hipotiroideo y triyodotironina (T3, 0.025 nM) para generar un estado hipertiroideo. Asimismo, se analizaron los efectos fisiológicos de estas manipulaciones mediante un análisis morfológico de las capas de la retina y un ensayo conductual de preferencia de colores. Se observó una regulación coordinada en la expresión de todos los genes analizados, con un aumento significativo de *Dio3b*, sugiriendo su importancia en la supervivencia de células retinales. Además, el desequilibrio de T3 provocó cambios estructurales en la retina, especialmente en la capa de células ganglionares (GCL), y cambios en la preferencia de color, destacando la importancia de la regulación de las HT en el correcto desarrollo y función de la retina.

INTRODUCCIÓN

El correcto desarrollo de la retina durante las primeras etapas embrionarias es crucial para garantizar una función correcta del sistema visual en los organismos vertebrados. En este contexto, el estudio de la influencia de las hormonas tiroideas (HTs), así como los componentes que están involucrados en su señalización en la retina (receptores, transportadores y enzimas que las metabolizan), representan un área de investigación amplia para comprender los efectos que ejercen dichas hormonas sobre el desarrollo de la retina. Por tal motivo, en este trabajo se abordó el estudio integral de los componentes de la señalización de HTs durante el desarrollo embrionario de la retina en larvas de pez cebra, un modelo animal que ha permitido estudiar favorablemente este sistema.

Diferentes estudios han demostrado que la alteración de los componentes de la señalización tiroidea podría estar relacionada con la perturbación del desarrollo adecuado de la retina; por ejemplo, disfunciones visuales que podrían manifestarse como daltonismo, o en última instancia, como ceguera parcial en los individuos afectados. A pesar de esto, no hay un estudio integral que aborde la dinámica de expresión a través del tiempo de dichos elementos de señalización, así como el impacto de modificar farmacológicamente el estatus tiroideo (hipo e hipertiroideos) durante el desarrollo de la retina. Comprender estos procesos no solo proporciona una visión más profunda de la biología del desarrollo embrionario, sino que también, podría tener implicaciones directas para la comprensión de problemas visuales en otros organismos vertebrados, incluidos los humanos.

Además, el estudio de las HTs y el desarrollo de la retina ofrecen una perspectiva valiosa para el desarrollo de estrategias terapéuticas dirigidas a corregir posibles desregulaciones hormonales durante la gestación, con el potencial de prevenir o mitigar problemas visuales en la descendencia. Este estudio busca, por lo tanto, llenar un vacío en nuestra comprensión de la relación entre las HTs, el desarrollo embrionario de la retina y las consecuencias visuales.

1. ANTECEDENTES

1.1 Estructura de la glándula tiroides

La tiroides es una glándula endócrina responsable de la producción y secreción de hormonas tiroideas (HTs) (Takagi y col., 2022). La glándula tiroides exhibe diferencias morfológicas y anatómicas entre diversas clases de vertebrados como, por ejemplo: en anfibios, reptiles, aves y mamíferos, está ubicada en la base del cuello (Rabah y col., 2019); mientras que, en la mayoría de los peces teleósteos, puede ser compacta o dispuesta como folículos dispersos en las regiones faríngea, cardíaca o renal (Deal y Volkoff, 2020; Norris y Carr, 2021). No obstante, la estructura anatómica fundamental de la glándula tiroidea está conservada en los vertebrados, se compone de un conjunto de folículos vascularizados rodeados por tejido conectivo (Figura 1) (Deal y Volkoff, 2020). En su interior contiene una sustancia secretora llamada coloide, cuyo componente principal es la tiroglobulina (TG), una glicoproteína yodada, que es la precursora de las HTs bioactivas (Barrett y col., 2020; Khan y Farhana, 2023). Los folículos están revestidos por células foliculares epiteliales denominados tirocitos, las cuales son responsables de la síntesis de las HTs (Posabella y col., 2021; van der Vaart y col., 2021). (Figura 1).

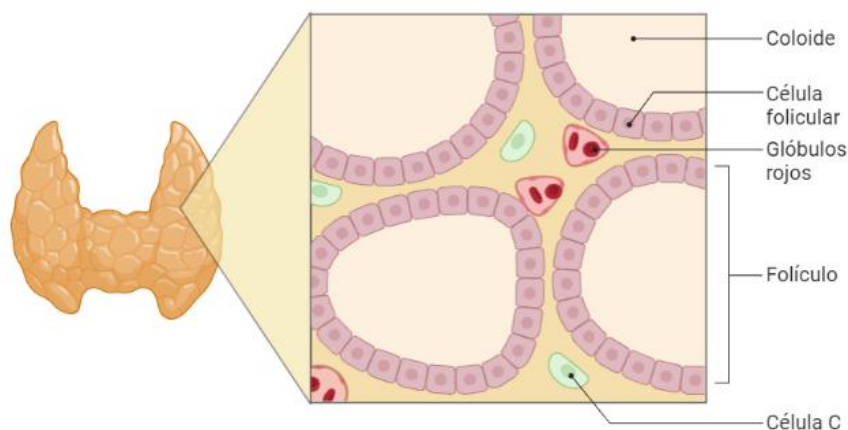


Figura 1. Anatomía de los folículos tiroideos. La ilustración muestra una representación caricaturizada de la glándula tiroidea (izquierda), que se distingue por su forma de mariposa típica en los humanos. A la derecha se detalla la unidad básica de la tiroides, el folículo tiroideo, el cual está constituido por celulares foliculares o tirocitos que rodean el coloide que contiene principalmente a la TG (Posabella y col., 2021). Elaborado con: Biorender.com.

La tiroides es de las primeras glándulas endócrinas en empezar a diferenciarse; la organogénesis tiroidea comienza alrededor del día post fertilización (dpf) 20-22 en humanos y a las 20 horas post fertilización (hpf) en el pez cebra (Marelli y col., 2021; Posabella y col., 2021). La glándula tiroidea alcanza la madurez alrededor de los 84 dpf en humanos y a las 72 hpf en pez cebra (Dom y col., 2021; Posabella y col., 2021; Rosen y Sapra, 2023). En el desarrollo temprano, cuando el embrión aún carece de glándula tiroides, depende únicamente del aporte materno y que atraviesa la placenta. En el caso de los peces teleósteos, dependen de las HTs maternas depositadas durante la maduración del óvulo (Darras, 2019; Stepien y Huttner, 2019). En vertebrados la función de la glándula tiroidea está regulada por un circuito autorregulado llamado eje hipotálamo-pituitario-tiroideo (HPT) (Shahid y col., 2023). Los componentes de este eje están conservados entre los vertebrados, aunque presentan algunas diferencias específicas según la especie (Deal y Volkoff, 2020). En este proceso, la hormona liberadora de tirotrópina (TRH), producida en las

neuronas hipofisiotróficas del hipotálamo, estimula a los tirotropos de la adenohipófisis para que produzcan y liberen la hormona estimulante de la tiroides o tirotropina (TSH). A su vez, la TSH promueve la síntesis y liberación de HTs en la glándula tiroides (Figura 2), desempeñando un papel crucial en la regulación directa de la actividad tiroidea (Feldt-Rasmussen y col., 2021; Gavrilu y Hollenberg, 2019).

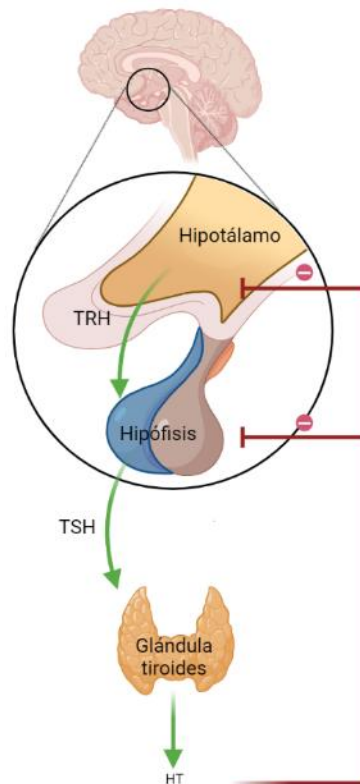


Figura 2. El eje HPT y su autorregulación por HTs. La TRH es sintetizada en el núcleo paraventricular del hipotálamo y estimula la secreción de TSH en la hipófisis anterior. La TSH, a su vez, estimula las células foliculares tiroideas lo que promueve la síntesis y liberación de HTs (Feldt-Rasmussen y col., 2021). Elaborado con: Biorender.com.

1.1.1 Hormonas tiroideas (HTs)

Las principales hormonas producidas por la tiroides son la tiroxina (3,5,3',5'-tetrayodotironina, T4) y la triyodotironina (3,5,3'-triyodotironina, T3), las cuales se denominan colectivamente HTs (Fox, 2019; Hall y Hall, 2021) (Figura 2). La estructura molecular esencial se basa en dos anillos de benceno yodados unidos por

un enlace éter. La glándula tiroides secreta principalmente T4, mientras que la T3, la T3 reversa (3,5',3'-triyodotironina, rT3) y la diyodotironina (3,3'-diyodotironina, T2) se generan principalmente por la desyodación de las yodotironinas, catalizada por las enzimas desyodasas (Koibuchi, 2018; Sabatino y col., 2021).

Las HTs desempeñan un papel importante en la regulación del índice metabólico basal (IMB), el gasto de energía y el mantenimiento funcional de órganos, en especial del sistema cardiovascular (Khan y Farhana, 2023; Koibuchi, 2018; Tortora y Derrickson, 2021). Además, se sabe que las HTs son importantes moduladores del metabolismo celular, ejerciendo una acción genómica al regular la expresión de genes diana, mediante la unión de la T3 a sus receptores nucleares denominados receptores a hormonas tiroideas (TRs), los cuales son receptores nucleares que funcionan como factores transcripcionales (Prezioso y col., 2018). De manera simultánea afectan vías no genómicas, ya que interactúan con receptores de la membrana celular y proteínas citosólicas para activar diferentes vías de señalización que involucran la serina-treonina quinasa, PI3K, Akt/proteína quinasa B, proteína quinasa activada por AMP y calcio. Estas vías de señalización ejercen un efecto sobre los canales iónicos de los cardiomiocitos, regulando positivamente la frecuencia cardíaca en reposo, el volumen sanguíneo y la contractilidad del miocardio (Prezioso y col., 2018; Yamakawa y col., 2021). De igual manera las HTs están ampliamente relacionadas con el desarrollo y la diferenciación de células neurales en vertebrados (Gavrila y Hollenberg, 2019; Sachs y Campinho, 2019).

1.1.2 Aspectos generales del transporte de las HTs

Después de ser sintetizadas en la glándula tiroides, las HTs atraviesan la membrana basal de los tirocitos mediante transportadores específicos y entran al torrente sanguíneo (Mancino y col., 2021; Shahid y col., 2023). Una vez en la sangre, se unen con proteínas plasmáticas que también ejercen función de transporte hacia los tejidos objetivo (Rabah y col., 2019; Tortora y Derrickson, 2021). Debido a la naturaleza lipofílica de las HTs, se pensaba que podían atravesar las membranas celulares de las células diana; sin embargo, hoy se sabe que su entrada y salida a las células ocurre mediante transportadores de membrana (Stepien y Huttner, 2019).

La entrada de las HTs a las células es facilitada por transportadores específicos pertenecientes a familias de proteínas diferentes, que incluyen los transportadores de aniones orgánicos, los transportadores de aminoácidos de tipo L y los transportadores de monocarboxilatos (Groeneweg y col., 2020). Entre los más sobresalientes se encuentran el transportador de monocarboxilato 8 (MCT8), el transportador de monocarboxilato 10 (MCT10) y el polipéptido transportador de aniones orgánicos (OATP) 1C1 (Deladoey y col., 2021). El MCT8 es específico y fundamental para el transporte de T4 y T3 en el sistema nervioso central (SNC), facilitando el transporte de las HTs a través de la barrera hematoencefálica, así como la captación de T3 por las neuronas. Este es el único transportador tiroideo del que se han reportado mutaciones que pueden afectar fisiológica y negativamente a los humanos (Groeneweg y col., 2020). El MCT10, por otro lado, es un transportador tanto de aminoácidos como de T3 y T4, teniendo mayor eficiencia en transportar T4 en comparación con el MCT8. Ambos tienen la capacidad de transportar HTs dentro

y fuera de la célula. En cuanto a los OATP, es una familia de proteínas con 12 dominios transmembranales que modulan el transporte de compuestos orgánicos anfipáticos, de manera específica el OATP1C1 tiene una mayor afinidad en el transporte de T4 y de rT3. De hecho, es el transportador con mayor afinidad por T4 entre todos los transportadores de HT (Wang y col., 2023). A pesar de que su expresión tisular ocurre en el músculo esquelético, el riñón, el intestino y el hipotálamo, se infiere que su función principal es facilitar la captación de T4 en astrocitos ya que se ha observado que la captación activa de tiroxina a los astrocitos del hipocampo está mediada por OATP1C1 (Fröhlich y Wahl, 2021; Peters y Schoenmakers, 2020). Así mismo, se ha reportado una expresión diferencial de OATP1C1 en astrocitos en el prosencéfalo (Groeneweg y col., 2020).

Se ha demostrado que los transportadores de HTs son necesarios para que la embriogénesis ocurra de manera adecuada. Por ejemplo, se han generado peces cebra mutantes en los que se ha bloqueado la captación de TH mediante un “knockdown” o “knockout” del gen que codifica para el MCT8; en consecuencia, se observó una alteración en el desarrollo del cerebro y la locomoción, así como la desregulación en las vías de señalización Wnt/Notch implicadas en la proliferación, el crecimiento, la migración y la apoptosis de células eucarióticas (Acar y col., 2021; Gothié y col., 2020). Por otro lado, el “knockdown” de MCT8 en células progenitoras retinianas de pollo, redujo la proliferación de estas, resultando en una hipoplasia celular y una retina más delgada, causando la pérdida de fotorreceptores y células horizontales (Vancamp y col., 2019).

1.1.3 Activación e inactivación de las HTs

Aproximadamente el 93% de las HTs secretadas por la glándula tiroides corresponde a T4 mientras que el 7% restante a T3. Esta última se considera la hormona tiroidea biológicamente activa, en comparación con la T4 por lo cual la conversión regulada de T4 a T3 es de suma importancia (Hall y Hall, 2021). Dicha transformación se encuentra mediada por las enzimas yodotironinas desyodasas, también conocidas como desyodasas, que catalizan la activación e inactivación de las HTs mediante la eliminación de un átomo de yodo del anillo externo o interno de la molécula *per se*. Se conocen tres de estas enzimas: DIO1, DIO2 y DIO3 (Figura 3) (Deladoey col., 2021). Las desyodasas contribuyen al mantenimiento de la homeostasis de las HTs a nivel local y actúan de manera específica en cada célula (Peters y Schoenmakers, 2020; Sabatino y col., 2021). Las HTs regulan la expresión de *DIO2* y *DIO3* de manera opuesta: el hipertiroidismo aumenta la expresión de DIO3 y disminuye la expresión de DIO2, mientras que el hipotiroidismo genera el efecto contrario, evidenciando que la actividad desyodasa es crucial en el control de la homeostasis de las HTs (Luongo y col., 2019).

De esta manera, en situaciones donde hay un exceso de T3 se propone que se aumenta la expresión génica y actividad de la DIO3 para inactivar a la T3 y proteger a la célula de un exceso de T3, por el contrario, cuando hay una demanda de T3, se incrementa la expresión y actividad de la DIO2 para generar más HT bioactiva. El desbalance en la actividad de estas desyodasas puede ocasionar problemas en el funcionamiento de varios sistemas biológicos, por ejemplo, se ha reportado que el exceso de T3 exógena, genera una disminución en el tamaño de células progenitoras

neurales y el exceso de T4 exógena aumenta la expresión de *Hes*, una familia de genes que codifican represores transcripcionales básicos y regulan negativamente la proliferación y diferenciación de células madre, especialmente del sistema nervioso central, SNC, dificultando la diferenciación neuronal (Gothié col., 2020; Hu y Zou, 2022).

La DIO1 se encuentra en la membrana plasmática y se expresa principalmente en las células del hígado, los riñones, la tiroides y la hipófisis (Köhrle y Frädrich, 2022). Es responsable de la producción de T3 en plasma y desempeña un papel importante en la desyodación de rT3. Aunque también se ha encontrado que pueden generar metabolitos inactivos como la rT3 o T2, dependiendo del sustrato catalizando la desyodación del anillo interno o externo (Deladoey col., 2021; Fröhlich y Wahl, 2021). Por otro lado, la DIO2 se localiza en el retículo endoplásmico de células de la hipófisis, la placenta, el músculo esquelético, la tiroides, el tejido adiposo marrón y los astrocitos (Deng y col., 2023). En estos tejidos participa principalmente en la producción local de T3 intracelular a partir de T4. Adicionalmente, se ha demostrado que la DIO2 está regulada por un mecanismo mediado por adenosín monofosfato cíclico (AMPC) y que está asociado al receptor de TSH en la tiroides, misma que estimula el ARNm y la actividad de la DIO2 en cultivos de células tiroideas humanas (Köhrle y Frädrich, 2022).

Finalmente, la DIO3 se encuentra en la membrana plasmática de células de múltiples tejidos (la placenta, la retina, el esqueleto, la piel, el cerebro etc.) y de manera importante durante el desarrollo fetal (Köhrle y Frädrich, 2022). Produce metabolitos inactivos catalizando la conversión de T4 en rT3, y de T3 en T2, mediante la

eliminación de un yodo del anillo interno (Deladoey y col., 2021; Fröhlich y Wahl, 2021).

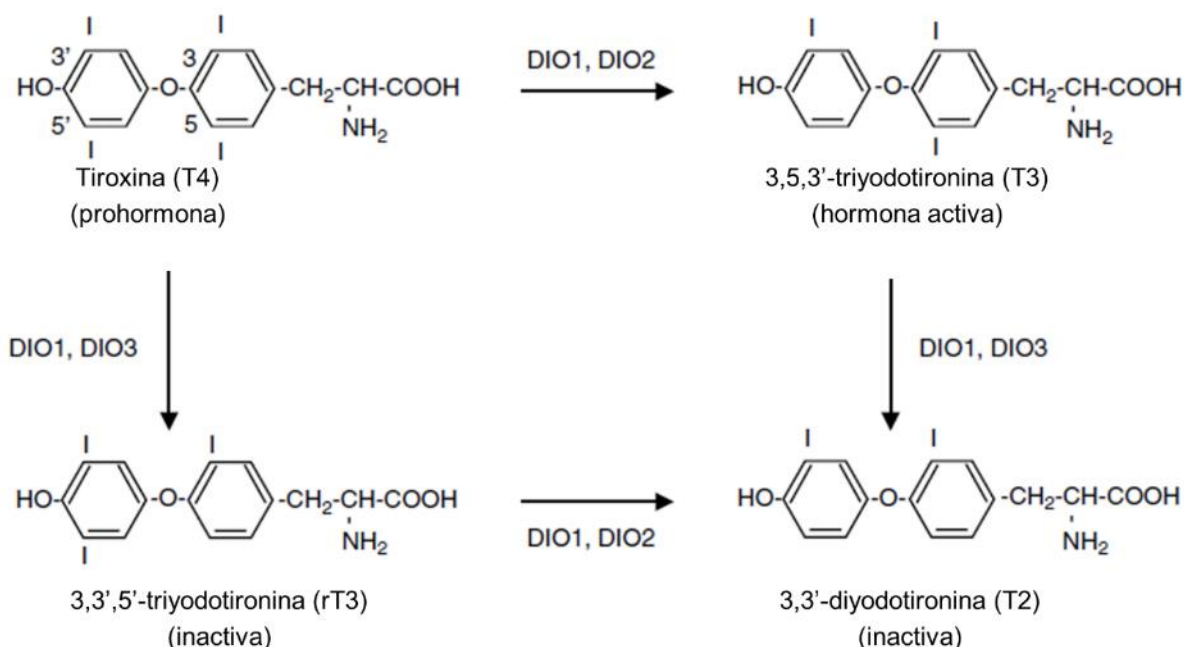


Figura 3. La desyodación de las hormonas tiroideas se lleva a cabo por DIO1, DIO2 y DIO3. La DIO2 convierte la hormona T4 en T3 mediante la eliminación de un átomo de yodo del anillo externo. La DIO3 inactiva la T3 al eliminar un átomo de yodo del anillo interno, produciendo T2, o bien bloquea la síntesis de T3 a partir de T4 al convertir la T4 en rT3. La DIO1 lleva a cabo la desyodación del anillo interno o externo para generar T3, rT3 o T2, según el sustrato disponible. Extraído y modificado de Peters y Schoenmakers (2020).

1.1.4 Acción de las HTs

Los efectos de las HTs están mediados por su interacción con sus receptores nucleares (TRs), mismos que funcionan como factores de transcripción que, ante la unión con su ligando, pueden modular la transcripción de un gran número de genes ejerciendo efectos a nivel metabólico, así como en la regulación del ciclo celular y la diferenciación. Esto desempeña un papel crucial en diversos procesos de desarrollo, incluido el de la retina (Barret, 2022; Hall y Hall, 2021; McNerney y Johnston, 2021). Se ha reportado que un número considerable de genes fundamentales para el

desarrollo generan una respuesta primordialmente por la señalización de HTs durante ventanas de tiempo específicas en el desarrollo. Si no se expresan o lo hacen de manera tardía, estos genes pueden comprometer irreversiblemente el desarrollo y correcto funcionamiento de órganos importantes (Darras, 2019).

Análisis transcriptómicos en células cerebrocorticales primarias (CC) derivadas de embriones (E14) de ratones expuestos a T3 y en presencia de cicloheximida durante 24 h, se encontró que, de los aproximadamente, 15,000 genes expresados en los cultivos de CC, la T3 cambia la expresión de 1145. Los genes inducidos o reprimidos más sensibles a T3 fueron los que se encuentran descritos en el Cuadro 1.

Los genes regulados positivamente están involucrados en procesos relacionados con la diferenciación, migración y comunicación celular, mientras que la regulación negativa se asoció con procesos nucleares implicados en la mitosis y la condensación cromosómica, por lo que las alteraciones causadas por el desequilibrio de la señalización de HTs, puede provocar daños en el desarrollo neural (Bernal, 2017).

Cuadro 1. Genes regulados transcripcionalmente por T3 en células cerebrocorticales primarias (Choi y col., 2020; Drepanos y col., 2023; Gene, 2024).

| Regulación positiva | | Regulación negativa | |
|---|---|--|---|
| Gen | Función biológica | Gen | Función biológica |
| <i>Cyp11a1</i> : Citocromo P450, familia 11, subfamilia a, polipéptido 1 | Enzima mitocondrial que cataliza el desdoblamiento de la cadena lateral del colesterol C27 en pregnenolona C21 en presencia de oxígeno molecular y NADPH-. Es el paso inicial y limitante de la síntesis de hormonas esteroides gonadales y suprarrenales. | <i>Htr7</i> : Receptor 7 de 5-hidroxitriptamina | Codifica a un receptor acoplado a proteína G de serotonina y la actividad de los receptores de neurotransmisores. Implicado en varios procesos, incluida la vía de señalización del receptor de serotonina activadora de adenilato ciclasa, detección de estímulos mecánicos implicados en la percepción sensorial del dolor, y modulación de la transmisión sináptica química. |
| <i>Hr</i> : Lisina desmetilasa y correpresor del receptor nuclear | Codifica una proteína que participa en el crecimiento del cabello. Esta proteína funciona como correpresor transcripcional de múltiples receptores nucleares, incluido el receptor de la hormona tiroidea, los receptores huérfanos relacionados con el receptor del ácido retinoico y los receptores de vitamina D, e interactúa con las histonas desacetilasas. | <i>Aldh1a3</i> : Aldehído deshidrogenasa 1 miembro de la familia A3 | Codifica una enzima aldehído deshidrogenasa que utiliza el retinal como sustrato. Requerido para la síntesis de retinoato en las regiones oculares y nasales embrionarias, crítico en el desarrollo embrionario del ojo y la región nasal. |
| <i>Shh</i> : | Codifica una proteína que desempeña un papel decisivo en la formación del patrón del embrión temprano. Se ha | <i>Rgs4</i> : | Inhibe la transducción de señales al aumentar la actividad GTPasa de las subunidades α de la proteína G, |

| | | | |
|---|--|---|--|
| Molécula de señalización de Sonic Hedgehog | implicado como la señal inductora clave en el patrón del tubo neural ventral, el eje anterior-posterior de las extremidades y las somitas ventrales. | Regulador de la señalización de la proteína G 4 | llevándolas así a su forma inactiva unida al GDP. |
| <i>Dio3</i> : Yodotironina desyodasa 3 | Cataliza la inactivación de las HTs mediante la desyodación del anillo interno de la T4 y T3 a metabolitos inactivos rT3 y T3, respectivamente. Regula las concentraciones circulantes de hormona tiroidea fetal y, por tanto, desempeña un papel fundamental en el desarrollo de los mamíferos. | <i>Kera</i> : Keratocan | Codifica una proteína que es un proteoglicano de queratán sulfato que es importante para desarrollar y mantener la transparencia de la córnea. |
| <i>Sptssb</i> : Subunidad pequeña B de serina palmitoiltransferasa | Cataliza el primer paso comprometido y limitante de la velocidad en la biosíntesis de esfingolípidos. | <i>Pcdh18</i> : Protocadherina 18 | Su función específica es indeterminada, pero se cree que el receptor neuronal relacionado con la cadherina desempeña un papel en el establecimiento y función de conexiones celulares específicas en el cerebro. |
| <i>Flywch2</i> : Miembro 2 de la familia FLYWCH | Modulador de la transcripción que suprime la actividad transcripcional de la señalización Wnt/ β -catenina. | <i>Klh14</i> : Miembro 14 de la familia tipo Kelch | Promueve la ubiquitinación de las subunidades del receptor de células B (BCR) y disminuye la estabilidad de las glicoformas inmaduras del BCR en el retículo endoplásmico, reduciendo así los niveles de BCR. |
| <i>Hcrtr1</i> : Receptor de hipocretina (orexina) 1 | Codifica una proteína que es un receptor acoplado a proteína G implicado en la regulación del comportamiento alimentario. La | <i>Ndst3</i> : N-desacetilasa y N-sulfotransferasa 3 | Codifica una enzima bifuncional que cataliza la N-desacetilación y la N-sulfatación de la glucosamina, que son las modificaciones |

| | | | |
|--|--|--|--|
| | proteína codificada se une selectivamente al neuropéptido hipotalámico orexina A. | | químicas iniciales necesarias para la biosíntesis de heparina. |
| <i>Gper1:</i> Receptor 1 de estrógeno acoplado a proteína G | Permite la actividad del receptor de estrógenos. Lo que conduce a estimulación de la adenilato cicliasa y un aumento en los niveles de AMPc, así mismo promueve la movilización de Ca ⁺ intracelular y la síntesis de fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP3). | <i>Mc4r:</i> Receptor 4 de melanocortina | Codifica un receptor que interactúa con las hormonas adrenocorticotrópicas y hormonas estimulantes de melanocitos y está mediada por proteínas G. Ejerce un papel crucial en la homeostasis energética y el crecimiento somático. |
| <i>Klf9:</i> Factor de transcripción KLF 9 | Codifica una proteína que es un factor de transcripción. Se sabe que regula tanto el desarrollo de la diferenciación celular como la fisiología en múltiples tipos de tejidos y sistemas de órganos, incluidos el SNC, la sangre, el tejido adiposo y el hígado, y que es un crítico de múltiples vías de respuesta al estrés y al medio ambiente. | <i>St8sia4:</i> ST8 alfa-N-acetilneuraminida alfa-2,8-sialiltransferasa 4 | Codifica una enzima que cataliza la policondensación del ácido siálico enlazado alfa-2,8 necesaria para la síntesis del ácido polisialico, el cual es fundamental en la molécula de adhesión de células neurales embrionarias (N-CAM), desempeñando un papel esencial en la plasticidad de las células neurales. |
| | | <i>Trhr:</i> Receptor de la hormona liberadora de tirotropina | Codifica un receptor acoplado a proteína G para la hormona liberadora de tirotropina (TRH). Tras la unión de la TRH, activa la vía de transducción de PKC. |

En vertebrados, existen dos genes de TR, α y β , codificados por los genes THRA y THRB en diferentes cromosomas (Barret, 2022; Lazcano y col., 2019). Debido al empalme alternativo del ARNm, se expresan múltiples isoformas: $\alpha 1$ - $\alpha 3$, $\beta 1$ - $\beta 3$, y las formas truncadas, receptores que carecen de dominios AF1 y DBD, pero conservan la mayor parte del LBD, como las isoformas $\Delta\alpha 1$, $\Delta\alpha 2$ y $\Delta\beta 3$. Las isoformas TR $\alpha 2$ (que tiene una extensión del dominio AF1 que lo vuelve incapaz de unir HTs), TR $\alpha 3$ y todos los TR truncados carecen de capacidad de unión a T3 y desempeñan un papel antagonista a la señalización de HTs (Fröhlich y Wahl, 2021; Hönes y col., 2022). Por otro lado, TR $\alpha 1$, TR $\beta 1$ y TR $\beta 2$ poseen una gran afinidad por la T3 y actúan como los receptores funcionales en todos los vertebrados. TR $\alpha 1$ se expresa en el corazón, los huesos, tracto gastrointestinal, y el cerebro. TR $\beta 1$ es predominante en el hígado, riñón, corazón, pulmón, cerebro, cóclea e hipófisis. TR $\beta 2$ es expresado principalmente en la hipófisis, la retina y la cóclea (Deladoey y col., 2021; Peters y Schoenmakers, 2020).

Los TRs se unen a los elementos de respuesta del ADN, principalmente como heterodímeros con el receptor X de retinoides (RXR) y reconocen los elementos específicos de respuesta a la HT (TRE), los cuales suelen estar localizados en las regiones promotoras de los genes diana específicos, promoviendo así el aumento o disminución del proceso de transcripción de estos genes, ejemplos de los mismos se enumeran en el Cuadro 2 (Barret, 2022; Peters y Schoenmakers, 2020; Sinha y Yen, 2018; Stepien y Huttner, 2019).

Cuadro 2. Regulación de genes mediada por la acción de las HTs (Sinha y Yen, 2018).

| Regulación positiva | Regulación negativa |
|--|--|
| Receptor de hormona tiroidea β (THRB) | Hormona estimulante de la tiroides (TSH) |
| Hormona del crecimiento (GH) | Hormona liberadora de tirotropina (TRH) |
| Cadena pesada α de miosina | Cadena pesada β de miosina |
| Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK) | Receptor del factor de crecimiento epidérmico (RFCE) |
| Factor de diferenciación neurogénica 1 (NEUROD1) | Prolactina |
| Sintasa de ácidos grasos (FASN) | Adenil ciclasa tipo (AC) V y VI |
| Proteína básica de mielina (MBP) | Fosfolamban |

1.2 El sistema visual

El sistema visual detecta la información del entorno en forma de luz para posteriormente interpretar los datos de tal manera que podemos integrar dicha información en imágenes complejas. El proceso de la vista y la percepción visual implica la asociación e interconexión de un conjunto de estructuras diferenciadas para lograr visualizar el entorno (Remington y Goodwin, 2022; Widmaier y col., 2019). El ojo está estructuralmente conservado en vertebrados y consta de dos componentes esenciales: una parte óptica, constituida por las capas fibrosa y vascular, para congrega la luz con el objetivo de formar una imagen, y una parte neural, la retina, para convertir la imagen óptica en impulsos nerviosos (Connors, 2022; Fox, 2019). Asimismo, el proceso de desarrollo ocular durante la embriogénesis se encuentra conservado en los vertebrados. Por ejemplo, la morfogénesis del sistema visual en el pez cebra presenta similitudes con el humano, en ambos se desarrolla a partir de tres tejidos embrionarios: el neuroectodermo, que da lugar a la retina, el epitelio pigmentario, el tallo óptico y el cuerpo ciliar; el ectodermo superficial, que forma el cristalino y eventualmente los epitelios

conjuntivales y corneales; y la mesénquima que forman el endotelio y estroma corneal, el estroma del iris y la esclerótica (Cassar y col., 2021; Rosa y col., 2023). La investigación en modelos animales como el pez cebra y murinos ha contribuido a dilucidar eventos cruciales en la morfogénesis del ojo de los vertebrados (Angueyra y Kindt, 2018).

1.2.1 La retina

La retina de los vertebrados es un tejido neural que recubre la parte posterior del ojo, es responsable de la detección y el procesamiento de la información visual, dando lugar a la transformación de la energía luminosa en un impulso nervioso (Angueyra y Kindt, 2018). Para lograr esto, la retina se compone de tres capas nucleares: la capa nuclear externa (ONL), correspondiente a los fotorreceptores (conos y bastones); la capa nuclear interna (INL) formada por las interneuronas (horizontales, bipolares y amacrinas) y la capa de células ganglionares (GCL). Estas capas se conectan mediante dos capas en donde se encuentran exclusivamente: la capa plexiforme externa (OPL) y capa plexiforme interna (INL) (Figura 4) (Moustardas y col., 2023; Remington y Goodwin, 2022; Rosa y col., 2023).

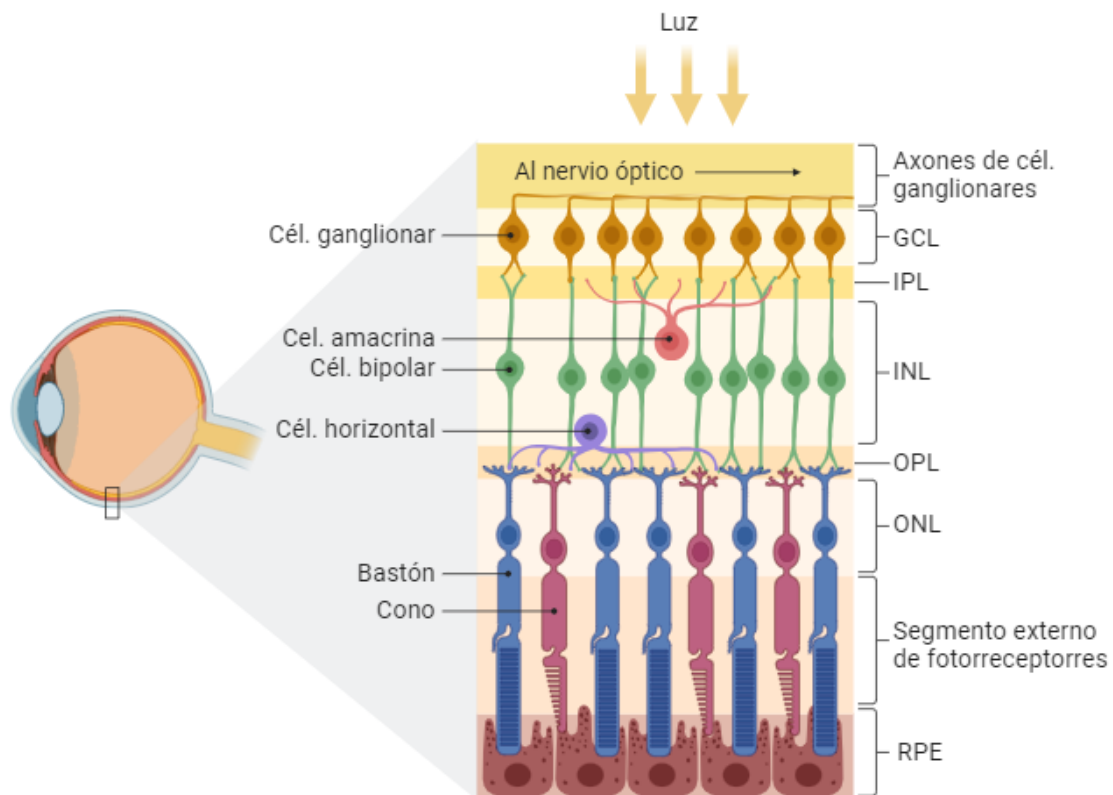


Figura 4. Diagrama de la retina de los vertebrados. La imagen muestra una vista lateral del ojo del humano (izquierda) y la ubicación de la retina, que es la parte neural del ojo que a su vez está conformada por varias células que forman diferentes (derecha). GCL, capa de células ganglionares; IPL, capa plexiforme interna; INL, capa nuclear interna; OPL, capa plexiforme externa; RPE, epitelio pigmentario de la retina. Extraído y modificado de Grigoryan, (2022). Elaborado con: Biorender.com.

Los fotorreceptores transducen la energía electromagnética en impulsos nerviosos y se transmite a las interneuronas: las células horizontales modulan localmente la salida sináptica de los fotorreceptores; las células amácrinas proporcionan modulación pre y/o postsináptica; mientras que las bipolares transmiten las señales neuronales a la siguiente capa de procesamiento proporcionando excitación a las células ganglionares de la retina (CGR) (Barrett y col., 2020; Dong y Allison, 2021). En humanos, los axones de las CGR forman el nervio óptico, llegan al núcleo geniculado lateral (NGL) del tálamo, transmitiendo la información codificada a los centros visuales del cerebro, ubicados en la corteza estriada del lóbulo occipital de

la corteza cerebral donde se produce la percepción de visión (Barrett y col., 2020; Fox, 2019). Los conos y bastones también están asociados con el epitelio pigmentario de la retina (RPE), el cual proporciona soporte estructural, trófico y metabólico para los fotorreceptores (Angueyra y Kindt, 2018).

1.2.2 Los fotorreceptores

Se han descrito dos tipos de células fotorreceptoras: los conos y los bastones, que son células sensoriales que contienen fotopigmentos los cuales son activados al ser excitados por la luz (Marieb y Smith, 2023). Las células recibieron estos nombres por su forma, sin embargo, actualmente su denominación en conos y bastones está más relacionada con el nivel de iluminación y el espectro de longitud de onda en el que son activos. Los bastones son extremadamente sensibles a la luz y pueden operar bajo condiciones de baja luminosidad; es decir, son responsables de la visión escotópica (Andrews, 2023). Los conos, por otra parte, tiene un umbral sensitivo más amplio, operan mejor con luz diurna, proporcionan una visión fotópica, una mayor agudeza y participan en la visión de colores (Barrett y col., 2020; Costanzo, 2019). Las funciones de los conos y bastones están sintetizadas en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Función de los fotorreceptores (Costanzo, 2019).

| Función | Conos | Bastones |
|-----------------------|--|---|
| Sensibilidad a la luz | Transducción en condiciones fotópicas | Transducción en condiciones escotópicas |
| Visión | Diurna | Nocturna |
| Agudeza | Alta agudeza visual Presentes en la fóvea | Baja agudeza visual Ausentes en la fóvea |
| Visión cromática | Sí | No |

Los fotorreceptores se dividen en tres segmentos principales: un segmento externo, un segmento interno que incluye una región nuclear y una zona terminal sináptica.

Los terminales sinápticos se conectan al segmento interno a través de un axón corto, mientras que los segmentos internos se destacan por sintetizar fotopigmentos (opsinas) y por tener una alta densidad de mitocondrias (Barrett y col., 2020). La conexión entre los segmentos internos y externos se realiza mediante un tallo ciliar, siendo este último constituido por cilios modificados que contienen sáculos aplanados o discos membranosos. Estos discos contienen opsinas que reaccionan a la luz, desencadenando así el proceso de fototransducción (Connors, 2022).

En el caso de los fotorreceptores humanos, existen tres subtipos de conos, cada uno definido por el tipo de opsina que expresan, determinada por la longitud de onda máxima que absorben, tal como se ilustra en la Figura 5 (Andrews, 2023; Santos Silva y col., 2017). Estas son la opsina azul (longitud de onda corta (S); ~420 nm), opsina verde (longitud de onda media (M); ~534) y opsina roja (longitud de onda larga (L); ~564nm). Además, se encuentra la rodopsina, que es el pigmento presente en los bastones y tiene una absorción máxima alrededor de los ~498 nm (Eldred y col., 2018; Krishnamoorthi y col., 2023)

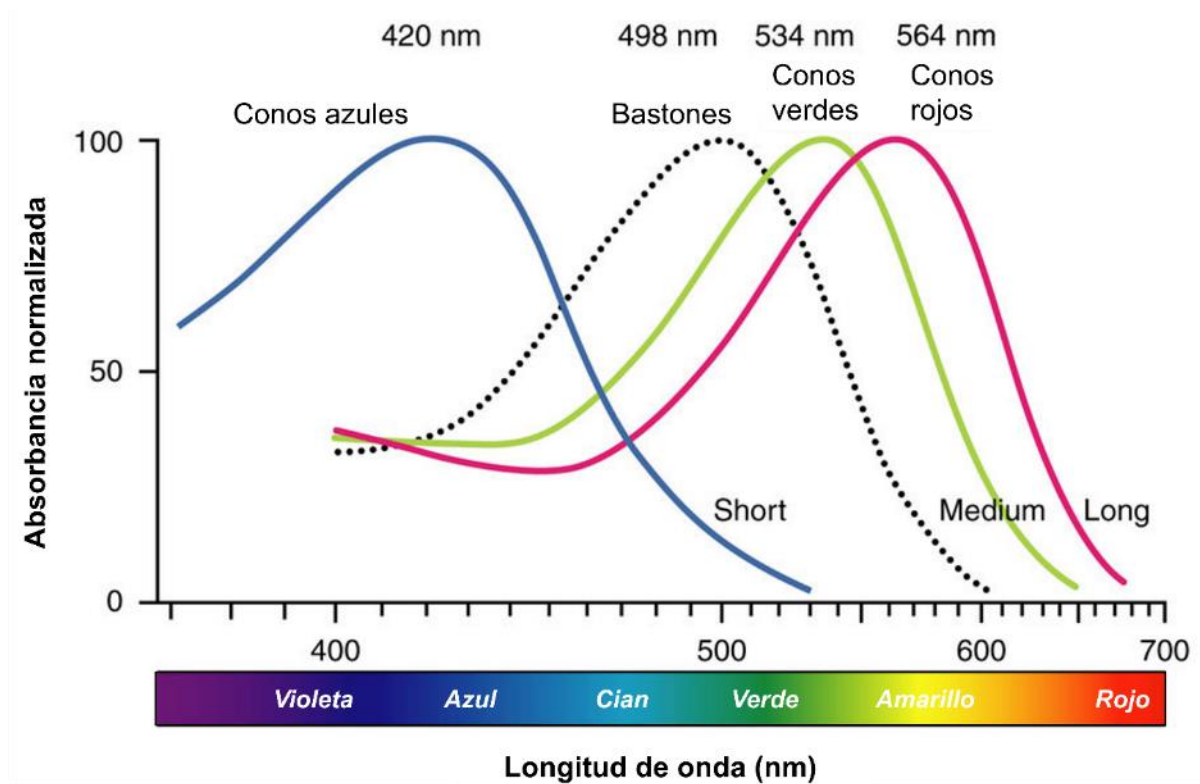


Figura 5. Los fotorreceptores de los vertebrados responden a diferentes longitudes de onda. La sensibilidad espectral de los bastones alcanza el máximo a los ~498 nm, mientras que los tres tipos de conos alcanzan su máximo a ~420 nm para el cono S, a ~534 para el cono M y ~564 nm para el cono L. Extraído y modificado de Santos Silva y col. (2017).

Las opsinas forman parte de la familia de receptores acoplados a proteínas G y asociada en su estructura se encuentra la molécula de retinal. El proceso de fototransducción se inicia cuando la luz impacta sobre una molécula de retinal que es fotosensible y está localizada en las opsinas de los fotorreceptores, provocando la transformación del retinal desde su configuración 11-cis al isómero trans. Este cambio conlleva a una alteración conformacional en la opsina, desencadenando una secuencia de transducción de señales que culminan en la generación de la señal eléctrica visual transmitida de los fotorreceptores hacia las diferentes capas de la retina hasta las células ganglionares. Estas últimas forman el nervio óptico mediante

sus axones, los cuales salen de la retina para llegar al cerebro en donde se procesa la información visual (Fox, 2019; Krishnamoorthi y col., 2023; Moini y col., 2024).

1.3 HTs y desarrollo de la retina

Las HTs son esenciales para el desarrollo de distintas células y tejidos, como la retina. Diversas investigaciones han contribuido a la comprensión de la regulación de las HT en el desarrollo retiniano, especialmente en lo que concierne a la especificación de los conos de la retina (Yang y col., 2018).

En los primeros estudios sobre la regulación de las HTs sobre el desarrollo de la retina, se realizó una investigación utilizando cultivos de células retinianas de embriones de rata, donde se demostró que la T3 inducía un aumento en el número de fotorreceptores tipo conos, y que la diferenciación de células progenitoras fotorreceptoras hacia bastones o conos dependía de la concentración y de combinaciones de ácido 9-cis retinoico con T3. Estos hallazgos establecieron un precedente al sugerir que los fenotipos de fotorreceptores podían ser modulados mediante la formación de heterodímeros de receptores tiroideos (TR) y el ácido retinoico (RXR) (Kelley y col., 1995).

1.3.1 Papel de los TR en la diferenciación de los conos

Como se mencionó con anterioridad, los receptores de HTs se expresan de manera tejido-específica. En particular, el TR β 2 es la isoforma que se expresa predominantemente en la retina de los vertebrados (Lazcano y col., 2023). Se ha demostrado que en humanos esta isoforma, junto con su homólogo funcional, *Is-thrb*, específico de teleósteos o *l-thrb*+ en el pez cebra, son necesarios para el desarrollo de conos que expresan opsinas sensibles a longitudes de onda largas, es decir, las

opsinas que detectan el color rojo (Lazcano y col., 2023). Se ha encontrado que larvas de pez cebra mutantes para la isoforma TR β 2 no responden a longitudes de onda de luz roja y, además, mostraron una pérdida de la cantidad de conos rojos. Además, la pérdida de este receptor causó alteraciones funcionales: las larvas carecían de respuestas optomotoras y optocinéticas a los contrastes que involucraban longitudes de onda cercanas a los 556 nm (longitud de onda máxima de la opsina roja larval) (Deveau y col., 2020). Otro estudio, demostró que este receptor regula el destino de los precursores de conos rojos; en ausencia de *thrb* se diferencian a conos UV (Suzuki y col., 2013). Por otro lado, se ha demostrado mediante análisis transcriptómicos que la ausencia de este receptor afecta exclusivamente la expresión de solo cinco genes entre los que destacan los genes de las opsinas que detectan el color rojo. Esto sugiere que el receptor TR β 2 regula de manera puntual el desarrollo de los conos que detectan el color rojo en la retina del pez cebra (Volkov y col., 2020).

1.4 El pez cebra como modelo de estudio de la retina

El pez cebra (*Danio rerio*) se ha convertido en un modelo de investigación importante para estudiar mecanismos genéticos del desarrollo. Dentro de sus múltiples ventajas destacan su fácil mantenimiento, rápida embriogénesis, su reproducción en grandes cantidades y a un costo accesible (Teame y col., 2019). La fertilización es *ex útero* y el embrión en desarrollo es transparente, lo que facilita la visualización y manipulación a los embriones (Rosa y col., 2023).

Al igual que varios órganos, la estructura del ojo muestra una notable conservación entre el pez cebra y los humanos, manteniendo una similitud en el desarrollo ocular

durante la embriogénesis (Cassar y col., 2021). A partir del día 3 post-fertilización (3 dpf) la mayoría de los embriones de pez cebra eclosionan y, en ese momento, empiezan a mostrar respuestas visuales (Gore y col., 2024). Su sistema visual se vuelve funcional al 5 dpf cuando los circuitos de la retina y su proyección al cerebro han madurado y se pueden estudiar diferentes respuestas motoras inducidas por estímulos visuales (Bollmann, 2019).

La disposición de las capas de retina del pez cebra también es semejante a la de los humanos. El pez cebra cuenta con fotorreceptores de cono que le permiten detectar los colores azul, verde y rojo, similar a la retina humana (Deveau y col., 2020; Rosa y col., 2023). Dichas similitudes lo posicionan como un modelo experimental apropiado para estudiar el sistema visual humano, en comparación con modelos murinos, que solo poseen conos azul y verde (Stella y col., 2021).

Asimismo, es importante destacar la conservación de la regulación homeostática de los niveles circulantes de HTs y los elementos de señalización molecular del sistema del sistema tiroideo entre el pez cebra y los humanos. Estos elementos también desempeñan un papel importante en el desarrollo y la diferenciación de la retina en ambas especies. Esto sugiere que los efectos de las HTs en el desarrollo y funcionamiento de la retina, así como en otros procesos fisiológicos, podrían ser comparables entre el pez cebra y los humanos (McNerney y Johnston, 2021; Walter y col., 2019a).

1.4.1 Papel de los componentes de la señalización tiroidea en el desarrollo de la retina del pez cebra

Las enzimas desyodasas también han sido estudiadas en el contexto de la retina del pez cebra. Este posee dos parálogos de *dio3* (*dio3a* y *dio3b*), los cuales codifican proteínas enzimáticamente activas con una alta afinidad por las HTs, aunque muestran un patrón de expresión distinto. Mientras que *dio3a* se expresa principalmente en el rombencéfalo y las vesículas óticas, *dio3b* se localiza en el cerebro y el ojo (Lazcano y col., 2023).

Se ha reportado que la deficiencia de la enzima Dio3b mediante “knockdown” con morfolino provoca defectos morfológicos en la retina del pez cebra, como la disminución del tamaño ocular, la reducción del número de bastones y de los cuatro tipos de conos. La ausencia de Dio3b implica una acumulación excesiva de HTs en la retina, lo cual es perjudicial durante el desarrollo temprano de la misma, señalando a la Dio3b como un regulador importante (Walter y col., 2019b).

Así también, se ha reportado que mutaciones en el gen del TR β 2 afectan de manera negativa la diferenciación de células progenitoras de la retina destinadas a convertirse en conos rojos, de tal manera que se transformaron en conos ultravioleta (UV) y células horizontales (Volkov y col., 2020).

Finalmente, mutaciones en el transportador MCT8 también han mostrado repercusiones en la expresión de los genes que codifican a las opsinas, así como en la actividad neuronal del tectum óptico, el cual es la región del sistema nervioso central donde convergen la mayoría de las fibras del nervio óptico, es decir, los axones de las células ganglionares (Rozenblat y col., 2022).

De esta manera, varios reportes independientes han demostrado que los componentes de la señalización tiroidea (receptores, transportadores y enzimas desyodasas) están relacionados con la perturbación del desarrollo adecuado de la retina; a pesar de esto, no hay un estudio integral sobre la ontogenia de dichos elementos en esta estructura. Tampoco se han inducido simultáneamente estados hipo e hipertiroideos para investigar sus impactos en el desarrollo de la retina.

1.5 Manipulaciones del estatus tiroideo en modelos animales

En condiciones de laboratorio, numerosos estudios han conseguido inducir estados de hipotiroidismo (bajas concentraciones de HTs en la circulación) e hipertiroidismo (altas concentraciones de HTs en la circulación) en diversos modelos de vertebrados. Estos estados tiroideos se logran mediante el uso de diversas moléculas sintéticas, así como mediante la administración exógena de las propias HTs (Baumann y col., 2019; Farías-Serratos y col., 2021; Lazcano y col., 2023; Mohamadizadeh y col., 2022).

Se han utilizado principalmente algunas moléculas sintéticas para inducir estados de hipotiroidismo, como el metimazol (MMI), propiltiouracilo (PTU) y el ácido iopanoico (IOP). Tanto el MMI como el PTU se caracterizan por inhibir la enzima peroxidasa, que es una enzima clave en la síntesis de HTs, lo que conduce a la disminución de la producción de HTs en la glándula tiroides (Abdi y col., 2019). Por otro lado, el IOP inhibe la conversión de T4 a T3 mediante la inhibición de las enzimas Dio2 y Dio1 (Van Dingenen y col., 2023). Todos estos agentes se administran de diversas maneras; en mamíferos, principalmente se administran a través del agua de

consumo, mientras que en animales acuáticos pueden aplicarse mediante la inmersión de los organismos en agua de cultivo.

Para inducir estados de hipertiroidismo, por lo regular se emplean HTs adquiridas comercialmente, siendo la T4 o la T3 las más utilizadas. En experimentos con roedores, es frecuente administrar T4 o T3 exógenas mediante inyecciones intraperitoneales (Hartley y col., 2019). En cambio, en animales acuáticos se puede administrar a través del método de inmersión como se mencionó previamente, reduciendo así la manipulación de los animales en comparación con las inyecciones intraperitoneales u otros métodos de inyección sistémica (Farías-Serratos y col., 2021; Lazcano y col., 2023; Yao y col., 2017). Normalmente, se aplican los agentes farmacológicos desde las 6 hpf y se cambian cada 24 horas hasta concluir el experimento (Baumann y col., 2019; Farías-Serratos y col., 2021).

Existen informes sobre el uso de diferentes concentraciones de IOP y su impacto en el estatus tiroideo. Farías-Serratos y col. (2021) reportaron que la administración de IOP en el rango nanomolar (0.5 nM) causó fenotipos que indican un estado hipotiroideo como la disminución del cartílago de Meckel. Simultáneamente, se analizó la expresión de genes involucrados en el mantenimiento del estado tiroideo mediante cuantificación del ARNm; se observó que el tratamiento con IOP indujo un aumento en la expresión del gen que codifica para la enzima Dio2 (indicativo de un estado hipotiroideo). También se detectó una disminución en la mielinización en larvas de pez cebra de 3 y 7 dpf tratadas con IOP. Estos hallazgos sugieren que el IOP indican un estado de hipotiroidismo (Farías-Serratos y col., 2021).

Por otro lado, para inducir estados hipertiroideos en larvas de pez cebra, la mayoría de las metodologías han empleado la administración por inmersión de T3 (Baumann y col., 2019; Farías-Serratos y col., 2021). Existen reportes de toxicidad cuando se utilizan concentraciones de T3 en el rango nanomolar, como malformaciones en la aleta pectoral, el eje corporal y el cráneo, aumento en la mortalidad en larvas de pez cebra de 5 dpf expuestas a $T3 \geq 30 \text{ nM}$ (Walter y col., 2019a). Además, deformaciones en el esqueleto axial, signos de escoliosis y un 70% de mortalidad en concentraciones de 1.5 nM de T3 (Shkil y col., 2019). Es por ello que se han realizado nuevos estudios utilizando concentraciones en el rango picomolar, tal como en el presente estudio.

2. HIPÓTESIS

Dado que las hormonas tiroideas y sus elementos de señalización han mostrado regular el desarrollo de la retina, existe un patrón de expresión coordinado de estos elementos durante el desarrollo de la retina del pez cebra, por lo que la manipulación de las concentraciones de HTs por medio de herramientas farmacológicas afectará el correcto desarrollo del sistema.

3. OBJETIVOS

3.1 General

Estudiar el papel de la señalización tiroidea durante el desarrollo de la retina del pez cebra

3.2 Específicos

- Estudiar el patrón de expresión de los elementos de la señalización tiroidea durante el desarrollo de la retina en el pez cebra.
- Manipular el estatus tiroideo mediante herramientas farmacológicas para crear condiciones de hipotiroidismo e hipertiroidismo y analizar sus consecuencias en la retina del pez cebra y en la conducta innata sobre la preferencia de color.

4. METODOLOGÍA

4.1 Materiales

4.1.1 Nomenclatura

Las abreviaturas de los genes y proteínas del pez cebra se asignaron según las "Convenciones de Nomenclatura del Pez Cebra". En este sistema, los símbolos de los genes constan de tres o más letras minúsculas en cursiva (*aaa*), mientras que los símbolos de las proteínas mantienen el mismo nombre, pero sin cursiva y con la primera letra en mayúscula (*Aaa*) (ZFIN, 2024). Mientras que para los símbolos génicos de mamífero se representaron en cursiva con tres o más letras mayúsculas (*AAA*), y sus proteínas conservan el mismo nombre, pero sin cursiva (*AAA*).

4.1.2 Animales

Se emplearon peces cebra adultos (*Danio rerio*) que fueron mantenidos en el bioterio para peces del laboratorio D03 de Receptores Nucleares y Neurobiología del Instituto de Neurobiología de la UNAM, Campus Juriquilla, Querétaro. Se aclimataron a condiciones del laboratorio en peceras con oxigenación artificial, en fotoperiodos 14:10 h (luz:oscuridad) a 28 °C. Para obtener los embriones, por las tardes se colocaron machos y hembras (1:2 respectivamente) en parideras con malla de separación entre ellos, así como para el fondo del recipiente con el fin de controlar el emparejamiento y evitar el canibalismo hacia los embriones respectivamente. Al día siguiente, se retiraron las mallas que evitaban el emparejamiento y, de manera natural, los machos y hembras se reprodujeron en parte por la estimulación del ciclo de luz, alrededor de las 9 de la mañana. Los embriones recién fertilizados fueron recolectados, se enjuagaron con agua del grifo para ser transferidos en medio

estándar E3 formulado con cloruro de sodio (NaCl) 5 mM, cloruro de potasio (KCl) 0.17 mM, cloruro de calcio (CaCl_2) 0.33 mM, sulfato de magnesio (MgSO_4) 0.33 mM y azul de metileno. Los embriones se mantuvieron en incubación a 28.5 °C durante el transcurso de los experimentos

4.1.3 Reactivos

Para la inducción de los estados hipotiroideos e hipertiroideos se empleó medio estándar E3 como control, ácido iopanoico (IOP) (Sigma-Aldrich) 5 μM para mimetizar un estado hipotiroideo y triyodotironina (T3) (Sigma-Aldrich) 0.025 nM para inducir un estado hipertiroideo.

La extracción del ARN se realizó utilizando Trizol (Invitrogen), cloroformo, isopropanol, etanol al 70%, etanol anhidro y agua tratada con dietilpirocarbonato (DEPC, Thermo Scientific). Para la retrotranscripción se empleó un kit de síntesis de ADNc de primera cadena RevertAid (Thermo Scientific) a partir de 500 ng de ARN total. La cuantificación de los ARNm se llevó a cabo utilizando “Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix” (Thermo Scientific), agua libre de ARNasa y oligonucleótidos específicos (T4OLIGO) (Ver Cuadro 4).

Para examinar la citoarquitectura de la retina, se realizaron cortes histológicos utilizando paraformaldehído al 4% (PFA, Thermo Fisher SCIENTIFIC), tampón fosfato salino al 1x (PBS, Thermo Fisher SCIENTIFIC), sacarosa y medio de congelación de tejidos (TFM, Leica BIOSYSTEMS). Los tejidos se tiñeron con hematoxilina y eosina para visualizar las estructuras celulares.

4.1.4 Equipos

Microscopio óptico (Leica BIOSYSTEMS), microscopio estereoscópico SteREO Discovery.V8 (ZEISS), incubadora, transiluminador Hoefer, campana de flujo laminar, centrífuga (Bio-Rad), espectrofotómetro NanoDrop (Thermo Fisher SCIENTIFIC), cámara de electroforesis (Bio-Rad), termociclador (Thermo Fisher SCIENTIFIC), termociclador QuantStudio1 (QS1, Thermo Fisher Scientific) y fotodocumentador (Bio-Rad).

4.2 Métodos

4.2.1 Inducción de estados hipo e hipertiroideos

Se generaron estados hipotiroideos e hipertiroideos mediante la adición de IOP y T3 exógena respectivamente en el medio de cultivo de los embriones recién fertilizados. El experimento constó de tres grupos con 40 larvas cada uno: dos grupos experimentales, uno tratado con IOP 5 μ M y otro con T3 en una concentración de 0.025 nM, así como un grupo control en medio E3. Los tratamientos en todos los grupos fueron agregados a las 6 horas post-fertilización (hpf) y se cambiaron cada 24 h hasta los 4 dpf (un total de 5 tratamientos). Al 5 dpf se culminó el experimento.

4.2.2 Histología

Se fijaron larvas de 5 dpf en PFA al 4% y se dejaron incubando toda la noche a 4 °C. A la mañana siguiente se realizaron tres lavados consecutivos con PBS de 10 min cada uno. Los tejidos se criopreservaron en sacarosa al 30 % p/v y se mantuvieron a 4 °C hasta su uso. Las muestras fueron enviadas a la unidad de microscopía del Instituto de Neurobiología (INB), en donde se realizaron cortes de 12 micras en el criostato y se utilizaron las tinciones de hematoxilina-eosina para comparar la

morfología de las capas retinianas. Los datos para el análisis de la morfología de las capas de la retina se obtuvieron mediante el promedio de mediciones de tres sectores: una en la parte central (cercana al nervio óptico), una en la parte dorsal y una en la parte ventral en micrografías de los cortes histológicos.

4.2.3 Análisis conductual

Se realizaron ensayos conductuales de preferencia de color siguiendo el protocolo reportado por Park y col. (2016) con algunas modificaciones descritas a continuación. Se utilizaron laberintos cruzados de cuatro brazos de colores (rojo, azul, verde y amarillo) de 1.5 cm por lado, elaborados con hojas de acrílico pintadas de un color diferente por brazo. Se seleccionaron 10 larvas de pez cebra de 5 dpf de cada uno de los grupos control, tratados con T3 y tratados con IOP. La prueba se llevó a cabo en los laberintos aislados, colocados sobre un transiluminador Hoefer con luz visible y se tomó evidencia fotográfica cada 3 minutos en un periodo de media hora para determinar la posición de las larvas. Se cuantificó el porcentaje de la localización de estas en cada brazo de color, en una escala del 1-100 %, promediando el número de larvas en cada color a partir del tiempo 0 hasta los 30 minutos del ensayo.

4.2.4 Disección de retinas

Las larvas de pez cebra fueron crioanestesiadas mediante inmersión en medio E3 a 4 °C durante 20 minutos, lo cual disminuyó su movimiento y sensibilidad. Utilizando un microscopio estereoscópico SteREO Discovery.V8 (ZEISS), se realizaron disecciones de los ojos de las larvas a los 3, 4 y 5 dpf para la ontogenia, y a los 5 dpf para cada grupo en el experimento de inducción de estados hipo e hipertiroideo. Las disecciones se realizaron siguiendo el protocolo de Zhang y Leung, (2010) con

algunas modificaciones descritas a continuación. Se transfirieron grupos de tres larvas a placas Petri de vidrio de 10 cm de diámetro, a las cuales se les agregó suficiente medio E3 para mantenerlas hidratadas. Utilizando la punta de un bisturí, se fijó la cabeza de la larva en la placa Petri, mientras que con otro bisturí se realizó un corte rápido de la cabeza que incluyó parte del tronco anterior del cuerpo. Luego, con la punta de un bisturí, se levantó suavemente el ojo desde el lado lateral posterior hacia el lado anterior, y en caso necesario, se eliminó el exceso de tejido circundante. Utilizando una pipeta Pasteur de plástico de 1 mL, los ojos se colectaron y se transfirieron a microtubos de 1.5 mL que contenían medio E3, hasta terminar la disección de todas las larvas, con un total de ~40 pares de ojos. Una vez finalizada la disección, se retiró el exceso de medio E3 y se añadieron 300 μ L de TRIzol para conservar el tejido y almacenarlos a -80 °C.

4.2.5 Extracción de ARN

Las muestras embebidas en TRIzol se descongelaron manteniéndolas en todo momento a 4 °C. Posteriormente, el tejido fue homogeneizado y se añadió 1 μ L de cloroformo por cada 5 μ L de TRIzol utilizado, mezclando vigorosamente. Las muestras se centrifugaron a 12 000 revoluciones por minuto (rpm) durante 15 min a 4 °C, seguidamente se transfirió la fase acuosa a microtubos estériles y, se añadió 1 μ L de isopropanol por cada 2 μ L de TRIzol; finalmente se dejaron incubando durante 10 minutos a temperatura ambiente. Nuevamente se centrifugaron con las condiciones ya descritas y se decantó el excedente de isopropanol. Se hizo un lavado con 1 volumen de etanol al 70% (relación 1:1 v/v con respecto al TRIzol), para luego centrifugar a 12 000 rpm durante 5 min a 4 °C. Se retiró el etanol al 70% para añadir

el mismo volumen de etanol anhidro y se centrifugaron durante 5 minutos con las condiciones descritas previamente. A continuación, se decantó el etanol y se dejaron secar las “pastillas” que contienen el ARN por aproximadamente 1 min y como último paso, se agregó agua DEPC previamente calentada a 65 °C para eluirlo en un volumen final de 15 µL. Las concentraciones y puezas del ARN se obtuvieron con un espectrofotómetro NanoDrop. Para verificar la integridad del ARN, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 0.8 % p/v, cargando 2 µL de muestra, 4 µL de agua libre de ARNasas y 4 µL de tampón de carga en cada pocillo, el gel se visualizó con un fotodocumentador Bio-Rad.

4.2.6 RT-PCR

El ARN se transcribió inversamente hacia ADN complementario (ADNc) con el uso de 1 µL de transcriptasa reversa a partir de 2 µg de ARN total, 1 µL de oligo dT, 1 µL de dNTPs, 8 µL de agua libre de ARNasas, 4 µL de tampón 5X RT, 1 µL de DNasa I, 1 µL de inhibidor de ARNasas y 2 µL de DTT por cada muestra. Los productos de ADNc se obtuvieron con las siguientes condiciones: 37 °C por 30 min, 70 °C por 5 minutos, 4 °C por 5 minutos, 42 °C por 60 minutos, 70 °C por 15 minutos y mantener a 4 °C.

4.2.7 qPCR

Para este trabajo se utilizaron los oligonucleótidos señalados en el Cuadro 4, los cuales sirvieron para cuantificar la expresión relativa de ARNm de elementos de la señalización tiroidea durante el desarrollo de la retina y después del tratamiento farmacológico en el pez cebra. Específicamente se analizaron la desyodasa 2 (*dio2*), un parálogo de la desyodasa 3 (*dio3b*), un transportador específico de HT, el

transportador de monocarboxilatos 8 (*mct8*), tres receptores de HT incluyendo un parólogo de TR α (*thrab*) y dos isoformas de TR β 2 (*Is-thrb* y *I-thrb+*). Los oligonucleótidos se compraron en la casa comercial T4 oligos, con purificación en HPLC a escala de 50 nM.

Cuadro 4. Oligonucleótidos para qPCR.

| Gen | Secuencia 5'-3' | Función |
|----------------|------------------------------|-------------------|
| <i>18s</i> | Fw-GAACGCCACTTGTCCCTCT | Gen de referencia |
| | Rv-GTTGGTGGAGCGATTTGTCT | |
| <i>Act</i> | Fw- TGAATCCCAAAGCCAACAGAG | Gen de referencia |
| | Rv- CCAGAGTCCATCACAATACCAG | |
| <i>dio2</i> | Fw- GCAGCGCATGTTAACCACAG | Desyodasa |
| | Rv- GTTGTGGGTCTTACCGCTGG | |
| <i>dio3b</i> | Fw- AGGGCTCCGCAGGTGTG | Desyodasa |
| | Rv- AGGAAGTCCAGCAGGCAGGG | |
| <i>mct8</i> | Fw- GTTCGGGAGGATCGGAGACC | Transportador |
| | Rv- AACACGGGCACACTGAGGAAT | |
| <i>thrab</i> | Fw- GGATGGAAATAAGGTGAATGGAAC | Receptor nuclear |
| | Rv- GGTAGTGATATCCGGTAGCTTTG | |
| <i>Is-thrb</i> | Fw- AGAAGACTGTATGGGATCGAC | Receptor nuclear |
| | Rv- GGCTTGGCTTCCTTCACCC | |
| <i>I-thrb+</i> | Fw- GAACCACAGCCGTTACACCA | Receptor nuclear |
| | Rv- CACTGCATCTGAGAGAAATCC | |

Con el ADNc se realizó una qPCR en el termociclador QuantStudioTM1 (QS1, Thermo Fisher SCIENTIFIC). Se utilizó una dilución 1:10 del ADNc de cada tratamiento. Se utilizó la mezcla de PCR “Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix” (Thermo Scientific). La reacción final fue de 8 μ L: 2 μ L de ADNc y 6 μ L de la mezcla Maxima syber (dentro de la mezcla se adicionó 0.32 μ M de cada oligonucleótido específico). Las condiciones de amplificación fueron: 1 ciclo de desnaturalización a 95 °C por 10 min, seguida de 10 s a 95 °C, 10 s a 60 °C y 10 s a 72 °C durante 45 ciclos.

Se determinaron los niveles de expresión del ARN mensajero utilizando el método de qPCR relativo de Ct comparativo ($2^{-\Delta\Delta C_t}$), en el que se usaron dos genes de

referencia: 18s y Act. El valor de Ct del control se obtuvo de la media geométrica entre los Cts del 18s y Act (ΔCt), en donde se obtuvo la resta el Ct del gen blanco menos el Ct promedio de los genes de referencia. El $\Delta\Delta Ct$ se obtuvo de restar el ΔCt del calibrador al ΔCt de los grupos experimentales. La expresión de ARNm se evaluó a los 3, 4 y 5 días dpf, el valor del 3 dpf se normalizó a 1 para tomarlo como valor basal y evaluar los patrones de expresión de cada gen durante el desarrollo.

4.2.8 Análisis estadístico

La diferencia de la expresión relativa de ARNm en la ontogenia y en los tratamientos farmacológicos se evaluó mediante la prueba ANOVA de dos vías y las pruebas post hoc de Tukey y Dunnett respectivamente, utilizando el software GraphPad Prism 8. Los datos de los experimentos por triplicado se expresaron como la media \pm SEM (error estándar de la media), donde $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo.

4.2.9 Manejo de residuos

El manejo y procesamiento de material biológico utilizado en este proyecto de investigación se realizó en la unidad del bioterio del INB, UNAM. El cual fue evaluado y aprobado previamente por el Comité de Ética en Investigación del INB, UNAM y por el Comité de Bioética de la Facultad de Química, UAQ. Cumpliendo con los criterios de ética para el manejo e implementación de peces cebras, apegado a los estándares internacionales de los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos. Los desechos de reactivos que se emplearon fueron manejados por la empresa EGSA Environmental “Grupo EGSA Ambiental”.

5. RESULTADOS

5.1 Ontogenia de los componentes de la señalización tiroidea en la retina del pez cebra

En la Figura 6 se muestra la expresión relativa del ARNm de dos desyodasas de HT: la desyodasa 2 (*dio2*) y un parálogo de la desyodasa 3 (*dio3b*); un transportador específico de HT, el transportador de monocarboxilatos 8 (*mct8*); así como tres receptores de HT, que incluyen un parálogo de TR α (*thrab*) y dos isoformas del TR β 2 (*ls-thrb* y *l-thrb*).

Como se observa en la Figura 6A, la expresión de *dio2* se incrementó a lo largo del experimento, comparado con el día 3 dpf, se llega a un máximo de expresión relativa de 1.67 (± 0.161) a los 4 dpf, mientras que hubo decremento al día 5 dpf (1.50 ± 0.409). estos cambios no alcanzaron significancia estadística.

La expresión de *dio3b* (Figura 6B) tuvo un incremento sostenido a lo largo del tiempo, a los 4 dpf alcanzó un valor de expresión relativa de 5.92 (± 0.766), y aumentó significativamente a los 5 dpf (15.56 ± 3.40). Comparado con el día 3 dpf, no hay cambios estadísticamente significativos a los 4 dpf. Por el contrario, al día 5 dpf hubo un aumento significativo evidente de 14.56 y 9.64 veces a los 3 y 4 dpf, respectivamente.

El transportador *mct8* (Figura 6C) mostró un aumento sostenido en su perfil de expresión. Al día 4 dpf incrementó a un valor de expresión relativa de 2.16 (± 0.379) y a los 5 dpf alcanzó su máximo con una expresión de 2.57 (± 0.223). Tuvo cambios estadísticamente significativos a los días 4 y 5 dpf con respecto al valor basal de los 3 dpf.

En la Figura 6D se observa la expresión de ARNm de *thrab*, la cual muestra un patrón de expresión similar al de *mct8*, con un aumento sostenido a lo largo del experimento, de 2.44 (± 0.504) veces a los 4 dpf y un máximo de 2.69 (± 0.166) a los 5 dpf. Estos cambios fueron estadísticamente significativos en relación con los 3 dpf.

La expresión de *ls-thrb* (Figura 6E) incrementó a lo largo del tiempo, para los 4 dpf alcanzó un valor de expresión relativa de 2.50 (± 0.566) y para los 5 dpf alcanzó su máximo con un valor de 2.88 (± 0.464) comparado con los 3dpf. El valor obtenido a los 4 dpf no mostró diferencia estadísticamente significativa a pesar de haber aumentado 1.5 veces más con respecto a los 3 dpf. Por otro lado, a los 5 dpf la expresión mostró un aumento significativo con respecto al valor basal (3dpf).

En la Figura 6F se muestra la expresión de ARNm de *l-thrb+*, se puede observar un incremento lo largo del desarrollo de la retina. A los 4 dpf se alcanzó un valor de 1.62 (± 0.174) y a los 5 dpf hubo un aumento a 1.69 (± 0.250). Sin embargo, dichos aumentos en la expresión no son diferentes estadísticamente.

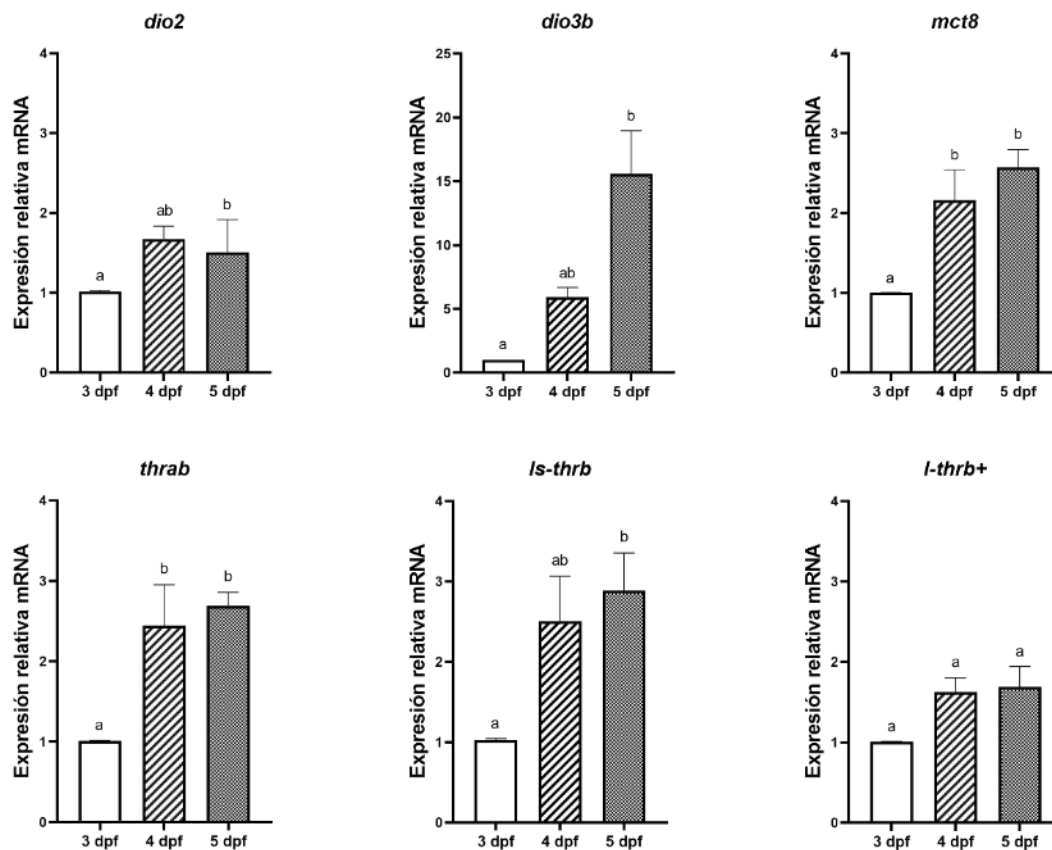


Figura 6. Expresión relativa de ARNm de las desyodasas, transportadores y receptores de HT durante el desarrollo del pez cebra. Las columnas muestran valores medios \pm SEM de 3 experimentos independientes. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA unidireccional con comparaciones múltiples y post hoc de Tukey. Significancia estadística $\alpha=0.05$ de intervalo de confianza.

5.2 Efectos del tratamiento farmacológico con T3 o IOP en la expresión génica de los componentes de la señalización tiroidea

Se evaluó la expresión relativa del ARNm de los mismos genes medidos en el apartado V.1. La medición se realizó a los 5 dpf después de la manipulación del estatus tiroideo mediante tratamiento farmacológico con T3 o IOP.

En la Figura 7A se muestra la expresión de ARNm de *dio2*, se observa que hay una ligera disminución de la expresión en los grupos tratados con T3 y IOP respecto al grupo control. La T3 exógena disminuyó la expresión de *dio2* a $0.608 (\pm 0.608)$ pero

no tuvo significancia estadística. Mientras que el IOP causó un decremento estadísticamente significativo en comparación con el grupo control (Ctrl: 1.007 ± 0.004 vs IOP: 0.478 ± 0.177).

Por otro lado, el tratamiento con IOP causó un aparente incremento en la expresión de *dio3b* (Figura 7B) alcanzando un valor de $1.440 (\pm 0.472)$. Sin embargo, a pesar de que hubo un aumento del 42.3% en comparación al control, no fue estadísticamente diferente. De igual manera, la adición de T3 no causó alteraciones en la expresión de *dio3b* y presentó valores muy similares al grupo control (Ctrl: 1.017 ± 0.011 vs T3: 1.057 ± 0.32).

Como se observa en la Figura 7C, la T3 incrementó la expresión de *mct8* a un valor de $1.5656 (\pm 0.394)$. No obstante, aunque hay un aumento del 55.62% respecto al control, este cambio no fue estadísticamente significativo. Mientras que el IOP no mostró diferencia estadística en el patrón de expresión de este transportador cuando se compara con el control (Ctrl: 1.010 ± 0.003 vs IOP: 1.286 ± 0.021).

La expresión de *thrab* (Figura 7D) mostró un decremento discreto en los grupos tratados respecto al grupo control. La T3 disminuyó la expresión de *thrab* a $0.905 (\pm 0.061)$, de igual manera el IOP disminuyó la expresión a $0.869 (\pm 0.015)$, siendo este último estadísticamente significativo.

En la Figura 7E se observa la expresión de ARNm de *ls-thrb*, la cual muestra un patrón de expresión similar al de *mct8*, con un aumento en la expresión en el grupo tratado con T3 (Ctrl: 1.009 ± 0.005 vs T3: 1.671 ± 0.670), mientras que los tratados con IOP son similares al control (Ctrl: 1.009 ± 0.005 vs IOP: 0.988 ± 0.270). Sin

embargo, a pesar de que con la hormona T3 hubo un aumento del 66.1%, ninguno de los tratamientos tuvo una expresión estadísticamente significativa de *Is-thrb*.

Finalmente, en la Figura 7F se muestra que la T3 no modificó la expresión de *I-thrb+* (Ctrl: 1.011 ± 0.005 vs T3: 1.056 ± 0.049). En cambio, el tratamiento con IOP tuvo una ligera disminución (Ctrl: 1.011 ± 0.005 vs IOP: 0.842 ± 0.166), sin embargo, la diferencia no es estadísticamente significativa.

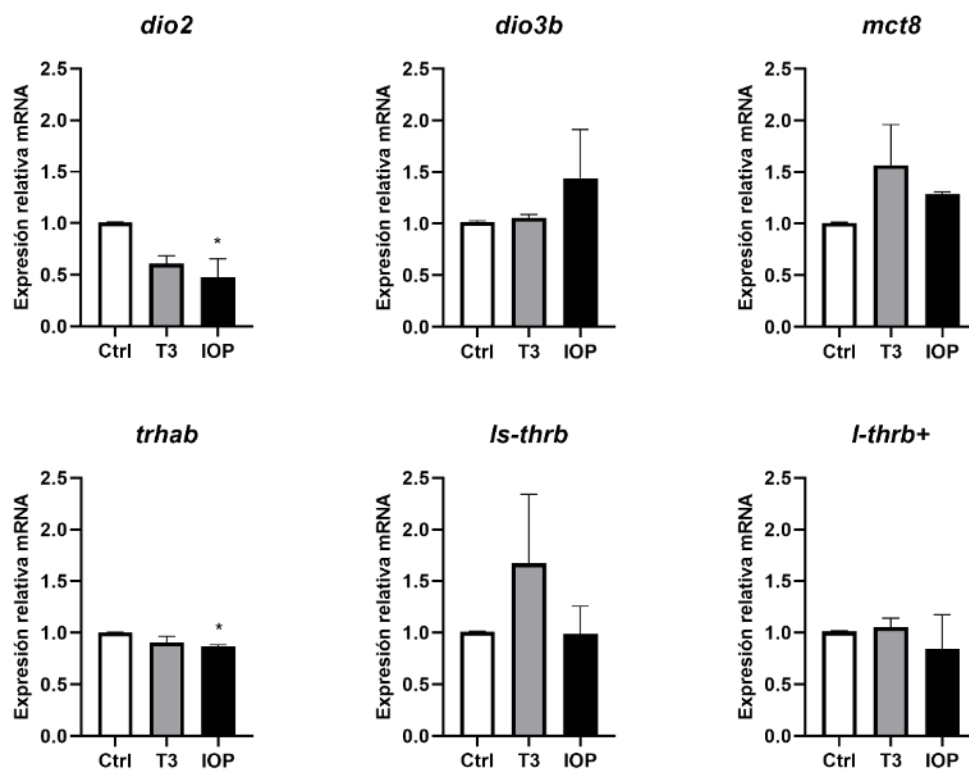


Figura 7. Regulación de la expresión génica mediada por T3 exógena o IOP. Las columnas muestran valores medios \pm SEM (n=4) de experimentos independientes. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA unidireccional con comparaciones múltiples y post hoc de Dunnett. *: $p < 0.05$.

5.3 Efectos del tratamiento farmacológico con T3 o IOP sobre la morfología de las capas de la retina

Con el objetivo de evaluar si el tratamiento con T3 exógena o IOP también altera la morfología de la retina, analizamos las capas nucleares externa (ONL), interna (INL)

y la ganglionar (GCL) en cortes histológicos transversales de retinas de larvas a los 5 dpf.

En la Figura 8 se muestran las micrografías de las retinas de las larvas de pez cebra a los 5 dpf de los grupos control (Figura 8B), tratados con T3 (Figura 8C) y tratados con IOP (Figura 8D). En las retinas de las larvas tratadas con T3 (Figura 8C), se observa un desarreglo de la estratificación los núcleos celulares en la GCL, además de la ausencia de un límite bien definido en la INL. Además, se identifican algunos núcleos después de los tratamientos con T3, en la capa plexiforme interna (IPL), ubicada entre la GCL y la INL, lo cual es notable ya que esta capa carece de núcleos, siendo una región de conexiones sinápticas entre los axones de las células bipolares y las dendritas de las células amacrinas y ganglionares (Mahabadi y Al Khalili, 2023). Similar a la retina del grupo tratado con T3, el grupo tratado con IOP (Figura 8D) también muestra desarreglo en la GCL y presencia de algunos núcleos en la IPL.

Las mediciones del grosor de las capas de la retina, expresadas en micrómetros (μm), para los grupos control, tratados con T3 y tratados con IOP se presentan en las gráficas correspondientes a la ONL (Figura 8E), la INL (Figura 8F) y la GCL (Figura 8G).

El tratamiento con T3 y con IOP no generó alteraciones en el grosor de la ONL (Figura 8E). El grupo tratado con T3 presentó un grosor de $12.210 (\pm 0.148)$, mientras que el grupo tratado con IOP mostró un grosor de $11.314 (\pm 0.725)$. Ambos valores fueron muy similares al grupo de control (11.492 ± 0.730), y no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

La Figura 8F representa las mediciones de la capa INL, donde los valores del grupo tratado con T3 exhibieron un leve aumento en el grosor de esta capa (Ctrl: 19.967 ± 0.587 vs T3: 22.983 ± 1.810); sin embargo, esta diferencia no alcanzó diferencia estadística. En cuanto al grupo tratado con IOP, sus valores fueron comparables a los del grupo control (Ctrl: 19.967 ± 0.587 vs. IOP: 18.448 ± 0.872), y esta variación tampoco resultó estadísticamente significativa.

Tal como se observa en la Figura 8G, el grosor de la capa GCL en el grupo tratado con T3 experimentó un incremento en comparación con el valor del grupo de control (Ctrl: 15 ± 0.453), llegando a un valor de $18.368 (\pm 0.748)$ y logrando significancia estadística. Por otro lado, el grupo tratado con IOP mostró una ligera disminución en comparación con el grupo de control (Ctrl: 15 ± 0.453 vs. IOP: 12.626 ± 0.976). No obstante, esta variación no fue diferente estadísticamente significativa.

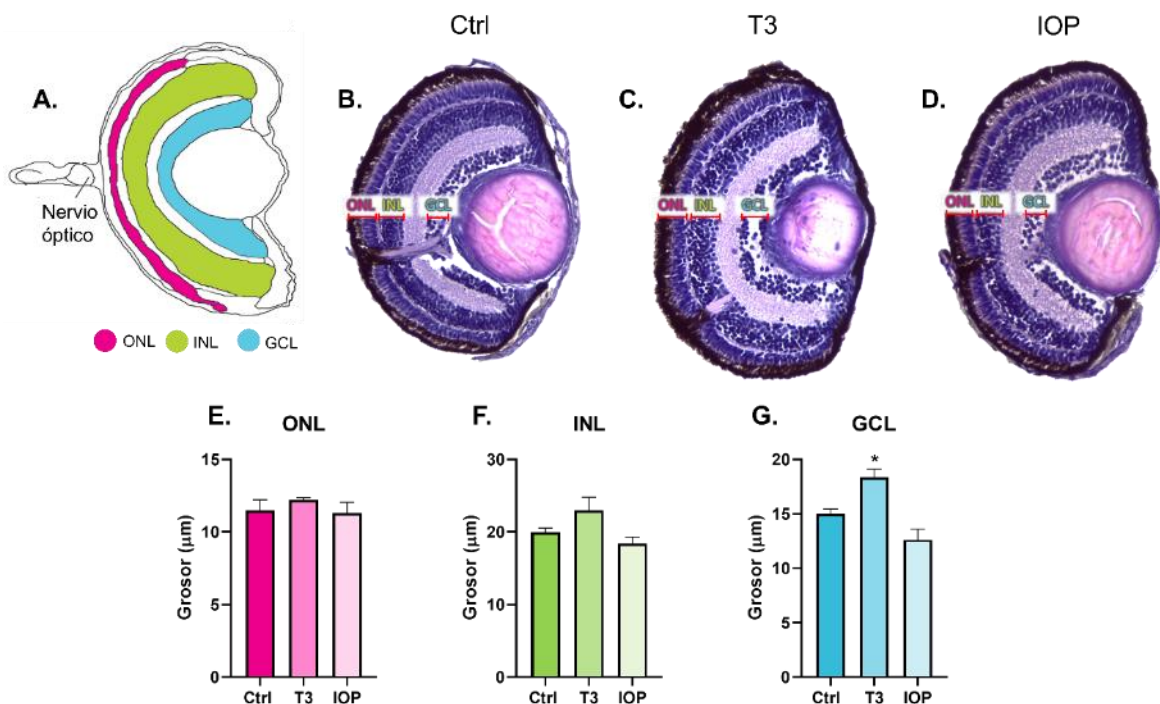


Figura 8. Morfología de las capas de la retina del pez cebra después de los tratamientos con T3 o IOP. A. Representación esquemática de las capas de la retina que fueron

analizadas. B-D. Micrografías de cortes histológicos transversales de retinas de larvas de pez cebra a los 5 dpf de los grupos control (Ctrl), T3 y IOP teñidas con hematoxilina-eosina. E-G. Cuantificación del grosor de las capas de la retina expresadas en μm . ONL: capa nuclear externa, INL: capa nuclear interna, GCL: capa de células ganglionares. Los datos se presentan como media \pm ESM. $n=3$ por grupo. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA unidireccional con comparaciones múltiples y post hoc de Dunnett. *: $p<0.05$.

5.4 Efectos del tratamiento farmacológico con T3 o IOP en la

preferencia de color

Con el propósito de determinar si la manipulación farmacológica mediante T3 o IOP también ejercía un impacto fisiológico en la detección de colores, se llevó a cabo un ensayo conductual, con larvas de pez cebra a los 5 dpf. Este ensayo evalúa la preferencia de color tal como se describe en el apartado IV.2.3. Los valores del grupo control fueron normalizados a 100% en los cuatro colores (azul, rojo, amarillo y verde) para facilitar su interpretación.

La Figura 9A muestra la preferencia al color azul en los grupos control, T3 y IOP. La administración de T3 exógena no generó cambios en la preferencia por este color, exhibiendo valores similares al grupo de control (Ctrl: 100 ± 8.574 vs T3: 103.092 ± 9.988). Por otro lado, el tratamiento con IOP mostró una disminución en la preferencia por el color azul, con una disminución del 23.83% (± 12.865), alcanzando significancia estadística.

El tratamiento con T3 exhibió una disminución significativa del 34.09% (± 19.006) en la preferencia por el color rojo (Figura 9B) en comparación con el grupo de control. De manera similar, el grupo tratado con IOP experimentó una leve disminución cuando se le compara con el grupo control (Ctrl: 100 ± 20.171 vs IOP: 85.723 ± 22.238); no obstante, este cambio no alcanzó diferencias estadísticas.

Como se observa en la Figura 9C, la preferencia del color amarillo en el grupo tratado con T3 presentó una disminución sutil, con valores semejantes al control (Ctrl: 100 ± 30.683 vs 92.076 ± 28.552); sin embargo, esta variación no resultó estadísticamente significativa. Por el contrario, el tratamiento con IOP mostró un aumento significativo estadísticamente en la preferencia por el color amarillo, aumentando el 48.73% (± 41.771).

Finalmente, se notó un incremento en la preferencia por el color verde (Figura 9D) tanto en el grupo tratado con T3 como en el grupo tratado con IOP. El grupo T3 experimentó un aumento del 24.31% (± 36.302), mientras que el grupo IOP mostró un incremento estadísticamente significativo del 78.31% (± 48.38).

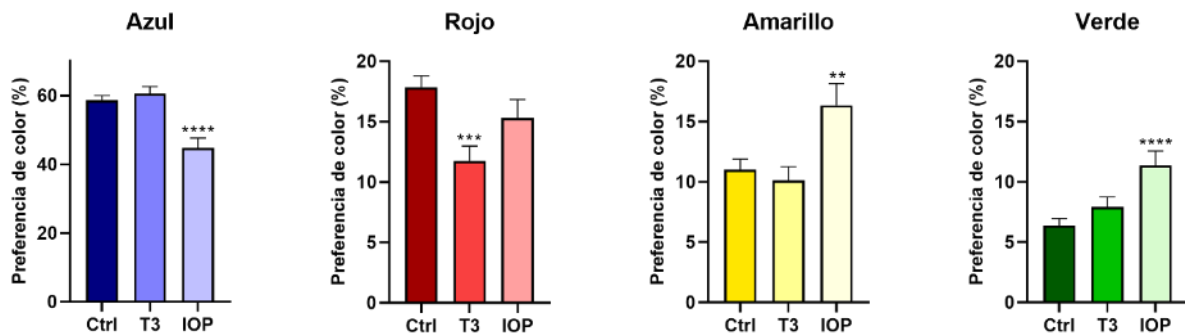


Figura 9. Prueba de preferencia de color en un laberinto de cruz de colores. Las columnas muestran valores medios \pm SEM ($n=5$) de múltiples experimentos independientes. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA unidireccional con comparaciones múltiples y post hoc de Dunnett. Los asteriscos indican, **: $p<0.01$; ***: $p<0.001$; ****: $p<0.0001$.

6. DISCUSIÓN

Las HTs son de vital importancia para diversos procesos fundamentales durante las etapas embrionarias, como la diferenciación celular, la neurogénesis y el desarrollo de órganos a través de sus receptores nucleares. Se ha reportado que la señalización tiroidea desempeña un papel crucial en la maduración del miocardio fetal (Galow y col., 2023), la diferenciación de oligodendrocitos (Baldassarro y col., 2019;), el desarrollo de la cóclea (Bai y col., 2023), el cerebro (Alcaide Martin y Mayerl, 2023) y la retina (Yang y col., 2018).

En el caso específico de la retina, se ha demostrado que las HTs, a través de sus TRs que actúan como factores de transcripción dependientes de ligando, están implicadas en los mecanismos del desarrollo de la retina, especialmente en la diferenciación de los fotorreceptores (McNerney y Johnston, 2021). Existen evidencias que demuestran que las HTs regulan el patrón de expresión diferencial de los genes de opsinas de cono sensibles a longitudes de onda media y larga (Mackin y col., 2019); y que el receptor TR β 2 es necesario para el desarrollo de conos rojos (Deveau y col., 2020). Sin embargo, no se ha estudiado de manera integral como otros elementos de la señalización tiroidea como los transportadores y las enzimas desyodasas se regulan durante el desarrollo temprano de la retina del pez cebra.

Por tal motivo, en este estudio se reporta la dinámica de la expresión de los elementos de la señalización tiroidea durante el desarrollo temprano en retinas de larvas de pez cebra. Se observó un aumento significativo en la expresión de todos los genes analizados los cuales incluyen a las enzimas que activan y desactivan a

las HTs, *dio2* y *dio3b* respectivamente; al transportador de HTs *mct8* así como a diferentes genes que codifican para los receptores de HTs como el *thrab* y el *ls-thrb*. Únicamente la expresión de una isoforma del receptor a HTs, el *l-thrb*+, no exhibió cambios estadísticamente significativos. La expresión consistente del *l-thrb*+, un homólogo funcional del *thrb* en humanos y ratones (Lazcano y col., 2023), podría deberse a que tiene una expresión restringida, limitada a los conos y precursores de conos (McNerney y Johnston, 2021). Así mismo, investigaciones ontogenéticas de los genes de la señalización de las HTs en larvas completas de pez cebra han reportado que los niveles de *thrb* no cambian significativamente a lo largo del desarrollo temprano (Walter y col., 2019b; Walter y col., 2019c). Esto sugiere que hay una expresión constante de este gen desde los 3 dpf. Vale la pena mencionar que no se pudo analizar la expresión de este gen en ventanas de tiempo más tempranas (por ejemplo, a 1 o 2 dpf) debido a las limitaciones metodológicas que conlleva aislar ojos en estas etapas del desarrollo.

En contraste, *dio3b*, la enzima que inactiva a las HTs, fue el gen que mostró el mayor aumento de expresión a lo largo del periodo analizado. Esto podría explicarse en parte porque esta enzima, Dio3b, se expresa en la mayoría de los tipos celulares de todas las capas de la retina, especialmente en la INL y el RPE (Le Blay y col., 2018; McNerney y Johnston, 2021). En larvas de pez cebra, se ha observado que la inhibición de *dio3b* mediante un morfolino (D3bMO), se asocia con un incremento en los niveles de T3 y está asociada con alteraciones en el desarrollo ocular, como la reducción del tamaño del ojo (Baumann y col., 2019), desorganización en todas las capas de la retina y muerte celular de fotorreceptores, especialmente de conos (Gölz

y col., 2022). De manera similar, en *Xenopus laevis*, se ha demostrado que DIO3 desempeña un papel regulador en la inhibición de la proliferación inducida por T3, evitando un crecimiento asimétrico en la retina durante la metamorfosis (Gothié y col., 2020). Además, la maduración retiniana en embriones premetamórficos de *Xenopus laevis* está controlada a nivel celular por Dio3, cuya mayor expresión en fotorreceptores y células de la INL sugiere que protege a la retina de los niveles crecientes de HTs que desencadenarán la prometamorfosis (Le Blay y col., 2018). Además, su actividad temprana sugiere una posible función moduladora frente a la señalización de HTs producidas durante el desarrollo temprano; por lo tanto, los niveles elevados de *dio3b* podrían estar relacionados con el balance de esta enzima frente a las concentraciones endógenas de HTs, que se inicia justo a partir de los 3 dpf en el pez cebra (Walter y col., 2019c). Esta protección contribuiría a la maduración prematura inducida por HTs de las células de la retina, permitiendo el desarrollo de una retina funcional (Gölz y col., 2022).

Paralelamente, en otros modelos experimentales se ha observado que la señalización de las HTs es crucial para la regulación del destino del subtipo de cono. En ratones, se han reportado que los niveles bajos de T3 regulados por la acción de la enzima DIO3, favorecen la especificación temprana de los conos S en las primeras etapas del desarrollo de la retina (Eldred y col., 2020). Del mismo modo, en organoides de retina humana, se ha observado un mecanismo similar, en el que inicialmente se especifican los conos S, seguidos de los conos L y M; este cambio en la especificación temporal estaba controlado por los niveles de T3, mediados a

través de la expresión temprana de *DIO3* y una expresión tardía de *DIO2* (Eldred y col., 2018).

Considerando los estudios anteriores y los resultados de esta investigación, la expresión al alta de *dio3b* parece estar relacionada con la regulación de la concentración y la acción local de las HTs, promoviendo una aparente protección a las células retinianas contra la muerte celular inducida por T3 y desempeñando un papel crucial en la diferenciación temporal y específica de la retina. En un estudio reciente publicado por nuestro grupo de trabajo se encontró que la mutación en el gen de *dio3b* altera la morfología de las capas de la retina (Lazcano y col., 2024). Por lo tanto, los datos encontrados en esta tesis y los que se realizaron en paralelo demuestran que la enzima Dio3b es crucial para la correcta maduración de la retina durante el desarrollo temprano del pez cebra.

Investigaciones previas han demostrado que las HTs son fundamentales para el desarrollo temprano de la retina y que los desequilibrios hormonales pueden causar defectos durante este proceso (Eldred y col., 2018; Nicolini y col., 2024). Por lo cual, para inducir la disrupción en la señalización tiroidea y observar sus efectos en el desarrollo de la retina, empleamos protocolos para inducir hipotiroidismo e hipertiroidismo mediante la administración de HTs exógenas (hipertiroidismo) y el empleo del IOP (hipotiroidismo), seguidamente evaluamos si estos desequilibrios hormonales afectan la expresión génica de los componentes de la señalización tiroidea.

Para investigar los efectos del hipertiroidismo, se expuso a las larvas del pez cebra a concentraciones de T3 a 0.025 nM desde las 6 hpf hasta los 5 dpf.

Sorprendentemente, los resultados mostraron que la expresión de los genes analizados no presentó cambios significativos. Es posible que esta falta de variación se deba a que el análisis se realizó en una única ventana temporal, en lugar de varios puntos específicos a lo largo del desarrollo. Esto podría haber permitido una regulación compensatoria de los elementos implicados en la señalización tiroidea, limitando las respuestas a la T3 y regulada por el circuito de retroalimentación negativa a través del eje HPT (Giammanco y col., 2020). Por lo tanto, sería relevante investigar este aspecto a futuro mediante el análisis de muestras adicionales que incluyan etapas de desarrollo más tempranas. Es importante destacar que el eje HPT ayuda a mantener los niveles circulantes de HTs dentro de los rangos fisiológicos normales, protegiendo al organismo de fluctuaciones en sus concentraciones (Shahid y col., 2023).

Por otro lado, para simular el hipotiroidismo durante el desarrollo temprano, las larvas de pez cebra fueron expuestas al IOP desde las 6 hpf hasta a los 5 dpf. Con este tratamiento solo los niveles del ARNm de la *dio2* se regularon a la baja. Mientras que, de los *TRs*, solo el *thrab* mostró cambios estadísticamente significativos después del tratamiento con IOP. Esto sugiere que, de todos los elementos de la señalización tiroidea, solo la *dio2* y el *thrab* son sensibles al hipotiroidismo. Los mecanismos por los que ocurre esta regulación negativa en esta condición podrían ser estudiadas a profundidad en un futuro. No obstante, la reducción en la expresión del *thrab* podría estar relacionado con niveles reducidos de las HTs dentro de las células, tal como señalan Zada y col., (2014) en peces cebra mutantes de *mct8* (*mct8* $-/-$). Por lo que se puede concluir que este modelo de hipo e hipertiroidismo no induce cambios

drásticos en la expresión de los genes de la señalización tiroidea. Esto sugiere la existencia de mecanismos de autorregulación que mantienen su expresión dentro de un rango estable, posiblemente a través de la retroalimentación negativa del eje HPT, modulada por las propias HT (Jallad y col., 2020).

Por otra parte, se encontró que la desregulación del estatus tiroideo afecta el desarrollo de la retina, dando como resultado alteraciones de la estratificación de los núcleos celulares y en el tamaño de la GCL evaluada a los 5 dpf. Estudios previos han demostrado que sustancias químicas disruptoras endócrinas, como el propiltiouracilo (PTU), el tetrabromobisfenol A (TBBPA), el perclorato (PCL) y el ácido iopanoico (IOP), alteran el tamaño de la IPL y la INL, además de inducir una disminución en el número de células ganglionares y provocar alteraciones estructurales en los fotorreceptores de la retina del pez cebra (Baumann y col., 2019; Gözl y col., 2022). De manera similar, se ha reportado que en larvas de pez cebra morfantas de *dio1* y *dio2*, la GCL tenía un mayor grosor pero menor densidad celular, mientras que morfantas de *dio3b* (condición que incrementa los niveles de T3), se observó una marcada desorganización en todas las capas retinianas, así como la generación y posterior pérdida de conos debido a muerte celular (Baumann y col., 2019; Houbrechts y col., 2016). Estos hallazgos sugieren que el hipertiroidismo podría estar asociado con el aumento en el grosor de la capa GCL, junto con la reducción y desorganización celular observados en las retinas del grupo tratado con T3. Lo anterior podría derivarse de una diferenciación anómala de células progenitoras retinianas, alterando la citoarquitectura normal de la retina.

En un estudio paralelo al presente trabajo, se observó que el IOP, pero no el tratamiento con T3 indujo muerte celular, lo que explicó la disminución en el número de células de la capa GCL observado en este trabajo (Lazcano y col., 2024). Aunque no se detectaron células apoptóticas positivas después de los tratamientos con T3, no se descarta la posibilidad que la muerte celular haya ocurrido en una ventana de desarrollo más temprana, por ejemplo, a los 3 o 4 dpf. Los mecanismos moleculares precisos por los cuales el IOP inducen muerte celular aún no han sido completamente esclarecidos; sin embargo, este modelo podría ser ventajoso y proporcionar información relevante para su estudio futuro.

De manera consistente con lo anterior, se ha demostrado que las modificaciones morfológicas inducidas por la desregulación del estado tiroideo generan alteraciones fisiológicas, lo que a su vez impacta el comportamiento visual en los peces (Gölz y col., 2022; Li y col., 2021). En este estudio, las fluctuaciones de las HTs bajo los tratamientos afectaron la preferencia de color innata evaluada a los 5 dpf, lo que indica que estas alteraciones en la GCL también modifican parámetros conductuales. Dado que no se encontraron cambios en el tamaño de la ONL (este estudio) ni el número de células de esta capa (Lazcano y col., 2024), los cambios observados en la preferencia de color pueden deberse, al menos en parte, a modificaciones en el número de células de la GCL. Es bien sabido que, además de participar en la correcta transmisión de información desde los fotorreceptores al cerebro, estas células también intervienen en la integración fina de señales neuronales que conducen a la discriminación del color (Baden, 2021; Thoreson y Dacey, 2019; Zhou y col., 2020).

Además, la formación adecuada de la INL y la GCL es fundamental para el correcto funcionamiento del sistema visual (de Abreu y col., 2021).

7. CONCLUSIÓN

En este estudio se resalta el papel fundamental de la señalización de las HTs durante el desarrollo y la función de la retina en larvas de pez cebra. En resumen, los genes que codifican a los elementos de la señalización tiroidea se expresan en la retina del pez cebra en el desarrollo y se regulan positivamente de manera coordinada, coincidiendo con la maduración de la retina, sugiriendo su participación en este proceso. Un hallazgo novedoso en este trabajo es el aumento significativo en la expresión de la enzima Dio3b, así como su posible papel modulador en la maduración y supervivencia de las células retinales durante las primeras etapas del desarrollo.

Los hallazgos revelan que un desequilibrio en la T3 provoca cambios estructurales en la retina, afectando principalmente el tamaño y número de células de la GCL. Cabe señalar que estas alteraciones en la estructura de la retina correlacionan con cambios en el comportamiento de la preferencia de color, lo que sugiere que las disrupciones en la señalización de las THs pueden afectar la percepción visual. Este trabajo resalta la importancia de la expresión de los elementos de la señalización de las THs para la regulación del desarrollo retinal a lo largo de la evolución de los vertebrados.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdi, H., Amouzegar, A., & Azizi, F. (2019). Antithyroid Drugs. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 18(Suppl1), 1–12.
- Acar, A., Hidalgo-Sastre, A., Leverentz, M. K., Mills, C. G., Woodcock, S., Baron, M., Collu, G. M., & Brennan, K. (2021). Inhibition of Wnt signalling by Notch via two distinct mechanisms. *Scientific Reports*, 11(1), 9096. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88618-5>
- Alcaide Martin, A., & Mayerl, S. (2023). Local Thyroid Hormone Action in Brain Development. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(15), 12352. <https://doi.org/10.3390/ijms241512352>
- Andrews, S. S. (2023). Color. En *Light and Waves* (pp. 249–271). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-24097-3_10
- Angueyra, J. M., & Kindt, K. S. (2018). Leveraging Zebrafish to Study Retinal Degenerations. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00110>
- Baden, T. (2021). Circuit mechanisms for colour vision in zebrafish. *Current Biology*, 31(12), R807–R820. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.04.053>
- Bai, X., Xu, K., Xie, L., Qiu, Y., Chen, S., & Sun, Y. (2023). The Dual Roles of Triiodothyronine in Regulating the Morphology of Hair Cells and Supporting Cells during Critical Periods of Mouse Cochlear Development. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4559. <https://doi.org/10.3390/ijms24054559>
- Baldassarro, V. A., Krężel, W., Fernández, M., Schuhbaur, B., Giardino, L., & Calzà, L. (2019). The role of nuclear receptors in the differentiation of oligodendrocyte precursor cells derived from fetal and adult neural stem cells. *Stem Cell Research*, 37, 101443. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2019.101443>
- Barret, E. J. (2022). La glándula tiroides. En W. F. Boron & E. L. Boulpaep (Eds.), *Manual de fisiología médica* (pp. 530–536). Elsevier España, S.L.U.
- Barrett, K. E., Barman, S. M., Brooks, H. L., & Yuan, J. X.-J. (2020). *Ganong Fisiología médica* (26a ed.). McGraw-Hill Interamericana Editores.
- Baumann, L., Segner, H., Ros, A., Knapen, D., & Vergauwen, L. (2019). Thyroid Hormone Disruptors Interfere with Molecular Pathways of Eye Development and Function in Zebrafish. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(7), 1543. <https://doi.org/10.3390/ijms20071543>
- Bernal, J. (2017). Thyroid hormone regulated genes in cerebral cortex development. *Journal of Endocrinology*, 232(2), R83–R97. <https://doi.org/10.1530/JOE-16-0424>
- Bollmann, J. H. (2019). The Zebrafish Visual System: From Circuits to Behavior. *Annual Review of Vision Science*, 5(1), 269–293. <https://doi.org/10.1146/annurev-vision-091718-014723>

- Cassar, S., Dunn, C., & Ramos, M. F. (2021). Zebrafish as an Animal Model for Ocular Toxicity Testing: A Review of Ocular Anatomy and Functional Assays. *Toxicologic Pathology*, 49(3), 438–454.
<https://doi.org/10.1177/0192623320964748>
- Choi, J., Phelan, J. D., Wright, G. W., Häupl, B., Huang, D. W., Shaffer, A. L., Young, R. M., Wang, Z., Zhao, H., Yu, X., Oellerich, T., & Staudt, L. M. (2020). Regulation of B cell receptor-dependent NF- κ B signaling by the tumor suppressor KLHL14. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(11), 6092–6102. <https://doi.org/10.1073/pnas.1921187117>
- Connors, B. W. (2022). Transducción sensorial. En W. F. Boron & E. L. Boulpaep (Eds.), *Manual de fisiología médica* (pp. 167–188). Elsevier España, S.L.U.
- Costanzo, L. S. (2019). *Fisiología* (7a ed.). Wolters Kluwer.
- Darras, V. M. (2019). The role of maternal thyroid hormones in avian embryonic development. *Frontiers in Endocrinology*, 10(FEB).
<https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00066>
- de Abreu, M. S., Giacomini, A. C. V. V., Genario, R., dos Santos, B. E., Marcon, L., Demin, K. A., Galstyan, D. S., Strekalova, T., Amstislavskaya, T. G., & Kalueff, A. V. (2021). Color as an important biological variable in zebrafish models: Implications for translational neurobehavioral research. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 124, 1–15.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.12.014>
- Deal, C. K., & Volkoff, H. (2020). The Role of the Thyroid Axis in Fish. En *Frontiers in Endocrinology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2020.596585>
- Deladoey, J., von Oettingen, J. E., & Van Vliet, G. (2021). Disorders of the Thyroid in the Newborn and Infant. En M. A. Sperling, J. A. Majzoub, R. K. Menon, & C. A. Stratakis (Eds.), *Pediatric Endocrinology* (5a ed., pp. 202–219). Elsevier.
- Deng, Y., Han, Y., Gao, S., Dong, W., & Yu, Y. (2023). The Physiological Functions and Polymorphisms of Type II Deiodinase. *Endocrinology and Metabolism*, 38(2), 190–202. <https://doi.org/10.3803/EnM.2022.1599>
- Deveau, C., Jiao, X., Suzuki, S. C., Krishnakumar, A., Yoshimatsu, T., Hejtmancik, J. F., & Nelson, R. F. (2020). Thyroid hormone receptor beta mutations alter photoreceptor development and function in Danio rerio (zebrafish). *PLOS Genetics*, 16(6), e1008869. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008869>
- Dom, G., Dmitriev, P., Lambot, M. A., Van Vliet, G., Glinioer, D., Libert, F., Lefort, A., Dumont, J. E., & Maenhaut, C. (2021). Transcriptomic Signature of Human Embryonic Thyroid Reveals Transition From Differentiation to Functional Maturation. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2021.669354>
- Dong, E. M., & Allison, W. T. (2021). Vertebrate features revealed in the rudimentary eye of the Pacific hagfish (*Eptatretus stoutii*). *Proceedings of the*

- Royal Society B: Biological Sciences*, 288(1942), 20202187.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2020.2187>
- Drepanos, L., Gans, I. M., Grendler, J., Guitar, S., Fuqua, J. H., Maki, N. J., Tilden, A. R., Graber, J. H., & Coffman, J. A. (2023). Loss of Krüppel-like factor 9 deregulates both physiological gene expression and development. *Scientific Reports*, 13(1), 12239. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-39453-3>
- Eldred, K. C., Avelis, C., Johnston, R. J., & Roberts, E. (2020). Modeling binary and graded cone cell fate patterning in the mouse retina. *PLOS Computational Biology*, 16(3), e1007691. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007691>
- Eldred, K. C., Hadyniak, S. E., Hussey, K. A., Brenerman, B., Zhang, P.-W., Chamling, X., Sluch, V. M., Welsbie, D. S., Hattar, S., Taylor, J., Wahlin, K., Zack, D. J., & Johnston, R. J. (2018). Thyroid hormone signaling specifies cone subtypes in human retinal organoids. *Science*, 362(6411).
<https://doi.org/10.1126/science.aau6348>
- Fariás-Serratos, B. M., Lazcano, I., Villalobos, P., Darras, V. M., & Orozco, A. (2021). Thyroid hormone deficiency during zebrafish development impairs central nervous system myelination. *PLOS ONE*, 16(8), e0256207.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256207>
- Feldt-Rasmussen, U., Effraimidis, G., & Klose, M. (2021). The hypothalamus-pituitary-thyroid (HPT)-axis and its role in physiology and pathophysiology of other hypothalamus-pituitary functions. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 525, 111173. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2021.111173>
- Fox, S. I. (2019). *Human physiology* (5a ed.). McGraw-Hill Education.
- Fröhlich, E., & Wahl, R. (2021). Physiological Role and Use of Thyroid Hormone Metabolites - Potential Utility in COVID-19 Patients. En *Frontiers in Endocrinology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2021.587518>
- Galow, A.-M., Brenmoehl, J., & Hoeflich, A. (2023). Synergistic effects of hormones on structural and functional maturation of cardiomyocytes and implications for heart regeneration. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 80(8), 240.
<https://doi.org/10.1007/s00018-023-04894-6>
- Gavrila, A., & Hollenberg, A. N. (2019). The Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis: Physiological Regulation and Clinical Implications. En M. Luster, L. H. Duntas, & L. Wartofsky (Eds.), *The Thyroid and Its Diseases: A Comprehensive Guide for the Clinician* (pp. 13–23). Springer International Publishing.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-72102-6_2
- Gene. (2024). *National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information (NCBI)* [Internet]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>
- Giammanco, M., Di Liegro, C. M., Schiera, G., & Di Liegro, I. (2020). Genomic and Non-Genomic Mechanisms of Action of Thyroid Hormones and Their Catabolite 3,5-Diiodo-L-Thyronine in Mammals. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11), 4140. <https://doi.org/10.3390/ijms21114140>

- Gölz, L., Baumann, L., Pannetier, P., Braunbeck, T., Knapen, D., & Vergauwen, L. (2022). AOP Report: Thyroperoxidase Inhibition Leading to Altered Visual Function in Fish Via Altered Retinal Layer Structure. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 41(11), 2632–2648. <https://doi.org/10.1002/etc.5452>
- Gore, S. V., Del Rosario Hernández, T., & Creton, R. (2024). Behavioral effects of visual stimuli in adult zebrafish using a novel eight-tank imaging system. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 18. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2024.1320126>
- Gothié, J., Vancamp, P., Demeneix, B., & Remaud, S. (2020). Thyroid hormone regulation of neural stem cell fate: From development to ageing. *Acta Physiologica*, 228(1). <https://doi.org/10.1111/apha.13316>
- Grigoryan, E. N. (2022). Self-Organization of the Retina during Eye Development, Retinal Regeneration In Vivo, and in Retinal 3D Organoids In Vitro. *Biomedicines*, 10(6), 1458. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10061458>
- Groeneweg, S., van Geest, F. S., Peeters, R. P., Heuer, H., & Visser, W. E. (2020). Thyroid Hormone Transporters. *Endocrine Reviews*, 41(2), 146–201. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnz008>
- Hall, J. E., & Hall, M. E. (2021). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology* (14a ed.). Elsevier.
- Hartley, M. D., Banerji, T., Tagge, I. J., Kirkemo, L. L., Chaudhary, P., Calkins, E., Galipeau, D., Shokat, M. D., DeBell, M. J., Van Leuven, S., Miller, H., Marracci, G., Pocius, E., Banerji, T., Ferrara, S. J., Meinig, J. M., Emery, B., Bourdette, D., & Scanlan, T. S. (2019). Myelin repair stimulated by CNS-selective thyroid hormone action. *JCI Insight*, 4(8). <https://doi.org/10.1172/jci.insight.126329>
- Hönes, G. S., Härting, N., Mittag, J., & Kaiser, F. J. (2022). TRα2—An Untuned Second Fiddle or Fine-Tuning Thyroid Hormone Action? *International Journal of Molecular Sciences*, 23(13), 6998. <https://doi.org/10.3390/ijms23136998>
- Houbrechts, A. M., Vergauwen, L., Bagci, E., Van houcke, J., Heijlen, M., Kulemeka, B., Hyde, D. R., Knapen, D., & Darras, V. M. (2016). Deiodinase knockdown affects zebrafish eye development at the level of gene expression, morphology and function. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 424, 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.01.018>
- Hu, N., & Zou, L. (2022). Multiple functions of Hes genes in the proliferation and differentiation of neural stem cells. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*, 239, 151848. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2021.151848>
- Jallad, R. S., Glezer, A., Machado, M. C., & Bronstein, M. D. (2020). Pituitary Physiology During Pregnancy and Lactation. En *Maternal-Fetal and Neonatal Endocrinology* (pp. 39–51). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814823-5.00003-9>
- Kelley, M. W., Turner, J. K., & Reh, T. A. (1995). Ligands of steroid/thyroid receptors induce cone photoreceptors in vertebrate retina. *Development*, 121(11), 3777–3785. <https://doi.org/10.1242/dev.121.11.3777>

- Khan, Y. S., & Farhana, A. (2023). *Histology, Thyroid Gland*. StatPearls [Internet]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551659/>
- Köhrle, J., & Frädrich, C. (2022). Deiodinases control local cellular and systemic thyroid hormone availability. *Free Radical Biology and Medicine*, 193, 59–79. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.09.024>
- Koibuchi, N. (2018). Molecular Mechanisms of Thyroid Hormone Synthesis and Secretion. En A. Belfiore & D. LeRoith (Eds.), *Principles of Endocrinology and Hormone Action*. (pp. 73–81). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-44675-2_5
- Krishnamoorthi, A., Khosh Abady, K., Dhankhar, D., & Rentzepis, P. M. (2023). Ultrafast Transient Absorption Spectra and Kinetics of Rod and Cone Visual Pigments. *Molecules*, 28(15), 5829. <https://doi.org/10.3390/molecules28155829>
- Lazcano, I., Pech-Pool, S. M., Maldonado-Lira, M. F., Olvera, A., Darras, V. M., & Orozco, A. (2024). Ontogeny of Thyroid Hormone Signaling in the Retina of Zebrafish: Effects of Thyroidal Status on Retinal Morphology, Cell Survival, and Color Preference. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(22), 12215. <https://doi.org/10.3390/ijms252212215>
- Lazcano, I., Pech-Pool, S. M., Olvera, A., García-Martínez, I., Palacios-Pérez, S., & Orozco, A. (2023). The importance of thyroid hormone signaling during early development: Lessons from the zebrafish model. *General and Comparative Endocrinology*, 334, 114225. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2023.114225>
- Lazcano, I., Rodríguez-Ortiz, R., Villalobos, P., Martínez-Torres, A., Solís-Saíenz, J. C., & Orozco, A. (2019). Knock-down of specific thyroid hormone receptor isoforms impairs body plan development in zebrafish. *Frontiers in Endocrinology*, 10(MAR). <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00156>
- Le Blay, K., Préau, L., Morvan-Dubois, G., & Demeneix, B. (2018). Expression of the inactivating deiodinase, Deiodinase 3, in the pre-metamorphic tadpole retina. *PLOS ONE*, 13(4), e0195374. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195374>
- Li, R., Yang, L., Han, J., Zou, Y., Wang, Y., Feng, C., & Zhou, B. (2021). Early-life exposure to tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate caused multigenerational neurodevelopmental toxicity in zebrafish via altering maternal thyroid hormones transfer and epigenetic modifications. *Environmental Pollution*, 285, 117471. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117471>
- Luongo, C., Dentice, M., & Salvatore, D. (2019). Deiodinases and their intricate role in thyroid hormone homeostasis. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(8), 479–488. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0218-2>
- Mackin, R. D., Frey, R. A., Gutierrez, C., Farre, A. A., Kawamura, S., Mitchell, D. M., & Stenkamp, D. L. (2019a). Endocrine regulation of multichromatic color vision. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(34), 16882–16891. <https://doi.org/10.1073/pnas.1904783116>

- Mackin, R. D., Frey, R. A., Gutierrez, C., Farre, A. A., Kawamura, S., Mitchell, D. M., & Stenkamp, D. L. (2019b). Endocrine regulation of multichromatic color vision. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(34), 16882–16891. <https://doi.org/10.1073/pnas.1904783116>
- Mahabadi, N., & Al Khalili, Y. (2023). Neuroanatomy, Retina. En *StatPearls*. StatPearls [Internet]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545310/>
- Mancino, G., Miro, C., Di Cicco, E., & Dentice, M. (2021). Thyroid hormone action in epidermal development and homeostasis and its implications in the pathophysiology of the skin. *Journal of Endocrinological Investigation*, 44(8), 1571–1579. <https://doi.org/10.1007/s40618-020-01492-2>
- Marelli, F., Rurale, G., & Persani, L. (2021). From Endoderm to Progenitors: An Update on the Early Steps of Thyroid Morphogenesis in the Zebrafish. *Frontiers in Endocrinology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.664557>
- Marieb, E. N., & Smith, L. A. (2023). *Human Anatomy & Physiology Laboratory Manual* (12a ed.). Pearson Education Limited.
- McNerney, C., & Johnston, R. J. (2021). Chapter Three - Thyroid hormone signaling specifies cone photoreceptor subtypes during eye development: Insights from model organisms and human stem cell-derived retinal organoids. En G. Litwack (Ed.), *Hormones and Stem Cells* (Vol. 116, pp. 51–90). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/bs.vh.2021.03.001>
- Mohamadizadeh, E., Arabi, M. S., Hojati, V., Vaezi, G., & Hosseini, S. M. (2022). Comparison of antithyroid effects and hepatic complications of methimazole with catechin and its nanoencapsulation form in adult male rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 19(3), 591–598. <https://doi.org/10.1515/jcim-2022-0099>
- Moini, J., LoGalbo, A., & Ahangari, R. (2024). The visual system. En *Foundations of the Mind, Brain, and Behavioral Relationships* (pp. 125–142). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95975-9.00014-7>
- Moustardas, P., Aberdam, D., & Lagali, N. (2023). MAPK Pathways in Ocular Pathophysiology: Potential Therapeutic Drugs and Challenges. *Cells*, 12(4), 617. <https://doi.org/10.3390/cells12040617>
- Nicolini, G., Casini, G., Posarelli, C., Amato, R., Lulli, M., Balzan, S., & Forini, F. (2024). Thyroid Hormone Signaling in Retinal Development and Function: Implications for Diabetic Retinopathy and Age-Related Macular Degeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(13), 7364. <https://doi.org/10.3390/ijms25137364>
- Norris, D. O., & Carr, J. A. (2021). The hypothalamus-pituitary-thyroid (HPT) axis of nonmammalian vertebrates. En *Vertebrate Endocrinology* (pp. 231–258). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-820093-3.00007-1>
- Park, J. S., Ryu, J. H., Choi, T. I., Bae, Y. K., Lee, S., Kang, H. J., & Kim, C. H. (2016). Innate color preference of zebrafish and its use in behavioral analyses.

- Molecules and Cells*, 39(10), 750–755.
<https://doi.org/10.14348/molcells.2016.0173>
- Peters, C., & Schoenmakers, N. (2020). The Thyroid Gland. En M. T. Dattani & C. G. Brook (Eds.), *Brook's Clinical Pediatric Endocrinology* (7a ed., pp. 289–334). John Wiley & Sons Ltd.
- Posabella, A., Alber, A. B., Undeutsch, H. J., Droeser, R. A., Hollenberg, A. N., Ikonomou, L., & Kotton, D. N. (2021). Derivation of Thyroid Follicular Cells From Pluripotent Stem Cells: Insights From Development and Implications for Regenerative Medicine. *Frontiers in Endocrinology*, 12.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2021.666565>
- Prezioso, G., Giannini, C., & Chiarelli, F. (2018). Effect of Thyroid Hormones on Neurons and Neurodevelopment. *Hormone Research in Paediatrics*, 90(2), 73–81. <https://doi.org/10.1159/000492129>
- Rabah, S. A., Gowan, I. L., Pagnin, M., Osman, N., & Richardson, S. J. (2019). Thyroid Hormone Distributor Proteins During Development in Vertebrates. *Frontiers in Endocrinology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00506>
- Remington, L. A., & Goodwin, D. (2022). *Clinical Anatomy and Physiology of the Visual System* (4a ed.). Elsevier, Inc.
- Rosa, J. G. S., Lopes-Ferreira, M., & Lima, C. (2023). An Overview towards Zebrafish Larvae as a Model for Ocular Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5387. <https://doi.org/10.3390/ijms24065387>
- Rosen, R. D., & Sapra, A. (2023). *Embryology, Thyroid*. StatPearls [Internet]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551611/>
- Rozenblat, R., Tovin, A., Zada, D., Lebenthal-Loinger, I., Lerer-Goldshtein, T., & Appelbaum, L. (2022). Genetic and Neurological Deficiencies in the Visual System of mct8 Mutant Zebrafish. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5), 2464. <https://doi.org/10.3390/ijms23052464>
- Sabatino, L., Vassalle, C., Del Seppia, C., & Iervasi, G. (2021). Deiodinases and the Three Types of Thyroid Hormone Deiodination Reactions. *Endocrinology and Metabolism*, 36(5), 952–964. <https://doi.org/10.3803/EnM.2021.1198>
- Sachs, L. M., & Campinho, M. A. (2019). Editorial: The Role of Thyroid Hormones in Vertebrate Development. En *Frontiers in Endocrinology* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00863>
- Santos Silva, I., Gama, S., & Gonçalves, D. (2017). *CogniHue: Studying the cognitive effect of color in HCl*.
- Shahid, M. A., Ashraf, M. A., & Sharma, S. (2023). Physiology, Thyroid Hormone. En *StatPearls*. StatPearls [Internet]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500006/>
- Shkil, F., Siomava, N., Voronezhskaya, E., & Diogo, R. (2019). Effects of hyperthyroidism in the development of the appendicular skeleton and muscles of zebrafish, with notes on evolutionary developmental pathology (Evo-Devo-

- Path). *Scientific Reports*, 9(1), 5413. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41912-9>
- Sinha, R., & Yen, P. M. (2018). *Cellular Action of Thyroid Hormone*. Endotext [Internet]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK285568/>
- Stella, S. L., Geathers, J. S., Weber, S. R., Grillo, M. A., Barber, A. J., Sundstrom, J. M., & Grillo, S. L. (2021). Neurodegeneration, Neuroprotection and Regeneration in the Zebrafish Retina. *Cells*, 10(3), 633. <https://doi.org/10.3390/cells10030633>
- Stepien, B. K., & Huttner, W. B. (2019). Transport, metabolism, and function of thyroid hormones in the developing mammalian brain. *Frontiers in Endocrinology*, 10(APR). <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00209>
- Suzuki, S. C., Bleckert, A., Williams, P. R., Takechi, M., Kawamura, S., & Wong, R. O. L. (2013). Cone photoreceptor types in zebrafish are generated by symmetric terminal divisions of dedicated precursors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(37), 15109–15114. <https://doi.org/10.1073/pnas.1303551110>
- Takagi, W., Sugahara, F., Higuchi, S., Kusakabe, R., Pascual-Anaya, J., Sato, I., Oisi, Y., Ogawa, N., Miyanishi, H., Adachi, N., Hyodo, S., & Kuratani, S. (2022). Thyroid and endostyle development in cyclostomes provides new insights into the evolutionary history of vertebrates. *BMC Biology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01282-7>
- Teame, T., Zhang, Z., Ran, C., Zhang, H., Yang, Y., Ding, Q., Xie, M., Gao, C., Ye, Y., Duan, M., & Zhou, Z. (2019). The use of zebrafish (*Danio rerio*) as biomedical models. *Animal Frontiers*, 9(3), 68–77. <https://doi.org/10.1093/af/vfz020>
- Thoreson, W. B., & Dacey, D. M. (2019). Diverse Cell Types, Circuits, and Mechanisms for Color Vision in the Vertebrate Retina. *Physiological Reviews*, 99(3), 1527–1573. <https://doi.org/10.1152/physrev.00027.2018>
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2021). *Principles of Anatomy & Physiology* (16a ed.). John Wiley & Sons, Inc.
- van der Vaart, J., Bosmans, L., Sijbesma, S. F., Knoop, K., van de Wetering, W. J., Otten, H. G., Begthel, H., Borel Rinkes, I. H. M., Korving, J., Lentjes, E. G. W. M., Lopez-Iglesias, C., Peters, P. J., van Santen, H. M., Vriens, M. R., & Clevers, H. (2021). Adult mouse and human organoids derived from thyroid follicular cells and modeling of Graves' hyperthyroidism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(51). <https://doi.org/10.1073/pnas.2117017118>
- Van Dingenen, I., Vergauwen, L., Haigis, A.-C., Blackwell, B. R., Stacy, E., Villeneuve, D. L., & Knapen, D. (2023). Deiodinase inhibition impairs the formation of the three posterior swim bladder tissue layers during early embryonic development in zebrafish. *Aquatic Toxicology*, 261, 106632. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2023.106632>

- Vancamp, P., Bourgeois, N. M. A., Houbrechts, A. M., & Darras, V. M. (2019). Knockdown of the thyroid hormone transporter MCT8 in chicken retinal precursor cells hampers early retinal development and results in a shift towards more UV/blue cones at the expense of green/red cones. *Experimental Eye Research*, 178, 135–147. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2018.09.018>
- Volkov, L. I., Kim-Han, J. S., Saunders, L. M., Poria, D., Hughes, A. E. O., Kefalov, V. J., Parichy, D. M., & Corbo, J. C. (2020). Thyroid hormone receptors mediate two distinct mechanisms of long-wavelength vision. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(26), 15262–15269. <https://doi.org/10.1073/pnas.1920086117>
- Walter, K. M., Miller, G. W., Chen, X., Harvey, D. J., Puschner, B., & Lein, P. J. (2019). Changes in thyroid hormone activity disrupt photomotor behavior of larval zebrafish. *NeuroToxicology*, 74, 47–57. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2019.05.008>
- Walter, K. M., Miller, G. W., Chen, X., Yaghoobi, B., Puschner, B., & Lein, P. J. (2019). Effects of thyroid hormone disruption on the ontogenetic expression of thyroid hormone signaling genes in developing zebrafish (*Danio rerio*). *General and Comparative Endocrinology*, 272, 20–32. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.11.007>
- Walter, K. M., Dach, K., Hayakawa, K., Giersiefer, S., Heuer, H., Lein, P. J., & Fritsche, E. (2019). Ontogenetic expression of thyroid hormone signaling genes: An in vitro and in vivo species comparison. *PLOS ONE*, 14(9), e0221230. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221230>
- Wang, Y., Wang, T., Montero-Pedrazuela, A., Guadaño-Ferraz, A., & Rausell, E. (2023). Thyroid Hormone Transporters MCT8 and OATP1C1 Are Expressed in Pyramidal Neurons and Interneurons in the Adult Motor Cortex of Human and Macaque Brain. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3207. <https://doi.org/10.3390/ijms24043207>
- Widmaier, E. P., Raff, H., Strang, K. T., & Shoeppe, T. C. (2019). *Vander's human physiology: the mechanisms of body function*. (15a ed.). McGraw-Hill Education.
- Yamakawa, H., Kato, T. S., Noh, J. Y., Yuasa, S., Kawamura, A., Fukuda, K., & Aizawa, Y. (2021). Thyroid Hormone Plays an Important Role in Cardiac Function: From Bench to Bedside. *Frontiers in Physiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.606931>
- Yang, F., Ma, H., & Ding, X.-Q. (2018). Chapter Fourteen - Thyroid Hormone Signaling in Retinal Development, Survival, and Disease. En G. Litwack (Ed.), *Thyroid Hormone* (Vol. 106, pp. 333–349). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/bs.vh.2017.05.001>
- Yao, X., Chen, X., Zhang, Y., Li, Y., Wang, Y., Zheng, Z., Qin, Z., & Zhang, Q. (2017). Optimization of the T3-induced *Xenopus* metamorphosis assay for

- detecting thyroid hormone signaling disruption of chemicals. *Journal of Environmental Sciences*, 52, 314–324. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.09.020>
- Zada, D., Tovin, A., Lerer-Goldshtein, T., Vatine, G. D., & Appelbaum, L. (2014). Altered Behavioral Performance and Live Imaging of Circuit-Specific Neural Deficiencies in a Zebrafish Model for Psychomotor Retardation. *PLoS Genetics*, 10(9), e1004615. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004615>
- ZFIN. (2024, febrero 19). *Zebrafish Nomenclature Conventions* [Internet]. <https://zfin.atlassian.net/wiki/x/C4Bib>
- Zhang, L., & Leung, Y. F. (2010). Microdissection of zebrafish embryonic eye tissues. *Journal of visualized experiments : JoVE*, 40. <https://doi.org/10.3791/2028>
- Zhou, M., Bear, J., Roberts, P. A., Janiak, F. K., Semmelhack, J., Yoshimatsu, T., & Baden, T. (2020). Zebrafish Retinal Ganglion Cells Asymmetrically Encode Spectral and Temporal Information across Visual Space. *Current Biology*, 30(15), 2927-2942.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.05.055>