



UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

MODELOS EXPERIMENTALES PARA DESARROLLAR HIPOTIROIDISMO

Que para obtener el grado de

MAESTRA EN REHABILITACIÓN NEUROLÓGICA

P R E S E N T A

GLORIA SICILIA ARGUMEDO

COMITE TUTORAL:

DRA. CECILIA RIDAURA SANZ

M. en C. MARCO A. MARTÍNEZ AVILA

DRA. GABRIELA ROMERO ESQUILIANO

OCTUBRE 2011

México D.F a 06 de Octubre de 2011

COMISIÓN ACADÉMICA

MAESTRIA EN REHABILITACION NEUROLOGICA

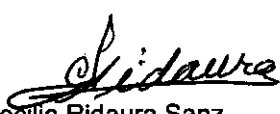
P R E S E N T E

Los que suscribimos la presente, miembros del Comité Tutorial de la alumna Gloria Sicilia Argumedo Matrícula 208385032, por este medio informamos que la versión final del trabajo escrito o Idónea Comunicación de Resultados correspondiente al Proyecto de Investigación denominado: **Reproducción y caracterización de un modelo de hipotiroidismo congénito inducido por metilimidazol en ratas gestantes y en sus descendientes**, ha sido revisada y aprobada por lo que no existe inconveniente para que se proceda a programar la fecha para el examen con fines de obtención del grado de Maestría en Rehabilitación Neurológica.

A T E N T A M E N T E

COMITE TUTORIAL:

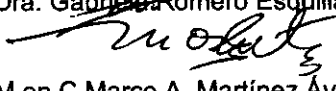
Tutor Interno:


Dra. Cecilia Ridaura Sanz

Asesor interno:


Dra. Gabriela Romero Esquiliano

Asesor externo:


M en C Marco A. Martínez Ávila

Dedicatoria

Dedico este trabajo de tesis, a la memoria de mi hija Mariana, y a la memoria de mis padres, Francisco e Isabel. A mi hijo Victor Manuel, el motor de mi vida, con amor. A mis hermanos Francisco, Julio, Rosalía y Lourdes con cariño, a Alejandro que ha caminado junto a mí los últimos seis años de mi vida.

Agradecimientos

Con un especial agradecimiento a la Dra. Cecilia Ridauro Sanz por la dirección de este trabajo de tesis, por su apoyo y comprensión. Al M. en C. Marco A. Martínez Avila por su paciencia y apoyo. A las Dras. Liliana Camona Aparicio, y Elvia Coballase Urrutia por la revisión del trabajo escrito y sus acertadas sugerencias. Doy gracias a Dios, por darme la oportunidad de cumplir esta meta en mi vida.

Este trabajo es, una revisión de diferentes estudios de Hipotiroidismo en Modelos Experimentales, que reporta la literatura mundial y está sustentado en una revisión bibliográfica sistematizada del tema, en diversas fuentes de información como son: Pubmed, Embase, Lilacs, Imbiomed, Cochrane, Artemisa y Bireme. Se tradujo al idioma inglés y se envió a la revista científica **Hormone and Metabolic Research** para su publicación. Es el primer producto del protocolo de investigación titulado: **Reproducción y caracterización de un modelo de hipotiroidismo congénito, inducido por metilimidazol, en ratas gestantes y en sus descendientes**. Este protocolo fue aprobado por la comisión de investigación del Instituto Nacional de Pediatría (INP) y por el comité institucional para el cuidado y uso de los animales de laboratorio (CICUAL), en el 2010 que fue registrado con el número 55/2010. Además se aprobó para financiamiento, a través de la Convocatoria para Adjudicación de Fondos Federales, en el mismo año.

Este documento consta de cuatro partes: (I) corresponde al artículo original en español, (II) corresponde a la traducción que se envió a publicación conforme a los lineamientos de la revista, **Hormone and Metabolic Research**, (III) se presenta el dictamen con las observaciones de los revisores, y la carta del editor de la revista. Actualmente se están haciendo las correcciones sugeridas por los revisores, para reenviar el artículo a su publicación. Por último (IV) se anexa: El protocolo de investigación. Las cartas de aprobación del Comité de investigación, del CICUAL, así como la aprobación de la convocatoria para adjudicación de fondos federales.

INDICE	PAGINA NO.
PARTE I. Artículo de Revisión en Español	4
Modelos Experimentales para Desarrollar Hipotiroidismo	
RESUMEN	
1. Generalidades del hipotiroidismo	6
2. Métodos para inducir hipotiroidismo en modelos experimentales	7
3. Descripción de los modelos para inducir hipotiroidismo	7
4. Alteraciones neurológicas causadas por hipotiroidismo	11
5. Aportaciones de los estudios experimentales de hipotiroidismo en la patología humana	15
6. Conclusiones	17
7. Bibliografía	
8. Tablas del artículo	18
Tabla 1 Métodos para inducir hipotiroidismo en diferentes modelos experimentales	
Tabla 2 Modelos de hipotiroidismo, ventajas y desventajas	
PARTE II. Artículo de Revisión en Ingles	30
Experimental Models of developmental of hypothyroidism	
PARTE III. Dictamen Preliminar del Comité Editorial de la Revista	57
Hormone and Metabolic Research	
Carta del Editor	
PARTE IV. Protocolo de Investigación, cartas de aprobación	61

I MODELOS EXPERIMENTALES PARA DESARROLLAR HIPOTIROIDISMO

EXPERIMENTAL MODELS OF DEVELOPMENTAL HYPOTHYROIDISM

***GLORIA SICILIA ARGUMEDO, *CECILIA RIDAURA SANZ, **HUGO JUÁREZ OLGUÍN**
***DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA, **LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA EXPERIMENTAL-**
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA (INP).

RESUMEN

El hipotiroidismo (H), es una enfermedad sistémica, causada por la ausencia anatómica o funcional de la glándula tiroides, ó a la falta de estimulación de la hipófisis, lo que ocasiona una deficiencia en la producción de hormonas tiroideas (HT), la triyodotironina (T3) y la tetrayodotironina (T4) o tiroxina esenciales para el desarrollo, crecimiento y función de múltiples órganos, tanto en humanos como en animales. Los pacientes con deficiencia tiroidea tienen alteraciones en el sistema nervioso central (SNC), músculo estriado, tejido óseo, hígado, médula ósea y sistema cardiorrespiratorio. Clínicamente presentan dificultad respiratoria, insuficiencia cardíaca, problemas de deglución, broncoaspiraciones repetidas, constipación, debilidad muscular, alteraciones cognitivas, disfunción coclear, talla baja, alteraciones en la regulación térmica, anemia, ictericia, susceptibilidad a infecciones y otras. Estudios clínicos y experimentales demuestran, que las HT son esenciales para el desarrollo normal del cerebro. Estudios en niños demuestran, que la disminución en las hormonas tiroideas, durante la gestación produce hipotiroidismo congénito (HC), que está relacionado con retraso mental y déficit cognitivo profundo, esto afecta la función cognitiva y los procesos de aprendizaje y la memoria. Sin embargo, alteraciones en el comportamiento, son observados en el hipotiroidismo prenatal, perinatal y en adultos. De acuerdo con lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue revisar diferentes modelos experimentales, que estudian el hipotiroidismo.

Palabras Clave: Hipotiroidismo, modelos experimentales, glándula tiroides

ABSTRACT

Hypothyroidism (H) is a systemic disease caused by anatomic or functional absence of thyroid gland or lack of hypophyseal stimulation and produce thyroid hormone (TH) production deficiency, in the production of TH, essential for development, growth and multiple organ function in human and animals. Patients with thyroid deficiency, present alterations in central nervous system (CNS), striate muscles, bone tissues, liver, bone marrow, and cardiorespiratory system manifested as gasping, cardiac insufficiency, swallowing problems, constipation, fatigue, cognitive alterations, low height, anemia, jaundice, susceptibility to infection, and others. Experimental and clinical studies showed that TH are essentials for normal brain development. Studies in children showed that reduction in TH in pregnancy increase congenital hypothyroidism which is related to mental retardation and serious neurological deficit, thereby affecting cognitive function, learning processes and memory. However, behavioral alterations resulting of hypothyroidism are observed in the prenatal, perinatal and adult stages. In the present study, were revised different hypothyroidism experimental models.

Key words: Hypothyroidism, experimental models, thyroid gland,

1.- Generalidades del Hipotiroidismo

El hipotiroidismo (H) en humanos es un padecimiento sistémico, provocado por la ausencia anatómica o funcional de la glándula tiroides, es un síndrome secundario a una gran diversidad de patologías, que ocasiona una deficiencia en la producción de hormonas tiroideas (HT), imprescindibles para un adecuado desarrollo físico y mental. Se considera una urgencia endocrinológica y representa una de las causas más frecuentes de retraso mental (RM) prevenible en la infancia (1,2).

EL H se ha clasificado de acuerdo a su origen en: primario cuando se origina por una alteración de la glándula tiroides; secundario si la alteración es de la glándula hipófisis causando una insuficiencia en la hormona estimulante de la tiroides (TSH); y terciario si es de origen hipotalámico (3).

El hipotiroidismo primario se clasifica en: congénito y adquirido. La causa más frecuente de hipotiroidismo congénito (HC), es la ectopia tiroidea, que resulta de una migración inadecuada de la glándula tiroides, durante el desarrollo fetal. Le sigue en frecuencia la aplasia o agenesia de la tiroides, la tercer causa en orden de frecuencia son las dishormonogénesis (4). El HC también puede presentarse, cuando existen antecedentes de enfermedades autoinmunes en la familia, como la tiroiditis linfocítica o de Hashimoto. El hipotiroidismo primario adquirido se puede producir, por la ingesta de algunos medicamentos que inducen anticuerpos del receptor de la TSH, así como por la extirpación ó radiación de la glándula tiroides (5). La historia natural del HC ha cambiado sustancialmente en la última década, gracias a los programas de tamiz metabólico neonatal (TMN), que consisten en detectar la enfermedad, en todos los recién nacidos aparentemente sanos, a través de una prueba sencilla, obteniendo una gota de sangre del talón (6). Las campañas de detección temprana del HC, a través del TMN han disminuido en forma importante las secuelas neurológicas, cuando el diagnóstico y el tratamiento han sido oportunos (7). La evaluación más reciente de la Organización Mundial de la Salud (OMS), indica que aproximadamente 2.2 billones de personas (38% de la población mundial), viven en áreas con bocio endémico; además, se estima que 740 millones, padecen deficiencia de yodo (DDI), y que de éstos 11.2 millones de personas presentan

retraso psicomotor irreversible –cretinismo– (8). En la actualidad y desde que se estudia a toda la población neonatal, con técnicas de cribado, se conoce la incidencia del HC, que a nivel mundial es de 1:3800 a 1:4000 recién nacidos vivos (9). La terapia básica para el HC, es el remplazo con tiroxina, hasta alcanzar los niveles adecuados para cada individuo. Sin embargo, hay aún un número importante de niños, con HC diagnosticados y tratados tardíamente, que resultan con secuelas o que fallecen por diversas complicaciones, relacionadas directamente con la falla tiroidea, como trastornos en la deglución, alteraciones neuromusculares, bradicardia y anemia, entre otras (10). El retraso mental que presentan los niños, no tratados es la consecuencia de más impacto, por lo que el HC se considera una importante fuente de discapacidad a nivel mundial (11). El hipotiroidismo también se ha relacionado con procesos inflamatorios en enfermedades como la aterosclerosis (12).

2.- Métodos para Inducir Hipotiroidismo en Modelos Experimentales

Un modelo experimental *in vivo* se define como un organismo viviente, que presenta una inherente adquisición natural a procesos patológicos inducidos o espontáneos, que semejan el mismo fenómeno ocurrido en el humano (13).

Diversos métodos son usados para inducir hipotiroidismo en modelos animales, los más conocidos se enlistan a continuación: 1) Modelo quirúrgico; extirpación de la glándula tiroides por cirugía; 2) Modelo radiactivo; extirpación de la tiroides usando isótopos radiactivos yodo 131 (^{131}I); 3) Modelo de restricción de yodo en la dieta; 4) Modelo por suministro de sustancias, la administración de fármacos antitiroideos como el metilimidazol (MMI), y el propiltiuracilo (PTU); 5) Modelo genético, manipulación del genoma (tabla 1).

3.- Descripción de los Modelos para Inducir Hipotiroidismo

3.1 Modelo quirúrgico.

Este modelo, se ha estudiado en ratas y en ovejas principalmente, consiste en someter al animal, a la extirpación de la glándula tiroides (EGT). Existen dos variantes: en la primera la

hembra es sometida a EGT y en la segunda el feto. El objetivo del modelo, es remover totalmente, las hormonas tiroideas endógenas de la circulación, con este modelo se han logrado reproducir, algunos signos clínicos del HC, como los que se observan en humanos y en perros. Los resultados encontrados son: alteraciones de la piel (alopecia) en ratas (14), alteraciones en los sistemas cardiovascular y renina-angiotensina en ovejas (15), así como disminución en la colágena en ratas hipotiroideas con sutura traqueal (16). Otros resultados en fetos son: alteraciones en la función tiroidea, en la migración y la conectividad neuronal, así como en la organización citoarquitectónica de la corteza cerebral (17), en la madre daña la fertilidad y la capacidad para llevar a término la gestación y causa alteraciones en los ejes: hipotálamo-hipófisis-tiroides e hipotálamo-hipófisis-adrenales (18) y también daña la cinética y el metabolismo de las hormonas tiroideas (19). Los modelos que se han usado para reproducir hipotiroidismo, pueden tener ventajas y desventajas en su aplicación (tabla 2).

Ventajas y desventajas: la ventaja de este modelo, es que se logra eliminar las HT de la circulación, pero tiene algunas desventajas, como: ser un modelo invasivo, la extirpación de la glándula debe ser completa, ya que si se queda parte de ella, ésta puede inducir una respuesta inmunológica, lo que produce anticuerpos contra el propio tejido. Otra desventaja es que junto con la tiroides se remueve la glándula paratiroides, que está relacionada con el control de calcio en el organismo, así como células parafoliculares de la propia tiroides que también participan en el metabolismo del calcio.

3.2 Modelo por Isótopos radiactivos.

Este modelo, se ha estudiado principalmente en ratas y ratones, consiste en inyectar 150 μCi de yodo 131 (^{131}I) a ratas preñadas, lo cual les provoca HC a sus descendientes; El objetivo de este modelo, es inducir el daño que produce el yodo radiactivo, a las células foliculares de la glándula tiroides de sus descendientes. Con este modelo, se han logrado reproducir algunas características, del daño que causa el HC. Los resultados encontrados son: reducción en el peso del cerebro, alteraciones en las células C de la glándula tiroides, y en la masa corporal en descendientes de las ratas tratadas (20). Disminución en el espesor de la pared, de los vasos sanguíneos, folículos necróticos, reacción inflamatoria y células necróticas en los folículos (21), así como hiperplasia e hipertrofia de células positivas a

calcitonina (22), otras alteraciones son rompimiento de la doble hélice del ADN en sitios frágiles (23).

Ventajas y desventajas: La ventaja de este modelo, es que con pequeñas dosis de yodo radiactivo se logra dañar a la glándula tiroidea, lo que provoca HC en los descendientes. La desventaja es que se necesita un permiso especial para el manejo de isótopos radiactivos y una certificación, con la misma finalidad. Las repercusiones de la remoción de la paratiroides y de las células parafoliculares de la propia tiroidea también constituyen una desventaja.

3.3 Modelo de reducción de yodo en la dieta.

Este modelo se ha estudiado en ratas principalmente. Consiste en proporcionar a las hembras preñadas una dieta deficiente en yodo. El objetivo del modelo es provocar disminución en la síntesis de hormonas tiroideas, lo que induce HC en sus descendientes. Los resultados encontrados son: disminución de T4 en los niveles séricos de la madre, así como bajo peso al nacimiento y alteraciones en la habilidad de aprendizaje en los descendientes (24), alteraciones en el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides relacionadas con la captura de yodo endógeno y la síntesis de T3 y T4 (25). Además se encontró que el hipotiroidismo inducido por la dieta disminuida en yodo, de forma crónica o en etapa perinatal, afecta la actividad locomotora, la competencia neuromotora y la ejecución cognitiva en los descendientes tanto machos como hembras (26). En la madre causa abortos, reabsorción fetal, mortalidad materna durante el parto, y disminución en el tamaño de la camada, también disminuye el transporte de nutrientes que pasan a través de la barrera hematoencefálica (27).

Ventajas y desventajas: Este modelo tiene la ventaja de que las ratas tienen una disminución progresiva de yodo, sin que haya una manipulación adicional del animal; la desventaja es que es una dieta cara y no se consigue con facilidad.

3.4 Modelo de suministro de sustancias antitiroideas.

Este modelo se ha estudiado principalmente en: ratas, ratones y cerdos; consiste en adicionar un fármaco antitiroideo en el agua de beber a las hembras, a partir del día 9 de

gestación y hasta término, esto equivale al primer trimestre de gestación en humanos. Tiene dos variantes: con el fármaco propiltiuracilo (PTU) y con metilimidazol (MMI).

En el modelo con PTU, el objetivo es provocar disminución en la concentración de HT, con esta sustancia se han logrado reproducir algunas manifestaciones del HC. El mecanismo de acción del PTU es por inhibición de la desyodasa D2, las desyodasas son un grupo de proteínas que funcionan como enzimas, están involucradas en la conversión de T4 a T3 activa y en la inactivación de ambas hormonas. Los resultados encontrados son: daño a estructuras cerebrales, como el hipocampo y el giro dentado lo que ocasiona déficit cognitivo, daño a las células gliales, disminución en la transmisión sináptica y en la plasticidad neuronal, retraso en los procesos de aprendizaje y consolidación de la memoria, en descendientes de ratas tratadas (28,29). Otras alteraciones son comportamiento hipoactivo, disminución en la función auditiva y daño en el proceso de memoria espacial (30). Con el fármaco MMI, el objetivo es asegurar la inhibición, de la síntesis de T3 y T4. El mecanismo de acción del Metilimidazol es inhibir a la peroxidasa tiroidea (TPO), la cual organifica el yoduro incorporado al tirocito a través de un transportador de membrana, el simportador Na⁺/I⁻ NIS, de esta forma inhibe la producción de yodotironinas. El MMI atraviesa la barrera placentaria, por lo que pasa directamente al feto, durante la gestación. Los fetos se ven directamente afectados independientemente de la condición tiroidea de la madre (31). Los resultados encontrados son: daño al cerebelo debido a una excesiva formación de sublobullos, alteraciones en las ramificaciones dendríticas, de las células de la capa granular, lo que resulta en alteraciones en el patrón de movimiento, en descendientes de ratas tratadas (32). Además, se encontró disminución en la densidad vascular, en la zona periférica de la retina (33). Otros reportes indican que fármacos como el MMI ó PTU suprimen, la transcripción de los receptores a hormonas tiroideas (34).

Ventajas y desventajas: Este modelo, con el fármaco MMI tiene muchas ventajas. Reproduce muchas características del HC, los fetos son afectados directamente, independientemente de la condición tiroidea de la madre, las ratas no tienen un manejo adicional, su costo no es elevado. El tratamiento es relativamente sencillo de aplicar, por sus características hidrofílicas, es soluble en agua, por lo que se integra bien en solución, se

logra reproducir el HC con cantidades pequeñas del medicamento, del orden de microgramos.

3.5 Modelo genético.

Este modelo se ha estudiado en ratones principalmente, consiste en cruzar ratones heterocigotos con una mutación en *Ttfl*^{+/-} con ratones heterocigotos con una mutación en *Pax8*^{+/-} para obtener ratones doble heterocigotos con mutaciones en genes que codifican para estos factores de transcripción, los resultados encontrados son: glándula tiroides pequeña, niveles de TSH elevados, y reducción en la síntesis de tiroglobulina (35).

El modelo genético de ratones, donde se les provocó una mutación en el gene que codifica para la oxidasa dual 2 (DUAOX2) permite estudiar las alteraciones en la glándula tiroides, y otros órganos implicados en alteraciones endócrinas. En este modelo se mapeó la mutación en el cromosoma afectado y se identificó un cambio en el par de bases timina (T) por guanina (G) así como cambios en el exón 16 de DUAOX2, los ratones presentan bocio y la glándula tiroides muestra pocos folículos normales, otras alteraciones son displasia de la hipófisis, disminución de T4 y aumento en los niveles de TSH, el peso corporal está disminuido a la mitad con respecto al control, los ratones presenta sordera por alteraciones en la cóclea (36,37,38).

Ventajas y desventajas: Este modelo tiene la ventaja de provocar hipotiroidismo por un daño muy específico al genoma, modificando genéticamente a los animales se obtiene un organismo que expresa la deficiencia que se quiere estudiar. Una de las desventajas es que los animales transgénicos son caros y no se consiguen con facilidad.

El hipotiroidismo, causa diversas alteraciones en diferentes órganos del cuerpo. El estudio de esta enfermedad, a través del uso de modelos experimentales, es de gran importancia, para conocer todas las alteraciones que produce este padecimiento. Las secuelas que causa en la población infantil, y sus repercusiones en etapas posteriores de la vida, justifican la necesidad de realizar estudios en modelos experimentales, en las diferentes etapas del desarrollo: prenatal, perinatal, juvenil y adulta. A continuación revisaremos estudios experimentales, de las alteraciones más frecuentes, que se presentan en humanos y que se han estudiado en modelos animales, en diferentes etapas del desarrollo.

4. Alteraciones causadas por hipotiroidismo

4.1 Alteraciones en el sistema nervioso

4.1.1 Estructurales

El HC tiene importantes consecuencias para el SNC, los signos clínicos, se desarrollan alrededor del día 14 postnatal, y se caracterizan por ataxia, espasticidad, talla y peso bajos e hipercolesterolemia, las ratas afectadas pueden morir a los 30 días postnatales debido al severo déficit neurológico (39). Un estudio en ratas machos y hembras tratadas con PTU reporta muerte neuronal, y alteraciones en la organización estructural del hipocampo y del giro dentado, disminución en el volumen de neuronas piramidales de la región CA3 del hipocampo, así como alteraciones cognitivas (40). Otro estudio en el que se induce HC por reducción de yodo en la dieta y tratamiento con MMI, muestra hipotiroxinemia y disminución en la maduración de células gliales implicadas en la migración neuronal, así como reducción en la densidad sináptica, relacionada con deficiencia de HT, en el hipocampo de cerebros fetales (41). También produce daño en el proceso de mielinogénesis y daño selectivo en la compactación de la vaina de mielina, en el cuerpo calloso en descendientes de ratas tratadas con MMI (42,43). Ratones con una mutación en los genes que codifican para hormonas tiroides, muestran una profunda discapacidad auditiva, provocada por alteraciones en la estructura de la cóclea (38). Ratas tratadas pre y postnatalmente con PTU, indican que la disminución de HT, en la madre durante la gestación, afecta el desarrollo del cerebro fetal e induce malformaciones en el cuerpo calloso, en un modelo de displasia cortical (44).

4.1.2 Funcionales

El Hipotiroidismo en ratas adultas y durante la gestación, causa hipotiroxinemia materna y altera la función de las células del oído; daña el desarrollo de múltiples procesos, en el oído interno, lo cual explica como el HC, produce sordera en los descendientes (37,45,46). Otros estudios indican que el PTU altera la función de la glándula tiroides y produce hipotiroidismo, disminuye los niveles de HT, esto afecta la liberación de vasopresina y oxitocina por el sistema hipotálamo-hipofisiario en el equilibrio hídrico, y modifica la respuesta de las

neuronas vasoprecinéricas, y oxitocinéricas (47). También se afectan las ramas del nervio trigémino que inervan al músculo masetero, por lo que son necesarios niveles adecuados de HT, al momento del destete, para lograr una función masticatoria normal (48). Las HT son importantes en el desarrollo normal y función del sistema nervioso, mantienen la homeostasis de las HT. (49).

Otros estudios experimentales en ratas, con el modelo, por extirpación de la tiroides y tratamiento con MMI, indican que la regulación de HT en el cerebro fetal, depende de la expresión de genes en etapas tempranas de la gestación (50). Las HT también son importantes para el desarrollo del cerebelo, y actúan a través de receptores nucleares para modular la expresión de genes específicos en respuesta a otras hormonas (51).

4.2 Alteraciones en la conducta – aprendizaje y memoria

El HC altera el sistema trasduccional de señales de la actividad mitogénica de la protein quinasa (MAPKs), promoviendo un incremento en las vías de fosforilación y en la cascada de regulación de señales extracelulares, esto integra una variedad de señales involucradas en la plasticidad sináptica del hipocampo, en descendientes neonatos y adultos de ratas tratadas con MMI durante la gestación, lo que produce daño en la función cognitiva, en el aprendizaje y en la memoria (52,53). Además daña la función sináptica del hipocampo y la neurotransmisión; causa una permanente insuficiencia hormonal, alteraciones en la competencia motora y en el comportamiento exploratorio, así como en la ejecución en pruebas de aprendizaje pasivo, durante el desarrollo temprano del cerebro. Estos parámetros se midieron en ratas neonatas y se evaluaron hasta la etapa adulta. El daño en la ejecución y en la retención de la respuesta pasiva, en pruebas de aprendizaje y memoria está relacionado con hipotiroidismo perinatal (54,55,56,57).

Otros estudios en ratas, usando el modelo con PTU durante la gestación y en la etapa perinatal, reportan alteraciones en el comportamiento en pruebas de conducta, hiperactividad en la función motora, déficit de atención y tendencia a un comportamiento de pánico, también alteraciones en el aprendizaje y la memoria espacial, midiendo la conducta en laberinto radial y laberinto de agua, en etapas postnatales (58,59). Otros hallazgos son alteraciones en

la neurogenesis, disminución en la proliferación neuronal y en el volumen del hipocampo, así como en el peso del cerebro (60). Otro estudio en descendientes de ratas tratadas con MMI durante la gestación, demuestran que el HC, produce ansiedad, disminución en la reactividad emocional y disminución en la competencia neuromotora; alteraciones en el comportamiento exploratorio, así como en el desarrollo del hipocampo, lo cual daña el aprendizaje y la memoria, estos parámetros fueron medidos hasta los 80 días postnatales (61). El remplazo con T4 a los descendientes en los días 7 y 21 que son importantes para el desarrollo cerebral, mostró ser el tratamiento más adecuado para la rehabilitación y disminuyó las alteraciones en el aprendizaje y la memoria espacial (62). Otro estudio en ratas adultas jóvenes, tratadas con MMI durante la gestación reporta que el HC altera las propiedades excitatorias de los receptores dopaminérgicos, como respuesta a la disminución de T4 en neuronas del hipocampo, lo que está relacionado con déficit cognitivo (63). También ratas con extirpación de la glándula tiroides, mostraron daño, en el proceso de aprendizaje reflejo y dificultad en la asociación temporal y la memoria a largo plazo. La administración de L-triptófano puede corregir este daño (64). Otro estudio reporta que las hormonas tiroideas, participan en el mantenimiento de la población neuronal en el hipocampo, en la etapa adulta y tienen diferentes funciones fisiológicas, como factores de sobrevivencia neuronal (65a).

4.3 Alteraciones en el sistema cardiovascular

Estudios realizados en un modelo de rata, con extirpación de la tiroides y tratamiento con PTU durante la gestación, confirman que este modelo produce HC en los descendientes y consecuentemente una severa disfunción cardíaca, por disminución significativa en las arteriolas del miocardio (65b). Otros estudios con el modelo de PTU reporta, disminución importante en la concentración de T3 y T4 sérica, después de un infarto al miocardio (IMC), inducido por oclusión de la arteria coronaria izquierda, en un modelo de ratas jóvenes, lo que resulta en alteraciones en el metabolismo de las HT y expresión de la deiodinasa tipo (D3) 3 en el corazón, por esta razón las HT están relacionadas estrechamente con la estructura y función cardíacas (66, 67). Fetos de ovejas con hipotiroidismo congénito inducido por extirpación de la glándula tiroides materna, tuvieron alteraciones cardíacas y un mal

funcionamiento del sistema renina angiotensina, esto sugiere que las hormonas tiroideas están implicadas en la maduración de este sistema y en la función cardiovascular (15). Otro estudio en ratas tratadas con PTU, indica que el hipotiroidismo, incrementa la acumulación de colágeno y glicosaminoglicano, en el corazón de ratas con hipotiroidismo primario (68). Además otros hallazgos indican que la expresión de los receptores a HT está muy relacionada con daño al miocardio (69).

4.4 Otras alteraciones

El hipotiroidismo causa disminución significativa de T3, T4 y testosterona en preparaciones de cuerpos cavernosos de conejos (70). El cobre (Cu) y el Zinc (Zn) son elementos traza que tienen una función antioxidante en el organismo. Un estudio en ratas jóvenes tratadas con MMI demuestra que el hipotiroidismo causa estrés oxidativo, que puede disminuir por la acción del Cu y el Zn presentes en el organismo (71). Un estudio en ratas tratadas con PTU reportó que el H₂O₂ produce reducción en el peso del bazo, expresión de caspasa 3 e incremento en la apoptosis celular (72), también altera el endotelio de arterias mesentéricas debido a una reducción en el óxido nítrico (73) y aumenta la sensibilidad, de los receptores dopaminérgicos agonistas a ciertas drogas, como la apomorfina, quinpirole, y 3-benzazepina, y disminuye la de los receptores antagonistas (74). Otros hallazgos de estudios experimentales indican, cambios en el tejido óseo, que se caracterizan por disminución en la remodelación del hueso, con reducción en la posición osteoide, y en el índice de mineralización del hueso, así como reducción en la absorción osteoclástica (75). Otro estudio en ratones con deficiencia en TTF-1 y Pax 8, dos factores de transcripción, esenciales para la organogénesis y la función de diferenciación en la glándula tiroides, demuestran que las mutaciones en estos genes dan evidencia del origen mutagénico en el desarrollo del HC, por una disgénesis de la glándula tiroides (76). Otro estudio experimental demuestra que las HT juegan un papel clave en la regulación y activación de los receptores a insulina, y proteínas transportadoras de glucosa, en las vías de señalización y en la expresión de diferentes isoformas de miosina en el músculo esquelético (77), también regulan el número de receptores a HT en el hígado y el metabolismo del colesterol (78), así como el ciclo celular de

células de la hipófisis -los tirotropos- (79). Los bajos niveles de HT circulantes en ratas, con extirpación de la tiroides, incrementan la incidencia de gastritis por estrés (80). Las HT participan en la formación de hueso periodontal, por lo que bajos niveles de estas hormonas pueden limitar su formación (81). Las HT y la hormona del crecimiento (hC), son importantes en la regulación del crecimiento corporal en aves y mamíferos, la hC exógena incrementa la acumulación de grasa visceral, en pollos jóvenes y la T3 es un mediador en la transcripción de genes hepáticos en el pollo (82).

5. Aportaciones de los estudios experimentales de hipotiroidismo en la patología humana

Estudios experimentales, demuestran que las HT son esenciales para el desarrollo normal del cerebro de los vertebrados, y su ausencia reproduce los efectos encontrados en el hipotiroidismo humano (83). Estudios en ratones transgénicos, que expresan crónicamente el interferón gama en los tirocitos, desarrollan muchos rasgos similares a lo que se observa en los pacientes con tiroiditis Hashimoto, como: alteración en la estructura de la tiroides, infiltración de macrófagos, cambios oncóticos de los tirocitos, e hipotiroidismo. (84). Otros resultados en ratas, con extirpación de la tiroides, indican que las HT, son esenciales para la neurogénesis del hipocampo, esto sugiere que muchos desordenes relacionados al hipotiroidismo en humanos adultos, pueden ser debido en parte, a las alteraciones en la neurogénesis y están relacionados con desordenes en el estado de ánimo, provocando comportamiento depresivo (85). Estudios experimentales, en ratas tratadas con una dieta baja en yodo mostraron un defecto en la síntesis de la tiroglobulina y en el metabolismo del yodo, así como alteraciones en las deshalogenasas, e hipotiroxinemia, parecido a lo que se presenta en pacientes que habitan áreas geográficas con deficiencia de yodo (DI), esto es muy importante en humanos ya que afecta la función mental, el organismo desarrolla mecanismo de adaptación que contra restan la DI, como la elevación en los niveles de la TSH, lo que evita que haya una disminución en los niveles de T3 y T4 (86). Otros estudios en ratas demostraron, que el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en la tiroides, puede ser importante, principalmente en la estimulación celular, las altas concentraciones tienen una

función de señalización para la presencia de: mutágenos, carcinógenos, mitógenos y muerte celular, además puede inducir estrés oxidativo, oxidación del ADN, daño y como consecuencia mutagénesis y apoptosis, como lo que se presenta en humanos (87).

6. Conclusiones

Las investigaciones en modelos experimentales, que estudian las repercusiones del hipotiroidismo en diversos órganos, han contribuido al conocimiento de la enfermedad, y han permitido conocer mejor las alteraciones que causa éste padecimiento en la población infantil, y sus repercusiones en otras etapas de la vida. En la última década los estudios de investigación básica, han adquirido gran relevancia, en el empleo de modelos experimentales que reproducen todos o algunos de los síntomas, que provoca el hipotiroidismo en el humano. Estos modelos se han podido perfeccionar, gracias al empleo de una gran cantidad de herramientas, para su estudio tales como: técnicas de microscopía electrónica, de inmunohistoquímica, de inmunofluorescencia, radioinmunoanálisis, investigación genómica y proteómica etc. Además, se han podido emplear equipos más sofisticados que acercan al profesional, al conocimiento cada vez más completo e integral, de las enfermedades que aquejan a las personas. El hipotiroidismo sigue siendo una fuente importante de discapacidad, por lo que los estudios en modelos experimentales, constituyen una herramienta valiosa, que permite a los profesionales de la salud, obtener información que ayude a establecer los mecanismos que subyacen esta patología y que en consecuencia deriven en mejores estrategias terapéuticas.

7. Bibliografía

- 1.- Sotelo CN, Vallejo BJE, Barba MF. Hipotiroidismo. Importancia del diagnóstico temprano. Boletín Clínico del Hospital del Estado de Sonora 1993;10(2):73-76.
- 2.- Ruiz RML. Correlación de la tiroglobulina sérica con aplasia y ectopia de tiroides en el hipotiroidismo congénito intrauterino y extrauterino, trabajo de investigación para obtener la especialidad en Endocrinología y Metabolismo en Pediatría, Facultad de Medicina, UNAM, Secretaría de Salud Instituto Nacional de Pediatría México 1997.
- 3.- Larsen PR, Davies TF, Schlumberger MJ, Hay ID. Thyroid physiology and diagnostic evaluation of patients with thyroid disorder. In: Larsen PR, Kronenberg HM, Melmer S, Polonsky KS (eds). Williams textbook of endocrinology. Philadelphia: Saunders; 2003, P.331-73.
- 4.- Bautista FAJ, Melchor HE. Hipotiroidismo congénito: resultados del programa de prevalencia en la Clínica Hospital Mochis, segundo nivel de atención médica del ISSSTE. Revista de Especialidades Médico- Quirúrgicas 2003;8(2):16-20.
- 5.- Lynne BC, Rose RN. Autoimmune thyroiditis and ros. Autoimmunity Reviews 2008;7(7):530-37.
- 6.- Vela AM, Gamboa CS, Pérez AME, Ortiz CJ, González CRC, Ortega VV. Epidemiología del hipotiroidismo congénito en México. Salud Pública de México 2004; 46(2): 141-148.
- 7.- Marrero GN, Rodríguez FC. Hipotiroidismo congénito: historia e impacto del tamizaje. Rev. Biomed 2000; 11:283-292
- 8.- Solís JC, Valverde C, Hipotiroidismo neonatal: fisiopatología aspectos moleculares, metabólicos y clínicos, Revista de investigación clínica 2006;58(4):318-334.
- 9.- Barrón UC, Pérez PE. Conceptos actuales en hipotiroidismo congénito. Bol. Med. Hosp. Inf. Mex 1996;53(6):264-268.
- 10.- Ridaura SC, López CE. Las causas de muerte por hipotiroidismo. Un estudio realizado en necropsias. Gac Med Mex 1995;131(2):141-6.
- 11.- Sánchez PC, Calzada R, Ruiz L, Altamirano N, Méndez I, Vela AM, Gamboa CS, Mandujano M. Hipotiroidismo congénito. Manifestaciones clínicas en niños menores de 15 semanas con tamiz neonatal positivo. Revista Mexicana de Pediatría 2006; 73(6): 272-279.

- 12.- Marfella R, Ferraccio F, Rizzo MR, Portoghese M, Barbien M, Basilio C, et al, Innate immune activity in plaque of patients with untreated and L-thyroxine- treated subclinical hypothyroidism. *Endocrine Research* 2011;96(4):10-15.
- 13.- Pelps SM, Rand AS, Ryan MJ. A cognitive framework for mate choice and species recognition. *Am Nat* 2006;167(1):28-42.
- 14.- Tsujio M, Yoshioka K, Satoh M, Watahiki Y, and Mutoh K. Skin morphology of thyroidectomized rats. *Vet Pathol*, 2008; 45:505-11.
- 15.- Chen K, Carey LC, Valego NK, Rose JC. Thyroid hormone replacement normalizes renal renin and angiotensin receptor expression in thyroidectomized fetal sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 293(2):701-6.
- 16.- Zimmermann E, Ribas FMJ, Malafaia O, Marcodes RPCA, Nunes NPA, Stieven FE, Przysiezny PE. Tracheal suture in rats with hypothyroidism. Wound healing study. *Act Cir Bras* 2009;24(4):282-89.
- 17.- Berbel P, Navarro D, Ausó E, Varea E, Rodríguez A E, Ballesta JJ, Salinas M. et al. Role of late maternal thyroid hormones in cerebral cortex development: an experimental model for human prematurity.
- 18.- Kendo K, Levy A, Lightman SL. Effects of maternal iodine deficiency and thyroidectomy on basal neuroendocrine function in rat pups. *J Endocrinol* 1997;152(3):423-30.
- 19.- Nago H, Imazu T, Hayashi H, Takahashi K and Minato K. Influence of thyroidectomy on thyroxine metabolism and turnover rate in rats. *Journal of Endocrinology* 2011;210:117-123.
- 20.- Usenko SV, Lepekhin AE, Lyzogubov V, Kornilovska I, Apostolov OE, Tytarenko GR, Witt M. The influence of maternal hypothyroidism and radioactive iodine on rat embryonal development: thyroid C-cells. *The Anatomical Record* 1999; 256:7-13.
- 21.- Torlak V, Zemunik T, Modun D, Capkun V, Pesultic P V, Markotic A, et al. ¹³¹I- Induced changes in rat thyroid gland function. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40(8):1087-94.
- 22.- Usenko V, Lepekhin E, Lyzogubov VV, Kornilovska NI, Usakova G, Witt M. The influence of low doses ¹³¹I- induced maternal hypothyroidism on the development of rat embryos. *Exp Toxicol Pathol* 1999; 51(3):223-27.

- 23.- Hershman JM, Okunyan A, Rivina Y, Cannon S and Hogen V. Prevention of DNA double strand breaks induced by radioiodine- ¹³¹ I in FRTL 5 thyroid cells. *Endocrinology* 2011;152(3):1130-1135.
- 24.- Rustamov NM, Kvachadze ID, Bakaia ZA, Mitagvaria NP. Iodine deficiency in the prenatal period may form learning ability deficiency in the postnatal period. *Georgian Med News* 2010;178:65-8.
- 25.- MacLanahan ED, Andersen ME, Fisher JW. A biologically based dose response model for dietary iodide and the hypothalamic pituitary thyroid axis in the adult rat: evaluation of iodine deficiency. *Toxicol Sci* 2008; 102(2):241-53.
- 26.- Wijk N, Rijntjes, Heijning BJM. Perinatal and chronic hypothyroidism impair behavioural development in male and female rats. *Experimental Physiology* 2009;93(11):1199-1209.
- 27.- Sudari SB, Venu L, Sunita Y, Raghunath M. Chronic maternal dietary iodine deficiency but not thiocyanate feeding affects maternal reproduction and postnatal performance of the rat. *Indian J Exp Biol* 2007;45(7):603-9.
- 28.- Kawada J, Mino H, Nishida M, Yoshimura Y. An Appropriate model for congenital hypothyroidism in the rat induced by neonatal treatment with propylthiouracil and surgical thyroidectomy: Studies on learning ability and biochemical parameters. *Neuroendocrinology* 1988; 47: 424-30.
- 29.- Gilbert ME. Alterations in synaptic transmission and plasticity in area CA1 of adult hippocampus following developmental hypothyroidism. *Developmental Brain Research* 2004;148:11-18.
- 30.- Axelstad M, Hansen PR, Boberg J, Bonnichsen M, Nellemann C, Lund SP, et.al. Developmental neurotoxicity of propylthiouracil (PTU) in rats: relationship between transient hypothyroxinemia during development and long-lasting behavioural and functional changes. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2008;232:1-3.
- 31.- Isaia F, Aragoni MC, Arca M, Demartin F, Devillanova FA, Floris G, et al. Interaction of methimazole with I₂: X-ray crystal structure of the charge transfer complex methimazole-I₂ implications for the mechanism of action of methimazole-based antithyroid drugs. *J Med. Chem* 2008; 51:4050-4053.

- 32.- Hasebe M, Matsumoto I, Imagawa T, Uehara M. Effects of anti-thyroid drug, methimazole, administration to rat dams on the cerebellar cortex development in their pups. *Int J. Devl Neuroscience* 2008; 26: 409-14.
- 33.- Bruce AB, Hongmei L and Robin LR. Effect of Methylimidazole-induced hypothyroidism in a model of low retinal neovascular incidence. *Investigative Ophthalmology&Visual Science* 2004; 45(3):919-21.
- 34.- Moriyama K, Tagami T, Usui T, Naruse M, Nambu T, Hataya Y, et al. Antithyroid drugs inhibit thyroid hormone receptor mediated transcription. *The Journal of Clinical Endocrinology metabolism* 2007;92(3):1066-1072.
- 35.- Amendola E, Luca P, Macchia PE, Terracciano D, Rosica A, Chiapetta G, Kimura S et al. A mouse model demonstrates a multigenic of congenital hypothyroidism. *Endocrinology* 2005;146(12):5038-47.
- 36.- Johnson KR, Marden CC, Ward BP, Gagnon HL, Bronson TR, Donahue RL. Congenital hypothyroidism dwarfism, and hearing impairment caused by a missense mutation in the mouse dual oxidase 2 gene, *Duox2*. *Molecular Endocrinology* 2007;21(7):1593-1602.
- 37.- Mustapha M, Fang Q, Gong TW, Dolan DF, Yehoash R, Camper SA, and Duncan K. Deafness and permanently reduced potassium channel gene expression and function in hypothyroid *Pit1^{dw}* 1 mutants. *The Journal of Nuroscience* 2009;29(4):1212-223.
- 38.- Song L, McGee J, Walsh EJ. The influence of thyroid hormone deficiency on the development of cochlear nonlinearities. *Journal of the Associatt Ressearch in Otolaryngology* 2008; 9:464-76.
- 39.- Stoica G, Lungu G, Xie X, Abbott CL, Stoica HM, Jaques JT. Inherited tertiary hypotyroidism in Sprague-Dowley rats. *Brain Res* 2007; 1148:205-16.
- 40.- Madeira MD, Sousa N, Lima AMT, Calheiros F, Cadete L and Barbosa MMP. Selective vulnerability of the hippocampal pyramidal neurons to hypothyroidism in male and female rats. *The Journal of Comparative Neurology* 1992; 322: 501-518.
- 41.- Martínez GJR, Pedraza P, Santacana M, Escobar RF, Morreale EG and Ruiz MA. Early effects of iodine deficiency on radial glial cells of the hippocampus of the rat fetus. *J. Clin. Invest.* 1997; 99(11): 2701–2709.

- 42.- Ferreira AA, Pereira MJS, Manhaes AC, Barradas PC. Ultrastructural identification of oligodendrocyte/myelin proteins in corpus callosum of hypothyroid animals. *Int J Dev Neuroscience* 2007;25:87-94.
- 43.- Barradas CP, Vieira SR and Freitas SM. Selective effect of hypothyroidism on expression of myelin markers during development. *Journal of Neurosciences Research* 2001;66:254-261.
- 44.- Goodman JH and Gilbert ME. Modest thyroid hormone insufficiency during development induces a cellular malformation in the corpus callosum: a model of cortical dysplasia. *Endocrinology* 2007; 148(6): 2593-97.
- 45.- Opazo MC, Gianini A, Pancetti G, Azkcona G, Alarcón L, Lizana R, et al. Maternal hypothyroxinemia impairs spatial learning and synaptic nature and function in the offspring. *Endocrinology* 2008; 149(10):5097-5106.
- 46.- Crofton KM. Developmental disruption of thyroid hormone: correlations with hearing dysfunction in rats. *Risk Analysis* 2004;24(6):1665-1671.
- 47.- Ciosek J, Drobnik J. Vasopressin and oxytocin release and the thyroid function. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2004;55(2):423-441.
- 48.- Ganji F, Behzadi G. Postnatal development of masseteric motoneurons in congenital hypothyroid rats. *Brain Res* 2007;1129(1):81-8.
- 49.- Lechan MR, Fekete C. Role of thyroid hormone deiodination in the hypothalamus. *Thyroid* 2005;15(8):883-897.
- 50.- Morte B, Díez D, Ausó E, Belinchón MM, Gil-I P, Grijota MC. Thyroid hormone regulation of gene expression in the developing rat fetal cerebral cortex: prominent role of the Ca^2 /calmodulin-dependent protein kinase IV pathway. *Endocrinology* 2010;151(2):810-20.
- 51.- Potter BG, Facchinetti F, Beaudoin III MJG, Thompson CC. Neuronal expression of synaptogamin-related gene 1 is regulated by thyroid hormone during cerebellar development, *The Journal of Neuroscience* 2001;21(12):4373-4380.
- 52.- Calloni WG, Penno AC, Cordova MF, Goncalves TA, Moura NV, Bainy LR. Congenital hypothyroidism alters the phosphorylation of ERK1/2 and $\text{p}^{38\text{MPK}}$ in the hippocampus of neonatal rats. *Developmental Brain Research* 2005;154:141-145.
- 53.- Vara H, Muñoz C and Collino A. Age dependent alterations of long term synaptic plasticity in thyroid deficient rats. *Hippocampus* 2003;13:816-825.

- 54.- Sui L, Anderson WL, and Gilbert ME. Impairment in short term but enhanced long term synaptic potentiation and ERK activation in adult hippocampal area CA1 following developmental thyroid hormone insufficiency. *Toxicological Sciences* 2005; 85:647-56.
- 55.- Darbra S, Balada F, Martí CMA, Garau A. Perinatal hypothyroidism effects on step-through passive avoidance task in rats. *Physiol Behav* 2004;82(2-3):497-501.
- 56.- Vara H, Martínez B, Santos A and Colino A. Thyroid hormone regulates neurotransmitter release in neonatal rat hippocampus. *Neuroscience* 2002;110(1):19-28.
- 57.- MacNabb C, O'Hare E, Cleary J, Georgopoulos PA. Varied duration of congenital hypothyroidism potentiates perseveration in a response alternation discrimination task. *Neuroscience Research* 2000; 36:121-127.
- 58.- Akaike M, Kato N, Ohno H and Kobayashi T. Hyperactivity and spatial maze learning impairment of adult rats with temporary neonatal hypothyroidism. *Neurotoxicology and teratology* 1991;13: 317-22.
- 59.- Negishi T, Kawasaki K, Segkiguchi S, Ishii Y, Kyuwa Y, Yoshikawa Y. Attention deficit and hyperactive neurobehavioural characteristics induced by perinatal hypothyroidism in rats. *Behav Brain Res* 2005; 159(2): 323-331.
- 60.- Zhang L, Blomgren K, Kuhn GH, Cooper KMC. Effects of postnatal thyroid hormone deficiency on neurogenesis in the juvenile and adult rat. *Neurobiology of Disease* 2009;34(2):366-374.
- 61.- Darbra S, Garau A, Balada F, Sala J, Martí CMA. Perinatal hypothyroidism effects on neuromotor competence, novelty-directed exploratory and anxiety-related behaviour and learning in rats. *Behavioural Brain Research* 2003; 143:209-215.
- 62.- Reid ER, Kim ME, Page D, Mara MS, Hare E. Thyroxine replacement in an animal model of congenital hypothyroidism. *Physiology Behavior* 2007;91:299-303.
- 63.- Oh-Nishi A, Saji M, Furudatet S-I, and Suzuki N. Dopamine D₂-like receptor function is converted from excitatory to inhibitory by thyroxine in the developmental hippocampus. *Journal of Neuroendocrinology* 2005;17:836-845.
- 64.- Sapronov SN, Fetova OY. The effects of L-Tryptophan on conditioned reflex learning and behavior in rats with experimental pathology of the thyroid gland. *Neuroscience and Behavioral Physiology* 2002;32(3): 237-41.

- 65a.- Alva SC, Sanchez HK, Arroyo HO, Anguiano B, Aceves C, Pacheco RJ. The maintenance of hippocampal pyramidal neuron population is dependent on the modulation of specific cell cycle regulators by thyroid hormones. *Brain Research* 2009;1271:27-35.
- 65b.- Liu Y, Redetzke AR, Said S, Pottala VJ, Moreale EG and Gerdes MA. Serum thyroid hormone levels may not accurately reflect thyroid tissue levels and cardiac function in mild hypothyroidism, *Am Journal of Physiology Heart Circulatory Physiology* 2008;294(5):37-43.
- 66.- Olivares LE, Marassi PM, Fortunato SR, da Silva CMA, Costa SHR, Araújo GI et al. Thyroid function disturbance and tipe 3 iodothyronine deiodinase induction after myocardial infarction in rats a time course study. *Endocrinology* 2007;148(10):4786-4792.
- 67.- Cokkinos DV, Pantos C. Tyroid hormones and their action on the myocardium. *Bull Acad Natl Med* 2009;193(2):327-36.
- 68.- Drobnik J, Ciosek J, Slotwinska D, Stempniak B, Zukowska D, Marczyński A et al. Experimental hypothyroidism increase content of collagen and glycosaminoglycans in the heart. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2009;60(3):57-62.
- 69.- Liu CR, Li LY, Shi F, Zang XY, Liu YM, Sun Y and Kan BH. Effect of hyper- and hypothyroid on expression of thyroid hormone receptor mRNA in rat myocardium. *Journal of Endocrinology* 2007;195:429-438.
- 70.-Yildirim MK, Bagcivan I, Sarac B, Kilicarslan H, Yildirim S, Kaya T. Effect of hypothyroidism on the purinergic responses of corpus cavernosal smooth muscle in rabbits. *Int Urol Nephrol* 2008; 40(3):691-9.
- 71.- Alturfan AA, Zengin E, Dariyerli N, Alturfan EE, Gumustas MK, Aytac E, et al. Investigation of zinc and copper level in methimazole- induced hypotiroidism: relation with the oxidant-antioxidant status. *Folia Biologica (Praha)* 2007;53:183-88.
- 72.- Gomes GM, Moreira SC, Ribeiro CAF, Ocarina NM, Moro L, Vasconcelos CA, et al. Apoptosis, proliferation and spleen histomorphometry of adult female rats with thyroid and ovarian hypofunction. *Arquivos brasileiros de endocrinología e metabologia* 2008;52(6)1031-8.
- 73.- Viridis A, Colucci R, Fornai M, Polini A, Daghini E, Duranti E, et al. Inducible nitric oxide synthase is involved in endothelial dysfunction of mesenteric small arteries from hypothyroid rats. *Endocrinology* 2009;150(2):1033-1042.

- 74.- Cameron DL, Crocker AD. The hypothyroid rat as a model of increased to dopamine receptor agonists. *Pharmacol Biochem Behav* 1990;37(4):627-32.
- 75.- Conti MI, Martínez MP, Olivera MI, Bozzini C, Mandalunis P, Bozzini CE, Alippi RM. Biomechanical performance of diaphyseal shafts and bone tissue of femurs from hypothyroid rats. *Endocrine* 2009;36(2):291-8.
- 76.- Montanelli L, Tonacchera M. Genetics and phenomics of hypothyroidism and thyroid dys- and agenesis due to PAX 8 and TTF-1 mutations. *Molecular and cellular endocrinology* 2010;322(1-2):64-71.
- 77.- Peppia M, Koliaki C, Nikolopoulos P, and Sotirios A. Skeletal muscle insulin resistance in endocrine disease. *J Biomed Biothechnol* 2010;20 (10):527-850.
- 78.- Hashimoto K, Cohen NR, Yamada M, Markan RK, Monden T, Satoh T, Mori M and Wondisford EF. Cross-talk between thyroid hormone receptor and liver X receptor regulatory pathways is revealed in a thyroid hormone resistance mouse model. *The Journal of Biological chemistry* 2006;281(1): 295-302.
- 79.- Woodmansee WW, Kerr MJ, Tucker AE, Mitchell RJ, Haakinson JD, Gordon FD, et al. The proliferative status thyrotropes is dependent on modulation of specific cell cycle regulators by thyroid hormone. *Endocrinology* 2006;147(1):272-282.
- 80.- Maralcan G, Erkol H, Erkol Z, Yanar F, Plevin R. The effects of low thyroid hormone levels on the formation of stress gastritis: an experimental study on the rats. *Turkish Journal of Trauma Emergency Surgery* 2008;14(2):96-102.
- 81.- Feitosa DS, Marques MR, Casati MZ, Sallum EA, Nociti FH, Toledo S. The influence of thyroid hormones on periodontitis related bone loss and tooth-supporting alveolar bone: a histological study in rats. *J Periodontal Res* 2009; 44:472-478.
- 82.- Wang X, Carré W, Saxton AM, Cogburn LA. Manipulation of thyroid status and/or GH injection alters hepatic gene expression in the juvenile chicken. *Cytogenet Genome Res* 2007;117(1-4):174-88.
- 83.- Zoeller RT and Rovett J. Timing of thyroid hormone action in the developing brain: clinical observations and experimental findings. *Journal of Neuroendocrinology* 2004;16:809-18
- 84.- Caturegli P and Kimura H. A non classical model of autoimmune hypothyroidism. *Thyroid* 2010;20(1):3-5.

- 85.- Montero PA, Venero C, Lavado AR, Fernández LI, García VJM, Bernal J, Guadaño FA. Modulation of adult hippocampal neurogenesis by thyroid hormones: implications in depressive like behavior. *Molecular Psychiatry* 2006; 11: 361-71.
- 86.- Pedraza PE, Obregon MJ, Escobar MHF, Escobar R, Morreale de EG; Mechanisms of adaptation to iodine deficiency in rats: thyroid status is tissue specific. Its relevance for man. *Endocrinology* 2006;147(5):2098-108.
- 87.- Ardanz N, Pagano PJ. Hydrogen peroxide as a paracrine vascular mediator: regulation and signaling leading to dysfunction. *Exp Biol Med* 2006;231:237-251.

8. Tablas del Artículo en Español

Tabla 1. Métodos para Inducir Hipotiroidismo Congénito en Diferentes Modelos Experimentales

	Modelo	Método	Especie	Referencias
I	Quirúrgico	Extirpación del la glándula tiroides por cirugía	Rata Ovejas Conejos	Tsujio M, et. al 2008 Chen K, et. al 2007 Zimmermann E, et. al 2009
II	Radiactivo	Extirpación del la la tiroides por radioisótopos yodo ¹³¹ I	Rata Ratones	Usenko V, et. al 1999 Usenko SV, et. al 1999 Torlak V, et. al 2007
III	Reducción de sustancias	Disminución de yodo en la dieta	Rata	MacLanahan ED, et. al 2008 Wijk N, et. al 2009
IV	Suministro de Sustancias	Aplicación de - Propiltiuracilo (PTU) - Metilimidazol(MMI)	Rata ratones Conejos	Kawada J, et. al 1988 Gilbert ME, et. al 2004 Isaia F, et. al 2008 Darbra S, et. al 2003 Hasebe M, et. al 2008 Bruce AB, et. al 2004 Moriyama K, et. al 2007
V	Genético	Modificación del Genoma	Ratones y Ratas	Amendola E, et. al 2005 Johnson KR, et. al 2007 Mustapha M, et. al 2009

Tabla 2. Modelos de hipotiroidismo congénito, ventajas y desventajas

	Modelo	Ventajas	Desventajas	Referencias
I	Quirúrgico	Se logra eliminar las hormonas tiroideas de la circulación-	Modelo invasivo, Extirpación induce Respuesta inmunológica, contra el propio tejido, alteraciones en el control del calcio en el organismo.	Tsujio M, et. al 2008 Chen K, et. al 2007 Zimmermann E, et.al 2009
II	Radiactivo	Daño a la GT con pequeñas dosis de yodo radiactivo, lo que provoca HC en los descendientes.	Permiso para el manejo de radiactividad y una certificación. Las repercusiones de la remoción de tiroides, también constituyen una desventaja.	Usenko V, et. al 1999 Usenko SV, et. al 1999 Torlak V, et. al 2007
III	Reducción De sustancias	Disminución progresiva de yodo sin que haya una manipulación adicional del animal	Es una dieta cara y no es fácil de conseguir.	MacLanahan ED, et. al 2008 Wijk N, et. al 2009
IV	Suministro de	Los fetos son afectados las ratas	Desventajas en el manejo del	Kawada J, et. al 1988 Gilbert ME, et. al 2004

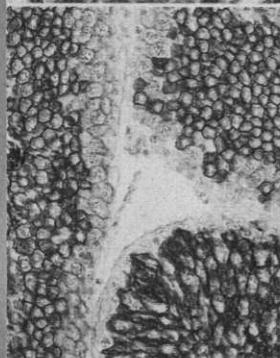
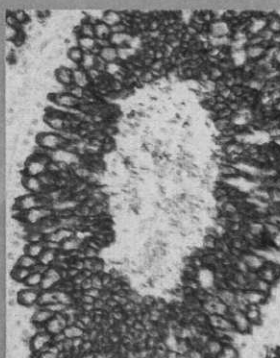
	Sustancias	no tienen un manejo adicional, tiene bajo costo, se logra reproducir HC con cantidades de microgramos.	Medicamento, la piel y las mucosas como en la boca son permeables al mismo	Isaia F, et. al 2008 Darbra S, et. al 2003 Hasebe M, et. al 2008 Bruce AB, et. al 2004 Moriyama K, et.al 2007
V	Genético	Se provoca H por daño específico a los genes.	Los animales transgénicos son caros y no se consiguen con facilidad.	Amendola E, et. al 2005 Johnson KR, et. al 2007 Mustapha M, et. al 2009



Hormone and Metabolic Research

5

Volume 41
May 2009
Page 343-418



- GLUT8 in the Testes
- Effect of Sibutramine on Rat Brain
- Nestin in Adrenocortical Tumors

www.thieme-connect.com/ejournals
www.thieme.de/fz/hmr

This journal is indexed in
MEDLINE, Current Contents,
Science Citation Index and
EMBASE and SCOPUS.

ISSN 0933-7432
eISSN 1439-8024
CODEN HMRE
Printed in Germany
© 2009 Thieme Verlag KG, Postfach 301120, 70451 Stuttgart



Thieme

II Experimental Models for the Study of Congenital Hypothyroidism

Short running head: Models for the study of hypothyroidism

Gloria Sicilia Argumedo¹, Cecilia Ridaura Sanz¹, Hugo Juárez Olguín².

1. Departamento de Patología, Instituto Nacional de Pediatría (INP), Mexico
2. Laboratorio de Farmacología, INP, and Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico.

Author for Correspondence:

Hugo Juárez Olguín

Laboratorio de Farmacología, Instituto Nacional de Pediatría.

Avenida Imán N° 1, 3rd piso Colonia Cuicuilco, CP 04530, Mexico City, MEXICO

Tel& Fax 5255 1084 3883 E-mail: juarezol@yahoo.com

Abstract

Congenital hypothyroidism (CH) is a systemic disease resulting either from thyroid glands' anatomical and functional absence or lack of hypophyseal stimulation both of which lead to deficient thyroid hormone (TH) production. The later is essential for human and animal development, growth, and function of multiple organs. Children with deficient TH can have alterations in central nervous system (CNS), striated muscle, bone tissue, liver, bone marrow, and cardiorespiratory system. Among the clinical outlook are signs like breathing difficulty, cardiac insufficiency, swallowing problems, and repeated bronchial aspiration, constipation, muscle weakness, cognitive alterations, cochlear dysfunction, reduced height, temperature regulation defects, anaemia, jaundice, infection susceptibility, and others.

Experimental and clinical studies have shown that TH is very essential for brain's normal development. Other research works based on mice pointed out that a reduced level of TH in pregnant mother leads to congenital hypothyroidism in animal models and it is associated with mental retardation, deep neurologic deficiency that impacts on cognitive, learning, and memory functions.

The principal experimental model studies that have focused on congenital hypothyroidism are reviewed in this study. This is important on considering the fact that almost all animal species require thyroid hormones for their metabolism and in many aspects their absence can provoke the same problems found in human hypothyroidism.

Key words: Congenital hypothyroidism, animal models, thyroid gland.

CONGENITAL HYPOTHYROIDISM

Congenital hypothyroidism (CH) is a systemic disease resulting either from thyroid gland's anatomical and functional absence or lack of hypophyseal stimulation both of which lead to thyroid hormone (TH) production deficiency, essential for adequate mental and physical development. It is seen as an endocrinological emergency and represents one of the most frequent causes of preventable mental retardation (MR) in infancy [1]. The most frequent cause of CH is ectopic thyroid caused by inadequate migration of thyroid gland during fetal development. This etiology is followed by thyroid aplasia or agenesis, while the third in frequency is lack of hormonogenesis [2]. CH can also result from hereditary origin when there is a family record of autoimmune diseases as lymphocytic thyroiditis or Hashimoto thyroiditis. Moreover, the consumption of some drugs that induce thyroid stimulating hormone receptor (TSR) antigens [3] could lead to CH.

The natural history of CH has greatly changed in the last decade, thanks to newborns' metabolic screening (NMS) which consist of disease detection in all apparently healthy newborns through a simple test with heel blood drop [4]. The campaigns for early detection of CH by NMS have greatly reduced neurologic sequels through opportune diagnosis and treatment [5]. The most recent evaluation of the World Health Organization (WHO), indicates that about 2.2 billion people (38% of the world population) live in endemic area of goiter. Moreover, it is estimated that 749 million are suffering from iodine deficiency (DDI) and that 11.2 millions of them are crossing with irreversible psychomotor retardation or cretinism [6]. Not only until all the newborn populations were studied using screening that the present incidence of CH was brought to awareness with worldwide incidence from 1:3800 to 1:4000 of every living newborns [7]. The basic therapy for CH is T4 hormone or thyroxin replacement until adequate level is reached for each individual. However, there are important number of children with late CH diagnosis and treatment with sequels or death from different complications directly associated with thyroid failure as swallowing disorder, neuromuscular alterations, bradycardia, and anemia among others [8]. Mental retardation seen in untreated children is the most impacting consequence, reason why CH is considered as an important source of disability worldwide [9].

Experimental Methods for the Induction of Congenital Hypothyroidism

An *in vivo* experimental model is defined as a living organism with an inherent natural acquisition of induced or spontaneous pathologic processes that could be likened to the same phenomenon occurring in humans [10]. Different methods have been used to induce hypothyroidism in animal models. The most common are 1) Surgical model – surgical removal of thyroid gland; 2) Radioactive model – removal of thyroid gland by means of iodine radioactive isotope (^{131}I); 3) Dietetic Iodine Restriction Model; 4) Substance Administration Model – antithyroid drug administration such as methylimidazol (MMI) or propylthiuracil (PTU); 5) Genetic Model – genome manipulation (Table 1).

Description of Congenital Hypothyroidism Induction Models

Surgical Model

This consists of subjecting the animal (rats, rabbits, and sheep) to extirpation of thyroid glands. The aim is to reach success in total removal of endogenous thyroid hormones from blood circulation. With this model, the reproduction of some clinical signs as seen in humans and dogs has been achieved. The results found were skin alteration (alopecia) in rats [11], alterations in cardiovascular systems, and renine-angiotensine in sheep [12], as well as reduction in collagen [13]. The models which have been used in reproducing congenital hypothyroidism could have advantages and disadvantages in their applications (table 2).

Advantages and disadvantages. The pros of this model is the elimination of TH in circulation while the cons consist of its invasive approach, complete extirpation of the gland to avoid immunologic response against any remnant, the removal of parathyroid gland with its consequence on calcium control, and absence of parafollicular cells of the thyroid itself with an important repercussion on calcium metabolism.

Radioisotope models

This model has only been studied principally in rats and mice. It consists of injecting 150 μCi (microcuries) of iodine 131 (^{131}I) to pregnant rats to produce congenital

hypothyroidism in their offspring. The objective of the model is to verify the damage provoked by radioactive iodine to follicular cells of thyroid gland of the offspring [14]. Through the model, the characteristics of damages provoked by congenital hypothyroidism have been reproduced and the results of the findings are: brain weight reduction, alterations in the gland's C. cells, and changes in body mass in the offspring of treated rats [15]. Other findings include important changes in the thyroid gland of iodine 131 (^{131}I) treated rats. Such changes consist of reduced thickness of the blood vessel walls, necrotized follicles. Strong inflammatory reactions, and necrotic cells in the follicles [16].

Advantages and Disadvantages. The merit of the model is the use of small amount of radioactive iodine in the destruction of thyroid gland leading to congenital hypothyroidism in the offspring. Demerits of the model hinge on the existence of regulatory laws demanding special permission for handling radioactive isotopes coupled with the need for specific skill for managing such material. Moreover, repercussion of the removal of parathyroid gland and destruction of parafollicular cells of the thyroid all constitute important disadvantages.

Dietetic Iodine Reduction Model

This model has principally been studied in rats and consists of feeding pregnant rats with iodine deficient diet. The aim is induction of declined thyroid hormone synthesis leading to congenital hypothyroidism and functional alterations of hypothalamic-hypophyseal axis in the offspring of treated rats [17]. Allied findings to chronic iodine deficient diet induced hypothyroidism or such diet in prenatal stage are the affection of locomotor activity, neuromotor competence, and cognitive execution in male and female offspring of rats subjected to this treatment [18].

Advantages and disadvantages. The advantage of the model is progressive iodine reduction in the rats without additional manipulation while the disadvantages are the expensiveness of the diet and the difficulty in obtaining it.

Antithyroid Substance Administration Model

There are two variants of this model. The first is by using Propylthiouracyl (PTU) and the second is Methylimidazol (MMI). Studies with this model could be done in rats, mice, and rabbits and consist of giving water with antithyroid substance to pregnant animals. With PTU, the objective is to provoke reduction in the concentration of thyroid hormone and by this way reproduces some manifestations of CH among which are structural brain damage as hippocampus and dentatum gyration leading to cognitive impairment, alterations in synaptic transmission, neural plasticity as well as in learning and memory in offspring of treated rats [19,20].

In the case of MMI, the aim is to assure the inhibition of T3 and T4 synthesis through its chemical reaction with iodine molecules (I_2) to form the stable product I-MMI and by this way the iodization of thyroid hormone is avoided. IMM passes through the placenta barrier to the fetus during gestation. The fetus is affected independent of thyroid condition of the mother [21]. Other results indicate other brain damages like excessive sublobular formation, dendritic branching alterations of the internal granular layer cells all giving rise to alterations in pattern of movement in the offspring of rats treated with MI [22]. Moreover, reduction in the vascular density in peripheral zone of the retina was reported [23] while other reports indicated that antithyroid drugs like MMI or PTU suppress the transcription of thyroid hormone receptors [24].

Advantages and Disadvantages. The advantages of this model rotate on: a) reproduction of the characteristics of CH, b) direct affection of the fetus independent of the mother's thyroid status, c) no additional handling of the rats, d) lower cost, e) the treatment is relatively easy to apply, f) it is soluble in water due to its hydrophilic properties, and g) achievement of CH with small amount of drug (micrograms). In rats, this model is the most used. There have been a higher number of reports on the models and the best documented is with this species. Births in a single pregnancy in this species are up to 15 offspring. The gestational period has duration of 21 days. For this reason, it is possible to build a very big colony in a short time. The disadvantage of the model is purely technical and hinges on inadequate handling of drug on the part of researchers based on the fact that the drug is permeable to the skin and mucus

tissues like the mouth. For this reason, this model with MMI in rats has been selected in other projects of our group to study the alterations caused by CH in different organs.

Genetic model

The application of this model has principally been in mice. It consists of crossing heterozygote mice with specific gene mutations that codify different factors of transcription to obtain mice with double heterozygotes. The results obtained this model are: a) small size of thyroid glands, b) high levels of TSH, and c) reduction in thyroglobulin production [25]. A new genetic model of mice which were made to undergo dual oxidase 2 (DUAOX2) codifying gene mutations allows the study of these alterations in thyroid glands and other glands implicated in endocrine alterations. The mutation map of the chromosome affected was made and a change in the thymine base pairs (T) by guanine (G) was identified as well as other changes in 16th axon of DUAOX2. The mice were seen to cross with goiter and thyroid glands showed few normal follicles. Other alterations were hypophyseal dysplasia, reduction of T4, and increase in the levels of TSH. Moreover, the body weight declined to half when compared with the control mice. There was deafness due to cochlea alterations. All these changes and alterations are compatibles with CH characteristics [26,27].

Advantages and disadvantages. The advantage of this model is the provocation of hypothyroidism through specific damages in the genes by means of genetic manipulation of the animals to obtain an organism that expresses the deficiency to be studied. The disadvantages are the expensiveness of transgenic animals coupled with the fact that they are difficult to obtain.

Congenital hypothyroidism carries with it a great number of alterations which provoke equal number of sequels in pediatric population and these added to their repercussions in later life stages is something that merits study and deep knowledge in order to completely address these alterations. For that, we embarked on the review of experimental studies on the most frequent alterations in humans allusive to CH.

Neurologic Alterations Structural

In one study in rats treated with PTU to provoke congenital hypothyroidism, neuronal death, alterations in structural organization of hippocampus, dentatum gyration as well as cognitive alterations were depicted [28]. Another study with the same model where there was an induction of CH by means of dietetic reduction of iodine together with MMI treatment showed that CH in early stage of development provoked hypothyroxinemia and a great number of alterations in the hippocampus, a cerebral region, where the maturity of glial cells implicated in neuronal migration were seen to be affected. In addition, there was a reduction in the synaptic density related to the deficiency of thyroid hormone in fetal brain [29]. CH in rats treated with MMI dissolved in drinking water has important consequences in the central nervous system (CNS) causing progressive morphological changes, demyelination, astrogliosis, and hypothyroxinemia. The most affected cerebral structures are hippocampus, cerebellum, cerebral stalk, neocortex and adrenal glands [30].

Thyroid hormones are involved in cerebral process of neurogenesis in the hippocampus. This involvement anchors on regulation of neuronal differentiation and migration, dendritic and axonal growths, myelination and synaptic formation. This explains why the offspring of MMI treated rats depict alterations in cognitive function, synaptic plasticity retardation and neuronal transmission [31,32]. Farahvar et al. [33] in an experimental work with PTU treated pregnant rats analyzed hippocampus' laminar volume with two-dimensional morphometric maps and confirmed that hippocampus is a brain structure involved in learning and memory that possesses an exceptional plasticity comparable with the rest of the cerebrum and could show good recovery in hypothyroidism. Mice with thyroid hormone codifying gene mutation showed a highly deep auditive disability caused by cochlear defect [34]. Barradas et al. [35] reported selective damage of myelin components by CH in MMI treated pregnant rats due to reduction in thyroid hormone levels which in addition led to alteration in the distribution of oligodendrocytes/myelin markers with resulting reduction in the myelin sheath [36]. Research carried out with PTU treated pregnant laboratory rats indicated that low level TH in a pregnant mother affects fetal brain development and induce malformations in corpus callosum in a cortical dysplasia model [37]. Morte et al. [38] in a work with rats not only with thyroid extirpation but also treated with MMI reported that the regulation of TH in fetal brain depends

on gene expression in the early stage of pregnancy. TH is also important in cerebellum development. In MMI treated pregnant rats, TH acts through nuclear receptors to modulate specific gene expressions in response to the hormones [39].

Functional

Congenital hypothyroidism, in offspring of MMI treated pregnant rats, altered the mitogenic activity of kinase protein by acting in its phosphorylation pathway and in extracellular signal regulation cascades consisting of varieties of signals involved in synaptic plasticity of the hippocampus. This led to cognitive function and development impairment in the offsprings of the rats [27,40]. Hypothyroidism induced in rats with PTU alters thyroid gland function affecting the liberation of vasopresine and oxytocine through hypothalamus-neurohypophysis in hydro equilibrium and modifies vasoprecinergic and oxytocinergic neuronal responses [41]. The maternal thyroid function induces the development of mesenteric motoneurons determined at days 1, 7, 15, and 23 of gestational age. Ganji et al. [42] in one study with PTU treated rats reported that normal level of thyroid hormones is necessary in the moment of weaning to achieve normal masticating function. Graham et al. [43] found that the most frequent cause of hypothyroidism in dogs are functional alterations in thyroid glands or in hypophysis as well as genetic or immunologic etiologies which could be accompnied by spectra of clinical signs among which the most common are low metabolic rate, skin manifestations and neurologic alterations. Other less frequent clinical sign is reproductive function alterations [44]. In another study in MMI treated pregnant rats, Darbra et al. [45] showed that CH produces maturity and development retardation of CNS in the offspring as well as learning anxiety, low emotional reactivity and neuromotor competency reduction. These parameters were measured until 80th postnatal day. Other reports on PTU treated rats revealed that low level of blood TH damages execution in learning test and spatial memory as well as the function in infant rats, parameters which were evaluated until adult stage. The damage in execution and passive response retention in learning and memory tests is related to hypothyrodism [46,47]. Akaike et al. and Negishi et al. [48,49] studied PTU treated pregnat rats and found behavioral alterations caused by perinatal hypothyroidism while in conduct test made in wáter labrinths, hyperreactivity of motor functions was reported. TH is closely related

to cardiac structure and function. Hypothyroidic rats subjected to myocardial attack were supplemented with T3 and after 14 days, an improvement in the recovery of the attack was observed in comparison with those who did not receive the supplement [50]. Another study using PTU treated rats reported a direct association between early postnatal concentration of T4 and auditory threshold. Hypothyroidism and/or hypothyroxinemia in early postnatal period provoke permanent structural damage and low auditory function for the interruption in the supply of thyroid hormone [51]. Hypothyroidism destroys many processes of internal ear development thereby producing alterations in auditory function in the offspring of mice with factor 1 transcription mutation in hypophysis [27].

Iodothyronine deiodinase (D1, D2, D3) comprises of a group of proteins involved in the conversion of thyroxine (T4) to active triiodothyroxine (T3) and in the inactivation of both hormones. These proteins are vital for the normal development and function of CNS, primary source of activated D2 in hypothalamus' integrated hormonal and neuronal signals under specific conditions, regulation of reproductive function and appetite. It can modify neuroendocrine function by alterations in the concentration of T3 in local tissue [52]. In CH rat model made to undergo Mendelian selection, it was found that CH has important consequences for CNS. The clinical signs were found to develop in about 14 days postnatal, and were characterized by ataxia, spasticity, low size and weight and hypercholesterolemia. The rats affected could die within 30 days due to severe neurological deficit [53].

Alterations in Conduct

Learning and Spatial Memory. Using a model of MMI treated pregnant rat, Opazo et al. [30] measured the conduct of the offspring applying learning test. They found that the reduction of TH due to CH is associated to mental retardation and deep neurological deficit with affectation of cognitive function, learning, and spatial memory which occurred in the postnatal stage. Akaike et al. and Negishi et al [48,49] on the offspring of PTU treated pregnant rats employing two instruments of conduct measurement -- radial labyrinth, and water labyrinth - depicted hyperreactive behavior, attention deficit, panic episodes as well as learning and spatial memory alterations. TH deficiency alters cognitive function, learning, and memory in the offspring of rats treated with MMI during pregnancy [30]. It is associated to alterations in

motor competence, exploratory behavior as well as bad execution in passive learning tests [45]. CH provokes diverse alterations such as anxiety conduct, exploratory behavior hypocalcemic development which damages learning and memory of MMI treated rats'offspring [54]. A study carried out in rats treated with MMI during pregnancy indicated that tetraiodothyronine (T₄) replacement in the offspring in postnatal days 7 and 21, considered as important stages for brain development, proved to be the most adequate for the rehabilitation and decrement of learning and spatial memory alterations which are associated to congenital hypothyroidism [55]. Other reports indicated alterations in learning execution tests in offspring of rats with CH [56]. Zhang et al. [57] studying PTU treated rats reported that TH deficiency in neurogenic regions of the brain such as hippocampus, dentatum gyrations, subventricular region and olfactory bulb provokes cognitive deficiency which could be attributed to damage in embryonic development of the brain among which are damage to the proliferation of progenitor cells, neuronal migration, myelination, long term potentiation and high expression of thyroid hormone receptors in the brain showing the selective sensitivity of hippocampus to deficiency of thyroid hormones associated with cognitive deficiency. Oh-Nishi [58] studied MMI treated young adult rats and found that CH alters the excitatory properties of dopaminergic receptors consequent to reduction of T₄ response in hippocampal neurons giving rise to cognitive deficit. Also, a study carried out in rats whose thyroid glands were extirpated showed that alterations in this gland destroy the learning process and make temporal association and long term memory difficult. The administration of L-tryptophan could correct this damage [59].

Cardiovascular Alterations

Studies carried out in pregnant rat model that were subjected to thyroid extirpation and PTU treatment confirmed the production of CH in the offspring giving rise to significant reduction of myocardial arterioles [60]. In dogs and cats, CH produces arrhythmias, cardiovascular damage and behavioral alterations [43]. Other works in PTU treated rats reported important reduction in blood concentration of T₃ and T₄ after myocardial infarction (MI) following induced left coronary artery occlusion in young rats. This low level concentration of these

hormones produces alterations in TH metabolism and deiodinase 3 (D3) expressions in the heart demonstrating the close association of TH with cardiac structures and functions [50,61]. Sheep's fetus with induced congenital hypothyroidism by extirpation of maternal thyroid gland underwent cardiac alterations and malfunction of renin-angiotensin system suggesting the implication of thyroid hormones in the maturity of this system and cardiovascular function [12]. Other studies performed with PTU treated rats indicate that hypothyroidism increases collagen and glycosaminoglycan accumulation in the heart of rats with primary hypothyroidism [62]. Experimental studies in rat models showed reduction of T3 and T4 after left coronary ligature (LCL) to evaluate the function of hypophysis-thyroid axis and TH metabolism. This reduction of TH is attributed to TH catabolism and to ectopic deiodinase D3 expression [63].

Other alterations

Experimental works by different researchers using preparations of cavernous bodies of rabbits with hypothyroidism indicated significant reduction of T3, T4 and testosterone [64]. Moreover, Reid et al. [65] measuring 3-nitrotyrosine as markers in one study reported that hypothyroidism produces oxidative stress which is associated to the levels of copper and zinc in the body. Reduction in spleen weight and increase in cell apoptosis were found in a studied carried out in PTU treated rats [66]. The findings of endothelial alterations in mesenteric arteries which were associated to nitric oxide reduction by hypothyroidism were reported in MMI treated young rats [67]. Hypothyroidism was implicated in the reduction of body temperature; receptors dopaminergic agonists sensibility increase to certain drugs like apomorphin, quinpyrole and 3-benzopine and reduction of antagonistic receptors in other studies done in PTU treated young rats [68]. In addition, studies carried out by various researchers in rats showed that hypothyroidism provokes bone tissue changes characterized by rigidity in bone movement by reduction in the position of osteoid and mineralization index of the bones as well as reduction in osteoclastic absorption [69]. In cats, the natural presentation of congenital hypothyroidism is rare and when present, it is generally seen in puppies after levothyroxine and radioactive treatment for hypothyroidism with the puppies showing better response to recovery [70]. Other studies performed in mice with TTF-1 and

Pax 8 deficiencies, two transcriptional factors known to be essential for organogenesis with differential function in thyroid glands, gave the evidence of the mutagenic origin of CH by dysgenesis of thyroid gland [71]. Thyroid hormones regulate differentiation, growth, and metabolism of all the cells of the body and constitute an important mediator in glucose and insulin metabolisms. Models of experimental studies carried out by Peppas et al. [72] demonstrated that TH plays key role in the regulation and activation of receptors of insulin and glucose protein transporters in the signaling pathways and in different myosin isoform expressions in skeletal muscles. Results of one study in mice with a mutation in 6th exon of β receptors for thyroid hormones indicated that TH are important regulator of liver TH receptors and regulates cholesterol metabolism [73]. The proliferation of one type of hypophyseal cell depends on the modulation of cell cycle regulated by TH. The contraction or expansion of hypophyseal cells is based on the fluctuation in blood hormone levels. Hypothyroidism by iodine 131 in rodents with thyroid extirpation gave rise to hypophyseal lengthening due to hyperplasia of thyrotrope cells. TH treatment therapy does not only correct hypothyroidism symptoms but also revert the hypophyseal lengthening and reduce thyrotrope population [74]. Low levels of circulating TH in rats with thyroid extirpation increase the incidence of gastritis due to stress [75]. Feitosa et al. [76] carried out a study of PTU treated rats and discovered that thyroid hormones participate in periodontal bone formation and concluded that low levels of these hormones could lead to a limitation in the formation of this bone. Another study reported that TH in conjunction with growth hormone (GH) is important in the regulation of body growth in birds and mammals. Exogenous CH increases visceral fat accumulation in young fowls and that T3 is a mediator in hepatic gene transcription in fowls [77].

Contributions in Human Pathology

Experimental studies demonstrate that thyroid hormones (TH) are essential for normal brain development of vertebrates and that their absence reproduces the effects found in human hypothyroidism [78]. Other studies employing transgenic mice chronically expressing gamma interferon in thyrocytes revealed the development of many features such as alterations in thyroid structure, microphage infiltrations, thyrocytes oncocytic changes and finally hypothyroidism similar to those observed in Hashimoto thyroiditis patients. The chronic

exposition to gamma interferon, a type of cytokinase, could *per se* lead to hypothyroidism in the absence of lymphocytic infiltrations in the thyroid [79]. Green [80] studying rats fed with low iodine diet, found the development of defect in the synthesis of thyroglobuline and in iodine metabolism similar to what happened in patients with dyshalogenase alterations which could be attributed to their inability to iodinate iodothyrosines.

Other studies in rats showed that hydrogen peroxide (H_2O_2) in thyroid glands could be very important in cell stimulation due to the fact that high concentration of this compound is a sign of the presence of mutagens, carcinogens, mitogens and cell death. Moreover, it could induce oxidative stress, ADN oxidation and damage, all of which could have as a consequence mutagenesis and apoptosis similar to what is found in humans [81]. In a study of late hypothyroidism carried out by different authors in pregnant rats subjected to thyroid extirpation in addition to simultaneous infusion of parathyroid hormones and calcitonine revealed that TH have permanent and selective effect on fetal development processes such as cell migration and connectivity affecting cytoarquitectonic organization of brain cortex associated to reduction in available T4 for the fetal brain and it is potentially dangerous for neurodevelopment [82]. Thyroid hormones are essential for hippocampal neurogenesis; thyroid status and hippocampal function while in humans, they are associated to mood disorder leading to depressive behavior [83]. One study in young rats fed with iodine deficient diets replicated the conditions of people living in zones of endemic goiter due to in iodine deficiency. The results showed that the body develops adaptation mechanism such as elevation of TSH levels to impede the reduction of T3 and T4 levels in an attempt to contra-arrest iodine deficiency [84]. The low level of TH during pregnancy in a model of rats treated with PTU has a negative effect in the size of the litter, survival, body weight, exploratory behavior, ambulatory movement, opening of the eyes and spatial orientation in the offspring which also showed inability in possibility test, assignment response, errors in spatial orientation, and crossing of quadrants in learning similar to what happens in humans with CH [85].

CONCLUSIONS

Researches in animal models studying the repercussions of congenital hypothyroidism in different organs have contributed to the knowledge of ailments and have permitted a better knowledge of alterations provoked by this sickness in pediatric population and their repercussion in adult age. In the last decade, basic research studies, have acquired greater relevance in the use of experimental models that reproduce all or some of the symptoms of congenital hypothyroidism in humans. These models have been perfected due to the use of variety of tools such as techniques of electronic microscope, immunohistochemistry, immunofluorescence, radioimmunoanalysis, genomic and proteomic investigation, etc. Moreover, the use of more sophisticated equipments that brings the professional closer to even more complete and integral knowledge of the diseases which the people complain about. Congenital hypothyroidism continued to be a very important cause of disability reason why the studies in experimental models constitute a tool that permits health professionals to obtain information very helpful in clearing up the mechanisms underlining this pathology and which as a consequence gives rise to the best therapeutic strategies.

References

- ¹ *Bautista FAJ, Melchor HE.* Congenit hypothyroidism: results of prevalence program at Clinic Hospital of Mochis, a second levels of medical attention. *Rev Especialidades Med Quirúrgicas* 2003; 8:16-20.
- ² *Ruíz RML.* Relation of seric tiroglobuline with aplasia and ectopic of tiroids in extrauterin and intrauterin congenit hypothyroidism. Facultad de Medicina, UNAM, Secretaria de Salud Instituto Nacional de Pediatría México 1997.
- ³ *Lynne BC, Rose RN.* Autoimmune thyroiditis and ros. *Autoimmunity Rev* 2008; 7: 530-37.
- ⁴ *Vela AM, Gamboa CS, Pérez AME, Ortiz CJ, González CRC, Ortega VV.* Epidemiology of congenit hypothyroidism in Mexico. *Salud Pública México* 2004; 46: 141-148.
- ⁵ *Loera LA, Aguirre BE, Gamboa S, Vargas H, Robles C, Velázquez A.* Results of the program for the prevention of mentar retard produced by congenit hypothyroidism. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1996; 53: 259-263.
- ⁶ *Barrón UC, Pérez PE.* Current concepts in congenit hypothyroidism. *Bol Med Hosp Inf Mex* 1996; 53: 264-268.
- ⁷ *Marrero GN, Rodríguez FC.* Congenit hypothyroidism: History and impact of screening. *Rev Biomed* 2000; 11: 283-292
- ⁸ *Ridaura SC, Lopez CE.* Mortal caused by hypothyroidism based on necropsy studies. *Gac Med Mex* 1995; 131: 141-146.
- ⁹ *Sánchez PC, Calzada R, Ruiz L, Altamirano N, Méndez I, Vela AM, Gamboa CS, Mandujano M.* Congenit hypothyroidism: Clinic symptoms in children lower than 15 week old after positive creening. *Rev Mex Pediatr* 2006; 73: 272-279.
- ¹⁰ *Pelps SM, Rand AS, Ryan MJ.* A cognitive framework for mate choice and species recognition. *Am Nat* 2006; 167: 28-42.
- ¹¹ *Tsujiro M, Yoshioka K, Satoh M, Watahiki Y, Mutoh K.* Skin morphology of thyroidectomized rats. *Vet Pathol* 2008; 45: 505-511.
- ¹² *Chen K, Carey LC, Valego NK, Rose JC.* Thyroid hormone replacement normalizes renal renin and angiotensin receptor expression in thyroidectomized fetal sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 293: 701-706.

- ¹³ Zimmermann E, Ribas FMJ, Malafaia O, Marcodes RPCA, Nunes NPA, Stieven FE, Przysiezny PE. Tracheal suture in rats with hypothyroidism. Wound healing study. *Act Cir Bras* 2009; 24: 282-289.
- ¹⁴ Usenko V, Lepekhin E, Lyzogubov VV, Kornilovska NI, Usakova G, Witt M. The influence of low doses ¹³¹I- induced maternal hypothyroidism on the development of rat embryos. *Exp Toxicol Pathol* 1999; 51: 223-227.
- ¹⁵ Usenko SV, Lepekhin AE, Lyzogubov V, Kornilovska I, Apostolov OE, Tytarenko GR, Witt M. The influence of maternal hypothyroidism and radioactive iodine on rat embryonal development: thyroid C-cells. *Anatomical Record* 1999; 256: 7-13.
- ¹⁶ Torlak V, Zemunik T, Modun D, Capkun V, Pesultic P V, Markotic A. ¹³¹I- Induced changes in rat thyroid gland function. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40: 1087-1094.
- ¹⁷ MacLanahan ED, Andersen ME, Fisher JW. A biologically based dose response model for dietary iodide and the hypothalamic pituitary thyroid axis in the adult rat: evaluation of iodine deficiency. *Toxicol Sci* 2008; 102: 241-53.
- ¹⁸ Wijk N, Rijntjes, Heijning BJM. Perinatal and chronic hypothyroidism impair behavioural development in male and female rats. *Experimental Physiol* 2009; 93: 1199-1209.
- ¹⁹ Kawada J, Mino H, Nishida M, Yoshimura Y. An Appropriate model for congenital hypothyroidism in the rat induced by neonatal treatment with propylthiouracil and surgical thyroidectomy: Studies on learning ability and biochemical parameters. *Neuroendocrinology* 1988; 47: 424-430.
- ²⁰ Gilbert ME. Alterations in synaptic transmission and plasticity in area CA1 of adult hippocampus following developmental hypothyroidism. *Dev Brain Res* 2004; 148: 11-18.
- ²¹ Isaia F, Aragoni MC, Arca M, Demartin F, Devillanova FA, Floris G. Interaction of methimazole with I₂: X-ray crystal structure of the charge transfer complex methimazole-I₂ implications for the mechanism of action of methimazole-based antithyroid drugs. *J Med Chem* 2008; 51: 4050-4053
- ²² Hasebe M, Matsumoto I, Imagawa T, Uehara M. Effects of anti-thyroid drug, methimazole, administration to rat dams on the cerebellar cortex development in their pups. *Int J Dev Neurosci* 2008; 26: 409-414.

- ²³ Bruce AB, Hongmei L, Robin LR. Effect of Methylimidazole-induced hypothyroidism in a model of low retinal neovascular incidence. *Invest Ophthalmol Visual Sci* 2004; 45: 919-921.
- ²⁴ Moriyama K, Tagami T, Usui T, Naruse M, Nambu T, Hataya Y. Antithyroid drugs inhibit thyroid hormone receptor mediated transcription. *J Clin Endocrinol Metabol* 2007; 92: 1066-1072.
- ²⁵ Amendola E, Luca P, Macchia PE, Terracciano D, Rosica A, Chiapetta G, Kimura S. A mouse model demonstrates a multigenic of congenital hypothyroidism. *Endocrinology* 2005; 146: 5038-5047.
- ²⁶ Johnson KR, Marden CC, Ward BP, Gagnon HL, Bronson TR, Donahue RL. Congenital hypothyroidism dwarfism, and hearing impairment caused by a missense mutation in the mouse dual oxidase 2 gene, *Duox2*. *Mol Endocrinol* 2007; 21: 1593-1602.
- ²⁷ Mustapha M, Fang Q, Gong TW, Dolan DF, Yehoash R, Camper SA, Duncan K. Deafness and permanently reduced potassium channel gene expression and function in hypothyroid *Pitd^{dw} 1* mutants. *J Neurosci* 2009; 29: 1212-1223.
- ²⁸ Madeira MD, Sousa N, Lima AMT, Calheiros F, Cadete L, Barbosa MMP. Selective vulnerability of the hippocampal pyramidal neurons to hypothyroidism in male and female rats. *J Comparative Neurol* 1992; 322: 501-518.
- ²⁹ Martínez GJR, Pedraza P, Santacana M, Escobar RF, Morreale EG, Ruiz MA. Early effects of iodine deficiency on radial glial cells of the hippocampus of the rat fetus. *J Clin Invest* 1997; 99: 2701-2709.
- ³⁰ Opazo MC, Gianini A, Pancetti G, Azkcona G, Alarcón L, Lizana R. Maternal hypothyroxinemia impairs spatial learning and synaptic nature and function in the offspring. *Endocrinology* 2008; 149: 5097-5106.
- ³¹ Vara H, Martínez B, Santos A, Colino A. Thyroid hormone regulates neurotransmitter release in neonatal rat hippocampus. *Neuroscience* 2002; 110: 19-28.
- ³² Vara H, Muñoz C, Colino A. Age dependent alterations of long term synaptic plasticity in thyroid deficient rats. *Hippocampus* 2003; 13: 816-825.

- ³³ Farahvar A, Meisami PD. Novel two- dimensional morphometric maps and quantitative analysis reveal marked growth and structural recovery of the rat hippocampal regions from early hypothyroid retardation. *Exp Neurol* 2007; 204: 541-555.
- ³⁴ Song L, McGee J, Walsh EJ. The influence of thyroid hormone deficiency on the development of cochlear nonlinearities. *J Assoc Res Otolaryngol* 2008; 9: 464-476.
- ³⁵ Barradas CP, Vieira SR, Freitas SM. Selective effect of hypothyroidism on expression of myelin markers during development. *J Neurosc Res* 2001; 66: 254-261.
- ³⁶ Ferreira AA, Pereira MJS, Manhaes AC, Barradas PC. Ultrastructural identification of oligodendrocyte/myelin proteins in corpus callosum of hypothyroid animals. *Int J Dev Neurosc* 2007; 25: 87-94.
- ³⁷ Goodman JH, Gilbert ME. Modest thyroid hormone insufficiency during development induces a cellular malformation in the corpus callosum: a model of cortical dysplasia. *Endocrinology* 2007; 148: 2593-2597.
- ³⁸ Morte B, Díez D, Ausó E, Belinchón MM, Gil-I P, Grijota MC. Thyroid hormone regulation of gene expression in the developing rat fetal cerebral cortex: prominent role of the Ca^2 /calmodulin-dependent protein kinase IV pathway. *Endocrinology* 2010; 151: 810-820.
- ³⁹ Potter BG, Facchinetti F, Beaudoin MJG, Thompson CC. Neuronal expression of synaptogamin-related gene 1 is regulated by thyroid hormone during cerebellar development, *J Neurosc* 2001; 21: 4373-4380.
- ⁴⁰ Calloni WG, Penno AC, Cordova MF, Goncalves TA, Moura NV, Bainy LR. Congenital hypothyroidism alters the phosphorylation of ERK1/2 and $\text{p}^{38\text{MPK}}$ in the hippocampus of neonatal rats. *Dev Brain Res* 2005;154: 141-145.
- ⁴¹ Ciosek J, Drobnik J. Vasopressin and oxytocin release and the thyroid function. *J Physiol Pharmacol* 2004; 55: 423-441.
- ⁴² Ganji F, Behzadi G. Postnatal development of masseteric motoneurons in congenital hypothyroid rats. *Brain Res* 2007; 1129: 81-88.
- ⁴³ Graham PA, Refsal KR, Nachreiner RF. Etiopathologic findings of canine hypothyroidism. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2007; 37: 617-631.
- ⁴⁴ Scott MJC. Clinical signs and concurrent diseases of hypothyroidism in dogs and cats. *Vet Clin North Small Anim Pract* 2007; 37: 709-722.

- ⁴⁵ Darbra S, Garau A, Balada F, Sala J, Martí CMA. Perinatal hypothyroidism effects on neuromotor competence, novelty-directed exploratory and anxiety-related behaviour and learning in rats. *Behav Brain Res* 2003; 143: 209-215.
- ⁴⁶ Sui L, Anderson WL, Gilbert ME. Impairment in short term but enhanced long term synaptic potentiation and ERK activation in adult hippocampal area CA1 following developmental thyroid hormone insufficiency. *Toxicol Sci* 2005; 85: 647-656.
- ⁴⁷ Darbra S, Balada F, Martí CMA, Garau A. Perinatal hypothyroidism effects on step- through passive avoidance task in rats. *Physiol Behav* 2004; 82: 497-501.
- ⁴⁸ Akaike M, Kato N, Ohno H, Kobayashi T. Hyperactivity and spatial maze learning impairment of adult rats with temporary neonatal hypothyroidism. *Neurotoxicol Teratol* 1991; 13: 317-322.
- ⁴⁹ Negishi T, Kawasaki K, Segkiguchi S, Ishii Y, Kyuwa Y, Yoshikawa Y. Attention deficit and hyperactive neurobehavioural characteristics induced by perinatal hypothyroidism in rats. *Behav Brain Res* 2005; 159: 323-331.
- ⁵⁰ Cokkinos DV, Pantos C. Thyroid hormones and their action on the myocardium. *Bull Acad Natl Med* 2009;193: 327-336.
- ⁵¹ Crofton KM. Developmental disruption of thyroid hormone: correlations with hearing dysfunction in rats. *Risk Analysis* 2004; 24: 1665-1671.
- ⁵² Lechan MR, Fekete C. Role of thyroid hormone deiodination in the hypothalamus. *Thyroid* 2005; 15: 883-897.
- ⁵³ Stoica G, Lungu G, Xie X, Abbott CL, Stoica HM, Jaques JT. Inherited tertiary hypothyroidism in Sprague-Dowley rats. *Brain Res* 2007; 1148: 205-216.
- ⁵⁴ Darbra S, Garau A, Balada F, Sala J, Martí-Carbonell MA. Perinatal hypothyroidism effects on neuromotor competence, novelty-directed exploratory and anxiety-related behaviour and learning in rats. *Behav Brain Res* 2003; 143: 209-215.
- ⁵⁵ Reid ER, Kim ME, Page D, Mara MS, Hare E. Thyroxine replacement in an animal model of congenital hypothyroidism. *Physiol Behav* 2007; 91: 299-303.
- ⁵⁶ MacNabb C, O'Hare E, Cleary J, Georgopoulos PA. Varied duration of congenital hypothyroidism potentiates perseveration in a response alternation discrimination task. *Neurosci Res* 2000; 36: 121-127.

- ⁵⁷ Zhang L, Blomgren K, Kuhn GH, Cooper KMC. Effects of postnatal thyroid hormone deficiency on neurogenesis in the juvenile and adult rat. *Neurobiol Dis* 2009; 34: 366-374.
- ⁵⁸ Oh-Nishi A, Saji M, Furudatet SI, Suzuki N. Dopamine D₂-like receptor function is converted from excitatory to inhibitory by thyroxine in the developmental hippocampus. *J Neuroendocrinol* 2005; 17: 836-845.
- ⁵⁹ Sapronov SN, Fetova OY. The effects of L-Tryptophan on conditioned reflex learning and behavior in rats with experimental pathology of the thyroid gland. *Neurosci Behav Physiol* 2002; 32: 237-241.
- ⁶⁰ Liu Y, Redetzke AR, Said S, Pottala VJ, Moreale EG, Gerdes MA. Serum thyroid hormone levels may not accurately reflect thyroid tissue levels and cardiac function in mild hypothyroidism. *Am J Physiol Heart Cir Physiol* 2008; 294: 37-43.
- ⁶¹ Olivares LE, Marassi PM, Fortunato SR, da Silva CMA, Costa SHR, Araújo GI. Thyroid function disturbance and type 3 iodothyronine deiodinase induction after myocardial infarction in rats a time course study. *Endocrinology* 2007; 148: 4786-4792.
- ⁶² Drobnik J, Ciosek J, Slotwinska D, Stempniak B, Zukowska D, Marczyński A. Experimental hypothyroidism increase content of collagen and glycosaminoglycans in the heart. *J Physiol Pharmacol* 2009; 60: 57-62.
- ⁶³ Olivares LE, Marassi PM, Fortunato SR, da Silva CMA, Costa-e Sousa R, Araújo GI. Thyroid function disturbance and type 3 iodothyronine deiodinase induction after myocardial infarction in rats a time course study *Endocrinology* 2007; 148: 4786-4792.
- ⁶⁴ Yildirim MK, Bagcivan I, Sarac B, Kilicarslan H, Yildirim S, Kaya T. Effect of hypothyroidism on the purinergic responses of corpus cavernosal smooth muscle in rabbits. *Int Urol Nephrol* 2008; 40: 691-699.
- ⁶⁵ Alturfan AA, Zengin E, Dariyerli N, Alturfan EE, Gumustas MK, Aytac E. Investigation of zinc and copper level in methimazole- induced hypothyroidism: relation with the oxidant-antioxidant status. *Folia Biol (Praha)* 2007; 53: 183-188.
- ⁶⁶ Gomes GM, Moreira SC, Ribeiro CAF, Ocarina NM, Moro L, Vasconcelos CA. Apoptosis, proliferation and spleen histomorphometry of adult female rats with thyroid and ovarian hypofunction. *Arquivos Brasileiros Endocrinol Metabol* 2008; 52: 1031-1038.

- ⁶⁷ *Virdis A, Colucci R, Fornai M, Polini A, Daghini E, Duranti E.* Inducible nitric oxide synthase is involved in endothelial dysfunction of mesenteric small arteries from hypothyroid rats. *Endocrinology* 2009; 150: 1033-1042.
- ⁶⁸ *Cameron DL, Crocker AD.* The hypothyroid rat as a model of increased to dopamine receptor agonists. *Pharmacol Biochem Behav* 1990; 37: 627-632.
- ⁶⁹ *Conti MI, Martínez MP, Olivera MI, Bozzini C, Mandalunis P, Bozzini CE, Alippi RM.* Biomechanical performance of diaphyseal shafts and bone tissue of femurs from hypothyroid rats. *Endocrine* 2009; 36: 291-298.
- ⁷⁰ *Greco DS.* Diagnosis of congenital and adult onset hypothyroidism in cat. *Clin Tech Small Anim Pract* 2006; 21: 40-44.
- ⁷¹ *Montanelli L, Tonacchera M.* Genetics and phenomics of hypothyroidism and thyroid dys-and agenesis due to PAX 8 and TTF-1 mutations. *Mol Cel Endocrinol* 2010; 322: 64-71.
- ⁷² *Peppia M, Koliaki C, Nikolopoulos P, Sotirios A.* Skeletal muscle insulin resistance in endocrine disease. *J Biomed Biothechnol* 2010; 20: 527-550.
- ⁷³ *Hashimoto K, Cohen NR, Yamada M, Markan RK, Monden T, Satoh T, Mori M, Wondisford EF.* Cross-talk between thyroid hormone receptor and liver X receptor regulatory pathways is revealed in a thyroid hormone resistance mouse model. *J Biol Chem* 2006; 281: 295-302.
- ⁷⁴ *Woodmansee WW, Kerr MJ, Tucker AE, Mitchell RJ, Haakinson JD, Gordon FD.* The proliferative status thyrotropes is dependent on modulation of specific cell cycle regulators by thyroid hormone. *Endocrinology* 2006; 147: 272-282.
- ⁷⁵ *Maralcan G, Erkol H, Erkol Z, Yanar F, Plevin R.* The effects of low thyroid hormone levels on the formation of stress gastritis: an experimental study on the rats. *Turkish J Trauma Emerg Surg* 2008;14: 96-102.
- ⁷⁶ *Feitosa DS, Marques MR, Casati MZ, Sallum EA, Nociti FH, Toledo S.* The influence of thyroid hormones on periodontitis related bone loss and tooth-supporting alveolar bone: a histological study in rats. *J Periodontal Res* 2009; 44: 472-478.
- ⁷⁷ *Wang X, Carré W, Saxton AM, Cogburn LA.* Manipulation of thyroid status and/or GH injection alters hepatic gene expression in the juvenile chicken. *Cytogenet Genome Res* 2007; 117: 174-188.

- ⁷⁸ Zoeller RT, Rovett J. Timing of thyroid hormone action in the developing brain: clinical observations and experimental findings. *J Neuroendocrinol* 2004; 16: 809-818
- ⁷⁹ Caturegli P, Kimura H. A non classical model of autoimmune hypothyroidism. *Thyroid* 2010;20:3-5.
- ⁸⁰ Green LW. Induction of a coupling defect in rats during inhibition of tyrosine dehalogenase. *Endocrinology* 1976; 98: 10-19.
- ⁸¹ Song Y, Driessens N, Costa M, De Deken X, Detours V, Corvilain B. Review: roles of hydrogen peroxide in thyroid physiology and diseases. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2007; 3: 249-259.
- ⁸² Berbel P, Navarro D, Ausó E, Varea E, Rodríguez A E, Ballesta JJ, Salinas M. Role of late maternal thyroid hormones in cerebral cortex development: an experimental model for human prematurity. *Cerebral Cortex* 2010; 20: 1462-1475.
- ⁸³ Montero PA, Venero C, Lavado AR, Fernández LI, García VJM, Bernal J, Guadaño FA. Modulation of adult hippocampal neurogenesis by thyroid hormones: implications in depressive like behavior. *Mol Psychiatr* 2006; 11: 361-371.
- ⁸⁴ Pedraza PE, Obregon MJ, Escobar MHF, Escobar R, Morreale EG. Mechanisms of adaptation to iodine deficiency in rats: thyroid status is tissue specific. Its relevance for man. *Endocrinology* 2006; 147: 2098-2108.
- ⁸⁵ Brosvic GM, Taylor NJ, Dihoff RE. Influences of early thyroid hormone manipulations: delays in pup motor and exploratory behavior are evident in adult operant performance. *Physiol Behav* 2002; 75: 697-715.

Articl of tables

Table 1. Different Experimental Model Methods for the Induction of Congenital Hypothyroidism

	Models	Method	Species	References
I	Surgical	Extirpation of thyroid gland	Rat Sheep Rabbits	Tsujio M, et. al 2008 Chen K, et. al 2007 Zimmermann E, et. al 2009
II	Radiative	Application of iodine Radioisotope ^{131}I	Rat Mice	Usenko V, et. al 1999 Usenko SV, et. al 1999 Torlak V, et. al 2007
III	Substance Reduc	Dietetic Reduction of iodine	Rat	MacLanahan ED, et. al 2008 Wijk N, et. al 2009
IV	Administration substances	Application of - Propyltiuracil (PTU) - Methylimidazol(MMI)	Rat Mice Rabbits	Kawada J, et. al 1988 Gilbert ME, et. al 2004 Isaia F, et. al 2008 Darbra S, et. al 2003 Hasebe M, et. al 2008 Bruce AB, et. al 2004 Moriyama K, et. al 2007
V	Genetic	Genom Manipulation	Mice and	Amendola E, et. al 2005

			Rats	Johnson KR, et. al 2007 Mustapha M, et. al 2009
--	--	--	------	--

Table 2. Congenital Hypothyroidism Models: advantages and disadvantages

	Model	Advantages	Disadvantages	References
I	Surgical	Success in elimination of thyroid hormone in blood.	It is an invasive model. Complete extirpation of thyroids to avoid induction immune response due to remnants which produce antibodies against the tissue itself. Another disadvantage is the removal of thyroid gland is related with calcium metabolism.	Tsujio M, et. al 2008 Chen K, et. al 2007 Zimmermann E, et.al 2009
II	Radioactive	Damage of thyroid gland with small dose of radioactive iodine giving rise to congenital hypothyroidism in the descendants	Special permission is needed for handling radioactive isotopes and specific skill for the same objective. The consequence of removing parathyroid and parafollicular cells of the thyroid is also a disadvantage.	Usenko V, et. al 1999 Usenko SV, et. al 1999 Torlak V, et. al 2007
III	Substance reduction	The rats witness	It is an expensive diet that is not easy to get.	MacLanahan ED, et. al 2008

		progressive reduction of iodine without undergoing special handling.		Wijk N, et. al 2009
IV	Supply substances	Reproduces many characteristics of CH. The fetus is directly affected no matter the condition of the thyroid of the mother, the rats do not have additional handling. So, the cost does not increase. Treatment is relatively simple to apply. Due to their hydrophilic nature, they can mix up well in solution.	As disadvantage is that imply medicine use by doctors can have errors in administration and dosage, because skin and tissue of mouth can be permeable to substances.	Kawada J, et. al 1988 Gilbert ME, et. al 2004 Isaia F, et. al 2008 Darbra S, et. al 2003 Hasebe M, et. al 2008 Bruce AB, et. al 2004 Moriyama K, et.al 2007

		Reduction of congenital hypothyroidism with small amount of medicine in the order of micrograms.		
V	Genetic	Provokes hypothyroidism through specific damage to the genes thereby, genetically manipulating the animals to obtain an organism expressing the deficiency to study	Transgenic animals are expensive and not easy to get.	Amendola E, et. al 2005 Johnson KR, et. al 2007 Mustapha M, et. al 2009

III Dictamen Preliminar del Comité Editorial de la Revista **Hormone and Metabolic Research**

Carta del Editor

Dear Dr. Juarez Olguin,

Manuscript ID HMR-2011-07-0200 entitled "Experimental Models for the Study of Congenital Hypothyroidism / Models for the study of hypothyroidism" which you submitted to **Hormone and Metabolic Research** has been reviewed. The reviewers' comments are included at the bottom of this letter.

In view of the criticisms of the reviewers, I am sorry to inform you that the manuscript has not been accepted for publication in **Hormone and Metabolic Research** at this time and in this version. However, a new manuscript may be submitted which takes into consideration the comments below.

Please note that resubmitting your manuscript does not guarantee eventual acceptance, and that your resubmission will be subject to re-review by the reviewer(s) before a decision is rendered.

To submit a new version go to <http://mc.manuscriptcentral.com/hmr> and log into your Author Center. Click on "Manuscripts with Decisions," and then click on "Create a Resubmission" located next to the manuscript number. Follow the steps for resubmitting your manuscript. Thus, it is traceable for the Editorial Office that your manuscript is a resubmission and furthermore, all entries of your previous manuscript version are available.

To revise your manuscript files please use a word processing program and save it on your computer. You will be unable to make your revisions on the originally submitted files of your manuscript.

Many thanks for your contribution.

Sincerely,
Prof. Werner Scherbaum
Editor-in-Chief
Hormone and Metabolic Research
E-mail: hmr@thieme.de

Reviewers' comments to author:

Reviewer: 1

Comments to the Author

Excellent review, very complete and updated

Reviewer: 2

Comments to the Author

This review article summarizes various experimental models to study congenital hypothyroidism and what was discovered using these models. The first part presents various experimental methods to produce hypothyroidism in animals such as mice, rats and rabbits with the description of advantages and disadvantages in each method. This part is reasonably well-organized and easy to follow, however, whether these methods produce hypothyroidism in adult animals, or fetus, or both is not clear. This is critical since the authors emphasize congenital hypothyroidism, which causes multiple problems in children.

As compared to the first part, the second part is rather lengthy and in some parts redundant. The authors should make the second part more concise, which allows the readers to understand the contents more easily. Similar to the first part, the authors should try to make clearer what experiments resulted in what phenotypes in adult, fetus, or both. The authors' intention for this review is clear, but what's written is not straightforward to understand.

In general, the English is poor and it needs to be edited. Some sentences are too long. Instead of putting all words in one sentence, I recommend to use two sentences.

Some specific issues are listed below.

English editing and shortening of the content to be more concise are necessary before this manuscript should be considered for publication.

Editorial problems (not all are included)

p.3, line 2-3: ...leads to thyroid hormone (TH) production deficiency, essential for adequate mental and physical development => ...leads to deficiency in thyroid hormone production, which is essential for...

p.3, line 6-4 from the bottom (Not only....): not understandable.

p.5, 2nd line, Table 2: difficulty of complete extirpation of the gland to avoid....

p. 6, 2nd paragraph, 3rd sentence: With PTU, ..., Too long.
.....which are structural brain damage in hippocampus and dentatum gyration leading to....

p.7, 3rd line from the bottom, ...that codify?? different factors of transcription ... : I do not know what the word "codify" means in this context. I assume that the

authors want to say "...specific gene mutations in different transcription factors such as TTF1 and PAX8 (please specify these transcription factors) to obtain mice with...

p. 8, 4-5th line (The mice were seen...): not understandable.

p. 12, several places: associated "with", not "to".

p. 14, 5th line: ..were found in studies carried out....

p.14, 8th line: sensibility should be sensitivity.

p. 15, 4th line from the bottom: cytokinase should be cytokine.

Table 1, Category III, "Models": Substance Reduc...(cut off in the middle).
Category V, "Models": Genome Manipulation

Table 2, Category IV, Advantages, 7th line: the rats do not require additional...
Disadvantages: In any methods, doctors can have errors in administration and dosage, and/or processing. Further, this part of sentence would not connect well to the following sentence; "because skin and tissues of mouth can be permeable to substances".

Reviewer: 3

Comments to the Author

Review of Manuscript HMR- 2011-07-0200

This manuscript is presented as a review of experimental models of congenital hypothyroidism. However, the clinical definition of congenital or neonatal hypothyroidism is decreased thyroid hormone production in the newborn and focuses on postnatal hormone insufficiency. Many of the experimental models presented in this review describe experimental interventions performed on the pregnant dam. Therefore a more correct title would be "Experimental Models of Developmental Hypothyroidism", which more correctly describes experimentally-induced hormone insufficiency during the pre and postnatal period.

It is clear that English is not the authors' first language. There are numerous typos and misspellings that the use of spell check could remedy. There are a number of instances where the names of brain structures are misspelled but the correct spelling was readily available in the source reference. Perhaps the authors' should have a colleague read the manuscript before submission.

Finally, the writing needs to be more sophisticated and the description of the individual models more detailed. For instance, on page 6, under the discussion of

Antithyroid Substance Administration Model, the authors need to describe the mechanism by which MMI and PTU interfere with thyroid hormone production. Also include how long it takes to work and how long it takes for hormone levels to return to normal levels once drug treatment has been discontinued.

Over all the manuscript is poorly written and poorly organized but does contain useful information.

Comments Regarding Format from the Editorial Office:

Please make sure of the accuracy and completeness of your references before submitting the manuscript. A correct text for the standard reference citation is given below:

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. J Biol Chem 1951; 193: 265–275

(names of all authors, full title of the paper, name of the journal in which it has been published, year of publication, volume, first and last page; please note the exact punctuation)

General hints:

1) Figures and tables are to be excluded from the main document and uploaded separately.

2) HbA1c results are to be given in SI (Système International) units (mmol/mol – no decimals) and derived NGSP units (% - one decimal), using the IFCC-NGSP master equation (DCCT units).

IV Protocolo de Investigación

2.1 Título

Reproducción y caracterización de un modelo de hipotiroidismo congénito inducido por metilimidazol en ratas gestantes y en sus descendientes.

2.2 Firmas y nombres de los Investigadores

Investigadores Intramuros

Laboratorio de Neuromorfometría

Biol. Gloria Sicilia Argumedo (Responsable Principal)

Dra. Leticia Granados Rojas

Biol. Armando Valenzuela Peraza

Dra. Julieta Griselda Mendoza Torreblanca

Técnico María Sara Navarrete Hemández

Unidad de Microscopía Confocal

M. en C. Marco A. Martínez Ávila

Departamento de Patología

Dra. Cecilia Ridauro Sanz

Laboratorio de Hormonas

Químico María Eugenia Costantini Millan

3.- RESUMEN ESTRUCTURADO

Antecedentes.- El hipotiroidismo congénito (HC) es una enfermedad sistémica debida a la falta de hormonas tiroideas (HT) esenciales para el desarrollo, crecimiento y función de múltiples órganos, tanto en humanos como en animales. Se han diseñado diversos modelos de hipotiroidismo experimental en muchas especies animales. Uno de ellos es un modelo en ratas, suministrando sustancias que alteran la función de la glándula tiroides como el metilimidazol (MMI), que es un potente fármaco antitiroideo. Este modelo tiene la ventaja de producir hipotiroidismo con cantidades pequeñas de medicamento del orden de microgramos, el MMI es soluble en agua, el tratamiento a los animales no es complicado, su costo es relativamente bajo comparado con los otros modelos por lo que metodológicamente es posible reproducirlo en el laboratorio.

Planteamiento del Problema.- Los modelos animales de hipotiroidismo congénito descritos en la literatura, dan únicamente resultados parciales de acuerdo a objetivos específicos y no se ha hecho un estudio que analice las características generales tanto de comportamiento como de alteraciones estructurales en varios tejidos tanto en las madres como en los descendientes. Siendo el hipotiroidismo congénito una enfermedad sistémica con muchas expresiones clínicas y patológicas, se requiere conocimiento integral del fenómeno. La reproducción y caracterización de un modelo experimental puede servir como plataforma para preguntas ulteriores sobre la enfermedad.

Justificación.- El hipotiroidismo congénito sigue siendo un problema de salud importante en los niños, que requiere un estudio integral y multidisciplinario para su manejo. La reproducción y caracterización de un modelo animal de hipotiroidismo congénito nos permitirá profundizar sobre esta patología y en particular las alternativas de tratamiento auxiliar para evitar las secuelas neurológicas y prevenir el desarrollo de complicaciones en otros órganos y sistemas.

Objetivo.- Reproducir y caracterizar un modelo de hipotiroidismo congénito inducido por metilimidazol en ratas gestantes y en sus descendientes.

Tipo de Estudio.- Experimental, prospectivo, longitudinal y comparativo.

Material y Método.- Ratas preñadas se asignarán a 2 grupos: control y experimental. Grupo control (GC) sin tratamiento, grupo experimental o de hipotiroidismo congénito (GHC) se tratará con 0.04% de MMI en el agua de beber durante la gestación. Se determinarán los niveles de hormonas tiroideas T3, T4 y TSH, el peso corporal y el comportamiento tanto en los descendientes como en sus madres. Al finalizar el experimento tanto los descendientes como sus madres se sacrificarán y se colectarán los órganos, para posteriormente procesarlos para análisis macro y microscópico.

4.- ANTECEDENTES

Hipotiroidismo Congénito

El hipotiroidismo congénito (HC) es una enfermedad sistémica debida a la falta de hormonas tiroideas (HT) esenciales para el desarrollo, crecimiento y función de múltiples órganos, tanto en humanos como en animales (1,2). Los niños con deficiencia tiroidea tienen alteraciones en el sistema nervioso central, músculo estriado, tejido óseo, hígado,

medula ósea y sistema cardiorespiratorio. Clínicamente presentan dificultad respiratoria, insuficiencia cardíaca, problemas de deglución, broncoaspiraciones repetidas, constipación, debilidad muscular, alteraciones cognitivas, disfunción coclear, talla baja, alteraciones en la regulación térmica, anemia, ictericia, susceptibilidad a infecciones y otras más (3). El retraso mental que presentan los niños no tratados es la consecuencia de más impacto por lo que el hipotiroidismo congénito se considera como importante fuente de discapacidad (4).

A nivel mundial se afecta el 4% de la población, localizándose en algunas regiones cretinismo endémico por el bajo consumo de yodo (1,5). En México la prevalencia de hipotiroidismo neonatal es mayor que la reportada mundialmente (6). "EL Programa de Prevención del Retraso Mental de Origen Metabólico" en México, reportó en una década incidencias de 1:2,458 y una frecuencia de 1:1951 niños nacidos vivos, presentándose un predominio femenino 2:1 (7,8). Las campañas de detección temprana de HC a través del tamiz neonatal han disminuido en forma importante las secuelas neurológicas cuando el diagnóstico y el tratamiento han sido oportunos (8). Indiscutiblemente el reemplazo de la hormona faltante hasta alcanzar los niveles adecuados para cada individuo es la terapia básica de este padecimiento. Sin embargo hay aún un número importante de niños con HC diagnosticados y tratados tardíamente que resultan con secuelas o que fallecen por diversas complicaciones relacionadas directamente con la falla tiroidea (9,3).

Algunas investigaciones reportan como causa de defunción en niños, el síndrome de Johanson–Blizzard, que consiste en complicaciones con insuficiencia pancreática y glándula tiroides pequeña (10). Otros trabajos indican que niños con hipotiroidismo congénito murieron por insuficiencia cardíaca o por broncoaspiración (3). La disfunción tiroidea puede dañar las arterias coronarias provocando arterosclerosis, lo que puede ocasionar la muerte (11). También se ha reportado el síndrome de muerte súbita en niño con disminución de T3 y T4 y de casos con atireosis (12,3). Otros reportes indican que la disminución de HT ocasiona daño renal, que provoca enfermedad cardiovascular y arterosclerosis que pueden ser causa de muerte por las complicaciones que se manifiestan como uremia, intolerancia a la glucosa e hiperlipidemia (13).

Otra causa de muerte es la tiroiditis con infiltración linfocítica en la glándula tiroides (14). Disminución en las HT puede ser causa de muerte ya que la disfunción tiroidea está relacionada con infecciones mucocutáneas recurrentes por candidiasis en 19 pacientes pediátricos con hipotiroidismo congénito (15). Por otra parte hay pacientes que teniendo una detección oportuna y tratamiento hormonal sustitutivo continúan con problemas del desarrollo en diversas áreas, muchas de estas alteraciones son debidas a la comorbilidad como son las malformaciones asociadas, las infecciones frecuentes, la desnutrición, la falta de estímulo en el hogar, el mal manejo por parte del cuidador etc. (3,4).

Hipotiroidismo Congénito y Hormonas tiroideas en modelos animales

Todas las especies animales requieren de las hormonas tiroideas (HT) para su metabolismo y su ausencia reproduce en muchos aspectos lo encontrado en el hipotiroidismo humano (2). Las HT participan en el desarrollo del pelo, los resultados encontrados en ratas con hipotiroidismo experimental es análogo a lo que se presenta tanto en humanos como en perros, la disminución de HT puede causar alopecia, alteraciones en la piel principalmente

en la epidermis y en el folículo piloso (16). Trabajos experimentales demuestran que las HT, participan en la formación de hueso periodontal, por lo que bajos niveles de estas hormonas pueden limitar su formación (17). Otras investigaciones en ratas indican que la disminución en los niveles de HT en la madre durante la gestación, afecta el desarrollo del cerebro fetal (18). Las HT están implicadas en procesos cerebrales de neurogénesis en el hipocampo, regulan la diferenciación y migración neuronal, el crecimiento de dendritas y axones, la mielinización y la formación de sinapsis (19). La deficiencia de HT, está asociada con daño al corazón, por una mutación en la transcripción de T3 en tejido cardíaco (20). La disminución de hormonas tiroideas provoca hipotiroidismo congénito en modelos animales, que está relacionado con retardo mental y déficit neurológico profundo, afectando la función cognitiva, el aprendizaje y la memoria (21). En perros y gatos el hipotiroidismo puede provocar un amplio rango de signos clínicos, los más comunes son: disminución del metabolismo basal, alteraciones neurológicas, manifestaciones dermatológicas, disfunción reproductiva, arritmias y daño cardiovascular (22). Otros reportes indican disminución significativa de T3, T4 y testosterona en preparaciones de cuerpos cavernosos de conejos hipotiroideos (23). Fetus de ovejas con hipotiroidismo congénito provocado por extirpación de la glándula tiroidea materna, tuvieron alteraciones cardíacas y un mal funcionamiento del sistema renina angiotensina; esto sugiere que las hormonas tiroideas están implicadas en la maduración de este sistema y de la función cardiovascular (24).

Ratones con hipotiroidismo muestran una profunda discapacidad auditiva, provocada por un defecto coclear (25). Otros estudios en modelos animales como deficiencia de yodo en la dieta, muestran que el HC, en etapas tempranas del desarrollo, causa una gran cantidad de alteraciones en el hipocampo, como: maduración incompleta de neuronas y células gliales, así como reducción en la densidad sináptica relacionadas con la deficiencia de HT en el cerebro fetal (26). En ratas tiene importantes consecuencias para el sistema nervioso central, los signos clínicos se desarrollan alrededor del día 14 postnatal, y se caracterizan por ataxia, espasticidad, talla y peso bajos e hipercolesterolemia, las ratas afectadas pueden morir a los 30 días debido al severo déficit neurológico (27) el deterioro se caracteriza por progresivos cambios morfológicos, desmielinización y astrogliosis, las estructuras cerebrales más afectadas, son el hipocampo, cerebelo, tallo cerebral, neocorteza y glándulas adrenales (28) las alteraciones en el aprendizaje y la memoria se observan en etapa postnatal midiendo la conducta en pruebas de aprendizaje (29). Otros reportes indican alteraciones en el comportamiento causado por hipotiroidismo perinatal en pruebas de conducta, los resultados reportan hiperactividad motora, déficit de atención y episodios de pánico (30).

Métodos para inducir hipotiroidismo congénito en modelos animales.

Diversos métodos han sido usados para inducir hipotiroidismo en modelos animales, tales como: 1) extirpación completa de la glándula tiroidea por cirugía (tiroidectomía); 2) radiotiroidectomía usando isótopos radiactivos yodo 131 (I_{131}); 3) restricción de yodo en la dieta y recientemente, 4) la administración de fármacos antitiroideos como el metilimidazol (MMI) ó el propiltiuracilo (PTU). Estos métodos han permitido estudiar los efectos del hipotiroidismo congénito en varios modelos animales y en muchos órganos afectados.

La tabla 1 muestra los modelos para provocar hipotiroidismo congénito en diferentes especies.

	Modelo	Procedimiento	Especie
I	Quirúrgico	Extirpación De la glándula tiroides	Rata Ovejas Conejos
II	Radiactivo	Aplicación de radioisótopos yodo I ₁₃₅	Rata Ratones
III	Reducción de sustancias	Disminución de yodo en la dieta	Rata
IV	Suministro de Sustancias	Aplicación de - Propiltiuracilo - Metilimidazol(MMI)	Rata, ratones Conejos

DESCRIPCIÓN DE LOS MODELOS PARA INDUCIR HIPOTIROIDISMO CONGÉNITO

I.- Modelo quirúrgico.

Se ha estudiado en ratas, conejos y ovejas. Consiste en someter al animal a la extirpación total de la glándula tiroides. El objetivo de este modelo es remover totalmente las hormonas tiroideas endógenas de la circulación, con este modelo se ha logrado reproducir algunos signos clínicos como los que se observan en humanos y en perros. Los resultados encontrados son: alteraciones de la piel (alopecia) en ratas (16), alteraciones en los sistemas cardiovascular y renina-angiotensina en ovejas (24). Este modelo tiene la ventaja de que se logra eliminar las HT de la circulación, pero puede tener desventajas porque es un modelo invasivo, en el que se debe extirpar totalmente la glándula tiroides ya que si se queda parte de ella ésta puede inducir una respuesta inmunológica lo que produce anticuerpos contra el propio tejido. Otra desventaja es que junto con la tiroides se remueve la glándula paratiroides que está relacionada con el control de calcio en el organismo, así como células parafoliculares de la propia tiroides que también participan en el metabolismo del calcio.

II.- Modelo por isótopos radiactivos.

Se ha estudiado principalmente en ratas y ratones. Consiste en inyectar 150 µCi (microcuries) de yodo 131 (¹³¹I) a ratas preñadas; El objetivo de este modelo es verificar el daño que produce el yodo radiactivo a las células foliculares de la tiroides (31). Con este modelo se han logrado reproducir algunas características del daño que causa el hipotiroidismo congénito. Los resultados encontrados son: reducción en el peso del cerebro, de la glándula tiroides y de la masa corporal en descendientes de ratas tratadas (32). La

ventaja de este modelo es que con pequeñas dosis de yodo radiactivo se logra dañar a la glándula tiroides lo que provoca hipotiroidismo congénito en los descendientes, la desventaja es que se necesita un permiso especial para manejar isótopos radiactivos y un adiestramiento específico con la misma finalidad. Las repercusiones de la remoción de la paratiroides y de las células parafoliculares de la propia tiroides también constituyen una desventaja.

III.- Modelo de reducción de yodo en la dieta.

Este modelo se ha estudiado en ratas principalmente; consiste en proporcionar a las hembras preñadas una dieta pobre en yodo. El objetivo del modelo es provocar disminución en la síntesis de hormonas tiroideas, lo que induce hipotiroidismo congénito en las ratas. Los resultados encontrados son: alteraciones en el desarrollo del hipocampo debido a que el poco yodo disponible no es suficiente para un buen desarrollo del cerebro en etapa postnatal en descendientes de hembras tratadas (26) así como también alteraciones en la función del eje hipotálamo-hipófisis (33). La ventaja de este modelo es que las ratas van teniendo una disminución progresiva de yodo sin que haya una manipulación adicional del animal, la desventaja es que es una dieta cara y no se consigue en México.

IV.- Modelo de suministro de sustancias antitiroideas.

En este modelo hay dos variantes: con propiltiuracilo (PTU) y con metilimidazol (MMI). Este modelo se ha estudiado en ratas ratones y conejos; consiste en adicionar una sustancia antitiroidea a los animales en el agua de beber, durante la etapa de gestación. En el modelo con PTU el objetivo es provocar disminución en la concentración de hormonas tiroideas; con esta sustancia se han logrado reproducir algunas manifestaciones del (HC). Los resultados encontrados son: daño a estructuras cerebrales como el hipocampo lo que ocasiona alteraciones en el aprendizaje y la memoria en descendientes de ratas tratadas (34). Con MMI el objetivo es asegurar la inhibición de la síntesis de T3 y T4 ya que el MMI reacciona químicamente con la molécula de yodo (I_2), formando un producto estable I-MMI evitando que las hormonas tiroideas se yodinisen. El MMI atraviesa la barrera placentaria por lo que pasa directamente al feto durante la gestación, los fetos se ven directamente afectados independientemente de la condición tiroidea de la madre (35,36). Con esta sustancia se ha logrado provocar hipotiroidismo en las ratas preñadas y en sus descendientes así como diversas alteraciones causadas por el HC. Los resultados encontrados son alteración en el desarrollo del hipocampo lo cual daña el aprendizaje y la memoria en descendientes de ratas tratadas (37) así como alteraciones en el cerebelo lo que altera el patrón de movimiento en descendientes de ratas tratadas con MMI (38), también se encontró disminución en la densidad vascular en la zona periférica de la retina (39).

Otros resultados son alteraciones en la expresión del gen para factores de crecimiento neural y alteraciones en la mielina (40, 41). Las ventajas de este modelo, son que reproduce muchas características del HC, los fetos son afectados directamente independientemente de la condición tiroidea de la madre, que las ratas no tienen un manejo

adicional, su costo no es elevado, el tratamiento es relativamente sencillo de aplicar, por sus características hidrofílicas es soluble en agua por lo que se integra bien en solución. Puede haber un inconveniente en el manejo del medicamento por parte de los investigadores ya que se requiere de especial cuidado debido a que la piel y el tejido mucoso como el de la boca son permeables al mismo.

Criterios para la selección del modelo y la especie animal para este estudio.

1.- Por lo antes expuesto se sabe que con el modelo de metilimidazol se ha logrado producir hipotiroidismo e hipotiroxinemia en las ratas preñadas y como consecuencia hipotiroidismo congénito en sus descendientes (37) debido a que el MMI es un medicamento que atraviesa la barrera placentaria y bloquea la función tiroidea materna y fetal, reacciona con las moléculas de yodo (I_2) para formar, I-metilimidazol como producto final (35), también se han documentado diversas alteraciones derivadas del hipotiroidismo congénito como las que se presentan en humanos: alteraciones en el sistema nervioso central, retraso mental (4), alteraciones en hipocampo (19,21), en tejido cardíaco (20), malformación coclear (25), alteraciones fisiológicas y en el comportamiento así como en el desarrollo cognitivo (36,37).

2.- El mecanismo químico del MMI consiste en la inhibición de los precursores de la síntesis de hormonas tiroideas (la monoyodotironina y la diyodotironina) y como secuestrador de yodo. El mecanismo de acción del MMI ha sido estudiado para desarrollar nuevos medicamentos anti tiroideos con pocos efectos adversos (35).

3.- Este modelo tiene la ventaja de que se logra reproducir hipotiroidismo congénito con cantidades pequeñas del medicamento del orden de microgramos, el MMI es soluble en agua, el tratamiento a los animales no es complicada, su costo es relativamente bajo comparado con los otros modelos por lo que metodológicamente es posible reproducirlo en el laboratorio debido a lo expuesto se decidió usar el modelo de suministro de sustancias con MMI para este estudio.

El modelo en rata es el más utilizado: hay mayor número de reportes de los modelos en esta especie, son mejor documentados (31,32,33-39,40,43), las camadas por parto son numerosas hasta 15 descendientes, la gestación tiene una duración 21 días por lo que se puede tener una colonia grande en poco tiempo.

4.1 Planteamiento del Problema

Los modelos animales de hipotiroidismo congénito descritos en la literatura, dan únicamente resultados parciales de acuerdo a objetivos específicos y no se ha hecho un estudio más completo que analice las características generales tanto de comportamiento como de alteraciones estructurales en varios tejidos tanto en las madres como en los descendientes. Este trabajo pretende conjuntar el análisis de diversas variables que aseguren la reproducibilidad del modelo así como su caracterización. Siendo el hipotiroidismo congénito una enfermedad sistémica con muchas expresiones clínicas y patológicas, se requiere conocimiento integral del fenómeno. La reproducción y

caracterización de un modelo experimental puede servir como plataforma para preguntas posteriores sobre la enfermedad.

5.- JUSTIFICACIÓN

El hipotiroidismo congénito sigue siendo un problema de salud pública importante en los niños, que requiere de un estudio integral y multidisciplinario para su manejo. En el Instituto Nacional de Pediatría, se ha generado una línea de investigación importante sobre hipotiroidismo congénito a partir del programa nacional de tamizaje para esta entidad. La reproducción y caracterización integral de un modelo animal de hipotiroidismo congénito nos permitirá profundizar sobre esta patología y en particular las alternativas de tratamiento auxiliar para evitar las secuelas neurológicas y prevenir el desarrollo de complicaciones en órganos y sistemas. La principal aportación de este estudio radica en la caracterización exhaustiva del modelo de hipotiroidismo congénito, analizando en un sólo estudio las principales variables como son: niveles hormonales, comportamiento, peso corporal, sobrevida, tamaño de la camada, alteraciones macroscópicas y microscópicas en todos los órganos, y morbilidad asociada.

5.1.- Pregunta de Investigación

¿El modelo utilizado, nos permitirá reproducir las características del hipotiroidismo inducido con MMI en ratas gestantes y medir alteraciones en sus descendientes?

6.- OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Reproducir y Caracterizar un modelo de hipotiroidismo congénito en descendientes de ratas gestantes tratadas con metilimidazol.

Objetivos Particulares:

- Comprobar la inducción de hipotiroidismo congénito con metilimidazol en las ratas gestantes a través de la determinación de hormonas tiroideas en sangre antes del estudio y al finalizar la gestación y en los descendientes al nacimiento y al final del experimento en los grupos control y experimental; lo que nos asegurará la reproducibilidad del modelo.
- Describir las manifestaciones del hipotiroidismo congénito en ratas gestantes y en sus descendientes mediante la determinación del peso corporal, en los grupos control y experimental.
- Comprobar la inducción de hipotiroidismo congénito a través la cuantificación del tamaño de la camada, la determinación de la morbilidad asociada y la sobrevida en los descendientes.
- Comprobar la inducción del hipotiroidismo a través de la medición del comportamiento de la madre hacia la camada, y el comportamiento de los descendientes.
- Analizar las alteraciones macro y microscópicas de todos los órganos en las ratas adultas y en los descendientes, con técnicas histológicas.

Los objetivos antes descritos excepto el primero servirán para caracterizar el modelo.

7.- HIPOTESIS

Los descendientes de ratas con hipotiroidismo inducido con MMI presentaran alteraciones en el peso corporal, el comportamiento y estructura macro y microscópica de los órganos examinados similar ó equivalente a lo que se describe en el hipotiroidismo congénito en humanos.

8.- CLASIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Experimental, prospectiva, longitudinal y comparativa.

9.- MATERIAL Y MÉTODOS

Población

Ratas de la cepa Wistar que se obtendrán del bioterio del Instituto Nacional de Pediatría. Del INC, Instituto Nacional de Cardiología

Criterios de inclusión

Ratas adultas

Se incluirán ratas adultas gestantes de 70 días de edad.

Descendientes

Se incluirán ratas machos y hembras al nacimiento, descendientes de ratas control y experimentales.

Criterios de exclusión

Ratas Adultas

Se excluirán aquellas hembras adultas, que adquieran alguna infección respiratoria, de oído o gastrointestinal antes de iniciar el tratamiento.

Descendientes

Se excluirán aquellos descendientes que al nacimiento sufran algún problema de salud no relacionado con el hipotiroidismo (ejemplo traumatismo) o sufra algún daño causado por la madre como canibalismo o amputación de algún miembro.

Criterios de eliminación

Por el momento no se han determinado ya que el análisis longitudinal en todas sus manifestaciones forma parte de los resultados.

Ubicación del estudio

Este estudio se realizará en el Laboratorio de Neuromorfometría de la torre de Investigaciones Joaquín Cravioto del INP, en colaboración con el laboratorio de hormonas del mismo Instituto, el Departamento de patología y el Bioterio del Instituto Nacional de Cardiología (INC)

Tipo de Muestreo: No probabilístico, por cuota (42).

Tamaño de la muestra

Se trabajará con 20 hembras gestantes para empezar el estudio. Se trabajará con los machos y las hembras descendientes: 10 descendientes por género de cada grupo, es decir 10 machos del grupo control y 10 machos del grupo experimental así como 10 hembras del grupo control y 10 hembras del grupo experimental, en total 40 descendientes. Sin embargo este tamaño de muestra puede variar dependiendo de las repercusiones que tiene el hipotiroidismo congénito en la sobrevivencia de los descendientes. Este tamaño de muestra se seleccionó con base en la bibliografía que se consultó, ya que en todos los reportes analizados trabajan siempre con un tamaño de muestra similar y en ningún estudio reportan el cálculo de su muestra. Consideramos que este trabajo nos puede dar información confiable para que en futuras investigaciones se calcule el tamaño de la muestra con fundamentos más sólidos.

Variables del Estudio

Se definen en la siguiente tabla

Ratas Adultas

Variable Dependiente	Definición	Tipo de variable	Escala de Medición
Concentración TSH	Hormona estimulante de la tiroides	Cuantitativa continua	µIU
Concentración T3,	Triyodotironina	Cuantitativa continua	ng/100ml
Concentración T4	Tetrayodotironina	Cuantitativa continua	ng/100ml
Peso corporal		Cuantitativa continua	g.
Comportamiento	Aceptación o rechazo de la camada.	Cualitativa nominal	si/no
Alteraciones Estructurales macroscópicas	Descripción macroscópica del órgano por medio del tamaño, el peso, color y textura	Cualitativa nominal Cuantitativa continua	Descriptiva Normal/Anormal

Alteraciones Estructurales microscópicas	Descripción del tejido por medio de alteraciones del epitelio, proporción de estructuras celulares, congestión de eritrocitos.	Cualitativa nominal	Descriptiva Normal/Anormal
---	--	---------------------	----------------------------

Variable Independiente	Definición	Tipo de variable	Escala de medición
Concentración de MMI	Metilimidazol	Cuantitativa Continua	µg /100ml

Descendientes

Variable dependiente	Definición	Tipo de variable	Escala de medición
Concentración TSH	Hormona estimulante de la tiroides	Cuantitativa continua	µIU
Concentración T3,	Triyodotironina	Cuantitativa continua	ng/100mL
Concentración T4	Tetrayodotironina	Cuantitativa continua	ng/100mL
Talla	Longitud del cuerpo de la cabeza a la cola	Cuantitativa continua	cm
Peso corporal		Cuantitativa continua	g.
Comportamiento	Orientación espacial búsqueda de pezón, tono muscular, alteraciones del sistema nervioso (ataxia, espasticidad, hiperactividad, apertura palpebral)	Cualitativa nominal	si/no
Sobrevida	Si sobreviven al tratamiento	Cuantitativa discreta	%
Procesos neurológicos	Apertura de los ojos Hiperactividad	Cualitativa nominal	si/no
Alteraciones	Descripción	Cualitativa	Descriptiva

Estructurales macroscópicas	macroscópica del órgano por medio del tamaño, el peso, color y textura.	nominal Cuantitativa continua	Normal/Anormal
Alteraciones Estructurales microscópicas	Descripción del tejido por medio de alteraciones del epitelio, proporción de estructuras celulares, congestión de eritrocitos.	Cualitativa nominal	Descriptiva Normal/Anormal
Morbilidad	Porcentaje de enfermedad	Cuantitativa	%

Métodos y Procedimientos

Se asignaran al azar 20 ratas hembras adultas nulíparas de 250 gr. de peso que se aparearan con machos adultos de 300gr, después del apareamiento se harán frotis vaginales, la presencia de tapón vaginal nos indicará el inicio de la gestación, éste se considera el día 0 de gestación.

Formación de Grupos y Tratamiento

Ratas Gestantes

Se formaran dos grupos con diez ratas gestantes cada uno: grupo control (GC) y grupo experimental ó de hipotiroidismo congénito (GHC).

Descendientes

Al nacimiento de los descendientes se trabajará con los machos y las hembras y se formarán 4 grupos con 10 descendientes cada uno: grupo control machos (GCm), grupo control hembras (GCh), grupo de hipotiroidismo congénito machos (GHCm) y grupo de hipotiroidismo congénito hembras (GHCh).

Tratamiento con metilimidazol (MMI)

Ratas Gestantes

Consumo de agua y MMI (hoja de recolección de datos 1)

Las ratas del grupo control (GC), permanecerán sin tratamiento en el bioterio con alimento y agua a libre demanda hasta el final del experimento. A las ratas del grupo GHC se les suministrará 0.04% de metilimidazol (MMI), durante la gestación a partir del día G10 (43). A cada hembra se le dará 0.04µgr de MMI disueltos en el agua de beber en un volumen de 100mL de agua cada día, este volumen se cambiará todos los días (44). A las hembras de los dos grupos se les medirá el consumo diario de agua y para el grupo experimental GHC se obtendrá el consumo real de MMI por día haciendo una regla de tres.

a) Perfil Tiroideo

Ratas Gestantes

Determinación de hormonas (hoja de recolección de datos 2)

A las hembras de los dos grupos se les suministrará una dosis de anestesia (Ketamina, 35 mg/Kg de peso vía intramuscular) seguida de un tranquilizante (Rompum, 3 mg/Kg de peso, por vía intraperitoneal). Se hará una venodisección en la cola de la rata, bajo el microscopio estereoscópico, para canalizar la vena caudal y obtener una muestra de sangre de 1ml en tubos ependorf. Se determinarán las siguientes hormonas: TSH (hormona estimulante de la tiroides), T3 (triiodotironina) y T4 (tetrayodotironina), en 2 diferentes tiempos, antes de iniciar el tratamiento para obtener los valores basales y al finalizar el mismo. Los niveles esperados para rata son: de T3- 53.58 ng/100ml, T4- 4.31ng/100ml y TSH- 0.41µIU, (45).

Descendientes

Determinación de hormonas (hoja de recolección de datos 3).

En los descendientes se hará también en 2 tiempos. Dado el tamaño de las crías al nacimiento, se sacrificarán cuatro descendientes de cada camada por decapitación. El resto al finalizar el experimento por punción cardíaca. El procedimiento para la extracción de sangre se hará de la misma forma que se hizo para las ratas gestantes. Las muestras de sangre de las ratas adultas y de los descendientes se colocarán en una gradilla durante 45 minutos para que se separe el suero del paquete globular, las muestras se procesaran en una centrifuga clínica marca Hettich Zentrifugen a 10,000 rpm por 15 min y se obtendrá el suero para cuantificar los niveles de TSH, T3 y T4. Las concentraciones hormonales se cuantificarán por quimioluminiscencia con un autoanalizador marca Inmolite Siemens 2000. (Manual de procedimientos, Hettich Zentrifugen, Mikro 120).

b) Peso Corporal

Registro de peso corporal (hoja de recolección de datos 4)

Ratas gestantes

Se registrará el peso corporal de las hembras gestantes a partir del día 0 de gestación una vez por semana, con una balanza para animales previamente calibrada.

Se harán curvas de crecimiento.

Descendientes

Registro de peso corporal (hoja de recolección de datos 5)

Al nacimiento se registrará el peso de los descendientes y posteriormente a partir del día 7 posnatal, cada tercer día hasta el sacrificio, se harán curvas de crecimiento.

c) Tamaño de la camada

Registro del tamaño de la camada (hoja de recolección de datos 6)

Se contará el número de descendientes por camada en los grupos control y experimental.

d) Sobrevida

Registro de sobrevida (hoja de recolección de datos 7)

La sobrevida de los descendientes será calculada por el número de descendientes vivos en una hora después del parto y el número de descendientes vivos cada día después del parto hasta el día 21 de vida (44).

e) Comportamiento

Registro de comportamiento (hoja de recolección de datos 8)

Ratas Adultas

Se observará el comportamiento natural de las hembras respecto a su camada en su caja de acrílico, se filmará durante una hora los primeros 10 días después del parto con una cámara de video de luz infrarroja, conservando siempre el mismo horario, para efectos de filmar el comportamiento de las ratas se cambiará el ciclo de luz/ oscuridad (ciclos circadiano) de acuerdo a los hábitos naturales de las ratas (45), los parámetros que se evaluarán en las hembras son: comportamiento hacia la camada (rechazo o aceptación de la misma) si hay canibalismo hacia la camada.

Registro de comportamiento (hoja de recolección de datos 9)

Descendientes

Se filmará también el comportamiento de los descendientes a los 7,14 y 21 días posnatales, procurando que la hembra no perciba la presencia del observador y a través de un cristal para que no perciban el olor, los parámetros que se evaluarán en los descendientes son: orientación espacial, búsqueda de pezón, apertura palpebral, tono muscular, alteraciones del sistema nervioso (ataxia, espasticidad, hiperactividad).

f) Morbilidad Asociada (hoja de recolección de datos 14)

Se medirán manifestaciones de enfermedades no directamente atribuibles al hipotiroidismo congénito como infecciones en oído (otitis), o infecciones por micoplasma.

g) Análisis de los órganos

Ratas adultas (hoja de recolección de datos 10)

Al finalizar el experimento esto será 21 días después del parto las madres se sacrificarán por perfusión intracardiaca previa anestesia como ya se mencionó en párrafos anteriores, una vez anestesiadas las ratas, se hará una incisión con bisturí en el lado izquierdo del tórax, paralelo al esternón hasta el ventrículo izquierdo, y a través de una cánula se pasaran 300mL de una solución de formalina al 10% amortiguada con buffer de fosfatos hacia el torrente sanguíneo para fijar todos los órganos "in situ". Se hará una incisión en la aurícula derecha para permitir que el flujo de sangre con fijador drene. Los fluidos con el fijador se colectaran en un contenedor y se llevaran al almacén de Residuos Patológico Biológico Infecciosos (RPBI). Se removerán los órganos (hígado, cerebro, glándula tiroides, riñones, corazón etc.). Los cadáveres de la ratas se guardaran en bolsas amarillas y se llevarán a almacén de RPBI.

Análisis macroscópico.- (hoja de recolección de datos 10). Se hará un análisis macroscópico descriptivo de los órganos; para lo cual se evaluará el tamaño, el peso, el color y la textura de cada órgano. Se tomarán fragmentos representativos de cada órgano y se guardarán por lo menos 24 horas en la misma solución, después de 24 horas de fijación los órganos se lavarán de 12 a 24 horas en agua corriente para quitar el exceso de fijador. Se pasarán en alcoholes graduales de 50^o, 70^o, 80^o, 90^o, 96^o, absoluto, absoluto-xilol y xilol por una hora en cada cambio, posteriormente se embeberán en parafina y finalmente se incluirán también en parafina. **Análisis microscópico** (hoja de recolección de datos 11). Se harán cortes histológicos representativos de cada órgano y se procesarán con técnica histológica de rutina (Hematoxilina-Eosina que nos permiten observar daño estructural en los órganos, técnicas de Nissl y técnica argéntica de Golgi para sistema nervioso central. Se hará un análisis histológico descriptivo de los órganos, el cual consiste en hacer una descripción general en las relaciones morfológicas y estructurales histológica de los tejidos de cada órgano observando alteraciones del epitelio, proporción de estructuras celulares y, congestión de eritrocitos, comparando el grupo experimental con el control.

Descendientes

Análisis macroscópico y microscópico (hoja de recolección de datos 12 y 13).

Al cumplir 21 días de edad los descendientes (hembras y machos) serán destetados, y se sacrificarán de la misma forma que sus madres por perfusión intracardíaca con 150 mL de formalina al 10%, se colectarán los órganos y se procesarán los tejidos con las mismas técnicas que las ratas adultas, haciendo un análisis macroscópico descriptivo de los órganos y un análisis microscópico descriptivo de los tejidos.

10.- ANALISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizarán con el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences). El análisis estadístico se definió de acuerdo al tipo de variables que existen en el estudio y se dividió en 2 etapas:

Primera etapa- Estadística Descriptiva

En esta parte se harán tablas de frecuencias y porcentajes, se obtendrán las medidas de tendencia central según el caso: Media (X), Mediana (Md) ó Moda (Mo) y las medidas de dispersión según el caso: Rango, Desviación estándar (S) ó Varianza (S²). Al final de esta etapa se harán gráficas que representarán visualmente a los datos.

Segunda etapa- Estadística Inferencial

En esta etapa se aplicarán las pruebas estadísticas a los datos de acuerdo al tipo de variable que pueden ser estadística Univariada ó Multivariada.

Hembras

Para las variables cuantitativas donde sólo tenemos dos grupos: se hará una prueba paramétrica, " t" de student (si la distribución de los datos es normal, de lo contrario se aplicará la prueba U de Mann Whitney) para el nivel hormonal y el peso corporal.

Descendientes

Para las variables cuantitativas se hará una prueba paramétrica para más de tres muestras independientes. ANOVA (prueba de F) (si la distribución de los datos es normal, de lo contrario se utilizará una prueba de Kruskal-Wallis). Para los descendientes y las mamás: La conducta y el porcentaje de sobrevida que son variables cualitativas nominales, se hará una prueba no paramétrica de χ^2 para muestras independientes.

11.- CONSIDERACIONES ÉTICAS.- Todas las ratas se mantendrán en condiciones estándar de bioterio con alimento y agua a libre demanda con un ciclo luz-oscuridad 12/12, temperatura ambiente de 22-24°C, como lo señala la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Diario Oficial, 22 agosto de 2001 así como también de acuerdo a los lineamientos del Comité Institucional para el Cuidado de los animales de Laboratorio (CICUAL), del Instituto Nacional de Pediatría. Dentro de la metodología se indica la forma en que se sacrificarán a las ratas, lo cual también está de acuerdo a la norma oficial y a los lineamientos del comité.

12.- CRONOGRAMA

Actividad	Dic 2009	Ene 2010	Abr 2010	May 2010	Jun 2010	Jul- Dic 2010	2011 2012	2013
Someter el protocolo a la comisión de Investigación para su evaluación	X	X						
Correcciones Sugeridas por el comité			X	X				
Reenvío de protocolo corregido de acuerdo a los revisores					X			
Inicia el pie de cría de Ratas en el Instituto de Biomédicas-UNAM						X		
Cruza de ratas para obtener los grupos experimentales Y control						X		
Inicio de la fase experimental						X		
Conclusión del trabajo experimental							X	
Elaboración de resultados							X	
Elaboración del trabajo para Publicación								X

Nota. Las fechas pueden modificarse a partir de la aprobación del protocolo.

12.- REFERENCIAS

- 1.- Solís JC, Valverde C. Hipotiroidismo neonatal: fisiopatogénea, aspectos moleculares, metabólicos y clínicos. *Revista de Investigación clínica* 2006; 58(4):318-334.
- 2.- Hetzel SB and Mano TM. A review of experimental studies of iodine deficiency during fetal development. *The Journal of Nutrition* 1998: 145-151.
- 3.- Ridaura SC, Lopez CE. Causes of death in congenital hypothyroidism. An autopsy study. *Gac Med Mex* 1995; 13(2):141-6.
- 4.- Sánchez-Pérez C, Calzada R, Ruiz L, Altamirano N, Méndez I, Vela-Amieva M, Gamboa Cardiel S, Mandujano M. Hipotiroidismo congénito manifestaciones clínicas en niños menores de 15 semanas con tamiz neonatal positivo. *Revista Mexicana de Pediatría* 2006; 73: 272-279.
- 5.- Stacpoole LHH. El bocio endémico en México. *Bol Med Hosp Inf Mex* 1996; 53(6):305.
- 6.- Marrero GN, Rodríguez FC. Hipotiroidismo congénito: historia e impacto del tamizaje. *Rev. Biomed* 2000; 11:283-292.
- 7.- Loera-Luna A, Aguirre B, Gamboa S, Vargas H, Roblas C, Velásquez A. Resultados del programa para la prevención del retraso mental producido por hipotiroidismo congénito. *Bol. Med. Hosp Infant Mex* 1996; 53: 259-263.
- 8.- Vela AM, Gamboa CS, Pérez AME, Ortiz CJ, González CR, Ortega VV. Epidemiología del hipotiroidismo congénito en México. *Salud pública de México* 2004; 46(2):148.
- 9.- Núñez AO. Hipotiroidismo congénito. *Paediatrica*, 2003; 5(2):93-100.
- 10.- Daentl DL, Frias JL, Gilbert EF, Opitz JM. The syndrome: case report and autopsy finding. *Am J Med Genet* 1979; 3(2):129-35.
- 11.- Singh S, Duggal J, Molner J, Maldonado F, Barsano CP, Arora R. Impact subclinical thyroid disorders on coronary heart disease, cardiovascular and all-cause mortality: a meta-analysis. *Int J Cardiol* 2009; 125 (1): 41-8.
- 12.- Risse M, Weiler G, Benker G. Comparative histologic and hormonal studies of the thyroid gland with special reference to sudden infant death (SIDS). *Z Rechtsmed* 1986;96(1):31-8.
- 13.- Klein KL, Kurokawa K. Metabolic and endocrine alterations in end stage renal failure. *Postgrad Med* 1978; 64 (5): 99-108.
- 14.- Vestergaard V, Drostrup DH, Thomsen JL. Sudden unexpected death associated with lymphocytic thyroiditis. *Med. Sci. Law* 2007; 27 (2):125-33.
- 15.- Herrod HG. Chronic mucocutaneous candidiasis in childhood and complications of non-candida infection: a report of the pediatric immunodeficiency collaborative study group. *The J of Pediatrics* 1990; 116(3):377-82.
- 16.- Tsujio M, Yoshioka K, Satoh M, Watahiki Y, and Muthot K. Skin morphology of thyroidectomized rats. *Vet Pathol*, 2008; 45:505-511.
- 17.- Feitosa DS, Marques MR, Casati MZ, Sallum EA, Nociti FH Jr., de Toledo S. The influence of thyroid hormones on periodontitis related bone: a histological study in rats. *J Periodontal Res* 2009; 44(4):472-478.

- 18.- Goodman JH and Gilbert ME. Modest thyroid hormone insufficiency during development induces a cellular malformation in the corpus callosum: a model of cortical dysplasia. *Endocrinology* 2007; 148(6): 2593-2597.
- 19.- Montero PA, Venero C, Lavado-Autric R, Fernandez-LI, GarciaVJM, Bernal J and Guadaño-FA. Modulation of adult hippocampal neurogenesis by thyroid hormones: implications in depressive like behavior. *Molecular Psychiatry* 2006; 11: 361-371.
- 20.- Francois M, Delemer B. What's new in the couple thyroid and heart in 2008. *Ann Endocrinol* 2008; 69 (1):537-543.
- 21.- Sui L, Anderson WL, and Gilbert ME. Impairment in short term but enhanced long term synaptic potentiation and ERK activation in adult hippocampal area CA1 following developmental thyroid hormone insufficiency. *Toxicological Sciences* 2005; 85:647-656.
- 22.- Scott-Moncreiff JC. Clinical signs and concurrent diseases of hypothyroidism in dogs and cats. *Vet Clin North small Anim Pract* 2007; 37(4):709-22.
- 23.- Yildirim MK, Bagcivan I, Sarac B, Kilicarslan H, Yildirim S, Kaya T. Effect of hypothyroidism on the purinergic responses of corpus cavernosal smooth muscle in rabbits. *Int Urol Nephrol* 2008; 40(3):261-9.
- 24.- Chen K, Carey LC, Valego NK, Rose JC. Thyroid hormone replacement normalizes renal renin and angiotensin receptor expression in thyroidectomized fetal sheep. *Am J Physiol Regul Integr Com Physiol* 2007; 293(2):701-6.
- 25.- Song L, McGee J, Walsh EJ. The influence of thyroid hormone deficiency on the development of cochlear nonlinearities. *J Assoc Res Otolaryngol* 2008; 9(4):464-76.
- 26.- Martínez G JR, Pedraza P, Santacana M, Escobar RF, Morreale G and Ruiz-MM. Early effects of iodine deficiency on radial glial Cells of the hippocampus of the rat fetus. *J. Clin. Invest.* 1997; 99(11): 2701-2709.
- 27.- Stoica G, Lungu G, Xie X, Abbott LC, Stoica HM, Jaques JT. Inherited tertiary hypothyroidism in Sprague-Dowley rats. *Brain Res* 2007; 1148:205-16.
- 28.- Madeira MD, Sousa N, Lima-Andrade MT, Calheiros F, Cadete-Leite and Paula-Barbosa MM. Selective vulnerability of the hippocampal pyramidal neurons to hypothyroidism in male and female rats. *The Journal of Comparative Neurology* 1992; 322: 501-518.
- 29.- MacNabb C, O'Hare, CJ, Georgopoulos PA. Varied duration of congenital hypothyroidism potentiates perseveration in a response alternation discrimination task. *Neuroscience Research* 2000; 36:121-127.
- 30.- Negishi T, Kawasaki K, Segkiguchi S, Ishii Y, Kyuwa Y, Yoshikawa Y. Attention deficit and hyperactive neurobehavioural characteristics induced by perinatal hypothyroidism in rats. *Behav Brain Res* 2005; 159(2): 323-331.
- 31.- Usenko SV, Lepekhin AE, Lyzogubov VV, Kornilovska NI, Apostolov OE, Tytarenko GR, Witt M. The influence of maternal hypothyroidism and radioactive iodine on rat embryonal development: Thyroid C-cells, *The Anatomical Record* 1999; 256(1):7-13.
- 32.- Usenko SV, Lepekhin AE, Lyzogubov VV, Kornilovska NI, Usakova G, Witt M. The influence of low doses ¹³¹I- induced maternal hypothyroidism on the development of rat embryos. *Exp Toxicol Pathol* 1999; 1(3):223-227.
- 33.- MacLanahan ED, Andersen ME, Fisher JW. A biologically based dose response model for dietary iodine and the hypothalamic pituitary thyroid axis in the adult rat: evaluation of iodine deficiency. *Toxicol Sci* 2008; 102(2):241-253.

- 34.- Kawada J, Mino H, Nishida M, Yoshimura Y. An Appropriate model for congenital hypothyroidism in the rat induced by neonatal treatment with propylthiouracil and surgical thyroidectomy: Studies on learning ability and biochemical parameters. *Neuroendocrinology* 1988; 47: 424-430.
- 35.- Isaia F, Aragoni MC, Arca M, Demartín F, Devillanova FA , Floris G, et al. Interaction of Methimazole with I₂ implications for the mechanism of action of methimazole-based antithyroid drugs. *J. Med. Chem* 2008; 51: 4050-4053.
- 36.- Darbra S, Garau A, Balada F, Sala J, Martí-Carbonell MA. Perinatal hypothyroidism effects on neuromotor competence, novelty-directed exploratory and anxiety-related behaviour and learning in rats. *Behavioural Brain Research* 2003; 143:209-215.
- 37.- Opazo MC, Gianini A, Pancetti, Azkcona G, Alarcón L, Lizana R, et al. Maternal hypotiroxinemia impairs spatial learning and synaptic nature and function in the offspring. *Endocrinology* 2008; 149(10):5097-5106.
- 38.- Hasebe M, Matsumoto I, Imagawa T, Uehara M. Effect of anti-thyroid drug, methimazole, administration to rat dams on the cerebellar cortex development in their pups. *Int J. Devl Neurosciences* 2008; 26: 409-414.
- 39.- Bruce AB, Hongmeid L and Robin LR. Effect of Methylimidazole-induced hypothyroidism in a model of low retinal neovascular incidence. *Investigative Ophthalmology&Visual Science* 2004; 40(3):919-921.
- 40.- Morte B, Díez D, Ausó E, Belinchón MM, Gil-Ivañez P, Grijota Martínez C. Thyroid hormone regulation of gene expression in the developing rat fetal cerebral cortex:prominent role of the Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase IV pathway, *Endocrinology* 2010;151(2):810-820.
- 41.- Barradas C. P, Vieira SR and De Freitas SM. Selective effect of hypotiroidism on expression of myelin markers during development. *Journal of Neuroscience Research* 2001; 66:254-261.
- 42.- Sampieri HR, Collado FC, Lucio BP. *Metodología de la Investigación*, cuarta edición, Ed. McGraw Hill 2006, pp. 850.
- 43.- Sack J, Weller A, Rigler O and Rozin A. A simple model for studying the correction of in utero hypothyroidism in the rat. *Pediatric Research* 1995; 37(4):497-501.
- 44.- Brosvic GM, Taylor JN, Dihoff RE. Influences of early thyroid hormone manipulations: delays in pup motor and exploratory behavior are evident in adult operant performance. *Physiology behavior* 2002; 75:697-715.
- 45.- Alturfan AA, Zengin E, Darıyerli N, Alturfan EE, Gumustas MK, Aytac E, et al. Investigation of zinc and copper level in methimazole- induced hypotiroidism: relation with the oxidant-antioxidant status. *Folia Biological (Praha)* 2007; 53: 183-188.

		CONCENTRACIÓN DE HORMONAS					
		HEMBRAS		GESTANTES			
	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	CONCENTRACIÓN TSH/ μ IU.	CONCENTRACIÓN T3/ng/100ml		CONCENTRACIÓN T4/ng/100ml	FECHA DE EXTRACCIÓN	OBSERVACIONES
NO DE RATA							
1	Control basal						
2	Control basal						
3	Control basal						
4	Control basal						
5	Control basal						
6	Control basal						
7	Control basal						
8	Control basal						
9	Control basal						
10	Control basal						
1	Control						
2	Control						
3	Control						
4	Control						
5	Control						
6	Control						
7	Control						
8	Control						
9	Control						
10	Control						
1	Experimental						
2	Experimental						
3	Experimental						
4	Experimental						
5	Experimental						
6	Experimental						
7	Experimental						
8	Experimental						
9	Experimental						
10	Experimental						

		CONCENTRACIÓN DE HORMONAS					
		DESCENDIENTES					
	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	SEXO	CONC TSH/ μ IU.	CONC T3/ng/100ml	CONC T4/ng/100ml	FECHA DE EXTRACCIÓN	OBSERVACIONES
NO DE RATA							
1	Control basal	♂					
2	Control basal	♂					
3	Control basal	♂					
4	Control basal	♂					
5	Control basal	♂					
6	Control basal	♂					
7	Control basal	♂					
8	Control basal	♂					
9	Control basal	♂					
10	Control basal	♂					
1	Control	♀					
2	Control	♀					
3	Control	♀					
4	Control	♀					
5	Control	♀					
6	Control	♀					
7	Control	♀					
8	Control	♀					
9	Control	♀					
10	Control	♀					
1	Experimental	♂					
2	Experimental	♂					
3	Experimental	♂					
4	Experimental	♂					
5	Experimental	♂					
6	Experimental	♂					
7	Experimental	♂					
8	Experimental	♂					
9	Experimental	♂					
10	Experimental	♂					

[illegible]

TAMAÑO DE LA CAMADA						
	CONDICIÓN	DESCENDIENTES	NÚMERO DE DESCENDIENTES			% TOTAL
NO DE RATA	EXPERIMENTAL	NACIDOS PORCAMADA	♂		♀	
1	CONTROL					
2	CONTROL					
3	CONTROL					
4	CONTROL					
5	CONTROL					
6	CONTROL					
7	CONTROL					
8	CONTROL					
9	CONTROL					
10	CONTROL					
1	EXPERIMENTAL					
2	EXPERIMENTAL					
3	EXPERIMENTAL					
4	EXPERIMENTAL					
5	EXPERIMENTAL					
6	EXPERIMENTAL					
7	EXPERIMENTAL					
8	EXPERIMENTAL					
9	EXPERIMENTAL					
10	EXPERIMENTAL					

hoja de recolección de datos 7[illegible]

COMPORTAMIENTO								
RATAS GESTANTES								
	CONDICIÓN	ACEPTA	RECHAZA	RECHAZA	RECHAZA LOS 2	RECHAZA DÍAS	CANIVALISMO	CANIVALISMO
	EXPERIMENTAL	CAMADA	CAMADA	AL NACIMIENTO	PRIMEROS DÍAS	POSTERIORES	AL NACIMIENTO	DÍAS POSTERIORES
NO DE RATA								
1	CONTROL							
2	CONTROL							
3	CONTROL							
4	CONTROL							
5	CONTROL							
6	CONTROL							
7	CONTROL							
8	CONTROL							
9	CONTROL							
10	CONTROL							
1	EXPERIMENTAL							
2	EXPERIMENTAL							
3	EXPERIMENTAL							
4	EXPERIMENTAL							
5	EXPERIMENTAL							
6	EXPERIMENTAL							
7	EXPERIMENTAL							
8	EXPERIMENTAL							
9	EXPERIMENTAL							
10	EXPERIMENTAL							

hoja de recolección de datos 9

Hoja de registro de datos									
	DESCENDIENTES						ALTERACIONES DEL SISTEMA NERVIOSO		
	CONDICIÓN	SEXO	NO. CAMADA	ORIENTACIÓN	BUSQUEDA	APERTURA	TONO		ATAXIA
Nº DE RATA	EXPERIMENTAL			ESPACIAL	PEZÓN	PALPEBRAL	MUSCULAR	HIPERACTIVIDAD	ESPASTICIDAD
1	CONTROL	♂							
2	CONTROL	♂							
3	CONTROL	♂							
4	CONTROL	♂							
5	CONTROL	♂							
6	CONTROL	♂							
7	CONTROL	♂							
8	CONTROL	♂							
9	CONTROL	♂							
10	CONTROL	♂							
1	CONTROL	♀							
2	CONTROL	♀							
4	CONTROL	♀							
5	CONTROL	♀							
6	CONTROL	♀							
7	CONTROL	♀							
8	CONTROL	♀							
9	CONTROL	♀							
10	CONTROL	♀							
1	EXPERIMENTAL	♂							
2	EXPERIMENTAL	♂							
3	EXPERIMENTAL	♂							
4	EXPERIMENTAL	♂							
5	EXPERIMENTAL	♂							
6	EXPERIMENTAL	♂							
7	EXPERIMENTAL	♂							
8	EXPERIMENTAL	♂							
9	EXPERIMENTAL	♂							
10	EXPERIMENTAL	♂							
1	EXPERIMENTAL	♀							
2	EXPERIMENTAL	♀							
3	EXPERIMENTAL	♀							
4	EXPERIMENTAL	♀							
5	EXPERIMENTAL	♀							
6	EXPERIMENTAL	♀							
7	EXPERIMENTAL	♀							
8	EXPERIMENTAL	♀							
9	EXPERIMENTAL	♀							
10	EXPERIMENTAL	♀							

hoja de recolección de datos 10

RATAS ADULTAS					
ANÁLISIS DE ÓRGANOS					
ALTERACIONES ESTRUCTURALES MACROSCÓPICAS					
	NOMBRE DEL ÓRGANO	PESO	TAMAÑO	COLOR	TEXTURA
NO DE RATA					
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

ANALISIS DE ÓRGANOS

hoja de recolección de datos 11

ALTERACIONES ESTRUCTURALES MICROSCOPICAS

RATAS ADULTAS						
NO DE RATA	CONDICION	NOMBRE DEL ÓRGANO	ALTERACIONES DEL EPITELIO	RELACIÓN NÚCLEO CITOPLASMA	CONGESTIÓN DE ERITROCITOS	PROPORCIÓN DE ESTRUCTURAS CELULARES
	EXPERIMENTAL					
1	CONTROL					
2	CONTROL					
3	CONTROL					
4	CONTROL					
5	CONTROL					
6	CONTROL					
7	CONTROL					
8	CONTROL					
9	CONTROL					
10	CONTROL					
1	EXPERIMENTAL					
2	EXPERIMENTAL					
3	EXPERIMENTAL					
4	EXPERIMENTAL					
5	EXPERIMENTAL					
6	EXPERIMENTAL					
7	EXPERIMENTAL					
8	EXPERIMENTAL					
9	EXPERIMENTAL					
10	EXPERIMENTAL					

ANÁLISIS MACROSCÓPICO DE ÓRGANOS									
DESCENDIENTES									
	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	SEXO	NO. CAMADA	NO. HEMBRA ADULTA	NOMBRE DEL ÓRGANO	TAMAÑO	PESO	TEXTURA	COLOR
NO DE RATA									
1	CONTROL	♂							
2	CONTROL	♂							
3	CONTROL	♂							
4	CONTROL	♂							
5	CONTROL	♂							
6	CONTROL	♂							
7	CONTROL	♂							
8	CONTROL	♂							
9	CONTROL	♂							
10	CONTROL	♂							
1	CONTROL	♀							
2	CONTROL	♀							
3	CONTROL	♀							
4	CONTROL	♀							
5	CONTROL	♀							
6	CONTROL	♀							
7	CONTROL	♀							
8	CONTROL	♀							
9	CONTROL	♀							
10	CONTROL	♀							
1	EXPERIMENTAL	♂							
2	EXPERIMENTAL	♂							
3	EXPERIMENTAL	♂							
4	EXPERIMENTAL	♂							
5	EXPERIMENTAL	♂							
6	EXPERIMENTAL	♂							
7	EXPERIMENTAL	♂							
8	EXPERIMENTAL	♂							
9	EXPERIMENTAL	♂							
10	EXPERIMENTAL	♂							
1	EXPERIMENTAL	♀							
2	EXPERIMENTAL	♀							
3	EXPERIMENTAL	♀							
4	EXPERIMENTAL	♀							
5	EXPERIMENTAL	♀							
6	EXPERIMENTAL	♀							
7	EXPERIMENTAL	♀							
8	EXPERIMENTAL	♀							
9	EXPERIMENTAL	♀							
10	EXPERIMENTAL	♀							

ANÁLISIS DE ORGANOS MICROSCÓPICOS									
DESCENDIENTES									
	CONDICIÓN	SEXO	NO. CAMADA	NO. HEMBRA ADULTA	NOMBRE DEL ÓRGANO	TAMAÑO	PESO	TEXTURA	COLOR
NO DE RATA	EXPERIMENTAL								
1	CONTROL	♂							
2	CONTROL	♂							
3	CONTROL	♂							
4	CONTROL	♂							
5	CONTROL	♂							
6	CONTROL	♂							
7	CONTROL	♂							
8	CONTROL	♂							
9	CONTROL	♂							
10	CONTROL	♂							
1	CONTROL	♀							
2	CONTROL	♀							
3	CONTROL	♀							
4	CONTROL	♀							
5	CONTROL	♀							
6	CONTROL	♀							
7	CONTROL	♀							
8	CONTROL	♀							
9	CONTROL	♀							
10	CONTROL	♀							
1	EXPERIMENTAL	♂							
2	EXPERIMENTAL	♂							
3	EXPERIMENTAL	♂							
4	EXPERIMENTAL	♂							
5	EXPERIMENTAL	♂							
6	EXPERIMENTAL	♂							
7	EXPERIMENTAL	♂							
8	EXPERIMENTAL	♂							
9	EXPERIMENTAL	♂							
10	EXPERIMENTAL	♂							
1	EXPERIMENTAL	♀							
2	EXPERIMENTAL	♀							
3	EXPERIMENTAL	♀							
4	EXPERIMENTAL	♀							
5	EXPERIMENTAL	♀							
6	EXPERIMENTAL	♀							
7	EXPERIMENTAL	♀							
8	EXPERIMENTAL	♀							
9	EXPERIMENTAL	♀							
10	EXPERIMENTAL	♀							

Cartas de aprobación del protocolo de investigación

INP

Instituto Nacional de Pediatría

" 2010, Año de la Patria, Bicentenario del Inicio de la
Independencia y Centenario del Inicio de la Revolución "
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN



SALUD

México D.F. a 11 de Agosto del 2010.

BIOL. GLORIA SICILIA ARGUMEDO.
SERVICIO: LAB. DE NEUROMORFOMETRIA.
PRESENTE:

Me complace informarle que su proyecto intitulado: *Caracterización y Reproducción de un Modelo de Hipotiroidismo Congénito Provocado por Metilimidazol en Ratas Gestantes*. Ha sido Registrado y Aprobado con el número **55/2010**. Por las Comisiones de Investigación y el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio así como autorizado por la Dirección de Investigación según las normas vigentes de este Instituto.

Su protocolo estará vigente a partir de la fecha y por un periodo de 36 meses de acuerdo al cronograma propuesto por usted.

Para conocer el seguimiento de esta investigación, le solicitamos un informe semestral.

Espero que pueda llevar a buen termino la citada investigación y cuando esto ocurra esperamos nos envíe una copia del o los artículos o la copia de la carátula y resumen de la tesis generada.

ATENTAMENTE


DR. PEDRO GUTIERREZ CASTRELLON.
PRESIDENTE COMISIÓN DE INVESTIGACION


DR. GUILLERMO SOLOMON SANTIBAÑEZ
DIRECTOR GENERAL

C.c.p. - Dr. Pedro Gutiérrez Castellón. - Director de Investigación



INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN
PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

No. de Registro: 55/2010

Título del Proyecto: Caracterización y Reproducción de un Modelo de Hipotiroidismo Congénito Provocado por Metilimidazol en Ratas Gestantes.

Investigador responsable: Biol. Gloria Sicilia Argumedo

Adscripción: Lab. Neuromorfometría.

Aprobado por la Comisión de Investigación		Aprobado por la Comisión de Ética	
Nombre del Presidente:	<u>Dr. Pedro Gutiérrez C.</u>	Nombre del Presidente:	<u>Dr. Marco Antonio Yamazaki. N.</u>
Firma.		Firma.	
Fecha del Acta.	<u>06 Julio 2010</u>	Fecha del Acta.	<u>no apl. cr</u>

En caso de requerir la aprobación de otro Comité.

Firma y Fecha

* Comité de Animales de Laboratorio.

15-05-12

* Comité de Bioseguridad

* Otro:

Diga Cual

Se aprueba la realización de la investigación amparada por este proyecto, en los términos de las normas vigentes.

DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN

13 08 2010
DR. PEDRO GUTIÉRREZ CASTRELLÓN



Instituto Nacional de Pediatría
BIOTERIO



SECRETARÍA
DE SALUD



"2010, Año de la Patria. Bicentenario del Inicio de la Independencia y Centenario del Inicio de la Revolución"

COMITÉ INSTITUCIONAL PARA EL CUIDADO Y USO
DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO

México, D. F., 10 de agosto de 2010
Ref.B/RGC/95/10

Biol. Gloria Sicilia Argumedo
Lab. de Neuromorfometría
Presente

Me permito informarle referente al protocolo de investigación: "Reproducción y caracterización de un modelo de hipotiroidismo congénito inducido por metilimidazol en ratas gestantes y en sus descendientes", el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) de este Instituto dictaminó Aprobar dicho protocolo, toda vez que fue recibido con las observaciones emitidas por el Comité ya incluidas dentro el mismo.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente


MVZ Ramón García Cortés
Presidente del CICUAL

c.c.p.. Dr. Pedro Gutiérrez Castrellón. Director de Investigación
Dr. Gabriel López Velázquez. Subdirector de Medicina Experimental



Lo recibi 20-06-11


Instituto Nacional de Pediatría

DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN

"2010, Año de la patria, Bicentenario del inicio de la Independencia y Centenario de la Revolución"

SECRETARÍA
DE SALUD

SALUD

México, D. F., 01 de Diciembre de 2010.
REF.: DI/PGC/523/2010.
C.P. ALEJANDRO MARTÍNEZ FRAGOSO
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN
PRESENTE.

Estimado Contador Martínez:

Me dirijo a ustedes en forma atenta haciéndole llegar los resultados de la convocatoria para otorgamiento de Recursos Federales 2010 para el apoyo a los Procesos de Investigación.

En el Anexo A le envío el concentrado de los 22 proyectos que resultaron seleccionados para ser financiados con un monto total de \$10,000,000 (Diez Millones de pesos 00/100 M.N.) el cual se dividirá en recursos asociados a la adquisición de reactivos, material de laboratorios y soporte informáticos entre otros.

En el Anexo I de este oficio le estoy enviando el concentrado de los reactivos que son requeridos para el apoyo de los proyectos referidos en el Anexo A.

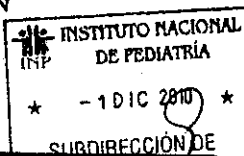
Finalmente en el Anexo II de este oficio le envío de forma pormenorizada el concentrado de los reactivos ya referidos pero dividido por cada uno de los investigadores que se hizo acreedor al recurso referido en el Anexo A.

Sin otro particular por el momento, me despido de usted agradeciéndole de antemano todas sus atenciones.

Atentamente

INSTITUTO NACIONAL
DE PEDIATRÍASUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN
MÉDICA
DR. PEDRO GUTIERREZ CASTRELLON
DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN

c.p. Dr. Guillermo Solomon Santibáñez, Director General
 Dr. Gabriel López Velázquez, Subdirector de Medicina Experimental
 Dra. Ariadna R. González del Ángel, Encargada de la Subdirección de Investigación Médica.
 Dr. Ernesto Cerón Ramírez, Subdirector de Recursos Materiales.
 C. José Antonio Yllescas Fernández, Departamento de Adquisiciones.



INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA
DIRECCION DE INVESTIGACION
RESULTADOS CONVOCATORIA RECURSOS FEDERALES 2010

ANEXO A

Título del Proyecto	No. Registro	Calificación (maximo 30 puntos)	Area Responsable	Monto Otorgado (Miles de Pesos)
Perfiles de desarrollo de niños sanos utilizando indicadores de cuatro pruebas tamiz	2004/88	22	Neurodesarrollo	167
Reproducción y caracterización de un modelo de hipotiroidismo congénito provocado por metilimidazol en ratas gestantes y sus descendientes	2010/55	22	Neuromorfometria	200
Activación de monocitos por ligandos de TLR en niños con agamaglobulinemia ligada al X y asociación fenotipo-genotipo.	2010/07	22	Inmunodeficiencias	200
Prevalencia y expresión del gen JHP0940 de H. Pylori en niños y adultos infectados	2010/83	20	Bacteriología Experimental	200
Estudio molecular de la criptorquidia idiopática en niños mexicanos	2008/63	21	Biología de la Reproducción	200
Frecuencia de traslocaciones cromosómicas balanceadas en células somáticas y germinales de sobrevivientes a Enf. De Hodgkin tratados con MOPP	2005/34	21	Citogenética	210
Diferenciación de Gonocitos en niños con criptorquidia, desarrollo de un modelo animal para su estudio y su asociación con el carcinoma in situ testicular	2010/64	21	Biología de la Reproducción	500
Estudio molecular de betalactamasas de cepas de Pseudomonas aeruginosas y Str maltophilia aisladas de niños con fibrosis quística	2008/39	21	Bacteriología Experimental	200
Efecto de la Administración de Pirimetamina sobre la proliferación celular en el testículo de ratas neonatas	2009/68	21	Biología de la Reproducción	200
Trastornos morfológicos y funcionales inducidos por la exposición aguda neonatal a glutamato monosódico sobre el marcapaso circádico	2008/27	20	Biología de la Reproducción	100
Transmisión vertical y patogenia en un modelo animal de toxoplasmosis congénita: El papel de las células NK uterinas durante el primer tercio del embarazo	2010/65	18	Inmunología Experimental	200