

2010 Octubre, 2(1): 1-2

## ONTOGÉNESIS Y EVOLUCIÓN DE LA MASA DE CÉLULAS INGAP (ISLET NEOGENESIS ASSOCIATED PROTEIN) POSITIVAS EN EL PERÍODO INTRAUTERINO Y EN ADULTOS CON INSULINORRESISTENCIA FISIOLÓGICA (RATAS PREÑADAS)

Madrid V, Raschia MA, Maiztegui B, Flores LE, Borelli MI, Del Zotto H.  
CENEXA. Centro de Endocrinología Experimental y Aplicada (UNLP-CCT La Plata CONICET)  
[vivianamadrid@hotmail.com](mailto:vivianamadrid@hotmail.com)

### Introducción

Durante la gestación hay un desarrollo progresivo de insulinoresistencia (IR) y un incremento compensador de la masa y función de las células  $\beta$  pancreáticas. El INGAP, identificado en hámster pero no en rata, facilitaría dicha compensación aumentando la neogénesis insular.

### Objetivo

a) Estudiar la cronología de aparición de células INGAP positivas en fetos de ratas normales y la evolución simultánea de su masa y la de las células  $\beta$  en ratas preñadas y b) su presencia en el páncreas de rata.

### Materiales y Métodos

Ratas Wistar preñadas se dividieron en 5 grupos: control no preñadas (M0), con 11 (M11), 17 (M17) y 19 (M19) días de gestación y ratas mantenidas con sus crías una semana post parición (M28). Estudiamos además fetos de 17 (E17) y 19 días de gestación (E19) y crías de una semana de edad (P7). Medimos: peso corporal, glucemias, secreción de insulina *in vitro* inducida por glucosa 3.3 y 16.6 mM y arginina 10mM en fetos y crías. En adultos medimos insulinemias e índices HOMA- $\beta$  y HOMA-IR. En fetos medimos expresión de genes (PCR Real time) PDX-1, Ngn3, INGAP (utilizando cebadores específicos) y Reg3 $\beta$  (cebadores específicos y degenerados diseñados en base a una región del ADNc de INGAP de alta homología con el Reg3 $\beta$  (Deg-RI). Realizamos inmunohistoquímica de páncreas de ratas adultas, fetos y crías.

### Resultados

En las madres, la glucosa 16,6 mM aumentó la secreción de insulina respecto del basal en todos los grupos ( $p < 0,05$ ). En los fetos la arginina estimuló la secreción de insulina sobre el basal, mientras que la glucosa 16,6 mM sólo lo hizo en las crías (P7). Tanto los niveles de ARNm de PDX-1 como de Reg3 $\beta$  aumentaron en E19 ( $p < 0,05$ ) mientras que los de Ngn3 disminuyeron ( $p < 0,05$ ). INGAP y Reg3 $\beta$  mostraron una homología del 68% (ADNc) y 58.5% (proteína). Los cebadores de Reg3 $\beta$  y Deg-RI amplificaron en rata y hámster mientras que los de INGAP sólo lo hicieron en hámster. La secuenciación del fragmento obtenido con cebadores Deg-RI en rata presentó un 94% de homología con Reg3 $\beta$  y 64% con INGAP. En ambas especies detectamos células INGAP inmunopositivas con un anticuerpo cuyo epitope antigénico presenta 84% de homología entre INGAP y Reg3 $\beta$ . La presencia de células INGAP positivas en fetos se detectó a partir del día 17.

| Tabla 1           | E17               | E19                | P7                            |
|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------------------|
| Peso (g)          | 0,85 $\pm$ 0,03a  | 1,84 $\pm$ 0,04a   | 12,31 $\pm$ 0,22 a            |
| Glucemia (mg/dl)  | 61,8 $\pm$ 3,08a  | 56,6 $\pm$ 2,40b   | 88,1 $\pm$ 0,90 ab            |
| Masa $\beta$ (ug) | 5,9 $\pm$ 1,30 a  | 24,1 $\pm$ 76,0a   | 330 $\pm$ 92,0a               |
| CK19 (mg)         | 0,01 $\pm$ 0,001a | 0,02 $\pm$ 0,002a  | 0,25 $\pm$ 0,090 <sup>a</sup> |
| PCNA (%)          | 11,7 $\pm$ 3,50 a | 12,2 $\pm$ 6,10    | 1,9 $\pm$ 0,41 a              |
| INGAP (mg)        | 0,04 $\pm$ 0,020  | 0,01 $\pm$ 0,002 a | 0,15 $\pm$ 0,060 a            |
| Apoptosis (%)     | 3,4 $\pm$ 2,3     | ----               | 1,6 $\pm$ 0,1                 |

Tabla 1: Datos bioquímicos y morfológicos de fetos y crías.

Tabla 2: Datos bioquímicos y morfológicos de ratas madre.

En ambas tablas los valores indicados con una misma letra son estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

2010 Octubre, 2(1): 1-2

| Tabla 2             | M0            | M11           | M17          | M19          | M28           |
|---------------------|---------------|---------------|--------------|--------------|---------------|
| Peso (g)            | 193±4,2       | 203±6,1       | 217±11,2     | 204±14,7     | 203±5,8       |
| Glucemia (mg/dl)    | 158 ±3,4ad    | 162 ± 15,2be  | 117 ± 6,7abc | 108 ± 5,2def | 149 ± 7.2cf   |
| Insulinemia (ng/ml) | 0,9 ± 0,09a   | 1,6 ± 0,18abc | 1,2 ± 0,21   | 0,9 ± 0,12b  | 0,8 ± 0,07c   |
| HOMA-β              | 73 ± 8,4ad    | 100 ± 5,1abc  | 69 ± 5,6be   | 96 ± 14,5f   | 50 ± 3,9 cdef |
| HOMA-IR             | 6 ± 0,2a      | 21 ± 2,3abcd  | 6 ± 1,1b     | 5 ± 0,4c     | 6 ± 0,1d      |
| Masa β (mg)         | 2,4 ± 0,24abc | 3,6± 1,80     | 3,7± 0,51a   | 5,2± 0,78b   | 6,1± 1,28c    |
| CK19 (mg)           | 0,9±0,10a     | 0,6±0,10a     | 0,6±0,19     | 0,8±0,10     | 0,6±0,17      |
| PCNA (%)            | 2,2±0,30a     | 1,9±0,20b     | 5,8±0,72abcd | 2,2 ±0,45c   | 1,5 ± 0.20d   |
| INGAP (mg)          | 0,5 ± 0,03a   | 0,4 ± 0,01b   | 0,5± 0,07c   | 0,8± 0,10abc | 0,5 ± 0,23    |
| Apoptosis (%)       | 3,9 ± 0,95ab  | ----          | 0,7 ± 0,10 a | ----         | 0,9 ± 0,20b   |

### Conclusiones

Nuestros resultados demuestran por primera vez que: 1) El INGAP y el Reg3β coexisten en el páncreas de hámster pero en la rata sólo estaría el Reg3β; 2) La aparición de células INGAP/Reg3β-positivas al momento de diferenciación endócrina fetal, sugiere su participación en el control de la masa celular β; 3) En la rata preñada el INGAP y el Reg3β participarían en la regulación de la masa/función de las células β; opuesto a lo ocurrido en el feto, su acción se ejercería afectando la replicación y apoptosis con escaso efecto sobre la neogénesis.