



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

**Expresión de CD177 en el útero
de conejas hipotiroideas durante
la gestación**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO (A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

Montserrat Carrasco De Santillana

**Directora de Tesis
Dra. Estela Cuevas Romero**

Tlaxcala, Tlax.

Enero, 2021



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

**Expresión de CD177 en el útero
de conejas hipotiroideas durante
la gestación**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO (A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

Montserrat Carrasco de Santillana

Comité Tutorial

**Dra. Estela Cuevas Romero
Dra. Leticia Nicolás Toledo
Dr. Pablo Pacheco Cabrera**

Tlaxcala, Tlax.

Enero, 2021



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

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Montserrat Carrasco De Santillana** realiza para la obtención del grado de Maestra en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es: **“Expresión de CD177 en el útero de conejas hipotiroideas durante la gestación”**.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., ENERO 19 DE 2021

DRA. LETICIA NICOLÁS TOLEDO

DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO

DR. FRANCISCO CASTELÁN

DR. JORGE RODRÍGUEZ ANTOLÍN

DR. RENÉ ZEMPOALTECA RAMÍREZ



COMITÉ ACADÉMICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Sirva este medio para describir el proceso de revisión de la tesis realizada por el estudiante **Montserrat Carrasco De Santillana** titulada **“Expresión de CD177 en el úterode conejas hipotiroideas durante la gestación”** para optar por su grado de Maestro en Ciencias Biológicas.

El documento de la tesis de Montserrat Carrasco De Santillana fue revisado por mi como directora de tesis antes de presentarse en cada examen tutorial y, posteriormente a los exámenes tutorales, los miembros de su comité tutorial realizaron también sus respectivas observaciones. De manera que el documento, llevó un proceso de revisión por varios profesores expertos en el tema. En el mes de diciembre, el documento final de la tesis fue procesado con el programa del Turnitin marcando el 2% del texto con similitudes. Los textos detectados con similitud fueron corregidos por el estudiante. En el mes de enero, el documento se volvió a revisar con Turnitin marcando un 1% de similitud, correspondiendo a texto con lenguaje común.

Por lo anterior, confirmo que **el estudiante no incurrió en ninguna práctica no deseable** en la escritura de la tesis.

Sin más por el momento, reciban atentos saludos.

CORDIALMENTE

**Tlaxcala, Tlax., a 12 de enero de
2021**



**Dra. Estela Cuevas Romero
Directora de tesis**

Financiamiento

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Endocrinología del Centro Tlaxcala Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Posgrado de Maestría en Ciencias Biológicas, adscrito al Programa para el Fortalecimiento del Posgrado Nacional Padrón Nacional de Posgrado (PNPC) en el nivel consolidado.

Para su desarrollo se contó con el financiamiento de Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, Proyecto 257549).

Agradecimientos

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas del Centro Tlaxcala Biología de la Conducta perteneciente a la Universidad Autónoma de Tlaxcala la oportunidad de formar parte del programa.

Al a CONACYT, por permitirme ser acreedora a una beca para poder dedicarme a la investigación de mi proyecto.

A mi Tutora, Dra. Estela Cuevas Romero, mujer de ciencia a quien admiro profundamente le estaré agradecida siempre por su enseñanza y apoyo durante mi estancia por el laboratorio.

A los miembros del Comité Tutorial, Dra. Leticia Nicolás Toledo, Dr. Pablo Pacheco Cabrera, por guiarme y aconsejarme en cada una de las revisiones de mi trabajo.

Agradecimientos

Agradezco a Dios por darme salud, fortaleza, responsabilidad y sabiduría para realizar este logro académico.

Nuevamente agradezco a mi Tutora Dra. Estela Cuevas Romero por ser una guía brillante, compartir sus conocimientos, por haberme socorrido en cada duda, escuchar y ordenar, pacientemente, mis enmarañadas ideas llevando por buen camino la labor emprendida.

Agradezco a los docentes de las asignaturas que cursé durante el posgrado.

A las Dras. Marlen, Maribel y Rubicela guías y amigas, agradezco el mostrarme las técnicas para realizar experimentos y brindarme su apoyo. A todos y cada uno de mis compañeros del laboratorio por brindarme su ayuda, conocimiento y sobre todo su amistad.

Dedicatoria

A mis Padres, que con su ejemplo y dedicación me han instruido para seguir adelante en mi vida profesional, por impulsarme a realizar mis sueños, por haber estado conmigo apoyándome en los momentos difíciles y darme excelentes consejos en mi caminar diario.

A mi hermano por estar pendiente de mí y brindarme su apoyo cada que lo requerí.

De todo corazón a mi familia, que apoyaron en mi cuidado cuando más lo necesite y así mismo, el cuidado de mis hijas.

A mi compañero de vida José David que con su valor y entrega ha sido una persona incondicional en mi vida.

A mis hijas Ana Pau y Dani que llegaron en el momento más indicado. Recorrieron junto conmigo este nuevo camino.

Resumen

El útero es el órgano que se encarga de albergar al huevo implantado. Para lograr su adecuada implantación es necesaria la participación del sistema inmunológico. Dentro del útero, en un ambiente ligeramente hipóxico se lleva a cabo a proliferación de células inmunes. Éstas sirven como marcadores para la angiogénesis. Su adecuada expresión conllevará a una implantación y desarrollo placentario y embrionario exitoso, de lo contrario si sufre una disminución o aumento en ésta las consecuencias serían patologías de la placenta, el embrión o embarazos no exitosos. Los neutrófilos son células pertenecientes a la línea celular blanca, caracterizados por poseer gránulos son comúnmente conocidos en su papel de defensa ante microorganismos ajenos al cuerpo. Ellos expresan en su membrana el *cúmulo de diferenciación leucocitaria* (CD por sus siglas en inglés) 177; léase CD177. Estas proteínas pueden ser diferentes para cada tipo de célula, incluso, se reporta que pueden ir variando de acuerdo con lo largo del desarrollo de la célula. En el presente trabajo, se localizó la ubicación y la distribución de dicha proteína para así explicar su expresión dentro de la gestación en condiciones normales y bajo la influencia del hipotiroidismo en conejas. Las células CD177+ estuvieron presentes en el epitelio, estroma y musculatura de animales eutiroideos e hipotiroideos en los diferentes estadios de gestación. El hipotiroidismo no modificó la infiltración de células CD177+ en el útero en los sitios sin y con implante. El hipotiroidismo tampoco afecta la expresión de CD177 a lo largo de la gestación. Si bien no se afecta el número de células CD177 ni la expresión de la proteína por la deficiencia de hormonas tiroideas, podría ser posible que se afectara la producción de citocinas por parte de las células inmunes. Ello explicaría los efectos que tiene el hipotiroidismo en la inducción de abortos, macrosomía y partos prematuros.

ÍNDICE

Contenido

1. Introducción	11
1.1 Generalidades del útero	11
1.2 Gestación e inflamación	11
1.3 Enfermedades del embarazo y sistema inmune	13
1.4 Hormonas tiroideas.....	16
1.5 Hormonas tiroideas y gestación.....	19
2. Antecedentes.....	22
2.1 Hipotiroidismo y gestación.....	22
2.2 Importancia del TNF y los neutrófilos en la gestación.....	23
2.3 TNF, neutrófilos y hormonas tiroideas.....	26
3. Justificación	27
4. Hipótesis	28
5. Objetivos.....	28
5.1 Objetivo general	28
5.2 Objetivos específicos	28
6. Metodología.....	29
6.1 Inducción del hipotiroidismo.....	29
6.2 Inmunohistoquímica	30
6.3 Western blot.....	30
6.4 Estadística.....	31
7. Resultados.....	32
8. Discusión preliminar	40
9. Referencias	42

1. Introducción

1.1 Generalidades del útero

El útero es el órgano encargado de albergar el huevo implantado, nutrirle en sus primeros estadios y proporcionar un lugar adecuado para el desarrollo fetal. Este tiene dos capas de tejido diferentes: endometrio y miometrio. La capa más interna es conocida como endometrio, es un tejido epitelial muy dinámico que crece, se diferencia y degenera en cada ciclo menstrual (Bhusane y cols. 2016). Esta capa está formada por células epiteliales luminales y glandulares, fibroblastos del estroma, vasos sanguíneos y células inmunes. Las células epiteliales forman el epitelio luminal y las glándulas tubulares que se extienden desde la superficie endometrial hasta el miometrio. El miometrio es la capa de músculo liso que se localiza en la parte externa del útero justo debajo del endometrio, y que representa más del 60% de todo el órgano. La contracción del miometrio es fundamental para un trabajo de parto normal. La capa del endometrio alberga al huevo, lo nutre en sus primeros estadios y le otorga una inmunotolerancia, convirtiéndose en el lugar adecuado para el desarrollo fetal. Para ello, el endometrio crece y se prepara cada mes para la implantación, si esta no ocurre éste se desprende durante la menstruación (Bhusane y cols. 2016).

1.2 Gestación e inflamación

Aunque la función principal del útero es implantar al embrión, el endometrio trata al embrión como algo extraño en la mayor parte del ciclo menstrual. El endometrio tiene una inmunotolerancia al embrión solo durante un periodo específico del ciclo menstrual llamado “ventana de implantación” o “fase receptiva”. Esta fase requiere de la sincronización del epitelio luminal y glandular, estroma y células inmunes del endometrio (Ramathal y cols. 2010).

Decidualización. Los estrógenos y la progesterona modulan una serie de interacciones complejas entre el embrión y el estroma, lo que lleva a la formación de un tejido materno diferenciado conocido como “decidua” o placenta materna. En la mujer, como en muchas otras especies incluyendo la coneja, cuando el blastocisto tiene contacto con el epitelio uterino inicia el proceso de decidualización. El epitelio cúbico simple pasa a ser un epitelio cúbico en forma de columnas. El estroma recluta células inmunes y se llena de vasos sanguíneos. Una población mayoritaria de leucocitos en el estroma crea una tolerancia inmune de la madre hacia el feto. El sistema inmunológico posee sensores / receptores inmunes innatos (TLRs) que proporcionan respuestas inmunitarias contra invasión patógena o lesiones a tejidos. Estas moléculas funcionan como mediadores de señalización en tejidos maternos y fetales (Waldorf y cols. 2008) las cuales reclutan una variedad de proteínas quinasas. De igual manera, la expresión de TLRs varían de acuerdo con la etapa de la gestación. La inmunotolerancia materno-fetal está mediada por una serie de citosinas (Vasilopoulou y cols. 2014). Las TLRs aumentan el flujo de citosinas proinflamatorias y a su vez reclutan células inmunes (Waldorf 2008). Las células natural killer (NK) se activan y aumentan durante la decidualización, proporcionan un soporte para el crecimiento e incluso se diferencian de las células del estroma para alimentar al embrión. Las células del estroma proliferan, son más grandes, binucleadas y con propiedades secretoras. Las glándulas uterinas secretan nutrientes (aminoácidos, glucosa, ácidos grasos, vitaminas y minerales) para el crecimiento y desarrollo del embrión (Ramathal y cols. 2010).

Implantación. El blastocisto participa en la primera interacción física y fisiológica con el endometrio para el inicio de la implantación. En la mujer la implantación inicia en la fase lútea del ciclo menstrual, mientras que en los roedores en la fase diestro del ciclo estral. Las fases de la implantación consisten en: la eliminación de la zona pelúcida del blastocisto, el contacto, orientación y aposición de este con el epitelio uterino, y adherencia e invasión del trofoectodermo en el endometrio (Gardner 2015). Durante la ventana de anidación, el epitelio uterino extiende unas prolongaciones llamadas pinopodios que le ayudan a dirigir al blastocisto recién llegado al útero. El trofoectodermo se une y adhiere al endometrio que es el sitio hormonalmente receptivo. El útero sufre cambios morfológicos y fisiológicos importantes que lo preparan para la implantación del embrión. Cambios en la capacidad secretora y la expresión de moléculas de adhesión, tanto en el epitelio luminal como glandular (Ramathal y cols. 2010).

Durante esta etapa, las hormonas esteroides inducen la maduración de las glándulas uterinas, proliferación y diferenciación de las células endometriales, así como la secreción de moléculas que influyen en el desarrollo del trofoblasto (Bazer y cols. 2010).

Placentación. La invasión del trofoblasto dentro del útero conduce a la formación del sincitiotrofoblasto en un ambiente relativamente hipóxico que favorece la proliferación e invasión hacia los vasos sanguíneos y glándulas uterinas que nutrirán al embrión. El trofoblasto es el primer componente embrionario que dará origen a la placenta, posterior a la implantación formará el corion tejido que forma las vellosidades que absorben nutrientes y oxígeno. Finalmente, se forma la barrera placentaria compuesta por el sincitiotrofoblasto, el citotrofoblasto y el endotelio de los vasos coriales. La invasión del trofoblasto es controlada por citocinas pro-inflamatorias y proteasas (Red-Horse y cols. 2014).

1.4 Enfermedades del embarazo y sistema inmune

Preeclampsia. En mujeres embarazadas, las afecciones del sistema inmunitario e inflamatorio producen afecciones en el desarrollo embrionario. Las pacientes con diabetes mellitus gestacional poseen predisposición para desarrollar preeclampsia. Aproximadamente entre el 3 y 8% de los embarazos cursan con preeclampsia. La preeclampsia presenta un crecimiento placentario desordenado, trampas de neutrófilos (NETosis) en las vellosidades coriales, crecimiento aberrante de arterias espirales (Vokalova y cols. 2018) y un aumento en TNF α circulatorio (Moreli y cols. 2012). Al encontrarse la NETosis en el espacio intravelloso pueden provocar insuficiencia placentaria (Marder y cols. 2016; Stoikou y cols. 2017).

Parto prematuro. Aproximadamente hay 15 millones de recién nacidos pretérmino con 1 millón de muertes resultantes. Su etiología es variada. Las infecciones se detectan en menos del 25% de los casos. Las patologías no infecciosas como la obesidad, diabetes mellitus tipo 1 y enfermedades autoinmunes resultan en parto pretérmino. Los estudios en humanos han implicado a IL-1, TNF e IL-6 en partos pretérmino (Cappelletti y cols. 2015).

Placenta acreta. Los términos acretismo placentario y placenta mórbidamente adherente se substituyeron por invasión anormal de la placenta o trastornos del espectro de placenta acreta. En la placenta acreta, la invasión del trofoblasto no es controlada por el sistema inmunitario y esta invade mucho más de lo que le correspondería llegando incluso a la capa muscular o sobresalir hacia otros órganos cercanos como la vejiga (Figura 1; Piñas-Carrillo y Chandraharan 2019). Existen factores de riesgo para este tipo de placentación como son un evento quirúrgico previo (cesárea, miomectomía, daño al endometrio o al miometrio por la extracción placentaria manual, legrado) o algún proceso infeccioso previo (endometritis), lo que sugiere un fallo en la decidualización favorecido por el ambiente hipotóxico que se genera por la cicatriz previa (Linn y cols. 2015; Piñas-Carrillo y Chandraharan 2019). La placenta acreta también ha sido asociada con la edad materna (mayor de 35 años), embarazos múltiples, multiparidad, abortos, tabaquismo, obesidad y endometritis (Linn y cols. 2015; Jauniaux y Jurkovic 2012).

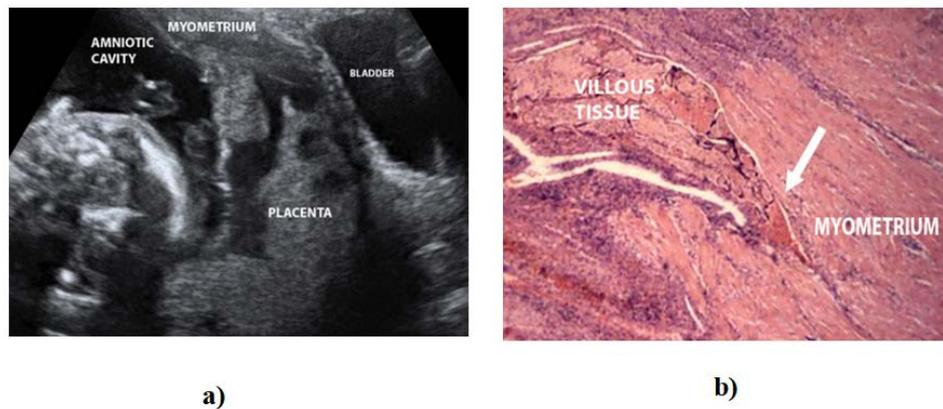


Fig. 1 a) Ultrasonido abdominal de paciente de 20 semanas de gestación en el que se observa deterioro de la anatomía placentaria, invasión a través del miometrio hasta quedar cerca de la vejiga urinaria. **b)** Fotomicrografía de la interfase útero-placentaria. El tejido vellosa placentario muestra invasión miometrial (flecha) Imágenes tomadas de Jauniaux y Jurkovic 2012.

Bajo peso al nacimiento. La restricción del crecimiento fetal está presente del 3 al 7% de los partos en países desarrollados, en países en vías de desarrollo se eleva hasta el 40%. La mayoría de los casos son de etiología desconocida. Las complicaciones de esta condición van desde enterocolitis necrotizante, asfixia perinatal, hipotermia, hipoglucemia, inmunodeficiencia hasta la muerte. Las causas pueden ser desnutrición materna, placenta disfuncional diabetes mellitus, síndrome de ovarios poliquísticos y perturbaciones en la salud mental (Bacon y cols. 2018). El bajo peso al nacimiento se relaciona con una mayor expresión de IL-6 (Street y cols. 2008).

Macrosomía fetal. Se define como un peso al nacer mayor a 4000-4500 g. Usualmente se asocia con diabetes mellitus (Mrizak y cols. 2014) y dislipidemias (Wang y cols. 2018). El TNF- α regula a la glucosa, los lípidos y la resistencia a la insulina (Brogin Moreli y cols. 2012; Àtegbo y cols. 2006). Así, las madres con diabetes mellitus gestacional u obesidad tienen niveles altos de insulina y factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF-1) en la placenta dando como resultado macrosomía fetal (Mrizak y cols. 2014; Gaudet y cols. 2014). Los hijos macrosómicos tienen niveles bajos de TNF- α (Brogin Moreli y cols. 2012; Àtegbo y cols. 2006), interferón gamma e IL4 (Mrizak y cols. 2014).

Además de las células inmunes, el epitelio endometrial y glandular libera de manera fisiológica diversas moléculas pro-inflamatorias que actúan como señales para promover la infiltración de células inmunes. Entre ellas están los cúmulos de diferenciación leucocitaria (“CD” por sus siglas en inglés): moléculas CD68 (Orazov y cols. 2017), CD24 (Sundqvist y cols. 2012); interleucinas (IL) 6, 10 y proteína quimio-atrayente de monocitos 1 (MCP-1). Una señalización o expresión inadecuada conlleva a tener problemas de implantación (Zhinong y cols. 2016). Este tejido inflamado, posteriormente, puede desprenderse y ocasionar endometriosis y dolor pélvico crónico. Las mujeres con endometriosis también tienen mayor expresión de IL8 (Arici y cols. 2002) IL-13 e IL-15 (Chegini y cols. 2003) en el endometrio. El cáncer de endometrio, la endometriosis y la hiperplasia endometrial son patologías asociadas a proliferación endometrial aberrante (Gargett, 2004).

1.4 Hormonas tiroideas

Las hormonas tiroideas se componen de aminoácidos modificados con átomos de yodo (I_2). Se rigen por el eje hipotálamo- hipófisis- tiroideo. La secreción tiroidea está controlada por la tirotropina (TSH), secretada por la adenohipófisis (Hall, 2016). La glándula tiroidea secreta dos hormonas importantes, la tiroxina y la triyodotironina, conocidas a menudo como T4 y T3, respectivamente el resto de las hormonas tiroideas se sintetizan en los órganos blanco mediante desyodasas. Ambas hormonas inducen un notable aumento del metabolismo del organismo. Las hormonas tiroideas regulan el metabolismo, se relaciona con el gasto energético y el peso corporal estimulando lipólisis y lipogénesis, comunicación cruzada con receptores nucleares y termogénesis (Rashmi y cols. 2014).

El receptor de las hormonas tiroideas (TR) tiene dos isoformas en los tejidos: α y β que son capaces de unirse a las hormonas tiroideas. Al unirse a sus receptores, las hormonas tiroideas son capaces de regular expresión de genes que se involucran en la diferenciación y el ciclo celular. Los TRs poseen una expresión en diferentes tejidos, por ejemplo, el TR α -1 se encuentra presente en músculo esquelético, tejido adiposo pardo, cerebro, riñón e hígado. El TR β -2 se expresa en adenohipófisis y hormonas hipotalámicas productoras de la hormona liberadora de tirotropina (TRH). La hormona estimulante de la tiroidea (TSH) también posee un receptor, el TSHR se encuentra en la tiroidea, tejido renal, adiposo, cardíaco, timo y ovario humano (Aghajanova y cols. 2011).

La T3 y T4 entran a la célula a través de las proteínas transportadoras (MCT8 y 10, OATs). Una vez dentro, las desyodasas transforman la T4 a T3. Las hormonas tiroideas se unen a sus TRs alfa o beta, formando un heterodímero con el receptor del ácido retinoico (RXR), el cual se une a elementos de respuesta de la hormona tiroidea situados en genes diana (Figura 2). Este proceso puede explicar el rol de las hormonas tiroideas en el crecimiento, desarrollo y homeostasis tisular incluso, en patologías como el cáncer (Pascual y Aranda 2012).

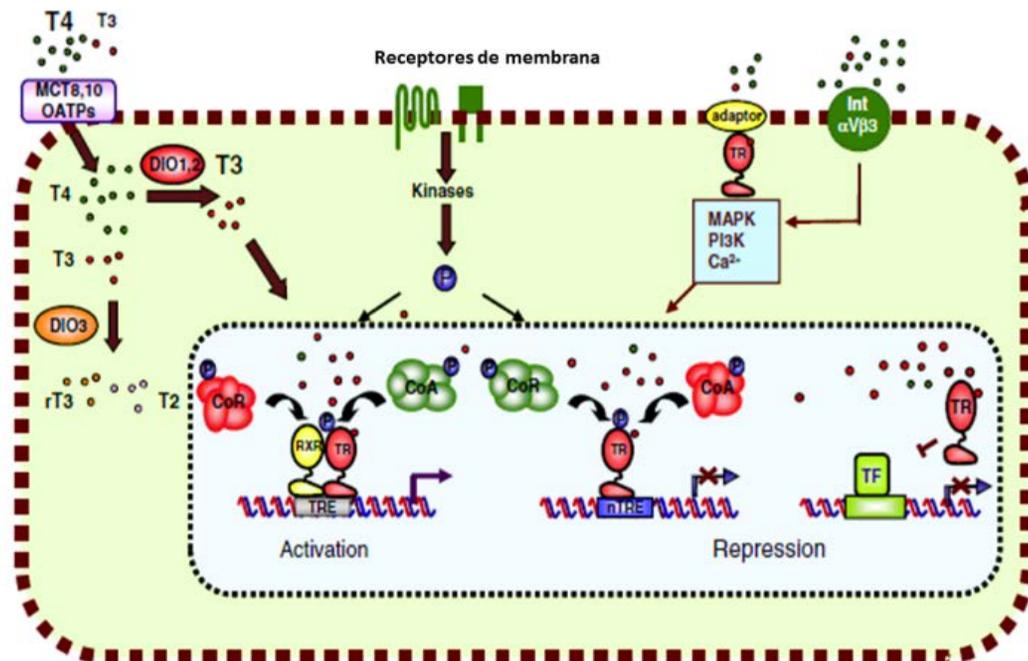


Fig. 2. Mecanismo de acción de los receptores de hormonas tiroideas. La T3 y T4 entran a la célula a través de las proteínas transportadoras (MCT8 y 10, OATs) G). Una vez dentro las desyodas transforman la T4 a T3. Unida a su receptor activa la transcripción. Se une al heterodímero ácido retinoico (RXR). Se produce como resultado la activación de los elementos de respuesta de la hormona tiroidea situados genes diana (modificada de Pascual y Aranda 2012).

Hay varios mecanismos de metabolización de las hormonas tiroideas: sulfatación, descarboxilación, desaminación desyodación y conjugación con ácido glucorónico. Las desyodasas (D) son enzimas catalizadoras de las tiroasinas, se ubican en diversos tejidos y existen reacciones básicas de las desyodasas para formar las hormonas tiroideas. La D1 que tiene ubicación en hígado riñón, tiroides e hipófisis. La D1 puede desyodar los anillos de T4, aunque tiene más afinidad por T3. La D2 se expresa cerebralmente y su función se centra en la producción de T3 en este órgano (Van Der Spek 2018). La D2 se expresa en hipófisis, adiposo pardo, placenta, células inmunitarias y escasamente en el músculo esquelético (Rashmi y cols. 2014). La D3 se encuentran en placenta, útero, hígado, corazón, aparato reproductor, sistema

urinario y corteza cerebral. Esta juega el papel de inactivador, desyodando anillos internos de T3 y T4 (Van Der Spek 2018; Figura 3).

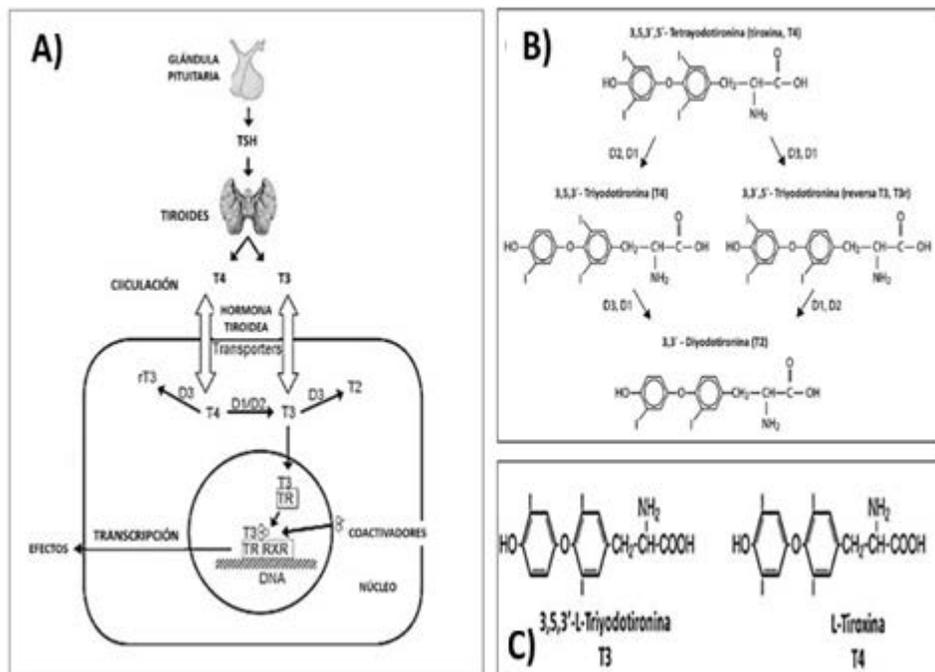


Fig. 3. A) Reacciones básicas de las desyodasas para formar las hormonas tiroideas. Las reacciones son catalizadas por las desyodasas que eliminan restos de yodo de los anillos fenólicos (anillos exteriores) o tirosil (anillos interiores) de las yodotirosinas. Estas vías pueden activar la T4 mediante su transformación en T3 (a través de D1 o D2) o evitar que se active mediante su conversión a la forma metabólicamente inactiva o T3 reversa (a través de D1 y D3). La T2 es un producto inactivo común a las dos vías que se metaboliza rápidamente por desyodación adicional. B) Mecanismo de retroalimentación de síntesis y secreción de las hormonas tiroideas C) Fórmula química de las hormonas tiroideas (Vijai 2011).

Existen vías involucradas en las acciones no genómicas de las hormonas tiroideas, éstas inician mediante la unión de las hormonas un receptor tiroideo que no sea intracelular, por ejemplo, al receptor en la integrina de la membrana plasmática $\alpha v \beta 3$ (Davis y cols. 2016).

1.5 Hormonas tiroideas y gestación

Las hormonas tiroideas poseen diversos efectos importantes en la reproducción. En la mujer, la T3 en combinación con FSH se asocia a la foliculogénesis y a la proliferación de las células de la granulosa, así como la inhibición apoptótica de las mismas (Visseberg 2015). Existe evidencia de presencia de D2 y D3 en tejido endometrial humano durante todas sus fases del ciclo menstrual, aunque no existe reporte de su función y receptores TR α y TR β en el epitelio glandular, lo que sugiere una disposición local de la hormona (Visseberg 2015). El TR β 1 se expresa predominantemente en la primera fase del ciclo menstrual y fase secretora temprana; mientras que, el TR α disminuye durante la segunda mitad de la fase secretora al unirse a sus receptores en el endometrio (Aghajanova y cols. 2011).

Durante la implantación, la hormona tiroidea ejerce efecto sobre la producción de progesterona secretada por las células de la granulosa produciendo una inmunotolerancia materna (Visseberg 2015). La T4 en el trofoblasto causa un aumento en la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), como consecuencia el epitelio se engrosa (Visseberg 2015). En la placentación, la T3 aumenta la expresión de metaloproteína matricial 2,3, así como la fibronectina fetal e integrinas en el trofoblasto extraviloso (Visseberg 2015). Hecho que sugiere que la hormona tiroidea actúa como regulador en el potencial invasivo del trofoblasto extraviloso. Así mismo, estimula a la placenta para la producción de progesterona y lactógeno placentario (Visseberg 2015). El aumento de progesterona aumenta la tolerancia inmunológica del cigoto para evitar su rechazo (Visseberg 2015). El lactógeno placentario humano promueve el aumento de glucosa ofrecida al feto disminuyendo las reservas de ácidos grasos de la madre y altera la secreción de insulina de esta (Visseberg 2015). Las desyodasas presentes en la placenta regulan el metabolismo de las hormonas tiroideas circulantes para transmitir las al feto, posee TRH durante toda la gestación (Visseberg 2015).

Durante la gestación, las hormonas tiroideas son imprescindibles para el desarrollo y crecimiento fetal. Actúan directamente a través de los efectos anabólicos sobre el metabolismo fetal y la estimulación del consumo de oxígeno fetal (Visseberg 2015; Cai y cols. 2019) y, particularmente, durante la formación cortical cerebral (Jahagirdar y cols. 2012). Durante el

embarazo, el tamaño de la glándula tiroides se incrementa hasta un 50% y la cantidad de tiroxina secretada se eleva en la misma medida (Cai y cols. 2019). La hormona gonodotropina coriónica (hCG), secretada por la placenta, es capaz de estimular la síntesis de hormonas tiroideas de manera similar a la TSH (Figura 4; Hall 2016). Esta hormona afecta el funcionamiento normal del eje hipotalámico-hipofisario-tiroideo y asegurando un aporte adecuado de hormonas tiroideas maternas hacia el feto durante su desarrollo (Smallridge y cols. 2001; Jahagirdar y cols. 2012; Bucci y cols. 2017). Como resultado hay un aumento transitorio en la tiroxina libre (FT4) y una reducción transitoria de TSH (Gupta 2005). Durante las primeras 20 semanas debido a los altos niveles de estrógenos existe un aumento casi al doble en la concentración de globulina transportadora de hormonas tiroideas (TGB) y las hormonas tiroideas totales circulantes aumentan al inicio de la gestación, atraviesan la barrera placentaria (Bucci 2017). Aproximadamente a las 20 semanas se alcanza una meseta y persiste elevada (Bucci 2017). El feto inicia la producción de hormonas tiroideas entre las 10 y 12 semanas de gestación, aquí es cuando se logra alcanzar por completo el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-tiroideo, a su vez, los niveles de T4 y T3 séricos se encuentran duplicados y sus respectivas fracciones libres disminuyen hasta un 10- 15% (Gupta 2005; Bucci 2017).

En el transcurso del embarazo, entre las semanas 8 y 10 de gestación, el sinciotrofoblasto vellosos presenta niveles altos de co-transportador de yoduro sodio (NIS) debido este actúa como reservorio de yodo por que el feto no produce hormonas tiroideas y para evitar deficiencia de este, previene infecciones placentarias o antioxidantes (Bidart y cols. 2000). La TSH materna no puede pasar a través de la placenta, pero la TRH es sintetizada en la placenta y contribuye a la función tiroidea fetal, al estimular la pituitaria fetal (Calina y Docea 2019).

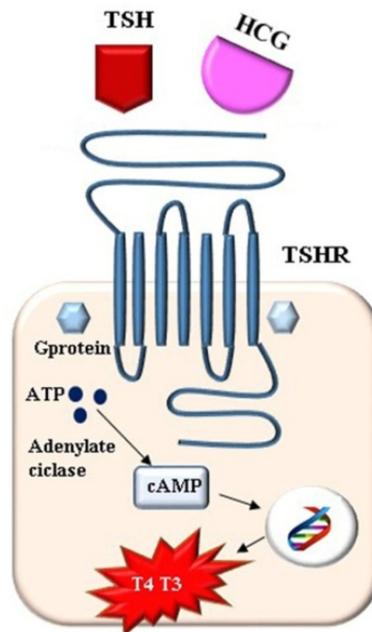


Fig. 4 La estimulación del receptor de TSH (TSHR) en el embarazo. El efecto tirotrópico de la hCG secretada por la placenta asegura un aporte adecuado de hormonas tiroideas maternas hacia el feto durante su desarrollo (Imagen modificada de Bucci y cols. 2017).

Las hormonas tiroideas regulan la expresión VEGF-A y angiogenina en las células deciduales, la secreción de citocinas por parte de las células deciduales y células inmunitarias e incrementan el $\text{TNF-}\alpha$ en el estroma, lo cual podría afectar la invasión del trofoblasto en la interfase materna (Vasilopoulou y cols. 2014). En conejas, la gestación induce un hipotiroidismo natural disminuyendo gradualmente, que compensa la producción de T3 (Méndez-Tepepa tesis de doctorado). La T4 se inactiva por la placenta utilizando la D3, que convierte T4 en rT3, que es biológicamente inactiva. Esta actividad va en aumento en la segunda parte del embarazo (Calina y Docea 2019).

2. Antecedentes

2.1 Hipotiroidismo y gestación

En México, el hipotiroidismo clínico se encuentra entre 3 a 8%. Mundialmente, la prevalencia en mujeres embarazadas con hipotiroidismo clínico es de 0.2 a 0.5% y subclínico de 2 a 2.5% (Flores y cols. 2015). La American Thyroid Association (ATA) reporta una frecuencia del hipotiroidismo en el embarazo de 0.3% a 0.5% para hipotiroidismo clínico y 2 a 3% para hipotiroidismo subclínico (ÇoşkunB y cols. 2020).

En la reproducción femenina, el hipotiroidismo se ve asociado con tasas de fertilización bajas y embriogénesis alterada (Visseberg 2015). Durante la gestación, puede inducir consecuencias como anemia, hipertensión, preeclampsia, desprendimiento prematuro de placenta, hemorragia y parto prematuro, depresión posparto, muerte fetal intrauterina, bajo peso al nacer y una disfunción en el desarrollo neurológico infantil de moderado a severo, incluyendo retraso mental severo, aunque los mecanismos no se encuentran del todo descritos (Nazarpour y cols. 2015). Además de los efectos que el hipotiroidismo tiene en la salud materna, el desarrollo fetal también se ve comprometido. Así, Cai y cols. (2019) reportaron que una variación leve de la normalidad en las hormonas tiroideas puede tener efectos importantes en el feto durante el segundo trimestre y al haber resolución del embarazo. Los niveles altos de T4 total y libre maternos durante el embarazo específicamente a principios del segundo trimestre se asocian con un menor peso fetal y peso al nacer, así como con un mayor riesgo de peso bajo para la edad gestacional y bajo peso al nacimiento. De manera contraria una elevación de T3 libre y total a principios del segundo trimestre se relaciona con macrosomía fetal y peso alto gestacional. Las mujeres embarazadas pueden ser diagnosticadas con hipotiroidismo clínico cuando los valores de TSH en el primer trimestre se encuentran por arriba de 2.5 mUI/ml y valores de T4 libre disminuidos. Cuando los niveles de TSH se encuentren por arriba de 10 mUI/ml el diagnóstico de hipotiroidismo clínico se hará incluso sin contar con resultados de T4 libre (Çoşkun y cols. 2020).

En modelos animales con hipotiroidismo inducido se han reportado efectos similares a lo encontrado en humanos. Cintia y cols. (2017) reportan en su modelo de estudio ratas hipotiroideas de 10 y 19 días de gestación una disminución de la decidua y en ratas de 10 y 14 días de gestación aumento de VEGF-A y un posterior descenso a los 19 días de gestación. En conejas, el hipotiroidismo se asocia con una disminución de la talla de los fetos y una reducción en la acumulación de lípidos en el útero (Rodríguez-Castelán y cols. 2019). Los trastornos de función tiroidea pueden afectar la migración del trofoblasto en el útero. También se observa una disminución de metaloproteasas tipo 2 y 9 además de leptina placentaria (Silva y Serakides 2016).

2.2 Importancia de los neutrófilos en la gestación

En humanos sanos, entre el 45–65% de los neutrófilos en circulación son CD177+. Esta proteína es conocida como antígeno de neutrófilos humanos NB1, la cual es una glicoproteína expresada en membrana citoplásmica y dentro de los gránulos contenidos en los neutrófilos. La CD177 promueve la interacción de los neutrófilos con las células endoteliales favoreciendo su migración. Esta proteína se puede unir a la molécula de adhesión celular de plaquetas (PECAM-1 o CD31), así como a integrinas $\beta 2$ y proteasas 3 (Silvestre-Roig y cols. 2019). La cantidad de neutrófilos CD177+ puede verse aumentado en condiciones de asma, sepsis, inflamación de vejiga, cáncer, gestación y vasculitis (Silvestre-Roig y cols. 2019, Figura 5).

En el embarazo, los neutrófilos tienen un papel importante. La población de neutrófilos que llega al útero gestante muestra características inmaduras, lo que se ha sugerido ayuda a la tolerancia materno-fetal. Estos neutrófilos son conocidos como neutrófilos de baja densidad o células supresoras derivadas de células polimorfonucleares mieloides (Silvestre-Roig y cols. 2019). Estas células se localizan en la decidua y tiene funciones pro-angiogénicas y, a su vez, están involucrados en la pérdida fetal y en el desarrollo de preeclampsia (Amsalem y cols. 2014).

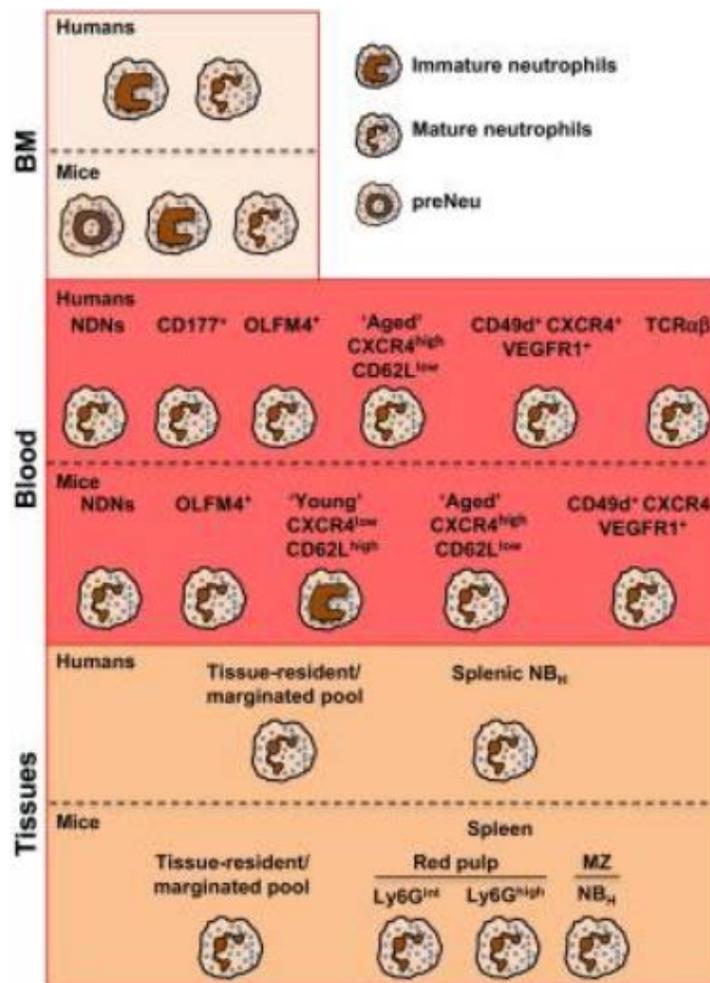


Figura 5. Características de los neutrófilos presentes en la sangre y tejidos. Tomado de Silvestre-Roig y cols. 2019.

Además de las NK, los neutrófilos también se infiltran para formar la interfase materno-fetal (Amsalem y cols. 2014). Los neutrófilos inducen a las células T auxiliares (Th) 1 y 2 (Th1 y Th2) que producen IL-4, 5, 10, 13 y 17 involucradas en la inmunidad humoral (Vandana y cols. 2011). Las citocinas producidas por los Th1 desencadenan acción trombótica e inflamatoria, así como angiogénesis placentaria mediante la activación de procoagulantes, células endoteliales vasculares y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF-A). El aumento de células Th1 induce apoptosis y fallas en la señalización de neutrófilos, afecta la

invasión del trofoblasto y la formación de las arterias espirales (Nadkarni y cols. 2016). Para el segundo tercio del embarazo, las arterias se continúan remodelando y la placenta sigue creciendo por lo que se siguen infiltrando células inmunes al tejido uterino, específicamente la decidua basal. Con frecuencia se encuentra cúmulos de neutrófilos cerca de las arterias espirales. La infiltración puede detectarse migrando desde el endotelio venoso a la decidua, aunque un exceso podría inducir aborto (Amsalem y cols. 2014; Figura 6).

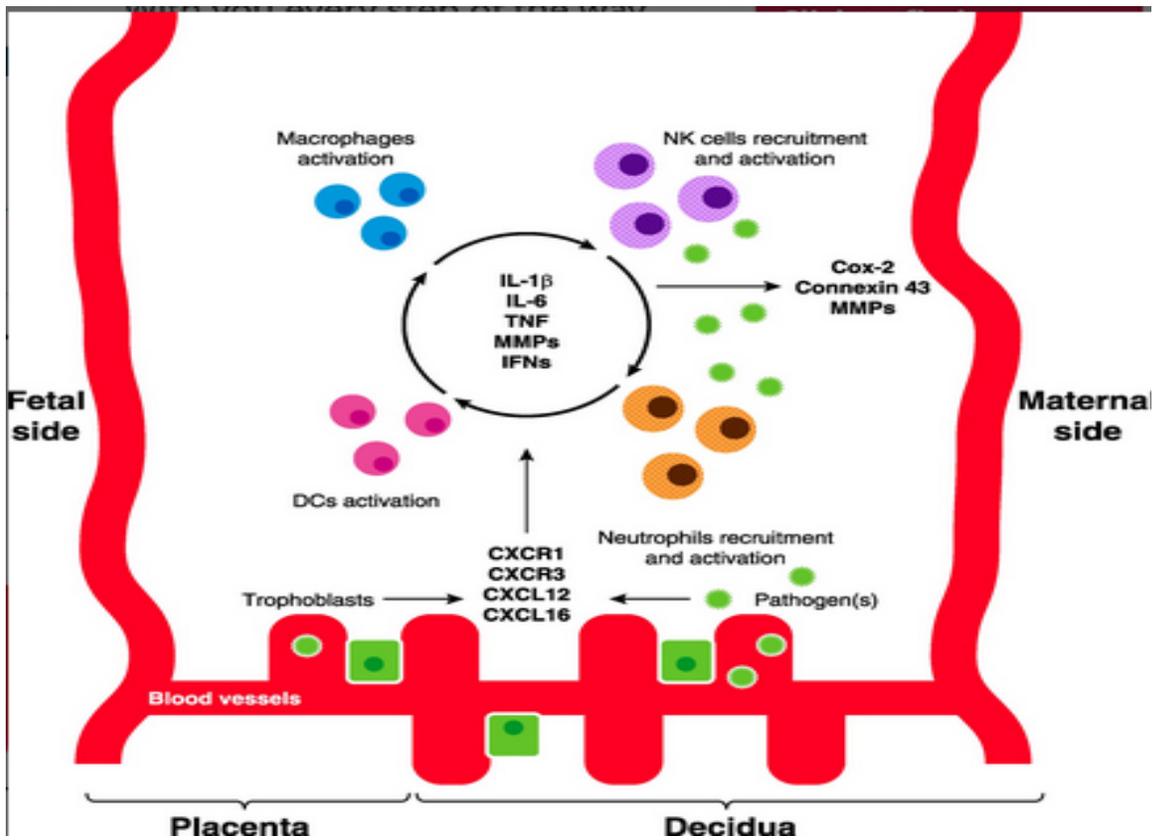


Fig. 6. Descripción general de las células inmunitarias en el interfaz materno /fetal. Posee receptores inmunes innatos, incluidos los TLR, recluta y activa a las células inmunes innatas modificadas de (Cappelletti y cols. 2015).

2.3 Neutrófilos y hormonas tiroideas

Las hormonas tiroideas están estrechamente relacionadas con el sistema inmunitario, incluyendo mecanismos genómicos y no genómicos además de promover un mecanismo proinflamatorio (Van Der Spek 2016). Existe evidencia de la interacción bidireccional del sistema inmune y las hormonas tiroideas, la acción de estas es nuclear y no-nuclear mediante receptores específicos: TR α 1, TR β 1, TR β 2 y TR β 3 controlado por correceptores y coactivadores (Montesinos y cols. 2019). Se ha sugerido que las células del sistema inmunitario son células diana de T3 (Van Der Spek 2016). Existe la posibilidad de que las hormonas tiroideas estimulen las cascadas inflamatorias (Paschou y cols. 2018). Pacientes con hipotiroidismo subclínico poseen mayor expresión de marcadores de inflamación incluyendo IL-6 y proteína C reactiva lo que sugiere un estado de inflamación crónica (Zhu y cols. 2019).

Los neutrófilos son células fagocíticas provenientes de células madre hematopoyéticas (Borregaard 2010). El CD177 solo se expresa en neutrófilos, no en monocitos o linfocitos (Xie y cols. 2015; Howard y cols. 2013). Poseen tres mecanismos de destrucción ante patógenos: la desgranulación, la producción de especies reactivas de oxígeno y la generación de trampas extracelulares de neutrófilos (Kolaczowska y Kubes 2013, Bardoel y cols. 2014). En enfermedades que cursan con proceso inflamatorio, la relación neutrófilos/ linfocitos está aumentada, aunque no existe claridad en la significancia clínica (Bilge y cols. 2019) y, en estas mismas, los neutrófilos aumentan la generación de especies reactivas a oxígeno, mieloperoxidasa y consumo de oxígeno mitocondrial (Montesinos y cols. 2019). Los neutrófilos murinos contienen el transportador TH MCT8, y los humanos expresan el ARNm MCT10, pero no MCT8 y poseen la capacidad de desyodar T3 y T4 (Boelen y cols. 2005, van der Spek y cols. 2016). También tienen la capacidad de producir T3 y T3r (Woeber 1977). Dentro de los neutrófilos, así como sus gránulos existe D3 y D1 (Van der Spek 2016).

3. Justificación

En México está reportado que el 1% de hipotiroidismo es primario. Del 3 a 8% catalogado como subclínico. Mundialmente, la prevalencia de hipotiroidismo clínico va del 0.2 a 0.5% y de 2 a 2.5% en hipotiroidismo subclínico (Flores y cols. 2015). En la gestación, el hipotiroidismo puede presentar consecuencias como, desprendimiento prematuro de placenta, hemorragia, parto prematuro, muerte fetal intrauterina, bajo peso al nacer y una disfunción en el desarrollo neurológico infantil (Nazarpour y cols. 2015).

Las hormonas tiroideas pueden regular la expresión de las células inmunitarias (Roman y cols. 2018). Sin embargo, existe información escasa sobre la expresión de CD177 y TNF α en útero, y tampoco hay un reporte del comportamiento de la expresión de CD177 en estados de hipotiroidismo durante la gestación. Dado que se relaciona con la angiogénesis y patologías durante el embarazo (Gelber y cols. 2016; Gorivodsky y cols. 1998), el presente estudio puede proponer una explicación a cerca de la falla de implantación placentación y luteinización durante el proceso de gestación en el hipotiroidismo.

4. Hipótesis

El hipotiroidismo aumenta la expresión de CD177 en el útero a lo largo de la gestación en conejas.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Determinar si el hipotiroidismo aumenta la expresión CD177 en el útero a lo largo de la gestación en conejas.

5.2 Objetivos específicos

En conejas de la raza Chinchilla Europea no gestante y gestante de 5, 10 y 20 días controles e hipotiroideas:

- Determinar la expresión de CD177 mediante inmunohistoquímica.
- Cuantificar la expresión de CD177 mediante western blot en el útero con y sin implante.

6. Metodología

6.1 Inducción del hipotiroidismo

El hipotiroidismo se indujo mediante tratamiento con el fármaco anti-tiroideo metimazol, el cual fue administrado en el agua de bebida a una concentración de 0.02% durante treinta días (Méndez-Tepepa, Tesis de Doctorado). Los animales gestantes hipotiroideos tuvieron un mes de tratamiento con metimazol, ajustando los días previos a la cópula y de gestación, según correspondió a cada grupo (Méndez Tepepa, tesis de doctorado; Figura 7).

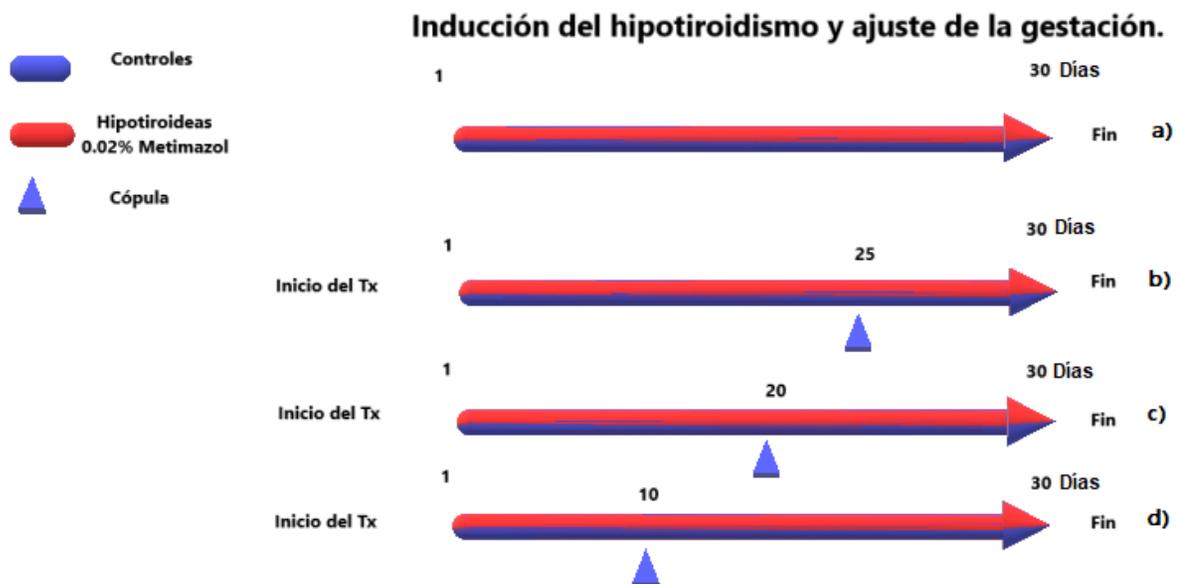


Fig. 7. Inducción del hipotiroidismo y ajuste de la gestación. Conejas controles (azul) e hipotiroideas (rojo) con 30 días de tratamiento cada una, se marca el inicio de la gestación. a) conejas no gestantes, b) conejas con 5 días de gestación (implantación), c) conejas con 10 días de gestación (placentación) y d) conejas con 20 días de gestación (luteinización).

6.2 Inmunohistoquímica

Los úteros medios izquierdos de conejas controles e hipotiroideas grávidas (implantación) fueron fijados en una solución de Bouin-Duboscq por 12 h. Los tejidos fueron deshidratados con alcoholes en concentración ascendente (60-100%) e incluidos en parafina. Con un micrótopo se realizaron cortes de útero transversales a 5 μ m y se colocaron 6 cortes en una laminilla. Los cortes de útero se observaron con un microscopio para el posterior análisis histológico. Una laminilla de útero por coneja fue utilizada para realizar la técnica de inmunohistoquímica en base al método avidina-biotina-peroxidasa (ABC), donde los cortes, ya hidratados, se incubaron en una solución buffer de citratos (pH= 6) durante tres noches. Posteriormente, los cortes se incubaron con el primer anticuerpo anti-CD177 (ab220281; 1:100; Abcam) en una cámara húmeda a 4°C durante una noche. Seguido de ello, los cortes se incubaron con un anticuerpo secundario mouse anti-rabbit (1:250) durante 2 h a temperatura ambiente. Después, los cortes se lavaron con una solución buffer de fosfatos (PBS; pH= 7.2) y se incubaron con el ABC durante 1 h. Para luego realizar el revelado con una solución de diaminobenzidina (DAB) al 0.05% y H₂O₂ al 3% en PBS hasta localizar el marcaje en el útero (capa epitelial, submucosa, músculo y células inmunes). Los cortes se deshidrataron en alcoholes a concentraciones ascendentes y se cubrirán con Cytoseal TM60 y un cubreobjetos. Para determinar la inmunolocalización y descripción de la presencia células CD177+ en el estroma del útero, se observó el tejido con un microscopio de luz visible (Nikon ECLIPSE E600), se realizó la cuantificación de células positivas en cuatro cuadrantes, tomando dos campos por cada uno de ellos.

6.3 Western blot

Se tomó una porción de útero congelado (0.5 mg aproximadamente). El tejido fue macerado con un homogeneizador eléctrico utilizando buffer de lisis¹. Se agregó a la muestra un inhibidor de proteasas (sigma) y 100 mM de fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF).

¹Composición de Buffer de Lisis. Volumen final 5 ml Arregar: Cloruro de Sodio (NaCl) 1M 0.292g, Glicina 1M 0.375g, Tris pH 7.6 0.02M 10 ml, Tritón 50 μ l

Posteriormente, se centrifugó durante 30 min a 13,400 rev/min a 4°C para obtener el precipitado y el sobrenadante de la muestra. Del homogenizado se determinó la concentración de las proteínas totales mediante el método de Bradford. Para la separación electroforética de las proteínas, se utilizaron geles de poliacrilamida/SDS al 10%. Para la corrida se cargaron 50 µg de proteína. Las proteínas fueron transferidas a membranas de nitrocelulosa utilizando el sistema Mini Trans-Blot Cell (ENDURO). Una vez realizada la transferencia a las membranas, se bloqueó con una solución de leche descremada al 7% y 0.02% tween-20 en PBS. Posteriormente, las membranas se incubaron con el anticuerpo primario anti-CD177 (1:50) diluido en 1% de leche descremada en 0.02% tween-20 en PBS durante 1 noche a 4°C. Después se incubó con el anticuerpo secundario Mouse anti Rabbit (1:50 000) diluido en 1% de leche descremada y 0.2% de TRIS durante 1 h a temperatura ambiente. Finalmente, las bandas inmunoreactivas se revelaron utilizando un kit de quimioluminiscencia² como se mencionó anteriormente. Para la cuantificación se utilizó el software Image J y se cuantificaron las bandas obtenidas del rojo Ponceau vs bandas obtenidas en el revelado obtenido por placas³. Una vez obtenido esto se promediaron por grupo y se procedió a realizar estadística.

6.4 Estadística

Los resultados fueron comparados con ANOVA de dos vías y t-Student con el programa Gb-Stat.

² Super Signal West, Pierce

³ Placa Kodak BioMax light film; reactivos revelador Kodak Developer and Replenisher Revelateur et Entretien y fijador Kodak Fixador e Refocador.

7. Resultados

En los cortes de tejidos sin implante de úteros control se observaron células CD177+ en el epitelio, estroma y capa muscular, en todas las condiciones de gestación (Figura 8). Un marcaje similar fue observado en los animales hipotiroideos (Figura 9). En los sitios con implante, se observaron células CD177+ en el epitelio luminal, epitelio glandular, tejido estromal y muscular de úteros de conejas eutiroideas (Figura 10) e hipotiroideas (Figura 11).

Al realizar el conteo de las células CD177+ en los tejidos sin implante, no se observaron diferencias significativas ni a lo largo de la gestación ni por efecto del hipotiroidismo, en los sitios sin y con implante (Figura 12). Lo mismo ocurrió para el número de células CD177+ en la capa muscular en los sitios sin y con implante (Figura 13).

Sobre las mismas fotografías tomadas de los tejidos control e hipotiroideos se realizó el conteo de número de vasos presentes en cada uno de los campos. No se encontraron diferencias entre los grupos por gestación y tratamiento en el estroma (Figura 14) ni en la capa muscular (Figura 15).

Para la técnica de transferencia por Western Blot para la cuantificación de CD177 se realizaron 4 animales. La expresión se encontró entre 58 y 64 kDa y en la membrana se expresó entre los marcadores 72 y 55 kDa. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos ni a lo largo de la gestación ni por efecto del hipotiroidismo (Figura 16).

Inmunohistoquímica tejidos útero control sin implante

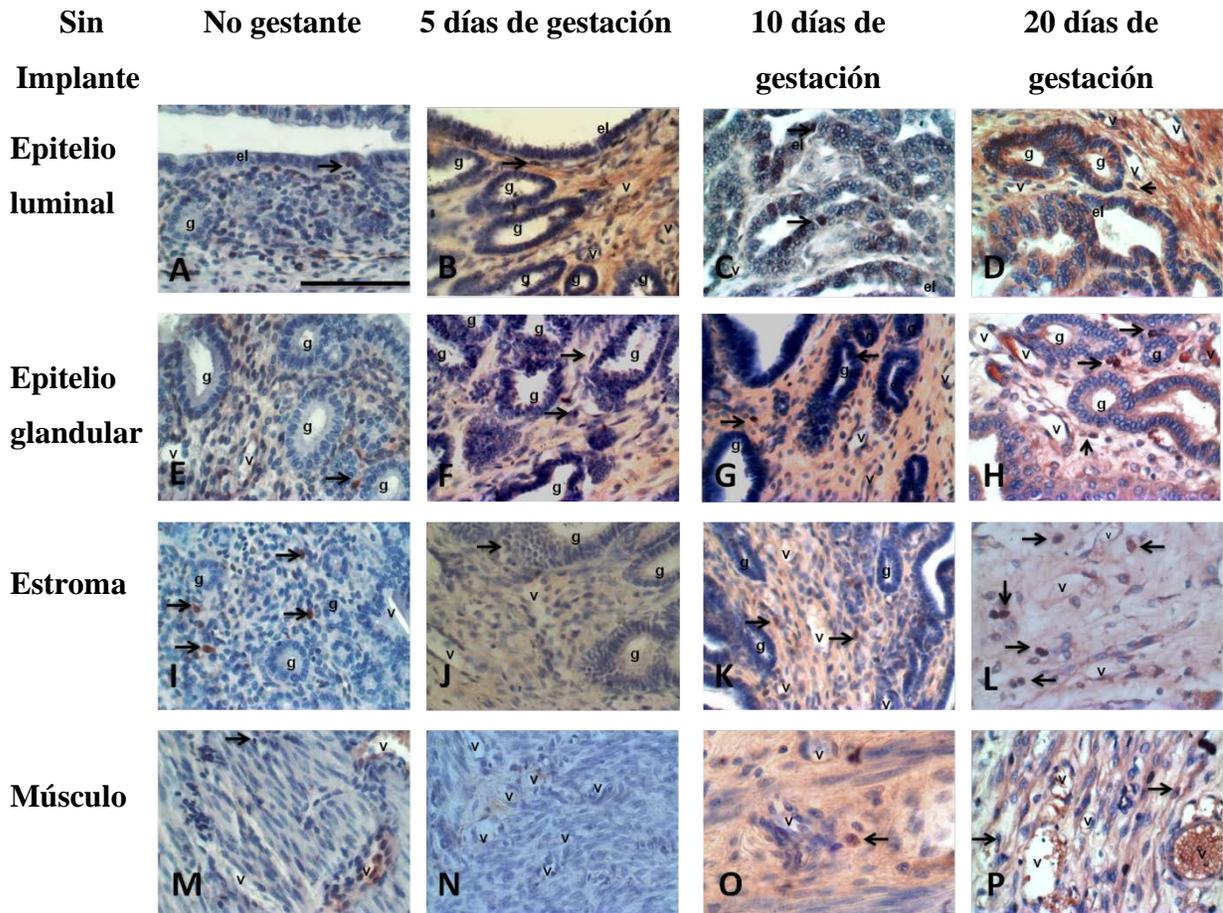


Fig. 8. Fotografías de inmunohistoquímica para CD177 de útero de conejas control no gestantes, 5, 10 y 20 días de gestación. Secciones sin implante. En aumento a 40x (A-P). Escalas A-P= 100 um: el= epitelio luminal, g=glándula, v= vaso, ↑= células positivas CD177.

Inmunohistoquímica tejidos útero hipotiroideo sin implante

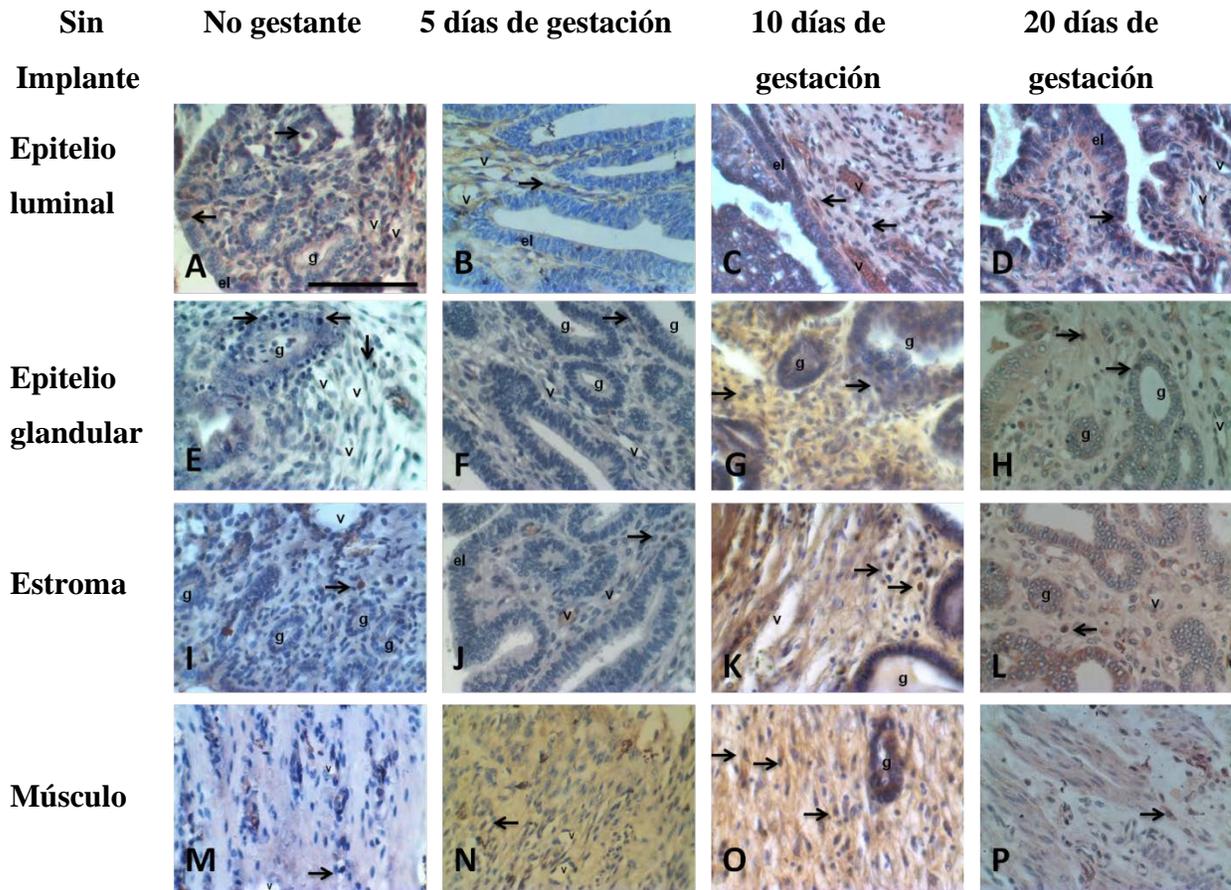


Fig. 9. Fotografías de inmunohistoquímica para CD177 de útero de conejas hipotiroideas no gestantes, 5, 10 y 20 días de gestación. Secciones sin implante. En aumento a 40x (A-P). Escalas A-P= 100 µm. el= epitelio luminal, g=glandula, v= vaso, ↑= células positivas CD177.

Inmunohistoquímica tejidos útero control con implante

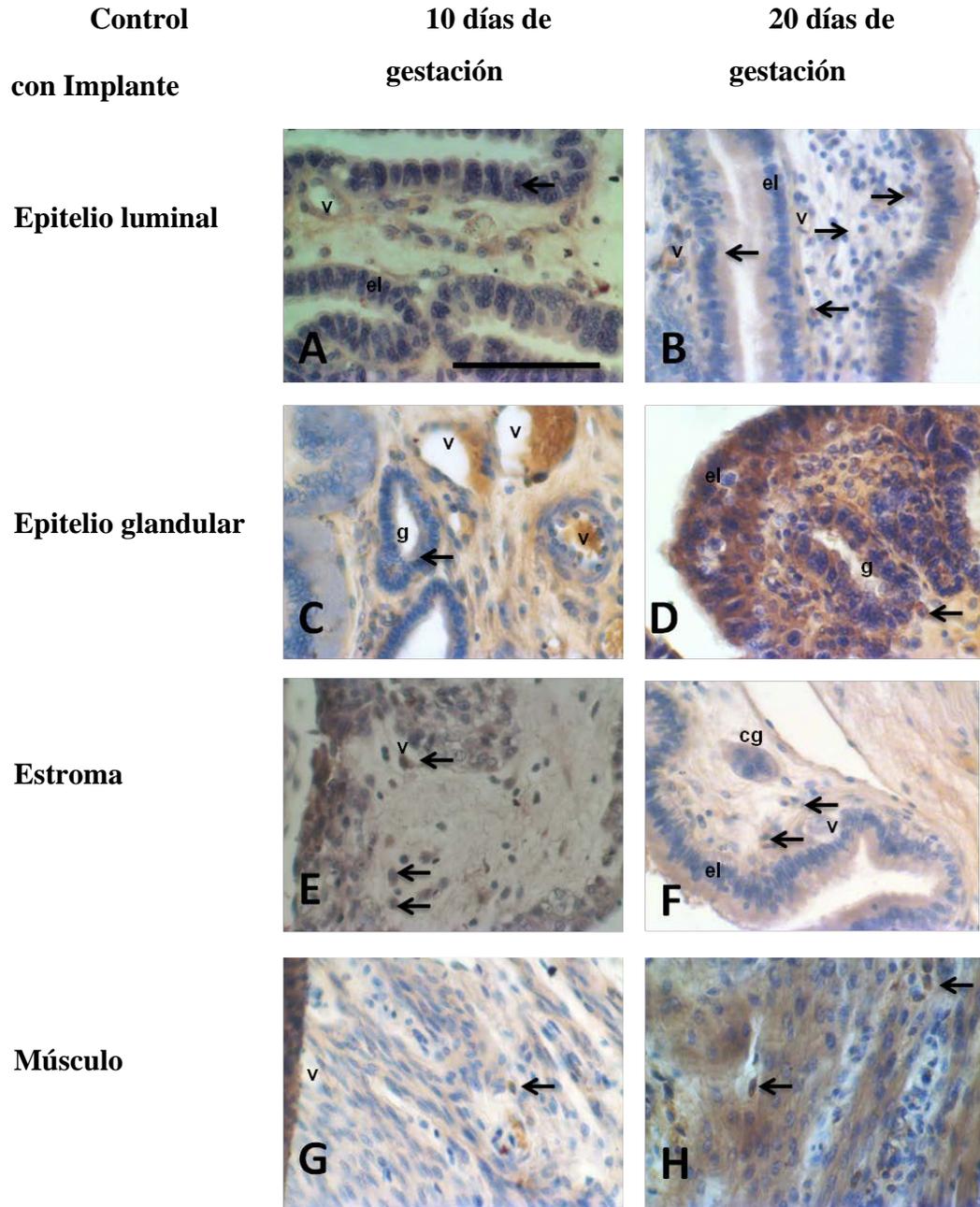


Fig. 10. Fotografías de inmunohistoquímica para CD177 de útero de conejas control gestantes, 10 y 20 días de gestación. Secciones con implante. En aumento a 40x (A-H). Escalas A-H= 100 μ m.: el= epitelio luminal, g=glándula, v= vaso, \uparrow = células positivas CD177, cg= células gigantes del trofoblasto.

Inmunohistoquímica tejidos útero hipotiroideo con implante

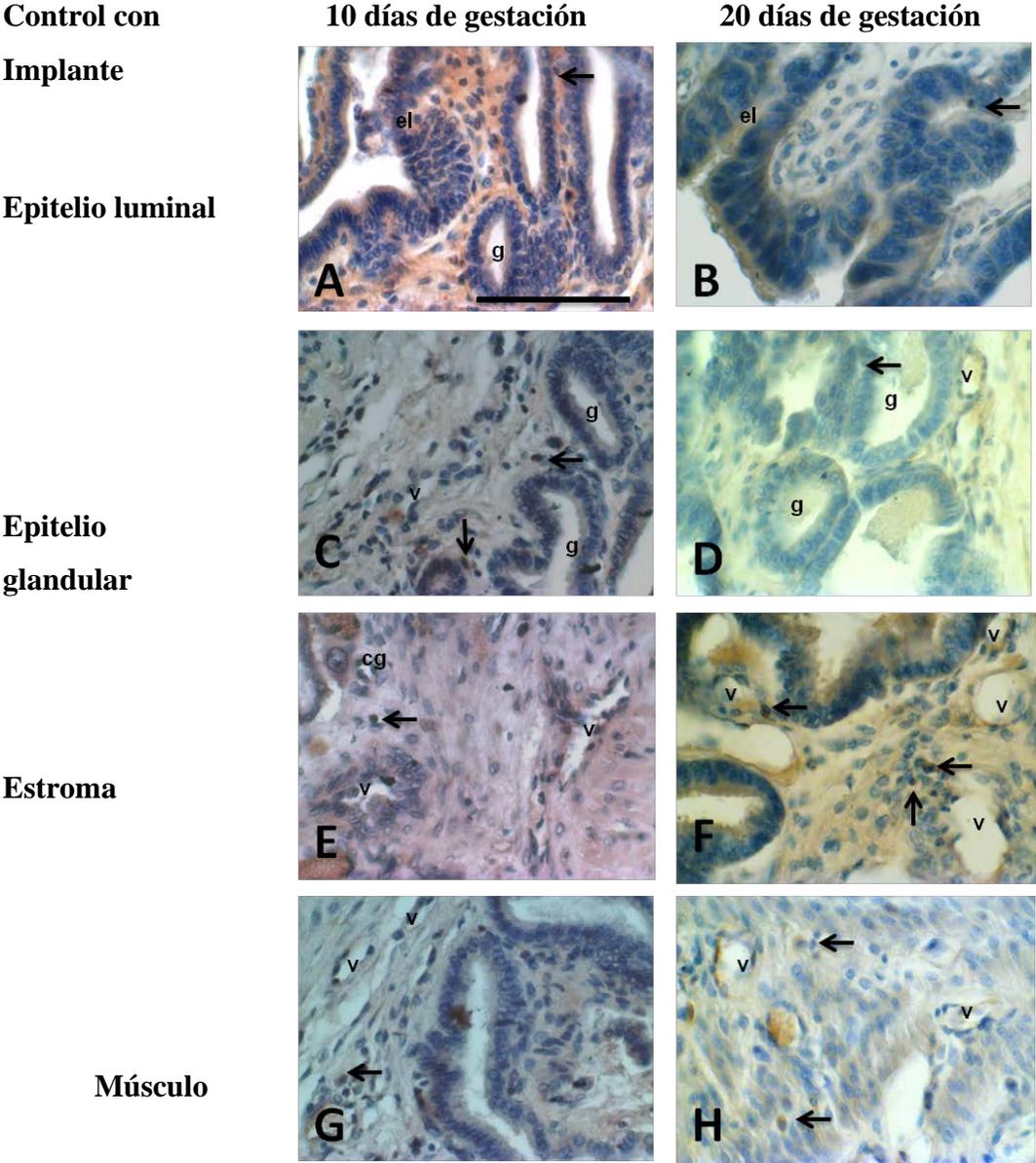


Fig. 11. Fotografías de inmunohistoquímica para CD177 de útero de conejas hipotiroideas gestantes, 10 y 20 días de gestación. Secciones con implante. En aumento a 40x (A-H). Escalas A-H= 100 µm. el= epitelio luminal, g=glándula, v= vaso, ↑= células positivas CD177, cg= células gigantes del trofoblasto.

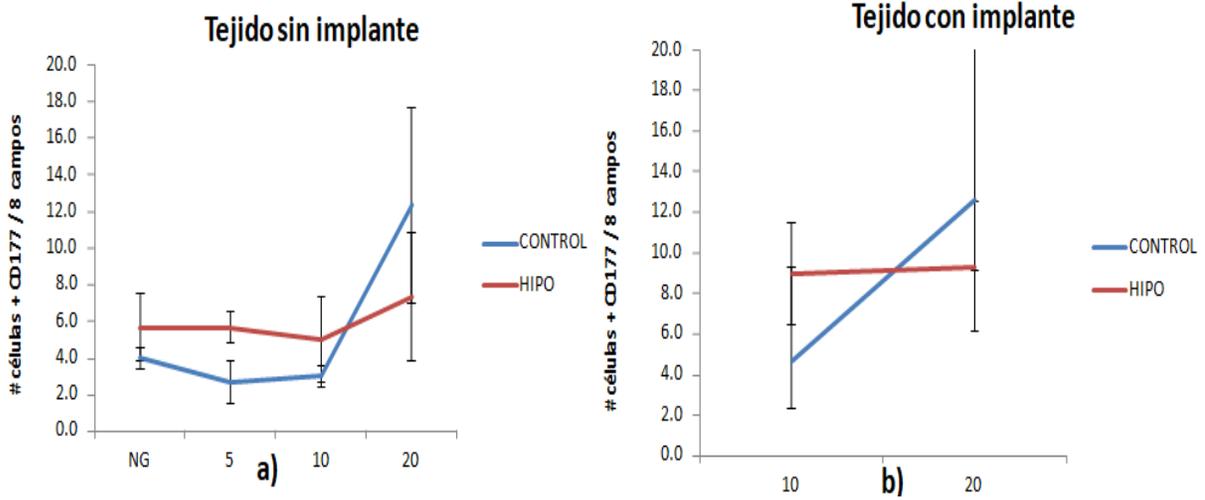


Fig. 12. Conteo de células inmunopositivas a CD177 en el estroma uterino de conejas controles (línea roja) e hipotiroideas (línea azul). a) Sitios sin implante en conejas no gestantes (NG), días 5 (G5), 10 (G10) y 20 (G20) de gestación. b) sitios con implante en conejas de G10 y G20. n= 3. Estadística ANOVA no se encuentran diferencias significativas

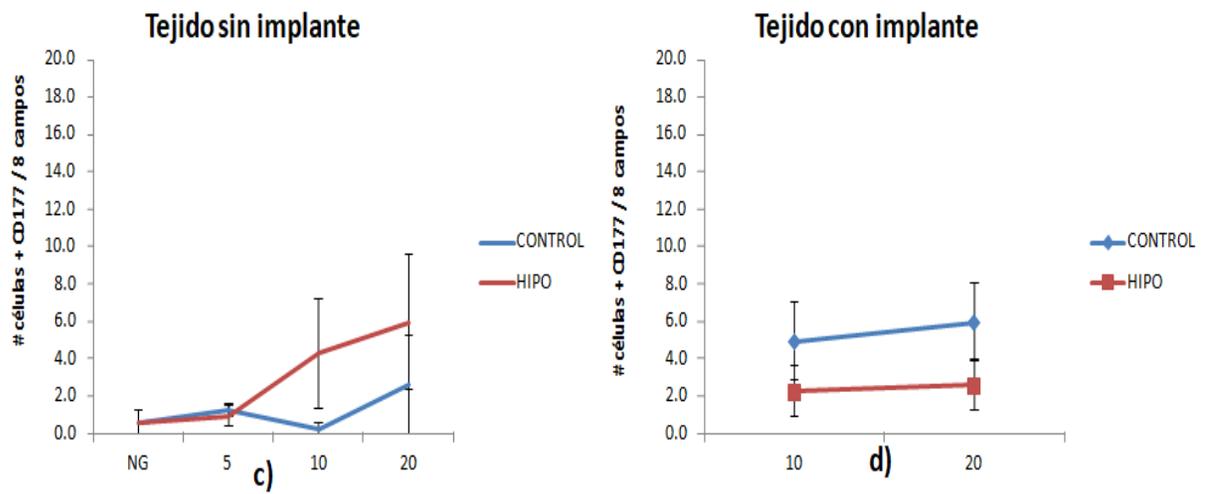


Fig. 13. Conteo de células inmunopositivas a CD177 en el músculo uterino de conejas controles (línea azul) e hipotiroideas (línea roja). c) Sitios sin implante en conejas no gestantes (NG), días 5 (G5), 10 (G10) y 20 (G20) de gestación. d) sitios con implante en conejas de G10 y G20. n= 3

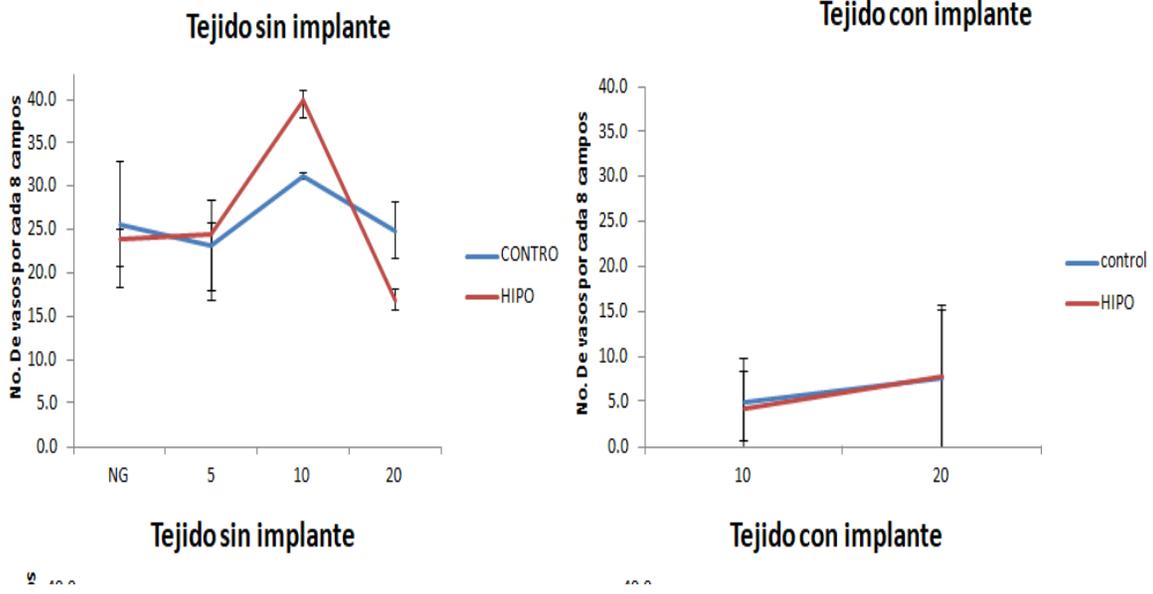


Fig. 14. Conteo de vasos en el estroma uterino de conejas controles (línea azul) e hipotiroideas (línea roja). a) Sitios sin implante en conejas no gestantes (NG), días 5 (G5), 10 (G10) y 20 (G20) de gestación. b) sitios con implante en conejas de G10 y G20. n= 3

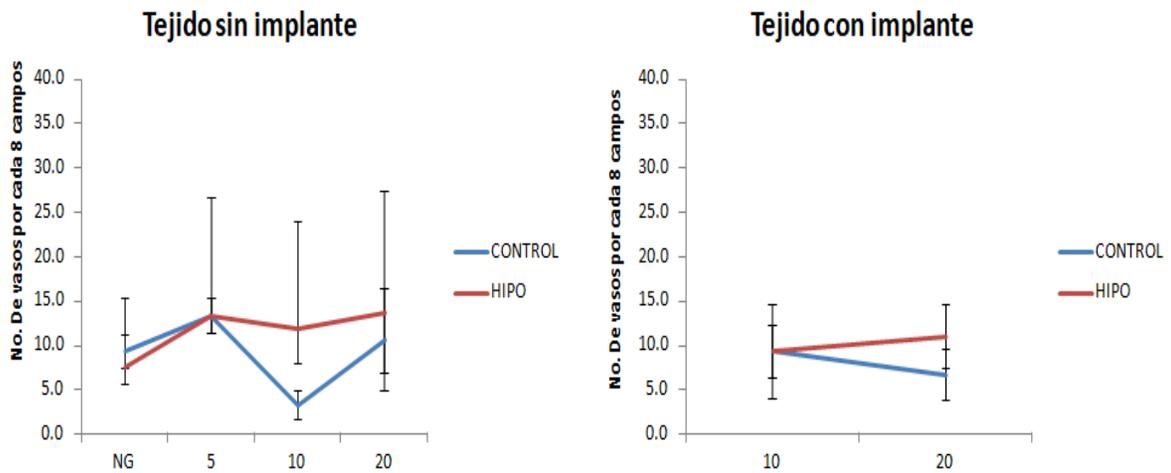
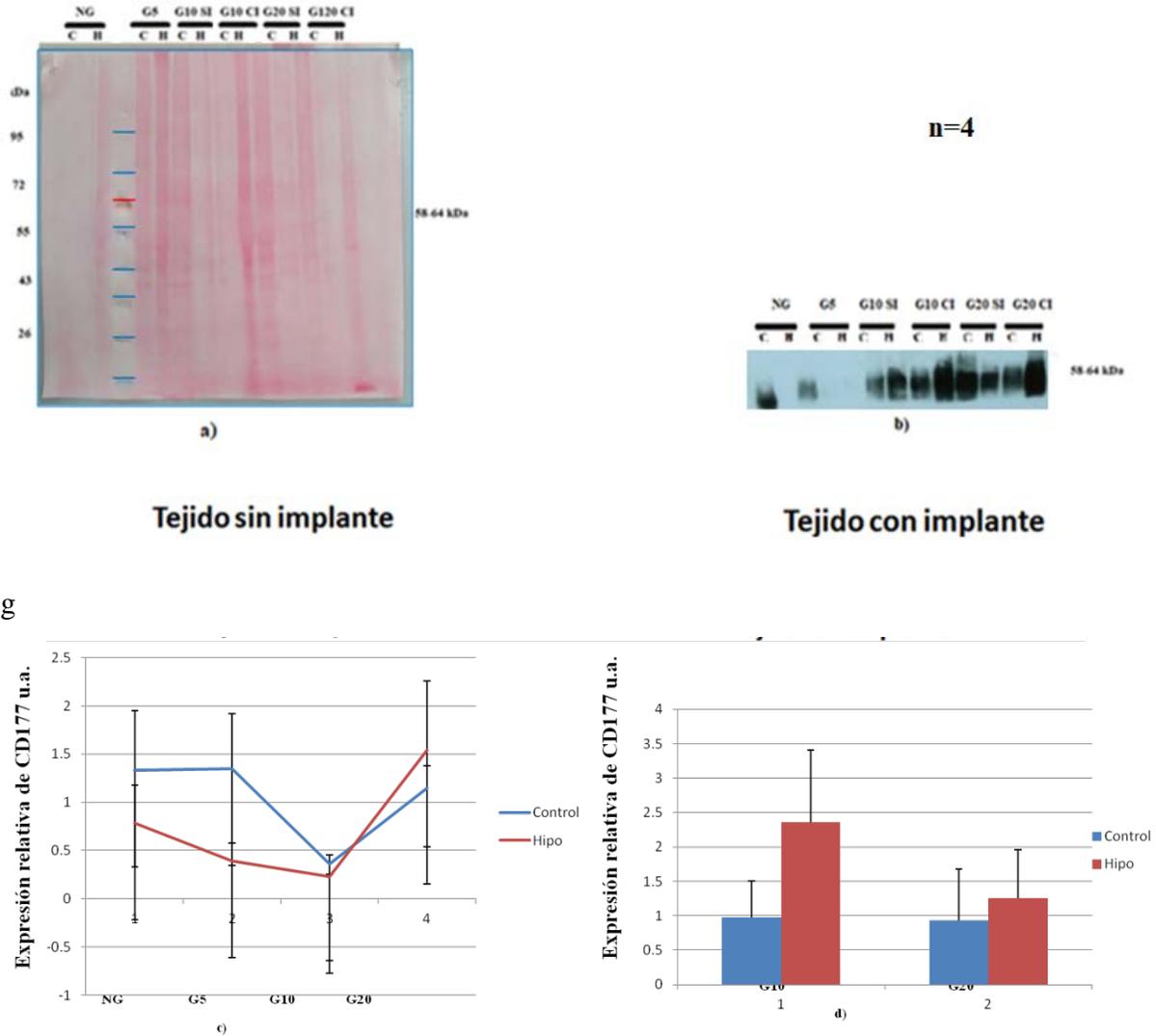


Fig. 15. Conteo de vasos en el músculo uterino de conejas controles (línea azul) e hipotiroideas (línea roja). a) Sitios sin implante en conejas no gestantes (NG), días 5 (G5), 10 (G10) y 20 (G20) de gestación. b) sitios con implante en conejas de G10 y G20. n= 3

Western Blot CD177



59

Fig. 16. Carriles de membrana teñidos con Rojo de Ponceau que muestra el total de las proteínas de los grupos control e hipotiroideos no grávidos (NG), implantación (G5), placentación (G10), degeneración del cuerpo lúteo (G20). Secciones con implante y sin implante. Carga de proteína 80 µg **b)** Expresión de la proteína CD 177 en carril entre 55 y 72 kDa, durante las etapas no grávida, implantación, placentación y degeneración del cuerpo lúteo. **c)** Cuantificación de la proteína grupos sin implante, con análisis ANOVA. Muestra una disminución de la expresión hacia el final de la gestación en el grupo hipotiroideo **d)** Gráfica que muestra agrupación de conejas con implante. El grupo hipotiroideo 20 de días de gestación presenta un aumento de la expresión en comparación con el grupo control n=3.

8. Discusión

Embarazo y células inmunes

Desde la implantación, el embarazo requiere del sistema inmunitario. Al inicio se debe establecer una tolerancia inmune de la madre hacia el feto, pero posteriormente las células inmunes funcionan como mediadores de señalización en tejidos maternos y fetales (Waldorf y cols. 2008; Ramathal y cols. 2010; Vasilopoulou y cols. 2014). Estas células inmunes secretan diversas citocinas que regulan la invasión del trofoblasto (Red-Horse y cols. 2014) y la formación de la placenta (Marder y cols. 2016; Stoikou y cols. 2017). Alteraciones en el número u actividad de estas células inmunes se han asociado con partos pretérmino (Cappelletti y cols. 2015) y bajo peso al nacimiento (Street y cols. 2008).

Los neutrófilos juegan un papel importante en la implantación, al promover la angiogénesis uterina. Tal angiogénesis es llevada a cabo por VEGF y metaloproteinasas (MMP), las cuales son secretadas por los neutrófilos (Wang 2018). Los neutrófilos infiltrados en los tejidos mediante quimiocinas respondiendo a procesos inflamatorios. Se conocen los subtipos pro-inflamatorios (N1) y anti-inflamatorios (N2). En este proceso de polarización están involucradas peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR γ), interferon- γ e interleucina-4 (IL4) (Wang 2018). Un exceso de neutrófilos se observa en procesos de infección intrauterina, favoreciéndose la infiltración de neutrófilos en la placenta, membranas fetales y líquido amniótico promovido por el aumento de TNF α (Presicce y cols. 2020).

Embarazo y hormonas tiroideas

En el trofoblasto, la T4 estimula la producción de VEGF, lo cual promoverá la placentación (Visseberg 2015). En el feto, las hormonas tiroideas promueven la formación cortical cerebral (Jahagirdar y cols. 2012). EL hipotiroidismo durante la gestación tiene consecuencias fetales como muerte fetal, bajo peso al nacimiento, cretinismo; consecuencias maternas como: anemia, desprendimiento prematuro de placenta, hipertensión y preeclampsia (Visseberg 2015).

Embarazo y sistema inmune

Las hormonas tiroideas son capaces de regular el sistema inmunitario a través de sus receptores en diversas células, fisiológicamente promoviendo la expresión de estas células durante su modulación con diversos fines (Van der Spek y cols. 2016). Los neutrófilos (CD177 positivos) tienen la capacidad de producir T3 y T3r (Woeber 1977) y en los gránulos contienen D3 y D1 (Van der Spek 2016). Aunque Wang y cols. (2018) reportaron que los neutrófilos expresan CD177, en las laminillas de inmunohistoquímica que se han realizados se muestra expresión en estroma y músculo, no es exclusivo de neutrófilos también se expresa en mastocitos (Natkunam y cols. 2000) y en células pertenecientes al trofoblasto (Natkunam y cols. 2000).

Existe información escasa sobre la expresión de CD177 en útero, y tampoco hay un reporte del comportamiento de su expresión en estados de hipotiroidismo durante la gestación. La CD177 está presente en células inmunológicas y se relaciona con la angiogénesis; seguramente indicará una adecuada implantación, irrigación del trofoblasto y posterior placentación. Fisiológicamente, las células inmunitarias disminuyen hacia el final de la gestación puesto que ya no es necesaria una angiogénesis. La sobreexpresión del anticuerpo se relacionaría con patologías durante el embarazo. La gestación no modifica la expresión de CD177, pero puede ser que su tendencia al aumento sea verdadera al completar una n de 6.

9. Referencias

1. A. Schanz K, Red-Horse A.P, Hess D, Baston-Büst C, Heiss JS, Krüssel. 2014 Oxygen regulates human cytotrophoblast migration by controlling chemokine and receptor expression: Placenta. 1089-1094
2. Aghajanova L, Stavreus-Evers A, Lindeberg M, Landgren B, Skjöldebrand L, Hovatta O. 2011. Thyroid-stimulating hormone receptor and thyroid hormone receptors are involved in human endometrial physiology. *Fertility and Sterility*. 95 (1) 230-237
3. Amsalem H, Kwan M, Hazan A, Zhang J, Jones RL, Whittle W, Kingdom JC, Croy BA, Lye SJ y Dunk CE. 2014. Identification of a novel neutrophil population: proangiogenic granulocytes in second-trimester human decidua. *The Journal of Immunology*. 193: 3070-3079.
4. Arici A. Local cytokines in endometrial tissue: the role of interleukin-8 in the pathogenesis of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 955:101-109.
5. Atègbo J, Grissa O, Yessoufou, Hichami A, Dramane K, Moutairou K, Khan NA. 2006. Modulation of Adipokines and Cytokines in Gestational Diabetes and Macrosomia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(10).
6. Bacon, W. A., Hamilton, R. S., Yu, Z., Kieckbusch, J., Hawkes, D., Krzak, A. M., Charnock-Jones, D. S. 2018. Single-Cell Analysis Identifies Thymic Maturation Delay in Growth-Restricted Neonatal Mice. *Frontiers in immunology*, 9, 2523.
7. Bardoel BW, Kenny EF, Sollberger G & Zychlinsky A 2014 The balancing act of neutrophils. *Cell Host and Microbe* 15 526–536.
8. Bazer F, Wu, Spencer T, Johnson G, Burghardt R y Bayless. 2010. Novel pathways for implantation and establishment and maintenance of pregnancy in mammals. *Molecular Human Reproduction*. 16: 135-152.
9. Bidart JM, Lacroix L, Evain-Brion D, Lazar V, Frydman R, Bellet D, Filletti S & Schlumberger M. 2000. Expression of Na⁺/I⁻ symporter and Pendred syndrome genes

in trophoblast cells. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 85: 4367–4372.

10. Bilge M, Yesilova A, Adas M, Helvaci A. Neutrophil- and Platelet- to Lymphocyte Ratio in Patients with Euthyroid Hashimoto's Thyroiditis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2019;127(8):545-549.
11. Boelen A, Boorsma J, Kwakkel J, Wieland CW, Renckens R, Visser TJ, Fliers E & Wiersinga WM 2008 Type 3 deiodinase is highly expressed in infiltrating neutrophilic granulocytes in response to acute bacterial infection. *Thyroid* 18 1095–1103.
12. Borregaard N, Cowland J. 1997 Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte. *Blood* 89 3503–3521
13. Brenner, D., Blaser, H., & Mak, T. W. 2015. Regulation of tumour necrosis factor signalling: live or let die. *Nature Reviews Immunology*, 15(6,
14. Brogin Moreli, J, Cirino Ruocco, A. M, Vernini, J. M, Rudge, M. V. C, & Calderon, I. M. P. 2012. Interleukin 10 and Tumor Necrosis Factor-Alpha in Pregnancy: Aspects of Interest in Clinical Obstetrics. *ISRN Obstetrics and Gynecology*, 2012, 1–5.
15. Bucci I, Giuliani C, Napolitano G. 2017. Thyroid-Stimulating Hormone Receptor Antibodies in Pregnancy: Clinical Relevance. *Front Endocrinol*, 8:137
16. Cai C, Chen W, Vinturache A, Hu P, Lu M, Gu H, Ding G. 2019. Thyroid hormone concentrations in second trimester of gestation and birth outcomes in Shanghai, China. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 1-9.
17. Calina, D., Docea, A. O., Golokhvast, K. S., Sifakis, S., Tsatsakis, A., & Makrigiannakis, A. 2019. Management of Endocrinopathies in Pregnancy: A Review of Current Evidence. *International journal of environmental research and public health*, 16(5), 781.
18. Cappelletti M, Della Bella S, Ferrazzi E, Mavilio D, Divanovic S. 2016. Inflammation and preterm birth. *Journal of Leukocyte Biology* 99: 67-78.
19. Castillo Romano M. 2018. Efecto del hipotiroidismo en el contenido de glucógeno en el endometrio de conejas gestantes. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Tlaxcala.

20. Chegini N, Roberts M. 2003. Differential expression of interleukins (IL)-13 and IL-15 in ectopic and eutopic endometrium of women with endometriosis and normal fertile women. *American Journal of Reproductive Immunology*. 49:75-83.
21. Cíntia A. Souza, Juneo F. Silva, Camila L.R. Silva JF , Natália M. Ocarino NM y Rogéria Serakides. 2017. Thyroid hormones affect decidualization and angiogenesis in the decidua and metrial gland of rats *Pesq. Vet. Bras* 37: 1002-1014
22. Çoşkun B, Çoşkun B, Kıncı Ö, Şimşir C, Pay R, Karaşahin K. 2020. Hypothyroidism prevalence in pregnant women according to age groups. *Medical Science & Discovery*. 7 (2)
23. De la Vieja A, Dohan O, Levy O y Carrasco N Molecular analysis of the sodium/iodide symporter: impact on thyroid and extrathyroid pathophysiology. *Physiological Reviews* 80: 1083–1105.
24. Donath MY. 2013. Targeting inflammation in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 15:193–196.
25. Emdin M, Passino C, Prontera C y cols. 2004. Cardiac natriuretic hormones, neuro-hormones, thyroid hormones and cytokines in normal subjects and patients with heart failure. *Clin Chem Lab Med*. 42(6):627-636.
26. Ertosun, M. G., Kocak, G., & Ozes, O. N. (2019). The Regulation of Circadian Clock by Tumor Necrosis Factor Alpha. *Cytokine & Growth Factor Reviews*.
27. Flores-Rebollar A, Moreno-Castañeda L, Vega-Servin N, López-Carrasco G y Ruiz-Juvera A. 2015. Prevalence of autoimmune thyroiditis and thyroid dysfunction in healthy adult Mexicans with a slightly excessive iodine intake. *Nutrición hospitalaria*. 32: 918-924.
28. Gardner DK. 2015. Lactate production by the mammalian blastocyst: manipulating the microenvironment for uterine implantation and invasion? *Bioessays*. 37: 364-371.
29. Gargett CE .Stem cells in gynaecology, *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 44; 380- 386
30. Gaudet, L., Ferraro, Z. M., Wen, S. W., & Walker, M. 2014. Maternal Obesity and Occurrence of Fetal Macrosomia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *BioMed Research International*.

31. Gelber SE, Brent E, Redecha P, Perino G, Tomlinson S, Davisson RL y Salmon JE. 2016. Prevention of Defective Placentation and Pregnancy Loss by Blocking Innate Immune Pathways in a Syngeneic Model of Placental Insufficiency. *The Journal of Immunology* 195: 1129-1138.
32. Giaglis S, Stoikou M, Grimolizzi F, Subramanian B, Van Breda S, Hoesli I, Lapaire O, Hasler P, Than N y Han S. 2016. Neutrophil migration into the placenta: Good, bad or deadly? *Cell Adhesion & Migration*. 10: 208-225
33. Glinoe D. 1999. What happens to the normal thyroid during pregnancy? *Thyroid* 9: 631–635
34. Gorivodsky M , Zemlyak I , Orenstein H , Savion S , Fein A , Torchinsky A , Toder V . J 1998 . TNF- α Messenger RNA and Protein Expression in the Uteroplacental Unit of Mice with Pregnancy Loss. *Immunol.* 160 (9): 4280-8.
35. Gupta AK, Hasler P, Holzgreve W, Gebhardt S, Hahn S. 2005. Induction of neutrophil extracellular DNA lattices by placental microparticles and IL-8 and their presence in preeclampsia. *Human Immunology* 66:1146–1154.
36. Hall, JE. 2016. *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. Editorial Elsevier Barcelona, España pp.
37. Higashisaka K, Kunieda A, Iwahara Y, Tanaka K, Nagano K, Mukai Y, et al. 2014. Neutrophilia due to silica nanoparticles induces release of double-stranded DNA. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology* : 565-0871
38. Howard J, Meyerson M, Ebenezer Osei, Schweitzer K, Blidaru G, Edinger A, Balog A. CD177 Expression on Neutrophils: In Search of a Clonal Assay for Myeloid Neoplasia by Flow Cytometry, *American Journal of Clinical Pathology*, Volume 140, Issue 5, November 2013, Pages 658–669
39. Hu Y, Li H, Yan R, Wang C, Wang Y, Zhang C, Zhou T, Zhu W, Zhang H, Dong N, y Wu Q. 2018. Increased Neutrophil Activation and Plasma DNA Levels in Patients with Pre-Eclampsia. *Thrombosis Haemostasis*. 118:2064-2073.

40. Jahagirdar V, Zollert T, Tighe D, Wagner C. Maternal 2012. Hypothyroidism decreases progesterone receptor expression in the cortical subplate of fetal rat brain. *J Neuroendocrinol*
41. Jara Bhusane K, Bhutada S, Chaudhari U, Sacardekar L, and Katkam R y Schadeva G. 2016. Secrets of Endometrial Receptivity: Some Are Hidden in Uterine Secretome. *American Journal of Reproductive Immunology*. 75: 226-236.
42. Jara EL, Muñoz-Durango N, Llanos C, Fardella C, González PA, Bueno SM, Kalergis AM. 2017. Riedel CA. Modulating the function of the immune system by thyroid and thyrotropin. PA: Elsevier. 184: 76-83.
43. Jauniaux E. y Jurkovic D. 2012. Placenta accreta: Pathogenesis of a 20th century iatrogenic uterine disease. *Placenta* 33: 244-251
44. Jung, M. K., Lee, J. S., Kwak, J.-E., & Shin, E.-C. 2019. Tumor Necrosis Factor and Regulatory T Cells. *Yonsei Medical Journal*, 60(2), 126.
45. Kemp, M.W. 2014. Preterm birth, intrauterine infection, and fetal inflammation. *Frontiers in Immunology*. 5: 574.
46. Kolaczowska E & Kubes P 2013 Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nature Reviews Immunology* 13 159–175
47. Laresgoiti-Servitje E. 2013. A leading role for the immune system in the pathophysiology of preeclampsia. *Journal of Leukocyte Biology* 94: :247-257
48. Linn RL, Miller ES, Lim G, Ernst LM. Adherent basal plate myometrial fibers in the delivered placenta as a risk factor for development of subsequent placenta accreta. *Placental Journal*.36: 1419 -1424.
49. Locksley, R. M., Killeen, N., & Lenardo, M. J. 2001. The TNF and TNF Receptor Superfamilies. *Cell*, 104(4), 487–501
50. Marder W, Knight JS, Kaplan MJ, Somers EC, Zhang X, O'Dell AA, Padmanabhan V y Lieberman RW. 2016. Placental histology and neutrophil extracellular traps in lupus and pre-eclampsia pregnancies. *Lupus Science and Medicine*.

51. Mbah AK, Kornosky JL, Kristensen S, August EM, Alio AP, Marty PJ, Belogolovkin V, Bruder K y Salihu HM. 2010.. Super-obesity and risk for early and late pre-eclampsia. *BJOG: an international Journal of obstetrics and gyneacology* 117:997–1004
52. Montesinos M, Pellizas C. 2019. Thyroid Hormone Action on Innate Immunity. *Frontiers in endocrinology*, 10, 350
53. Mrizak I, Grissa O, Henault B, Fekih M, Bouslema A, Boumaiza I, Khan Naim A. 2014. Placental infiltration of inflammatory markers in gestational diabetic women. *General Physiology and Biophysics*. 33(02)
54. Nadkarni S, Smith J, Sferruzzi-Perri AN, Ledwozyw A, Kishore M, Haas R, Mauro C, Williams DJ, Farsky SH, Marelli-Berg FM y Perretti M. Neutrophils induce proangiogenic T cells with a regulatory phenotype in pregnancy. 2016. Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America. 27: E8415 –E8424.
55. Natkunam, Y., & Rouse, R. V. 2000. Utility of Paraffin Section Immunohistochemistry for C-KIT (CD117) in the Differential Diagnosis of Systemic Mast Cell Disease Involving the Bone Marrow. *The American Journal of Surgical Pathology*, 24-1
56. Nazarpour S, Ramezani Tehrani F, Simbar M y Azizi F. 2015. Thyroid dysfunction and pregnancy outcomes. *Iran Journal of Reproductive Immunology*. 13: 387 -396.
57. Orlóstica L, García P, Vera C, García V, Romero C, Vega M. 2018. Effect of TNF- α on Molecules Related to the Insulin Action in Endometrial Cells Exposedto Hyperandrogenic and Hyperinsulinic Conditions Characteristics of Polycystic Ovary. *Reproductive Science*. 25 (7): 1000-1009 *Int J Obes (Lond)*.;40(11):1715-1722.
58. Orlóstica L, García P, Vera C, García V, Romero C, Vega M. 2018. Proinflammatory environment and role of TNF- α in endometrial function of obese women having polycystic ovarian syndrome.
59. Paschou S, Palioura E, Kothonas F, Myroforidis A, Loi V, Poulou A, Vryonidou A. 2018. The effect of anti-TNF therapy on thyroid function in patients with inflammatory bowel disease. *Endocrine Journal*.
60. Piñas Carrillo, A., & Chandraharan, E. 2019. Placenta accreta spectrum: Risk factors, diagnosis and management with special reference to the Triple P procedure. *Women's Health*, 1

61. Presicce P, Cappelletti M, Senthamaraikannan P, Ma F, Morselli M, Jackson CM, Mukherjee S, Miller LA, Pellegrini M, Jobe AH, Chougnet CA, Kallapur SG. TNF-Signaling Modulates Neutrophil-Mediated Immunity at the Feto-Maternal Interface During LPS-Induced Intrauterine Inflammation. *Front Immunol.* 2020 Apr 3;11:558
62. Quinn, FA, Reyes-Mendez, MA, Nicholson, L., Compean, LP, y Tavera, ML 2014. Función tiroidea y autoinmunidad tiroidea en mujeres mexicanas embarazadas y no embarazadas aparentemente sanas. *Química Clínica y Medicina de Laboratorio*, 52 (9).
63. Ramathal CY, Bagchi IC, Taylor RN y Bagchi MK. 2010. Endometrial decidualization: of mice and men. *Seminars in Reproductive Medicine.* 28: 17-26.
64. Rashmi Mr, Yan-Yun Liu y Gregory A. 2014. Brent Thyroid Hormone Regulation of Metabolism. *Physiological Reviews.* 94: 355–382
65. Regal JF, Lillegard KE, Bauer AJ, Elmquist BJ, Loeks-Johnson AC, Gilbert JS. 2015. Neutrophil depletion attenuates placental ischemia-induced hypertension in the rat. *PLoS One* 10: 132063
66. Riley, J.K., Nelson, D.M. 2010. Toll-like receptors in pregnancy disorders and placental dysfunction. *Clinical. Reviews In Allergy and Immunology.* 39: 185–193.
67. Rodríguez-Castelán J, Del Moral-Morales A, Piña-Medina G, Zepeda-Pérez D, Castillo-Romano M, Espíndola-Lozano M, Camacho-Arroyo I, Cuevas-Romero E. (en escritura) Hypothyroidism modifies the morphometry, vascularization and lipid storage in uterus through progesterone receptor and estrogen receptor α *Journal of molecular endocrinology.*
68. Rodríguez-Castelán J, Zepeda-Pérez D, Méndez-Tepepa M. Castillo-Romano M, Espíndola-Lozano M, Anaya-Hernández A, Berbel P, Cuevas-Romero E. 2018. Hypothyroidism modifies the uterine lipid levels in pregnant rabbits and affects the fetal size. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets.*
69. Roman I, Mocan T, Orasan MS, Jianu EM, Sfrangeu CA, Orasan RI. 2018. Relationship between etanercept and thyroid function in patients with psoriasis vulgaris. *Clujul Med.* 91(1):42-47

70. Shields B, Hil A, Bilous M, Knight B, Hattersley AT, Bilous RW y Vaidya B. 2009. Cigarette smoking during pregnancy is associated with alterations in maternal and fetal thyroid function. *The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 94: 570-574
71. Siegers, G. M. 2018. Integral Roles for Integrins in $\gamma\delta$ T Cell Function. *Frontiers in Immunology*, 9.
72. Silva J & Serakides R. 2016. Intraute trophoblast migration: A comparative View of humans and rodents. *Cell Adhesion & Migration*. 88-110.
73. Silvestre-Roig C, Fridlender ZG, Glogauer M, Scapini P. 2019 Neutrophil Diversity in Health and Disease. *Trends Immunol*. 40(7):565-583.
74. Smallridge R, Ladenson P. 2001. Hypothyroidism in pregnancy: consequences to neonatal health. *J Clin Endocrinol Metabolism*. 86(6): 2349-53.
75. Smallridge RC Glinoe D, Hollowell JG y Brent G. 2005. Thyroid. function inside and outside of pregnancy: what do we know and what don't we know? *Thyroid* 15:54–59
76. Solis J, Orozco A, García C, RoblesOsorio L, Valverde C. 2011. Bioactividad de las hormonas tiroideas. Importancia clínica de los transportadores de membrana, de las desyodasas y de los receptores nucleares. *Revista de investigación Clínica*. 63 (3) 297-308
77. Springer, T. A. 1990. Adhesion receptors of the immune system. *Nature*, 346(6283), 425–434.
78. Stoikou M, Grimolizzi F, Giaglis S, Schäfer G, Van Breda SV, Hoesli IM, Lapaire O, Huhn EA, Hasler P, Rosi SW y Han S. 2017. Gestational Diabetes Mellitus Is Associated with Altered Neutrophil Activity. *Frontiers in Immunology*. 14::702.
79. Street, ME, Grossi, E., Volta, C., Faleschini, E. y Bernasconi, S. 2008. Determinantes placentarios del crecimiento fetal: identificación de factores clave en el factor de crecimiento similar a la insulina y los sistemas de citoquinas que utilizan redes neuronales artificiales. *BMC pediatrics* , 8 , 24.
80. Sundqvist J, Andersson KL, Scarselli G, Gemzell-Danielsson K y Lalitkumar PG. 2012. Expression of adhesion, attachment and invasion markers in eutopic and ectopic

endometrium: a link to the aetiology of endometriosis. *Human Reproduction*. 27: 2737-2746.

81. van der Spek AH, Bloise FF, Tichelaar W, Dentice M, Salvatore D, van der Wel NN, Fliers E & Boelen A. 2016. The thyroid hormone inactivating enzyme type 3 deiodinase is present in bactericidal granules and the cytoplasm of human neutrophils. *Endocrinology* 157 3293–3305.
82. Van der Spek AH, Fliers E, Boelen A. Thyroid hormone metabolism in innate immune cells. *J Endocrinol*. 2017;232(2):R67-R81.
83. Vasilopoulou E, Loubière LS, Lash GE, Ohizua O, McCabe CJ, Franklyn JA, Kilby MD, y Chan SY. 2014. Triiodothyronine regulates angiogenic growth factor and cytokine secretion by isolated human decidual cells in a cell-type specific and gestational age-dependent manner. *Human Reproduction*. 29 :1161-1172.
84. Vissenberg R, Manders VD, Mastenbroek s, Fliers E, Afink C, Ris-Stalpers C, Goddijn M, Bisschop PH. 2015. Pathophysiological aspects of thyroid hormone disorders/ thyroid peroxidase autoantibodies and reproduction. *Human reproduction update*.
85. Vokalova L, van Breda SV, Ye XL, Huhn EA, Than NG, Hasler P, Lapaire O, Rossi SW y Hahn S. 2018. Excessive Neutrophil Activity in Gestational Diabetes Mellitus: Could It Contribute to the Development of Preeclampsia? *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*. 21;542.
86. Waldorff K, Persing D, Novy M, Sadowsky D, Gravett M,. 2008. Pre-treatment with Toll like receptor 4 antagonist inhibirs lipopolysaccharide-induced preterm uterine contractility, citokines, and prostaglandins in rhesus monkeys. *National Institutes of Health. Reprod Sci* 15(2): 121–127.
87. Wang J. Neutrophils in tissue injury and repair. *Cell Tissue Res*. 2018 Mar;371(3):531-539.
88. Wang X, Guan Q, Zhao J, Yang F, Yuan Z, Yin Y, Gao L. 2018. Association of maternal serum lipids at late gestation with the risk of neonatal macrosomia in women without diabetes mellitus. *Lipids in Health and Disease*, 17(1)

89. Wang Y, Fang T, Huang L, Wang H, Zhang L, Wang Z, y Cui Y. 2018. Neutrophils infiltrating pancreatic ductal adenocarcinoma indicate higher malignancy and worse prognosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 501: 313-319.
90. Woeber KA. 1971. Alterations in thyroid hormone economy during acute infection with *Diplococcus pneumoniae* in the rhesus monkey. *Journal of Clinical Investigation* 50 378–387
91. Xie, Q, Klesney-Tait J, Keck K, Parlet C, Borcharding N Kolb R, Li W, Tygrett, L, Waldschmidt, T, Olivier A, Chen S, Liu G, Zhang, W. 2015. Characterization of a novel mouse model with genetic deletion of CD177. *Protein & cell*, 6(2), 117–126.
92. Zhu, C., Gao, J., Mei, F., Lu, L., Zhou, D., & Qu, S. (2019). Reduction in Thyroid-Stimulating Hormone Correlated with Improved Inflammation Markers in Chinese Patients with Morbid Obesity Undergoing Laparoscopic Sleeve Gastrectomy. *Obesity Surgery*.

ADN Acido desoxiribonucleico
ARNm Acido ribonucleico mensajero
ATP Adenín trifosfato
CD Cluster de diferenciación
FSH hormona folículo estimulante
GA Ensayo de aglutinación de granulocitos
GIF Inmunofluorescencia de Granulocitos
hCG Hormona gonodotropina coriónica
IFN- γ Interferón Gamma
IGF-1 Factor de crecimiento parecido a la insulina
IL Interleucina
LH Hormona Luteinizante
NIS Cootransportador de yoduro sodio
NK Natural Killer
PMN Polimorfonucleares
Th Células T auxiliares
TH Hormonas Tiroideas
TNF- α factor de Necrosis Tumoral alfa
TSH tiotropina
TR receptor de hormona tiroidea
VEGF factor de crecimiento endotelial vascular