



# Universidad Autónoma de Tlaxcala

---

---

**Posgrado en Ciencias Biológicas**

**Efecto del Hipotiroidismo sobre el Contenido  
de Colesterol y Triglicéridos en el Útero  
de Conejas Gestantes**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**P r e s e n t a**

**Dafne Zepeda Pérez**

**Directora de tesis**

**Dra. Estela Cuevas Romero**

**Tlaxcala, Tlax.**

**Enero, 2019**





# Universidad Autónoma de Tlaxcala

---

---

## Posgrado en Ciencias Biológicas

### Efecto del Hipotiroidismo sobre el Contenido de Colesterol y Triglicéridos en el Útero de Conejas Gestantes

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

Dafne Zepeda Pérez

#### Comité Tutorial

Directora de tesis: Dra. Estela Cuevas Romero

Tutora: Dra. Leticia Nicolás Toledo

Tutor: Dr. Pablo Pacheco Cabrera

Tlaxcala, Tlax.

Enero, 2019



**Universidad Autónoma de Tlaxcala**  
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado  
Posgrado en Ciencias Biológicas



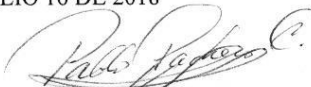
**COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA**  
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA**  
**P R E S E N T E**

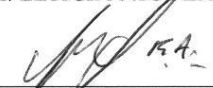
Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Proyecto de tesis que **Dafne Zepeda Pérez** realiza para la obtención del grado de Maestra en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **“Efecto del hipotiroidismo en el contenido de colesterol y triglicéridos en el útero de conejas gestantes”**.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
TLAXCALA, TLAX., JULIO 16 DE 2018

  
\_\_\_\_\_  
DRÁ. LETICIA NICOLÁS TOLEDO

  
\_\_\_\_\_  
DR. PABLO PACHECO CABRERA

  
\_\_\_\_\_  
DR. JORGE RODRÍGUEZ ANTOLÍN

  
\_\_\_\_\_  
DR. MIGUEL LARA GARCÍA

  
\_\_\_\_\_  
DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado bajo la Norma:  
ISO 9001:2015-NMX-CC-9001-IMNC-2015



## **AGRADECIMIENTOS**

Al posgrado en Ciencias Biológicas “Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta” (CTBC).

A CONACYT por la beca otorgada que me ha permitido culminar con mis estudios (número de proyecto 780774).

A mi directora de tesis la Dra. Estela Cuevas Romero por su valioso apoyo para la culminación de este proyecto.

A mi comité tutorial conformado por la Dra. Leticia Nicolas Toledo y el Dr. Pablo Pacheco Cabrera por sus aportaciones a lo largo de la maestría.

A mis compañeros del laboratorio de Endocrinología por su motivación y colaboración.

La presente tesis fue financiada por CONACyT (257549) Proyecto apoyado por el Fondo Sectorial de Investigación para la Educación)

## RESUMEN

El hipotiroidismo se ha relacionado con bajo peso al nacer, abortos, partos prematuros y muerte fetal intrauterina. Las causas de ello puede ser cambios en el metabolismo de lípidos en la madre y el feto, así como modificaciones de la placenta. El objetivo del presente estudio fue investigar posibles cambios en el contenido de lípidos en suero, útero e hígado de las madres en diferentes etapas de la gestación y su posible asociación con el desarrollo de los fetos. Se utilizaron conejas adultas de 8-12 meses de edad de la raza chinchilla (*Oryctolagus cuniculus*), las cuales fueron divididas en vírgenes y gestantes, tanto controles como hipotiroideas. En los grupos gestantes tuvimos conejas gestantes a los 5, 10 y 20 días (n=6 para cada grupo). La inducción del hipotiroidismo fue mediante la administración del fármaco metimazol durante 30 días. Cada día se registró la ingesta de alimento y agua. Todos los grupos fueron sacrificados por una sobredosis de anestesia. Para las hembras de 20 días de gestación, fueron extraído y medidos sus fetos. Se obtuvieron muestras de sangre, una porción de hígado; tejido de la porción medial del útero y para los grupos gestantes de 10 y 20 días obtuvimos muestras de útero en los sitios peri-implantes y no-implantes para cuantificar el colesterol total (CT) y los triglicéridos (TAG). La gestación aumenta la ingesta de alimento, pero esta no es afectada por el hipotiroidismo. El hipotiroidismo no afectó el número de implantes, reabsorciones fetales, peso de los fetos, diámetro abdominal y longitud corporal. Las concentraciones de TAG en suero e hígado fueron mayores en el día 20 de gestación, lo que sugiere hígado graso e hipertrigliceridemia. Por su parte, el contenido de TAG en el útero no fue afectado ni por la gestación ni por el hipotiroidismo. La gestación disminuye los niveles de CT en suero, tanto en controles como hipotiroideos, lo que sugiere una mayor esteroidogénesis. Los niveles de CT en el hígado y útero no fueron modificados. Al parecer, la coneja es un buen modelo animal para observar cambios en los lípidos circulantes y hepáticos inducidos por la gestación y el hipotiroidismo. Sin embargo, al ser un animal que puede estar gestante y lactante, se requiere de un mayor tiempo de tratamiento con metimazol para poder observar cambios las características morfométricas de los fetos, así como cambios en el contenido de los lípidos en el útero.

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>8</b>
<b>1.1 Gestación y cambios uterinos</b> .....	<b>8</b>
<b>1.1.1 Importancia de los lípidos en la gestación</b> .....	<b>10</b>
<b>1.1.2 Dislipidemias e hígado graso en la gestación</b> .....	<b>13</b>
<b>1.2 Hormonas tiroideas</b> .....	<b>15</b>
<b>1.2.1 Hormonas tiroideas, obesidad y dislipidemias</b> .....	<b>17</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	<b>20</b>
<b>2.1 Hipotiroidismo y gestación</b> .....	<b>20</b>
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>24</b>
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	<b>25</b>
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	<b>26</b>
<b>5.1 Objetivo General</b> .....	<b>26</b>
<b>5.2 Objetivos Específicos</b> .....	<b>26</b>
<b>6. METODOLOGÍA</b> .....	<b>27</b>
<b>7. RESULTADOS PRELIMINARES</b> .....	<b>30</b>
<b>8. DISCUSIÓN</b> .....	<b>41</b>
<b>9. CONCLUSIONES</b> .....	<b>44</b>
<b>10. REFERENCIAS</b> .....	<b>45</b>
<b>11. GLOSARIO</b> .....	<b>52</b>

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Gestación y cambios uterinos

El útero es el órgano de la gestación, ya que es aquí donde se anida el óvulo fecundado o huevo. Se trata de una estructura hueca situada en la cavidad pélvica por detrás de la vejiga urinaria y por delante del recto. En el humano, la porción principal recibe el nombre de cuerpo, el extremo redondeado libre se denomina fondo y la porción inferior estrecha en contacto con la vagina, cuello o cérvix. La pared uterina está constituida por tres capas: la capa externa es una membrana delgada de tejido conectivo llamada perimetrio; la capa intermedia o miometrio, formada por fibras musculares longitudinales y circulares que se entretajan, lo cual permite que el útero se estire durante el embarazo y se contraiga durante el parto y el orgasmo; y la capa interna o endometrio, formada por tejido epitelial (células epiteliales cilíndricas simples) de gran importancia en el intercambio madre-feto durante la gestación (Zhang y cols. 2013). El útero debe sufrir cambios morfológicos y fisiológicos importantes para prepararse durante la implantación del embrión (Blanks y Brosens 2012). La fecundación ocurre en el oviducto (región del ampulla), ahí mismo el cigoto<sup>1</sup> comienza su desarrollo constante por división sucesiva dando lugar a células hijas del mismo tamaño (iniciando con 2 células) esto sucede en el interior del oviducto hasta aproximadamente la etapa de mórula constituida por 16 células. Posteriormente, la mórula continúa su transporte a través del segmento ístmico generando al blastocisto<sup>2</sup> que continúa creciendo de tamaño por acumulación del líquido. Al madurar el blastocisto, este se implanta e inicia la producción de la hormona gonadotropina coriónica que pasa al torrente sanguíneo para mantener la secreción de progesterona (P4; Croxatto 2008).

El establecimiento de un embarazo exitoso requiere una compleja secuencia de eventos. Uno de ellos es la decidualización<sup>3</sup>, donde se reorganiza el endometrio para permitir la implantación del embrión y la formación de la placenta. La reprogramación del compartimiento estromal endometrial durante la decidualización implica la transformación de células estromales en células deciduales que intervienen en la coordinación de los procesos de implantación

---

<sup>1</sup> ver glosario

<sup>2</sup> ver glosario

<sup>3</sup> ver glosario



embrionaria, formación de la placenta y desarrollo del huevo. Esta diferenciación específica del tejido está regulada por la P4 y los estrógenos. La decidua mantiene una red vascular para la nutrición e intercambio de gases necesarios para el desarrollo embrionario antes de establecer la función de la placenta. Los problemas durante la decidualización son causas frecuentes de fallas en la implantación en los seres humanos y pueden contribuir a la inserción anormal de la placenta. Ello conlleva a alteraciones del embarazo como la formación de la placenta acreta, caracterizada por la invasión excesiva de trofoblasto <sup>4</sup>en la decidua (Ewa y cols. 2015). El endometrio de diversos mamíferos es una fuente de estrona, estradiol (E2) y P4, pues contiene a la 17-beta-deshidrogenasa. Esta síntesis es regulada por la hormona luteinizante (LH), hormona folículo estimulante (FSH) y prolactina desde el inicio de la gestación (Wojciechowicz y cols. 2013). La síntesis de E2 en el endometrio aumenta en los primeros días de la gestación, favoreciendo la permeabilidad vascular, la proliferación celular, la expresión de receptores de P4 y la secreción de citocinas<sup>5</sup> por parte del epitelio endometrial. Posteriormente, el aumento de la concentración de P4, tanto por el cuerpo lúteo como por la placenta, antagoniza las acciones del E2 mostrando efectos anti-proliferativos y anti-inflamatorios (Wojciechowicz y cols. 2013).

Otro aspecto importante es la organización placentaria que se caracteriza por el contacto estrecho entre los tejidos materno y fetal, se produce en humanos y roedores como la rata y el ratón. Durante este proceso, las células madre del trofoblasto pueden diferenciarse en varios linajes. Una de las actividades de las células trofoblásticas es la remodelación de las arterias espirales uterinas, ya que la reestructuración de la vasculatura materna es esencial para el suministro óptimo de nutrientes al feto (Juneo y Rogéria 2016). Las células del trofoblasto invaden la decidua y poseen una variedad de funciones, tales como la comunicación de células inmunes, la producción de hormonas y citocinas, la sustitución de las células endoteliales de las arteriolas maternas y la angiogénesis. Sin embargo, la regulación de estas características depende de señales extra e intracelulares. La migración de los trofoblastos en la interfaz materno-fetal es un proceso clave en la implantación y placentación, pues son esenciales para lograr embarazos exitosos en mujeres y roedores. La invasión trofoblástica extensa o superficial pueden causar complicaciones como preclamsia, restricción del crecimiento intrauterino, parto

---

<sup>4</sup> ver glosario

<sup>5</sup> ver glosario

premature, enfermedad trofoblástica gestacional e incluso muerte materna o fetal (Kaufmann y cols. 2003). De manera que la gestación requiere la acción espaciotemporal de diversas hormonas con acciones endocrinas y paracrinas, así como cambios metabólicos y expresión de moléculas de adhesión que permita la correcta implantación del blastocisto. También las funciones del endometrio y miometrio son reguladas por moléculas propias del metabolismo como la glucosa, el lactato y los lípidos (Stavreus 2012).

### **1.1.1 Importancia de los lípidos en la gestación**

Los lípidos pueden ser adquiridos por la dieta o por una síntesis endógena (*de novó*). Estos pueden ser acumulados en diversas células y sirven como reserva para la obtención de energía, o bien, actúan como moléculas de señalización regulando diversas funciones como la proliferación celular, apoptosis<sup>6</sup> y diferenciación. En las células, los diferentes tipos de lípidos se almacenan en forma de inclusiones o gotas de lípidos, ya que si se encuentran libres pueden generar lipotoxicidad. Si bien diferentes tipos de lípidos pueden estar almacenados en las gotas, los triglicéridos, colesterol (esterificado) y ácidos grasos libres son lo que predominan (Langhi y cols. 2014).

El colesterol es un esteroide importante en los mamíferos. Participa en diversos procesos fisiológicos, incluyendo la formación de membranas celulares y regula la transducción de señales en las células, además es necesario para las funciones celulares y es esencial para la integridad estructural de las membranas celulares. El aumento de la concentración de colesterol disminuye la fluidez de la membrana y, por lo tanto, controla o regula la permeabilidad de la membrana celular. El colesterol también es necesario para la diferenciación de las células, su proliferación e interacción con el desarrollo del embrión o feto. Es esencial para la síntesis de progesterona y estradiol. Se sabe que el nivel de colesterol total puede tener importante efecto regulador a largo plazo sobre la esteroidogénesis<sup>7</sup> en los ovarios (Vasilenko 2016). El colesterol ingresa a la célula a través de receptores de lipoproteína de baja densidad (LDLR), los cuales son endocitados y degradados dejando libre la molécula de colesterol, la cual puede esterificarse

---

<sup>6</sup> Ver glosario

<sup>7</sup> Ver glosario

y almacenarse, o bien, no esterificarse y cumplir su función biológica. El colesterol puede transformarse en hormonas esteroideas, ácidos biliares y vitamina E (Ikonen 2008).

Por otra parte, los triglicéridos son acarreados por los quilomicrones/ lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y son hidrolizados (lipólisis) y convertirlos en ácidos grasos por la lipasa de lipoproteínas periféricas (LPL), los cuales, si son de cadena corta, pueden convertirse en acetyl CoA y originar colesterol (Ikonen 2008). Los ácidos grasos pueden ser introducidos a las células a través del transportador CD-36, localizado en la membrana plasmática de las células, y esterificado o bien usado para la obtención de energía a través de la beta-oxidación<sup>8</sup>(Dallinga y cols. 2010). Algunos productos del metabolismo de los ácidos grasos como la ceramida y lipofuscina pueden metabolizarse como esfingolípidos de membrana o bien servir como señalizadores en procesos de apoptosis. Mientras que los desechos del metabolismo del colesterol u oxisteroles promueven la síntesis de enzimas del metabolismo (Nelson y cols. 2011). Los lípidos uterinos han sido implicados en distintos procesos como la decidualización, la nutrición del trofoblasto y en la teratogénesis<sup>9</sup>y en enfermedades malignas. La cantidad y el metabolismo de los lípidos uterinos responden a cambios en las concentraciones hormonales durante el ciclo, el embarazo, la lactancia y después de la ovariectomía (Beall 1972).

**Ácidos grasos y derivados.** La síntesis de ácidos grasos directamente en el endometrio promueve el aumento de los niveles de triglicéridos y colesterol durante la gestación (Mouzat y cols. 2007; Tsai y cols. 2014). Además, la obtención de energía a partir de los ácidos grasos, mediante la  $\beta$ -oxidación, es importante para el desarrollo embrionario y su inhibición deteriora al blastocisto y afecta el desarrollo del embrión. El aumento de la  $\beta$ -oxidación, mediante la suplementación con L-carnitina, mejora la competencia de desarrollo de ovocitos in vitro de folículos de crecimiento, la fertilización y el desarrollo del blastocisto (Hewitson y cols. 1996).

Los lípidos maternos son fuertes determinantes de la masa grasa fetal. Durante el embarazo temprano, el aumento en los depósitos de grasa materna se ve facilitado por la insulina, seguida de una mayor degradación del tejido adiposo y posterior hipertrigliceridemia principalmente como resultado de la resistencia a la insulina y los efectos de los estrógenos. La gran mayoría de los ácidos grasos en la circulación materna están esterificados y asociados con

---

<sup>8</sup> Ver glosario

<sup>9</sup> ver glosario

las lipoproteínas. Estos son absorbidos por la placenta e hidrolizados por lipasa. Los ácidos grasos liberados entran en varias rutas metabólicas y se liberan en la circulación fetal, los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga son esenciales para el desarrollo fetal y se obtienen de la madre. La oxidación de ácidos grasos mitocondrial se produce en el tejido fetal y en la placenta y contribuye a la producción de energía, la acumulación fetal de grasa durante las últimas semanas de gestación ocurre rápidamente y no solo se mantiene por los ácidos grasos que cruzan la placenta, sino también por la lipogénesis fetal (Herrera y Desoye, 2016). De manera que los lípidos en general controlan diversas funciones en la gestación y son muy importantes en este proceso.

Considerando que los ácidos grasos generan más ATP por gramo que los hidratos de carbono o proteínas, se requieren grandes cantidades de fosfolípidos en el estroma, hacia el día 5 de gestación en el ratón, cuando el embrión requiere implantarse (Burnum y cols. 2009). La vía metabólica de los esfingolípidos es muy activa en la decidua durante el proceso normal de la gestación. Una alteración en la activación de esta vía, debido a fallas en la expresión de esfingosina cinasa, provoca daños en los vasos sanguíneos uterinos que resultan en la pérdida de la gestación. La decidualización del estroma y el epitelio uterino también dependen del metabolismo de ácidos grasos de cadena larga e insaturados (Gao y cols. 2009).

**Colesterol y derivados.** El colesterol en el desarrollo fetal es un componente fundamental de las membranas celulares y una sustancia precursora de las hormonas esteroides (Burnum y cols. 2009). El colesterol de la circulación materna llega al feto a través de las lipoproteínas transportadoras de colesterol, como son la LDL, de alta densidad (HDL) y VLDL (Zhang y cols. 2017). La placenta tiene transportadores especiales de colesterol como son: ABCG1 (ATP Binding Cassette Subfamily G Member 1), LXR $\beta$  (liver X receptor), VLDLR (Very Low-Density Lipoprotein Receptor) y LDLR (low-density lipoprotein receptor) (Zhang y cols. 2017). Hacia el tercer trimestre, el feto sintetiza su propio colesterol, principalmente por el hígado (Zhang y cols. 2017). Además, el endometrio y el trofoblasto contienen oxisteroles que pueden ser ligandos del receptor de proliferadores de peroxisomas (PPAR), el cual participa en la vascularización de la placenta y contracción del endometrio, así como en la síntesis y secreción de leptina y hormona de crecimiento placentario humano (Mouzat y cols. 2007). Los oxisteroles, a través del receptor X del hígado (LXR) $\beta$ , disminuyen los niveles de colesterol en

el endometrio y miometrio y la expresión de proteínas lipogénicas como la proteína de unión al elemento de respuesta de esteroides (SREBP1), sintasa de ácidos grasos y esteroil CoA desaturasa (Mouzat y cols. 2007). El colesterol y sus derivados oxisteroles son capaces de unirse LXR, regulando la actividad de los receptores de oxitocina y la contracción del miometrio (Mouzat y cols. 2007).

### **1.1.2 Dislipidemias e hígado graso en la gestación**

Durante la gestación, el contenido de lípidos circulante y la acumulación de estos en los tejidos aumente. La hiperlipidemia o dislipidemia se define como una concentración excesiva de colesterol, triglicéridos, LDL y VLDL en sangre. Se ha considerado que los cambios en el metabolismo lipídico durante la gestación deben contribuir a la acumulación de reservas de grasa en el cuerpo de la hembra en la primera mitad y aumentar la movilización de estas reservas al final del embarazo. Ratas gestantes, en los 18-19 días, tienen una alta concentración de colesterol, alcanzando una elevación de los lípidos séricos en el día 21 de gestación. Esta hiperlipidemia desaparece rápidamente en ratas postparto no lactantes (Vasilenko 2016).

En años recientes, se ha cuestionado si esta hiperlipidemia es inocua o altera la función de algunas células, sobre todo cuando es excesiva. Así, la acumulación de colesterol en el útero puede generar hiperplasia endometrial y prolapso uterino (Sumathi 2016). También el aumento del colesterol uterino está relacionado con una disminución en la amplitud de las contracciones del miometrio durante el parto (Smith y cols. 2005). Además, una alta lipoperoxidación, por acción de la enzima peroxidasa puede dañar el tejido endometrial y provocar aborto espontáneo en la mujer. El colesterol, por ser el principal sustrato para la síntesis de esteroides, se ha demostrado que afecta al medio hormonal y a la esteroidogénesis en hombres y mujeres (Sumathi 2016). Un exceso de lípidos ha sido relacionado con un aumento del estrés oxidativo que afecta la función endotelial, y puede generar preclamsia en el embarazo (Santosh y cols. 2016). Los estudios de animales y humanos han demostrado una relación entre las concentraciones de triglicéridos maternos y colesterol con el peso y la composición corporal, así como con el peso de la placenta en recién nacidos (Karen y cols. 2015). Una serie de estudios, han demostrado una asociación entre los lípidos maternos, en su mayoría triglicéridos, y el peso del recién nacido en las mujeres con hiperglicemia (Karen y cols. 2015).

La hipercolesterolemia materna puede presentar riesgo significativo para el feto y la formación de acúmulos de grasas en las arterias. Por lo tanto, se supone que el transporte de colesterol aumenta a medida que es mayor la concentración en suero materno (Zhang y cols. 2017). Los perfiles de lípidos aterogénicos durante el primer trimestre del embarazo confieren un mayor riesgo de resultados adversos incluyendo la morbilidad materna, la mortalidad y el parto prematuro. Las mujeres con partos prematuros tienen un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular en el futuro. Numerosos estudios han evaluado la relación entre los perfiles de lípidos maternos durante el embarazo y el riesgo de parto prematuro. El aumento de los niveles de lípidos contribuye hacia el apoyo hormonal y nutricional de un embarazo saludable. La hiperlipidemia es también considerada como un incitador del estrés oxidativo y la inflamación que están relacionados con la incidencia de complicaciones en el embarazo y los resultados adversos del mismo, incluyendo preclamsia, parto prematuro y macrosomía<sup>10</sup> (Shuying y cols. 2016).

Existen trastornos hepáticos durante el embarazo que pueden estar relacionados con el sistema inmune afectando la salud de la madre y el feto. Estos trastornos hepáticos son preclamsia, hemólisis, enzimas hepáticas elevadas, recuento bajo de plaquetas, hígado graso agudo, hiperémesis gravídica y colestasis intrahepática del embarazo. Nos enfocaremos en aquellos que tengan relación con el metabolismo lipídico. El hígado graso agudo en el embarazo es una citopatía mitocondrial que se origina por la deficiencia de acil-coenzima A deshidrogenasa de cadena larga y, por lo tanto, de una  $\beta$ -oxidación anormal de ácidos grasos. Se caracteriza por infiltración de grasa microvesicular de hepatocitos durante la segunda mitad del embarazo. Los síntomas son anorexia, vómitos, náuseas e ictericia. La deficiente oxidación de los ácidos grasos puede conducir a una grave infiltración de grasa en los órganos fetales (Bremer y cols. 2016).

La colestasis intrahepática del embarazo es una complicación causada por un trastorno de la función hepática que ocurre durante el embarazo, generalmente durante el tercer trimestre, o al final del segundo trimestre, lo que indica que las hormonas esteroides pueden desempeñar un papel en su aparición. Se caracteriza por la presencia de prurito y valores anormales de ácidos

---

<sup>10</sup> ver glosario

biliares y hepáticos transaminasas, que tiene efectos indeseables en el feto. Cambios en sus niveles inducidos por una combinación de factores externos (endotoxinas y deficiencias de selenio) y la predisposición genética puede ayudar a explicar el desarrollo de colestasis intrahepática del embarazo (Parizek y cols. 2015). Por otro lado, la deficiencia de hormonas tiroideas también puede conducir al desarrollo de dislipidemias.

## 1.2 Hormonas tiroideas

Las hormonas tiroideas, triyodotironina (T3) y tetrayodotironina (T4), participan en diversos procesos fisiológicos como termorregulación,<sup>11</sup> reproducción, desarrollo de tejidos y órganos, metabolismo, consumo de oxígeno, crecimiento, diferenciación y proliferación<sup>12</sup> celular. Son secretadas por la glándula tiroides, la cual se encuentra situada en la parte media del cuello y está compuesta por dos lóbulos (derecho e izquierdo) unidos por un istmo transversal. Esta glándula se compone de tirocitos, formados por una sola capa de células foliculares que rodean material proteico de tipo coloide. La síntesis de hormonas tiroideas se da en las células foliculares, requiriéndose de moléculas de tirosina yodadas a través de la enzima tiroperoxidasa (TPO) conformándose así la molécula de tiroglobulina que funciona como reservorio de monoyodotirosinas y diyodotirosinas. Aproximadamente el 94% de las hormonas tiroideas son secretadas por la glándula tiroides como T4 y el 6% como T3. El nivel de hormonas tiroideas es controlado por una retroalimentación negativa del hipotálamo y la hipófisis. El hipotálamo secreta la hormona liberadora de tirotropina (TRH) que estimula a la adenohipófisis para la secreción de tirotropina (TSH), que a su vez estimula a la glándula tiroides para que secreten las hormonas tiroideas. Una vez liberadas, las hormonas tiroideas son transportadas a través de la sangre, unidas a proteínas plasmáticas como la albúmina, alfa globulina y la transtirrenina (Brent 2012; Pascual y Aranda 2013).

Las acciones de las hormonas tiroideas son posibles gracias a la activación de receptores nucleares específicos que las unen (TRs). Los TRs se encuentran distribuidos en diversos tejidos y son de dos tipos TR $\alpha$  y TR $\beta$ , codificadas por los genes TR $\alpha$  (NR1a1) y TR $\beta$  (NR1A2). Cada receptor cuenta con diversas isoformas, respectivamente ( $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\beta$ 1,  $\beta$ 2 y  $\beta$ 3).

---

<sup>11</sup> Ver glosario

<sup>12</sup> Ver glosario

Cada isoforma tiene acciones específicas. Por ejemplo, el TR $\alpha$  desempeña un papel clave en el desarrollo posnatal, en el tejido adiposo y el metabolismo cardíaco; mientras que el TR $\beta$  regula el metabolismo hepático. Además de los receptores nucleares, las hormonas tiroideas tienen receptores membranales y mitocondriales (Coria y cols. 2012).

El metabolismo de las hormonas tiroideas se lleva a cabo por medio de las desyodasas, enzimas que eliminan iones yodo de las moléculas de T3 y T4. Así, las desyodasas tipo I y II (D1 y D2) que eliminan un ion yoduro de la posición 5' del anillo fenólico de la molécula T4 para formar T3, o bien para formar T3 reversa, y la desyodasa tipo III (D3) que cataliza un ion yoduro de la posición 3 del anillo tirosil generando diyodotirosina a partir de T3 (Burnum y cols. 2009). Las hormonas tiroideas ejercen sus efectos a través de dos vías; genómicas (nucleares) y no genómicas (citoplasmáticas o del receptor de la membrana TR). Los mecanismos genómicos están mediados en su mayoría por T3 a través de receptores nucleares. Los efectos no genómicos son iniciados por hormonas tiroideas que se unen al receptor de integrina ( $\alpha$ V $\beta$ 3), lo que conduce a la activación de diferentes vías de señalización, incluida la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK), fosfoinositida 3-quinasa (PI3K), transductores de señal y activadores de las vías de transcripción (STAT). Estas cascadas dan lugar a eventos celulares distintos, como división celular, proliferación y angiogénesis (Goemann y cols. 2017).

Las concentraciones de las hormonas tiroideas pueden alterarse por diversos factores como sexo, edad, diversas enfermedades, ingesta de yodo, estrés, fármacos, etc. El aumento en las concentraciones de T3 y T4 conlleva a hipertiroidismo; mientras que la insuficiencia en la secreción de estas genera hipotiroidismo. Sin embargo, el hipotiroidismo es el que tiene mayor impacto en la salud, al tener una prevalencia mayor y ser más frecuente en mujeres. Lo anterior está asociado a la presencia de anticuerpos anti-tiroideos, principalmente anti-peroxidasa o anti-tiroglobulina (Pascual y Aranda 2013).

El hipotiroidismo es un trastorno que se caracteriza por la disminución de la concentración de hormonas tiroideas y concentraciones elevadas de TSH. Esta disfunción tiroidea se produce por la aparición de anticuerpos anti-TSH, el déficit en la ingesta de yodo, compuestos químicos como algunos herbicidas, radiaciones y fármacos (Gharib y cols. 2005). El hipotiroidismo se considera un trastorno metabólico común en la población general, es más



común en las mujeres y su prevalencia aumenta con la edad (Gharib y cols. 2005), la cual oscila de 18 en 1000 mujeres (en comparación con 1 en 1000 hombres) por hipotiroidismo manifiesto y 75 en 1000 mujeres (en comparación con 28 en 1000 en hombres) por hipotiroidismo subclínico. La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT III) informó que aproximadamente 1 de cada 300 personas en los Estados Unidos, tienen hipotiroidismo y la prevalencia de la enfermedad es más alta en los blancos que en los afroamericanos y los hispanos (5.1% vs. 1.7% y 4.1%, respectivamente; Mahboubeh y Asghar, 2017).

### **1.2.1 Hormonas tiroideas, obesidad y dislipidemias**

Una acumulación excesiva de lípidos puede dar lugar a diversas patologías, por ejemplo, la obesidad que se asocia con un patrón metabólico que incluye resistencia a la insulina, dislipidemias e inflamación de bajo grado. La obesidad se ha convertido en un importante problema de salud mundial. La incidencia de obesidad aumenta continuamente y, por lo tanto, también se espera que aumente la morbilidad, la mortalidad y los costos médicos y económicos asociados. La obesidad aumenta el riesgo cardiovascular a través de factores de riesgo como el aumento de los triglicéridos en ayunas, aumento de LDL, disminución de HDL, niveles elevados de glucosa y presión arterial alta. Los factores de riesgo metabólicos dependientes de lípidos asociados a la obesidad son la presencia del fenotipo LDL, hiperlipidemia postprandial con acumulación de restos aterogénicos y sobreproducción hepática de lipoproteínas que contienen apoB. Estas anomalías lipídicas son del síndrome metabólico y pueden estar asociadas a un gradiente proinflamatorio que puede originarse en el tejido adiposo y afectar directamente al endotelio. Un vínculo importante entre la obesidad, el síndrome metabólico y las dislipidemias podría ser el desarrollo de resistencia a la insulina en tejidos periféricos que conducen a un flujo hepático mejorado de ácidos grasos de fuentes dietéticas, lipólisis intravascular y tejido adiposo resistente a los efectos anti-lipolíticos de la insulina (Klop y cols. 2013).

Las acciones de las hormonas tiroideas sobre la síntesis y metabolismo de ácidos grasos son diversas, por ejemplo: 1) la síntesis de ácidos grasos (Blennemann y cols. 2011); 2) la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos, debido a la regulación de enzimas como la acilCoA hidrogenasa y la acilCoA tioesterasa (Krasuse y cols. 2015); 3) la síntesis de colesterol regulando la expresión

de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) y la colesterol 7-alfa-hidroxilasa (CYP4A1) que convierte el colesterol en sales biliares (Rizos y cols. 2011); 4) la síntesis de ceramidas al regular la actividad de la enzima esfingomielina fosfodiesterasa (Babenko 2005); 5) el metabolismo de las lipoproteínas de alta densidad HDL (Rizos y cols. 2011; Sumathi 2016) LDL de la oxidación (Faure y cols. 2004; Sumathi 2016) y VLDL (Rensen y cols. 2005; Rizos y cols. 2011), aumentando a la proteína de transferencia de esteres de colesterol y regulando las enzimas que las degradan como lipoproteinlipasa y a la lipasa hepática; 6) el ingreso de colesterol a las células regulando el gen de LDL-R (Rizos y cols. 2011; Lin y cols. 2012). La administración de T3 reduce el contenido de ácidos grasos libres y triglicéridos (Lombardi y cols. 2012). Algunos receptores nucleares que unen lípidos también son regulados por las hormonas tiroideas, por ejemplo, el LXR  $\alpha$  que une oxiesteroles (Kawai y cols. 2004). Un aumento de los niveles de hormona tiroidea estimula la movilización de grasa del tejido adiposo, lo que conduce a concentraciones elevadas de ácidos grasos libres en el plasma. También mejoran la oxidación de ácidos grasos en muchos tejidos y afectan el metabolismo del colesterol (Lin y cols. 2012).

En pacientes con hipotiroidismo, los niveles de colesterol total y LDL se encuentran aumentados. El hipotiroidismo está relacionado con alteraciones del metabolismo de lípidos. Esto incluye elevaciones en LDL, así como niveles reducidos de HDL que tienden a normalizarse después de la suplementación con tiroxina. Estos cambios se deben a importantes efectos de la hormona tiroidea en varias enzimas clave del metabolismo lipídico y dan como resultado un riesgo significativamente mayor de enfermedades cardiovasculares en pacientes con hipotiroidismo (Lombardi y cols. 2012). Las hormonas tiroideas estimulan el gasto de energía promoviendo el desacoplamiento mitocondrial e induciendo la termogénesis en humanos. Además, estudios en modelos animales demuestran que T3 actúan directamente sobre la absorción libre de ácidos grasos y la oxidación en el miocardio, la disminución de las tasas de metabolismo de la energía de todo el cuerpo en el estado hipotiroideo da como resultado una reducción de la oxidación de los lípidos. El desarrollo de estas dislipidemias está relacionado con la disminución de la actividad de la lipoproteína lipasa, una acumulación de quilomicrones (Tsimihodimos y cols. 1999), así como con resistencia a la insulina. Estas dislipidemias también han sido observadas en conejos con hipotiroidismo inducido (Rodríguez-Castelán y cols.

2017a). Además, el hipotiroidismo favorece la acumulación de triglicéridos en el tejido adiposo, hígado y páncreas (Gagnon y cols. 2010; Rodríguez-Castelán y cols. 2015; Rodríguez-Castelán y cols. 2017b; Rodríguez-Castelán y cols. 2017c). El contenido de ácidos grasos de cadena larga es menor en el hígado de ratas hipotiroideas (Blennemann y cols. 2011); mientras que, el contenido de ceramida se encuentra aumentado (Babenko 2005). El hipotiroidismo reduce la secreción de bilis en ratas (Zha y cols. 2015). En conejos, el hipotiroidismo reduce la expresión del receptor de farnesoides (FXR $\alpha$ ), que une oxisteroles y sales biliares, en el hígado (Rodríguez-Castelán y cols. 2017b). El aumento de triglicéridos, colesterol total y LDL por el hipotiroidismo se asocia con la influencia que tienen las hormonas tiroideas sobre las enzimas acil-coA hidrogenasa y acil-coA tioesterasa (Krause y cols. 2015).

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 Hipotiroidismo y gestación**

Las hormonas tiroideas son esenciales para el metabolismo, el desarrollo y crecimiento normal de los órganos fetales, participan en el desarrollo del cerebro del feto en la fase embrionaria temprana. Por lo tanto, la disfunción tiroidea durante el embarazo puede tener resultados maternos y fetales adversos significativos. Esto se debe a que el feto depende de las hormonas tiroideas maternas durante el período crucial del desarrollo cerebral. La glándula tiroidea fetal comienza a producir T3 y T4 aproximadamente a las 10 semanas de gestación. Sin embargo, hasta aproximadamente las 20 semanas de gestación, la tiroidea fetal todavía no está completamente activa y, por ende, el feto es dependiente del suministro materno de tiroxina (Tingi y cols. 2016). La deficiencia de hormonas tiroideas al nacer se considera como hipotiroidismo congénito, y se clasifica en dos categorías: permanente y transitorio. El hipotiroidismo congénito permanente es en un 85% debido a anomalías relacionadas con el desarrollo de la glándula tiroidea, y en un 10-15% a trastornos en la síntesis, el metabolismo o el transporte de hormonas tiroideas. Mientras que el hipotiroidismo congénito transitorio, se atribuye a trastornos tiroideos maternos, siendo la causa más frecuente la deficiencia de yodo (Teng y cols. 2013). El yodo es un componente esencial de las hormonas tiroideas y los requerimientos aumentan en el embarazo. La deficiencia severa de yodo materna puede tener implicaciones adversas para la madre, como hipotiroidismo y bocio. Mientras que, para el feto, aborto espontáneo y el nacimiento de un bebé muerto; para el neonato, la mortalidad neonatal; y para el niño, desarrollo neurológico deteriorado y cretinismo (Tingi y cols. 2016). En la actualidad se recomienda una ingesta diaria de 200 µg de yodo, aunque ciertas poblaciones no logran alcanzar este valor.

La prevalencia de hipotiroidismo en el embarazo oscila entre el 2 y 5% para el hipotiroidismo clínico y el 3-5% para el subclínico. Para el diagnóstico de hipotiroidismo durante el embarazo, los niveles séricos de TSH, tiroxina libre (TL4), tiroxina total (TT4) y TPO-Ab se deben medir al principio del embarazo. El aumento de los niveles de TSH con la disminución de TL4/TT4 o TSH > 10.0 mUI /L, independientemente de TL4, indican un

hipotiroidismo manifiesto. Se pueden utilizar los siguientes rangos de referencia para cada trimestre: primer trimestre, 0.1-2.5 mUI/L, segundo trimestre, 0.2-3.0 mUI/L, y tercer trimestre, 0.3-3.0 mUI/L. Las mujeres con hipotiroidismo subclínico son tratadas con levotiroxina, para mantener los niveles séricos de TSH. Las pruebas de la función tiroidea deben medirse cada 4-6 semanas (Mahboubeth y Asghar, 2017).

La glándula tiroidea materna experimenta cambios durante el embarazo, pues se agranda un 10%. En el embarazo temprano, los niveles altos de estrógeno estimulan la síntesis de globulina fijadora de tiroxina hepática (TBG) y esta aumenta 2-3 veces, lo que desencadena altas concentraciones de T4 y T3. La secreción de gonadotropina coriónica humana de la placenta que tiene actividad tirotrópica, que es otro mecanismo para la producción adicional de hormonas tiroideas. Además, una mayor transferencia de tiroxina de madre a feto y un aumento de la ruptura intraplacentar de T3 y T4 (resultante de la expresión placentaria de desyodasa 3). La prevalencia de hipertiroidismo durante el embarazo es de aproximadamente 1 en 1000. Dado que la tirotoxicosis puede causar insuficiencia cardíaca en las madres y bajo peso al nacer en los bebés, el tratamiento debe iniciarse para prevenir parto prematuro.

La enfermedad tiroidea posparto se desarrolla entre el 5 y 9 % de las pacientes y se encuentra asociada con la presencia de autoinmunidad tiroidea positiva, especialmente en el primer trimestre de la gestación, adquiriendo relevancia en este periodo la positividad del anticuerpo antiperoxidasa (ATPO). El 50% de las pacientes con T4L y TSH normales durante el embarazo, pero con ATPO positivo durante el primer trimestre, desarrolla enfermedad tiroidea posparto, mientras que el otro 50% permanece eutiroidea, aunque persista el ATPO.

El metimazol, el carbimazol y el propiltiouracilo son los fármacos anti-tiroideos más utilizados para tratar el hipertiroidismo, el uso de estos para inducir el desarrollo de hipotiroidismo; y en animales es un modelo aceptable (Mahboubeth y Asghar, 2017). El endometrio cuenta con D2, la presencia de esta enzima aumenta al inicio de la gestación para suplir la cantidad de T3 requerida por el tejido uterino. Una disminución local de T3 es crítica para la decidualización de las células del estroma durante la gestación temprana. En el ratón, la expresión de esta enzima es alta en los días 3 y 4 del embarazo. Una vez que el embrión se implanta en el útero receptivo. La D3 aumenta de forma significativa en las células estromales

y se acompaña de hipermetilación<sup>13</sup> de ADN. La concentración de T3 libre uterina se reduce después de la implantación del embrión. T3 induce la expresión de D3, tanto in vivo como in vitro, lo que sugiere el bucle de retroalimentación positiva. Además, la T3 es crítica para la decidualización de células estromales durante el embarazo temprano (Kong y cols. 2015).

El endometrio y el miometrio de mujeres y conejas expresan TRs (TR $\alpha$ 1, TR $\alpha$ 2 y TR $\beta$ 1), así como receptores de TSH (Aghajanova y cols. 2011; Rodríguez-Castelán y cols. 2017). Además, el endometrio cuenta con D2 y D3 que participan en la conversión de T4 a T3 o la degradación de T3 (Deng y cols. 2014). Lo anterior sugiere que las acciones de las hormonas tiroideas podrían ser relevantes para la función uterina. La expresión de THR $\alpha$ 1, THR $\beta$ 1 y THR $\alpha$ 2 aumenta con la edad gestacional. La expresión nuclear de THR $\alpha$ 1, THR $\beta$ 1 y THR $\alpha$ 2 está regulada por una disminución en el nivel de proteína y de abortos involuntarios recurrentes en el tejido del trofoblasto vellosos, la mayoría de las células que expresan los receptores de la hormona tiroidea en la decidua son las células del estroma (Kong y cols. 2015).

La disfunción tiroidea gestacional es una enfermedad común y tienen diversos efectos sobre la capacidad reproductiva femenina. Tanto el hipotiroidismo como el hipertiroidismo pueden conducir a una variedad de problemas reproductivos, causando trastornos menstruales, principalmente hipomenorrea<sup>14</sup> y polimenorrea<sup>15</sup> en el hipertiroidismo, y oligomenorrea<sup>16</sup> en el hipotiroidismo (Kong y cols. 2015). El hipotiroidismo también se ha asociado con infertilidad femenina secundaria que incluye la pérdida del embarazo. Otra consecuencia del hipotiroidismo es el parto prematuro (Laurberg y cols. 2013). La deficiencia de hormonas tiroideas maternas se ha asociado con pérdidas tempranas del embarazo (Laurberg y cols. 2013; Martina y cols. 2014). En modelos animales, el hipotiroidismo modifica la concentración de los receptores de estrógenos en el útero (Keeping y cols. 1982), afecta la decidualización e implantación del embrión (Kennedy y Doktorcik 1988), disminuye la talla de los fetos (Rodríguez-Castelán y cols. en proceso), y altera el desarrollo de los vasos sanguíneos, células inmunes y la apoptosis de las células de la placenta (Silva y cols. 2012). El hipotiroidismo también afecta el número y

---

<sup>13</sup> ver glosario

<sup>14</sup> ver glosario

<sup>15</sup> ver glosario

<sup>16</sup> ver glosario

la fuerza de las contracciones uterinas en perras (Panciera y cols. 2007). En humanos, las hormonas tiroideas se unen a TBG, por su alta afinidad; solo el 0.03% de T4 está en forma libre. En ratas, TBG se reemplaza con albúmina. Esto también es cierto para otras especies, incluidos gatos, conejos y ratones. Sin embargo, la regulación y la función de las hormonas tiroideas durante el embarazo temprano son en gran parte desconocidas (Kong y cols. 2015).

Aunque se desconocen los mecanismos del efecto del hipotiroidismo sobre el útero, una de las posibilidades es que dicha disfunción tiroidea pudiera afectar el contenido de lípidos presentes en este órgano, que como ya describimos anteriormente traería consecuencias en el crecimiento fetal. Recientemente mostramos como el hipotiroidismo por 50 días recude el contenido de colesterol y triglicéridos en el útero (Rodríguez-Castelán y cols. en prensa), lo cual se relaciona con un aumento en la expresión de la enzima 3-hidroxiesteroide deshidrogenasa, que regula la esteroidogénesis, y una menor talla fetal. En el presente estudio pretendemos determinar el periodo del embarazo en el contenido de lípidos en el útero es afectado.

### 3. JUSTIFICACIÓN

En mujeres y en modelos animales, el hipotiroidismo está relacionado con partos prematuros, pérdida del embarazo y una menor talla de las crías (Laurberg y cols. 2013; Martina y cols. 2014; Rodríguez-Castelán y cols. en prensa). Se desconocen los mecanismos implicados que conllevan a que el hipotiroidismo produzca estos efectos en el embarazo. Considerando que a) las células epiteliales y musculares del útero son capaces de almacenar lípidos (colesterol, triglicéridos, ácidos grasos libres, oxisteroles y fosfolípidos; Murray y cols. 1996), b) el hipotiroidismo induce un aumento en el contenido de lípidos en suero y en diversos tejidos metabólicos (Rodríguez-Castelán y cols. 2015, Rodríguez-Castelán y cols. 2017a, Rodríguez-Castelán y cols. 2017b) y c) el tratamiento de 50 días con metimazol disminuye el contenido de colesterol y triglicéridos en el útero, lo que podría tener relación con que aumente el porcentaje de fetos con menor talla torácica (Rodríguez-Castelán y cols. en prensa), en el presente estudio pretendemos determinar la influencia del hipotiroidismo en los lípidos durante cada etapa del embarazo. Para ello utilizaremos a la coneja como modelo de estudio, ya que las etapas del embarazo son similares a lo que ocurre en los humanos.



## **4. HIPÓTESIS**

El hipotiroidismo modifica el contenido de colesterol y triglicéridos en suero, hígado y útero de conejas gestantes, lo cual se relaciona con cambios metabólicos maternos y fetales.

### **Predicciones**

1. En conejas gestantes de 5, 10 y 20 días, el hipotiroidismo disminuye el peso, consumo de alimento y agua.
2. En conejas de 10 y/o 20 días de gestación, el hipotiroidismo disminuye la talla abdominal de los fetos, sin afectar el peso, longitud corporal de los fetos, y número de implantes y reabsorciones.
3. En conejas gestantes de 5, 10 y 20 días, el hipotiroidismo aumenta gradualmente el contenido de colesterol en el suero y en hígado, disminuyéndolo en el útero.
4. En conejas gestantes de 5, 10 y 20 días, el hipotiroidismo aumenta el contenido de triglicéridos en el suero e hígado, disminuyéndolo en el útero.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo General**

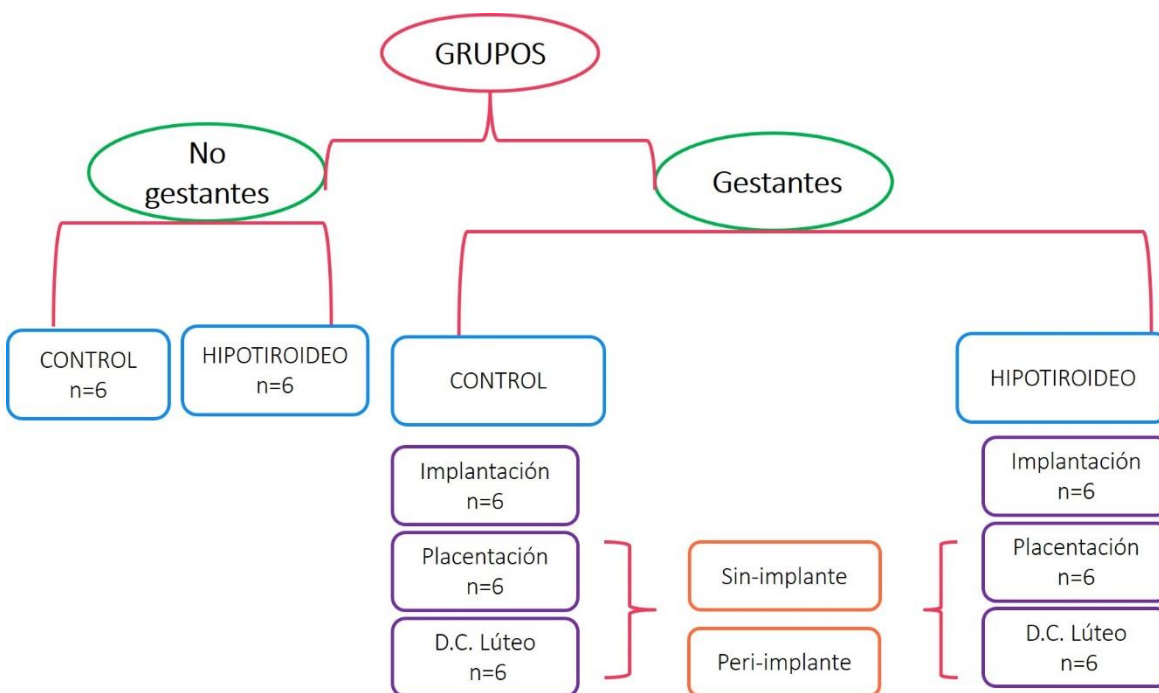
Determinar si el hipotiroidismo modifica el contenido de colesterol y triglicéridos en suero, hígado y útero de conejas gestantes y su relación con parámetros metabólicos maternos y fetales.

### **5.2 Objetivos Específicos**

1. Determinar la ingesta de alimento y agua de las conejas no gestantes y gestantes controles e hipotiroideas.
2. Cuantificar la ganancia de peso de las conejas no gestantes y gestantes controles e hipotiroideas.
3. Evaluar el número de implantes, reabsorciones, peso de los fetos, diámetro abdominal y longitud corporal de los fetos controles e hipotiroideos en los días 10 y/o 20 de la gestación.
4. Cuantificar el contenido de triglicéridos y colesterol en suero, útero e hígado de conejas gestantes controles e hipotiroideas.

## 6. METODOLOGÍA

**Animales.** Se utilizaron conejas adultas no gestantes y gestantes (días 5, 10 y 20) de 8-12 meses de edad de la raza chinchilla (*Oryctolagus cuniculus*), mantenidas bajo condiciones estándar (16 h/8 h de luz y oscuridad a  $22 \pm 2$  °C) en el bioterio del Centro Tlaxcala Biología de la Conducta (Universidad Autónoma de Tlaxcala). Los animales se alojaron en jaulas individuales de acero inoxidable (50 x 60 x 40 cm), y fueron alimentadas con alimento Purina (120 g diarios antes de la gestación y 300 g durante la gestación) y agua ad libitum. Se formaron grupos de animales no gestantes y gestantes, tanto controles como hipotiroideas (Figura 1).



**Figura 1.** Representación de los grupos con los que se llevara a cabo el experimento.

**Inducción de hipotiroidismo.** La inducción de hipotiroidismo se hizo mediante el fármaco antitiroideo metimazol (Sigma), que se les administró en el agua a una concentración de 0.02% durante treinta días.

**Registro de alimento, peso y agua.** Se tuvo control desde que inicio el tratamiento, anotando en una bitácora la cantidad de alimento y agua sobrante y se le resto al total de lo que fue administrado. El registro del peso se hizo semanalmente hasta finalizar el tratamiento.

**Número de implantes, reabsorciones y parámetros corporales de los fetos.** El número de implantes y reabsorciones se pudo medir en los animales en los días 10 y 20 de gestación. Mientras que los parámetros de los fetos se hicieron únicamente en las hembras a los 20 días de gestación.

**Cuantificación de triglicéridos y colesterol por método enzimático.** En las fechas de gestación ya mencionadas, los animales fueron sacrificados por sobredosis de anestésico. Se obtuvo sangre mediante punción cardíaca. Se separó el suero y se guardó a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. Se extrajo una porción medial de los úteros, peri-implante y no implante, así como una porción de hígado que fueron almacenados a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. De las porciones de tejidos, 100 mg de tejido fueron machacados en una solución de cloroformo-metanol (2:1; método de Folch). Posteriormente, al machacado se le agregó NaCl al 0.7% para separar las fases. El machacado se centrifugó durante 15 min a  $4^{\circ}\text{C}$ . La fase superior fue desechada y la fase inferior separada y se dejó evaporar durante una noche. El tubo que tenía la grasa fue pesado antes y después de que se evaporara y la diferencia entre pesos fue el contenido de grasa total. La grasa total obtenida fue reconstituida en una solución de tritón al 10% en isopropanol obteniéndose la muestra de lípidos. Los triglicéridos y el colesterol fueron medidos a través de un método colorimétrico enzimático mediante el kit de ELITech Clinical Systems (TGML-0425). Lo mismo se hizo en hígado esto para tener una referencia de cómo es el contenido de colesterol y triglicéridos en otro órgano.

**Presencia de triglicéridos mediante tinción rojo oleoso.** Una porción de úteros izquierdos de 6 animales por grupo se fijó en paraformaldehído al 4% durante 24 h, posteriormente fueron colocados en una solución de sacarosa, al 10, 20 y 30 % y fueron cortados a  $5\mu\text{m}$  en un criostato y colocados en laminillas hasta su uso. Las laminillas cortadas se

colocaron en alcohol isopropílico y, posteriormente, en la solución de rojo oleoso. Se contrastaron con rojo los núcleos y se montaron en glicerina. Posteriormente se tomaron fotografías a 100x.

**Análisis estadístico.** Las variables evaluadas de las conejas controles e hipotiroideas y sus fetos fueron comparadas mediante ANOVA de 2 vías o t de Student. Se usaron los programas de análisis estadístico GbStat y GraphPad Prism. El mismo análisis se hizo para el consumo de agua, alimento y aumento de peso.

## 7. RESULTADOS

**Consumo de alimento, ganancia de peso y toma de agua.** Para los animales no gestantes, el consumo de alimento para el grupo control fue superior al grupo hipotiroideo desde el inicio hasta el final del tratamiento mostrando diferencias significativas en la primera, segunda y cuarta semana (Figura 2a); sin embargo, no se observaron diferencias en el peso (Figura 2b). El consumo de agua en las primeras 2 semanas fue similar entre tratamientos, pero disminuyó en las siguientes tres semanas para el grupo hipotiroideo, aunque no alcanzó diferencias significativas (Figura 2c).

Para el grupo de animales controles e hipotiroideos sacrificados en día 5 de gestación (implantación), se observó que éstos mantuvieron su ingesta de alimento durante toda la gestación, excepto en la última semana donde aumentaron su ingesta (Figura 3a). Esta mayor ingesta de alimento antes mencionada no modificó el peso corporal de las hembras (Figura 3b). La ingesta de agua fue constante a lo largo de la gestación, tanto para las hembras controles como hipotiroideas. Sin embargo, las hembras hipotiroideas mantuvieron una menor ingesta de agua que las hembras controles, mostrando diferencias significativas en 2 semanas, la semana 3 y la semana 5 (Figura 3c).

Para el grupo de animales sacrificados en el día 10 de gestación (placentación), se observó que el consumo de alimento incremento ligeramente hacia el día 5 de gestación y más aún en el día 10, alcanzando diferencia significativa entre grupos (controles e hipotiroideos (Figura 4a). Esta mayor ingesta no modificó el peso corporal de los animales en ambos grupos (Figura 4b). En los animales controles, la ingesta de agua no se modificó con el embarazo. Sin embargo, la ingesta de agua en el grupo hipotiroideo siguió una dirección opuesta a la ingesta de alimento, siendo menor en los días 5 y 10 de gestación (Figura 4 c).

Para el grupo de animales sacrificados en el día 20 de gestación (degeneración del cuerpo lúteo), no se observaron cambios en la ingesta de alimento, tanto en los animales controles como hipotiroideos (Figura 5a). Esto mismo ocurrió para el peso corporal (Figura 5 b) y la ingesta de agua (Figura 5c).

**Número de implantes, reabsorciones y parámetros de los fetos.** Para el grupo de animales sacrificados en el día 10 de gestación, la porción del útero del lado derecho del grupo control mostró que el número de implantes y fetos es mayor que en el grupo hipotiroideo. Lo mismo ocurrió en la porción del lado izquierdo; las reabsorciones no fueron evidentes, por lo que no encontramos diferencias significativas en ningún parámetro (Tabla 1).

En los animales sacrificados en el día 20 de gestación la porción del útero del lado derecho mostró que el total de implantes y fetos viables es mayor en el grupo hipotiroideo comparado con el grupo control, mientras que las reabsorciones son evidentes en el grupo hipotiroideo, pero no encontramos diferencias significativas. En los parámetros de los fetos, el diámetro abdominal de los fetos es similar entre grupos (Tabla 2). En la porción del útero del lado izquierdo, el total de implantes, fetos viables, reabsorciones, peso de los fetos, diámetro abdominal y longitud corporal fue mayor en el grupo hipotiroideo, sin encontrar diferencias significativas (Tabla 2). En la suma de ambos lados observamos que grupo hipotiroideo tiene mayor número de reabsorciones (Tabla 2).

**Triglicéridos en suero y útero.** En suero, la concentración de triglicéridos, tanto en el grupo control como en el hipotiroideo, tiende a aumentar en el segundo tercio de la gestación (degeneración del cuerpo lúteo; Figura 6a). Como patrón, se utilizó al hígado, donde las concentraciones de triglicéridos aumentan para ambos grupos control e hipotiroideo (Figura 6b). Para el útero de conejas no gestantes el hipotiroidismo disminuyó la concentración de triglicéridos (Figura 6c). En el tratamiento de 5 días no encontramos diferencias (Figura 6d), tampoco a los 10 y 20 días en los sitios sin-implante y peri-implante (Figuras 6e-h)

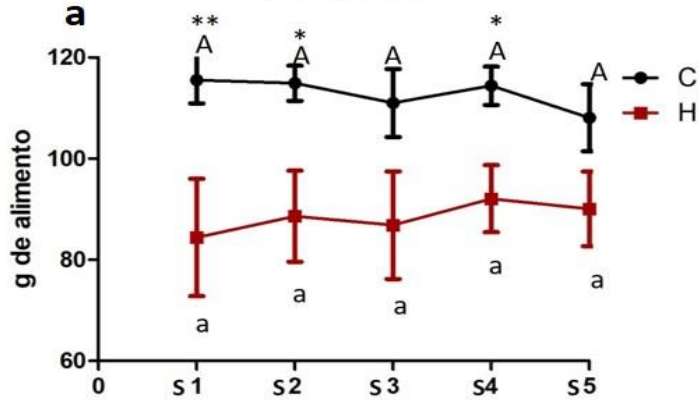
**Triglicéridos con rojo oleoso.** La acumulación de gotas de triglicéridos (Figuras 7a-c) fue proporcional en todas las etapas de la gestación, tanto hipotiroideos como control; razón por la cual, solo se muestran figuras del grupo control.

**Colesterol en suero y en útero.** En suero, el efecto de la gestación sobre el contenido de colesterol tanto para el grupo control como hipotiroideo disminuye hasta los 20 días de gestación, encontrando la diferencia significativa los animales no gestantes, donde el contenido de colesterol es superior en el grupo experimental (Figura 8a). En hígado, el contenido de colesterol se mantiene constante para ambos grupos, sin embargo, encontramos que en el día 20

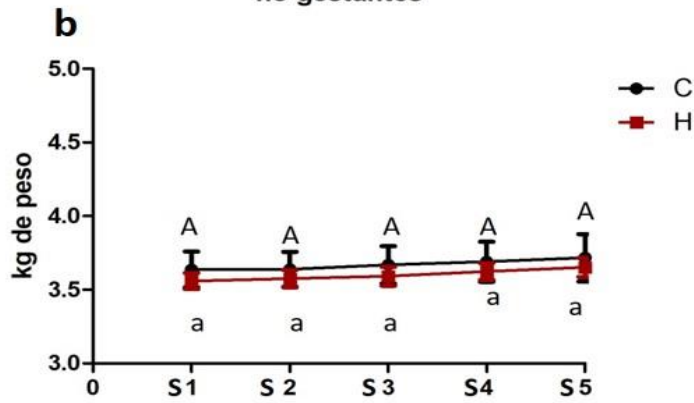
de gestación esta disminuye con el hipotiroidismo (Figura 8b). Por otro lado, en el útero no gestante el hipotiroidismo disminuye las concentraciones de colesterol (Figura 8c), mientras que a los 5 días de gestación aumenta (Figura 8d). En las porciones del útero sin-implante y peri-implante a los 10 y 20 días de gestación no encontramos diferencias (Figuras 8e-h).



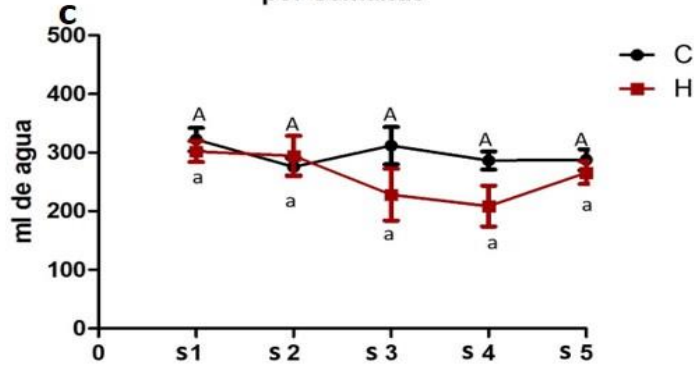
Consumo de alimento de las conejas no gestantes por semanas



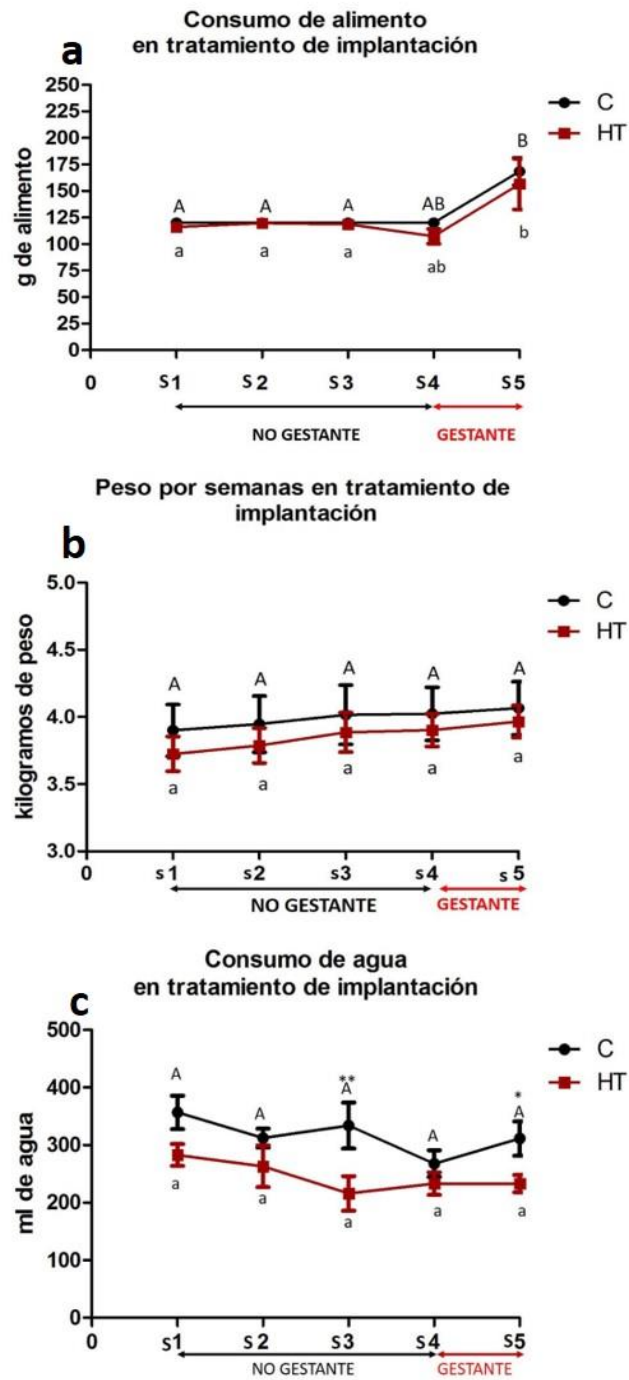
Peso por semanas de conejas no gestantes



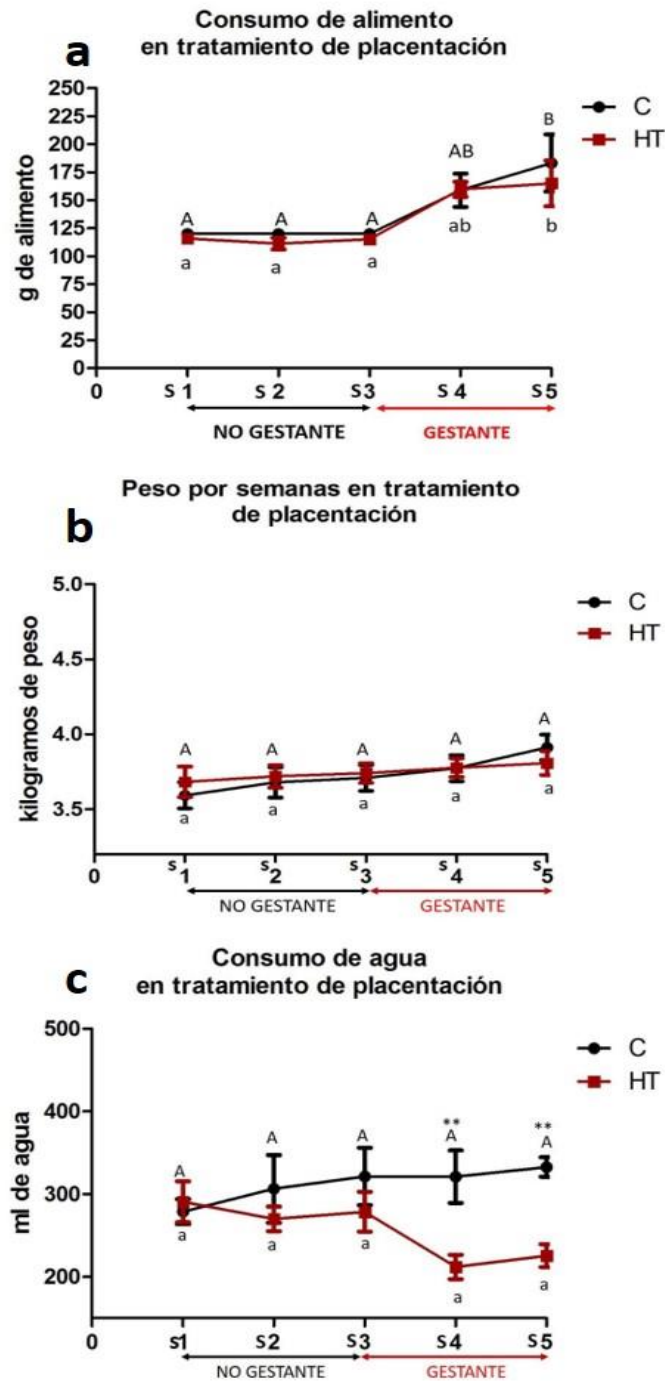
Consumo de agua de las conejas no gestantes por semanas



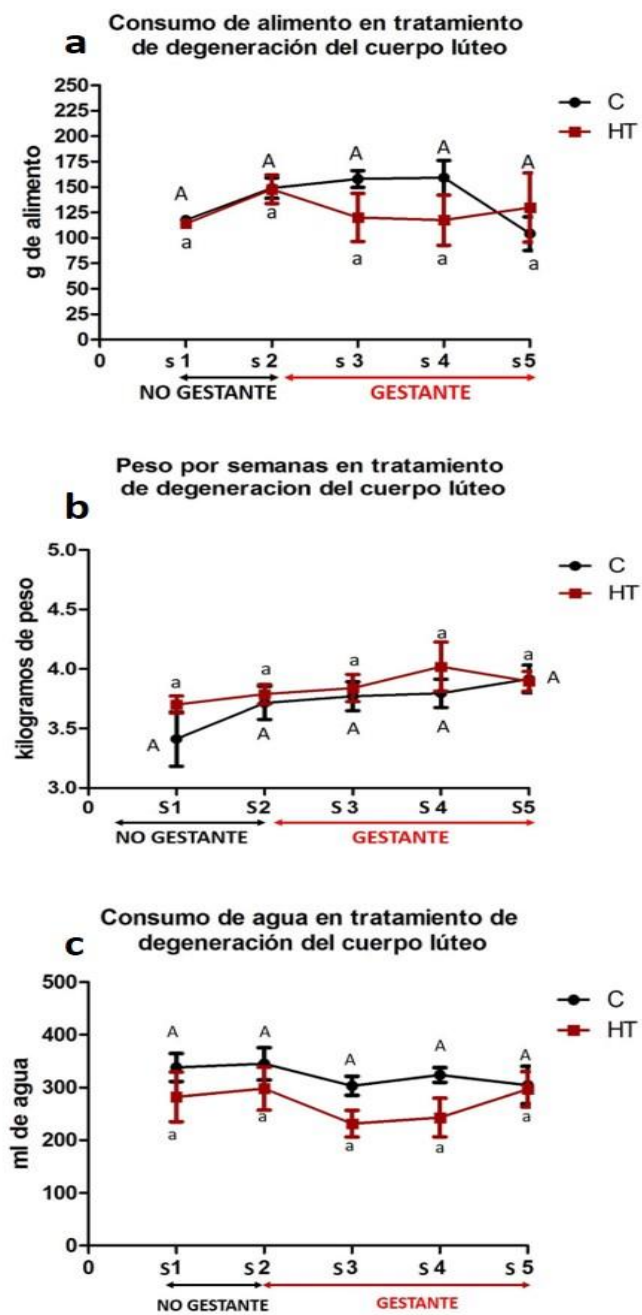
**Figura 2.** Gráficas del consumo de alimento, ganancia de peso y toma de agua de las conejas no gestantes, a) alimento, b) peso y, c) agua. Líneas negras y letras mayúsculas grupo control; líneas rojas y letras minúsculas grupo hipotiroideo \*\* P <.01 \* p<.05.



**Figura 3.** Gráficas del consumo de alimento, ganancia de peso y toma de agua de las conejas en la etapa de implantación (5 días de gestación) a) alimento, b) peso, c) agua. Líneas negras y letras mayúsculas grupo control, líneas rojas y letras minúsculas grupo hipotiroideo. \*\*  $P < .01$ , \*  $p < .05$ .



**Figura 4.** Gráficas del consumo de alimento, ganancia de peso y toma de agua de las conejas en la etapa de placentación (10 días de gestación) a) alimento, b) peso y c) agua. Líneas negras y letras mayúsculas grupo control; líneas rojas y letras minúsculas grupo hipotiroideo; \*\* P <.01.



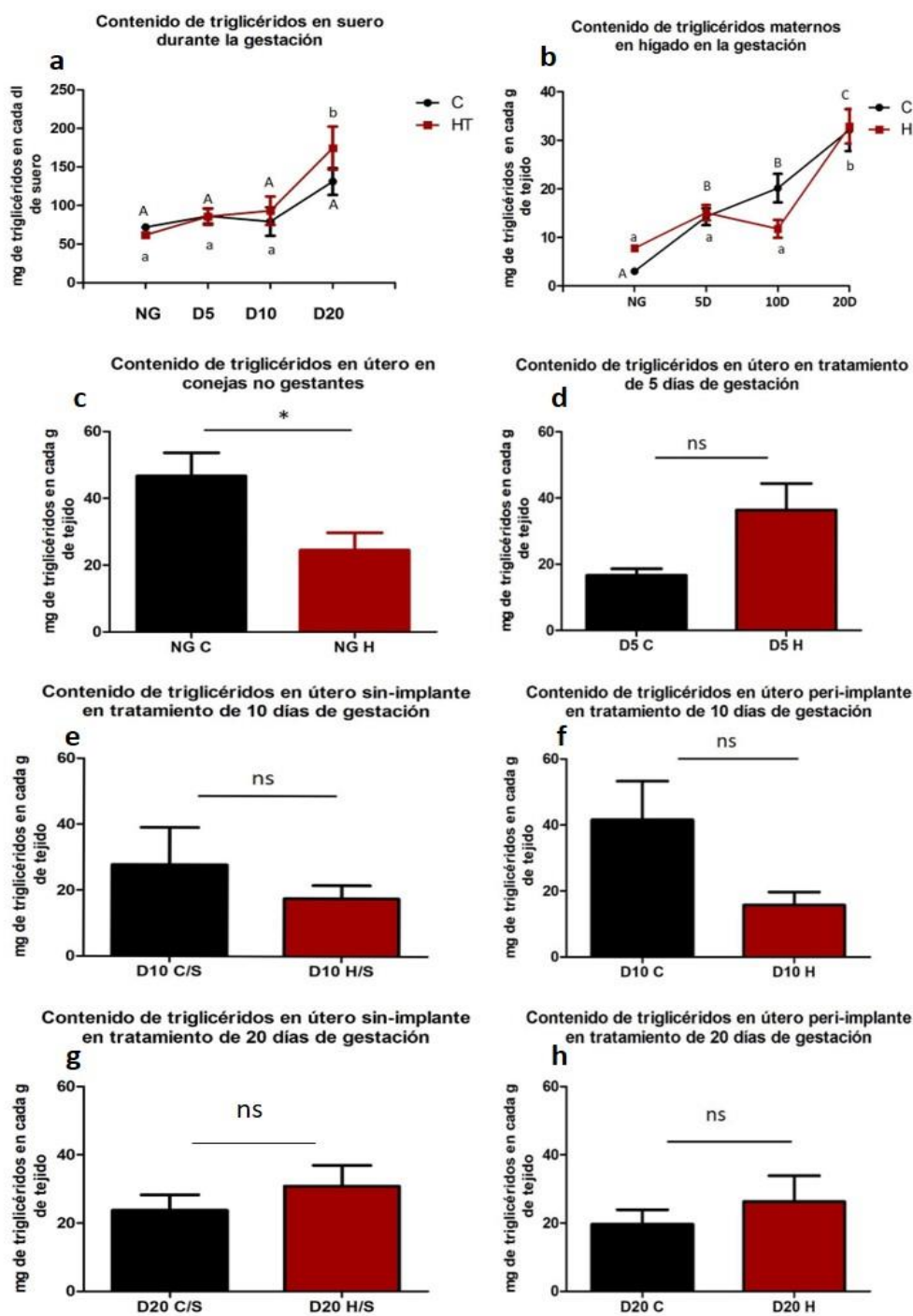
**Figura 5.** Gráficas del consumo de alimento, ganancia de peso y toma de agua de las conejas en la etapa de degeneración del cuerpo lúteo (20 días de gestación) a) alimento, b) peso, c) agua. Líneas negras y letras mayúsculas grupo control; líneas rojas y letras minúsculas grupo hipotiroideo.

	<b>CONTROL</b> (n=6)	<b>HIPOTIROIDEO</b> (n=6)	<b>ESTADÍSTICA</b>
<b>Útero derecho</b>			
Implantes totales	3.6±0.8	2.5±0.5	ns
Número de reabsorciones	0.0±0.0	0.0±0.0	ns
Número de fetos	3.6±0.8	2.5±0.5	ns
<b>Útero izquierdo</b>			
Implantes totales	4.0±0.5	3.8±0.8	ns
Número de reabsorciones	0.0±0.0	0.0±0.0	ns
Número de fetos	4.0±0.5	3.8±0.8	ns
<b>Suma de ambas porciones</b>			
Implantes totales	7.6±1.3	6.3±1.3	ns
Número de reabsorciones	0.0±0.0	0.0±0.0	ns
Número de fetos	7.6±1.3	6.3±1.3	ns

**Tabla 1.** Tabla representativa de las dos porciones del útero derecho e izquierdo y la suma de ambos, mostrando el total de implantes, número de reabsorciones y fetos viables en conejas a los 10 días de gestación controles e hipotiroideas.

	<b>CONTROL</b> (n=6)	<b>HIPOTIROIDEO</b> (n=6)	<b>ESTADÍSTICA</b>
<b>Útero derecho</b>			
Implantes totales	3.3±0.8	4.6±0.9	ns
Número de reabsorciones	0.5±0.3	1.0±0.5	ns
Número de fetos	2.8±0.7	3.6±0.8	ns
Peso Corporal de los fetos (g)	3.8±0.2	3.9±0.3	ns
Diámetro abdominal del feto (mm)	13.6±0.5	13.7±0.4	ns
Longitud corporal (mm)	38.4±1.7	39.4±1.7	ns
<b>Útero Izquierdo</b>			
Implantes totales	4.5±0.6	5.6±0.9	ns
Número de reabsorciones	0.0±0.0	0.3±0.2	ns
Número de fetos	4.5±0.6	5.3±0.8	ns
Peso Corporal de los fetos (g)	3.9±0.2	4.3±0.2	ns
Diámetro abdominal del feto (mm)	13.2±0.4	14.2±0.7	ns
Longitud corporal (mm)	39.1±1.8	41.0±1.5	ns
<b>Suma de ambas porciones</b>			
Implantes totales	7.83±1.4	10.2±1.8	ns
Número de reabsorciones	0.5±0.3	1.3±0.7	ns
Número de fetos	7.3±1.3	8.9±1.6	ns
Peso Corporal de los fetos (g)	3.8±0.1	4.1±0.2	ns
Diámetro abdominal del feto (mm)	13.4±0.3	13.7±0.3	ns
Longitud corporal (mm)	38.7±1.2	40.2±1.1	ns

**Tabla 2.** Tabla representativa de las dos porciones del útero derecho e izquierdo y la suma de ambos de conejas controles e hipotiroideas a los 20 días de gestación, mostrando el total de implantes, número de reabsorciones y fetos viables, así como parámetros de los fetos (peso, diámetro abdominal y longitud corporal).

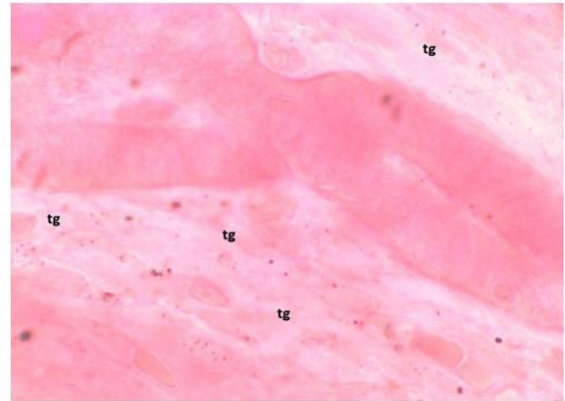


**Figura 6.** Cuantificación de triglicéridos, para el grupo control (líneas negras, letras mayúsculas y barras negras) e hipotiroido (líneas rojas, letras minúsculas y barras rojas) a) triglicéridos en suero, b) triglicéridos en hígado, c) triglicéridos en útero no gestante, d) triglicéridos en tratamiento de 5 días, e) triglicéridos en útero en los sitios sin-implante 10 días f) triglicéridos en los sitios peri-implante 10 días, g) triglicéridos en útero en los sitios sin-implante 20 días, h) triglicéridos en los sitios peri-implante 20 días. Diferencias significativas, \*\* p < 0.01 \* p < 0.05.

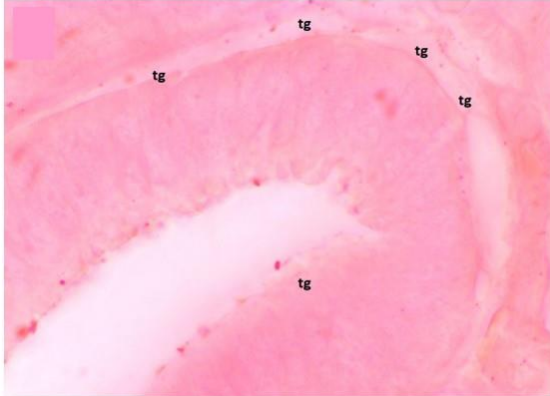
**a) Implantación**



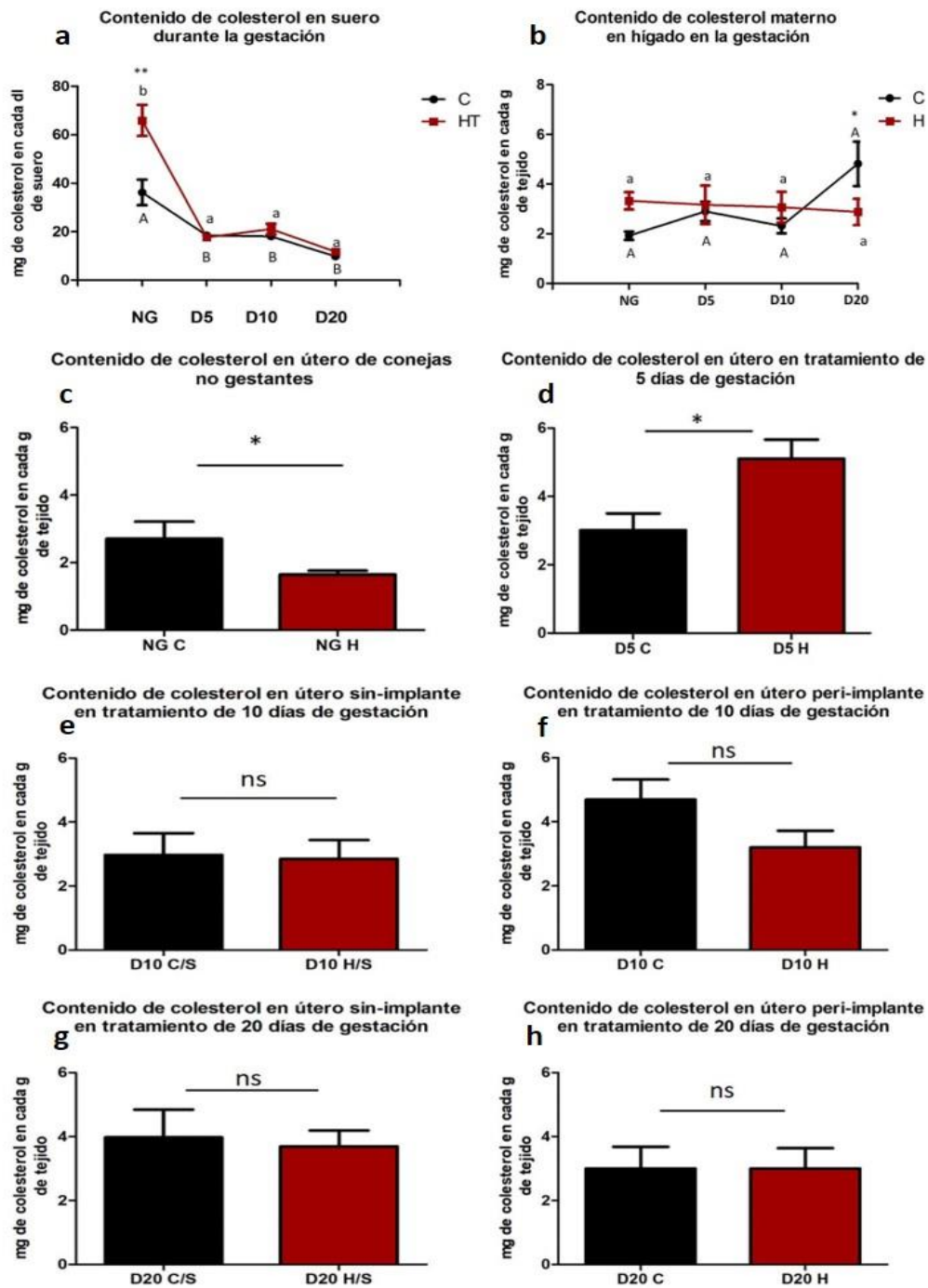
**b) Placentación**



**c) D.C. Lúteo**



**Figura 7.** Tinción rojo oleoso a) útero control en la implantación, b) útero control placentación y c) útero control en la degeneración del cuerpo lúteo



**Figura 8.** Cuantificación de colesterol, para el grupo control (líneas negras, letras mayúsculas y barras negras) e hipotiroideo (líneas rojas, letras minúsculas y barras rojas) a) colesterol en suero, b) colesterol en hígado, c) colesterol en útero no gestante, d) colesterol en tratamiento de 5 días, e) colesterol en útero en los sitios sin-implante 10 días f) colesterol en los sitios peri-implante 10 días, g) colesterol en útero en los sitios sin-implante 20 días, h) colesterol en los sitios peri-implante 20 días. Diferencias significativas, \*\*  $p < .01$  \*  $p < .05$ .



## 8. DISCUSIÓN

El registro de alimento de los diferentes grupos mostró que la ingesta de alimento es diferente entre antes de la gestación y durante las primeras semanas de embarazo, pero no durante las semanas de gestación; tanto para el grupo control como hipotiroideo. Sin embargo, el peso corporal no se modifica con la gestación, lo cual sugiere un desgaste de la masa magra y aumento de la grasa corporal; pues esta especie puede permanecer lactando y preñada sin modificar su peso ni el número de crías (Martínez-Gómez y cols. 2004). Mientras que en mujeres el metabolismo materno debe satisfacer las demandas del desarrollo fetal además de los requerimientos energéticos de la madre. Al inicio el embarazo es considerado una fase anabólica, lo cual resulta en un incremento en los depósitos grasos en los adipocitos maternos; en contraste el último trimestre de embarazo es referido como una etapa catabólica (Kominiarek y Peaceman.2017). Por otro lado, la disminución en la ingesta de agua que se observó en los animales sacrificados en los días 5 y 10 de gestación sugiere la influencia de cambios hormonales en la regulación de la sed (Mathew y cols. 2017), relacionada con el sabor amargo del metimazol, que podría detectarse en gran medida durante el embarazo

En cuanto al número de implantes, reabsorciones, peso de los fetos, diámetro abdominal y longitud corporal, para ambas porciones del útero (derecho e izquierdo), no encontramos diferencias lo que se contrapone a aquellos estudios que han reportado que el hipotiroidismo en el embarazo se asocia con pérdida del embarazo, bajo peso al nacer y parto prematuro (Laurberg y cols. 2013), esto sugiere que probablemente los conejos tengan una maquinaria placentaria muy activa para proporcionar la solicitud de nutrientes a los embriones para equilibrar la condición metabólica de las presas, por ello en este modelo animal no encontramos cambios o que los efectos se den en la organogénesis (Tingi y cols. 2016; Rodríguez-Castelán y cols. en prensa).

La gestación se asocia con el desarrollo de dislipidemias, que muestran un aumento en la concentración de triglicéridos al final del embarazo. Los cambios en el metabolismo de la mujer gestante son necesarios para el mantenimiento del embarazo y un correcto desarrollo fetal. Uno de los parámetros más afectados es el nivel de triglicéridos, que experimenta un descenso inicial, seguido de un aumento progresivo hasta el momento del parto (Quig y Donald 1986). En las

conejas, el embarazo parece aumentar en suero la concentración de triglicéridos, tanto para el grupo control como para el hipotiroideo. La presencia de triglicéridos en el útero es importante para la obtención de ácidos grasos, facilitando la decidualización del endometrio y el desarrollo embrionario (Mouzat y cols. 2007). De manera que su inhibición podría afectar las contracciones del parto. Sin embargo, no encontramos diferencias. Así mismo con la tinción de rojo oleoso no observamos cambios en la presencia de gotas de triglicéridos, lo que sugiere que se están metabolizando o acumulando en otro órgano como el hígado; donde las concentraciones aumentan al día 20 de gestación lo que sugiere el desarrollo de hígado graso. El hígado graso agudo en el embarazo es una citopatía mitocondrial que se origina por la deficiencia de acetil-coenzima A deshidrogenasa y, por lo tanto, una beta-oxidación anormal de ácidos grasos. La deficiente oxidación de los ácidos grasos puede conducir a una grave infiltración de grasa en los órganos fetales (Bremer y cols. 2016).

El hipotiroidismo induce una alta concentración de colesterol en suero en animales no gestantes. Sin embargo, las concentraciones disminuyen con la gestación, lo que sugiere una posible conservación de estos lípidos en cualquier otro órgano o mayor esteroidogénesis. (Rabe y cols. 1983). A medida que avanza el embarazo, las concentraciones de lípidos y de las hormonas esteroides son diferentes (Pecks y cols. 2016), debido a interacciones entre factores genéticos, energéticos y hormonales, además se sabe que la concentración de colesterol total en conejos, cobayas, vacas y primates disminuye gradualmente hacia el final de la gestación. Estas alteraciones pueden estar relacionadas con el metabolismo en el organismo de diferentes animales y con los cambios necesarios de las demandas metabólicas del feto (Herrera 2002). Por lo anterior podría suponerse que el destino de los lípidos circulantes pudiera estar siendo destinado para el óptimo desarrollo fetal. Los resultados encontrados sobre el contenido de colesterol en útero no muestran diferencias significativas, lo que podría indicar que están siendo utilizados para una mayor esteroidogénesis. Durante el embarazo, el metabolismo de los lípidos hepáticos está regulado e interactúa con las hormonas esteroides liberadas por la placenta, el órgano endocrino primario que produce esteroides del embarazo. El estradiol placentario se sintetiza predominantemente a partir de precursores de sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEA), proporcionados por las glándulas suprarrenales maternas y fetales (Rabe y cols. 1983).

De manera general, podemos decir que, aunque no encontramos diferencias significativas en los niveles de colesterol y triglicéridos en el útero de los animales hipotiroideos vs. controles, no observamos una reducción gradual de los lípidos uterinos como lo esperábamos. Al parecer hay un aumento hacia la etapa de implantación y después esta disminuye en las posteriores etapas de placentación y degeneración del cuerpo lúteo. Además de acuerdo con lo que ya reportamos recientemente en animales tratados con metimazol por 50 días, es claro que el tiempo de hipotiroidismo podría ser un factor muy importante para tener alteraciones en el almacenamiento de los lípidos uterinos y en la talla fetal.

## 9. CONCLUSIONES

1. La gestación aumenta la ingesta de alimento, pero esta no es afectada por el hipotiroidismo.
2. El hipotiroidismo no afecta el número de implantes, reabsorciones fetales, peso de los fetos, diámetro abdominal y longitud corporal. Particularmente, la talla fetal podría ser afectada por un mayor tiempo de tratamiento con metimazol.
3. Las concentraciones de TAG en suero e hígado fueron mayores al día 20 de gestación, tanto en controles como hipotiroideos, mientras que en útero no encontramos diferencias, lo que sugiere hígado graso e hipertrigliceridemia.
4. La gestación disminuye los niveles de colesterol en suero, tanto en controles como hipotiroideos, mientras que en el hígado ni la gestación e hipotiroidismo modifica el contenido de colesterol, lo que sugiere una mayor esteroidogénesis. La aumentada concentración de colesterol en el útero en los animales hipotiroideos en el día 5 de gestación sugiere un proceso inflamatorio.
5. La influencia del hipotiroidismo sobre el desarrollo fetal podría depender del tiempo previo que dicha patología se presente previo al embarazo.

## 10.REFERENCIAS

- Aghajanova L**, Lindeberg M, Carlsson, Stavreus-Evers A, Zhang P, Scott J.E, Hovatta, O y Skjöldebrand-Sparre L.2009. Receptors for thyroid-stimulating hormone and thyroid hormones in human ovarian tissue. *Reprod. Biomed. Online*. 18: 337-347.
- Babenko NA**.2005. Long- and short-term effects of thyroxine on sphingolipid metabolism in rat liver. *Med Sci Monit*.11:131-138.
- Beall R**.1972. Uterine lipid metabolism a review of the literature. *Comp. Biochem. Physiol.* 42B:175-195.
- Blanks AM**, Brosens JJ. 2012. Progesterone action in the myometrium and decidua in preterm birth. *Facts Views Vis Obgyn*. 4:188-94.
- Blennemann B**, Moon YK, Freake HC. 2011. Tissue-specific regulation of fatty acid synthesis by thyroid hormone. *Endocrinology*. 130:637-43.
- Bremer Lars**, Schramm Christoph and Gisa Tiegs. 2016. Immunology of hepatic diseases during pregnancy. *Seminars in Immunopathology*. 38: 669-685.
- Brent GA**. 2012. Mechanism of thyroid hormone action. *J Clin Invest*. 122(9):3035-43.
- Burnum KE**, Cornett DS, Puolitaival SM, Milne SB, Myers DS, Tranguch S.2009. Spatial and temporal alterations of phospholipids determined by mass spectrometry during mouse embryo implantation. *J Lipid Res*. 50:11-8.
- Coria J**, V. Carmona Yamila, B. Oliveros Liliana and S. Giménez María. 2012. Hypothyroidism on Lipid Metabolism. *International Standard Book Number*. 51:978-953.
- Croxatto H**. 2008. Female Reproductive Physiology/Function. *Chilean Institute for Reproductive Medicine*. 9: 603-613.
- Dallinga-Thie GM**, Franssen R, Mooij HL, Visser ME, Hassing HC, Peelman F, Kastelein JJ, Péterfy M, Nieuwdorp M. 2010. The metabolism of triglyceride-rich lipoproteins revisited: new players, new insight. *Atherosclerosis*.11:1-8.
- Deng WB**, Liang XH, Liu JL y Yang ZM. 2014. Regulation and function of deiodinases during decidualization in female mice. *Endocrinology*. 155: 2704-2717.
- Ewa Kautz**, Paula de Carvalho Papa, Iris M. Reichler, Aykut Gram, Alois Boos, Mariusz P. 2015. In vitro decidualisation of canine uterine stromal cells. *Reprod Biol Endocrinol*.7: 13-85.

- Faure P, Oziol L, Artur Y, Chomard P.** 2004. Thyroid hormone (T3) and its acetic derivative (TA3) protect low-density lipoproteins from oxidation by different mechanisms. *Biochimie*.86: 411-8.
- Gagnon-Girouard MP, Gagnon C, Bégin C, Provencher V, Tremblay A, Boivin S, Lemieux S.** 2010. Couple dissatisfaction and eating profile: a mediation effect of coping style. *Eat Weight Disord*. 15:40-6.
- Gao G., Bi, X., Chen, J., Srikanta, D., Rong, Y.S.** 2009. Mre11-Rad50-Nbs complex is required to cap telomeres during Drosophila embryogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106: 10728--10733.
- Gharib H, Tuttle M, Baskin HJ, Fish LH, Singer PA, McDermott MT.**2005. Subclinical thyroid dysfunction: a joint statement on management from the American Association of Clinical Endocrinologists, the American Thyroid Association, and the Endocrine Society. *J Clin Endocrinol Metab*. 90:1581-5.
- Goemann IM, Romitti M, Meyer ELS, Wajner SM and Maia AL.**2017. Role of thyroid hormones in the neoplastic process: an overview.2017. *Endocrinology Relat Cancer*. 11:367-385.
- Herrera E. y Desoye G.** 2016. Maternal and fetal lipid metabolism under normal and gestational diabetic conditions. *Horm Mol Biol Clin Investig*.109:26-27.
- Herrera E.** 2002. Lipid metabolism in pregnancy and its consequences in the fetus and newborn. *Endocrine*.19:43–55.
- Hewitson LC, Martin KL, Leese HJ.**1996. Effects of metabolic inhibitors on mouse preimplantation embryo development and the energy metabolism of isolated inner cell masses. *Mol Reprod Dev*.43:323–330.
- Ikonen E.** 2008. Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 9:125-38.
- Juneo F. Silva and Rogéria Serakides.** 2016. Intrauterine trophoblast migration: A comparative view of humans and rodents. *Cell Adhesion and Migration*. 2:88-110.
- Karen L. Lindsay, Christian Hellmuth, Olaf Uhl, Claudia Buss, Pathik D. Wadhwa, Berthold Koletzko, and Sonja Entinger.**2015. Longitudinal Metabolomic Profiling of Amino Acids and Lipids across Healthy Pregnancy. *PLoS One*. 10:12-22.

- Kaufmann P**, Black S, Huppertz B. 2003. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. *Biol Reprod.* 69:1-7.
- Kawai K**, Sasaki S, Morita H, Ito T, Suzuki S, Misawa H, Nakamura H. 2004. Unliganded thyroid hormone receptor-beta 1 represses liver X receptor alpha/oxysterol-dependent transactivation. *Endocrinology.* 145:5515-24.
- Keeping HS**, Newcombe AM y Jellinck PH. 1982. Modulation of estrogen-induced peroxidase activity in the rat uterus by thyroid hormones. *J Steroid Biochem.*16:45-49.
- Kennedy TG** y Doktorcik PE.1988. Uterine decidualization in hypophysectomized-ovariectomized rats: effects of pituitary hormones. *Biol Reprod.* 39: 318–328.
- Klop Boudewijn**, F. Elte Jan Willem and Castro Cabezas Manuel. 2013. Dyslipidemia in Obesity: Mechanisms and Potential Targets.*Nutrientes.*4:1218-1240.
- Kominiarek MA** and Peaceman AM. 2017. Gestational weight gain. *Am J Obstet Gynecol.* 6:642-651.
- Kong L**, Wei Q, Fedail JS, Shi F, Nagaoka K, Watanabe G.2015. Effects of thyroid hormones on the antioxidative status in the uterus of young adult rats. *J Reprod Dev.* 61:219-27.
- Krause K**, Weiner J, Hönes S, Klötting N, Rijintjes E, Heiker JT, Gebhardt C, Köhrle J, Führer D, Steinhoff K, Hesses S, Moeller LC, Tönjes A. 2015. The effects of thyroid hormones on gene expression of Acyl-Coenzyme A thioesterases in adipose tissue and liver of mice. *Eur Thyroid J.* 4:59-66.
- Langhi C**, Marguart TJ, Allen RM y Baldán A. 2014. Perilipin-5 is regulated by statins and control triglyceride contents in the hepatocyte. *J Hepatol.* 61:358-65.
- Laurberg P**, Andersen SL, Olsen J, Wu CS. 2013. Low birth weight in children born to mothers with hyperthyroidism and high birth weight in hypothyroidism, whereas preterm birth is common in both conditions: a danish national hospital register study. *Eur Thyroid J.* 2:135-44.
- Lin JZ**, Martagón AJ, Hsueh WA, Baxter JD, Gustafsson JA, Webb P, Phillips KJ. 2012. Thyroid hormone receptor agonist reduce serum cholesterol independent of the LDL receptor. *Endocrinology.* 153:6136-44.

- Lombardi A**, Matteis R, Moreno M, Napolitano L, Busiello RA, Senes R, Lange P, Lanni A, Goglia F. 2012. Responses of skeletal muscle lipid metabolism in rat gastrocnemius to hypothyroidism and iodothyronine administration: a putative role of FAT/CD36. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 303: 222-33.
- Mahboubeh** Ghanbari, Asghar Ghasemi.2017. Maternal hypothyroidism: An overview of current experimental models. *Life Sci.* 187: 1-8.
- Martina** Colicchio, Luisa Campagnolo, Enke Baldini, Salvatore Ulisse, Herbert Valensise, Costanzo Moretti. 2014. Molecular basis of thyrotropin and thyroid hormone action during implantation and early development. *Human Reproduction Update.* 6: 884–904.
- Martínez-Gómez** Margarita, Juárez Margarita, Distel Hans, Hudson Robyn.2004. Overlapping litters and reproductive performance in the domestic rabbit. *Physiol Behav.*4:629-36.
- Mathew H**, Castracane VD, Mantzoros C. 2017. Adipose tissue and reproductive health. *Metabolism.* 17: 30309-8.
- Mouzat K**, Prod’homme M, Volle DH, Sion B, Déchelotte P, Gauthier K, Vanacker JM, Lobaccaro JM. 2007. Oxysterol nuclear receptor LXR beta regulates cholesterol homeostasis and contractile function in mouse uterus. *J Biol Chem.* 282:4693-701.
- Murray MK**. 1996. Changes in secretory status, cell height and percentage ciliation of epithelial lining of sheep fimbria oviduct during early pregnancy. *J Reprod Fertil.*173:83-96.
- Nelson ER**, DuSell CD, Wang X, Howe MK, Evans G, Michalek RD, Umetani M, Rathmell JC, Khosla S, Gesty-Palmer D, McDonnell DP. 2011. The oxysterol, 27-hydroxycholesterol, links cholesterol metabolism to bone homeostasis through its actions on the estrogen and liver X receptors. *Endocrinology.* 152:4691-705.
- Panciera DL**, Purswell BJ y Kolster KA. 2007. Effect of short-term hypothyroidism on reproduction in the bitch. *Theriogenology.* 68: 316-332.
- Parížek A**, Dušková M, Vitek L, Šrámková M, colina M, Adamcová K , Šimják P , Černý A , Kordová Z , Vráblíková H , Boudová B , Koucký M , Malíčková K , Starka L. 2015. The role of steroid hormones in the development of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Physiol Res.* 2: 203-9.
- Pascual A** y Aranda A. 2013. Thyroid hormone receptors, cell growth and differentiation. *Biochim Biophys Acta.* 1830: 3908-3916.



- Pecks U**, Rath W, Kleine-Eggebrecht N, Maass N, Voigt F, Goecke TW, Mohaupt MG, Escher G. 2016. Maternal serum lipid, estradiol, and progesterone levels in pregnancy, and the impact of placental and hepatic pathologies. *Geburtshilfe Frauenheilkd.*76: 799–808.
- Quig W**. y Donald B. 1986. Parallel Changes in Plasma Cholesterol and Lipid Transfer Activity in Pregnant Rabbits. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine* 182:386-392.
- Rabe T**, Kalbfleisch H, Haun A.1983. Influence of human lipoproteins on the progesterone synthesis of human term placenta in organ culture. *Biol Res Pregnancy Perinatol.*4:75–83.
- Rensen PC**, van Dijk KW, Havekes LM. 2005. Apolipoprotein AV: low concentration, high impact. *Arterioscler Thromb Vasc. Biol.* 25: 2445-7.
- Rizos CV**, Elisaf MS, Liberopoulos EN. 2011. Effects of thyroid dysfunction on lipid profile. *Open Cardiovasc Med J.* 5:76-84.
- Rodríguez Castelán J**. Efecto del metabolismo sobre marcadores de metabolismo lipídico en tejidos reproductivos de la coneja. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Febrero 2018.
- Rodríguez-Castelán J, Anaya-Hernández A, Méndez-Tepepa M, Martínez-Gómez M, Castelán F, Cuevas-Romero E. Distribution of thyroid hormone and thyrotropin receptors in reproductive tissues of adult female rabbits. *Endocr Res.* 2017 Feb;42(1):59-70
- Rodríguez-Castelán J, Corona-Pérez A, Nicolás-Toledo L, Martínez-Gómez M, Castelán F, Cuevas-Romero E. Hypothyroidism Induces a Moderate Steatohepatitis Accompanied by Liver Regeneration, Mast Cells Infiltration, and Changes in the Expression of the Farnesoid X Receptor. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2017 Mar;125(3):183-190
- Rodríguez-Castelán J**, Méndez-Tepepa M, Carrillo-Portillo Y, Anaya-Hernández A, Rodríguez-Antolín J, Zambrano E, Castelán F, Cuevas-Romero E. 2017. Hypothyroidism Reduces the Size of Ovarian Follicles and Promotes Hypertrophy of Periovarian Fat with Infiltration of Macrophages in Adult Rabbits. *Biomed Res Int.* 795950.
- Rodríguez-Castelán J1, Zepeda-Pérez D2, Méndez-Tepepa M1, Castillo-Romano M2, Espíndola-Lozano M1, Anaya-Hernández A3, Berbel P4, Cuevas-Romero E5. Hypothyroidism Modifies the Uterine Lipid Levels in Pregnant Rabbits and Affects the

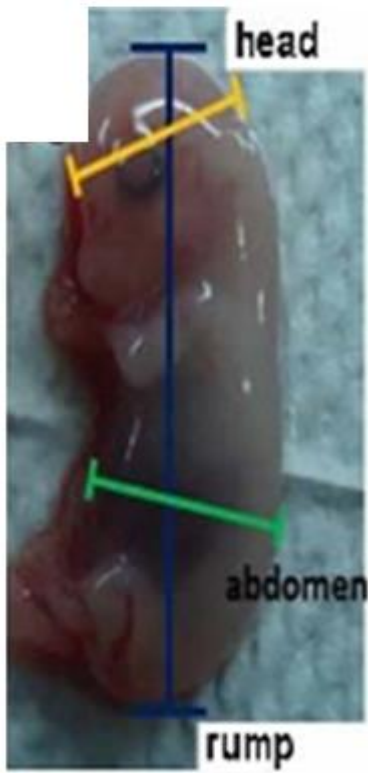
- Fetal Size. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2018 Nov 1. doi: 10.2174/1871530318666181102093621. [Epub ahead of print]
- Santosh** Timalisina, Prajwal Gyawali, and Aseem Bhattarai. 2016. Comparison of lipid profile parameters and oxidized low-density lipoprotein between normal and preeclamptic pregnancies in a tertiary care hospital in Nepal. *J Womens Health*. 8: 627–631.
- Shuying** Jiang, Jingxin Jiang, Hongwei Xu, Shuojia Wang, Zeyu Liu, Minchao Li, Hui Liu, Shuangshuang Zheng, Lijuan Wang, Ying Fei, Xiawei Li, Yongfeng Ding, Zhaopin Wang, Yunxian Yu. 2016. Maternal dyslipidemia during pregnancy may increase the risk of preterm birth: A meta-analysis. *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*. 56:9-15.
- Silva** JF, Vidigal PN, Galvão DD, Boeloni JN, Nunes PP, Ocarino NM, Nascimento EF y Serakides R. 2012. Fetal growth restriction in hypothyroidism is associated with changes in proliferative activity, apoptosis and vascularisation of the placenta. *Reprod Fertil Dev*. 24: 923-931.
- Smith** RD, Babiychuk EB, Noble K, Draeger A, Wray S. 2005. Increased cholesterol decreases uterine activity: functional effects of cholesterol alteration in pregnant rat myometrium. *Am J Physiol Cell Physiol*. 288:982-8.
- Stavreus** Evers A. 2012. Phosphodiesterase 8B gene polymorphism in women with recurrent miscarriage: a retrospective case control study. *Front Endocri*. 3:50-60.
- Sumathi** S. 2016. Endometrial cholesterol granuloma associated with prolapsed uterus- a rare case report with unusual clinical presentation. *J Clin Diagn Res*. 3:5-6.
- Teng** W, Shan Z, Patil-Sisodia K, Cooper DS. 2013. Hypothyroidism in pregnancy. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 3:228-37.
- Tingi** Efterpi, Syed Akheel A., Kyriacou Alexis, Mastorakos George, Kyriacou Angelos. 2016. Benign thyroid disease in pregnancy: A state of the art review. *Journal of Clinical and Translational Endocrinology*. 6:37-49.
- Tsai** JH, Chi MMY, Schulte MB, Holey KH. 2014. The fatty acid beta-oxidation pathway is important for decidualization of endometrial stromal cells in both humans and mice. *Biol Reprod*. 90:34-43.

- Tsimihodimos V**, Bairaktari E, Tzallas C, Miltiadus G, Liberopoulos E, Elisaf M. 1999. The incidence of thyroid function abnormalities in patients attending an outpatient lipid clinic. *Thyroid*.9:365-8.
- Vasilenko F**.2016. Multidirectional Changes in the Blood Cholesterol in Mammals of Different Species during Pregnancy and Lactation. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*.30:59-70.
- Wojciechowicz B**.2013. The activity and localization of 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase isomerase and release of androstenedione and progesterone by uterine tissues during early pregnancy and the estrous cycle in pigs. *J Reprod Dev*. 59:49-58.
- Zha K**, Zuo C, Wang A, Zhang B, Zhang Y. 2015. LDL in patients with subclinical hypothyroidism shows increased lipid peroxidation. *Lipids Health Dis*. 25:14-95.
- Zhang S**, Lin H, Kong S, Wang S, Wang H, Wang H y Armant DR. 2013. Physiological and molecular determinants of embryo implantation. *Mol Aspects Med*. 34: 939-980.
- Zhang R**, Dong S, Ma WW, Cai XP, Le ZY, Xiao R, Zhou Q, Yu HL. 2017. Modulation of cholesterol transport by maternal hypercholesterolemia in human full-term placenta. *PLoS One*. 2: 15-12.

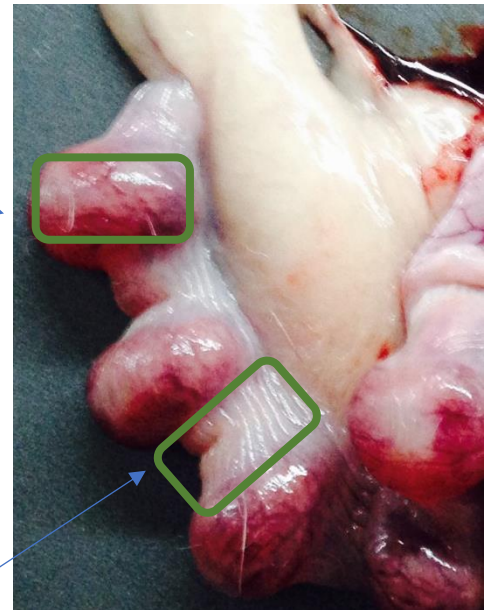
## 11. GLOSARIO

1. **Cigoto:** Célula que resulta de la unión de las células sexuales masculina y femenina y a partir de la cual se desarrolla el embrión de un ser vivo.
2. **Blastocisto:** (Blástula) Fase del desarrollo del embrión en mamíferos, que constituye una estructura celular compleja derivada de la mórula. Está formada por una masa celular interna de la que se origina el embrión y de una capa periférica de células que formará la placenta.
3. **Decidualización:** Cambios ocurridos en los tejidos que van a permitir la implantación del embrión en el útero. Estos cambios en el endometrio se van a producir gracias al efecto de la progesterona sintetizada en el cuerpo lúteo tras la ovulación.
4. **Trofoblasto:** Capa celular que rodea a los blastómeros y que tiene como función la nutrición.
5. **Citosinas:** Proteínas secretadas por linfocitos y macrófagos principalmente; su acción incluye la comunicación celular, quimiotaxis, modulan la secreción de inmunoglobulinas, y tienen una participación fundamental en el mecanismo de la inflamación.
6. **Teratogénesis:** agente físico u organismo capaz de provocar un defecto congénito durante la gestación del feto.
7. **Macrosomía:** Feto grande, cuando se calcula que el peso del bebé al nacer será mayor del percentil 90 o superior a 4 kilos.
8. **Termorregulación:** Capacidad que tiene un organismo biológico para modificar su temperatura dentro de ciertos límites, incluso cuando la temperatura circundante es bastante diferente del rango de temperaturas-objetivo. El término se utiliza para describir los procesos que mantienen el equilibrio entre ganancia y pérdida de calor.
9. **Proliferación:** Incremento de la cantidad o el número de algo de forma rápida
10. **Apoptosis:** Forma de muerte celular programada. La apoptosis retira las células durante el desarrollo, elimina las células infectadas de virus y las potencialmente cancerosas, y mantiene el equilibrio en el organismo.
11. **Esteroidogénesis:** Conjunto de reacciones metabólicas que hacen posible la síntesis de hormonas esteroideas en un determinado órgano o tejido.
12. **Beta-oxidación:** proceso catabólico de los ácidos grasos en el cual sufren remoción, mediante la oxidación, de un par de átomos de carbono sucesivamente en cada ciclo del proceso, hasta que el ácido graso se descompone por completo en forma de moléculas acetil-CoA, que serán posteriormente oxidados en la mitocondria para generar energía química en forma de (ATP).
13. **Hipermetilación:** Metilación del ADN es un proceso por el cual se añaden grupos metilo al ADN.
14. **Hipomenorrea:** Hemorragia menstrual poco intensa que ocurre con intervalos regulares.
15. **Polimenorrea:** Consiste en el acortamiento del intervalo menstrual a menos de 21 días. El mecanismo de su producción es variable. En la mayoría de los casos se encuentra acortada la fase lútea, porque el cuerpo lúteo entra en regresión.
16. **Oligomenorrea:** La duración del ciclo es mayor de lo habitual, de manera que las menstruaciones se suceden con intervalos de 35-90 días.

## 12. ANEXOS



PERI-IMPLANTE



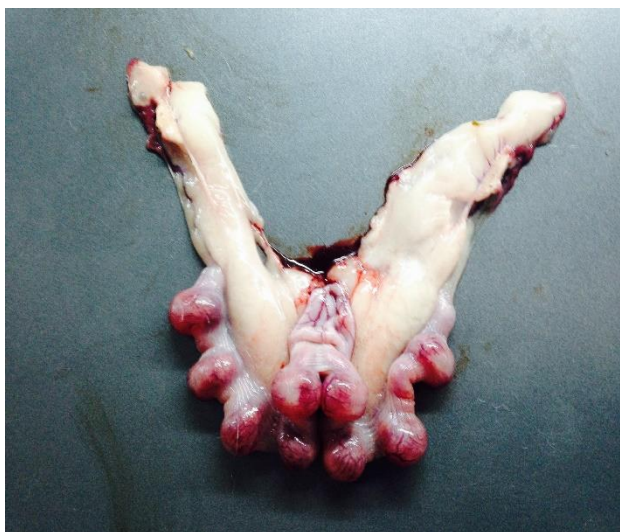
SIN-IMPLANTE

## EXTRACCIÓN DEL ÚTERO

**No Gestante**



**Gestante día 5**



**Gestante día 10**



**Gestante día 20**