



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del hipotiroidismo en la expresión del receptor de
farnesoide β y la enzima lanosterol desmetilasa en el
endometrio de conejas vírgenes y grávidas

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

Doctorado en Ciencias Biológicas

P r e s e n t a

Maribel Méndez Tepepa

Directora:

Dra. Estela Cuevas Romero

Tlaxcala, Tlax.

Agosto 2019



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del hipotiroidismo en la expresión del receptor de farnesoide β y la enzima lanosterol desmetilasa en el endometrio de conejas vírgenes y grávidas

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

Doctorado en Ciencias Biológicas

P r e s e n t a

Maribel Méndez Tepepa

Directora:

Dra. Estela Cuevas Romero

Tlaxcala, Tlax.

Agosto 2019

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

Mi profundo agradecimiento a la Dra. Estela Cuevas Romero quien con su experiencia, conocimiento y motivación me orientó en la investigación. Gracias por sus consejos, enseñanzas, apoyo y sobre todo por su dirección brindada en todo momento.

De igual manera mis agradecimientos al comité tutorial. Dra. Leticia Nicolas Toledo y Dr. Gabriel Gutiérrez Ospina gracias por sus comentarios y aportes para la mejora de dicho proyecto.

Finalmente agradezco a los miembros del comité de tesis por su evaluación y aportaciones al trabajo. Dra. Leticia Nicolás Toledo, Jorge Rodríguez Antolín, Margarita Cervantes Rodríguez, Dr. Francisco Castelán y René Zempoalteca Ramírez.

Agradezco a CONACYT, Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta y laboratorios de endocrinología e Inmunoquímica por el apoyo económico y técnico para la realización de esta tesis.

¡Que nadie se quede afuera, agradezco a todos! y dedico a ti Yatzil.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	7
1.1 Generalidades de las hormonas tiroideas.....	7
1.1.1 Hipotiroidismo y reproducción femenina	8
1.2.1 Acciones de los lípidos en el útero.....	13
2. ANTECEDENTES	17
2.1 Hipotiroidismo y gestación	17
2.1.1 Receptores de hormonas tiroideas y TSH en la gestación	18
2.2 Receptores de farnesoides y embarazo	19
2.3 Hipotiroidismo vs. receptores FXRs.....	20
3. JUSTIFICACIÓN	21
4. HIPÓTESIS	23
5. OBJETIVOS.....	23
6. METODOLOGÍA	24
7. RESULTADOS.....	27
7.1 Expresión de CYP5A1 en el útero gestante y su regulación por el hipotiroidismo	27
8. DISCUSIÓN.....	35
8.1 Expresión de CYP51A1 y FXR β en el útero	36
8.2 Expresión del FXR-α en el útero.....	38
9. REFERENCIAS	42
10. GLOSARIO DE TÉRMINOS	56

RESUMEN

Mujeres con hipotiroidismo tienen alteraciones en su ciclo menstrual, falta de ovulación, abortos espontáneos y nacimientos prematuros. El hipotiroidismo también puede causar preclamsia, desprendimiento de la placenta, hemorragias, muerte fetal intrauterina y bajo peso al nacimiento. Algunos de estos efectos han podido ser replicados en modelos animales como las ratas, perras y conejas. Sin embargo, se desconocen los mecanismos involucrados en tales efectos. En nuestro laboratorio nos hemos interesado en investigar efectos de análogos del colesterol como moléculas activas y su posible participación en los efectos del hipotiroidismo en el útero. En el presente estudio analizamos la expresión de receptores de farnesoides (FXR α y β), los cuales tienen como ligandos al lanosterol, farnesol, oxiesteroles, sales biliares y prostaglandinas en el útero (sitios de implante y sin implante) de conejas con diferentes estadios de gestación (G0, G5, G15 y G20; controles e hipotiroideas (metimazol, 10 mg/kg por 30 días; n=6 por grupo). También se determinó la expresión de la enzima lanosterol desmetilasa (CYP51A1) que transforma el lanosterol en colesterol. La cuantificación de las moléculas se hizo mediante western blot. Se midieron los niveles de triyodotironina (T3) y tetrayodotironina (T4), mediante quimioluminiscencia. La gestación disminuye de manera gradual la concentración sérica de T4, pero no de T3. El metimazol redujo ambas hormonas. La gestación aumentó la expresión de CYP51A1 en G10 en los sitios sin implante, mientras que el hipotiroidismo la aumentó en G5 y la disminuyó en G10. El hipotiroidismo redujo la expresión de CYP51A1 en G20 en el sitio de implante. Por su parte, la gestación disminuyó de manera gradual la expresión de FXR β en los sitios de no implante. El hipotiroidismo redujo la expresión de FXR β al inicio de la gestación y la aumentó al final del primer y segundo tercio de la gestación en los sitios sin implante. Considerando que lanosterol es un precursor de la síntesis *de novo* del colesterol, cambios en la expresión de CYP51A1 y FXR β podría estar relacionada con la regulación de la ruta del mevalonato. Con ello podrían modificar el contenido de colesterol en el útero, afectando la implantación del embrión, formación de la placenta y desarrollo fetal. Además, el lanosterol podría tener una acción directa en la proliferación y diferenciación celular.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Generalidades de las hormonas tiroideas

Las hormonas tiroideas, triyodotironina (T3) y tetrayodotironina (T4), son secretadas por las células epiteliales foliculares o tirocitos que conforman a la glándula tiroidea (Figura 1A). La glándula tiroidea se ubica cerca de la tráquea justo por debajo del cartílago tiroideo, está formada por dos lóbulos unidos por un istmo tiroideo donde hay gran irrigación sanguínea y linfática. Los tirocitos están revestidos por una pared capilar y epitelio cúbico simple que encierran al coloide y que contienen a las hormonas tiroideas. Durante la síntesis de hormonas, los tirocitos realizan funciones especializadas, tales como captar el yoduro mediante transportadores de yodo soluble, transportarlo desde la membrana basal hacia la membrana apical de la célula mediante el transportador Na^+/I^- , donde el yoduro sale al coloide por la proteína pendrina localizada en la membrana apical del tirocito. Consecuentemente se produce la oxidación del yodo (debido al peróxido de hidrógeno) por acción de la enzima específica denominada tiroperoxidasa (TPO), así el yoduro se incorpora a la tiroglobulina, mediante la TPO, para producir yodotirosinas, monoyodotirosinas y diyodotirosinas, moléculas que forman a las hormonas tiroideas. Las hormonas tiroideas, una vez sintetizadas y para que realicen su mecanismo de acción, son transportadas al torrente sanguíneo por proteínas como la globulina fijadora de tiroxina, transtirrenina y albúmina (Bowers y cols. 2013). La homeostasis¹ de las hormonas tiroideas ocurre mediante el mecanismo de retroalimentación del hipotálamo-adenohipófisis-tiroidea. El hipotálamo secreta a la hormona liberadora de tirotrópina (TRH), que estimula la síntesis y secreción de la hormona estimulante de la tiroidea (TSH) en la adenohipófisis. La TSH, a su vez, estimula a la glándula tiroidea para que sintetice a las hormonas tiroideas (Vijai 2011; Figura 1B).

Las hormonas tiroideas son sintetizadas y metabolizadas con ayuda de las enzimas desyodasas. La desyodasa tipo 1 (D1) se expresa en el hígado, endometrio y riñón; la D2 en el tejido adiposo, placenta, sistema nervioso central y endometrio; y la D3 que es expresada en la placenta, sistema nervioso central y endometrio. Estas enzimas forman a las hormonas tiroideas mediante dos vías: la D1 y D2 eliminan un ion yoduro de la posición 5' del anillo

¹ Ver glosario.

fenólico de la molécula T4 para formar T3 y la otra vía conocida como T3 reversa o T3 inactiva, donde la D3 cataliza un ion yoduro de la posición 3 del anillo tirosil generando diyodotirosina a partir de la T3. Por su parte la T4 se convierte en la hormona activa T3, por monodesyodación del enzima específico D3. Las hormonas tiroideas también median la acción para formar 3-yodotironamina (T1AM) a partir de precursores de hormonas tiroideas (Laurino y cols. 2016). Por lo que, la reacción básica de las desyodasas en la formación de las hormonas tiroideas es muy importante, debido a que la reproducción también se ve afectada cuando los niveles de T3 son bajos, y la D2 es la enzima que genera mayores niveles de T3 (Vijai 2011; Figura 1C).

En la célula, el mecanismo de acción de las hormonas tiroideas depende principalmente de la unión a sus receptores nucleares específicos (receptores de hormonas tiroideas, TRs): TR α y TR β , los cuales se expresan diferencialmente en los tejidos. Las hormonas tiroideas son introducidas a la célula por acción de sus transportadores de monocarboxilato (MCT) y proteínas transportadoras de aniones orgánicos (OATP), para posteriormente unirse a sus TRs. Los TRs, unidos como heterodímeros al receptor del ácido retinoico (RXR), activan un fragmento de DNA donde se inicia la transcripción o bloqueo de un gen. Este mecanismo es conocido como activación del elemento de respuesta a hormonas tiroideas (TRE) presente en algunos genes (Pascual y Aranda 2012; Figura 2). Por su parte, la tirotropina (TSH) se une a su receptor TSH-R, el cual es capaz de activar la vía de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK), fosfatidil inositol 3 quinasa (PI3K) y modular a segundos mensajeros. Las hormonas tiroideas también pueden unirse a proteínas localizadas en la membrana como las integrinas (Bowers y cols. 2013).

1.1.1 Hipotiroidismo y reproducción femenina

Una alteración en la síntesis, secreción y niveles de las hormonas tiroideas conduce a presentar hipertiroidismo e hipotiroidismo. El hipertiroidismo es la enfermedad en donde la T3 y T4 se encuentran altas, mientras que el hipotiroidismo es causado por una producción insuficiente de dichas hormonas. El hipotiroidismo puede ser clínico o subclínico dependiendo el rango de referencia en la concentración de las hormonas tiroideas. En el hipotiroidismo clínico las concentraciones de la TSH están por encima del rango de referencia (0.4 a 5 mUI / L) y las de T4 por debajo. Mientras que el hipotiroidismo subclínico

se define por un aumento en las concentraciones de TSH con niveles normales de T4 libre (Vijai 2011).

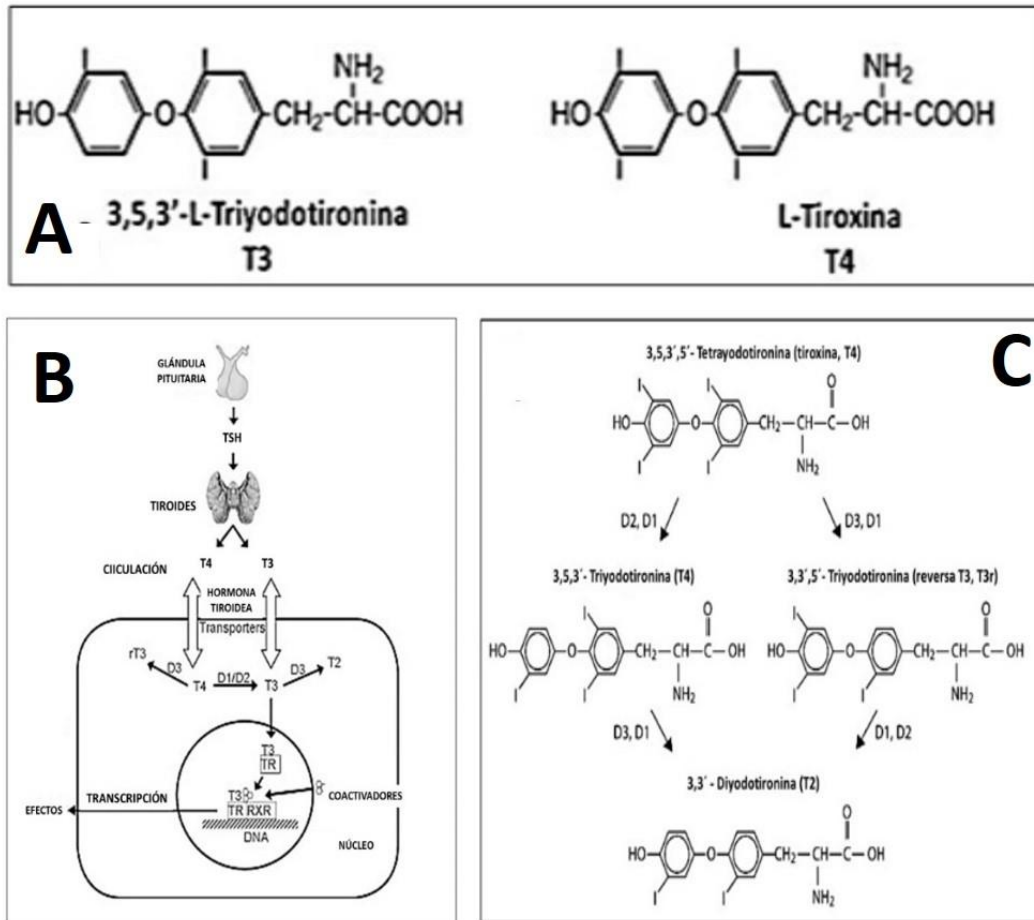


Figura 1. A) Fórmula química de las hormonas tiroideas. **B)** Mecanismo de retroalimentación de síntesis y secreción de las hormonas tiroideas. **C)** Reacciones básicas de las desyodasas para formar las hormonas tiroideas. Las reacciones son catalizadas por las desyodasas que eliminan restos de yodo 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 (Vijai 2011).

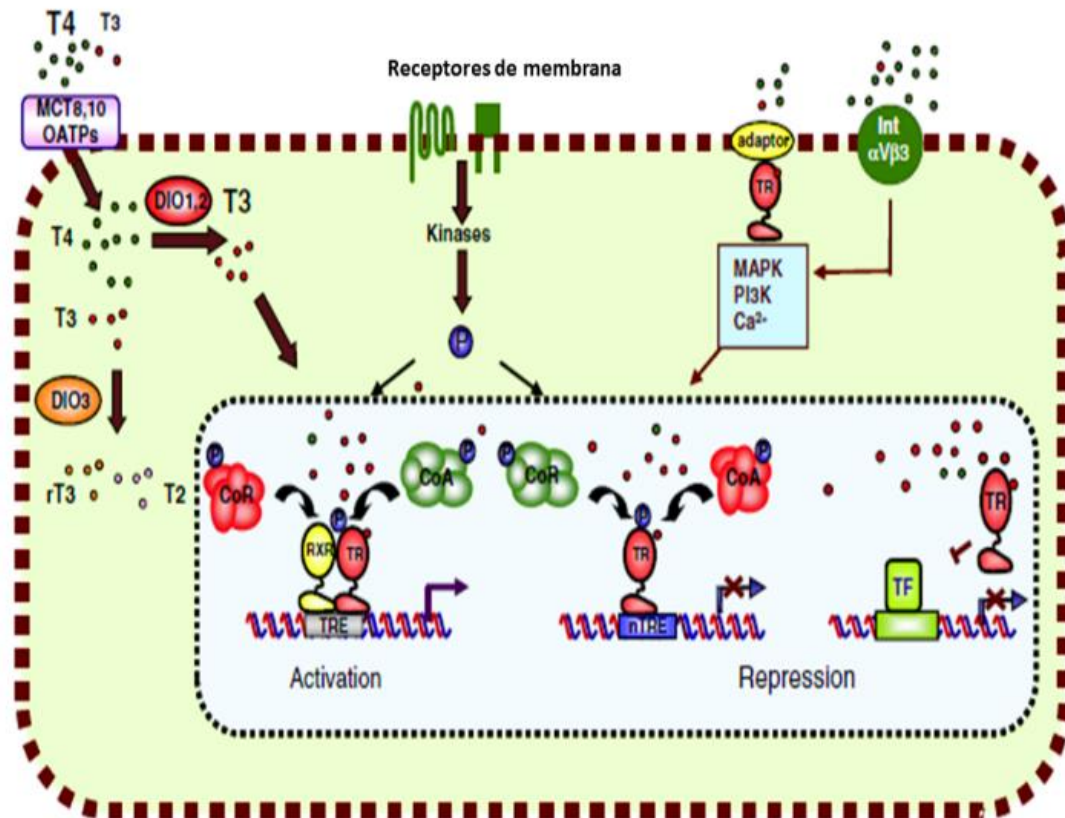


Figura 2. Mecanismo de acción de los receptores de hormonas tiroideas. La T3 y T4 entran a la célula a través de las proteínas transportadoras (MCT, OATs, integrinas y proteína G). Dentro de las células, las D1 y D2 convierten la T4 a la forma principal de la hormona tiroidea, T3. Esta se une a sus TRs que activan la transcripción mediante la unión con el ácido retinoico (RXR) y finalmente se activa el TRE situado en las regiones reguladoras de los genes objetivos. Esta actividad se rige por un intercambio de co-represor y co-activador para que se inicie de la transcripción del gen (modificada de Pascual y Aranda 2012).

El hipotiroidismo provoca alteraciones al sistema cardiovascular, muscular, metabólico, reproductivo, etc. Actualmente, aproximadamente el 50-70% de las mujeres con hipotiroidismo presentan problemas reproductivos (Alemu y cols. 2016). Mujeres hipotiroideas tienen trastornos menstruales irregulares (oligomenorrea², menorragia³ y polimenorrea⁴), disminución de la libido y falta de la ovulación, abortos espontáneos y nacimientos prematuros que condicionan incluso a la infertilidad femenina (Abalovich y cols. 2007). En modelos animales, el hipotiroidismo inducido, tanto por tiroidectomía (extracción

² Ver glosario.

³ Ver glosario.

⁴ Ver glosario.

de la glándula tiroides) o por fármacos (con metimazol⁵ o propiltiouracilo), afecta las características histológicas y funcionales del tracto reproductivo de hembras vírgenes. En nuestro grupo de trabajo hemos encontrado que el hipotiroidismo disminuye el tamaño de los folículos pre-antrales, provoca una hipertrofia e inflamación del tejido adiposo blanco peri-ovárico y disminuye la expresión de la aromatasa en el ovario de conejas (Rodríguez-Castelán y cols. 2017a). En el oviducto, el hipotiroidismo aumenta el tamaño de las células ciliadas en ampulla, istmo y útero-tubal, y el tamaño de las secretoras en istmo sin afectar su proliferación, ni la capa muscular de la coneja (Anaya-Hernández y cols. 2015). En el útero, el hipotiroidismo inducido disminuye el tamaño del endometrio y de la capa muscular, inhibe las contracciones rítmicas uterinas mediante la reducción de Ca²⁺ en el miometrio, reduce el peso del útero y altera el ciclo estral en ratas (Inuwa y Williams 1996; Parija y cols. 2006). En conejas, el hipotiroidismo produce hiperplasia uterina y afecta el contenido de triglicéridos, colesterol, lípidos oxidados, y disminuye la expresión de la aromatasa en el útero de la coneja no gestante (Rodríguez-Castelán y cols. 2019; Zepeda-Pérez 2018; Espíndola-Lozano en proceso). El aparato reproductivo femenino cuenta con TRs y receptores de TSHR. Particularmente el endometrio y el miometrio de mujeres y conejas expresan TR α 1, TR α 2 y TR β 1, así como TSHR (Aghajanova y cols. 2011; Rodríguez-Castelán y cols. 2017b), lo que sugiere que dichas hormonas podrían tener acciones importantes en los eventos reproductivos que se llevan a cabo en el útero. Los estudios de hipotiroidismo y gestación serán abordados en los antecedentes.

1.2 Generalidades del embarazo

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. El útero tiene dos capas de tejido diferentes: endometrio y miometrio. El endometrio tiene 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

⁵ Ver glosario.

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 tiene como misión albergar al huevo implantado, nutrirle en sus primeros estadios y tenerle una inmunotolerancia, convirtiéndose en el lugar adecuado para el desarrollo fetal. Para cumplir estas funciones el endometrio crece y se prepara cada mes, y si no ha sido necesaria su presencia, se desprende en forma de hemorragia y ocurre la menstruación. 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 para una gestación exitosa (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”. 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. 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 hacen más grandes, binucleadas y con propiedades secretoras. Las glándulas uterinas por su parte secretan nutrientes (aminoácidos, glucosa, ácidos grasos, vitaminas y minerales) para el crecimiento y desarrollo del embrión (Ramathal y cols. 2010; Figura 3).

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. Entonces el útero sufre cambios morfológicos y fisiológicos importantes que lo preparan para la implantación del embrión (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; Figura 3).

Placentación. La invasión del trofoblasto dentro del útero conduce a la formación del sincitiotrofoblasto en un ambiente relativamente hipotóxico⁶ 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 coriales⁷ (Red-Horse y cols. 2014; Figura 3).

1.2.1 Acciones de los lípidos en el útero

Los lípidos son adquiridos por una síntesis endógena (de novo) o por la dieta. Estos pueden ser acumulados en diversas células y sirven como reserva para la obtención de energía. Además, los lípidos proporcionan una fuente de sustratos para generar ATP, síntesis de fosfolípidos y la reparación de las membranas, son precursores de hormonas esteroideas y segundos mensajeros importantes para las vías de señalización intracelular (Ojuka y cols. 2016; Figura 4). El embarazo es un período crítico en el que ocurren cambios fisiológicos, tanto para la madre como para el feto. Durante las etapas gestacionales, la necesidad de energía para satisfacer las demandas nutricionales del embrión aumenta. En mujeres y en modelos animales ya se han determinado alteraciones en el metabolismo lipídico asociadas con un mayor riesgo de infertilidad. Un aumento en los niveles de colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad (HDL) y apoproteína (apoA1) se asocian con parto prematuro en mujeres afroamericanas (Chen y cols. 2017).

⁶ Ver glosario.

⁷ Ver glosario.

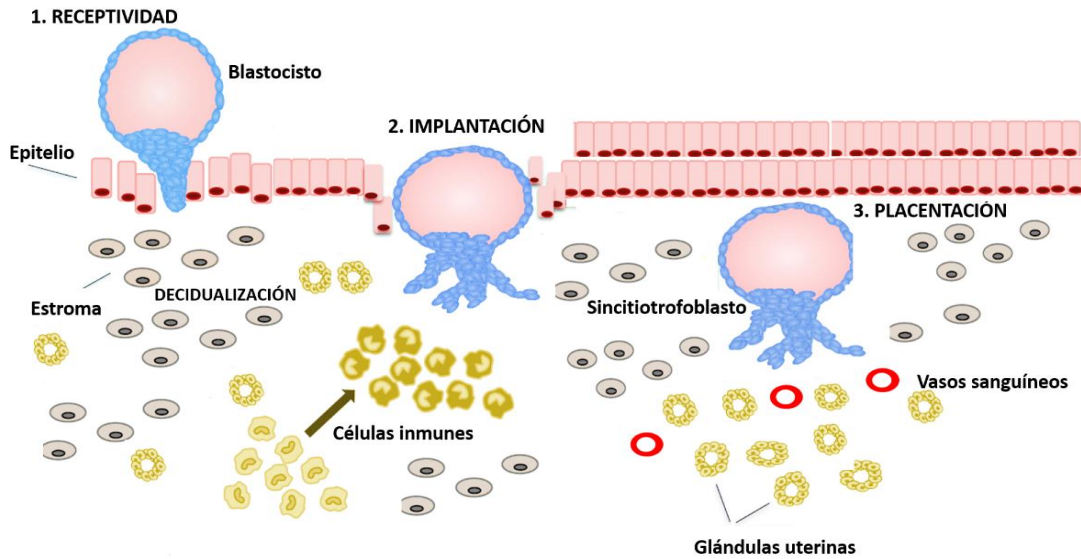


Figura 3. Útero y etapas de la gestación en el humano (receptividad, implantación y placentación). 1) El blastocisto tiene contacto con el epitelio uterino e inicia el proceso de decidualización. 2) El estroma recluta células inmunes, se llena de vasos sanguíneos y las glándulas uterinas secretan nutrientes para el crecimiento y desarrollo del embrión. 3) La invasión del sincitiotrofoblasto dentro del útero da origen a la placenta y nutrir al embrión (figura modificada de Gardner 2015).

Ácidos grasos (FAT) y triglicéridos (TAG). En la célula, la gota lipídica está formada por fosfolípidos, TAG y ésteres de colesterol. La formación de los FAT es a partir de la lipólisis. El mecanismo consiste en la degradación de los TAG por acción de la enzima TAG lipasa para formar tres moléculas de FAT y una de glicerol. La síntesis de los FAT ocurre en el citoplasma y su oxidación en la mitocondria. Los FAT se forman a partir de la conversión de la acetil CoA por la acetil CoA carboxilasa, la ácido graso sintasa forma a los FAT que se transportan hacia el interior de la célula a través de la proteína transportadora de ácidos grasos (FABP) o de CD36. En la mitocondria, los FAT entran en forma de acil-CoA y acilcarnitina. La carnitina palmitoiltransferasa transporta a los FAT desde el citosol a la membrana para su β -oxidación (Ojuka y cols. 2016). En el endometrio, los FAT nutren al embrión y participan en la proliferación celular en respuesta a los estrógenos durante la decidualización (Pizer y cols. 1997); mientras que una menor cantidad de FAT disminuye el número de implantaciones (Dunning y cols. 2010). Los FAT se pueden conjugar con esfingosinas para formar ceramidas. Las ceramidas actúan como segundos mensajeros en la señalización celular del endometrio, inducen la secreción de la gonadotropina coriónica humana (hCG), el crecimiento celular, diferenciación y apoptosis de las células del sincitiotrofoblasto. Sin embargo, la acumulación excesiva de ceramidas conduce a la

apoptosis del trofoblasto y procesos inflamatorios del útero (Singh y cols. 2012; Melland-Smith y cols. 2015). En el miometrio, las ceramidas pueden activar a las prostaglandinas e inducir la contracción muscular (Srivastava y cols. 2007). Las prostaglandinas, derivados de los FAT, se localizan en el epitelio, estroma, glándulas, embrión, células inmunes y músculo. Favorecen la implantación del embrión, decidualización del estroma, crecimiento del blastocisto, reclutamiento de leucocitos, invasión del trofoblasto y remodelación de la matriz extracelular (Salleh 2014). Los FAT y sus derivados son capaces de activar a receptores nucleares involucrados con el metabolismo lipídico. El receptor de proliferación y peroxisomas (PPAR) localizado en el útero y blastocisto, favorece la implantación, diferenciación del trofoblasto, transporte materno-fetal, procesos anti-inflamatorios y angiogénesis en la placentación (Lendvai y cols. 2016). En el miometrio, el receptor de prostaglandinas (EP1-4) induce la contracción durante el parto (Konopka y cols. 2012).

Colesterol y lípidos asociados. El colesterol es un componente estructural de la membrana celular involucrado en su integridad y fluidez, eventos de señalización y precursor de compuestos como hormonas esteroideas y ácidos biliares (Iqbal y Hussain 2009). Las dos principales fuentes del colesterol se derivan de la captación de colesterol mediante el receptor lipoproteína de baja densidad (LDL-R) y la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). La síntesis *de novo* del colesterol inicia por la acetil-CoA a través de una serie de más de 30 reacciones enzimáticas. El mecanismo comienza con la síntesis de pirofosfato de isopentaenilo, la unidad de síntesis fundamental del colesterol, seguida de la condensación de seis moléculas de pirofosfato de isopentaenilo para formar escualeno, y este último se cicla para formar lanosterol que después de una serie de reacciones se convierte en colesterol (Ačimovič y Rozman 2013; Woollett y Heubi 2016; Figura 4). El colesterol es un precursor de hormonas esteroideas, oxisteroles y sales biliares. Dichas moléculas son precursoras y moduladoras del metabolismo a través de la activación de algunos receptores nucleares como el receptor homólogo del hígado (LXR), receptor del hígado 1 (LRH-1), receptor de farnesoides (FXRs), receptor de pregnano X (PXR) y PPARs (Cave y cols. 2016). En el útero, dichos ligandos y receptores nucleares se encuentran en células del endometrio, miometrio, blastocisto y placenta (Song y cols. 2008; Mouzat y cols. 2013; Pendzialek y cols. 2016). Más detalles sobre el lanosterol y el farnesol serán dados en la sección de antecedentes.

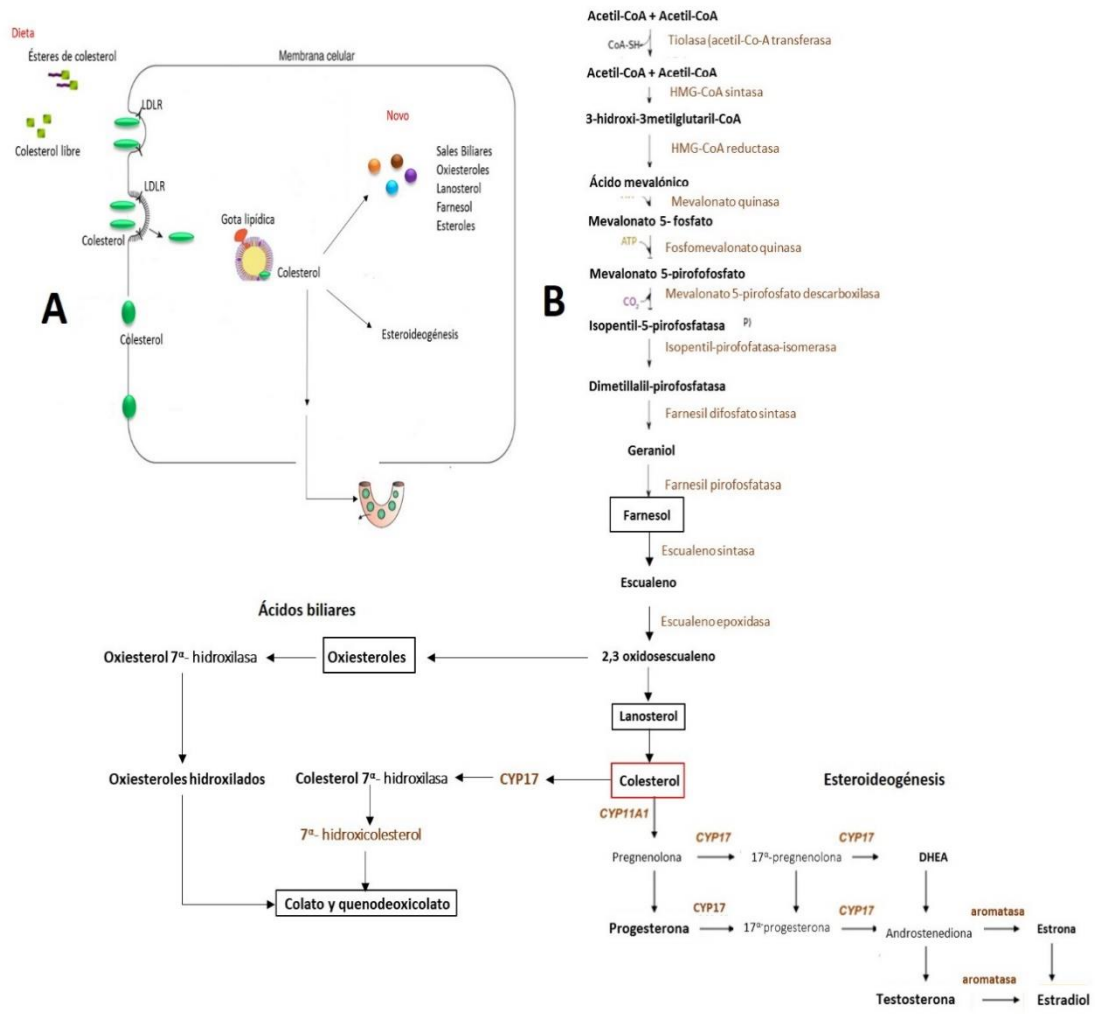


Figura 4. A) El colesterol es adquirido por la dieta o por la síntesis *de novo*. Es una molécula que forma parte de la estructura de la membrana celular, precursora de la síntesis de las hormonas esteroides, ácidos biliares y de metabolitos (sales biliares, oxiesteroles y esteroles). El colesterol es introducido a la célula por el LDL-R y se puede almacenar como gota lipídica o irse a la circulación sanguínea. **B)** La síntesis *de novo* del colesterol inicia a partir de la ruta del mevalonato mediante una serie de reacciones enzimáticas. La acetil-CoA inicia la biosíntesis, la etapa limitante de la velocidad de síntesis se produce por la 3-hidroximetil-3- glutaril-CoA que se convierte en ácido mevalónico que mediante una serie de reacciones enzimáticas forma al geraniol, farnesol y escualeno que se cicla para generar lanosterol. La primera reacción para formar al colesterol a partir del lanosterol es catalizada por la escualeno epoxidasa. Entonces el colesterol sintetizado es utilizado para la síntesis de hormonas esteroides y ácidos biliares. Hidroximetil-glutaril- CoA (HMG-CoA), colesterol 11- α hidroxilasa (CYP11A1), colesterol 7- α hidroxilasa (CYP17), dehidroepiandrosterona (DHEA).

2. ANTECEDENTES

2.1 Hipotiroidismo y gestación

El embarazo representa un desafío para la glándula tiroides, las diversas variaciones hormonales y la mayor demanda metabólica que ocurren durante la gestación afectan la función tiroidea. Las mujeres embarazadas entran en un estado hipermetabólico, tienen ajustes endocrino-metabólicos debido a un aumento de los estrógenos, progesterona, hormona gonadotropina coriónica (hCG), prolactina y hormonas tiroideas, ocurren cambios que están relacionados con una mayor demanda metabólica, aumento en la concentración de la tiroglobulina, estimulación de la TSH por la hCG y mayor transporte de la tiroxina, T4 y T3 hacia el feto. En los primeros meses, el transporte de T4 a través de la placenta se aumenta para garantizar la formación y desarrollo fetal. La concentración de las hormonas tiroideas aumenta hasta un 50% en la 6^{ta} y 8^{va} semana de gestación. Los valores normales de TSH en la gestación en el primer mes son de 0.1 a 2.5 mUI/L, en el segundo de 0.2 a 3.0 mUI/L y en el tercero de 0.3-3.0 mUI/L. Durante el primer trimestre, la hCG se aumenta similar a la TSH. Debido a esto tiene la capacidad de estimular a la tiroides, lo que produce mayores niveles de T3 y T4, y menores de TSH hasta la 15^{ava} semana (Ghanbari y Ghasemi 2017; Bucci y cols. 2017; Tingi y cols. 2016).

En la gestación, existen diversos factores genéticos, químicos, dietéticos, inmunológicos y hormonales que provocan hipotiroidismo en la mujer. Mutaciones en diversos genes (TSHR, DUOX2, DUOXA, TPO, PDS, TG, NKX2.1, JAG1, GLIS3, FOXE1, PAX-8) provocan hipotiroidismo congénito en hijos de mujeres con partos prematuros (Kasahara y cols. 2013; Vigone y cols. 2015). Una deficiencia de yodo y la obesidad también causa un hipotiroidismo materno y fetal (Zimmermann 2012). Un aumento de los estrógenos, progesterona, hCG, prolactina y hormonas tiroideas dificulta llevar a término un embarazo (Molitch y cols. 1993). Pero la presencia de anticuerpos anti-tiroideos es la causa más común de hipotiroidismo. Los cambios fisiológicos del sistema inmune de la madre durante el embarazo influyen en el metabolismo de las hormonas tiroideas. Mujeres con abortos espontáneos tienen una mayor presencia de anticuerpos anti-tiroideos (Palagiano y cols. 2006). Sin embargo, la principal causa del hipotiroidismo es por presencia de anticuerpos

anti-tiroideos que afectan el 20% de las mujeres embarazadas. Estudios recientes determinan que el hipotiroidismo subclínico puede afectar del 0.25 al 2.5% de las mujeres embarazadas (Ghanbari y Ghasemi 2017; Bucci y cols. 2017; Tingi y cols. 2016).

En la gestación, el hipotiroidismo se asocia con abortos, anemia e hipertensión, preclamsia, desprendimiento de la placenta, hemorragia y parto prematuro, depresión posparto, muerte fetal intrauterina, bajo peso al nacer y una disfunción en el desarrollo neurológico infantil (Nazarpour y cols. 2015). Por otro lado, mujeres con abortos espontáneos tienen una disminución en los TR α 1 y TR β 1 de la decidua (Ziegel Müller y cols. 2015). En modelos animales, el hipotiroidismo retrasa la implantación del blastocisto, disminuye la vascularización, la infiltración de células inmunes y la apoptosis de las células de la placenta, afecta el peso y longitud abdominal de los fetos aumentando las reabsorciones fetales (Inuwa y Williams 1996; Bolarinwa y Olaleye, 1997; Silva y cols. 2012). Además, el hipotiroidismo disminuye la expresión de receptores de estrógenos en el útero (Keeping y cols. 1982), y afecta el metabolismo lipídico durante la decidualización e implantación del embrión en rata (Banovac y cols. 1986). En la coneja, el hipotiroidismo no afecta el tamaño, peso y longitud de los fetos, el número de reabsorciones fetales e implantes ni el contenido de triglicéridos en el tejido del útero sitio no implante e implante (Zepeda-Pérez 2018). El hipotiroidismo también disminuye la ingesta de alimento y el peso corporal de las madres, la talla de las crías, el contenido de triglicéridos y colesterol total en el útero y provoca una hiperplasia uterina por aumento de la expresión de 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β -HSD; Rodríguez-Castelán y cols. 2018).

2.1.1 TRs y TSHR en la gestación

Las hormonas tiroideas son esenciales durante el embarazo. El endometrio cuenta con la D2 que participa en la conversión de T4 a T3 (Choi y cols. 2006). La presencia de esta enzima aumenta al inicio de la gestación para suplir la cantidad de T3 requerida por el tejido uterino. También el útero tiene la D3 que degrada a la T3. Una disminución local de la T3 es crítica para la decidualización de las células del estroma durante la gestación temprana. Los TRs se han localizado en el endometrio y miometrio de diversas especies como en el mono, mujeres y conejas (Aghajanova y cols. 2011; Rodríguez-Castelán y cols. 2017), los cuales se

expresan diferencialmente en epitelio luminal y en células deciduales durante el embarazo (Deng y cols. 2014), particularmente durante la implantación y placentación (Colicchia y cols. 2014).

Implantación. El TR α está involucrado en la formación y crecimiento del blastocisto (Vattai y cols. 2015). El TSHR, TR α 1 y TR β 1 junto con la hormona luterinizante (LH) aumentan en el epitelio luminal y glandular en los días 6 y 9 de gestación. Durante la implantación, permiten que los pinopodios se adhieran al blastocisto con el epitelio. Una alteración en la expresión de TR α y TR β disminuyen el número de sitios de implante en la coneja (Colicchia y cols. 2014). El TR α , TR β 1 y TSHR se expresan mayoritariamente en el endometrio receptivo, una menor expresión se asocia con pérdida temprana del embarazo (Aghajanova y cols. 2011; Ziegelmüller y cols. 2015).

Placentación. El TSHR es activado por la hGC en las células trofoblásticas. El sincitiotrofoblasto expresa transportadores de hormonas tiroideas MCT8, MCT10, OATP4A1 y OATP1A2. La acumulación de T3 modula la proliferación, apoptosis e invasión del trofoblasto (Vasilopoulou y cols. 2010). Durante la decidualización, los TRs están involucrados con el sistema inmune, pues las células natural killer (NK; CD56) y macrófagos (CD14) expresan TR α 1 y TR β 1 (Vasilopoulou y cols. 2014). Además, una menor expresión del RNAm del TSHR y TR β afecta la placentación (Saben y cols. 2014).

2.2 FXR y embarazo

Como ya describimos en la sección de introducción, los lípidos son importantes como fuente de energía y como moléculas señalizadoras durante toda la gestación. Los receptores de farnesoides son importantes en la señalización de diversos lípidos como veremos a continuación.

Lanosterol y receptor de farnesoides β (FXR β). Uno de los precursores de colesterol, el lanosterol, es producido por la enzima lanosterol 14 alfa-desmetilasa (CYP51A1), una enzima catalítica durante colesterogénesis y es indispensable en la gestación. Dicha enzima es modulada por la hGC sérica y la LH (Yoshida y cols. 1996; Wang y cols. 2010), y está presente en el blastocisto (Strömstedt y cols. 1996) y en la placenta (Rozman y cols. 1996). Se desconoce si dicha enzima está presente en el útero. El bloqueo de la enzima y la subsecuente disminución del lanosterol afecta la decidualización e

implantación, síntesis de estrógenos, la regulación de especies reactivas de oxígeno, desarrollo del blastocisto, desarrollo fetal y modulación de genes relacionados con la ruta biosintética del colesterol (Strömstedt y cols. 1996; Chevy y cols. 2005; Song y cols. 2008; Watanabe y cols. 2013; Lee y cols. 2016). El lanosterol también está involucrado con el desarrollo del embrión en porcino (Yoshida y cols. 2005). El lanosterol es el ligando endógeno del FXR β (Otte y cols. 2003).

Farnesol, oxisteroles, sales biliares y prostaglandinas y FXR α . El FXR α se localiza en todos los tipos celulares del útero (Anaya-Hernández y cols. 2014). Dicho receptor une farnesol, oxisteroles, sales biliares y prostaglandinas (Cuevas y cols. 2015). El farnesol es un activador de estrógenos y hormona tiroidea en la placenta (Guan y cols. 2003), y aumenta el crecimiento de las células de placenta (Oufkir y Vaillancourt 2011). Los oxisteroles favorecen la decidualización, invasión y diferenciación del citotrofoblasto, el transporte materno-fetal de los lípidos, disminuyen la secreción de la hGC y están implicados en la remodelación de las arterias uterinas (Fournier y cols. 2008). En el miometrio, los oxisteroles evitan la acumulación del colesterol y alteración en la contracción uterina (Mouzat y cols. 2013). Las sales biliares son moléculas señalizadoras e inflamatorias. Una alta concentración de ellas provoca apoptosis del trofoblasto⁸ (Chiang y cols. 2001), parto prematuro o muerte fetal intrauterina (Milona y cols. 2010; Diken y cols. 2013). La activación FXR α por análogos de sales biliares como el W450 reduce la apoptosis del trofoblasto y el estrés oxidativo en la placenta (Wu y cols. 2015). La 6-ceto-prostaglandina 1α favorece la decidualización (Rival y cols. 2009; Brosnihan y cols. 2016); la PGE 2 aumenta la expresión del receptor de integrina $\alpha v\beta 3$ que une hormonas tiroideas y favorece la adherencia del blastocisto al endometrio (Huang y cols. 2017) y participa en la contracción del miometrio (Kandola y cols. 2014).

2.3 Hipotiroidismo vs. CYP51A1 y receptores FXRs

Respecto al FXR β no hay información que revele alguna relación entre este receptor y las hormonas tiroideas. Sin embargo, las hormonas tiroideas a través de TR β modulan la

⁸ Ver glosario.

regulación que tiene la FSH sobre la CYP51 en las células de la granulosa (Liu y cols. 2017). El hipotiroidismo reduce la expresión de CYP51A1 en el páncreas (Rojas-Juárez 2019).

Por su parte, existe una relación muy estrecha entre las hormonas tiroideas y el FXR α . Las hormonas tiroideas son capaces de regular la expresión de FXR α y, a su vez, la activación de este receptor regula la expresión de TRs y desyodasas (Watanabe y cols. 2006; Cuevas y cols. 2015). El hipotiroidismo disminuye la expresión de FXR α en las células de la región útero-tubal del oviducto en la coneja (Méndez-Tepepa y cols. enviado).

3. JUSTIFICACIÓN

El hipotiroidismo afecta la decidualización del endometrio y la implantación del trofoblasto en el útero (Bolarinwa y Olaleye 1997; Silva y cols. 2014). Una de las posibles explicaciones son los cambios en el contenido o acciones de los lípidos en el útero, ya que se conoce que muchos eventos reproductivos llevados a cabo en el útero (implantación, placentación y desarrollo fetal) dependen de los lípidos y sus receptores (Dunning y cols. 2010; Belaz y cols. 2016) y las hormonas tiroideas son conocidas por ejercer un control sobre el metabolismo lipídico y la expresión de receptores que unen lípidos, FAT y derivados o precursores del colesterol como el lanosterol (Song y cols. 2008; Ullah y cols. 2007; Mouzat y cols. 2013). De tal manera que es posible que el hipotiroidismo pueda regular la cantidad de lípidos en suero e hígado (Zepeda-Pérez 2018) y/o la expresión de algunos receptores involucrados en las acciones de los lípidos en el útero como PPAR γ (Espindola-Lozano y cols. en escritura).

Durante la gestación, el lanosterol, farnesol, oxiesteroles, sales biliares y prostaglandinas son moléculas lipídicas importantes (activan a FXR α y β) involucradas en las funciones del útero, pues participan en la implantación, decidualización, invasión del trofoblasto, formación de la placenta y contracción muscular. Respecto a la expresión de los receptores, en la presente tesis se analizará la influencia del hipotiroidismo en la expresión de los FXRs (α y β) en el útero. Tal interés está basado en el efecto que tiene el hipotiroidismo en disminuir la inmunoreactividad de FXR α en el oviducto (Méndez-Tepepa y cols. enviado), lo que nos hace suponer que el útero de hembras hipotiroideas también podría mostrar una menor expresión de este receptor. Si bien no existen estudios que relacionen a las hormonas tiroideas

con el FXR β , excepto con la actividad de la enzima CYP51A1 en ovario (Liu y cols. 2017), el hipotiroidismo si aumenta el contenido de colesterol en suero y disminuye en tejido uterino de la coneja no gestante (Zepeda-Pérez 2018). Esto sugiere que posiblemente el precursor de colesterol, el lanosterol que es, a su vez, un regulador de la síntesis de colesterol (Ness 2015), podría ser afectado. Si esto fuera así, entonces la expresión del FXR β en el útero podría estar afectada por el hipotiroidismo. De esta manera tenemos dos intereses, analizar cómo cambia la expresión de FXR α y β a lo largo del embarazo y determinar si el hipotiroidismo modifica la expresión de dichos receptores. Además de analizar la expresión de CYP51A1 como indicador de la presencia de lanosterol.

4. HIPÓTESIS

El hipotiroidismo reduce la expresión de FXR α , FXR β y CYP51A1 en el útero durante los periodos de G0, G5 (implantación), G10 (placentación) y G20 (degeneración del cuerpo lúteo) en la coneja.

Predicciones

1. La gestación disminuye los niveles de hormonas tiroideas, pero la administración de metimazol los disminuye aún más.
2. La gestación aumenta la expresión de CYP51A1 en el útero, mientras que el hipotiroidismo lo disminuye.
3. La gestación aumenta la expresión de FXR α y β en el útero, mientras que el hipotiroidismo la disminuye.

5. OBJETIVOS

General

Determinar el efecto de la gestación y el hipotiroidismo en la expresión de FXR α , FXR β y CYP51A1 en el útero durante los periodos de G0, G5 (implantación), G10 (placentación) y G20 (degeneración del cuerpo lúteo) en la coneja.

Particulares

1. Cuantificar los niveles de hormonas tiroideas (T3 y T4) circulantes de conejas vírgenes y gestantes (5, 10 y 20 días) mediante quimioluminiscencia.
2. Cuantificar la expresión de FXR α en el útero de conejas vírgenes y gestantes (5, 10 y 20 días) mediante western blot.
3. Cuantificar la expresión de FXR β en el útero de conejas vírgenes y gestantes (5, 10 y 20 días) mediante western blot.
4. Cuantificar la expresión de CYP51A1 en el útero de conejas vírgenes y gestantes (5, 10 y 20 días) mediante western blot.
5. Determinar si el hipotiroidismo modifica la expresión del FXR α y β y CYP51A1 en el útero de conejas vírgenes y gestantes (5, 10 y 20 días).

6. METODOLOGÍA

Animales: Se utilizaron conejas adultas vírgenes y gestantes 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 ± 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 alimentados con alimento Purina y agua *ad libitum*. Para la realización de este proyecto se utilizaron 6 conejas controles e hipotiroideas para grupo, tanto vírgenes como grávidas (5, 10 y 20 días de gestación).

Inducción del hipotiroidismo. Se llevó a cabo mediante el tratamiento con el fármaco anti-tiroideo metimazol (Sigma), que se les administró en agua potable a una concentración de 0.02% durante treinta días (10 mg/kg; Anaya-Hernández y cols. 2015). Para el grupo gestante el tratamiento se ajustó a los 5,10 y 20 días de gestación. Al término del tratamiento, ambos grupos fueron anestesiados profundamente con pentobarbital sódico (60 mg/kg, Pfizer). Después del sacrificio con una sobredosis de anestésico, se extrajo una porción media de los úteros (sitios de no implante e implante), tanto izquierdos como derechos. Los úteros derechos fueron congelados para el posterior análisis de western blot.

Expresión del FXR α y β y de CYP51A1 en el útero. Para la preparación de los extractos totales de útero (conejas vírgenes y grávidas 5, 10 y 20 días), se tomó una porción (0.5 mg aproximadamente) de útero medio congelado virgen y de 5 días de gestación, útero medio no implante e implante de 10 y 20 días de gestación. El tejido fue macerado con un homogeneizador eléctrico utilizando buffer de lisis. Se agregó a la muestra un inhibidor de proteasas (sigma) y PMSF 100mM (fluoruro de fenilmetilsulfonilo). Posteriormente se centrifugaron durante 30 min a 13,400 rpm 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%. 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 5% y 0.02% tween-20 en PSB. Posteriormente las membranas se incubaron con el anticuerpo primario anti-FXR α (1:200; ABCAM) diluido en 1% de leche descremada en 0.02% de tween 20 PBS durante 16-18 h a 4°C. Después se incubaron con el anticuerpo

secundario mouse anti-goat IgG-HRP (1:2000; SANTA CRUZ, BIOTECHNOLOGY) diluido en 1% de leche descremada y 0.02% de tween-20 PBS durante 2 h a temperatura ambiente. Para anti-FXR β (Rabbit polyclonal; 1:400; ABCAM) diluido al 1% de leche descremada en 0.2% de tween 20 PBS también se incubaron durante una noche, para posteriormente agregar el anticuerpo secundario goat anti-Rabbit IgG-HRP diluido en 1% de leche descremada y 0.2% de tween-20 PBS durante 2 h a temperatura ambiente (1:10,000; SANTA CRUZ, BIOTECHNOLOGY). Para determinar la enzima lanosterol 14 α -desmetilasa se utilizó el anticuerpo primario anti CYP51A1 (Rabbit policlonal; 1:50; ABCAM) diluido al 1% de leche descremada en 0.2% de tween 20 PBS que también se incubo durante una noche, para posteriormente agregar el anticuerpo secundario goat anti-rabbit IgG-HRP diluido en 1% de leche descremada y 0.2% de tween-20 PBS durante 2 h a temperatura ambiente (1:10,000; SANTA CRUZ, BIOTECHNOLOGY). Finalmente, se revelaron las bandas inmunoreactivas utilizando un kit de quimioluminiscencia (Super Signal West Pico, Pierce) en un equipo de quioluminiscencia (Sigma). Las bandas se visualizaron y midió su intensidad por densitometría usando el programa Image J. El patrón de bandas teñidas con rojo de Ponceu fue usado como control en el análisis del western blot.

Inmunohistoquímica del FXR α y β en el útero. Los úteros medios izquierdos (de sitio no implante e implante) de conejas controles e hipotiroideas vírgenes y grávidas (5,10 y 20 días) 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 transversales de útero 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 de una 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-FXR α (1:50; SANTA CRUZ, BIOTECHNOLOGY) en una cámara húmeda a 4°C durante una noche. Seguido de ello, los cortes se incubaron con el anticuerpo secundario donkey anti-goat biotinilado (1:200; SANTA CRUZ, BIOTECHNOLOGY) durante dos horas a temperatura ambiente. Para anti-FXR β (1:100; ABCAM) de igual manera se incubaron los cortes durante una noche con el anticuerpo primario anti-FXR β , para posteriormente agregar el anticuerpo

secundario goat anti-rabbit IgG (1:200; SANTA CRUZ, BIOTECHNOLOGY) y dejar incubar durante 2 h a temperatura ambiente. Para la enzima lanosterol desmetilasa los cortes se incubaron con el primer anticuerpo anti-CYP51A1 (1:50; ABCAM) en una cámara húmeda a 4°C durante una noche. Seguido de ello, los cortes se incubaron con un anticuerpo secundario goat anti-rabbit IgG (1:200; SANTA CRUZ, BIOTECHNOLOGY) y dejaron 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). Finalmente, se utilizó la tinción de hematoxilina de Mayer para contrastar el marcaje de los núcleos inmunoreactivos. Los cortes se deshidrataron en alcoholes a concentraciones ascendentes y se cubrieron con Cytoseal TM 60 y un cubreobjetos. Para determinar la inmunolocalización y descripción del FXR α , FXR β y CYP51A1 en el útero, se observó al tejido con un microscopio de luz visible (Nikon ECLIPSE E600) y se tomaron microfotografías con una cámara OLYMPUS de 5.1 mega pixeles. Para ello, se tomaron fotos del epitelio, submucosa, capa muscular y células inmunes a 100x.

Análisis estadístico. Para la comparación de la expresión del FXR α , FXR β y CYP51A1 en el útero de conejas controles e hipotiroideas tanto vírgenes y grávidas se aplicó una ANOVA de 2 vías para útero sin implante y t-Student para útero con implante. En todos los casos se usó el programa de análisis estadístico Prisma para Windows, versión 5.0.

7. RESULTADOS

7.1 Hormonas tiroideas y gestación

Encontramos que la gestación disminuye la concentración de T4, pero no de T3 en la coneja (Figura 5 A). El tratamiento con el metimazol disminuye de manera gradual ambas hormonas. El hipotiroidismo disminuye la T4 y T3 en el día G0, mientras que en el día G20 únicamente se disminuye la T3 en la coneja gestante (Figura 5-B).

7.2 Expresión de CYP5A1

Se determinó la inmunolocalización de CYP51A1 en el epitelio luminal, submucosa y glándulas uterinas del útero no gestante (Figuras 6A-C). Mientras que en el útero implante de la coneja grávida la inmunolocalización de CYP51A1 se localizó específicamente en el epitelio luminal, glándulas uterinas, submucosa, placenta, células gigantes de la placenta, células del espongiotrofoblasto y tubo neural durante la placentación y degeneración del cuerpo lúteo (Figuras 6 D-R). Localizamos una menor inmunolocalización de la enzima en la submucosa durante la placentación comparado con el grupo control en el útero con implante de la coneja hipotiroidea (Figuras 6 D-G). Así como en la degeneración del cuerpo lúteo en el útero sin implante (Figuras 6 L-M). Determinamos la expresión de CYP51A1 en el útero de la coneja no gestante, durante la implantación, placentación y degeneración del cuerpo lúteo (en útero sin y con implante) en la coneja grávida, tanto control como hipotiroidea. Se utilizó la fracción total del ovario como control positivo (Figuras 7A-E). Encontramos que el hipotiroidismo aumenta la expresión de CYP51A1 en la implantación y disminuye en la placentación en el útero en sitios sin implante (gestante 5 y 10 días; Figura 7B). Mientras que en el útero con implante disminuye durante la degeneración del cuerpo lúteo (gestante 20 días; Figura 7-D).

7.3 Expresión de FXR β

El FXR β está presente en el epitelio y submucosa en la coneja no gestante. Durante la implantación, placentación y degeneración del cuerpo lúteo en la coneja grávida. En estos dos últimos periodos, el FXR β se encuentra tanto en útero con implante (incluye placenta) como en el útero sin implante (Figura 8). En cuanto a la expresión del receptor determinamos su localización en el útero de la coneja no gestante, durante la implantación, placentación y degeneración del cuerpo lúteo (útero con y sin implante) en la coneja grávida, tanto control como hipotiroidea. Se utilizó la fracción total del ovario como control positivo (Figuras 9A-E). Encontramos que el hipotiroidismo disminuye la expresión del receptor en la coneja no gestante (Figura 9 B) y aumenta durante la placentación en el útero con implante en la coneja grávida (Figura 9 C).

7.4 Expresión de FXR α

El FXR α está presente en el epitelio y submucosa en la coneja no gestante, así como en la coneja grávida durante la implantación, placentación y degeneración del cuerpo lúteo. En estos dos últimos periodos, el FXR α se encuentra tanto en el útero con implante (incluye placenta) como sin implante (Figura 10). Respecto a la expresión del FXR α mediante western blot no se pudo establecer debido al escaso marcaje observado (Figura 11 A).

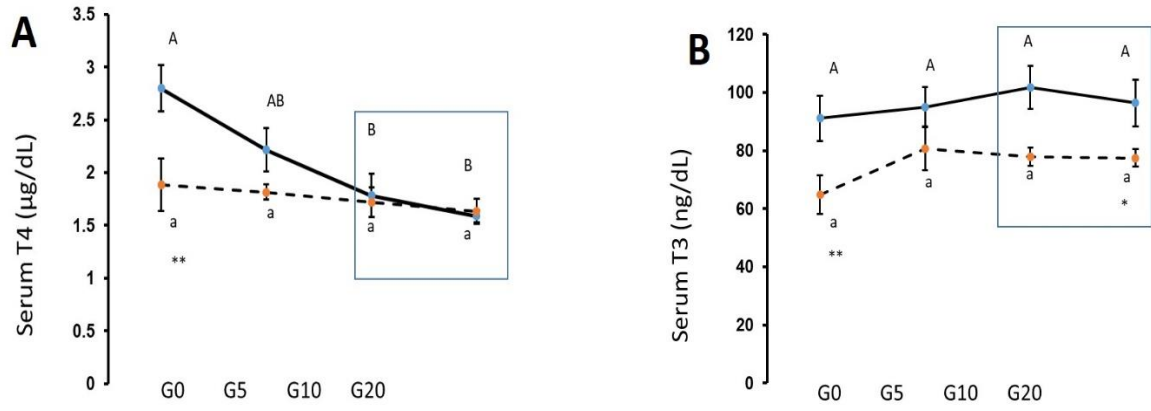


Figura 5. Determinación de los niveles de las hormonas tiroideas en la gestación de la coneja. La gestación disminuye la concentración de T4, pero no de T3. El tratamiento con MMI disminuye de manera gradual ambas hormonas. El hipotiroidismo disminuye la T4 y T3 en el día G0, mientras que en el día G20 disminuye únicamente la T3 en la coneja gestante.

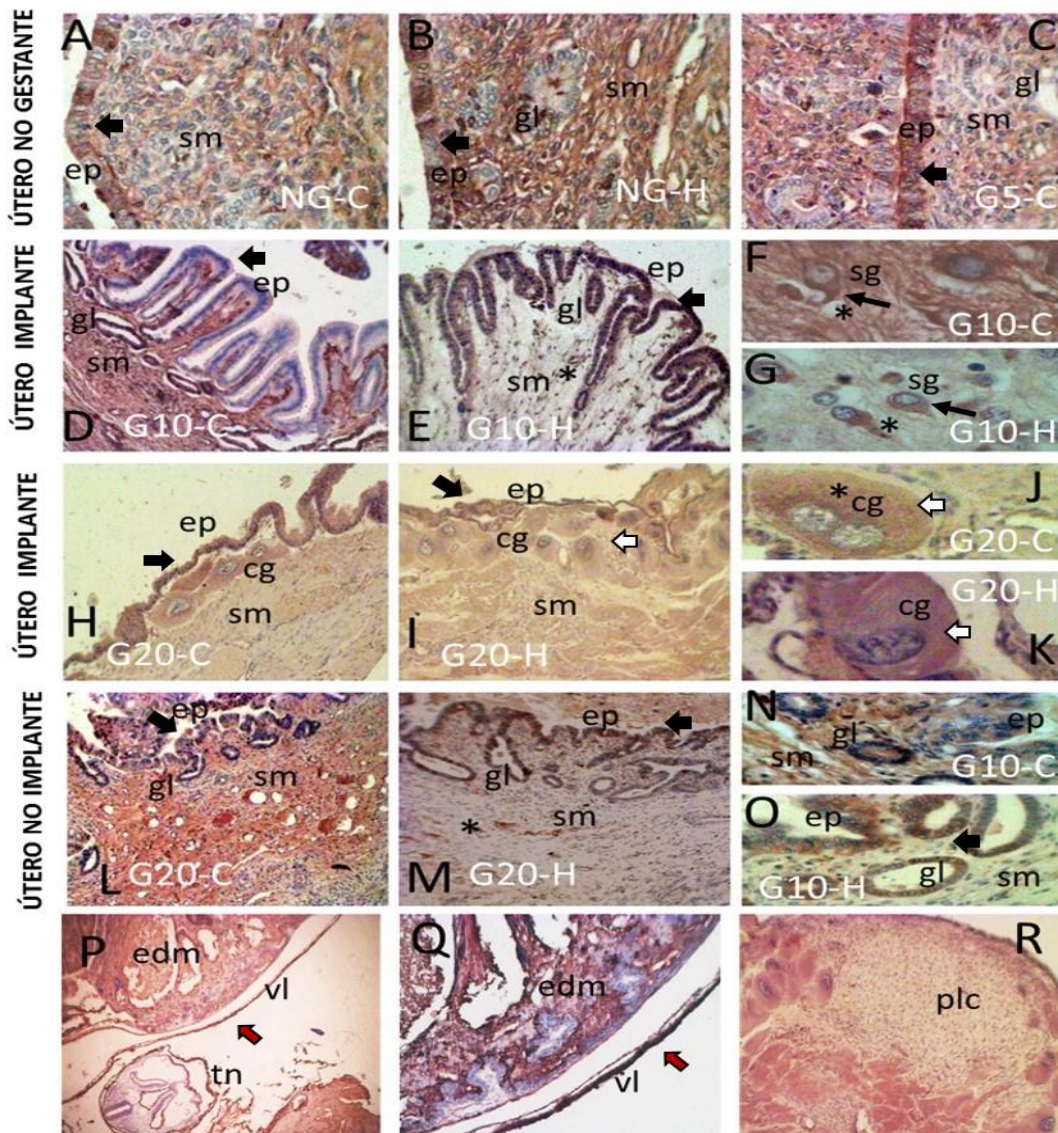


Figura 6. Inmunolocalización de la enzima CYP51A1 en el útero no gestante y grávida de la coneja control e hipotiroideo. En la coneja no gestante y grávida de 5 días, la enzima únicamente se inmunolocaliza en el epitelio, submucosa y glándulas uterinas. En la coneja grávida, la inmunolocalización de la enzima está presente en el epitelio, submucosa, glándulas uterinas, células gigantes (H-K), células espongiotrofoblasticas (F-G), placenta (R), tubo neural y endometrio. ep; epitelio, sm; submucosa, gl; glándulas uterinas, sg; células del espongiotrofoblastos, cg; células gigantes, edm; endometrio, tn; tubo neural, plc; placenta. NG-C; no gestante control, NG-H; no gestante hipotiroidea, G5-C; gestante 5 días control, G10-C; gestante 10 días control, G10 H; gestante 10 días hipotiroidea. G20-C; gestante 20 días control, G20-H; gestante 20 días hipotiroidea.

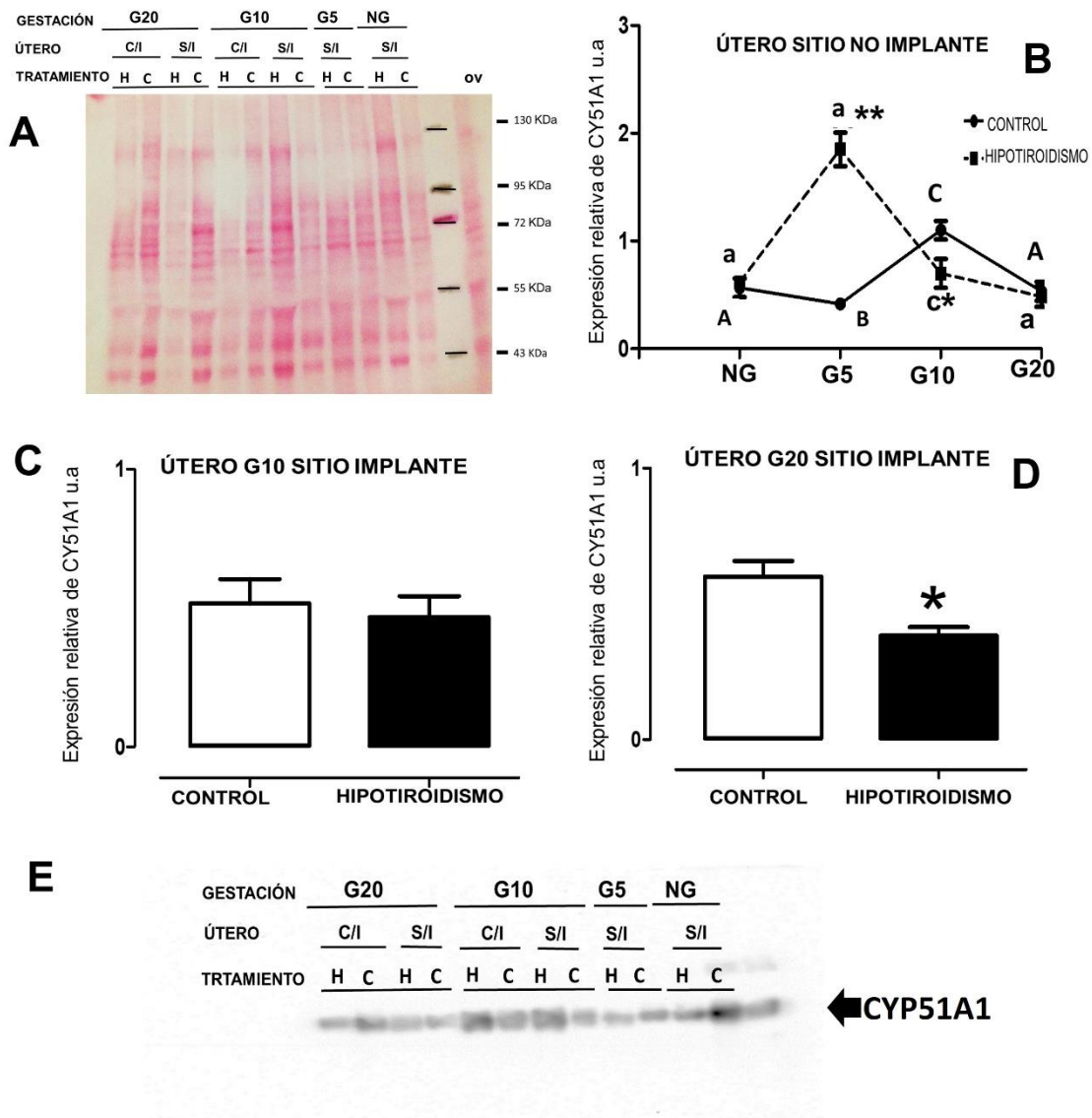


Figura 7. A) Membrana teñida con rojo de Ponceu que muestra el total de las proteínas usadas como control de carga en fracciones totales del útero no gestante y grávido durante la implantación (5 días de gestación; G5), placentación (útero no implante e implante al día 10 de gestación; G10) y degeneración del cuerpo lúteo (útero no implante e implante al día 20 de gestación; G20) de la coneja control e hipotiroidea. Se utilizó como control positivo el ovario. **B)** Cuantificación de CYP51A1 del útero sitio no implante de la coneja no gestante y grávida (5, 10 y 20 días de gestación). El hipotiroidismo aumenta la expresión de CYP51A1 en el útero durante la implantación (G5**) y disminuye durante la placentación (G10*) en el útero sitio implante de la coneja grávida. Factor tratamiento (F= 14,00875, P= 0.0006), factor gestación (F= 17,38581, P= <0.0001) e intersección (F= 34,15452, P= <0.0001). Análisis ANOVA-2 vías (n=6). **C y D)** Cuantificación de CYP51A1 en el útero sitio con implante de la coneja grávida a los 10 y 20 días de gestación. El hipotiroidismo disminuye la expresión de CYP51A1 en el útero con implante a los 20 días de gestación. Análisis Mann-Whitney (n=6). **E)** Expresión de CYP51A1 del útero sitio no implante e implante de la coneja no gestante y grávida, esta última durante las etapas de implantación, placentación y degeneración del cuerpo lúteo del grupo control e hipotiroideo. Ov (ovario); NG (no gestante); C (control), H (hipotiroidismo). KDa (kilodalton). 57 kDa es el peso de la proteína CYP51A1. Barras blancas (control), barras negras (hipotiroidismo).

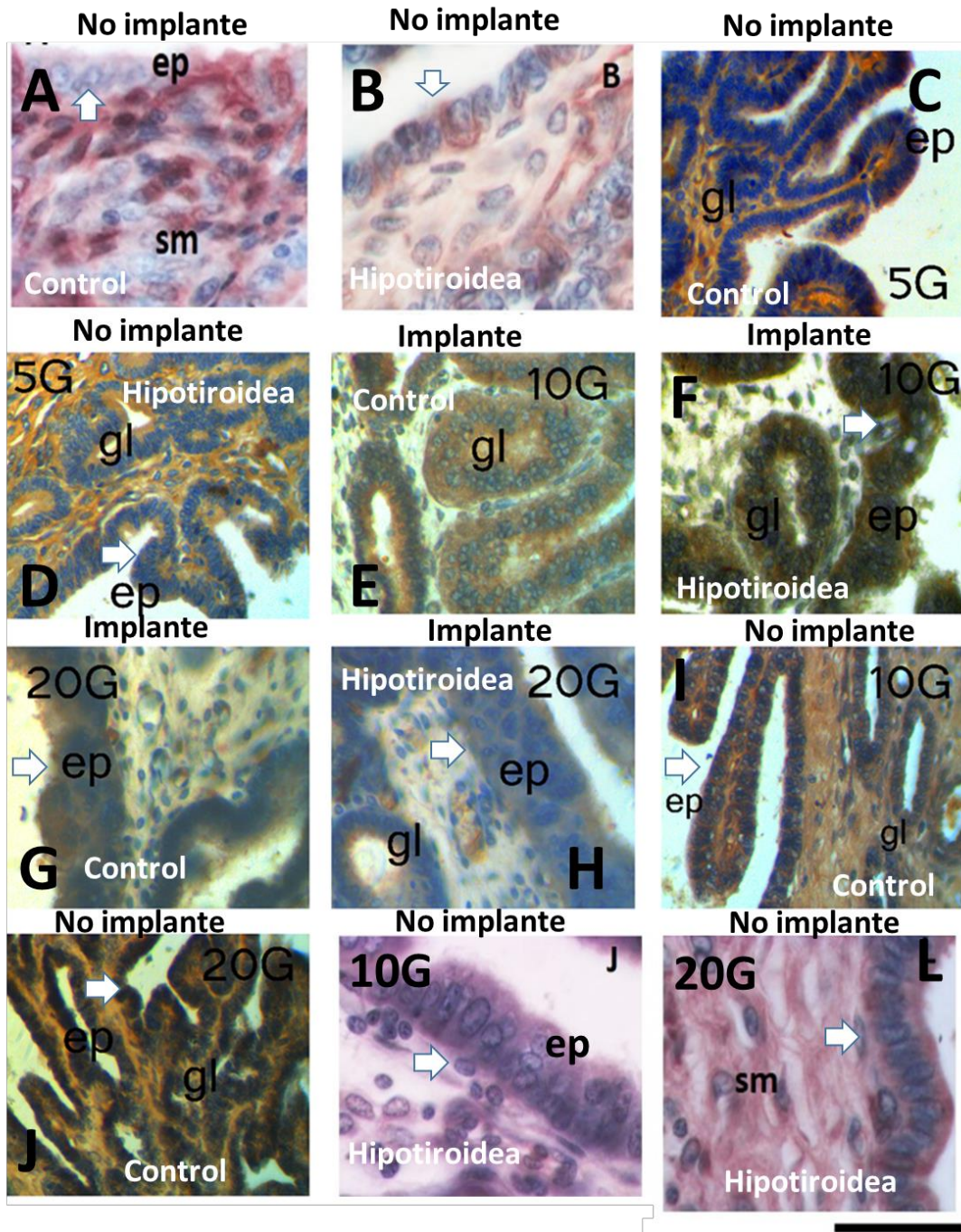


Figura 8. Inmunolocalización del receptor FXR β en el útero de la coneja no gestante y grávida control e hipotiroidea. La inmunolocalización del receptor está presente en el epitelio y submucosa del útero durante la implantación (útero no implante), placentación y degeneración del cuerpo lúteo (útero implante). ep; epitelio, sm; submucosa. NG; no gestante, 5G; 5 días de gestación, 10G; 10 días de gestación, 20G; 20 días de gestación. Escala: 100 μ m.

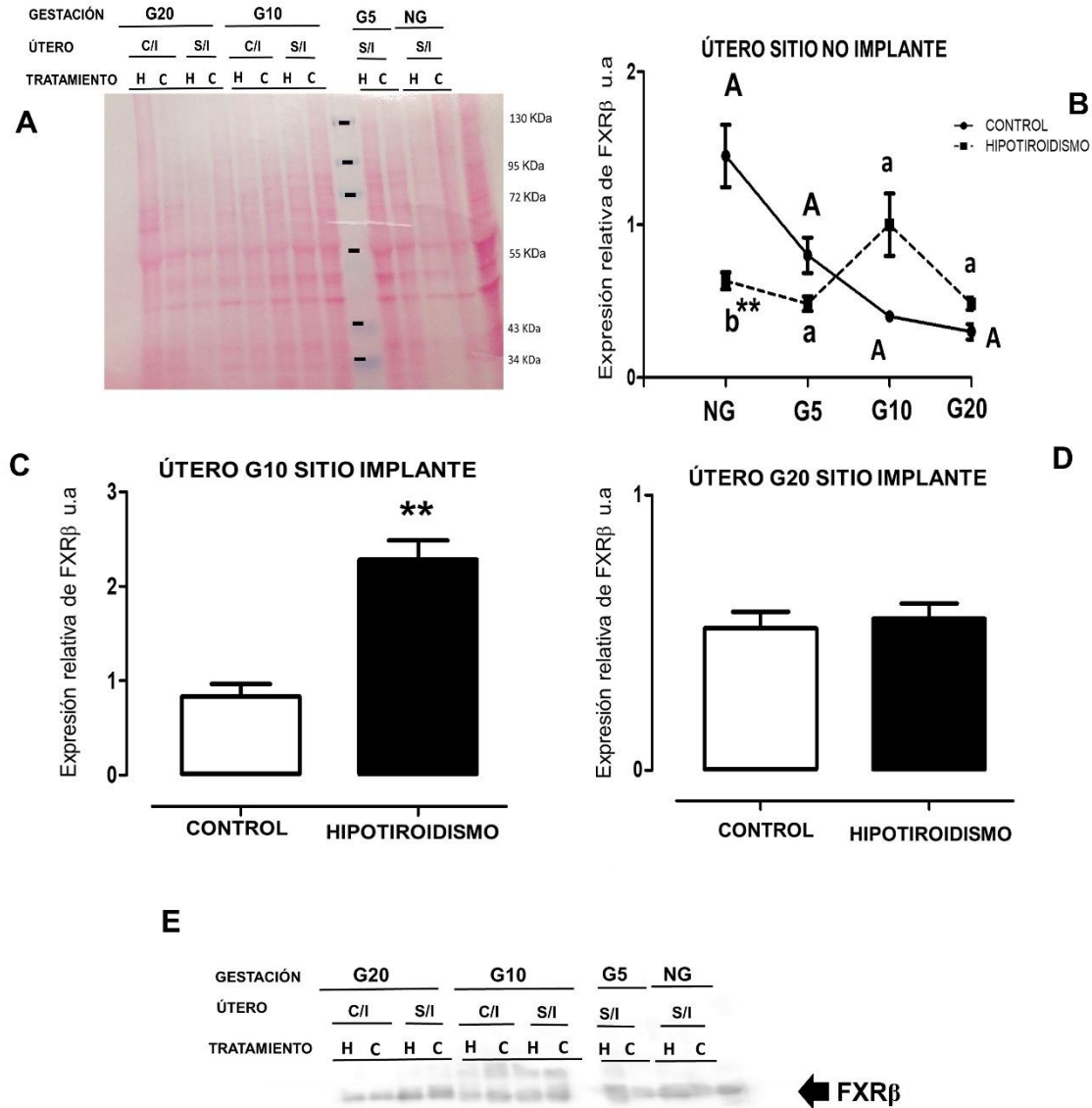


Figura 9. **A)** Membrana teñida con rojo de Ponceu que muestra el total de las proteínas usadas como control de carga en fracciones totales del útero no gestante y grávido durante la implantación (5 días de gestación; G5), placentación (útero no implante e implante al día 10 de gestación; G10) y degeneración del cuerpo lúteo (útero sitio no implante e implante al día 20 de gestación; G20) de la coneja control e hipotiroidea. Se utilizó como control positivo el ovario. **B)** Cuantificación del FXR β del útero sitio no implante de la coneja no gestante y grávida (5, 10 y 20 días de gestación). El hipotiroidismo disminuye la expresión del FXR β en el útero de la coneja no gestante ($F= 10.60349$, $P= <0.0001$) e intersección ($F= 13,93169$, $P= <0.0001$). Análisis ANOVA-2 vías ($n=6$). **C y D)** Cuantificación del FXR β en el útero sitio implante de la coneja grávida a los 10 y 20 días de gestación. **C)** El hipotiroidismo aumenta la expresión del FXR β en el útero implante a los 10 días de gestación. Análisis Mann-Whitney ($n=6$). **E)** Expresión del FXR β del útero de la coneja no gestante y grávida, esta última durante las etapas de implantación, placentación y degeneración del cuerpo lúteo del grupo control e hipotiroideo. Ov, ovario; NG, no gestante; C, control; H, hipotiroidismo; kDa, kilodalton. 46-51 kDa es el peso de la proteína FXR β . Barras blancas (control), barras negras (hipotiroidismo). Se cargaron 30 μ g de proteína y solo se cuantificaron las bandas localizadas en el peso correspondiente.

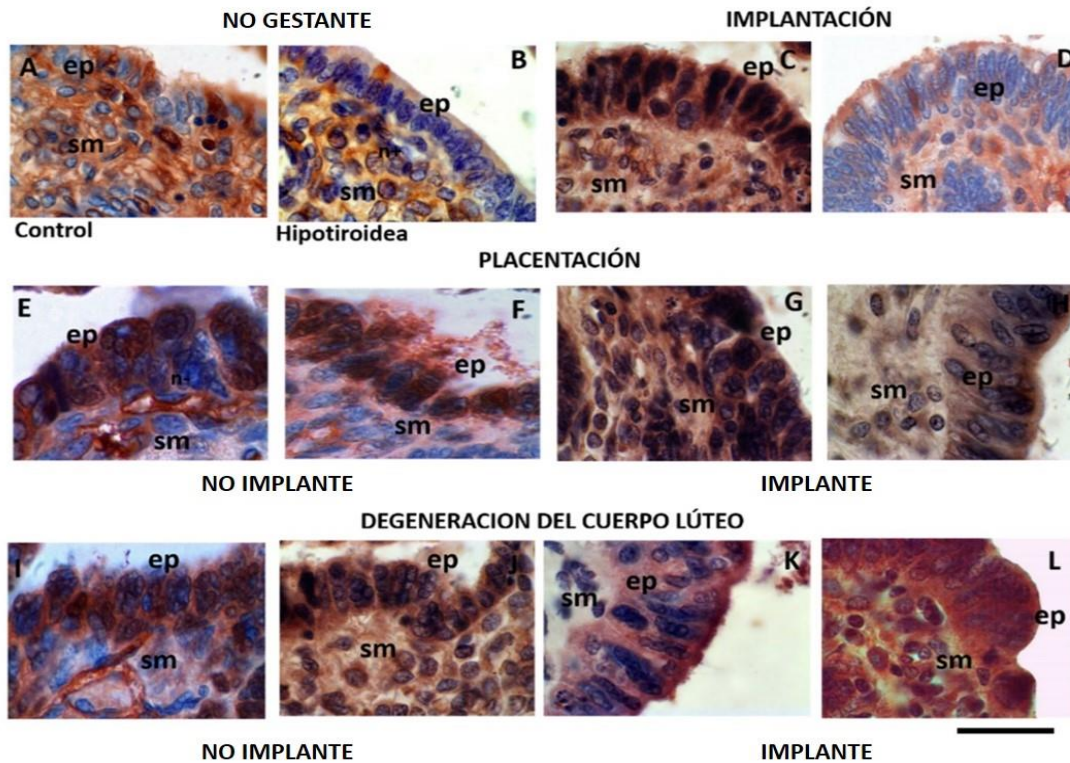


Figura 10. Inmunolocalización del receptor FXR α en el útero de la coneja no gestante y grávida control e hipotiroidia. La inmunolocalización del receptor está presente en el epitelio y submucosa del útero durante la implantación (útero no implante), placentación y degeneración del cuerpo lúteo (útero implante). ep; epitelio, sm; submucosa. Escala: 100 μ m.

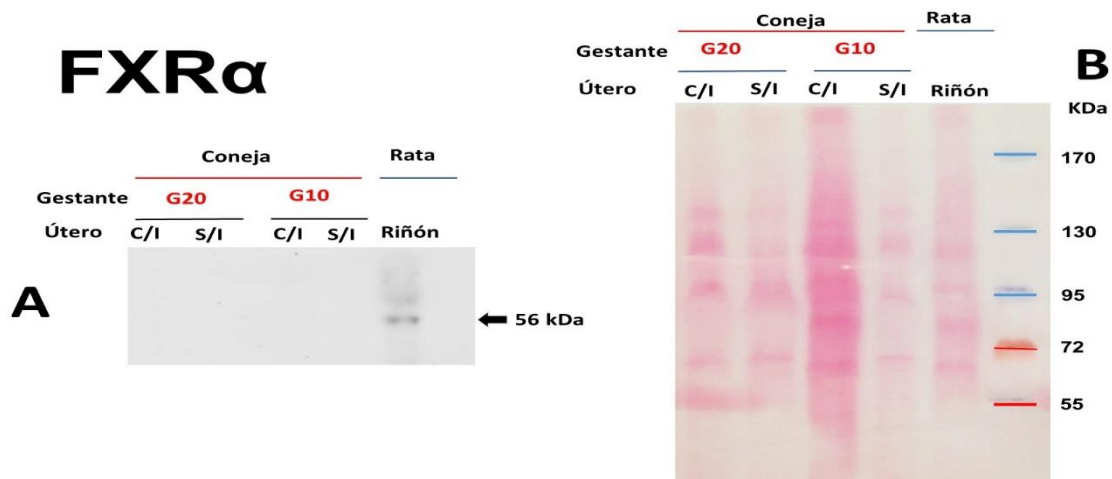


Figura 11. A) No detección de la expresión del receptor FXR α en fracciones totales del útero sin y con implante 10 y 20 días en la coneja gestante. Se utilizó tejido de riñón de rata en fracción total como control. **B)** Membrana teñida con rojo de Ponceu donde se observa el total de las proteínas que fueron usadas como control de carga en fracciones totales del útero gestante sin y con implante en la coneja. kDa; marcador de peso molecular, 56 kDa (peso de la proteína FXR α), S/I; sin implante, C/I; con implante. Se cargaron 60 μ g de proteína.

8. DISCUSIÓN

8.1 Niveles de hormonas tiroideas en la gestación

El embarazo es un evento importante reproductivo en donde hay cambios fisiológicos y hormonales. En la mujer la gonadotropina coriónica humana, la producción de T3 y T4 aumentan hasta un 50%, lo que lleva a un aumento a la necesidad de yodo. Los valores de referencia específicos de la TSH para el primer trimestre según la Asociación Americana de la Tiroides (ATA) durante el embarazo recomienda valores de referencia 0.1 a 2.5 mIU / L en el primer, 0.2 a 3.0 mIU / L segundo, y 0.3 a 3.0 mIU / L y el tercer trimestre. Los niveles de TSH disminuyen especialmente en el primer trimestre (Nazarpour y cols. 2015). Cuando los niveles de T4 y T3 se elevan la TSH disminuye significativamente. La elevación de T4 se mantiene desde la semana 8 hasta la 27 de gestación, mientras que los niveles de tiroglobulina se aumentan progresivamente. El nivel de la hormona gonadotropina coriónica se mantiene elevada de la semana 8 a la 15 de gestación. Dicha hormona disminuye en el segundo trimestre y se eleva al final de la gestación. Esta elevación se correlaciona positivamente con los cambios en los niveles de T4 y T3 libre (Yamamoto y cols. 1979). El incremento de la gonadotropina coriónica humana induce un aumento transitorio de los niveles de T4 libre que refleja una disminución de la TSH. Después de dicho periodo, las concentraciones séricas de T4 disminuyen entre un 10 y 15% y la TSH se mantiene normal. En la gestación temprana hay un aumento de la tiroglobulina fijadora de tiroxina, este evento a su vez es responsable de un aumento de la T3 y T4 (Moleti y cols. 2014). La TSH disminuye en el primer trimestre y aumenta a medida que avanza el embarazo. La triyodotironina libre aumenta en el primer trimestre y luego disminuye en el tercer trimestre (Sun y Xia 2017).

Nosotros encontramos que la gestación disminuye la concentración de T4, pero no de T3 en la coneja. El tratamiento con el metimazol disminuye de manera gradual ambas hormonas. El hipotiroidismo disminuye las hormonas T3 y T4 en el día G0, mientras que en el día G20 únicamente disminuye la T3 en la coneja gestante. El diagnóstico y tratamiento de la disfunción tiroidea durante el embarazo debe basarse en el embarazo y en los intervalos de referencia específicos del método, antes de las 20 semanas de gestación.

En la coneja, en los días 25 y 26 de gestación la concentración de T4 y T3 libre en plasma es significativamente mayor (Devaskar y cols. 1986). Se ha determinado que, la T4 sérica total es más alta en el conejillo de india que en el conejo, similar en la rata y más baja en la mujer. Mientras que, en cobaya, la concentración de T4 libre es similar al humano y la rata (Castro y cols. 1986). La actividad de las desyodasas, para la desyodación de T4 a T3 es mayor en el día 10 antes del parto, y disminuye aproximadamente 7 veces en el día 5 (Brzezińska-Sleboodzińska y cols. 1989).

El grupo tratado con metimazol mostró niveles bajos de T3 y T4 y niveles altos de TSH en suero. En contraste la concentración de T3 y T4 libre fueron similares entre grupos control e hipotiroideo en conejas no gestantes (Anaya- Hernández y cols. 2015). El protocolo para inducir el hipotiroidismo con metimazol en el presente estudio es efectivo, pues si hay una disminución de las hormonas tiroideas. Otros estudios han informado una eficiencia del metimazol en conejos macho (Al-jamal 2004) y ratas hembras (Inuwa y cols. 2006).

8.2 Expresión de CYP51A1 y FXR β en el útero

La enzima que forma el ligando (lanosterol) del receptor FXR β tiene una participación importante en la gestación. En el embarazo, el colesterol y lanosterol disminuyen a los 19 días de gestación (Baardman y cols. 2012). La CYP51A1, modulada por la LH y hGC sérica (Strömstedt y cols. 1996) es indispensable para que el blastocisto se implante en el útero y se disminuyan las especies reactivas de oxígeno en una situación de hipoxia (Wang y cols. 2010). Además de activar a células del sistema inmune y sintetizar lanosterol en el líquido amniótico indispensable para el desarrollo del embrión (Araldi y cols. 2017; Baardman y cols. 2012). El lanosterol es un compuesto altamente insoluble en agua y solo es capaz de entrar a la célula en pequeñas cantidades. Una menor actividad de la enzima provoca una acumulación de lanosterol y afecta la síntesis de colesterol local en la célula testicular (Rozman y cols. 1999). En el cuerpo lúteo, ya se ha determinado una mayor expresión de dicha enzima, pero se desconoce su acción (Wang y cols. 2016). En el epitelio uterino, la expresión de CYP51A1 modula a la proteína de unión transportadora (ABCAM1) implicada en el transporte del colesterol (Ma y cols. 2015). El lanosterol modula la biosíntesis controla la velocidad de síntesis del colesterol al activar a la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-

coenzima A (HMGC-R; Song y cols. 2005). Se establece una importante relación de la CYP51A1 con las hormonas tiroideas, al activar al TSHR en células de la granulosa (Liu y cols. 2017). El hipotiroidismo aumenta la expresión de la HMGC-R (Tian y cols. 2010). Hasta el momento hemos inmunolocalizado a la enzima CYP51A1 en el epitelio luminal, submucosa y glándulas del útero no gestante. Mientras que en la coneja grávida la enzima se localiza en el epitelio luminal, glándulas uterinas, submucosa, placenta, células gigantes, células del espongioblasto y tubo neural durante la placentación y degeneración del cuerpo lúteo. En el útero sin y con implante, la inmunoreactividad de la CYP51A1 es modificada por el hipotiroidismo. El hipotiroidismo aumenta la expresión de la enzima durante la implantación y disminuye en el útero sin implante durante la placentación. Mientras que en el útero con implante disminuye en la degeneración del cuerpo lúteo. Un aumento de la CYP51A1 durante la implantación podría estar implicado en la formación del colesterol, formación de especies reactivas de oxígeno y desarrollo del embrión, e incluso provocar hipoxia uterina e interrumpir el crecimiento de la placenta y del feto (Lee y cols. 2016; Lim y cols. 2012; Fajersztajn y cols. 2017). Suponemos que una menor o mayor expresión de la enzima en el útero, podría modificar la formación del lanosterol y colesterol afectando la función y acción metabólica y/o estereidogénica de las células uterinas. Acciones que podrían repercutir en una alteración en la implantación del embrión, desarrollo de la placenta y desarrollo fetal.

Con respecto a FX β no hay información de su relación con la gestación y las hormonas tiroideas. Existe escasa información sobre la presencia del FXR β en tejidos reproductivos. Únicamente se ha reportado al lanosterol como el ligando del FXR β y su expresión en testículo y ovario, sugiriendo su posible implicación con las funciones reproductivas (Otte y cols. 2003), pero se desconoce totalmente su presencia en el útero no gestante y grávido. Nosotros localizamos la expresión de FXR β durante la implantación, placentación y degeneración del cuerpo lúteo en la coneja grávida. Así como en el útero de la coneja no gestante. Nuestros resultados determinan que el hipotiroidismo disminuye la expresión de FXR β en el útero de la coneja no gestante. El hipotiroidismo también aumenta la expresión del FXR β en el útero con implante durante la placentación. El FXR β podría controlar los niveles de colesterol intracelular y en plasma como ya se ha reportado con el LXR (Mouzat y cols. 2013). En la coneja no gestante, disminuye la acumulación en el tejido uterino

(Zepeda-Pérez 2018). Creemos que una menor expresión del FXR β en el útero de la coneja no gestante podría repercutir indirectamente en el metabolismo del colesterol y modulación del sistema inmune e incluso generar un proceso inflamatorio (Spann y cols. 2012). Algunas células como los macrófagos almacenan gotas de lípidos y tienen ligandos lipídicos como el desmoesterol que activan al receptor LXR generando un proceso inflamatorio (Spann y cols. 2012). Aunque no hay información de la relación del FXR- β con la gestación y hormonas tiroideas, podemos suponer que la localización y variación de este receptor durante la gestación, puede estar relacionada con un incremento del lanosterol en el estroma como ocurre en rata (Song y cols. 2008). Además, la menor expresión del FXR β podría afectar el contenido del colesterol, repercutir en la capacidad y preparación del útero para la gestación. Aunque se desconoce la relación del FXR β y las hormonas tiroideas, se sabe que el TSH-R promueve la expresión de la HMGCoA-R y el hipotiroidismo aumenta la expresión de dicha enzima afectando el metabolismo en el hígado en rata (Tian y cols. 2010). Además, el hipotiroidismo aumenta el colesterol en suero en la coneja no gestante y disminuye su acumulación en el tejido uterino (Zepeda-Pérez 2018). La expresión del FXR β podría modular el sistema inmune, controlar los niveles de colesterol intracelular y en plasma, participar en la deciduización, y la menor expresión del FXR β podría afectar el contenido del colesterol y repercutir en la capacidad y preparación del útero para la gestación.

8.3 Expresión del FXR- α en el útero

El FXR α parece tener una participación relevante directa o indirectamente en la reproducción, tanto en el macho como en la hembra (Anaya-Hernández y cols. 2014; Cuevas y cols. 2015). En la hembra, el FXR α han sido localizado en ovarios, oviductos, útero y vagina de conejas (Anaya-Hernández y cols. 2014), así como en la placenta, células trofoblásticas y tejido mamario de humano (Serrano y cols. 2007; Geenes y cols. 2011). Sin embargo, su localización en el útero gestante no había sido reportada. El FXR α es un receptor que une metabolitos de farnesol, sales biliares y de esteroides localizados en el útero (Oufkir y Vaillancourt 2011; Cabrerizo y cols. 2014; Cuevas y cols. 2015). Durante la gestación dichos metabolitos están involucrados con la receptividad del blastocisto (Ullah y cols. 2007), contracción muscular (Cuevas y cols. 2015), crecimiento de las células citotrofoblásticas (Oufkir y Vaillancourt 2011), invasión del trofoblasto y angiogénesis (Shi

y cols. 1993). Nosotros inmunolocalizamos al FXR α en epitelio, submucosa y músculo durante la implantación, placentación y degeneración del cuerpo lúteo. Aunque la expresión del receptor no fue localizada en el útero, no descartamos su acción, pues ya lo hemos determinado por inmunohistoquímica. Creemos que una modificación del FXR α por el hipotiroidismo podría alterar las etapas de la gestación ejecutadas en el útero. Alterando la lipoperoxidación provocado un daño oxidativo a la placenta, aumentando la expresión de los genes anti-oxidativos (Prdx1 y PRDX3), toxicidad del embrión durante la receptividad e implantación (Psychoyos y Roche. 1989; Wu y cols. 2015) y modificación de la esteroidogénesis, a través de la activación del factor esteroidogénico 1 (Vega y cols 2015). Considerando que las hormonas tiroideas son capaces de regular la expresión de FXR α , y a su vez, la activación de este receptor modula la expresión de TRs y desyodasas (Watanabe y cols. 2006; Cuevas y cols. 2015). Durante la gestación el aumento de los triglicéridos, HDL- y colesterol provoca cambios metabólicos que se relacionan con una menor expresión de FXR α y TR β a los 19 días de gestación en hígado (Sweeney y cols. 2006). De acuerdo a esto, no descartamos su posible implicación en la implantación, placentación y parto.

9. CONCLUSIÓN

La expresión de CYP51A1 y FXR β podría estar relacionada con el control de la síntesis *de novo* del colesterol necesario para que ocurra la implantación del embrión, formación de la placenta y desarrollo fetal, así con una acción directa del lanosterol en la proliferación y diferenciación celular.

La modificación de su expresión por el hipotiroidismo podría afectar los procesos de gestación en la coneja y relacionarse con el desarrollo embrionario.

10. MODELO

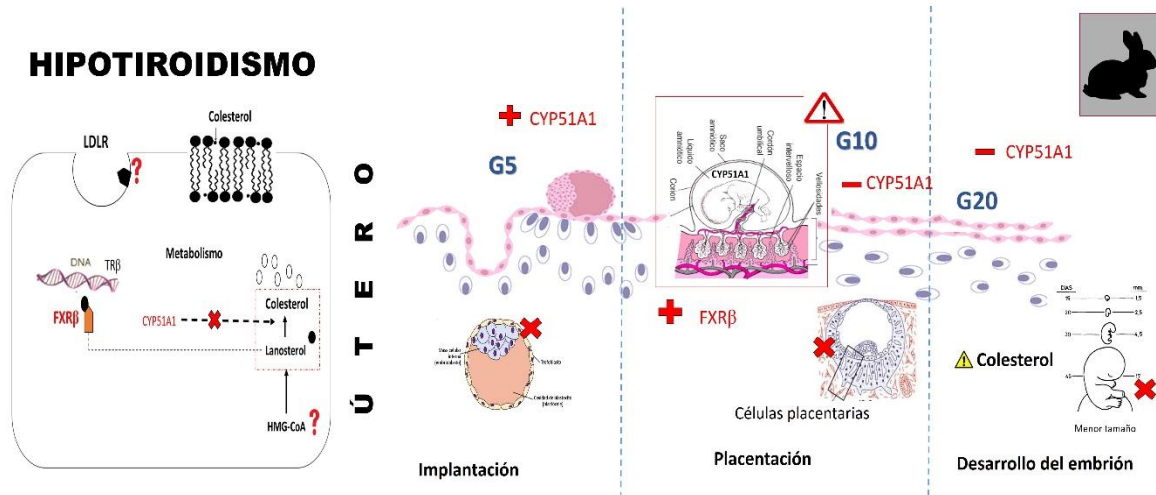


Figura 12. La gestación aumenta la expresión de CY51A1 en G10 en los sitios sin implante, mientras que el hipotiroidismo la aumenta en G5 y disminuye en G10. El hipotiroidismo reduce la expresión de CYP51A1 en G20 en el sitio de implante. Por su parte, la gestación disminuye de manera gradual la expresión de FXRβ en los sitios de no implante. El hipotiroidismo reduce la expresión de FXRβ al inicio de la gestación y la aumenta al final del primer y segundo tercio de la gestación en los sitios sin implante. Estos cambios en la expresión de la enzima y el receptor podrían afectar la función metabólica de la célula, y a su vez, repercutir en problemas durante la gestación. Considerando que lanosterol es un precursor de la síntesis de novo del colesterol. Entonces los cambios en la expresión de CYP51A1 y FXR β podría estar relacionada con la regulación de la ruta del mevalonato. Una modificación del contenido del colesterol en el útero, podría afectar la implantación del embrión, formación de la placenta y quizá el tamaño del feto.

11. PERSPECTIVAS

1. Determinar la expresión del enzima HMGCR (hidroximetil glutaril CoA) durante la gestación (G0, 5,10 y 20) y sus cambios con el hipotiroidismo en el útero de la coneja.
2. Determinar la expresión del receptor LDL-R (receptor de lipoproteína de baja densidad) durante la gestación (G0, 5,10 y 20) y sus cambios con el hipotiroidismo en el útero de la coneja.
3. Determinar la expresión de los receptores de hormonas tiroideas TSHR, TRα y β durante la gestación (G0, 5, 10 y 20) y sus cambios en el hipotiroidismo en el útero de la coneja

12. REFERENCIAS

- Abalovich** M, Mittelberg L, Allami C, Gutierrez S, Alcaraz G, Otero P y Levalle O. 2007. Subclinical hypothyroidism and thyroid autoimmunity in women with infertility. *Gynecol Endocrinol.* 23: 279-283.
- Abu-Hayyeh** S y Williamson C. 2015. Progesterone metabolites as farnesoid X receptor inhibitors. *Dig Dis.* 33: 300-306.
- Ačimovič** J y Rozman D. Steroidal triterpenes of cholesterol synthesis. 2013. *Molecules.*18: 4002-4017.
- 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.
- Aghajanova** L, Stavreus-Evers A, Lindeberg M, Landgren BM, Sparre LS, Hovatta O. 2011. Thyroid-stimulating hormone receptor and thyroid hormone receptors are involved in human endometrial physiology. *Fertil Steril.* 95:230-237.
- Alemu** A, Terefe B, Abebe M y Biadgo B. 2016. Thyroid hormone dysfunction during pregnancy: A review. *Int J Reprod Biomed.* 14: 677-686.
- Al-jamal JA**, 2004: Effect of different thyroid states on mitochondrial porin synthesis and hexokinase activity in developing rabbit brain. *J Biochem.* 2004 Feb;135(2):253-8.
- Anaya-Hernández** A, Méndez-Tepepa M, Hernández-Aragón LG, Pacheco P, Martínez-Gómez M, Castelán F y Cuevas E. 2014. Farnesoid X receptor immunolocalization in reproductive tissues of adult female rabbits. *Acta Histochem.* 116: 1068-1074.
- Anaya-Hernández** A, Rodríguez-Castelán J, Nicolás L, Martínez-Gómez M, Jiménez-Estrada I, Castelán F, Cuevas E. 2015. Hypothyroidism affects differentially the cell size of epithelial cells among oviductal regions of rabbits. *Reprod Domest Anim.* 50: 104-111.
- Anaya-Hernández** A, Rodríguez-Castelán J, Nicolás L, Martínez-Gómez M, Jiménez-Estrada I, Castelán F, Cuevas E. 2015. Hypothyroidism affects differentially the cell size of epithelial cells among oviductal regions of rabbits. *Reprod Domest Anim* 50(1):104-11.

- Araldi E**, Fernández-Fuertes M, Canfrán-Duque A, Tang W, Cline GW, Madrigal-Matute J, Pober JS, Lasunción MA, Wu D, Fernández-Hernando C y Suárez Y. 2017. Lanosterol Modulates TLR4-Mediated Innate Immune Responses in Macrophages. *Cell Rep.* 19: 2743-2755.
- Baardman ME**, Erwich JJ, Berger RM, Hofstra RM, Kerstjens-Frederikse WS, Lütjohann D y Plösch T. 2012. The origin of fetal sterols in second-trimester amniotic fluid: endogenous synthesis or maternal-fetal transport? *Am J Obstet Gynecol.* 207: 19-25.
- Baardman ME**, Erwich JJ, Berger RM, Hofstra RM, Kerstjens-Frederikse WS, Lütjohann D, Plösch T. 2012. The origin of fetal sterols in second-trimester amniotic fluid: endogenous synthesis or maternal-fetal transport? *Am J Obstet Gynecol.* 207: 202.e19-25.
- Banovac K**, Ryan EA, O'Sullivan MJ. 1986. Triiodothyronine (T3) nuclear binding sites in human placenta and decidua. *Placenta.* 7:543–549.
- Bazer FW**, Wu G, Spencer TE, Johnson GA, Burghardt RC y Bayless K. 2010. Novel pathways for implantation and establishment and maintenance of pregnancy in mammals. *Mol Hum Reprod.* 16: 135-152.
- Belaz KR**, Tata A, França MR, Santos da Silva MI, Vendramini PH, Fernandes AM, D'Alexandri FL, Eberlin MN y Binelli M. 2016. Phospholipid profile and distribution in the receptive oviduct and uterus during early diestrus in cattle. *Biol Reprod.* 95: 127.
- Bhusane K**, Bhutada S, Chaudhari U, Savardekar L, Katkam R y Sachdeva G. 2016. Secrets of endometrial receptivity: some are hidden in uterine secretome. *Am J Reprod Immunol.* 75: 226-236.
- Bianco AC** y Kim BW. 2006. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. *J Clin Invest.* 116: 2571-2579.
- Bizhanova A** y Kopp P. 2009. Minireview: The sodium-iodide symporter NIS and pendrin in iodide homeostasis of the thyroid. *Endocrinology.* 150: 1084-1090.
- Bolarinwa AF** y Olaleye SB. 1997. Blastocyst implantation: effect of thyroidectomy and thyroxine replacement in the rat. *Afr J Med Med Sci.* 26: 135-137.
- Bowers J**, Terrien J, Clerget-Froidevaux MS, Gothié JD, Rozing MP, Westendorp RG, van Heemst D y Demeneix BA. 2013. Thyroid hormone signaling and homeostasis during aging. *Endocr Rev.* 34: 556-589.

- Brosnihan** KB, M Pulgar V, Bharadwaj MS y Neves LA Yamaleyeva LM. 2016. Local intra-uterine Ang-(1-7) infusion attenuates PGE2 and 6-keto PGF1 α in decidualized uterus of pseudopregnant rats. *Reprod Biol Endocrinol*. 18: 14-68.
- Brzezińska-Slebodzińska** E, Slebodziński AB, Krysin E. 1989. Placental outer and inner ring monodeiodination of thyroxine and triiodothyronines in the rabbit. *J Dev Physiol*. 11(6):351-3.
- Bucci** I, Giuliani C y Napolitano G. 2017. Thyroid-Stimulating Hormone Receptor Antibodies in Pregnancy: Clinical Relevance. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 30: 8: 137
- Cabrerizo** R, Castaño GO, Burgueño AL, Fernández Gianotti T, Gonzalez Lopez Ledesma MM, Flichman D, Pirola CJ y Sookoian S. 2014. Promoter DNA methylation of farnesoid X receptor and pregnane X receptor modulates the intrahepatic cholestasis of pregnancy phenotype. *PLoS One*. 31:e87697.
- Carson** DD, Hsu YC y Lennarz WJ. 1982. Synthesis of steroids in postimplantation mouse embryos cultured in vitro. *Dev Biol*. 91: 402-412.
- Castro** M, Alex S, Young RA, Braverman LE, Emerson CH. 1986. Total and free serum thyroid hormone concentrations in fetal and adult pregnant and nonpregnant guinea pigs. *Endocrinology*. 118(2):533-7.
- Cave** MC, Clair HB, Hardesty JE, Falkner KC, Feng W, Clark BJ, Sidey J, Shi H, Aqel BA, McClain CJ y Prough RA. 2016. Nuclear receptors and nonalcoholic fatty liver disease. *Biochim Biophys Acta*. 1859: 1083-1099.
- Chen** X, Scholl TO, Stein TP, Steer RA y Williams KP. 2017. Maternal Circulating Lipid Profile during Early Pregnancy: Racial/Ethnic Differences and Association with Spontaneous Preterm Delivery. *Nutrients*. 1: 9.
- Chevy** F, Humbert L y Wolf C. 2005. Sterol profiling of amniotic fluid: a routine method for the detection of distal cholesterol synthesis deficit. *Prenat Diagn*. 25: 1000-1006.
- Chiang** JY, Kimmel R y Stroup D. 2001. Regulation of cholesterol 7 α -hydroxylase gene (CYP7A1) transcription by the liver orphan receptor (LXR α). *Gene*. 262: 257-265.
- Choi** D, Yoon S, Lee E, Hwang S, Song S, Kim J n y Yoon BK, Lee JH. 2002. Characterization of cyclin D2 expression in human endometrium. *J Soc Gynecol Investig*. 9: 41-46.

- Colicchia**, Campagnolo L, Baldini E, Ulisse S, Valensise H, Moretti C. 2014. Molecular basis of thyrotropin and thyroid hormone action during implantation and early development. *Hum Reprod Update*. Dec: 20: 884-904.
- Cuevas** E, Martínez-Gómez M y Castelán F. 2015. Farnesoid receptor and reproduction. *Receptors & Clinical Investigation*. 2: e463.
- Davis** PJ, Davis FB, Lin HY, Mousa SA, Zhou M y Luidens MK. 2009. Translational implications of nongenomic actions of thyroid hormone initiated at its integrin receptor. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 297: E1238-E1246.
- Deng** WB, Liang XH, Liu JL y Yang ZM. 2014. Regulation and function of deiodinases during decidualization in female mice. *Endocrinology*. 155: 2704-2717.
- Devaskar** UP, Devaskar SU, Sadiq HF, Chechani V. 1986. Ontogeny of plasma-free thyroxine and triiodothyronine concentrations during the perinatal period and maternofetal transfer of thyroid hormones in the rabbit. *Dev Pharmacol Ther*. 9(2):115-23.
- Diken** Z, Usta IM y Nassar AH. 2014. A clinical approach to intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Am J Perinatol*. 31: 1-8.
- Dunning** KR, Cashman K, Russell DL, Thompson JG, Norman RJ y Robker RL. 2010. Beta-oxidation is essential for mouse oocyte developmental competence and early embryo development. *Biol Reprod*. 83: 909-918.
- Espindola-Lozano** M, Zepeda-Pérez D, Romano-Castillo M, Méndez-Tepepa M, Arroyo-Helguera OE, Cuevas-Romero E. Hypothyroidism affects the glycogen content, expression of GLUT4, LDH, PPAR γ , and aromatase in the uterus of pregnant rabbits. En escritura.
- Fajersztajn** L y Veras MM. 2017. Hypoxia: From Placental Development to Fetal Programming. *Birth Defects Res*. 16: 109: 1377-1385.
- Fink** M, Acimovic J, Rezen T, Tansek N y Rozman D. 2005. Cholesterogenic lanosterol 14 α -demethylase (CYP51) is an immediate early response gene. *Endocrinology*. 146: 5321-5331.
- Fournier** T, Théron P, Handschuh K, Tsatsaris V y Evain-Brion D. 2008. PPAR γ and early human placental development. *Curr Med Chem*. 15: 3011-3024.

- Gardner** DK. 2015. Lactate production by the mammalian blastocyst: manipulating the microenvironment for uterine implantation and invasion? *Bioessays*. 37: 364-371.
- Geenes** VL, Dixon PH, Chambers J, Raguz S, Marin JJ, Bhakoo KK y Williamson C. 2011. Characterisation of the nuclear receptors FXR, PXR and CAR in normal and cholestatic placenta. *Placenta*. 32: 535-537.
- Ghanbari** M y Ghasemi A. 2017. Maternal hypothyroidism: An overview of current experimental models. *Life Sci*. 187:1-8.
- Grøndahl** 2008. Oocyte maturation. Basic and clinical aspects of in vitro maturation (IVM) with special emphasis of the role of FF-MAS. *Dan Med Bull*. 55: 1-16.
- Guan** G, Dai P y Shechter I. 2003. cDNA cloning and gene expression analysis of human myo-inositol 1-phosphate synthase. *Arch Biochem Biophys*. 417: 251-259.
- Halder** SK, Fink M, Waterman MR y Rozman D. 2002. A cAMP-responsive element binding site is essential for sterol regulation of the human lanosterol 14 α -demethylase gene (CYP51). *Mol Endocrinol*. 16: 1853-1863.
- hexokinase activity in developing rabbit brain. *J Biochem* 135(2), 253-258.
- Hong** L, Xu X, Huang J, Lei M, Xu D, Zhao S y Yu M. 2016. Difference in expression patterns of placental cholesterol transporters, ABCA1 and SR-BI, in Meishan and Yorkshire pigs with different placental efficiency. *Sci Rep*. Feb 8;6.
- Huang** X, Liu H y Li R. 2017. Prostaglandina E2 promueve BeWO esferoides implantación en monocapas de células RL95-2. *Gynecol Endocrinol*. 1: 1-5.
- Hulchiy** M, Zhang H, Cline JM, Hirschberg AL, Sahlin L. 2012. Receptors for thyrotropin-releasing hormone, thyroid-stimulating hormone, and thyroid hormones in the macaque uterus: effects of long-term sex hormone treatment. *Menopause*. 19: 1253-1259.
- hypothyroid and thyroxine treated hypothyroid rats. *Ups J Med Sci* 111(2), 215-125.
- Inuwa** IM y Williams MA. 2006. A morphometric study on the endometrium of rat uterus in hypothyroid and thyroxine treated hypothyroid rats. *Ups J Med Sci*. 111: 215-225.
- Iqbal** J y Hussain MM. 2009. Intestinal lipid absorption. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 296: E1183-194.
- Kandola** MK, Sykes L, Lee YS, Johnson MR, Hanyaloglu AC y Bennett PR. 2014. EP2 receptor activates dual G protein signaling pathways that mediate contrasting

- proinflammatory and relaxatory responses in term pregnant human myometrium. *Endocrinology*. 155: 605-617.
- Kasahara T**, Narumi S, Okasora K, Takaya R, Tamai H, Hasegawa T. 2013. Delayed onset congenital hypothyroidism in a patient with DUOX2 mutations and maternal iodine excess. *Am J Med Genet A*. Jan;161A: 214-7.
- Keber R**, Rozman D y Horvat S. Sterols in spermatogenesis and sperm maturation. 2013. *J Lipid Res*. 54: 20-33.
- 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.
- Kliewer SA**, Moore JT, Wade L, Staudinger JL, Watson MA, Jones SA, McKee DD, Oliver BB, Willson TM, Zetterström RH, Perlmann T y Lehmann JM. 1998. An orphan nuclear receptor activated by pregnanes defines a novel steroid signaling pathway. *Cell*. 92: 73-82.
- Konopka CK**, Glanzner WG, Rigo ML, Rovani MT, Comim FV, Gonçalves PB, Morais EN, Antoniazzi AQ, Mello CF y Cruz IB. 2015. Responsivity to PGE2 labor induction involves concomitant differential prostaglandin E receptor gene expression in cervix and myometrium. *Genet Mol Res*. 14: 10877-10887.
- Lan S**, Ling L, Jianhong Z, Xijing J y Lihui W. 2013. Analysis of the levonorgestrel-releasing intrauterine system in women with endometriosis. *J Int Med Res*. 41: 548-558.
- Landers KA**, Li H, Subramaniam VN, Mortimer RH, Richard K. 2013. Transthyretin-thyroid hormone internalization by trophoblasts. *Placenta*. 34:716-718.
- Laurino A**, Matucci R, Vistoli G y Raimondi L. 2016. 3-iodothyronamine (T1AM), a novel antagonist of muscarinic receptors. *Eur J Pharmacol*. 15: 793:35-7942.
- Lee S**, Jin JX, Khoirinaya C, Kim GA y Lee BC. 2016. Lanosterol influences cytoplasmic maturation of pig oocytes in vitro and improves preimplantation development of cloned embryos. *Theriogenology*. 85: 575-584.
- Lendvai Á**, Deutsch MJ, Plösch T, Ensenaer R. 2016. The peroxisome proliferator-activated receptors under epigenetic control in placental metabolism and fetal development. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. May 15;310(10): E797-810.

- Lim L**, Jackson-Lewis V, Wong LC, Shui GH, Goh AX, Kesavapany S, Jenner AM, Fivaz M, Przedborski S y Wenk MR. 2012. Lanosterol induces mitochondrial uncoupling and protects dopaminergic neurons from cell death in a model for Parkinson's disease. *Cell Death Differ.* 19: 416-427.
- Liu J**, Tian Y, Ding Y, Heng D, Xu K, Liu W, Zhang C. 2017. Role of CYP5 in the Regulation of T3 and FSH-Induced Steroidogenesis in Female Mice. *Endocrinology.* 158: 3974-3987.
- Lu DL**, Sookthai D, Le Cornet C, Katzke VA, Johnson TS, Kaaks R y Fortner RT. 2017. Reproducibility of serum oxysterols and lanosterol among postmenopausal women: Results from EPIC-Heidelberg. *Clin Biochem.* S0009-9120. 30619-3067.
- Ma X**, Li SF, Qin ZS, Ye J, Zhao ZL, Fang HH, Yao ZW, Gu MN y Hu YW. 2015. Propofol up-regulates expression of ABCA1, ABCG1, and SR-B1 through the PPAR γ /LXR α signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cells. *Cardiovasc Pathol.* 24: 230-235.
- Melland-Smith M**, Ermini L, Chauvin S, Craig-Barnes H, Tagliaferro A, Todros T, Post M y Caniggia. 2015. Disruption of sphingolipid metabolism augments ceramide-induced autophagy in preeclampsia. *Autophagy.* 11: 653-669.
- Méndez-Tepepa M**, Zepeda-Pérez P, Espindola-Lozano M, Rodríguez-Castelán J, Pacheco P, Nicolás-Toledo L, Cuevas-Romero E. Hypothyroidism modifies differentially the lipid and glycogen content, lymphocytes infiltration, and FXR α expression among oviduct regions of rabbits. Enviado.
- Milona A**, Owen BM, Cobbold JF, Willemsen EC, Cox IJ, Boudjelal M, Cairns W, Schoonjans K, Taylor-Robinson SD, Klomp LW, Parker MG, White R, van Mil SW y Williamson C. 2010. Raised hepatic bile acid concentrations during pregnancy in mice are associated with reduced farnesoid X receptor function. *Hepatology.* 52: 1341-1349.
- Mitchell BF**, Mitchell JM, Chowdhury J, Tougas M, Engelen SM, Senff N, Heijnen I, Moore JT, Goodwin B, Wong S y Davidge ST. 2005. Metabolites of progesterone and the pregnane X receptor: a novel pathway regulating uterine contractility in pregnancy?. *Am J Obstet Gynecol.* 192: 1304-1313.

- Mitsche** MA, McDonald JG, Hobbs HH y Cohen JC. 2015. Flux analysis of cholesterol biosynthesis in vivo reveals multiple tissue and cell-type specific pathways. *Elife*. 26: 4:e07999.
- Moleti** M, Trimarchi F, Vermiglio F. 2014. Thyroid physiology in pregnancy. *Endocr Pract*. 20(6):589-96.
- Molitch** ME. 1993. Problemas endocrinos del embarazo adolescente. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 22: 649-672.
- Mouzat** K, Baron S, Marceau G, Caira F, Sapin V, Volle DH, Lumbroso S y Lobaccaro JM. 2013. Emerging roles for LXRs and LRH-1 in female reproduction. *Mol Cell Endocrinol*. 368: 47-58.
- Mouzat** K, Baron S, Marceau G, Caira F, Sapin V, Volle DH, Lumbroso S, Lobaccaro JM. 2013. Emerging roles for LXRs and LRH-1 in female reproduction. *Molecular and Cellular Endocrinology* 368. 47–58.
- Nazarpour** S, Ramezani Tehrani F, Simbar M y Azizi F. 2015. Thyroid dysfunction and pregnancy outcomes. *Iran J Reprod Med*. 13: 387-396.
- Ness** GC, Dugan RE, Lakshmanan MR, Nepokroeff CM y Porter JW. 1973. Stimulation of hepatic beta-hydroxy-beta-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in hypophysectomized rats by L-triiodothyronine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 70: 3839-3842.
- Ojuka** E, Andrew B, Bezuidenhout N, George S, Maarman G, Madlala HP, Mendham A, Osiki PO. 2016. Measurement of β -oxidation capacity of biological samples by respirometry: a review of principles and substrates. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 310: E715-E723.
- Otte** K, Kranz H, Kober I, Thompson P, Hoefler M, Haubold B, Rimmel B, Voss H, Kaiser C, Albers M, Cheruvallath Z, Jackson D, Casari G, Koegl M, Pääbo S, Mous J, Kremoser C y Deuschle U. 2003. Identification of farnesoid X receptor beta as a novel mammalian nuclear receptor sensing lanosterol. *Mol Cell Biol*. 23: 864-872.
- Oufkir** T y Vaillancourt C. 2011. Phosphorylation of JAK2 by serotonin 5-HT (2A) receptor activates both STAT3 and ERK1/2 pathways and increases growth of JEG-3 human placental choriocarcinoma cell. *Placenta*. 32: 1033-1040.

- Palagiano A.** 2006. Immunological abortion: the thyroid factor. Article in Italian. Dec: 58: 471-477. Minerva Ginecol.
- Panciera DL, Purswell BJ y Kolster KA.** 2007. Effect of short-term hypothyroidism on reproduction in the bitch. *Theriogenology*. 68: 316-332.
- Parija SC, Mishra SK y Raviprakash V.** 2006. Hypothyroid state reduces calcium channel function in 18-day pregnant rat uterus. *Indian J Exp Biol*. 44: 19-27.
- Pascual A y Aranda A.** 2012. Thyroid hormone receptors, cell growth and differentiation. *Biochim Biophys Acta*. 1830: 3908-3916.
- Patil AS, Swamy GK, Murtha AP, Heine RP, Zheng X y Grotegut CA.** 2015. Progesterone Metabolites Produced by Cytochrome P450 3A Modulate Uterine Contractility in a Murine Model. *Reprod Sci*. 22: 1577-1586.
- Pendzialek SM, Schindler M, Plösch T, Gürke J, Haucke E, Hecht S, Fischer B y Santos AN.** Cholesterol metabolism in rabbit blastocysts under maternal diabetes. *Reprod Fertil Dev*.
- Pizer ES, Kurman RJ, Pasternack GR y Kuhajda FP.** 1997. Expression of fatty acid synthase is closely linked to proliferation and stromal decidualization in cycling endometrium. *Int J Gynecol Pathol*. 16: 45-51.
- Psychoyos A y Roche D y Gravanis A.** 1989. Is cholic acid responsible for embryo-toxicity of the post-receptive uterine environment? *Hum Reprod*. 4: 832-834.
- Ramathal CY, Bagchi IC, Taylor RN y Bagchi MK.** 2010. Endometrial decidualization: of mice and men. *Semin Reprod Med*. 28: 17-26.
- Red-Horse K, Zhou Y, Genbacev O, Prakobphol A, Foulk R, McMaster M y Fisher SJ.** 2004. Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface. *J Clin Invest*. 114: 744-754.
- Rival Y, Puech L, Taillandier T, Benéteau N, Rouquette A, Lestienne F, Dupont-Passelaigue E, Le Roy I, Patoiseau JF y Junquéro D.** 2009. PPAR activators and COX inhibitors selectively block cytokine-induced COX-2 expression and activity in human aortic smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol*. 606: 121-129.
- Rodríguez-Castelán J, Anaya-Hernández A, Méndez-Tepepa M, Martínez-Gómez M, Castelán F y Cuevas-Romero E.** 2017. Distribution of thyroid hormone and thyrotropin receptors in reproductive tissues of adult female rabbits. *Endocr Res*. 42: 59-70.

- Rodríguez-Castelán J**, Corona-Pérez A, Nicolás-Toledo L, Martínez-Gómez M, Castelán F, Cuevas-Romero E. 2017. Hypothyroidism induces a moderate steatohepatitis accompanied by liver regeneration, mast cells infiltration, and changes in the expression of the foresaid X receptor. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 125: 183-190.
- Rodríguez-Castelán J**, Del Moral-Morales A, Piña-Medina AG, Zepeda-Pérez D, Castillo-Romano M, Méndez-Tepepa M, Espindola-Lozano M, Camacho-Arroyo I, Cuevas-Romero E. 2019. Hypothyroidism induces uterine hyperplasia and inflammation related to sex hormone receptors expression in virgin rabbits. *Life Sci*. 230:111-120.
- Rodríguez-Castelán J**, Méndez-Tepepa M, Carrillo-Portillo Y, Anaya-Hernández A, Rodríguez-Antolín J, Zambrano E, Castelán F y Cuevas-Romero E. 2017. Hypothyroidism reduces the size of ovarian follicles and promotes visceral adiposity with activation of macrophages in females rabbits. *Biomed Res Int*. 2017:3795950.
- Rodríguez-Castelán J**, Nicolás L, Morimoto S, Cuevas E. 2015. The Langerhans islet cells of female rabbits are differentially affected by hypothyroidism depending on the islet size. *Endocrine*. 48: 811-817.
- Rodríguez-Castelán J**, Zepeda-Pérez D, Méndez-Tepepa M, Castillo-Romano M, Espíndola-Lozano M, Anaya-Hernández A, Berbel P, Cuevas-Romero E. En prensa. Hypothyroidism Modifies the Uterine Lipid Levels in Pregnant Rabbits and Affects the Fetal Size. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*.
- Rojas-Juárez R**. 2019. Efecto del hipotiroidismo en la síntesis de novo y metabolismo del colesterol en el páncreas. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- Rozman D**, Cotman M y Frangez R. 2002. Lanosterol 14alpha-demethylase and MAS sterols in mammalian gametogenesis. *Mol Cell Endocrinol*. 187:179-187.
- Rozman D**, Fink M, Fimia GM, Sassone-Corsi P y Waterman MR. 1999. Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate(cAMP)/cAMP-responsive element modulator (CREM)-dependent regulation of cholesterologenic lanosterol 14alpha-demethylase (CYP51) in spermatids. *Mol Endocrinol*. 13: 1951-1962.
- Rozman D**, Strömstedt M, Tsui LC, Scherer SW y Waterman MR. 1996. Structure and mapping of the human lanosterol 14alpha-demethylase gene (CYP51) encoding the

- cytochrome P450 involved in cholesterol biosynthesis; comparison of exon/intron organization with other mammalian and fungal CYP genes. *Genomics*. 38: 371-381.
- Saben J**, Kang P, Zhong Y, Thakali KM, Gomez-Acevedo H, Borengasser SJ, Andres A, Badger TM y Shankar K. 2014. RNA-seq analysis of the rat placentation site reveals maternal obesity-associated changes in placental and offspring thyroid hormone signaling. *Placenta*. 35: 1013-1020.
- Salleh N**. 2014. Diverse roles of prostaglandins in blastocyst implantation. *ScientificWorldJournal*. 2014:968141.
- Serrano MA**, Macias RI, Briz O, Monte MJ, Blazquez AG, Williamson C, Kubitz R, y Marin JJ. 2007. Expression in human trophoblast and choriocarcinoma cell lines, BeWo, Jeg-3 and JAr of genes involved in the hepatobiliary-like excretory function of the placenta. *Placenta*. 28: 107-117.
- Shi WL**, Wang JD, Fu Y y Zhu PD. 1993. Estrogen and progesterone receptors in human decidua after RU486 treatment. *Fertil Steril*. 60: 69-74.
- 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.
- Singh AT**, Dharmarajan A, Aye IL y Keelan JA. 2012. Ceramide biosynthesis and metabolism in trophoblast syncytialization. *Mol Cell Endocrinol*. 362: 48-59.
- Song X**, Tai P, Yan J, Xu B, Chen X, Ouyang H, Zhang M y Xia G. 2008. Expression and regulation of lanosterol 14 α -demethylase in mouse embryo and uterus during the peri-implantation period. *Reprod Fertil Dev*. 20: 964-972.
- Spann NJ**, Garmire LX, McDonald JG, Myers DS, Milne SB, Shibata N, Reichart D, Fox JN, Shaked I, Heudobler D, Raetz CR, Wang EW, Kelly SL, Sullards MC, Murphy RC, Merrill AH Jr, Brown HA, Dennis EA, Li AC, Ley K, Tsimikas S, Fahy E, Subramaniam S, Quehenberger O, Russell DW y Glass CK. 2012. Regulated accumulation of desmosterol integrates macrophage lipid metabolism and inflammatory responses. *Cell*. 28: 151: 138-52.
- Srivastava A**, Gupta PK, Knock GA, Aaronson PI, Mishra SK y Prakash VR. 2007. Effect of ceramide on the contractility of pregnant rat uterus. *Eur J Pharmacol*. 567: 159-165.

- Strömstedt** M, Keeney DS, Waterman MR, Paria BC, Conley AJ y Dey SK. 1996. Preimplantation mouse blastocysts fail to express CYP genes required for estrogen biosynthesis. *Mol Reprod Dev.* 43: 428-436.
- Strömstedt** M, Rozman D y Waterman MR. 1996. The ubiquitously expressed human CYP51 encodes lanosterol 14 alpha-demethylase, a cytochrome P450 whose expression is regulated by oxysterols. *Arch Biochem Biophys.* 329: 73-81.
- Sun R, Xia J. 2017. The Reference Intervals of Thyroid Hormones for Pregnant Women in Zhejiang Province. *Lab Med.* Dec 22;49(1):5-10.
- Sweeney** TR, Moser AH, Shigenaga JK, Grunfeld C y Feingold KR. 2006. Decreased nuclear hormone receptor expression in the livers of mice in late pregnancy. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 290: E1313-E1320.
- Tabacik** C, Astruc M, Descomps B y de Paulet AC. 1975. Oxidosqualene cyclization in human placenta. An easy step of sterol biosynthesis. *Biochim Biophys Acta.* 398: 490-495.
- Thyroid dysfunction and pregnancy outcomes. Nazarpour S, Ramezani Tehrani F, Simbar M, Azizi F. 2015. *Iran J Reprod Med.* 13(7):387-96.
- Tian** L, Song Y, Xing M, Zhang W, Ning G, Li X, Yu C, Qin C, Liu J, Tian X, Sun X, Fu R, Zhang L, Zhang X, Lu Y, Zou J, Wang L, Guan Q, Gao L y Zhao J. 2010. A novel role for thyroid-stimulating hormone: up-regulation of hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase expression through the cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A/cyclic adenosine monophosphate-responsive element binding protein pathway. *Hepatology.* 52: 1401-1409.
- Tingi** E, Syed AA, Kyriacou A, Mastorakos G y Kyriacou A. 2016. Benign thyroid disease in pregnancy: A state of the art review. *J Clin Transl Endocrinol.* 6: 37-49.
- Ullah** K, Rahman TU, Pan HT, Guo MX, Dong XY, Liu J, Jin LY, Cheng Y, Ke ZH, Ren J, Lin XH, Qiu XX, Wang TT, Huang HF, Sheng JZ. 2017. Serum estradiol levels in controlled ovarian stimulation directly affect the endometrium. *J Mol Endocrinol.* 24. JME-17-0036.
- 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. *Hum Reprod.* 29: 1161-1172.

- Vattai A**, Ziegelmüller B, Kost B, Kuhn C, Hofmann S, Bayer B, Anslinger K, Jeschke U, Ditsch N. 2015. The expression of thyroid hormone receptors (THR) is regulated by the progesterone receptor system in first trimester placental tissue and in BeWo cells in vitro. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 195:31-39.
- Vega A**, Martinot E, Baptissart M, De Haze A, Vaz F, Kulik W, Damon-Soubeyrand C, Baron S, Caira F y Volle DH. 2015. Bile Acid Alters Male Mouse Fertility in Metabolic Syndrome Context. *PLoS One.* 10: e0139946.
- Vigone MC**, Di Frenna M y Weber G. 2015. Fenotipo heterogéneo en niños afectados por hipotiroidismo no autoinmune: una actualización. *J Endocrinol Invest.* 38: 835-840.
- Vijay Panicker** 2011. Genetics of Thyroid Function and Disease. *Clin Biochem Rev.* 32: 165–175.
- Wang F**, Shen Y, Song X, Xia G, Chen X y Zhou B, Lei L. 2006. cDNA cloning, genomic structure and expression analysis of the bovine lanosterol 14alpha-demethylase (CYP51) in gonads. *Biol Pharm Bull.* 29: 430-436.
- Wang F**, Yang J, Wang H y Xia G. 2010. Gonadotropin-regulated expressions of lanosterol 14alpha-demethylase, sterol Delta14-reductase and C-4 sterol methyl oxidase contribute to the accumulation of meiosis-activating sterol in rabbit gonads. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 92: 25-32
- Watanabe H**, Hirai S, Tateno H y Fukui Y. 2013. Variation of cholesterol contents in porcine cumulus-oocyte complexes is a key factor in regulation of fertilizing capacity. *Theriogenology.* 79: 680-686.
- Woclawek-Potocka I**, Kondraciuk K y Skarzynski DJ. 2009. Lysophosphatidic acid stimulates prostaglandin E2 production in cultured stromal endometrial cells through LPA1 receptor. *Exp Biol Med (Maywood).* 234: 986-993.
- Woollett L** y Heubi JE. 2016. Fetal and Neonatal Cholesterol Metabolism. editors. *Endotext.* South Dartmouth (MA): MDTtext.com. Inc.
- Wright MM**, Henneberry AL, Lagace TA, Ridgway ND y McMaster CR. 2001. Uncoupling farnesol-induced apoptosis from its inhibition of phosphatidylcholine synthesis. *J Biol Chem.* 276: 25254-25261.

- Wu** WB, Xu YY, Cheng WW, Wang YX, Liu Y, Huang D y Zhang HJ. 2015. Agonist of farnesoid X receptor protects against bile acid induced damage and oxidative stress in mouse placenta a study on maternal cholestasis model. *Placenta*. 36: 545-551.
- Yamamoto T, Amino N, Tanizawa O, Doi K, Ichihara K, Azukizawa M, Miyai K. 1979. Longitudinal study of serum thyroid hormones, chorionic gonadotrophin and thyrotrophin during and after normal pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 10(5):459-68.
- Yoshida** Y, Yamashita C, Noshiro M, Fukuda M, y Aoyama Y. 1996. Sterol 14-demethylase P450 activity expressed in rat gonads: contribution to the formation of mammalian meiosis-activating sterol. *Biochem Biophys Res Commun*. 223: 534-538.
- Zepeda-Pérez** Dafne. 2018. Efecto del Hipotiroidismo sobre el Contenido de Lípidos en el Útero de Conejas Gestantes. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tesis de Maestría 2018.
- Zhang** H, Xu B, Xie H, Zhou B, Ouyang H, Ning G, Li G, Zhang M y Xia G. 2009. Lanosterol metabolic product(s) is involved in primordial folliculogenesis and establishment of primordial follicle pool in mouse fetal ovary. *Mol Reprod Dev*. 76: 514-521.
- Ziegel Müller** B, Vattai A, Kost B, Kuhn C, Hofmann S, Bayer B, Toth B, Jeschke U y Ditsch N. 2015. Expression of Thyroid Hormone Receptors in Villous Trophoblasts and Decidual Tissue at Protein and mRNA Levels Is Downregulated in Spontaneous and Recurrent Miscarriages. *J Histochem Cytochem*. 63: 511-523.
- Zimmermann** MB. 2012. The effects of iodine deficiency in pregnancy and infancy. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 26 Suppl 1:108-117.

13. GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 1. Homeostasis:** Mecanismos que mantienen constantes las condiciones del medio interno de un organismo, a pesar de grandes oscilaciones en el medio externo.
- 2. Oligomenorrea:** La duración del ciclo es mayor de lo habitual, de manera que las menstruaciones se suceden con intervalos de 35-90 días.
- 3. 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.
- 4. Metimazol:** Profármaco del tiamizol que interfiere en la síntesis de las hormonas tiroideas, sin ejercer efecto sobre la hormona preformada.
- 5. Menorragia:** es el término médico para los períodos menstruales en la que la hemorragia es anormalmente intensa o prolongada.
- 6. Hipóxico:** Falta de oxígeno en los tejidos del cuerpo.
- 7. Líquido amniótico:** Fluido claro que envuelve y protege al feto durante su desarrollo en todo el embarazo. Tiene como función proteger, amortiguar el efecto de las contracciones y golpes, mantener una temperatura constante alrededor del feto y permitir el libre movimiento de éste ayudándolo a desarrollarse con normalidad.
- 8. Trofoblasto:** Es el primer tejido que se diferencia durante el desarrollo, y el encargado de establecer la conexión entre el embrión y los tejidos maternos, además es responsable de la formación de la placenta.

ANEXOS