



---

---

**Universidad Autónoma del Estado de México**  
**Facultad de Química**

**Maestría en Ciencias Químicas**

**“EXPRESIÓN DE  $TSH\beta$  Y DEL POLIMORFISMO D2Thr92Ala EN EL GEN DE LA DEIODINASA 2 EN PACIENTES GESTANTES CON PATOLOGÍAS TIROIDEAS DEL HOSPITAL MATERNO PERINATAL “MÓNICA PRETELINI SÁENZ”**

**TESIS**

**Para obtener el grado de  
Maestra en Ciencias Químicas**

**Presenta:**

**Yesica María Rodríguez Cortés**

**Comité de Tutores**

**Dra. Araceli Amaya Chávez**

**Dr. Hugo Mendieta Zerón**

**M. en CA. María Magdalena García Fabila**

**Toluca, Estado de México 2018**

## AGRADECIMIENTOS

- A CONACYT por el otorgamiento de la beca para el desarrollo del posgrado Núm. de CVU 785330.
- Al Dr. Hugo Mendieta Zerón, por su paciencia, y confianza. Ha sido el principal mentor de este proyecto.
- A la Dra. Araceli Amaya por su apoyo incondicional, disposición y enseñanzas no sólo académicas sino de vida en este proceso de posgrado.
- A la M. en CA. Magdalena García por sus valiosos aportes para el desarrollo del proyecto desde el inicio hasta el fin de la maestría.
- Al Servicio de Consulta Externa de Ginecología del Hospital Materno perinatal “Mónica Pretelini Sáenz”.
- Al servicio de Materno fetal del Hospital Materno perinatal “Mónica Pretelini Sáenz” por su colaboración para la recolección de las muestras, en especial a: Dr. Jorge Antonio Leguizamo Mejía, Dra. Liliana Betanzos, Dr. Julio César Llauger, Dra. Rosa Cortés, jefa de enfermería Tomasa Hernández.
- A la Dra. Silvia Jiménez Morales y a Carlos Jovani Amado del Instituto Nacional de Medicina Genómica INMIGEN, por el apoyo para la realización del proceso de genotipificación del polimorfismo.
- A la Dra. Eneida Camarillo Romero y al MSc. Cristian F. Layton Tovar, por su colaboración en el procesamiento de TSH sérica.

## DEDICATORIA

*Esta tesis es producto del esfuerzo y dedicación, de la constancia y disciplina con la que me criaron de pequeña. Este título es para ti mamá por ser mi mejor amiga y compañera de viaje, te admiro y respeto. A mi abuelo, que más que mi abuelo es mi papá; gracias papá por darme tanto amor a lo largo de mi vida y enseñarme a ser una niña fuerte; a mi esposo Julio César por creer en mí, seguir mis sueños y entender que soy una mujer diferente a las demás , que no pertenezco a ningún lugar , que mi lugar estará siempre donde haya una oportunidad de hacer ciencia, y donde pueda servir a la humanidad; te amo , te admiro, te respeto y le doy gracias a Dios por tenerte en mi vida. A mi tío Guillermo y mi tío Arnoldo por su apoyo para seguir mis estudios; y por supuesto como todo lo que hago en la vida esto va para ti mamá Elisa, sé que desde el cielo me cuidas, gracias por enseñarme a vivir.*

*“Donde quiera que el arte de la medicina es amado, también hay un amor a la humanidad”.*

*Hipócrates.*

## CONTENIDO

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	5
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	6
<b>GLOSARIO DE ABREVIATURAS UTILIZADAS</b> .....	7
<b>RESUMEN</b> .....	10
<b>CAPÍTULO I GENERALIDADES</b> .....	11
1. ANTECEDENTES.....	12
1.1 La glándula tiroides .....	12
1.2 Producción de hormonas tiroideas .....	14
1.3 Funciones de las hormonas tiroideas. ....	17
1.4. Disfunciones tiroideas .....	18
1.2 Enfermedad tiroidea en el embarazo .....	22
1.3 Fármacos usados para controlar la disfunción tiroidea en la paciente gestante .....	25
1.4 Importancia del polimorfismo Thr92Ala .....	27
1.5 Importancia clínica del gen TSH $\beta$ y sus variantes.....	31
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	32
3. JUSTIFICACIÓN .....	34
4. OBJETIVOS .....	35
5. HIPÓTESIS .....	36
<b>CAPÍTULO II METODOLOGÍA</b> .....	37
6.1 Población en estudio .....	39
6.1.1. Cálculo del tamaño de la muestra.....	39
6.1.2 Criterios de inclusión .....	40
6.1.3 Criterios de no inclusión .....	40
6.1.4 Criterios de eliminación .....	40
6.1.5 Selección de los grupos de estudio .....	40
6.1.6 Realización de cuestionario a las pacientes .....	41
6.1.7 Toma de muestra.....	41
6.1.8 Datos bioquímico clínicos y antropométricos de las pacientes .....	41
6.2 Determinación de TSH en suero de pacientes normotiroideas.....	42
6.3 Identificación del gen TSH $\beta$ .....	42

6.3.1 Extracción de ARN .....	42
6.3.2 Verificación de calidad y cantidad de ARN .....	43
6.3.3 Expresión del gen TSHB .....	44
6.4 Identificación del polimorfismo D2 Thr92Ala .....	45
6.4.1 Extracción de ADN .....	45
6.4.2 Verificación de la cantidad y calidad de ADN. ....	46
6.4.3 Genotipificación Thr92Ala .....	46
<b>CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>48</b>
7. Descripción de la población .....	49
7.1 Parámetros Bioquímico Clínicos y antropométricos de las pacientes .....	51
8. TSH sérica .....	56
9. Expresión del gen TSH $\beta$ .....	57
10. Presencia del polimorfismo D2 Thr92Ala .....	58
11. Discusión .....	60
12. CONCLUSIÓN.....	66
ANEXOS.....	67
REFERENCIAS.....	74

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Modulación en la producción de las HT con efectos en órganos blanco.....	15
Figura 2. Estructura de los fármacos antitiroideos.....	26
Figura 3. Reacciones mediadas por las Deiodinasas.....	29
Figura 4. Diagrama de flujo de la metodología.....	38
Figura 5. Presencia de antecedentes familiares en las pacientes embarazadas.....	50
Figura 6. Relación entre el peso de las pacientes y su estado de salud.....	54
Figura 7. Distribución de la variante X1 en la población analizada.....	58
Figura 7. Plot de discriminación alélica Software Quant Studio Design&Analysis.....	59
Figura 8. Incidencia de los genotipos en cuanto al estado de salud de las pacientes.....	59
Figura 14. Causas genéticas de las enfermedades tiroideas.....	65

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipos de Hipotiroidismo Congénito.....	21
Tabla 2. Descripción general de la población.....	50
Tabla 3. Valores bioquímicos y antropométricos en la población de estudio....	51
Tabla 4. Valores de Referencia en el embarazo.....	53
Tabla 5. Recomendaciones de ganancia de peso durante el embarazo.....	54
Tabla 6. Regímenes de dosificación en las pacientes analizadas.....	55
Tabla 7. Valores de referencia de TSH en el embarazo.....	56
Tabla 8. Valores de TSH en la población analizada.....	57

## GLOSARIO DE ABREVIATURAS UTILIZADAS

ACTH-Hormona adrenocorticotropa.

ADN-Acido desoxirribonucleico.

AMPc - Adenosín monofosfato cíclico.

ARN-Ácido ribonucleico.

CMH-Complejo mayor de histocompatibilidad.

Crea-Creatinina.

CT - Colesterol total.

D1- Deiodinasa 1.

D2- Deiodinasa 2.

D3- Deiodinasa 3.

DIO2 – Gen de la Deiodinasa 2.

FT4-Tetrayodotironina libre.

GH-Hormona del crecimiento.

Glu- Glucosa.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Peróxido de Hidrógeno.

Hb – Hemoglobina.

HcG-Gonadotropina coriónica.



HC-Hipotiroidismo congénito.

HLA-Antígenos leucocitarios humanos.

HPT-Hipotálamo-Pituitaria- Tiroides.

HT-Hormonas tiroideas.

HTA-Hipertensión arterial.

LH-Hormona luteinizante.

MMI-Metamizol.

mRNA- RNA mensajero.

OPS- Organización Panamericana de Salud.

PCR – Reacción en cadena de la polimerasa.

PKA- Quinasa A.

PTU- Propiltiuracilo.

ROS-Radicales libres y otras especies reactivas pro-oxidantes.

SDG-Semanas de gestación.

SnP – Polimorfismo de nucleótido simple.

T3-Triyodotironina.

T4-Tetrayodotironina.

T4T-Tetrayodotironina total.

TBG- Globulina fijadora de tiroxina.

TG-Tiroglobulina.

TG-Triglicéridos.

TPO-Tiroperoxidasa.

TRH-Hormona liberadora de tirotropina.

TSH Hormona estimulante de tiroides.

TSH $\beta$  – Gen TSH $\beta$ .

## RESUMEN

Las enfermedades tiroideas son patologías que con frecuencia afectan a las mujeres embarazadas causando complicaciones graves. La investigación actual tiene como objetivo averiguar si la expresión del gen *TSH $\beta$*  variante X1 (*TSH $\beta$ X1*) y el polimorfismo D2 Thr92Ala del gen *DIO2* pueden estar involucrados en el desarrollo y la evolución de la enfermedad tiroidea en mujeres gestantes mexicanas. Fue un estudio comparativo, prospectivo, clínico y transversal con 96 pacientes embarazadas de un hospital obstétrico mexicano, 38 de ellas eran normo tiroideas y 54 tenían enfermedad tiroidea. La expresión de *TSH $\beta$ X1* se cuantificó mediante PCR en tiempo real y la presencia del polimorfismo D2 Thr92Ala se verificó a través de genotipificación con sonda TaqMan. Además, se correlacionaron los valores de TSH, creatinina, triglicéridos, colesterol, glucosa y hemoglobina de los pacientes con los hallazgos genéticos. Se observó que no había relación entre el historial de abortos y el estado de salud de las pacientes, pero sí con los antecedentes familiares de enfermedad tiroidea. No hubo relación entre los parámetros bioquímicos y las características genéticas, pero se observaron casos metabólicamente típicos de la enfermedad tiroidea con complicaciones externas en otros sistemas. Se confirmó la expresión de *TSH $\beta$ X1*, pero ésta no se vio relacionada con la enfermedad tiroidea. El genotipo más común en la población analizada fue CC, y estuvo relacionado con la presentación de enfermedad tiroidea. Los dos hallazgos en el estudio ayudan a la caracterización de la población mexicana, porque son hallazgos nuevos.

# CAPÍTULO I GENERALIDADES

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1 La glándula tiroides

La glándula tiroides está compuesta por folículos en los cuales son sintetizadas las HT a través de procesos de yodación (Brent, 2012). Los folículos (unidad funcional de la glándula) son conjuntos celulares vascularizados llenos de coloide en donde no sólo se producen las HT sino que también se almacenan (Ortiga *et al.*, 2016). Son morfológica y funcionalmente heterogéneos pues las células varían notablemente en cuanto a dimensión y actividad celular entre unas y otras, lo que influye en aspectos como el contenido de TG; todas estas variaciones se atribuyen a causas genéticas (Sellitti y Suzuki, 2014).

Los trastornos en la glándula tiroides están dentro de las enfermedades endocrinas más comunes (Nishikawa M *et al.*, 1983). Se estima que hasta un 10% de la población tiene un desorden tiroideo lo que puede influir en las funciones cognitivas de los individuos. Se ha encontrado que tiroidectomías realizadas en la vida adulta producen deterioro del aprendizaje y la memoria, y que factores ambientales como el contacto con bisfenoles y nicotina pueden generar una disrupción tiroidea (Leach *et al.*, 2015).

Una alteración en las HT contribuye al desarrollo de enfermedades como las cardiovasculares, la diabetes mellitus, la enfermedad hepática crónica etc.; el hígado es un blanco tan importante de las hormonas tiroideas que los análogos de T3 previenen la esteatosis y la hepatitis (Chi *et al.*, 2013).

Para entender un poco el porqué de los desórdenes tiroideos más recuentes, sobre todo de origen congénito, se debe ir a el proceso de embriogénesis de la glándula. La tiroides se empieza a desarrollar en la cuarta semana de gestación embrionaria y se origina como un engrosamiento del endodermo en la pared ventral de la faringe primitiva caudal a la región del primer orco branquial, luego de esto el primordio tiroideo comienza a invadir la mesénquima circundante formando un brote primitivo que hacia la séptima semana de desarrollo migra a su ubicación definitiva (la porción media anterior del cuello),ya para la octava semana se distinguen el istmo y los lóbulos laterales; un error en este lapso de tiempo produce alteraciones anatómicas, disembriogénesis o disgenesia tiroidea manifestada en aplasia, hipoplasia o ectopia tiroidea (Grob y Martínez, 2012). Una anomalía frecuente producto de fallos en la organogénesis es el hipotiroidismo congénito, que puede ser primario, central o periférico (Mayayo Dehesa, 2011).

Entre la semana 10 a 12 del desarrollo es cuando ocurre la diferenciación funcional de las células foliculares comenzando la expresión de proteínas para sintetizar las hormonas tiroideas; una alteración en esta fase produce dishormogénesis con una tiroides de ubicación normal pero con disfunción hormonal (Grob y Martínez, 2012).

Los fallos en las fases mencionadas son determinantes para el desarrollo de patologías. Hay que tener en cuenta además que la tiroides juega un papel fundamental en el proceso sistémico; interviniendo en la diferenciación, el crecimiento, el metabolismo y en general en la función fisiológica (Yen, 2001).

## **1.2 Producción de hormonas tiroideas**

Las HT se regulan por mecanismos de transcripción génica que incluyen activación y desactivación de deiodinasas, expresión de isoformas de receptores, coactivadores nucleares etc., que mantienen la homeostasis tiroidea; sin embargo en estados patológicos todo cambia, y las repercusiones en el organismo son fuertes; por ejemplo el gasto energético en hipotiroidismo se ve disminuido hasta en un 50% y la expresión de D2 aumenta considerablemente en la misma patología (Mcaninch y Bianco, 2015).

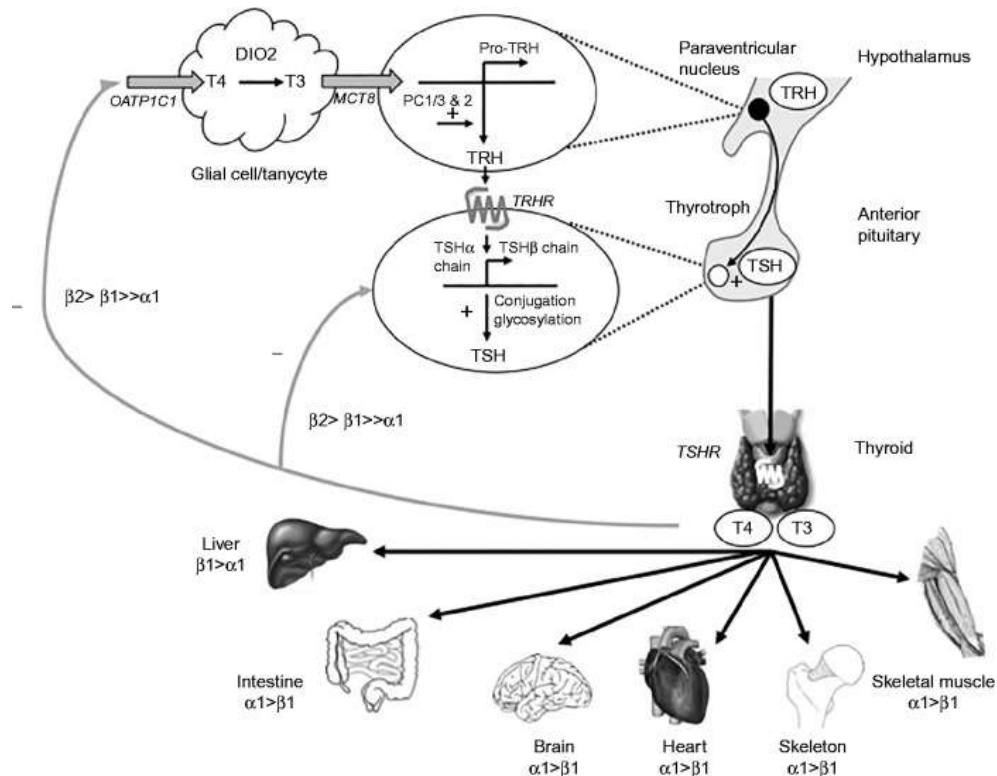
Las HT mantienen sus niveles gracias a un proceso de retroalimentación negativa, **(Figura 1)** que inicia en el hipotálamo con la síntesis de TRH, continúa en la hipófisis que produce TSH y termina en la tiroides con la generación de T3 y T4 (Tania *et al.*, 2014).

TRH es la principal estimuladora para la síntesis y liberación de TSH, es un tripéptido compuesto por 3 aminoácidos (ácido glutámico, histidina y prolina) derivado de una proteína precursora larga (prepo-TRH) cuyo gen en los humanos se encuentra en el cromosoma 3; la TRH tiene además efectos en la termogénesis regulación, etc.; y es producida por las neuronas hipofisiotróficas localizadas principalmente en el núcleo paraventricular que se encuentra en los límites dorsales del tercer ventrículo cerebral (Fekete *et al.*, 2014).

T3 regula a TRH y los tanycitos (células especializadas de la glía) son los encargados de mantener los niveles cerebrales adecuados de HT (Ortiga-Carvalho *et al.*, 2016).

El segundo nivel del eje es controlado por la TSH una glicoproteína conformada por una cadena alfa común que tienen con hormonas como la LH y la hcG y una cadena beta específica (Yen,2001). Si llega a haber un aumento de T3 y T4, TSH empieza a disminuir para frenar el estímulo de producción de hormonas tiroideas.

**Figura 1. Modulación en la producción de las HT con efectos en órganos blanco, (estimulación positiva en negro y negativa en gris). Imagen tomada de: Schoemarkers *et al.*, Recent advances in central congenital hypothyroidism (2014).**



La TSH es indispensable para la función, diferenciación y crecimiento de la tiroides, se encarga de manejar la incorporación del yoduro dentro de la molécula de TG, del acoplamiento de la yodotirosina a las HT y la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, cofactor importante para la biosíntesis de las HT. TSH actúa a través del receptor TSH-R



(receptor acoplado a proteína G) que se encuentra en la membrana basolateral del tirocito; la unión a de TSH a TSH-R desencadena el inicio de la vía principal para el funcionamiento de las hormonas tiroideas: la vía del adenilato ciclasa, que incrementa los niveles de AMPc y provoca la activación de la PKA (Ortiga *et al.*,2016).

Las principales hormonas tiroideas son la T4 y T3. T4 es sintetizada a plenitud en la tiroides de seres humanos, órgano que constituye el primer nivel del eje y actúa como prohormona para producir a T3, de la cual solo el 20% circulante es secretada directamente por la glándula y el 80% restante es derivado de la mono-deyodación de la T4 (Senese *et al.*, 2014).

La biosíntesis de T3 y T4 se realiza en la interface célula-coloide en la membrana apical de la célula tiroidea a partir de la TG, (una glicoproteína homodímera de 660 kDa), con la intervención de una enzima microsomal, la TPO, y en presencia de una fuente de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Carina *et al.*,2005).

Las HT juegan un papel importante en el estrés oxidativo, el cual se ve implicado en problemas de fertilidad, pérdidas gestacionales tempranas, preeclampsia, RCIU, y ruptura prematura de membranas (Duhing *et al.*,2016). El sistema anti y pro oxidante cambia en las disfunciones tiroideas (en el hipertiroidismo aumenta la producción de ROS y en el hipotiroidismo baja la disponibilidad de antioxidantes), además las HT pueden producir por si solas daño al ADN ya que actúan como oxidantes a través de su grupo fenólico que es similar a los estrógenos esteroideos (Mancini *et al.*, 2016).

Para finalizar, las HT circulan periféricamente unidas a la TBG, transtiretina y /o albúmina, su cantidad se regula por el proceso de deyodación el cuál es mediado

por tres selenoenzimas expresadas en diferentes órganos y sistemas; D1: en hígado, riñón, tiroides y pituitaria; D2: en sistema nervioso central, adenohipófisis, tejido adiposo y placenta y D3: en sistema nervioso central, placenta, piel y tejido fetal (Grob y Martínez-Aguayo, 2012; Senese *et al.*, 2014).

### **1.3 Funciones de las hormonas tiroideas.**

Las HT cumplen un papel vital en el metabolismo de macronutrientes y en general en el consumo de O<sub>2</sub> y energía (Yen, 2001). Regulan funciones celulares por mecanismos genómicos y no genómicos; el primero es el más frecuente y conlleva a cambios conformacionales haciendo que las HT interactúen con promotores específicos de genes diana, para lo que requieren la activación de receptores nucleares (TRs) los cuales son TR $\alpha$ 1, TR $\beta$ 1, TR $\beta$ 2 y TR $\beta$ 3 (Senese *et al.*, 2014).

En tejidos como en el corazón, las HT aumentan el inotropismo cardiaco debido a que estimulan a los receptores beta, la expresión de Ca<sup>+2</sup> ATPasa, modifican los factores hemodinámicos y promueven la expresión de miocitos de cadena pesada de miosina (Mantilla *et al.*, 2010). Además de lo anterior aumentan el gasto cardiaco, esto debido a los efectos ionotrópicos y cronotrópicos (Yen, 2001).

En el cerebro las HT intervienen en el desarrollo cortical cerebelar además de la mielinización, esta función es de suma importancia para el feto (Schoenmakers *et al.*, 2013; Yen, 2001).

En el hígado estimulan enzimas que regulan lipogénesis y lipólisis; y en el tejido adiposo pueden inducir a la diferenciación del tejido blanco y a la acumulación intracelular de lípidos, mientras que en el hueso son críticas para un crecimiento y

desarrollo normal pues se ha observado que los osteoblastos y osteoclastos están estimulados por las HT, razón por la cual en los niños con hipotiroidismo se puede presentar baja estatura y retraso en el cierre de la epífisis (Yen, 2001).

## **1.4. Disfunciones tiroideas**

### **1.4.1 Hipotiroidismo**

Esta patología resulta de una disminución de la actividad biológica de las HT a nivel tisular, bien sea porque hay una producción insuficiente, una resistencia a su acción en los tejidos o una alteración de su transporte o en el metabolismo (Mayayo Dehesa, 2011).

El hipotiroidismo es la afección tiroidea más frecuente y se presenta de Novo o en pacientes con patologías como la enfermedad renal crónica y la enfermedad renal en estado terminal. Se cree que una afección renal puede favorecer la aparición de hipotiroidismo debido a la malnutrición, inflamación, retención de yodo, acidosis metabólica, deficiencias minerales y tratamiento de diálisis. Una enfermedad renal puede generar una predisposición para que haya una alteración en el eje HPT pues metabolismo, degradación y excreción de las HT se ven alterados. Usualmente se reporta que los pacientes presentan entonces bajos niveles de T3, de T4T, y al disminuir el aclaramiento de TSH, esta incrementa su vida media y no hay una glicosilación adecuada (Rhee *et al.*, 2015).

La prevalencia del Hipotiroidismo cambia según la región geográfica o la población, por ejemplo en India es del 10.9%, mientras que en países desarrollados no supera

el 5%, hay que tener en cuenta que la patogénesis de este padecimiento no sólo depende de la deficiencia de yodo, sino que involucra aspectos complejos que incluyen la genética, el medio ambiente y factores endógenos entre los que se encuentran las causas autoinmunes en donde la presencia de anticuerpos anti TPO, o anti TG generan una destrucción gradual de las células de la glándula tiroides y llevan a una deficiencia hormonal (Patel *et al.*, 2016).

Como lo afirma la guía IMSS-265-10 de 2016 “*Diagnóstico y tratamiento de hipotiroidismo primario y subclínico en el adulto*”, las manifestaciones clínicas del hipotiroidismo son variadas, y están relacionadas con la magnitud de la deficiencia tiroidea; usualmente los pacientes presentan intolerancia al frío, voz ronca, constipación, alteración de la memoria, piel seca, bradicardia, movimientos lentos, y aumento de peso sin llegar a obesidad mórbida, lo que puede generar dificultad en el momento de diagnosticar a un adulto mayor, pues se pueden confundir los síntomas con cambios propios de la edad.

Por otro lado, el hipotiroidismo subclínico tiene una prevalencia del 3% al 10% y las personas son asintomáticas al punto que el diagnóstico es incidental en laboratorios de rutina, y se presenta con una TSH mayor a 4 m U/L con una FT4 normal (Schübel *et al.*, 2017).

Otra clase de hipotiroidismo es el HC, la endocrinopatía y causa de discapacidad cognitiva prevenible más frecuente en el recién nacido que si no se trata oportunamente puede causar retraso mental irreversible por lo que se considera una urgencia pediátrica (Grob y Martínez-Aguayo, 2012). La prevalencia a nivel mundial es de 1:3000 nacidos vivos y hasta un 85% está asociado con disgenesia

tiroidea mientras que el 15% restante se debe a una dishormogénesis, (Cangül *et al.*, 2015), **Tabla 1**.

Las causas de la disgenesia o dishormogénesis en HC son muy variadas, la deficiencia de yodo es la más común pues el feto depende de las reservas maternas y lo afecta debido a la inmadurez del eje HPT; esto se ve favorecido por la deficiencia de otros elementos como el hierro que puede afectar la respuesta tiroidea a la administración de suplementos de yodo, una madre mal nutrida y con problemas metabólicos agudiza estos inconvenientes. Otros factores como los autoinmunes (anticuerpos bloqueadores) al cruzar placenta pueden neutralizar el receptor de TSH, además el paso transplacentario de fármacos como el propiltiouracilo o metimazol que disminuyen la producción de hormona tiroidea por parte del feto o exposición a otros fármacos usados en el embarazo como la Amiodarona (usado en arritmias) pueden también llevar al desarrollo de un HC (Kanike *et al.*, 2017).

#### **1.4.2 Hipertiroidismo**

Es provocado por una producción excesiva de HT y su causa puede deberse a una mutación en el receptor de TSH, o puede ser autoinmune (Carina *et al.*, 2005). La forma autoinmune es conocida como enfermedad de Graves y en ésta los anticuerpos para el receptor de la TSH lo estimulan incrementando la producción de hormona tiroidea (Amorós y Turcios, 2012).

El hipertiroidismo puede ser transitorio o persistente; el primero se debe a una tiroiditis y el segundo a autoinmunidad o a causas endógenas como nódulo autónomo, bocio multinodular o sobre tratamiento con HT (Mantilla *et al.*, 2010).

**Tabla 1. Tipos de Hipotiroidismo Congénito**  
**(Schoenmakers *et al.*, 2015, Cherella y Wassner, 2017)**

<b>Tipo</b>	<b>Características</b>
<b>HC primario</b>	Defecto en la glándula tiroides por disgenesia (agenesia, hipoplasia y ectopia), que se puede presentar por mutaciones puntuales en los genes PAX 8, NKX2-1 y FOXE1, indispensables para el desarrollo de la glándula; o por dishormogénesis tiroidea. (Cherella y Wassner, 2017).
<b>HC central</b>	Es un trastorno raro que afecta a TRH y TSH, la disfunción está en el hipotálamo o en la pituitaria y se han visto implicadas mutaciones en los genes IGSF1, SOX3, OTX2, LHX3, PROP1, LEPR entre otros, (Cherella y Wassner, 2017). La biosíntesis anormal de HT ocurre por un defecto en la estimulación hacia la tiroides por parte de la TSH, sin embargo en esta entidad la TSH no está elevada y los programas de detección primaria pueden fallar aumentando el riesgo de que los pacientes presenten retraso en el neurodesarrollo, y se pueden pasar por alto otras deficiencias de hormonas en la glándula pituitaria (como en la ACTH y la GH) lo que puede generar riesgos significativos de presentar complicaciones como la hipoglucemia severa que puede ser mortal, (Schoenmakers <i>et al.</i> , 2015).

El hipertiroidismo puede ir acompañado de tiroxicosis debido al incremento de la estimulación tiroidea que se da por anticuerpos contra el receptor de TSH, una inapropiada secreción de TSH, adenomas secretores en la pituitaria, resistencia pituitaria a la TSH, secreción excesiva de HCG debido a un tumor trofoblástico, hiperémesis gravídica o por una función tiroidea autónoma debido por ejemplo a adenomas solitarios hiperfuncionales (Leo *et al.*, 2016).

Usualmente los pacientes hipertiroides, presentan síntomas neuropsiquiátricos como pérdida de la concentración, disminución de la memoria, depresión, ansiedad,

nerviosismo e irritabilidad cuyo origen tiende a ser ambiguo y no está del todo claro. Sin embargo se ha podido evidenciar que estos pacientes presentan subsecuentemente a su disfunción tiroidea disminución en la conectividad funcional intrínseca en el lóbulo posterior del cerebelo o en la zona del hipocampo(Li *et al.*, 2017).Se cree también que el hipertiroidismo influye en el desarrollo de desórdenes bipolares (Hu *et al.*, 2013).

Además de lo anterior otros autores han reportado un estado de hipercoagulabilidad presente en pacientes con hipertiroidismo, debido a la activación de factores como el VIII, X, IX, vWF, ( Von Willebrand) fibrinógeno y decremento en la fibrinólisis; lo que incrementa los riesgos de un accidente embólico en estos pacientes (Burman, 2017).

### **1.5 Enfermedad tiroidea en el embarazo**

La enfermedad tiroidea es el desorden endocrino más común en las mujeres en edad reproductiva, después de la diabetes mellitus, estimando que aproximadamente de un 2-3% de las mujeres han sido diagnosticadas con alguna disfunción tiroidea antes de tener un embarazo (Wilson *et al.*, 2014).

El embarazo es un estado de excesiva estimulación tiroidea, cambios fisiológicos como el aumento de TBG, el incremento de la degradación de T4 a T3 por el anillo interior de la D3 expresado de forma abundante en la placenta, el amnios y el corión para generar una T3 reversa y el efecto de la HCG quien por compartir cadena alfa con la TSH genera una falsa estimulación de receptores incrementando los niveles de T3 y T4, hacen del embarazo un escenario propicio para las disfunciones

tiroideas que se agravan si la madre ya viene con patología de tiroides diagnosticada (Leung,2012; Nazarpour *et al.*, 2015).

En el embarazo también aumenta la excreción de yodo urinario y se ha comprobado que pacientes con una excreción mayor a 250  $\mu\text{g/L}$  tienen mayor riesgo de presentar hipotiroidismo subclínico(Wang *et al.*,2017).Además se ha demostrado que la estimulación por hCG está asociada con el riesgo de hipotiroxinemia (Korevaar *et al.*, 2017).

Las HT maternas son muy importantes debido a que inducen al desarrollo del cerebro fetal y en la primera parte del embarazo el feto depende de las hormonas de su madre, usando la T4 que cruza placenta en pequeñas cantidades, pues la tiroides fetal no concentra yodo sino hasta la 10 semana de gestación y hasta la semana 20 empieza a producir HT por la pituitaria fetal, lo que implica que un fallo en esta etapa sea trascendental (Leung,2012;León *et al.*, 2015).

Los efectos adversos materno-fetales de la disfunción tiroidea incluyen parto pretérmino, preeclampsia, abortos y bajo peso al nacer, lo que hace que las embarazadas con enfermedad tiroidea tengan un tratamiento específico y estricto (Grob y Martinez, 2012).

Si es una paciente hipotiroidea que ya toma levotiroxina y su embarazo tiene más de 12 SDG la dosis que toma se incrementa de un 25 a 30%, pero si es un embarazo más temprano el aumento de esta dosis dependerá de cuánto está cambiando la TSH de acuerdo con el trimestre en qué se encuentre; además si la paciente está sin tratamiento serán los resultados de laboratorio los que decidan su dosis. Si su TSH se encuentra entre 2.5 y 10 mUI/L la dosis indicada será de 50  $\mu\text{g}$  cada 24 horas a diferencia de una TSH > 10 mUI/L donde se empieza inmediatamente con



una dosis de 100 microgramos cada 24h, en cambio si la paciente sufre de hipertiroidismo se administrarán fármacos que requieren de un cuidado más estricto debido a sus efectos adversos; administrando en el primer trimestre propiltiouracilo y el resto del embarazo metimazol, tratamiento que puede continuar incluso en la lactancia. Las anteriores indicaciones pueden cambiar según las características propias de cada paciente (Alamdari *et al.*, 2013; Tingi *et al.*, 2016).

El chequeo de la función tiroidea está indicado en todas aquellas mujeres que cumplan algunas de las siguientes condiciones: vivan en zonas con deficiencias de yodo, presenten clínica de hipotiroidismo, hipertiroidismo o tiroxicosis, tengan antecedentes de enfermedad tiroidea, les hayan realizado radiación de cabeza y cuello, sean obesas mórbidas, hayan tenido problemas para concebir y/o abortos recurrentes o tengan anticuerpos y/ o padezcan de diabetes tipo I (Smith, *et al.*, 2017).

Las patologías tiroideas no tienen un origen único como se ha expuesto con anterioridad en la presente tesis, están involucrados factores genéticos, endógenos, y ambientales, un ejemplo de ello es el estudio realizado por Janssen y colaboradores en 2017, en el cual pacientes que se expusieron a partículas atmosféricas suspendidas en el aire (PM 2.5) presentaron cambios en su función tiroidea en el tercer trimestre y los neonatos tuvieron bajo peso al nacer, evento que no ocurrió en pacientes no expuestas a PM 2.5 (Janssen *et al.*, 2017).

Otro factor que se ha visto asociado con el desarrollo de enfermedades tiroideas en embarazadas es la obesidad, disfunción asociada al nacimiento de niños con peso alterado (Kahr *et al.*, 2016).

Una paciente sana sin enfermedad tiroidea de base también puede complicarse en el posparto debido a su glándula tiroidea. De un 5 a 18% de pacientes sanas presenta en el primer año una tiroiditis en la cual una inflamación seguida por una infiltración de células del sistema inmunológico en la glándula provoca hipotiroidismo y bocio doloroso, del que hay una buena recuperación y pronóstico; cabe adicionar que incluso hay soporte científico que involucra a componentes tiroideos como lo es la TBG con la depresión posparto (Alemu *et al.*, 2016; Pedersen *et al.*, 2017).

### **1.6 Fármacos usados para controlar la disfunción tiroidea en la paciente gestante**

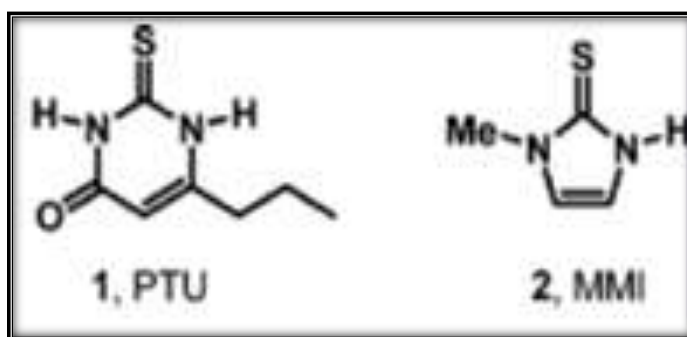
Los fármacos más usados en el ámbito clínico para tratar las disfunciones tiroideas son la Levotiroxina (LT4), un análogo de T4 el cual es usado para el tratamiento de hipotiroidismo; y los fármacos antitiroideos como el Metimazol (MMI) y el propiltiuracilo (PTU) para los trastornos hipertiroideos. En el embarazo cambian las dosis y las indicaciones generales de estos fármacos debido a la relación riesgo-beneficio que pueden tener en la madre y el feto.

En cuanto a los antitiroideos, el MMI y el PTU son fármacos compuestos a base de tiourea, con una estructura heterocíclica **Figura 2**, que inhiben la síntesis de HT bloqueando a la TPO quién cataliza la iodación y el acoplamiento de los residuos de tirosilo a la TG, además el PTU, puede inhibir el selenio de D1, disminuyendo de estas dos formas la producción de HT (Manna, R. y Mugesh, 2013).

El MMI y el PTU se usan con cautela debido a los efectos adversos que pueden ocasionar, pues se ha reportado que del 3 al 5 % de las pacientes tratadas con fármacos antitiroideos presentan eventos adversos que van desde alergias hasta

fallas hepáticas (las menos comunes), siendo controversial el uso de ambos fármacos, ya que algunos estudios no reportan diferencias, mientras que otros evidencian que el MMI no es un fármaco adecuado para tratamiento durante el embarazo debido a que las repercusiones en el feto son más graves que las que puede ocasionar el PTU (Nguyen *et al.*, 2018).

**Figura 2. Estructura de los fármacos antitiroideos.**  
Imagen modificada de: Manna, Roy y Mugesh,  
**Antithyroid drugs and their analogues: synthesis,  
structure, and mechanism of action (2013).**



Se suma a lo anterior las recaídas que puede presentar la paciente obstétrica en el período posparto (12 meses siguientes al parto) se han asociado con el uso de fármacos anti tiroideos, en este tiempo se exacerban las enfermedades tiroideas (autoinmunes sobre todo) debido al intento de homeóstasis por parte del organismo (Rotondi *et al.*, 2018).

Durante el embarazo la meta en las pacientes hipertiroideas es mantener a las HT en el rango límite superior; manejando dosis durante el primer trimestre de PTU de 50-150 mg c/8h dependiendo de la sintomatología de la paciente y de 5 a 20 mg de metimazol a partir del segundo trimestre (Nguyen *et al.*, 2018).

El tratamiento con levotiroxina para hipotiroidismo es muy común pues se estima que del 1-2% de las pacientes embarazadas con esta enfermedad toman el fármaco

durante la gestación, y se ha demostrado que puede ayudar a disminuir el riesgo de complicaciones como las pérdidas gestacionales, el bajo peso al nacer, entre otros (Maraka *et al.*, 2016).

Como se mencionó anteriormente el posparto representa una época crucial para la paciente con enfermedad tiroidea. Las que son diagnosticadas con hipotiroidismo clínico y se les da un tratamiento con levotiroxina, la recomendación para el periodo posparto es de 2/3 de la dosis fina administrada durante el embarazo, mientras que para el hipotiroidismo subclínico es usualmente de 1/2 dosis (Stagnaro-green, 2015). La dosis de levotiroxina en la gestación varía de 1.20  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$  en pacientes recién diagnosticadas, hasta en un 25 a 50% si la disfunción tiroidea es pregestacional. Esta dosis se van ajustando para que los niveles de TSH estén entre 0.1 y 2.5 mUI/L en el primer trimestre, 0.2 y 3.0 mUI/L en el segundo trimestre y 0.3 y 3.3 en UI/L en el tercer trimestre, teniendo cuidado de no administrar un sobre tratamiento el cuál puede causar a las pacientes desde síntomas nerviosos leves hasta cardiopatías isquémicas (Javed y Sathyapalan, 2016).

### **1.7 Importancia del polimorfismo Thr92Ala**

Un Snp es un loci con alelos que difieren en una sola base, se encuentran en más del 1% de la población y son marcadores predominantes en el genoma debido a que se encuentran ampliamente distribuidos a lo largo del material genético. Son variantes naturales que ocurren en una región codificante produciendo un cambio de aminoácido, en una regulatoria donde afecta la expresión de los genes o en las regiones no codificantes (Twyman, 2009).

Los Snps más conocidos son los del grupo HLA, los cuales hacen parte del CMH, y sus genes representan a los más polimórficos dentro de todo el genoma humano (Jia *et al.*, 2013). Cabe mencionar que el cambio se presenta como sustituciones, deleciones o inserciones. El polimorfismo de nuestro interés afecta la funcionalidad de la enzima Deiodinasa 2.

La D2 es una selenoenzima encargada de la deionidación de T4 a T3 lo cuál la hace crucial para el buen funcionamiento de las hormonas tiroideas, **Figura 3**. Se expresa en el músculo esquelético ayudando a la diferenciación y regeneración del mismo, lo cual se logra gracias a la deionidación de T4 a T3 con la posterior unión de T3 a los receptores nucleares de hormona tiroidea, la enzima D2 se ve regulada por la vía TGR5- AMPc (Drigo *et al.*, 2016).

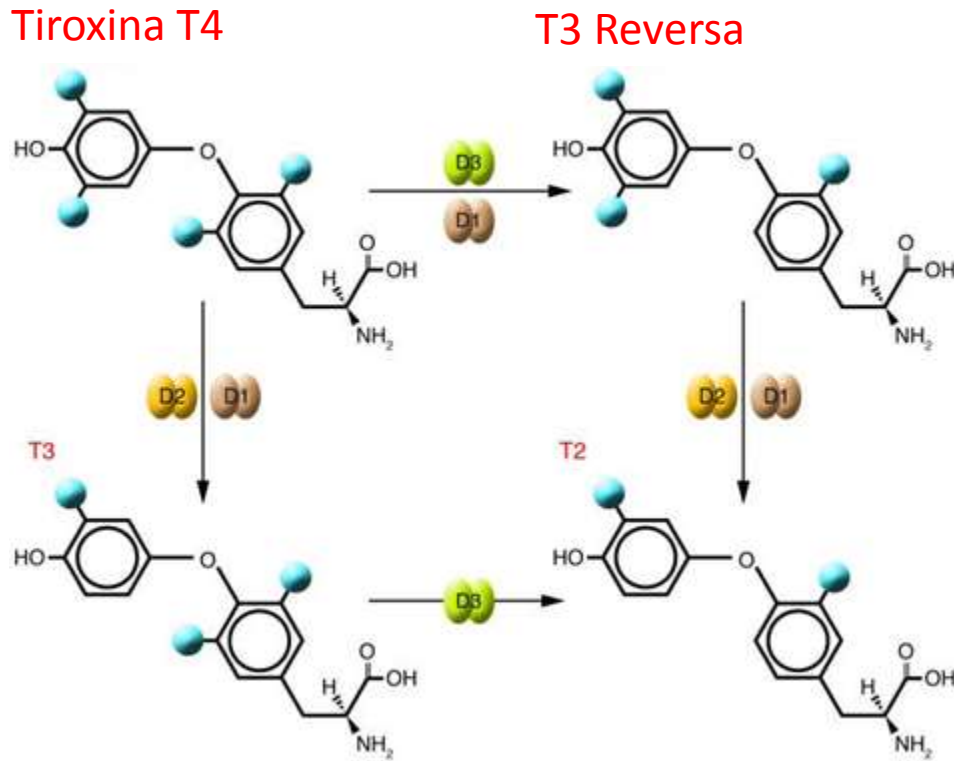
Es una proteína ubicada en la membrana del retículo endoplásmico con una vida media de 45 minutos debido a el mecanismo postranscripcional de ubiquitinación y absorción por el proteosoma que se acelera gracias a la interacción de la D2 con su sustrato T4, la D2 tiene un aminoácido selenocisteína en el sitio catalítico (Badalá, *et al.*, 2011).

Está presente en las membranas deciduales y aumenta durante el embarazo siendo una fuente potencial de T3 para el embrión (Marsili *et al.*, 2011).Es producida por el gen DIO2 (NC\_000014.9), el cual está ubicado en el cromosoma 14 en el brazo largo posición 14q24.3 (Zhang *et al.*, 2016).Un cambio del alelo T por C genera una codificación del aminoácido Alanina en vez de Treonina en la posición 92 lo que hace que la proteína difiera de la estructura canónica. Se ha propuesto que la presencia del polimorfismo D2 Thr92Ala tiene influencia en la función enzimática y además está asociado con incrementar la expresión de genes involucrados en

estrés oxidativo en el tejido cerebral. Se piensa que su presencia puede predecir una respuesta favorable en una terapia combinada de levotiroxina (LT4) y T3 (Wouters *et al.*, 2017).

**Figura 3. Reacciones mediadas por las Deiodinasas.**

**Imagen adaptada de: Bianco A.C, Kim W. (2006). Deiodinasas: Implications of the local control of thyroid hormone action.**



Además de lo anterior, el genotipo Ala92Ala, estaría relacionado con una reducción de la actividad placentaria de D2, lo que podría empeorar las complicaciones gestacionales. Hay que tener en cuenta que la demanda de HT varía entre los diferentes órganos, D2 cataliza la activación de T4 a T3 y desempeña un papel crítico en el mantenimiento intracelular de T3, por lo tanto los polimorfismos en DIO2 podrían interferir en la expresión de esta enzima, alterando potencialmente el metabolismo de las hormonas tiroideas, por lo tanto el polimorfismo D2 Thr92Ala hipotéticamente podría proporcionar un nivel más bajo de T3 intracelular generado

por la D2 en el músculo esquelético, lo que resultaría en un estado de relación intracelular hipotiroideo que puede influir en la expresión de genes reguladores de la glucosa como el transportador de glucosa tipo 4 (GLUT4) (Dora *et al.*, 2014; Leiria *et al.*, 2014).

En algunas poblaciones ya ha sido confirmada la relación con el metabolismo de la glucosa generando un vínculo de la variable genética con la diabetes mellitus tipo 2; además otros polimorfismos de la D2 se han visto involucrados con alteraciones en diferentes procesos metabólicos (Nair *et al.*, 2012; Leiria *et al.*, 2014). Teniendo en cuenta que existen cambios hormonales y metabólicos que afectan el sistema endocrino materno, cualquier cambio en la actividad de la D2 podría afectar la homeostasis hormonal materno fetal.

También se ha propuesto que la variante D2 Thr92Ala está asociada con la severidad de la preeclampsia e influencia los niveles hormonales debido a los efectos en la deionización (Procopciuc *et al.*, 2016).

En los últimos años variantes genéticas incluyendo el polimorfismo Thr92Ala en el gen de la D2 se han visto involucradas en el desarrollo y características de los síntomas tirotóxicos; los individuos con el polimorfismo Ala92Ala presentan una actividad disminuida de D2 en los tejidos a comparación de otros genotipos; sugiriendo que Thr92Ala puede tener un impacto clínico en el curso de la enfermedad de Graves y en el daño cardíaco (Grineva *et al.*, 2009). Otros estudios han reportado que pacientes con carcinoma de tiroides, “tiroidectomizados”, portadores homocigotos de D2Ala92 necesitan más dosis de levotiroxina (Torlontano *et al.*, 2008).

Bulter y colaboradores en 2010 demostraron una asociación del polimorfismo con una disminución en la liberación de T3 y en la desyodación intratiroidea. Sin embargo diferentes estudios muestran una acción protectora del genotipo AA en la frecuencia a desarrollar enfermedad de Graves, la severidad de la enfermedad y la tasa de remisión de pacientes (Alina *et al.*,2012).

### **1.8 Importancia clínica del gen TSH $\beta$ y sus variantes.**

El gen TSH $\beta$  (NC\_000001.11) localizado en el cromosoma 1 en la posición 38p12, codifica para la unidad beta de la hormona estimulante de tiroides, un cambio en él puede desencadenar que la proteína no funcione correctamente y se desencadene una disfunción tiroidea.

Recientemente las variantes germinales de la subunidad beta del gen TSH han sido identificadas como causa de hipotiroidismo congénito (Karges *et al.*,2004). Más de 30 familias con mutaciones en el gen TSH $\beta$  han sido reportadas, mientras en otros pacientes algunas concentraciones residuales de TSH son detectables otros tienen la TSH tan baja que no es medible, lo cual depende de la naturaleza genética de la anomalía. Se debe tener en cuenta que los niños que sean sospechosos clínicamente de hipotiroidismo deben ser evaluados cuidadosamente así sus resultados sean normales; en los casos de hipotiroidismo congénito con niveles séricos de TSH indetectables deben ser consideradas las deleciones en TSH $\beta$ . Hay que tener en cuenta que las mutaciones en el gen TSH $\beta$  pueden afectar la estructura de la proteína TSH a tal punto que la proteína sea inactiva biológicamente (Grünert *et al.*, 2011; Hermanns *et al.*, 2014).



Además se ha visto como variantes de la proteína TSH se expresan más en tejidos de pacientes con tiroiditis de Hashimoto que en tejidos normales, y se ven relacionadas positivamente con el daño folicular en estos mismos pacientes (Liu *et al.*, 2015).

Se ha encontrado también que la cantidad de mRNA de TSH $\beta$  está directamente relacionada con los niveles de colesterol en sangre y que mutaciones en este gen están implicados en procesos inmunes; además existen otras variantes como la TSH-  $\beta$ v que juega un papel osteoprotector en los pacientes con hipertiroidismo al inducir la osteoblastogénesis (Pappa *et al.*, 2015; Baliram, 2017; Moreno J, *et al.*, 2017).

Además, se han descubierto otros polimorfismos y mutaciones que afectan al gen TSH $\beta$  relacionados con diversas afecciones, por ejemplo: El rs7530810 y rs1321108 pueden incrementar el riesgo de falla ovárica prematura en mujeres coreanas; mientras que las deleciones T266 en el codón 57 y T410 en el codón 105 estarían relacionadas con Hipotiroidismo congénito central (Pyun *et al.*, 2014; Morales *et al.*, 2004).

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De acuerdo con la OPS en México el año 2015 las defunciones maternas fueron de 778 y la tasa de mortalidad por enfermedades no transmisibles en la mujer de 400.2 por cada 100.000 habitantes. La muerte por enfermedad tiroidea en la población general resultó de 179. Las cifras de morbilidad en cuanto a padecimientos tiroideos

en México son importantes; por ejemplo, el Hipotiroidismo Congénito se presenta en 1 de cada 1950 recién nacidos vivos (Rivera *et al.*, 2017).

Sumado a lo anterior se reporta que los trastornos tiroideos ocupan el segundo lugar entre los padecimientos endocrinos asociados con el embarazo, siendo el más común el hipotiroidismo, seguido del hipertiroidismo y los nódulos tiroideos (Gonzalez-Velazquez *et al.*, 2013).

Un estudio realizado por Chavarria Cruz e Ibarra Estrada en 2012 con pacientes del Hospital Infantil ISSEMyM del Estado de México, dejó en evidencia las complicaciones perinatales de las pacientes con disfunción tiroidea, quienes presentaron diabetes gestacional, parto pretérmino, ruptura prematura de membranas, bajo peso para la edad gestacional y tiroxicosis, lo que concuerda con la literatura que reporta estas complicaciones perinatales asociadas a patologías tiroideas en el embarazo.

Por otro lado, en Coahuila México (2016), se evidenció que las pacientes con hipotiroidismo subclínico mostraban una asociación con el riesgo de sufrir enfermedad hipertensiva en el embarazo; resaltando que el cribado temprano de la disfunción tiroidea podría prevenir el desarrollo de esta complicación (Se *et al.*, 2016).

Como se puede observar, la patología tiroidea afecta a la mujer mexicana embarazada con mucha frecuencia, y se hace necesario desarrollar alternativas diagnósticas para identificar las formas subclínicas y de seguimiento que permitan evitar efectos adversos derivados de las alteraciones tiroideas.

### 3. JUSTIFICACIÓN

A nivel internacional la patología tiroidea se reporta entre el 5 y el 10% del total de los embarazos.(Gonzalez-Velazquez *et al.*, 2013; Nijkamp *et al.*, 2015).Debido a los efectos a la salud materno-fetal se hace importante diagnosticar correctamente y en el menor tiempo posible a la madre para reducir los riesgos que puede acarrear una disfunción tiroidea, no olvidemos que el hipertiroidismo ha sido asociado a pérdidas gestacionales, neonatos muertos, partos pretérmino, retraso en el crecimiento intrauterino (RCIU), bajo peso al nacer, entre otros eventos adversos y el hipotiroidismo a aborto, anemia, hipertensión, preeclampsia, muerte fetal intrauterina etc.,(Grob y Martinez , 2012).

Asimismo el hipotiroidismo subclínico (TSH baja o indetectable y T4 libre normal), incrementa el riesgo de preeclampsia y diabetes gestacional (Soledad, 2013). A pesar de que no hay un consenso acerca de la medición de HT maternas, la Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos ha recomendado realizar como rutina la determinación de TSH durante el primer trimestre del embarazo, y el Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos ha recomendado medir TSH en suero en mujeres embarazadas asintomáticas (Leung, 2012).

Se hace necesaria la búsqueda de nuevas herramientas preventivas y diagnósticas que permitan desarrollar una medicina personalizada para que cada paciente sea caracterizado y tratado de una manera que permita evitar complicaciones futuras derivadas de una patología, en este caso la enfermedad tiroidea.

Aunado a lo anterior que sería lo ideal, se puede hacer una aproximación si en base a los antecedentes familiares, el curso de la enfermedad, y complicaciones

presentadas en el embarazo se establece una relación entre los genotipos presentados en la población y la incidencia de la patología tiroidea. La caracterización genética será el primer paso para el desarrollo de métodos innovadores y prácticos para determinar biomarcadores tempranos, en el uso clínico.

Otro punto de gran relevancia en México lo constituye el hecho de que para el caso específico de hipertiroidismo no se comercializa el propiltiouracilo, medicamento de primera elección para tratar esta patología en el primer trimestre del embarazo. Mientras que en caso de hipotiroidismo prácticamente es nula la monitorización de variantes como la excreción de yodo que deberían ser ajustadas en el estado gestacional, lo cual ayudaría a detectar patologías subclínicas. El tratamiento que se hace para las patologías tiroideas se podría optimizar al estar basado en el conocimiento de la expresión de genes que codifican para las enzimas involucradas en el metabolismo tiroideo o sus variantes polimórficas.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 General**

Correlacionar la expresión del gen de  $TSH\beta$  y del polimorfismo D2 Thr92Ala en el gen de la Deiodinasa 2 con el perfil tiroideo (TSH, T3 y T4), en pacientes gestantes del Hospital Materno Perinatal “Mónica Pretelini Sáenz” con y sin patología tiroidea.

### **4.2 Objetivos particulares**

- a) Cuantificar la expresión del gen de  $TSH\beta$  en sangre total de pacientes gestantes a través de la técnica de PCR en tiempo real.

- b) Tipificar la expresión del polimorfismo D2 Thr92Ala en el gen de la Deiodinasa 2 en sangre total de pacientes gestantes a través de la técnica de PCR en tiempo real.
- c) Analizar la los resultados de la Química Sanguínea de las pacientes (TSH, T3 y T4)

## 5. HIPÓTESIS

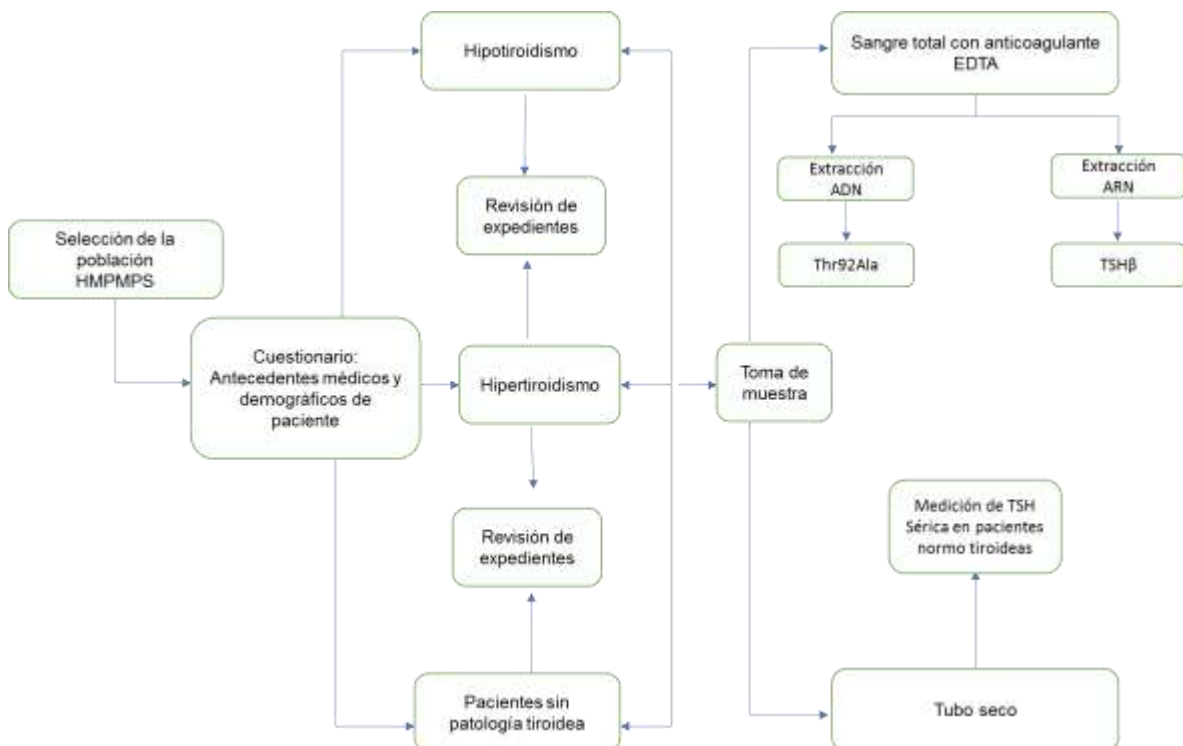
La expresión de la variante X1 en el gen de  $TSH\beta$  del polimorfismo D2 Thr92Ala en el gen de la Deiodinasa 2 en sangre total de pacientes gestantes con alteraciones tiroideas, será diferente de forma significativa a las pacientes normo gestas.

## CAPÍTULO II METODOLOGÍA

## 6. Descripción del estudio

Fue un estudio clínico, comparativo, prospectivo y transversal, avalado por el comité de ética del HMPMPS (código: 2016-09-481).

**Figura 4. Diagrama de flujo de la metodología**



## 6.1 Población en estudio

Las participantes fueron mujeres embarazadas normo tiroideas sin enfermedades crónicas o autoinmunes y mujeres con enfermedad tiroidea (Hipotiroidismo) e (Hipertiroidismo) atendidas en el hospital Mónica Pretelini Sáenz. Todas mayores de edad (18 a 44 años) quienes decidieron por su propia voluntad participar en el estudio, firmando antes la carta de consentimiento informado, (Anexo 1).

### 6.1.1. Cálculo del tamaño de la muestra

La muestra se calculó con la ecuación 1.

$$n_0 = \frac{2(Z_\alpha + Z_\beta)^2 S^2}{d^2}$$

#### Ecuación 1. Fórmula para el cálculo muestral

**Dónde:**

**n0:** Tamaño necesario de la muestra

**S:** desviación estándar,

**d:** diferencia a encontrar,

**Z alfa= 1.96,**

**Z beta: 0.482.**



Se tuvieron en cuenta como medidas las unidades relativas (UR) de expresión génica aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.2 en un contraste bilateral, obteniendo un tamaño de muestra de 48 sujetos por grupo, para detectar una diferencia igual o superior al 4 UR con una desviación estándar de 7.

Debido a factores externos al estudio como el seguimiento clínico de pacientes que no concluyeron su embarazo en el HMPMPS y a las características de la muestras como su pureza para poderse ejecutar de manera adecuada el análisis genético, se decidió hacer un muestreo a conveniencia en un período de un año.

#### **6.1.2 Criterios de inclusión**

- a) Mujeres embarazadas mayores de 18 años atendidas en el HMPMP.
- b) Con patología tiroidea o embarazo normo evolutivo.
- c) Que firmaron la carta de consentimiento informado.

#### **6.1.3 Criterios de no inclusión**

- a) Mujeres con: cardiopatías congénitas, enfermedades incapacitantes, enfermedades infecciosas, enfermedades autoinmunes.
- b) Menores de 18 años.

#### **6.1.4 Criterios de eliminación**

- a) Muestras que no fueron aptas para el análisis genético debido a la calidad obtenida del mismo.

- b) Pacientes cuyo seguimiento clínico no pudo continuar y que en el puerperio tuvieron que ser atendidas en la unidad de cuidados intensivos obstétricos.

### **6.1.5 Selección de los grupos de estudio**

- a) Grupo 1: Mujeres gestantes sin enfermedad tiroidea (Grupo testigo).
- b) Grupo 2: Mujeres gestantes con enfermedad tiroidea (Hipotiroidismo - Hipertiroidismo).

### **6.1.6 Realización de cuestionario a las pacientes**

En el momento que las pacientes decidieron participar en el estudio se les aplicó un cuestionario que incluía datos demográficos como nombre, edad y dirección, además de confirmación de diagnóstico (se les preguntó de qué padecían y hace cuánto), antecedentes familiares de enfermedad tiroidea y antecedentes obstétricos (Número de embarazos, partos, cesáreas y abortos).

### **6.1.7 Toma de muestra**

La muestra se tomó por venopunción en antebrazo extrayendo sangre periférica mediante el método de venojet. Se recolectaron 2 tubos, uno de sangre total con anticoagulante EDTA para la realización del análisis genético, y un tubo seco sin anticoagulante para la determinación de TSH. Finalmente, las muestras se almacenaron a -80°C hasta el día de su procesamiento, que fue en un tiempo menor a 3 meses.

### **6.1.8 Revisión de expedientes**

Los datos de biometría hemática (Hb) bioquímicos (Glu, Crea, TG, CT), antropométricos (Peso, Talla, IMC), de tensión arterial y los niveles de TSH en pacientes con patología tiroidea; además del tratamiento que llevaban, se recolectaron del expediente de cada una, previa autorización del servicio de archivo. Los niveles de TSH de las pacientes del grupo testigo, se determinaron en el laboratorio.

## **6.2 Determinación de TSH en suero de pacientes normotiroideas**

Se realizó con el Kit Elisa para TSH de AccuDiag, en el laboratorio de Ciprés Grupo Médico S.C (CGM). cuyo fundamento es una ELISA sándwich. Se agregaron 50  $\mu$ l de estándar, muestras y controles en los respectivos pozos, luego se adicionaron 100  $\mu$ l de enzima conjugada a cada pozo y se agitó suavemente por 30 segundos. La placa que fue cubierta previamente se dejó incubando 60 minutos a temperatura ambiente y al finalizar el tiempo se desechó la mezcla mediante pequeños golpes a la placa en un contenedor de residuos, y se enjuagó cada pozo 5 veces con 300  $\mu$ l de solución buffer 1x. Se colocó la placa sobre papel absorbente boca abajo para retirar las gotas de agua residuales y se aplicó a cada pozo 100  $\mu$ l de solución TMB, luego de mezclarla se dejó incubar a temperatura ambiente 20 minutos y se detuvo la reacción agregando 100  $\mu$ l de solución Stop en cada pozo, se agitó suavemente por 30 segundos hasta que la mezcla que inicialmente era azul se volvió completamente amarilla. Para finalizar la placa se llevó a un lector de Elisa y se leyó a 450 nm.

## **6.3 Identificación del gen TSH $\beta$**

### **6.3.1 Extracción de ARN**

En el laboratorio de genética de la Facultad de Medicina de la UAEMex se obtuvo ARN utilizando el kit Total RNA Purification Kit de Norgen, el cuál usa el método de separación por microcolumna. Se tomaron 100  $\mu$ l de sangre y se colocaron en un tubo de micrófuga adicionando 350  $\mu$ l de Buffer RL para su lisis, posteriormente se agitaron durante 15 segundos con un vortex asegurándose que la mezcla se volviera transparente, y cuando esto sucedió se adicionaron 200  $\mu$ l de etanol al 96% y se mezcló por 10 segundos más.

Después de obtener el lisado se agregaron 600  $\mu$ l a la columna del kit y se centrifugó a 6000 rpm durante un minuto, las muestras cuyo lisado no pasó completamente a través de la columna, se volvieron a centrifugar a 14.000 rpm por otro minuto. Los pasos anteriores se repitieron hasta que el lisado pasó completamente.

El filtrado se descartó y se adicionaron 400  $\mu$ l de buffer de lavado, se centrifugó a 14.000 rpm durante un minuto y se repitió 3 veces, descartando el filtrado cada vez que las muestras terminaban su centrifugación.

La columna se centrifugó sola para secarla 2 minutos a 14.000 rpm y se procedió a descartar el tubo de recolección, colocando la columna dentro de un tubo libre de RNAsas de 1.5 mL. Dentro de la columna se adicionaron 50  $\mu$ l de buffer de elución y se centrifugaron las muestras 2 minutos a 2,000 rpm seguido de una centrifugación de 1 minuto a 14,000 rpm.

Al terminar se descartó la columna y se guardó el RNA obtenido a -20 grados centígrados.

### **6.3.2 Verificación de calidad y cantidad de ARN**

Para la determinación de la cantidad y calidad del ARN se utilizó el nano fotómetro IMPLEN el cual mediante espectrofotometría mide la cantidad de material genético en la muestra y da la relación 260/280 para conocer la pureza del mismo.

### **6.3.3 Expresión del gen TSHB**

En el Laboratorio de Investigación de Ciprés Grupo Médico S.C. (CGM) se determinó la expresión del gen TSH $\beta$  mediante la técnica de PCR en tiempo real, utilizando como gen control el gen GADPH, el cual se identificó con los primers F CTTGGTATCGTGGAAGGACTC, R: GTAGAGGCAGGGATGATGTTCT mientras que para el gen TSHB se usaron los primers F TGTGGGCAAGCGATGTCTTTT, R GATGGTTAGGCAATAAGCACACT en ambos genes se llevaron los primers a una concentración de 200 nM .Se usó el kit Power SYBR Green RNA to Ct 1 step Kit.

Las condiciones de la reacción fueron: 0.4  $\mu$ l de enzima, 25  $\mu$ l de MIX RT-PCR, 0.2  $\mu$ l de Primer Forward, y 0.2  $\mu$ l de Primer Reverse. , la cantidad de ARN y agua fue variable pues cada muestra contaba con una concentración diferente y se llevaron todas a 100 ng completando un volumen final de 50  $\mu$ l con agua.

El ciclaje se programó de la siguiente forma:

- a) Paso de retro transcripción: 48 °C 30 minutos x 1 ciclo

- b) Activación de la enzima: 95°C 10 minutos x 1 ciclo
- c) Denaturación: 95°C 15 segundos x 40 ciclos
- d) Alineación: 59°C 30 segundos x 40 ciclos
- e) Extensión: 60°C 30 segundos x 40 ciclos
- f) Curva de Melting: 72°C ,1 minuto x 61 ciclos.

## **6.4 Identificación del polimorfismo D2 Thr92Ala**

### **6.4.1 Extracción de ADN**

El ADN se extrajo en el Instituto Nacional de Medicina genómica INMEGEN usando el Kit QIAmp DNA Mini and Blood de Quiagen DNA el cual usa 200  $\mu$ l de sangre anticoagulada.

El procedimiento fue el siguiente: En un tubo Eppendorf libre de Dnasas se adicionaron 20 $\mu$ l de proteinasa K y 200 $\mu$ l de sangre total, adicionando al final 200 $\mu$ l de buffer AL y se agitó durante 15 segundos en vórtex; la mezcla se incubó a 56 °C por 10 minutos, y se dio un spin a cada muestra para eliminar burbujas y residuos pegados en las paredes.

Posteriormente se adicionó etanol absoluto a la mezcla, se mezcló por 15 segundos en vórtex y luego un spin antes de traspasarla a la columna de separación. Se centrifugó a 8,000 rpm durante un minuto, se desechó el filtrado y se cambió el tubo de recolección. Se adicionaron 500 $\mu$ l de buffer AW1, se centrifugó a 8,000 rpm un minuto, desechando de nuevo el filtrado y al tubo recolector. Se adicionó a la columna el buffer AW2 y se centrifugó 3 minutos a 12000 rpm; al vaciar el filtrado

producto de este paso, se secó la columna centrifugándola vacía a la misma velocidad 1 minuto.

Por último, se colocó la columna en un tubo Eppendorf de 1.5 ml libre de DNAsas y se adicionó 50  $\mu$ l de buffer TE, para luego centrifugar a 8000 rpm, 1 minuto y así eluir al ADN. El material genético obtenido se guardó a 4 °C hasta su cuantificación.

#### **6.4.2 Verificación de la cantidad y calidad de ADN.**

Las muestras fueron leídas en el Nanodrop 1000 el cual usando el principio espectrofotométrico determina la concentración del ADN (ng/ $\mu$ l) y la calidad de mismo a través de la relación 260/280.

#### **6.4.3 Genotipificación Thr92Ala**

En el INMEGEN, se realizaron diluciones del material genético para tener una concentración estándar en todas las muestras de 6 ng/ $\mu$ l y realizar un montaje total de 30 ng/ $\mu$ l. Se colocó en cada pozo 0.06  $\mu$ l de sonda TaqMan “C\_\_15819951\_10”, 2.5  $\mu$ l de Master Mix, 2.44  $\mu$ l de agua y 5  $\mu$ l del ADN para un volumen final de reacción de 10  $\mu$ l.

Posteriormente se realizó una Pre PCR convencional en un termociclador GeneAmp System 9700 utilizando el siguiente programa de ciclaje:

Denaturación: 50°C -2 minutos, y 95 °C -10 minutos, seguido de 40 ciclos a 94 °C-15 segundos y 40 ciclos de 60 °C durante 1 minuto para finalizar a 4 °C a 7 minutos.

Al acabar el programa de Pre PCR, la placa amplificada fue llevada al genotificador QuantStudio 3 Real-Time PCR System en donde se corrió el

programa de genotipificación para SNPs con sondas TaqMan y se obtuvieron los genotipos de cada paciente, las muestras se corrieron por duplicado.

Se escogieron al azar 14 muestras para realizar secuenciación SANGER y comprobar los genotipos; para ello se realizó una PCR convencional con las siguientes condiciones: Denaturación inicial de 95 °C,10 minutos (1 ciclo), denaturación a 95 °C 15 segundos ( 40 ciclos), alineación a 60 °C 60 segundos ( 40 ciclos) y extensión a 60 °C x 15 minutos; con una curva de melting de 61 ciclos de 60 a 90 °C, utilizando los primers reportados por otros autores (Luo *et al.*, 2015) : F: CTGGCTCGTGAAAGGAGGTCAA,R: CCAATTCCAGTGTGGTGCATGT. Luego se hizo un gel de agarosa para comprobar que estaba el fragmento de 163 pb y se enviaron las muestras al departamento de secuenciación del INMEGEN



## **CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 7. Descripción de la población

El grupo de estudio estuvo conformado por 92 pacientes, de las cuales 38 fueron del grupo testigo (GT) y 54 del grupo con disfunción tiroidea (GDT). En el GT las pacientes fueron de 18 a 44 años con un promedio de edad de 27.2, el 39.5% eran primigestas y el 60.5% multigestas, estas últimas tenían antecedente obstétrico de hasta 6 embarazos previos, el 34.78% de ellas habían resuelto uno o más de sus embarazos anteriores por cesárea y el 43.82% había tenido una pérdida gestacional previa. El promedio de SDG de este grupo de participantes fue de 25.3 semanas, abarcando pacientes desde la semana 8 hasta la 37.

En cuanto a las pacientes del grupo GDT, se dividieron en 44 mujeres con hipotiroidismo (clínico y subclínico) de 18 a 38 años con un promedio de 27.9 años y 10 con hipertiroidismo quienes estuvieron en el rango de los 19 a 39 años, con promedio de 28 años. En las pacientes hipotiroideas hubo un 40.9% de primigestas y un 59.09% de multigestas, de las cuales el 46.15% tenía antecedente obstétrico de cesárea y un 38.46% de pérdida gestacional; el promedio de SDG fue de 26.22 y estuvieron participando desde la semana 10 hasta la 39.

En las hipertiroideas hubo un 60% de multigestas de las cuales el 66.6% tenía antecedente de abortos y el 33% de cesáreas previas. La media de SDG fue de 22.26 teniendo pacientes en este grupo desde las 13 SDG hasta las 35. Las características generales de la población se describen en la **Tabla 2**. En el grupo de las pacientes con disfunción tiroidea, predominó la presencia del Hipotiroidismo clínico (83.3%) entre los que se encuentra el congénito, gestacional, enfermedad de Hashimoto. El Hipotiroidismo subclínico fue del 5.6% y con Hipertiroidismo, 14.8%.

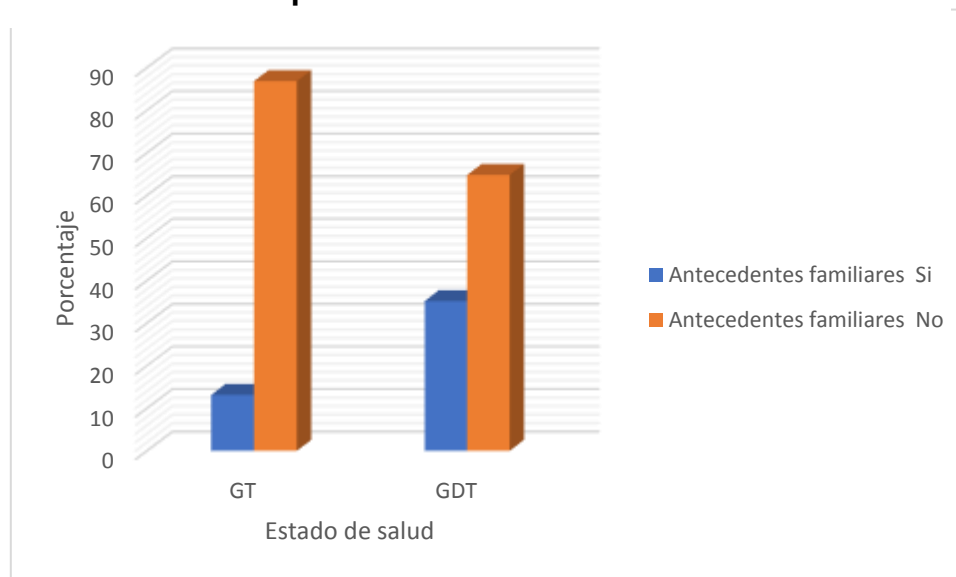
**Tabla 2 Descripción general de la población**

Grupos	Parámetro									
	N	Edad			Antecedente Obstétrico				Antecedentes Familiares de disfunción tiroidea	
		Mín.	Máx.	Promedio	1G	>1G	Abortos	Cesáreas		
<b>GT</b>	38	18	44	27	15	23	11	8	5	
<b>GDT</b>	<b>Hipotiroides</b>	44	18	38	28	18	26	10	12	13
	<b>Hipertiroides</b>	10	19	38	28	4	6	4	2	6
<b>Total</b>	92				37	55	25	22	24	

\*Min: Edad mínima, \*Máx: Edad máxima, 1G: Primigesta, >1G: multigesta

Un aspecto importante era establecer si había relación entre los antecedentes familiares con el estado de salud de las pacientes; de las 92 pacientes el 26.09% presentó antecedentes y de esas pacientes el 20.83% pertenecían a GT mientras que el porcentaje restante se distribuyó en el GDT de la siguiente manera: 54.21% eran hipotiroides y 25% tenía hipertiroidismo. Se hizo un chi cuadrada para establecer si había asociación entre los antecedentes familiares de DT y el estado de salud, encontrando una  $p = 0.018$  lo que nos indica que existe una relación significativa, **Figura 5**.

**Figura 5. Presencia de antecedentes familiares en las pacientes embarazadas**



## 7.1 Parámetros Bioquímico Clínicos y antropométricos de las pacientes

Al realizar la revisión de los expedientes, no se obtuvieron datos de las 92 pacientes ya que algunas no siguieron su embarazo en el hospital o no dejaron copia de los estudios realizados durante la gestación. Los resultados se muestran en la **Tabla 3**.

**Tabla 3. Valores bioquímicos y antropométricos en la población de estudio**

Parámetro	Grupo Testigo			Grupo disfunción tiroidea						Relación de los parámetros con el estado de salud de las pacientes
				Hipotiroides			Hipertiroides			
	N	Media	DS	N	Media	DS	N	Media	DS	<i>p</i>
<b>Peso (Kg)</b>	37	69.93	13.90	38	71.20	14.85	7	64.15	13.83	0.788
<b>Talla (cm)</b>	37	1.54	0.08	38	1.55	0.06	7	1.54	0.66	-
<b>IMC</b>	37	28.34	5.58	38	29.36	5.19	6	27.13	6.24	0.709
<b>TAS (mm/Hg)</b>	37	107.35	9.59	37	109.70	14.33	8	107.75	8.49	0.990
<b>TAD (mm/Hg)</b>	37	67.27	7.92	37	68.76	12.53	8	71.63	13.83	0.587
<b>Glu (mg/dl)</b>	37	81.30	13.32	32	80.46	18.70	6	71.68	13.12	0.363
<b>Hb (g/L)</b>	30	13.57	1.19	28	13.90	1.73	6	13.15	1.99	0.483
<b>CT (mg/dl)</b>	22	188.52	37.99	25	219.73	55.78	6	202.03	88.67	0.251
<b>TG (mg/dl)</b>	23	198.47	80.22	24	212.40	94.06	5	287.26	143.61	0.502
<b>Crea (mg/dl)</b>	23	0.58	0.17	24	0.57	0.12	5	0.71	0.241	0.41

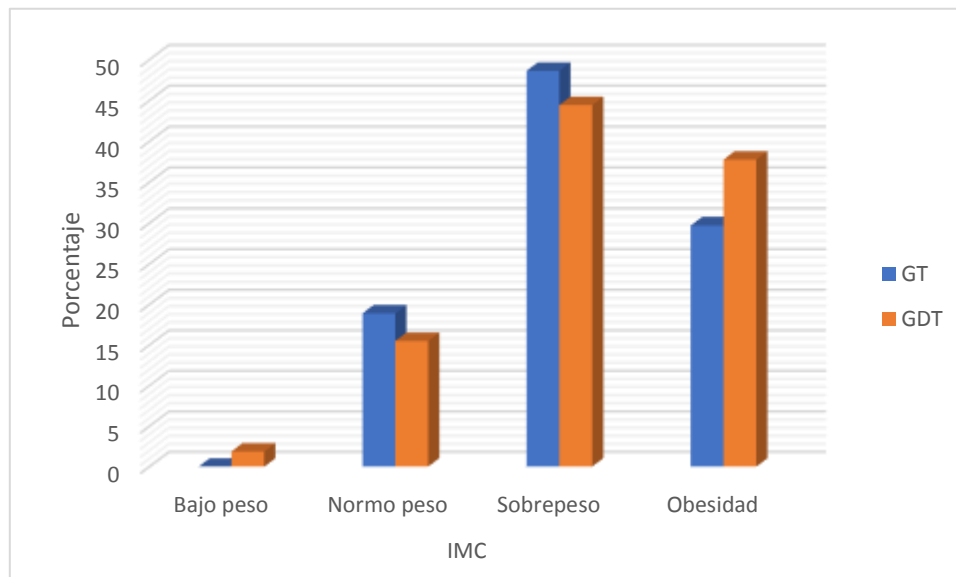
Kruskal Wallis para pruebas independientes, nivel de significancia al 95 %,  $p \leq 0.05$  significancia estadística.

Como se puede observar en el grupo testigo la media del IMC fue de 28.3, es decir que primó una población con sobrepeso. De las 38 pacientes de este grupo el

12.89% tuvo normo peso, el 47.36% sobrepeso y el 28.9% era obeso, de acuerdo con los valores de referencia del peso adecuado gestacional, (ACOG, 2013).

En el grupo con disfunción tiroidea la media del IMC fue de 28.24 (población con sobrepeso al igual que el GT) y la distribución fue la siguiente: 12.96% tuvo normo peso, 37.03% sobrepeso, 31.48% fueron obesas, y 1.85% mostró bajo peso. Al discriminar entre los subgrupos de pacientes hipo e hipertiroideas, se evidenció tanto hipo como hipertiroideas presentaban medias de sobrepeso pues el promedio en las hipotiroideas fue de 29.36 y en las hipertiroideas de 27.13, cabe mencionar que este subgrupo el 10 % (1) fue el caso con bajo peso, **Figura 6.**

**Figura 6. Relación entre el peso de las pacientes y su estado de salud**



Los datos de ganancia de peso gestacional se observan en la **Tabla 4** y son datos avalados por The American College of Obstetricians and Gynecologists que fueron obtenidos por el Institute of Medicine de Estados Unidos (ACOG, 2013).

**Tabla 4. Recomendaciones de ganancia de peso durante el embarazo del Institute of Medicine de Estados Unidos. (Gain and Pregnancy, 2016)**

<b>Categoría de peso Pregestacional.</b>	<b>IMC</b>	<b>Rango de Peso Total Recomendado (Kg)</b>	<b>Tasas de peso recomendadas de ganancia de peso en el segundo y tercer trimestre (Kg).</b>
<b>Bajo peso</b>	< 18.5	12.7-18.14	0.45(0.45-0.58)
<b>Peso normal</b>	18.5-24.9	11.33-15.87	0.45(0.36-0.45)
<b>Sobrepeso</b>	25-29.9	6.8-11.33	0.27(0.22-0.31)
<b>Obesidad (Incluye todas las clases)</b>	30	4.98-9.07	0.22(0.18-0.27)

Evidentemente los problemas de peso (obesidad y bajo peso) se presentaron más en las pacientes con disfunción tiroidea, sin embargo, no hubo diferencia significativa entre ambos grupos, ya que hay un problema de sobrepeso generalizado en la población.

A pesar de que no hubo relación del IMC con los valores bioquímicos y el estado de salud de las pacientes, 11 del GDT presentaron niveles de CT y TG mayores a los del valor umbral superior, además de HTA. Los valores de referencia de estos tres parámetros se observan en la **Tabla 5**.

**Tabla 5. Valores de Referencia en el embarazo**

<b>Colesterol Total</b> <b>mg/dl</b>	<b>Primer</b> <b>trimestre</b>	<b>Segundo</b> <b>trimestre</b>	<b>Tercer</b> <b>trimestre</b>
<b>(Ywaskewycz et al., 2010)</b>	159.5	201.4	244.3
<b>Triglicéridos</b> <b>mg/dl</b>	<b>Cualquier trimestre gestacional</b>		
<b>(Mendieta et al., 2012)</b>	161-293		
<b>Hipertensión gestacional</b> <b>mmHg</b>	<b>Cualquier trimestre gestacional</b>		
<b>(ACOG, 2013)</b>	TAS de $\geq$ a 140 mmHg, TAD $\geq$ a 90 mm Hg o ambas		

Los casos fueron los siguientes: 3 eran hipotiroideas, obesas (IMC>30) e hipertensas. La primera tuvo una HTA de 130/80 mmHg y valores elevados de CT y TG (246 mg/dl y 383 mg/dl respectivamente). La segunda HTA de 130/80 y no tenía alteración en su perfil lipídico; la tercera con una HTA de 167/105 tenía un hipercolesterolemia de 297 mg/dl.

Un 25% también era obeso e hipotiroideo con problemas de CT y/o TG altos, pero tenían sus cifras de tensión arterial normales.

El 36.3% eran pacientes que tenían sobrepeso y perfil lipídico alterado, la mitad hipotiroideas sólo con valores altos de CT y la otra mitad hipertiroideas con valores CT y TG elevados.

El 18% fueron pacientes hipotiroideas que tuvieron alterado su perfil lipídico sin estar en sobrepeso u obesidad; los valores de CT fueron de 291 y 344 mg/dl; y los de TG de 357 y 249 mg/ dl.

Además, se logró evidenciar que las pacientes con disfunción tiroidea efectivamente usaron durante su embarazo el tratamiento más común prescrito por la literatura; tomando diversas dosis de levotiroxina y tiamazol para tratar el hipotiroidismo e hipertiroidismo respectivamente. En cuanto a su dosificación tuvieron 13 tipos diferentes y sólo una paciente estaba sin tratamiento. Los regímenes de dosificación se exponen en la **Tabla 6**.

**Tabla 6. Regímenes de dosificación en las pacientes analizadas**

Dosis de levotiroxina en pacientes Hipotiroideas	100 ug de lunes a jueves cada 24 h y 150 ug de viernes a domingo cada 24 h.
	50 ug/ 24 h y 75 al 3 día
	100 ug/ 24 h
	150 ug / 24 h
	275 ug /24 h
	75 ug/ 24 h 24 h
	200 ug/24 h
	125 ug /24 h
	25 ug / 24 h
	50 ug / 24 h
Dosis de tiamazol en pacientes Hipertiroideas	5 mg /8 h
	2.5 mg /24 h
	10 mg en la mañana y 5 mg en la noche
	10 mg /8 h



## 8. TSH sérica

Al realizar la determinación de la TSH en sangre, pacientes que no tenían un diagnóstico clínico y que en un principio pertenecían al grupo testigo, se pasaron al grupo con disfunción tiroidea debido a que sus niveles de TSH sérica excedían los límites permitidos en cualquier trimestre gestacional, los valores de referencia se presentan en la **Tabla 7**. Para conocer si había una relación entre los niveles de TSH y los parámetros bioquímicos clínicos, se realizó un análisis de correlación de Pearson, los resultados mostraron que no había una asociación significativa.

**Tabla 7. Valores de referencia de TSH en el embarazo, tomados de Alexander y Pierce, 2017**

Parámetro	Primer trimestre	Segundo trimestre	Tercer trimestre
TSH (mIU/L)	0.1-2.5	0.2-3.0	0.3-3.0

En ambos grupos de pacientes con disfunción tiroidea hubo valores extremos. Una paciente hipotiroidea presentó una TSH de 37.21 y una hipertiroidea de 0.0005 mU/L. Para determinar si había diferencias entre el GT y el GDT se realizó una prueba de Kruskal Wallis, observando una diferencia significativa de TSH entre ambos grupos ( $p \leq 0.05$ ), siendo mayores los niveles de TSH en las pacientes con hipotiroidismo en 1.88 veces, valores por encima de los clínicos permitidos. El nivel de las voluntarias con hipertiroidismo fue menor 0.71 veces, **Tabla 8**.

**Tabla 8. Valores de TSH en la población analizada**

Parámetro	GT			GDT						Relación de los parámetros con el estado de salud de las pacientes
				Hipotiroides			Hipertiroides			
	N	Media	DS	N	Media	DS	N	Media	DS	<i>p</i>
TSH mUI/L	38	1.87	0,64	44	3.51	5,46	10	1.33	2,97	0.001

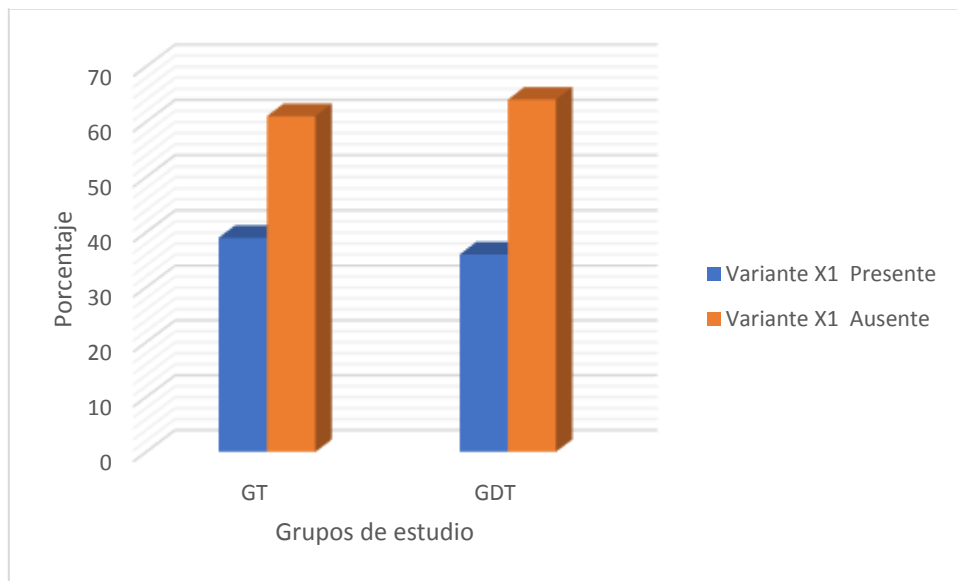
Kruskal Wallis para pruebas independientes, nivel de significancia al 95 %,  $p \leq 0.05$  significancia estadística.

### 9. Expresión del gen *TSH $\beta$*

Al realizar la PCR para identificar el gen de *TSH $\beta$* , se obtuvo la amplificación de la variante de RNAm X1 en el gen; identificada en NCBI con el número de acceso XP\_011540367.1, las muestras aptas para el análisis genético de la variante fueron las de 81 pacientes, (el Anexo 2 se observan las concentraciones) de ellas sólo el 35% de ambos grupos presentaron la variante. Se analizaron 31 pacientes del GT y 50 de GDT, del primero sólo 12 expresaron la variante y del segundo 17. No hubo diferencias significativas entre ambos grupos ni relación de X1 con el estado de salud de las pacientes o la presentación de antecedentes familiares. Tampoco en cuanto a la expresión cuantitativa de X1 con respecto al gen constitutivo *GADPH* hubo diferencias.

La variante fue solo una característica nueva en la población en estudio, pero no estuvo asociada con la enfermedad tiroidea pues al realizar el análisis estadístico entre el estado de la salud y la presencia o ausencia de la variante se obtuvo una  $p \geq 0.005$ . Tampoco hubo relación con el diagnóstico y la presencia o ausencia de la variante. La distribución de la variante se observa en la **Figura 7**.

**Figura 7. Distribución de la variante X1 en la población analizada**



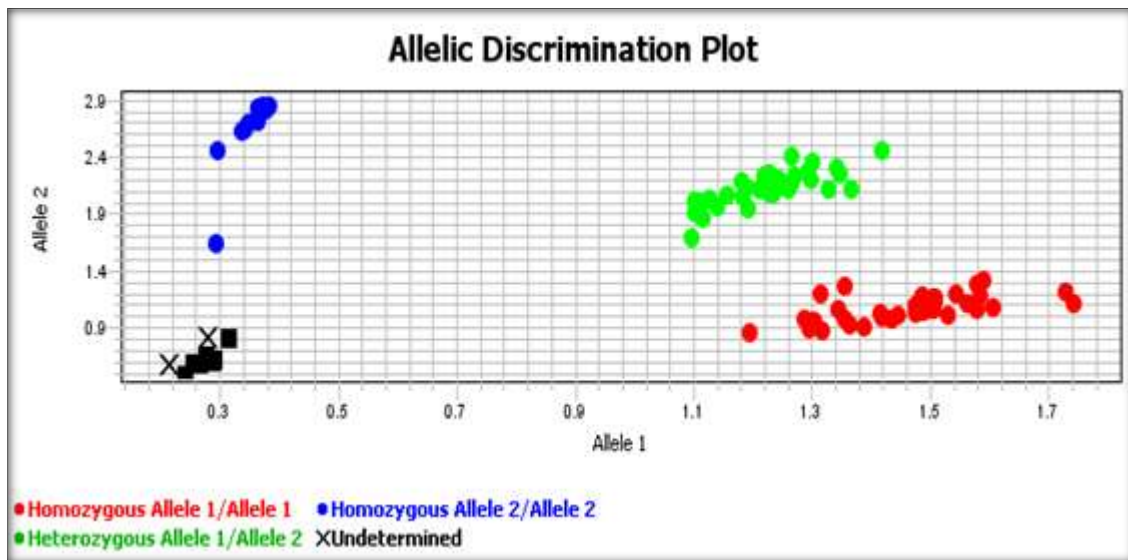
## 10. Presencia del polimorfismo D2 Thr92Ala

Las concentraciones de ADN se pueden observar en el Anexo 3. Para la genotipificación fueron aptas 83 muestras y se obtuvieron 3 genotipos: CC, CT y TT. **Figura 8.** La distribución fue la siguiente: El genotipo más común en la población general fue CC que estuvo en 40 pacientes, de las cuales el 56.41% no tenían enfermedad tiroidea, mientras que el 43,58% restante eran del GDT. Para el genotipo CT, que se encontró en 33 pacientes, sucedió lo contrario, el 69.6% eran del GDT y el 30.30% del GT. El genotipo TT lo presentaron 10 pacientes las cuales el 70% eran de GDT. La distribución de los genotipos de acuerdo con el estado de salud de las pacientes, se ilustran en la **Figura 9.**

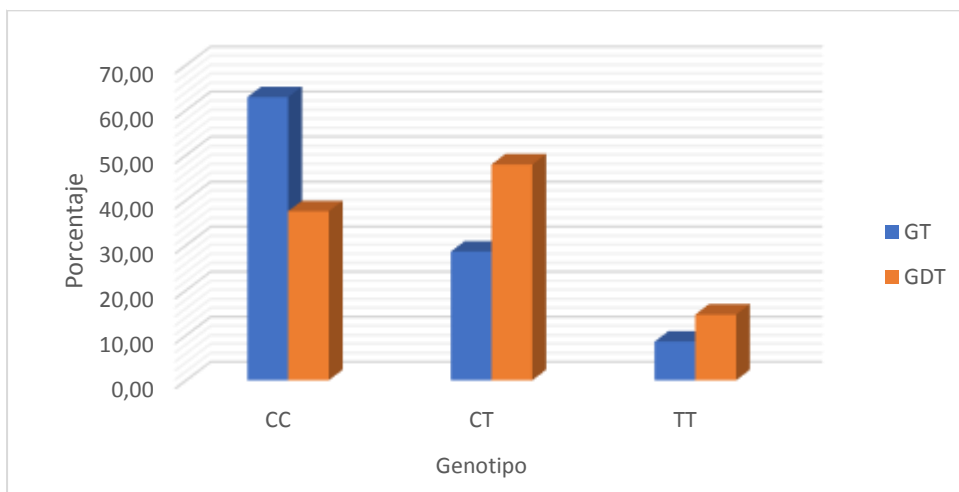
El genotipo CC también fue el más común en el grupo testigo mientras que en el grupo con disfunción tiroidea el genotipo con más frecuencia fue el CT. Se realizó Chi cuadrada con los genotipos obteniendo una diferencia significativa para el

genotipo CC con respecto a la presentación de enfermedad tiroidea; la p fue de 0.022. Además, se hizo la prueba para el equilibrio Hardy-Weinberg obteniendo una p no significativa, lo que indicó que los genotipos si estaban en equilibrio

**Figura 8. Plot de discriminación alélica Software Quant Studio Design&Analysis. Alelo CC en rojo/ Alelo CT en verde y alelo TT en azul**



**9. Figura 9. Distribución de los genotipos de acuerdo con el estado de salud de las pacientes.**



## 11. Discusión

De las 92 voluntarias que integraron los grupos de estudio, el 58.7 % fueron mujeres con disfunción tiroidea. Todas las pacientes estuvieron controladas durante su embarazo, lo que redujo la posibilidad de la presentación de complicaciones obstétricas. Como se observa en los resultados el 59.8 % fueron multigestas de las cuales 27.2 % tuvieron abortos previos y la mayor parte de ellas corresponden al GDT (56%), siendo 2.5 veces mayor el número de hipertiroideas con abortos que las hipotiroideas. El aborto espontáneo y la pérdida gestacional son complicaciones que se presentan en la disfunción tiroidea de forma frecuente, estudios como el de Haixia et al., 2014, reportan que pacientes con hipotiroidismo subclínico en conjunto con la autoinmunidad tiroidea tenían más riesgo de presentar aborto espontáneo entre la 4° y la 8° semana de gestación. Zhang et al., 2017, encontró que el Hipotiroidismo subclínico era un factor de riesgo para el aborto espontáneo antes de la 20° semana de gestación. Incluso hay estudios donde se ha demostrado que un perfil tiroideo alterado incrementa el proceso de lipoperoxidación, lo cual puede llevar al término abrupto del embarazo, (Ramandeep, Kapil y Harkiran, 2017). Por otro lado el hipertiroidismo es asociado a los abortos espontáneos al inicio del embarazo y pérdidas gestacionales en estadios gestacionales más avanzados; lo anterior se encontró en población danesa (Andersen S.L y Laurberg, 2014). Nosotros observamos que evidentemente la tasa era alta en las pacientes con hipertiroidismo pues el 60% de las mujeres multigestas con este padecimiento que participaron en el estudio ya habían tenido una pérdida gestacional.

Por otro lado, si bien no hubo significancia entre GT y GDT debido al sobrepeso y obesidad generalizado en la población estudiada, pues según los datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición ENSANUT 2016, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en mujeres adultas mexicanas es de 75.6%, se pudo observar que, en el GDT, donde primaba el hipotiroidismo, había más obesidad, además varias presentaban no sólo obesidad, sino que a la par tenían Hipotiroidismo, Hipertensión y alteraciones lipídicas.

Los estudios reportan que hay una relación entre la obesidad y el hipotiroidismo en el que intervienen los niveles de leptina, y la TSH es directamente responsable de las ganancias de peso. Quizá en una población sin estos problemas de base se hubiera visto una diferencia significativa entre ambos grupos de estudio (Sanyal y Raychaudhuri, 2016). Aunado a lo anterior el hipotiroidismo ha sido relacionado con una alta presión arterial y también con una alteración de la lipólisis. Se cree, aunque los resultados aún son conflictivos que las hormonas tiroideas influyen en las adipoquinas y en el funcionamiento general del tejido adiposo, lo que hace que una alteración afecte el perfil lipídico directamente como se observó en nuestras pacientes. (Olenych LV.*et al*; 2018; Chen *et al.*, 2016).

En cuanto a las pacientes que no sufrían de disfunción tiroidea, al realizarles el Test de TSH, se comprobó efectivamente que la mayoría tenían un buen funcionamiento de la tiroides sin embargo hubo 7 pacientes del grupo sin disfunción tiroidea aparente que tenían la TSH sérica por encima de los valores aceptados para

cualquier edad gestacional (2.5 m UI/L en primer trimestre y 3.0 m UI/L en segundo y tercer trimestre).

Lo anterior lleva a debatir de nuevo la necesidad o no de medir TSH en primer trimestre a todas las embarazadas o sólo realizarlo en las pacientes con antecedentes fuertes de enfermedad tiroidea, mayores de 30 años, con enfermedades autoinmunes, obesidad mórbida o que hayan recibido radiación en cabeza y cuello, como lo cita la “Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and Postpartum”, (Stagnaro-green *et al.*, 2011) pues aún no hay suficiente evidencia al día de hoy que permita estandarizar la realización de estas mediciones a nivel mundial en todas las embarazadas, a pesar de que el estudio en sí no es costoso y es fácil de hacer. A esto se suma que los sistemas de salud de cada país, en este caso México muchas veces no pueden cubrir costos para todos los análisis que deberían realizarse, pero genera de nuevo la duda de por qué no se incluye si la incidencia de las patologías tiroideas es igual que la de otras enfermedades que tienen un tamizaje completo, nuestros resultados evidencian que se pueden pasar por alto a pacientes sin una clínica evidente con niveles de TSH no adecuados que pueden generar complicaciones a futuro.

Además fue evidente que las pacientes con Hipotiroidismo a pesar de estar controladas, presentaban valores de TSH por encima de los límites gestacionales, teniendo un promedio de 3.51 +/- 5.41 mUI/L.

Es interesante que hayamos encontrado relación entre los antecedentes familiares de enfermedad tiroidea y el estado de salud de nuestras pacientes. Lo anterior

comprueba la gran influencia de la parte genética en la presentación de la enfermedad. Pues como se evidencia en la Figura 10, son muchos los genes involucrados en el desarrollo de estas patologías, los cuales pueden seguir un patrón en cuanto a anomalías a lo largo de varias generaciones. Además, la patología más frecuente a nivel tiroideo fue el Hipotiroidismo clínico, lo cual es acorde a los datos epidemiológicos en cuanto a la incidencia de la enfermedad.

La presencia de la variante X1 fue algo novedoso en nuestro estudio. Los cebadores que realizamos iban para la secuencia de la variante X1, obteniendo amplificación en la misma. En cuanto a la estructura de esta variante no hay diferencia con la isoforma 1, pues son 100% homologas, sin embargo, es un hallazgo importante ya que permite caracterizar a la población.

La diferencia en cuanto a la expresión de la variante no fue significativa para relacionarla con el estado de salud, de hecho, las pacientes del grupo testigo tienen más presencia de esta, lo cual no sorprende precisamente porque es una copia idéntica de la isoforma 1 identificada con el número de acceso NP\_000540.2 en la base de NCBI.

La presencia de una nueva variante en la población analizada abre la posibilidad a un nuevo estudio en el cual se pueda evidenciar el papel del interactoma en las disfunciones tiroideas, ver si la asociación de esta proteína a otras está involucrada con la enfermedad, pero esto ya es pregunta abierta para un futuro estudio que pueda establecer como lo mencionan algunos autores en donde el objetivo del estudio es establecer si las interacciones proteína-proteína están afectando la respuesta celular (Huttlin *et al.*, 2015).



Se ha encontrado que variantes de TSH $\beta$  están involucradas en el progreso de la enfermedad de Hashimoto, pues se expresan más en tejido de pacientes enfermos que sanos (Liu *et al.*, 2012). Lo anterior se describe en otros estudios como efectos de las variantes en la autoinmunidad de la enfermedad tiroidea, pues hay hallazgos en los que las isoformas de TSH $\beta$  se expresan más en tejidos específicos (Schaefer and Klein, 2009).

Todos estos estudios y nuestros hallazgos dan pie a realizar nuevas investigaciones para ampliar el entorno biológico de la variante X1 y determinar hasta qué punto influye en la presentación de la disfunción tiroidea, y por qué algunos pacientes que la tienen si desarrollan la patología mientras los otros son sanos.

El genotipo asociado a la enfermedad fue CC, lo que concuerda con la literatura pues la mayoría de los estudios atribuyen al alelo C y al genotipo CC (Ala -Ala) como el genotipo enfermo.

Se ha demostrado que el Thr92Ala juega un rol en el desarrollo de los desórdenes depresivos, es un factor de riesgo para el desarrollo de osteoartritis y puede ser un blanco terapéutico en otras enfermedades ya que por ejemplo en los desórdenes hiperglucémicos modula la resistencia a la insulina haciéndola más severa en los pacientes que lo portan (Bos *et al.*, 2012; Galecka *et al.*, 2015; Estivalet *et al.*, 2011).

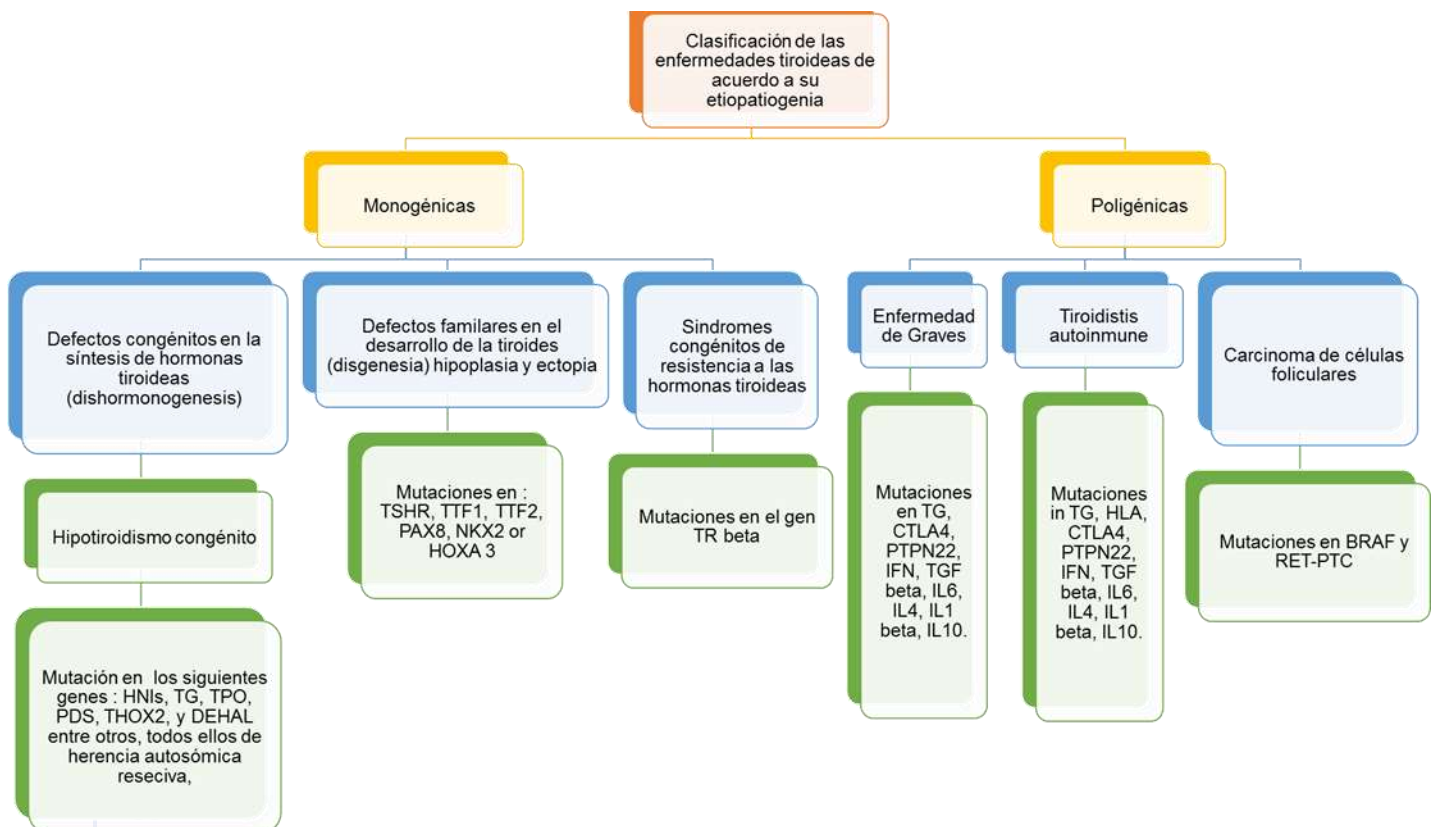
En cuanto al metabolismo tiroideo, han encontrado que se asocia a la respuesta a fármacos, pacientes con el genotipo CC requieren terapias combinadas de T4/T3 porque la levotiroxina sola no hace efecto (Panicker *et al.*, 2009). Además, se cree modula los niveles circulantes de hormonas tiroideas al punto que pacientes

tiroidectomizados con esta característica genética tienen concentraciones séricas menores de T3 (Catagna *et al.*, 2017).

En embarazadas hay hallazgos que evidencian como disruptor placentario al Thr92Ala y también lo asocian a la presentación y severidad de preeclampsia, resaltando de nuevo que influencia los niveles de hormonas tiroideas y es el causante de hipotiroidismo (Dora *et al.*, 2014; Procopciuc *et al.*, 2017).

Para la población mexicana analizada el genotipo CC podría representar un marcador temprano de disfunción tiroidea, la prevalencia del mismo y la asociación hallada denota que es un factor de riesgo que se suma a los medio ambientales existentes y demás genéticos que pueden contribuir al desarrollo de una patología tiroidea.

**Figura 10. Causas genéticas de las enfermedades tiroideas**



## 12. CONCLUSIÓN

Hay una relación entre la carga genética y la presentación de patologías tiroideas, lo que se evidencia por la presencia de antecedentes familiares en las pacientes enfermas.

El estudio es innovador pues aísla por primera vez en pacientes a la variante X1 la cual sólo estaba reportada bioinformáticamente.

El genotipo CC es un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad tiroidea, el estudio presenta la caracterización por primera vez de pacientes con disfunción tiroidea, que al estar en embarazo son una población susceptible a complicaciones por lo cual un hallazgo como este representa un aporte valioso para la salud pública y la terapia personalizada a corto plazo. Se demuestra experimentalmente que la población mexicana tiene más prevalencia del genotipo de riesgo para contraer una disfunción tiroidea.

Los hallazgos genéticos son clave para mejorar el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades tiroideas y representan un nuevo avance en cuanto a la aplicación clínica de la terapia personalizada. El genotipo CC puede ser usado como marcador temprano de la enfermedad tiroidea en pacientes gestantes mexicanas, contribuyendo al enriquecimiento de la medicina materno fetal para el monitoreo de la mujer embarazada.

## ANEXOS



### 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

#### **TITULO DEL PROYECTO: “Expresión de *TSH* y del polimorfismo D2Thr92ALA en el gen de la Deiodinasa2 en pacientes gestantes con patologías tiroideas del Hospital Materno Perinatal “Mónica Pretelini Sáenz”**

Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_

Estimada Sra.

Investigadores de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMex), estamos realizando un estudio sobre la función tiroidea durante el embarazo. Su aporte sería de gran ayuda para futuras pacientes, ya que con base en estos datos se podría normar una conducta para mantener o cambiar un tratamiento farmacológico.

Dicha participación consiste en:

1. El consentimiento para realizarle una historia clínica y una encuesta anónima.
2. Su aprobación para tomarle una muestra de sangre en dos tubos de 2.5 y 5 mL.
3. La participación es voluntaria y el tratamiento o atención que reciba en las instituciones participantes no se verá afectado si decide no participar en este estudio.
4. En caso de que acepten, la información que se nos proporcione se utilizará de forma confidencial y para propósitos exclusivos de la investigación científica. Bajo ninguna circunstancia podrá esta información ser objeto de transacción comercial o similares.
5. Por su seguridad, las muestras serán codificadas de tal forma que nadie podrá saber a quién le pertenecen, únicamente los investigadores tendrán acceso a dicha información.
6. Además, está en libertad de retirarse cuando: lo considere conveniente, si no está de acuerdo con el estudio o si tiene algún impedimento social, cultural o religioso.
7. La investigación tendrá una duración total de 6 meses máximo.
8. El entrar a participar en esta investigación no se genera un beneficio económico.
9. Los resultados del estudio se darán a conocer una vez finalizado el proceso de la investigación, mediante la entrega de un trabajo escrito en la institución sede.
10. Puede realizar las preguntas que consideren pertinentes en cualquier momento del estudio.

11. El participar en este estudio no significa riesgo alguno.
12. Este consentimiento informado ha pasado por revisión y aprobación del comité de Ética e Investigación del Hospital Materno-Perinatal “Mónica Pretelini Sáenz”.
13. Para cualquier información puede dirigirse con el Dr. Hugo Mendieta Zerón, al teléfono (722) 276 5540, ext (90849).

Habiendo sido enterado(a) del contenido de la presente y resueltas todas mis inquietudes acerca de la investigación, yo

\_\_\_\_\_.

Acepto participar en este estudio.

Nombre : \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

Testigo 1

Testigo 2

Firma

Firma

Parentesco

Parentesco

## ANEXO 2. CONCENTRACIONES Y PUREZAS DE ARN OBTENIDAS

Muestra	Concentración (ng/ul)	Relación 260/280
2	12.4	1.938
3	8.8	1.57
4	12	1.579
5	9.6	1.6
6	11.6	1.706
7	9.2	1.643
8	17.2	1.72
9	14	1.591
10	12.8	1.684
11	16	2
12	12.8	1.684
13	6.8	1.7
14	9.6	1.714
15	18.8	1.88
16	16.8	1.826
17	22.4	1.806
18	12.4	1.722
19	13.2	1.833
20	10.8	1.688
21	14.8	1.762
22	10.4	1.733
23	17.2	1.72
24	18	1.731
25	9.2	1.533
26	12.8	1.778
27	20.4	1.889
28	14.8	1.762
29	11.6	1.706

<b>30</b>	10.8	1.588
<b>32</b>	17.2	1.955
<b>34</b>	8.8	1.692
<b>35</b>	11.2	1.75
<b>36</b>	10.4	1.625
<b>37</b>	15.2	1.727
<b>38</b>	12.8	1.6
<b>39</b>	13.2	1.833
<b>40</b>	15.6	1.625
<b>41</b>	12.8	1.778
<b>42</b>	4.8	1.5
<b>43</b>	8.4	1.909
<b>46</b>	11.2	1.75
<b>47</b>	22	1.719
<b>48</b>	14.4	1.8
<b>49</b>	12.4	1.632
<b>50</b>	9.2	1.643
<b>51</b>	17.2	1.955
<b>52</b>	8.8	1.692
<b>53</b>	12	1.765
<b>54</b>	17.2	1.87
<b>55</b>	15.2	1.81
<b>56</b>	9.6	1.714
<b>57</b>	9.6	1.846
<b>58</b>	9.6	1.6
<b>63</b>	14	1.75
<b>66</b>	14.8	1.762
<b>68</b>	6.4	1.6
<b>69</b>	11.2	1.647
<b>70</b>	7.6	1.9
<b>71</b>	8.8	1.294
<b>72</b>	20.8	1.576
<b>74</b>	8.4	1.75
<b>75</b>	5.6	1.556
<b>76</b>	5.2	1.625
<b>77</b>	8	1.818
<b>78</b>	9.2	1.917

<b>79</b>	10	2
<b>80</b>	10.4	1.857
<b>81</b>	16	1.481
<b>82</b>	16.4	1.464
<b>83</b>	8.4	1.75
<b>85</b>	10	2.273
<b>86</b>	11.6	1.812
<b>87</b>	9.2	2.3
<b>88</b>	12.8	1.882
<b>89</b>	13.2	2.2
<b>90</b>	9.6	1.846
<b>91</b>	10.4	2.167
<b>92</b>	9.2	1.769
<b>94</b>	10	1.786
<b>95</b>	20.8	2
<b>96</b>	8.4	1.5
<b>97</b>	14.4	2.118

### ANEXO 3. CONCENTRACIONES Y PUREZAS DE ADN

<b>Muestra</b>	<b>Concentración (ng/ul)</b>	<b>Relación 260/280</b>
<b>1</b>	23.01	1.72
<b>2</b>	29.89	1.62
<b>3</b>	25.22	1.79
<b>3</b>	22.01	1.64
<b>4</b>	43.69	1.61
<b>5</b>	6.71	2.04
<b>6</b>	17.61	1.79
<b>9</b>	30.64	1.74
<b>10</b>	16.24	1.74
<b>11</b>	9.99	1.29
<b>12</b>	18.3	1.56
<b>13</b>	14.94	1.55



<b>14</b>	<b>23.3</b>	<b>1.54</b>
<b>15</b>	<b>21.36</b>	<b>1.69</b>
<b>16</b>	<b>44.41</b>	<b>1.79</b>
<b>17</b>	<b>37.27</b>	<b>1.68</b>
<b>18</b>	<b>9.09</b>	<b>1.78</b>
<b>19</b>	<b>28.51</b>	<b>1.51</b>
<b>20</b>	<b>20.54</b>	<b>1.74</b>
<b>21</b>	<b>28.71</b>	<b>1.57</b>
<b>22</b>	<b>24.44</b>	<b>1.66</b>
<b>23</b>	<b>25.24</b>	<b>1.75</b>
<b>24</b>	<b>47.21</b>	<b>1.77</b>
<b>25</b>	<b>45.34</b>	<b>1.83</b>
<b>27</b>	<b>34.38</b>	<b>1.75</b>
<b>28</b>	<b>34.65</b>	<b>1.88</b>
<b>29</b>	<b>7.56</b>	<b>1.68</b>
<b>30</b>	<b>25.03</b>	<b>1.75</b>
<b>31</b>	<b>27.78</b>	<b>1.47</b>
<b>32</b>	<b>16.52</b>	<b>1.4</b>
<b>33</b>	<b>80.25</b>	<b>1.83</b>
<b>35</b>	<b>21.58</b>	<b>1.72</b>
<b>36</b>	<b>41.11</b>	<b>1.86</b>
<b>37</b>	<b>509.97</b>	<b>1.87</b>
<b>39</b>	<b>21.2</b>	<b>1.62</b>
<b>40</b>	<b>29.17</b>	<b>1.61</b>
<b>41</b>	<b>67.71</b>	<b>1.78</b>
<b>42</b>	<b>21.61</b>	<b>1.5</b>
<b>43</b>	<b>127.77</b>	<b>1.82</b>
<b>45</b>	<b>54.44</b>	<b>1.88</b>
<b>46</b>	<b>19.54</b>	<b>1.59</b>
<b>48</b>	<b>41.32</b>	<b>1.91</b>
<b>49</b>	<b>39.43</b>	<b>1.78</b>
<b>50</b>	<b>24.33</b>	<b>1.72</b>
<b>51</b>	<b>28.04</b>	<b>1.61</b>
<b>52</b>	<b>445.08</b>	<b>1.81</b>
<b>53</b>	<b>507.7</b>	<b>1.82</b>
<b>54</b>	<b>19.04</b>	<b>1.92</b>
<b>56</b>	<b>296.38</b>	<b>1.82</b>

<b>57</b>	818.42	1.79
<b>58</b>	301.76	1.82
<b>59</b>	33.35	1.8
<b>60</b>	222.18	1.87
<b>61</b>	52.21	1.86
<b>62</b>	913.75	1.86
<b>63</b>	43.67	1.85
<b>64</b>	386.23	1.8
<b>65</b>	892.65	1.87
<b>66</b>	1719.3	1.85
<b>67</b>	5.83	2.32
<b>68</b>	22.02	1.65
<b>69</b>	53.85	1.86
<b>71</b>	27.57	1.56
<b>72</b>	506.68	1.81
<b>73</b>	26.33	1.59
<b>75</b>	908.32	1.65
<b>76</b>	896.04	1.84
<b>77</b>	709.44	1.86
<b>78</b>	494.36	1.78
<b>79</b>	17.74	1.59
<b>80</b>	27.48	1.54
<b>81</b>	14.02	1.81
<b>82</b>	283.41	1.83
<b>83</b>	28.79	1.71
<b>85</b>	16.37	1.68
<b>86</b>	8.85	2.07
<b>87</b>	27.42	1.59
<b>88</b>	34.12	1.82
<b>91</b>	31.35	1.59
<b>91</b>	9.79	1.77
<b>92</b>	33.93	1.79
<b>93</b>	35.14	1.49
<b>94</b>	163.89	1.67
<b>95</b>	49.37	1.61
<b>96</b>	22.94	1.88
<b>97</b>	18.87	1.63

## REFERENCIAS

Alamdari, S, Azizi, F, Delshad, H, Sarvghadi, F, Amouzegar, A. y Mehran, L. (2013) ‘Management of Hyperthyroidism in Pregnancy: Comparison of Recommendations of American Thyroid Association and Endocrine Society’, *Journal of Thyroid Research*, 2013, pp. 11–16.

Alemu, A, Terefe, B, Abebe, M, y Biadgo, B. (2016) ‘Thyroid hormone dysfunction during pregnancy: A review’, *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 14(11), pp. 677–686.

Alexander, A. E. K. y Pearce, E. N. (2017) ‘2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease during Pregnancy and the Postpartum’, *Thyroid*, 27 (3) pp. 315–389.

Alina, B, Daria, P, Olga, F, Vladislav, S, Anna, K. y Elena, G. (2012) ‘Thr92Ala polymorphism of human type 2 deiodinase gene (hD2) affects the development of Graves’ disease, treatment efficiency, and rate of remission’, *Clinical and Developmental Immunology*, 2012 pp. 5–9.

Amorós, A. I. y Turcios, S. (2012) ‘Hipertiroidismo’, *Revista Cubana de Endocrinología*, 23(3), pp. 213–220.

Andersen, S,L, Olsen, J, Wu C,S Laurberg P. (2014) ‘Spontaneous Abortion, Stillbirth and Hyperthyroidism: A Danish Population-Based Study’, *European Thyroid Journal*, 3 (3)pp. 164–172.

Andersen, S. L. y Laurberg, P. (2016) ‘Hypothyroidism and pregnancy loss: Comparison with hyperthyroidism and diabetes in a Danish population-based study’, *Clinical Endocrinology*,85(6), pp.962-970.

Arrojo E.D.R, Fonseca, T. L, Werneck-de-Castro, J. P. S. y Bianco, A. C. (2016) ‘Role of the type 2 iodothyronine deiodinase (D2) in the control of thyroid hormone signaling’, *Biochimica et biophysica acta*,1830(7), pp. 3956–3964.

Badalá, F, Nouri-mahdavi, K. y Roof, D. A. (2011) ‘Type 2 deiodinase at the crossroads of thyroid hormone action’, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*,43(10), pp. 1432–1441.

Baliram, R,Latif R, Zaidi M. y Davies T. (2017) ‘Expanding the Role of Thyroid-Stimulating Hormone in Skeletal Physiology’, *Frontiers in Endocrinology* 8, pp. 1–9.

Biondi,B, Bartalena, L,Coopers D,S, Hegedus,L,Lauberg,P, Kahaly, G, J. (2015) ‘The 2015 European Thyroid Association Guidelines on Diagnosis and Treatment of Endogenous Subclinical Hyperthyroidism’, *European Thyroid Journal*, 4,(3),pp. 149–163.

Bos,S,D,Bovéé,J, Duijnisveld,B,J,Raine, E,V,Wouter J, Ramos Y,Breggen R, Nelissen R, Slagboom E, Loughlin J, Meulenbelt I. (2012) Increased type II deiodinase protein in OA-affected cartilage and allelic imbalance of OA risk polymorphism rs225014 at DIO2 in human OA joint tissues’, *Annals of Reumatic Diseases*. 71(7), pp.1254-1258.

Bos,S,D,Loughlin R.G, Nelissen, R,G,Slagboom, P,E, Meulenbelt, I. (2010) ‘Functional characterization of OA risk polymorphism rs225014 at dio2 in human OA cartilage’,18,pp.S2-S14.

Brent, G. A. (2012) ‘Science in medicine Mechanisms of thyroid hormone action’, Journal of Clinical Investigation, 122(9), pp. 3035–3043.

Butler, P. W, Smith, S. M, Linderman, J. D, Brychta, R. J, Alberobello, A. T, Dubaz, O. M, Luzon, J. A, Skarulis, M. C., Cochran, C. S., Wesley, R. A, Pucino, F. y Celi, F. S. (2010) ‘The Thr92Ala 5’ Type 2 Deiodinase Gene Polymorphism Is Associated with a Delayed Triiodothyronine Secretion in Response to the Thyrotropin-Releasing Hormone–Stimulation Test: A Pharmacogenomic Study’, Thyroid, 20(12), pp. 1407–1412.

Cangül, H, Demir, K, Babayiğit, H. Ö, Abacı, A. y Böber, E. (2015) ‘The Missense Alteration A5T of the Thyroid Peroxidase Gene is Pathogenic and Associated with Mild Congenital Hypothyroidism’, Journal Of Clinical Research in Pediatric Endocrinology 7(3), pp. 238–241.

Carina, R, Christian, M, Sebastian, E, Viviana, G, Viviana, V. y Hector, T. (2005) ‘La tiroides como modelo de mecanismos moleculares en enfermedades geneticas’, Medicina, (CDm), pp. 437–438.

Carlé, A, Faber J,Steffensen R, Laurberg, P, Nygaard B. (2017) ‘Hypothyroid Patients Encoding Combined MCT10 and DIO2 Gene Polymorphisms May Prefer L-T3 + L-T4 Combination Treatment – Data Using a Blind , Randomized , Clinical Study’, European Thyroid Journal, 6(3) pp. 143–151.

Castagna, M. G, Dentice, M, Cantara, S, Ambrosio, R, Maino, F, Porcelli, T. Marzocchi, C, Garbi, C, Pacini, F. y Salvatore, D. (2017) ‘DIO2 Thr92Ala Reduces Deiodinase-2 Activity and Serum-T3 Levels in Thyroid-Deficient Patients’, *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*,102(5), pp. 1623–1630.

Chavarria Cruz D, Ibarra Estrada E. (2012) Resultados perinatales en embarazo y enfermedad tiroidea en el Hospital Materno Infantil ISSEMYM del 1 de agosto de 2009 al 31 de agosto del 2012. Especialidad. Universidad Autónoma del Estado de México.

Cherella, C. E. y Wassner, A. J. (2017) ‘Congenital hypothyroidism: insights into pathogenesis and treatment’. *International Journal of Pediatric Endocrinology*,2017(11) pp. 1–8.

Chi, H. C, Chen, C, Tsai, M, Tsai, C. and Lin, K. (2013) ‘Molecular Functions of Thyroid Hormones and Their Clinical Significance in Liver-Related Diseases’, *BioMed Research International*,2013, pp.1-16.

Dhanunjaya, Y, Balubai,P,D Rajam,C.(2016), ‘Type II 5’Deiodinase Thr92Ala Polymorphism Is Associated with CVD Risk among Type 2 Diabetes Mellitus Patients’, *Journal of Diabetes Mellitus*,6,pp.58-68.

Dora, J. M, Wajner, S. M, Costa, J. D, Pinto Ribeiro, R. V, Leiria, L. B, Lopes, M. G, Vitali Da Silva, A, Crispim, D. y Maia, A. L. (2014) ‘Type 2 deiodinase Thr92Ala polymorphism is associated with disrupted placental activity but not with dysglycemia or adverse gestational outcomes: A genetic association study’, *Fertility and Sterility*, 101(3), pp. 833–840.

Duhing K, Chappel L, Shennan A. (2016) Oxidative stress in pregnancy and reproduction. *Obstetric Medicine*, 9(3):113-116.

Estivalet A, Leiria L, Dorá J, Rheinheimer J, Boucas A, Maia A, Crispim, D. (2011) 'D2 Thr92Ala and PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala polymorphisms interact in the modulation of insulin resistance in type 2 diabetic patients', *Obesity*, 19(4), pp. 825-832.

Fekete, C, Lechan, R. M. (2014) 'Central Regulation of Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis Under Physiological and Pathophysiological Conditions', *Endocrine Reviews*, 35(2), pp. 159–194.

Francisca Grob, L. y Martínez-Aguayo, A. (2012) 'Hipotiroidismo congénito: Un diagnóstico que no debemos olvidar', *Revista Chilena de Pediatría*, 83(5), pp. 482–491.

Gałecka, E., Talarowska, M., Orzechowska, A., Górski, P., Bieńkiewicz, M. y Szemraj, J. (2015) 'Association of the DIO2 gene single nucleotide polymorphisms with recurrent depressive disorder', *Acta Biochimica Polonica* 62(2), pp. 297–302.

Gonzalez-Velazquez, A, Ávalos-Guerrero, Á, Ramírez-Montiel, M. L, Rosales-Lucio, J, Pichardo-Cuevas, M. y Contreras-Carreto, N. A. (2013) 'Incidencia de patología tiroidea durante el embarazo', *Médica Sur*, 20(1), pp. 11–16.

Grineva, E, Babenko, A, Vahrameeva, N, Bogdanova, M, Kostareva, A, Popcova, D. y Larionova, V. (2009) 'Type 2 deiodinase Thr92Ala polymorphism impact on clinical course and myocardial remodeling in patients with Graves' disease', *Cell Cycle*, 8(16), pp. 2565–2569.

Grünert, S. C, Schmidts, M., Pohlenz, J, Kopp, M. V, Uhl, M. y Schwab, K. O. (2011) ‘Congenital Central Hypothyroidism due to a Homozygous Mutation in the TSH $\beta$  Subunit Gene’, *Case Reports in Pediatrics*, 2011(5), pp. 1–4.

Haixia, L, Shan, Z, Li, C, Mao, J, Xie, X, Wang, X, Liu, X, Fan, Y, Bao, S. and Teng, W. (2014) ‘Maternal Subclinical Hypothyroidism, Thyroid Autoimmunity, and the Risk of Miscarriage: A Prospective Cohort Study’, *Thyroid*, 24(11), pp. 1642–1649.

He B, Li J, Wang G, Ju W, Lu Y, Shi Y, He L, Zhong N. (2009) ‘Association of genetic polymorphisms in the type II deiodinase gene with bipolar disorder in a subset of Chinese population’ *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 33(6), pp. 986-90

Hermanns, P, Couch, R, Leonard, N, Klotz, C. y Pohlenz, J. (2014) ‘A novel deletion in the thyrotropin beta-subunit gene identified by array comparative genomic hybridization analysis causes central congenital hypothyroidism in a boy originating from Turkey’, *Hormone Research in Paediatrics*, 82(3), pp. 201–205.

Hu, L, Shen, C, Hu, Y, Chen, M, Tsai, C, Chiang, H, Yeh, C, Wang, W, Chen, P, Hu, T, Chen, T. y Su, T. (2013) ‘Hyperthyroidism and Risk for Bipolar Disorders: A Nationwide Population-Based Study’, *Plos One*, 8(8), pp. e73057.

Huttlin, E. L, Ting, L, Bruckner, R. J, Gebreab, F, Gygi, M. P, Szpyt, J, Tam, S, Zarraga, G, Colby, G, Baltier, K, Dong, R, Guarani, V, Vaites, L. P, Ordureau, A, Rad, R, Brian, K, Wüehr, M, Chick, J, Zhai, B, Kolippakkam, D, Mintseris, J, Obar, R. A, Harris, T, Artavanis-tsakonas, S, Sowa, M. E, Paulo, J. A, Harper, J. W. y Gygi,



S. P. (2015) ‘The BioPlex Network: A Systematic Exploration of the Human Interactome.’, *Cell*, 162(2), pp. 425–440.

Janssen, B. G, Saenen, N. D, Roels, H. A, Madhloum, N. y Gyselaers, W. (2017) ‘Fetal Thyroid Function, Birth Weight, and in Utero Exposure to Fine Particle Air Pollution: A Birth Cohort Study’, *Environmental Health Perspectives*, 125(4), pp. 699–705.

Javed, Z. y Sathyapalan, T. (2016) ‘Levothyroxine treatment of mild subclinical hypothyroidism: a review of potential risks and benefits’, *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism*, 7 (1) pp. 12–23.

Jia, X, Han, B, Onengut-gumuscu, S, Chen, W, Concannon, P. J, Rich, S. S, Raychaudhuri, S. y Bakker, P. I. W. (2013) ‘Imputing Amino Acid Polymorphisms in Human Leukocyte Antigens’, *Plos One*, 8(6) pp. e64683.

Kahr, M. K, Antony, K. M, Delbeccaro, M, Hu, M, Aagaard, K. M. y Suter, M. A. (2016) ‘Increasing maternal obesity is associated with alterations in both maternal and neonatal thyroid hormone levels’, *Clinical Endocrinology*, 84 ( 4) pp. 551–557.

Kanike, N, Davis, A. y Shekhawat, P. S. (2017) ‘Transient hypothyroidism in the newborn: to treat or not to treat’, *Translational Pediatrics.*, 6(2), pp. 349–358.

Karges, B, LeHeup, B, Schoenle, E, Castro-Correia, C, Fontoura, M, Pfäffle, R, Andler, W, Debatin, K. M. y Karges, W. (2004) ‘Compound heterozygous and homozygous mutations of the TSH $\beta$  gene as a cause of congenital central hypothyroidism in Europe’, *Hormone Research*, 62(3), pp. 149–155.

Korevaar, T. I. M., Rijke, Y. B. De Chaker, L, Medici, M, Jaddoe, V. W. V, Steegers, E. A. P, Visser, T. J., Peeters, R. P. (2017) ‘Stimulation of thyroid function by hCG during pregnancy: a risk factor for thyroid disease and a mechanism for known risk factors .’ *Thyroid*, 27 (3), pp. 440-450.

Leach, P. T, Gould, T. J. (2015) ‘Thyroid hormone signaling: Contribution to neural function, cognition, and relationship to nicotine’, *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 57, pp. 252–263.

Leiria, L. B, Dora, J. M, Wajner, S. M, Estivalet, A. A. F, Crispim, D. y Maia, A. L. (2014) ‘The rs225017 polymorphism in the 3’UTR of the human DIO2 gene is associated with increased insulin resistance’, *PLoS ONE*, 9(8) pp.e103960.

Leo, S, De Lee, S. Y, Braverman, L. E, Unit, E. (2016) ‘Hyperthyroidism’, *Lancet* , 388(10047), pp. 906–918.

León, G, Murcia, M, Rebagliato, M, Álvarez-Pedrerol, M, Castilla, A. M, Basterrechea, M, Iñiguez, C, Fernández-Somoano, A, Blarduni, E, Foradada, C. M, Tardón, A. y Vioque, J. (2015) ‘Maternal thyroid dysfunction during gestation, preterm delivery, and birthweight. The infancia y medio ambiente cohort, Spain’, *Pediatric and Perinatal Epidemiology*, 29(2), pp. 113–122.

Leung, A. M. (2012) ‘Thyroid function in pregnancy’, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 26(2–3), pp. 137–140.

Li, L, Zhi, M, Hou, Z, Zhang, Y. y Yue, Y. (2017) ‘Abnormal brain functional connectivity leads to impaired mood and cognition in hyperthyroidism: a resting-state functional MRI study’, *Oncotarget* , 8(4), pp. 6283–6294.

Liu, C, Li, L, Ying, F, Xu, C, Zang, X. y Gao, Z. (2012) ‘A newly identified TSH $\beta$  splice variant is involved in the pathology of Hashimoto’s thyroiditis’, *Molecular Biology Reports*, 39 (12) pp. 10019–10030.

Liu, C. R, Miao, J, Zhao, Z. K, Li, L. Y, Liu, Y. M, Zhang, Y. L, Li, X. H, Liu, Y. Q, Gu, Y. J, Zhao, Y. y Luo, J. W. (2015) ‘Functional human TSHB splice variant produced by plasma cell may be involved in the immunologic injury of thyroid in the patient with Hashimoto’s thyroiditis’, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 414, pp. 132–142.

Luo, M, Zhou, X, Zou, T, Keyim, K. y Dong, L. (2015) ‘Type II deiodinase polymorphisms and serum thyroid hormone levels in patients with mild cognitive impairment’, *Genetics and Molecular Research*, 14(142), pp. 5407–5416.

Mancini, A, Segni, C, Di, Raimondo, S., Olivieri, G., Silvestrini, A., Meucci, E. and Currò, D. (2016) ‘Thyroid Hormones, Oxidative Stress , and Inflammation’, *Mediators of Inflammation*, 2016, pp.1-16.

Manna, D, Roy, G. y Mugesh, G. (2013) ‘Antithyroid Drugs and Their Analogues: Synthesis, Structure, and Mechanism of Action’, *Accounts Of Chemical Research*, 46(11), pp.2706-2715.

Mantilla, D, Echin, M. L. y Perel, C. (2010) ‘Hipertiroidismo y sistema cardiovascular bases fisiopatológicas y su manifestación clínica’, *Insuficiencia Cardiaca*, 5(4), pp. 157–177.

Maraka, S, Keeffe, D. T. O, Rodriguez R, Montori, V. M. y Stan, M. N. (2016) ‘Effects of Levothyroxine Therapy on Pregnancy Outcomes in Women with Subclinical Hypothyroidism’, *Thyroid*,26(7), pp. 980–986.

Maraka, S, Ospina, N. M. S,O’Keeffe D.T, Rodriguez, R, Ycaza, A. E. E, Chung W, Juhn Y, Coddington C, Montori, V (2018) ‘Effects of Increasing Levothyroxine on Pregnancy Outcomes in Women with Uncontrolled Hypothyroidism’, *Clinical Endocrinology*, 86(1), pp. 150–155.

Mayayo Dehesa, E. (2011) ‘Hipotiroidismo Y Bocio’, *Protocolos diagnósticos y terapéuticos en Pediatría*, 201(1) pp. 150–165.

Mcaninch, E. A. y Bianco, A. C. (2015) ‘Thyroid hormone signaling in energy homeostasis and energy metabolism’, *Annals of the New York Academy of Sciences.*, 1311, pp. 77–87.

Mendieta, H, Huerta,O. ‘Dyslipidemia is a persistent problem in puerperium with or without preeclampsia’,(2013), *Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology*, 40(2), pp.229,232.

Morales A. E, Shi J.D, Wanj C.Y, She J.X, Muir A. (2004) .Novel TSH $\beta$  subunit gene mutation causing congenital central hypothyroidism in a newborn male *Journal of pediatric endocrinology & metabolism*. 17(3):355-9.

Moreno J, Moreno M, Ortega F, Gemma X, Hong S, Asara J, Serrano J, Jové M, Pissios P, Bluher M, R. W. (2017) ‘TSHB mRNA is linked to cholesterol metabolism in adipose tissue’. *FASEB journal*, 31 (10), pp 4482-4491.

Nair, S, Muller, Y. L, Ortega, E, Kobes, S, Bogardus, C. y Baier, L. J. (2012) ‘Association analyses of variants in the DIO2 gene with early-onset type 2 diabetes mellitus in Pima Indians.’, *Thyroid* ,22(1),pp.80-87.

Nazarpour, S. Tehrani, F. R, Simbar, M. y Azizi, F. (2015) ‘Thyroid dysfunction and pregnancy outcomes’, *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 13(7), pp. 387–396.

Nguyen, C. T, Sasso, E. B, Barton, L. y Mestman, J. H. (2018) ‘Graves’ hyperthyroidism in pregnancy: a clinical review’. *Clinical Diabetes and Endocrinology*, 2018, pp. 1–9.

Nijkamp, J. W, Korteweg, F. J, Groen, H, Timmer, A, Van Den Berg, G, Bossuyt, P. M, Mol, B. W. J. and Erwich, J. J. H. M. (2015) ‘Thyroid function testing in women who had a stillbirth’, *Clinical Endocrinology*, 85(2), pp 291-298.

Nishikawa M, Inada M, Naito K, Ishii H, Tanaka K, Mashio Y, I. H. (1983) ‘Serum concentrations of 3, 3'-diiodothyronine, 3', 5'-diiodothyronine, and 3, 5-diiiodothyronine in altered thyroid states.’, *Endocrinología Japónica*, 30(2), pp. 167–172.

Ordookhani A, Burman, K. D. (2017) ‘Hemostasis in Overt and Subclinical Hyperthyroidism’, *International Journal of endocrinology and metabolism* ,15(3), pp e44157.

Ortiga-carvalho, T. M, Chiamolera, M. I. y Pazos-moura, C. C. (2016) ‘Hypothalamus-Pituitary-Thyroid Axis’, *Comprehensive Physiology* 6(3), pp. 1387–1428.

Panicker,V, Saravanan,P,Vaidya B,Evans,J,Hattersley ,A,T, Frayling, T,M,Dayan C,M. (2009), ‘Common variation in the DIO2 gene predicts baseline psychological well-being and response to combination thyroxine plus triiodothyronine therapy in hypothyroid patients’, The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism,94(5):1623-1629.

Pappa, T, Johannesen, J, Scherberg, N, Torrent, M, Dumitrescu, A. y Refetoff, S. (2015) ‘A TSH $\beta$  Variant with Impaired Immunoreactivity but Intact Biological Activity and Its Clinical Implications’, Thyroid, 25(8), pp 869-876.

Patel, H, Mansuri, M. S, Singh, M. y Begum, R. (2016) ‘Association of Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 (CTLA4) and Thyroglobulin ( TG ) Genetic Variants with Autoimmune Hypothyroidism’, Plos One, 11(3), pp. e0149441.

Pedersen, C, Leserman, J, Garcia, N, Stansbury, M, Meltzer, S. y Johnson, J. (2017) ‘Late Pregnancy Thyroid-Binding Globulin Predicts Perinatal Depression’, Psychoneuroendocrinology ,65, pp. 84–93.

Procopciuc, L. M, Caracostea, G, Hazi, G, Nemeti, G. y Stamatian, F. (2016) ‘D2-Thr92Ala, thyroid hormone levels and biochemical hypothyroidism in preeclampsia.’, Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology,33 (2), pp. 136–140.

Pyun JA, Kim S, Cha DH, Kwack K. (2014) ‘Epistasis between polymorphisms in TSHB and ADAMTS16 is associated with premature ovarian failure’, Menopause; 21(8), pp.890-895.

Ramandeep, K, Kapil, G. y Harkiran, K. (2017) ‘Correlation of enhanced oxidative stress with altered thyroid profile: Probable role in spontaneous abortion’, *International Journal of applied & basic medical research*, 7 (1) pp. 20–25.

Rhee, C. M, Brent, G. A, Kovesdy, C. P, Soldin, P, Nguyen, D, Budoff, M. J, Brunelli, S. M. y Kalantar-zadeh, K. (2015) ‘Thyroid functional disease: an under-recognized cardiovascular risk factor in kidney disease patients’, *Nephrology, Dialysis, transplantation*, 30(5), pp. 724–737.

Rivera, A, Huerta, H, Centeno, Y, Flores, R. y Zurita, J. N. (2017) ‘Actualización en hipotiroidismo congénito: definición, epidemiología, embriología y fisiología. Primera parte’, *Revista Mexicana de Pediatría* 84(5), pp. 204–209.

Rotondi, M, Capelli, V, Coperchini, F, Pinto, S, Croce, L, Tonacchera, M. y Chiovato, L. (2018) ‘Post-partum and non-post-partum relapsing Graves’ hyperthyroidism display different response to anti-thyroid drugs’, *European Journal of Endocrinology*, 178 (6), pp. 589–594.

Sanyal, D. y Raychaudhuri, M. (2016) ‘Review Article Hypothyroidism and obesity: An intriguing link’, *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 20(4) pp. 554-557.

Schaefer, J. S. y Klein, J. R. (2009) ‘A novel thyroid stimulating hormone beta-subunit isoform in human pituitary, peripheral blood leukocytes, and thyroid.’, *General and comparative endocrinology*, 162(3), pp. 241–4.

Schoenmakers, N, Alatzoglou, K. S, Chatterjee, V. K. y Dattani, M. T. (2015) ‘Recent advances in central congenital hypothyroidism’, *The Journal of Endocrinology*, 227(3), R51-71

Schoenmakers, N, Moran, C, Peeters, R. P, Visser, T, Gurnell, M. y Chatterjee, K. (2013) ‘Resistance to thyroid hormone mediated by defective thyroid hormone receptor alpha’, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830(7), pp. 4004–4008.

Schübel, J, Feldkamp, J, Bergmann, A, Drossard, W. y Voigt, K. (2017) ‘Latent Hypothyroidism in Adults’, *DÄ International - Deutsches Ärzteblatt*, 114(25), pp.430-438.

Se, C, De, G, Ji, T. y Le, G. (2016) ‘Asociación entre hipotiroidismo subclínico y enfermedad hipertensiva del embarazo’, *Ginecología y Obstetricia de México*, 84(7), pp. 413–419.

Sellitti, D. F. y Suzuki, K. (2014) ‘Intrinsic Regulation of Thyroid Function by Thyroglobulin’, *Thyroid*, 24(4), pp.625-638.

Senese, R, Cioffi, F, De Lange, P, Goglia, F. y Lanni, A. (2014) ‘Thyroid: Biological actions of “nonclassical” thyroid hormones’, *Journal of Endocrinology*, 221(2), pp R1-R12.

Smith, A., Eccles-smith, J. y Emden, M. D. (2017) ‘Thyroid disorders in pregnancy and postpartum’, *Australian Prescriber*, 40(6), pp. 214–219.

Soledad, H. V. (2013) ‘Trastornos tiroideos en el embarazo’, *Revista Médica Clínica Las Condes*, 24(5), pp. 761–767.



Stagnaro-green, A, Abalovich, M, Alexander, E, Azizi, F, Mestman, J, Negro, R, Nixon, A, Pearce, E. N. y Soldin, O. P. (2011) ‘Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease’, *Thyroid*, 21(10),1081-1125.

Stagnaro-green, A. (2011) ‘Thyroid Antibodies and Miscarriage: Where Are We at a Generation Later?’, *Journal of Thyroid Research*, 2011.

Stagnaro-green, A. (2015) ‘Postpartum Management of Women Begun on Levothyroxine during Pregnancy’, *Frontiers in Endocrinology*,6(183), pp. 1–5.

Tania, O, Aniket, S. y Fredic, W. (2014) ‘Thyroid hormone receptors and resistance to thyroid hormone disorders’, *Nature Reviews Endocrinology*, 10(10), pp. 581–591.

The American College of Obstetricians and Gynecologist (ACOG), (2013) ‘Hypertension in Pregnancy’. Documento disponible en : <https://www.acog.org/Clinical-Guidance-and-Publications/Task-Force-and-Work-Group-Reports/Hypertension-in-Pregnancy>

The American College of Obstetricians and Gynecologists (2013) ‘Weight Gain During Pregnancy’. Committee Opinion N.548.

Tingi, E, Syed, A. A, Kyriacou, A, Mastorakos, G. y Kyriacou, A. (2016) ‘Benign thyroid disease in pregnancy: A state of the art review’, *Journal of Clinical & Translational Endocrinology*, 6, pp. 37–49.

Torlontano, M, Durante, C, Torrente, I, Crocetti, U, Augello, G, Ronga, G, Montesano, T, Travascio, L, Verrienti, A, Bruno, R, Santini, S, D’Arcangelo, P, Dallapiccola, B, Filetti, S. y Trischitta, V. (2008) ‘Type 2 deiodinase polymorphism

(threonine 92 alanine) predicts L-thyroxine dose to achieve target thyrotropin levels in thyroidectomized patients’, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93(3), pp. 910–913.

Twyman, R. M. (2009) ‘Single-Nucleotide Polymorphism (SNP ) Analysis’, *Encyclopedia of Neuroscience*, 8 pp. 881–885.

Wang, K, Zhang, J, Li, F, Zhang, W. Wang, H, Ding, L, Liu, Y, Lin, L, Zhang, S. y Zhu, M. (2017) ‘Urinary iodine in early pregnancy is associated with subclinical hypothyroidism in Tianjin , China: an observational study’. *BMC Endocrine Disorders*, 17(1) pp. 1–7.

Wilson, R. E, Salihu, H. M, Groer, M. W, Dagne, G, Rourke, K. O. y Mbah, A. K. (2014) ‘Impact of Maternal Thyroperoxidase Status on Fetal Body and Brain Size’. *Journal of Thyroid Research* Hindawi Publishing Corporation, [volume\(2014\)](#).

Wouters, H. J. C. M, Vann Loon, H. C. M, Van der Klauw, M. M, Elderson, M. F, Slagter, S. N, Kobold, A. M, Kema, I. P, Links, T. P, Van Vliet-Ostaptchouk, J. V. y Wolffenbuttel, B. H. R. (2017) ‘No Effect of the Thr92Ala Polymorphism of Deiodinase-2 on Thyroid Hormone Parameters, Health-Related Quality of Life, and Cognitive Functioning in a Large Population-Based Cohort Study’, *Thyroid*, 27(2), pp. 147–155.

Yalakanti, D. y Dolia, P. B. (2016) ‘Association of Type II 5 Monodeiodinase Thr92Ala Single Nucleotide Gene Polymorphism and Circulating Thyroid Hormones Among Type 2 Diabetes Mellitus Patients’, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 31(2), pp. 152–161.

Yen, P. M. (2001) ‘Physiological and Molecular Basis of Thyroid Hormone Action’, *Physiological Reviews*, 81(3), pp. 1097–1142.

Ywaskewycz L,R, **Bonneau,G,A,Castillo M,S,Lopez D,L,Pedrozo**, W,R.(2010) ‘Perfil lipídico por trimestre de gestación en una población de mujeres adultas’. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*,75 (4), pp227-233.

Zhang, X, Sun, J, Han, W, Jiang, Y, Peng, S, Shan, Z. y Teng, W. (2016) ‘The Type 2 Deiodinase Thr92Ala Polymorphism Is Associated with Worse Glycemic Control in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis’, *Journal of Diabetes Research*, 2016(1).

Zhang, Y, Wang, H, Pan, X, Teng, W y Shan, Z. (2017) ‘Patients with subclinical hypothyroidism before 20 weeks of pregnancy have a higher risk of miscarriage: A systematic review and meta-analysis’, *Plos One*, 12 (4) e0175708.