



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

**ANÁLISIS DEL EFECTO ANTI-INFLAMATORIO DEL
YODO MOLECULAR EN MÚSCULOS DEL PISO
PÉLVICO DE RATAS PRIMÍPARAS**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Presenta:

Ezelenkey Castillo Carmona

Dr. Francisco Castelán

Tlaxcala, Tlax.

Marzo, 2024



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

ANÁLISIS DEL EFECTO ANTI-INFLAMATORIO DEL YODO MOLECULAR EN MÚSCULOS DEL PISO PÉLVICO DE RATAS PRIMÍPARAS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

~~Ezelenkey Castillo Carmona~~

Comité Tutorial

Dr. Francisco Castelán

Dra. Estela Cuevas Romero

Dra. Carmen Yolanda Aceves Velasco

Tlaxcala, Tlax.

Marzo, 2024

FINANCIAMIENTO

Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Bioquímica y Biología Tisular del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, Unidad Foránea Tlaxcala del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México. Para su realización se contó con financiamiento de un Proyecto de Infraestructura (# 322333) apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología “CONACYT” en el año 2022. El Biol. Jesús Ramsés Chávez Ríos y la Q.F.B. Laura García Rivera otorgaron un excelente apoyo técnico.



1993 - 2023
Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Universidad Autónoma de Tlaxcala
Instituto Nacional de Estudios de Historia

CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA
Coordinación de la División de Ciencias Biológicas
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado

Tlaxcala, Tlax., a 3 de abril de 2024

COMITÉ ACADÉMICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Este documento describe el resultado del análisis de similitud del documento de la tesis titulada **“Análisis del efecto anti-inflamatorio del yodo molecular en músculos del piso pélvico de ratas primíparas”**, realizada por la **L.Q.C. Ezenkey Castillo Carmona** para optar por el grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**.

Después de revisar el documento con la aplicación web Turnitin (<https://uatx.turnitin.com>), comparto con ustedes la siguiente información:

==AJUSTES DE LA APLICACIÓN==

Depósitos de búsqueda (seleccionados para comprobar la similitud).

Trabajos entregados, Contenido de internet, Publicaciones, base de datos Crossref, Contenido publicado en Crossref.

Filtros de exclusión (partes de la tesis donde no desea que se revisen las coincidencias).

Excluir bibliografía, excluir citas textuales, excluir coincidencias pequeñas (umbral establecido, 10 palabras).

Exclusiones manuales y justificación.

- 1) Una versión preliminar de la tesis analizada en, e incluida en el repositorio privado de, Turnitin por el Dr. Aldo I. Carrillo-Muñoz, investigador posdoctoral adscrito a mi grupo de trabajo. Porcentaje de similitud arrojada: 25%

==RESULTADO==

Similitud general: 8%

Considerando que la mayoría de las similitudes encontradas en el documento analizado corresponden a descripciones generales, conceptos anatómicos y procedimientos metodológicos, puedo informar a ustedes que **no he encontrado elementos suficientes para advertir alguna práctica cuestionable en la redacción de la tesis**.

Sin otro asunto que tratar, reciban un saludo cordial.

Atentamente,

Dr. Francisco Castejan
Director de tesis



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



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

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Ezelenkey Castillo Carmona** realiza para la obtención del grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **“Análisis del efecto antiinflamatorio del yodo molecular en músculos del piso pélvico de ratas primíparas”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
TLAXCALA, TLAX., A 12 DE MARZO DE 2024

DRA. CARMEN YOLANDA ACEVES VELASCO

DR. FRANCISCO CASTELÁN

DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO

DR. OCTAVIO SÁNCHEZ GARCÍA

DRA. ELIZABETH BAUTISTA RODRÍGUEZ

Agradecimientos

Al grupo de trabajo de Dr. Francisco Castelán por siempre brindarme en todo momento su apoyo, especialmente a Mayra y Bere que estuvieron conmigo en las noches de desvelo realizado inclusiones o cuando era momento de realizar un experimento, sin ellas no podría haber concluido todas mis actividades.

A mis padres y hermano que siempre han puesto su confianza en mí y me han alentado para conseguir lo que deseo, siempre dando palabras de aliento y siendo mi sombra en los momentos más difíciles.

Por último, pero no menos importante al amor de mi vida: Diego Zacapa, la persona que más confió en mí durante todo este proceso, agradezco no solo tu ayuda sino haberte encontrado.

Te agradezco por ser mi ancla cuando creía que el mundo se venía abajo, por siempre estar pendiente de mi salud física como mental y por nunca darte por vencido conmigo, por revisar mis escritos, escucharme cuando ensayaba para mis tutoriales, pero sobre todo por abrazarme cuando creía que no sería capaz de lograrlo, este éxito es un trabajo en equipo. TE AMO.

Dedicatoria

Al amor de mi vida: Diego Arturo Zacapa López

Resumen

Los músculos del suelo pélvico son fundamentales para el funcionamiento del sistema urogenital. La gestación y el parto conllevan lesiones neuromusculares que incrementan el riesgo de desarrollar disfunciones uroginecológicas.

El yodo molecular es un micronutriente con propiedades antioxidantes que, según el contexto celular, puede actuar como un inhibidor o activador de la respuesta inmune.

El objetivo de esta tesis fue evaluar el grado de daño en los músculos pélvicos de ratas primíparas tratadas o no con yodo molecular. Para ello se analizaron variables zoométricas, morfométricas y bioquímicas en ratas nulíparas y primíparas.

La dosis de yodo molecular utilizada fue de 0.0005% diluida en el agua de beber y se administró durante los tres primeros días postparto. Los datos obtenidos se analizaron mediante ANOVA de dos vías para muestras independientes seguido de una prueba de Tukey para identificar diferencias estadísticamente significativas.

La primiparidad en la rata incrementó el peso corporal y redujo los niveles de glucosa sérica. Además, incrementó la longitud y el ancho de los músculos ilio- y pubococcígeo. La administración de yodo molecular durante los primeros tres días posparto evitó ambos cambios musculares.

También evitó el daño del iliococcígeo, estimado por la actividad del enzima β -glucuronidasa, y redujo el contenido de glucógeno del pubococcígeo en el postparto. Dado que el daño del iliococcígeo se encontró correlacionado positivamente con su longitud y el número de crías paridas, los hallazgos de esta tesis sugieren que el yodo molecular mitiga el daño del iliococcígeo en el postparto temprano de la rata.

INDICE

1.0 Introducción	9
1.1 Músculo esquelético	9
1.2 Músculos del piso pélvico femenino	10
1.3 Los músculos del piso pélvico asisten la micción	11
1.4 Alteraciones en músculos del suelo pélvico femenino.....	12
1.5 Respuesta inflamatoria.....	13
1.6 Yodo con efecto inmunomodulador.....	16
2.- Antecedentes	20
2.1 La rata como un organismo modelo para estudiar el suelo pélvico femenino	20
2.2 Efectos de la gestación en los músculos del piso pélvico	21
2.3 Marcadores bioquímicos de daño muscular	24
2.4 Efecto del yodo sobre el musculo esquelético	25
2.5 Papel del yodo sobre la respuesta inflamatoria	26
3.0 Justificación	27
4.0 Hipótesis	28
5.0 Objetivo general	29
5.1 Objetivos particulares	29
6.0 Metodología.....	30
6.1 Animales	30
6.2 Grupos experimentales	30
6.3 Obtención de muestras biológicas	31
6.4 Niveles de glucosa sérica.....	31
6.5 Determinación de la actividad de la β -glucuronidasa.....	31
6.6 Determinación de glucógeno	32
6.7 Inmunodetección en fase solida (<i>Western blot</i>).....	33
6.8 Análisis estadístico	34
7.0 Resultados	35
7.1 Zoometría	35

7.2 Actividad de la enzima β -glucuronidasa.....	37
7.3 Contenido de glucógeno muscular	38
7.4.-Niveles de TNF- α	39
8.0.-Discusión	40
9.0.-Conclusiones	46
10.0 Perspectivas	48
11.0 Referencias	49

1.0 INTRODUCCIÓN

Las alteraciones en los músculos del piso pélvico conllevan a una serie de condiciones que impactan en la salud de los seres humanos, una de ellas es la incontinencia urinaria, que afecta en mayor medida a las mujeres disminuyendo su calidad de vida. La gestación y el parto son factores de riesgo para el desarrollo de esta patología. Estos estados generan lesiones a nivel muscular que desencadenan respuestas inflamatorias como parte del proceso fisiológico de reparación y regeneración del tejido. Sin embargo una respuesta inflamatoria exacerbada puede generar un daño al tejido, por eso una opción es investigar posibles agentes que puedan regular esta actividad inmunológica, mitigando el daño a la musculatura, una de esas moléculas pudiera ser el yodo molecular.

1.1 Músculo esquelético

El tejido muscular esquelético se denomina así porque la mayoría de los músculos mueven los huesos del esqueleto, mediante la contracción y la relajación alternante, este tejido cumple 4 funciones fundamentales: la producción de movimientos corporales, estabilización del cuerpo, almacenamiento, movilización de sustancias dentro del cuerpo y la producción de calor (Gerard Tortora & Bryan Derrickson, 2014). Es uno de los tejidos más dinámicos y con mayor elasticidad del cuerpo humano; muestra una capacidad impresionante para adaptarse a las demandas funcionales, constituye aproximadamente el 40% del peso corporal total, contiene del 50 al 75% de las proteínas corporales, contribuye significativamente a múltiples funciones en el organismo, mediante la conversión de energía química a energía mecánica para generar fuerza y potencia para mantener la postura y producir movimiento (Frontera & Ochala 2015).

Cada uno de los músculos esqueléticos es un órgano independiente compuesto por cientos de miles de células denominadas fibras musculares (miocitos) por su forma alargada, también contiene tejido conectivo alrededor de estas fibras musculares (epimisio, perimisio y endomisio), además de vasos sanguíneos y nervios (Gerard Tortora & Bryan Derrickson, 2014). El movimiento se genera gracias a la contracción de las miofibras, la integridad y la función de estas células pueden verse dañadas por diferentes situaciones como traumas, exceso de tensión, laceraciones o alguna contusión. Los núcleos de éstas fibras son

postmitóticos, es decir, que ya no pueden dividirse.), la regeneración de este tejido está asegurada por una población de células madre musculares adultas, denominadas células satélite, en ausencia de ellas la regeneración del tejido no se puede llevar a cabo con éxito (Duchesne y cols. 2017).

Las fibras musculares en los mamíferos son muy heterogéneas. A través de diversos estudios se han demostrado que la clasificación puede ser variable, desde principios del siglo XIX se ha podido distinguir a las fibras musculares en función de sus propiedades contráctiles como: rápidas cuyo metabolismo es glucolítico, cuyo propósito es la actividad física y lentas las cuales tienen un alto contenido en mioglobina y enzimas oxidativas, hechas para una actividad más continuas o de resistencia. Existe una clasificación más de las fibras musculares de contracción rápida, hecha gracias a la actividad de la enzima ATPasa de la miosina y la velocidad en la cual existe el acortamiento muscular, de esta forma se denominaron dos poblaciones más de fibras (2A y 2B), ambas poblaciones tienen un alto contenido de enzimas glucolíticas y que dentro de éstas hay unidades motoras fatigables rápidas que normalmente están compuestas por fibras de tipo 2B y resistentes a la fatiga (Schiaffino & Reggiani, 2011).

1.2 Músculos del piso pélvico femenino

Las funciones reproductivas femeninas se llevan a cabo una gran cantidad de procesos, tales como: ovulación, fertilización, embarazo, parto, y no reproductivos, como la continencia y expulsión de orina. Todas estas funciones del aparato reproductor femenino tienen como sustrato al área pélvica y perineal con su intrincada red de nervios, músculos, vasos, tejido conectivo y vísceras (Birder y cols. 2010).

El suelo pélvico es una estructura muscular y de tejido conectivo que da soporte y suspensión a estructuras de la pelvis y el abdomen. En la mujer, los órganos pélvicos se pueden dividir en tres compartimentos: anterior (vejiga y uretra), medial (útero, vagina) y posterior (recto, ano y el esfínter); estos órganos están íntimamente relacionadas con los músculos del piso pélvico (Katya Carrillo & Antonella Sanguineti, 2013). El componente muscular más prominente del piso pélvico es el complejo muscular elevador del ano (LAM), que cubre la mayor parte de la superficie pélvica.

El LAM y otros músculos del piso pélvico corresponden a un grupo de músculos estriados que forman una estructura similar a una “hamaca” para los órganos de la pelvis (Katya Carrillo & Antonella Sanguineti, 2013). Participan en el sostenimiento de la vejiga, el útero, el recto y, junto con los esfínteres anales, tienen un papel importante en la regulación, almacenamiento y evacuación de la orina y heces, lo requiere la coordinación de los componentes viscerales y somáticos (Bharucha 2006).

El LAM está compuesto a su vez por los músculos (de medial a lateral) puborrectal, iliococcígeo y pubococcígeo. En la parte más distal se localizan los músculos perineales como el transversal del periné, el bulboesponjoso y el isquiocavernoso (Bharucha, 2006). Este conjunto de músculos estriados tiene la función de contener las vísceras pélvicas y participar de forma activa en procesos de micción, defecación, durante el coito, durante el proceso de parto (Bharucha 2006).

1.3 Los músculos del piso pélvico asisten la micción

La micción es un reflejo que permite el vaciamiento de la vejiga urinaria cuando ésta ha alcanzado su límite de llenado e involucra el almacenamiento progresivo de orina en la vejiga hasta que ésta alcanza su umbral, desencadenando un reflejo nervioso llamado reflejo de micción; la vejiga se contrae y la expulsión de la orina se produce a través de la uretra (Quintana y cols. 2009).

El almacenamiento de orina está bajo control voluntario y modulado por el centro de micción pontino. La vejiga cumple con el rango de llenado fisiológico de la misma (vacía hasta su capacidad, típicamente 500-600 ml) y se adapta al aumento del volumen urinario sin aumentar la presión. Esta distensión mecánica no tiene paralelo en ningún otro órgano y se logra mediante la función especializada del músculo liso del detrusor y la modulación neurológica. (Norton & Brubaker, 2006)

El mecanismo de continencia urinaria requiere de dos componentes principales: uno estructural que desempeña un papel de soporte físico al tracto urinario, integrado por la musculatura del piso pélvico y tejido conectivo; el neuromuscular formado por el nervio pudendo y el esfínter uretral externo (Gill y cols., 2010). Las inserciones fasciales conectan el tejido periuretral y la pared vaginal anterior con el arco tendinoso en la pared lateral

pélvica, mientras que las inserciones musculares conectan el tejido periuretral con el borde medial del elevador del ano. El soporte uretral es proporcionado por una acción coordinada de la fascia y los músculos que actúan como una unidad integrada bajo control neural (Herschorn, 2004). Este soporte músculo-fascial proporciona una hamaca sobre la que se comprime la uretra durante los aumentos de la presión intra abdominal. La falla de uno de los componentes de soporte no producirá invariablemente incontinencia de esfuerzo, debido al efecto compensador del otro componente (Herschorn, 2004).

La incontinencia urinaria (IU) es causada por una alteración en la función de almacenamiento y ocasionalmente en la función de vaciado del tracto urinario inferior. (Norton & Brubaker, 2006). Se define como la queja de cualquier pérdida involuntaria de orina (Abrams y cols. 2003). La Sociedad Internacional de Continencia define dos tipos principales de IU: la incontinencia de esfuerzo (SUI) definida como la queja de fuga involuntaria de orina asociada con tos, estornudos o esfuerzo físico; y la incontinencia urinaria de urgencia (IUU) caracterizada por la fuga involuntaria que puede presentar diferentes síntomas como pequeñas pérdidas frecuentes entre micciones o como una fuga incontrolable con vaciamiento completo de la vejiga (Abrams y cols. 2003). También se puede presentar la incontinencia mixta un tipo de afección en donde la fuga involuntaria está asociada a ambos tipos de incontinencia (Abrams y cols. 2003). Estas disfunciones a menudo surgen durante el embarazo o el parto (Aoki y cols. 2017) aunque existen otros factores que facilitan la presencia de incontinencia urinaria como la edad, sexo, obesidad y el número de partos (Wilson y cols. 1996). En México la IU constituye un problema médico y social importante; que deteriora significativamente la calidad de vida de los pacientes, limita su autonomía y reduce su autoestima (Secretaría de Salud 2009).

En un estudio realizado por Velázquez-Magaña y colaboradores (2007), en el que determinaron la prevalencia de incontinencia urinaria en 800 mujeres entre los 20 y 80 años de edad en la ciudad de México, se encontró que la prevalencia de IU fue del 46.5%; las mujeres que cursaban con esta patología se registraron con un mayor número de embarazos y partos en comparación con las mujeres continentales. Martínez-Espinoza y colaboradores en (2006) investigaron la frecuencia de IU en la zona metropolitana de Guadalajara a través de un estudio en donde participaron 352 mujeres entre 15 y 85 años, y reportaron que la

prevalencia de desarrollo de incontinencia por cada 100 personas fue de 27.8%; el tipo más frecuente fue la SUI (58%), y la multiparidad fue reportado como un perfil de riesgo.

1.4 Alteraciones en músculos del suelo pélvico femenino

Las mujeres experimentan una serie de cambios fisiológicos y anatómicos para la adaptación y respuesta a la demanda que la gestación representa (Willians, Cunningham Gary, 2011). La evolución favorable del embarazo requiere una adaptación anatómica, a nivel del sistema musculoesquelético; el aumento en el peso gestacional, debido al agrandamiento del útero, aumento del volumen sanguíneo, adaptación del feto en crecimiento y la retención de líquidos altera el patrón de carga en las estructuras musculoesqueléticas (Ireland & Ott, 2000; Talbot & Maclennan, 2016). El embarazo y el parto causan traumas mecánicos en el piso pélvico que muchas veces suelen ser irreversibles (Bortolini y cols. 2010). Durante el parto, el paso de la cabeza del feto provoca alteraciones significativas en los músculos del piso pélvico (Bortolini y cols. 2010). Las fibras musculares de la porción medial del músculo pubococcígeo se estira ~3.26 más que otros músculos del piso pélvico durante la expulsión del feto, superando en un 217% el estiramiento de los músculos en condiciones no gestantes (Lien y cols. 2004).

Existen alteraciones mecánicas o metabólicas que pueden dañar la función del músculo. Las lesiones musculares agudas pueden ocurrir durante el uso de los músculos y son atribuibles a las condiciones de carga que se aplican al músculo que exceden la capacidad de este (Tidball 2011). Una lesión muscular se define de acuerdo con índices fisiológicos o morfológicos y se expresa cuantitativamente como disminuciones en la producción de fuerza o alteraciones en la estructura miofibrilar normal. Implica un desequilibrio entre la degradación y la síntesis de proteínas, comúnmente favoreciendo la degradación, que ocasiona una pérdida de proteínas miofibrilares y, consecuentemente, la reducción del área transversal de la fibra y alteraciones en la contractilidad muscular que conduzca a una fuerza muscular reducida (Costamagna y cols. 2015). Por otro lado, las lesiones musculares también implican procesos inflamatorios que pueden influir en la recuperación subsecuente.

1.5 Respuesta inflamatoria

Cuando las barreras externas de la inmunidad innata como la piel y otras capas epiteliales quedan dañadas, se da paso a respuestas innatas resultantes a una infección o daño en el tejido que pueden inducir una cascada de eventos que conocemos como respuesta inflamatoria (Owen y cols. 2014). En función de su duración, la inflamación puede dividirse dependiendo su duración en aguda (con efectos a corto plazo que contribuyen a la reparación como por ejemplo de un tejido), o crónica (a largo plazo, que no se resuelven), y que pueden generar el desarrollo de enfermedades (Owen y cols. 2014). Aunque se trate de un proceso de inflamación estéril (daño tisular en condiciones libres de patógenos), como las lesiones deportivas, la respuesta inflamatoria que se desencadena también implica el reclutamiento coordinado de células inmunes hacia el sitio de lesión (Duchesne y cols. 2017). La respuesta inflamatoria incluye dos fases principales: la fase proinflamatoria, donde los leucocitos se infiltran en el área lesionada y señalizan mediante moléculas pro-inflamatorias (p.ej. IFN-gamma, TNF-alpha e IL-6). En la subsecuente fase anti-inflamatoria o fase restauradora, las células y moléculas involucradas favorecen procesos como la cicatrización (piel, corazón) o regeneración (músculo esquelético) (Chazaud, 2020; Fig.1).

La lesión induce a una alteración en la integridad de los vasos sanguíneos, activando así la cascada de coagulación sanguínea que se sabe es el punto de partida del proceso inflamatorio, liberando proteínas y moléculas intracelulares que normalmente se encuentran en la matriz extracelular, éstas activan a células residentes para que migren al sitio de lesión (Chen & Nuñez, 2010). Una de las principales funciones de los mediadores tempranos de la inflamación es aumentar la vasodilatación, la permeabilidad vascular y la expresión de moléculas de adhesión que permitan la infiltración de células inflamatorias al sitio de lesión desde la circulación sanguínea (Owen y cols. 2014). Los neutrófilos son las células inmunitarias más abundantes y las primeras en ser reclutadas en el sitio de la lesión, con números que disminuyen después de las 24 h, a partir de las 48 h después de la lesión, el reclutamiento de macrófagos aumenta (Tidball 2011). Un estudio en ratones, en el 2007, reveló que el músculo tibial anterior lesionado recluta macrófagos que exhiben un perfil

proinflamatorio que ayudan a la fagocitosis y que rápidamente se convierten en macrófagos con un perfil antiinflamatorio estimulando el crecimiento de fibras (Arnold y cols. 2007).

La reparación y regeneración muscular que siguen a una lesión o enfermedad requiere que el músculo restablezca primero la homeostasis después de la perturbación dañina y luego restaure las capacidades estructurales y funcionales normales del tejido (Tidball 2011). Esta resolución es un proceso activo que involucra interacciones celulares y moleculares que, en el caso del músculo esquelético, involucra la activación y diferenciación de células satélite (Callewaert y cols. 2007). Las respuestas inmunes relacionadas con la gestación y el parto, moduladas por moléculas endógenas como factores de crecimiento, citocinas, sustancias quimiotácticas o exógenas, pueden resultar blancos farmacológicos para intervenir algunos trastornos del piso pélvico femenino. Por ello, es de interés evaluar la participación de moléculas con potencial neuromodulador como el yodo molecular (Aceves y cols. 2021). La respuesta inmune asociada con la fase pro-inflamatoria es decisiva para la recuperación de la lesión muscular (Callewaert 2007).

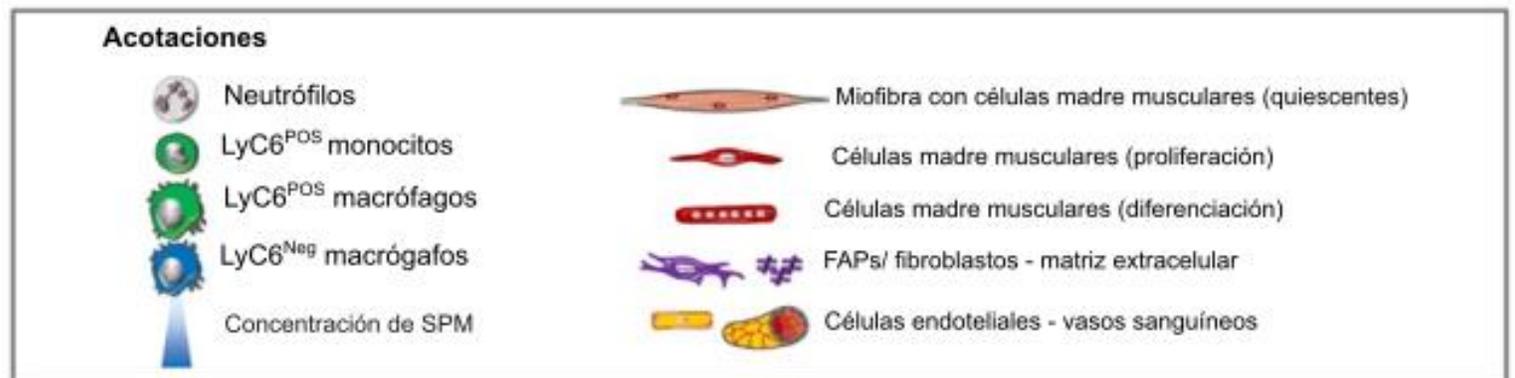
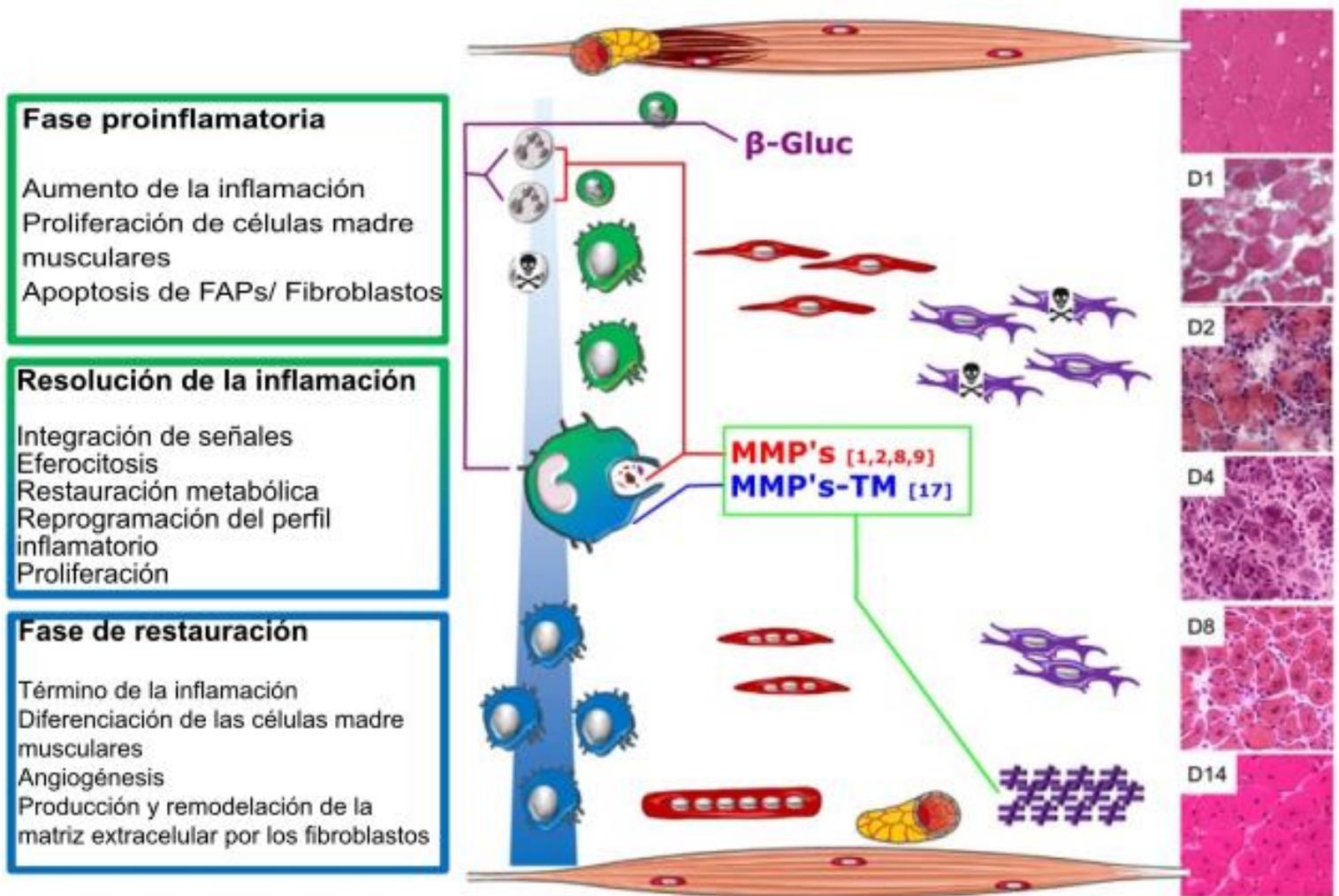


Figura 1. Descripción de la respuesta inflamatoria a través de cortes histológicos de corazón dañado por una cardiotoxina (Modificado de Chazaud, 2020).

1.6 Yodo con efecto inmunomodulador

El yodo es un micronutriente esencial para la biosíntesis de las hormonas tiroideas y el posterior funcionamiento adecuado de las vías metabólicas de todos los órganos del cuerpo (Aceves y cols., 2021). La concentración total de yodo en el cuerpo humano está en el rango de 30 – 50 mg y menos del 30% se encuentra presente en la tiroides y tiene un papel hormonal; sin embargo, una cantidad significativa de yodo, cerca del 60-80%, se concentra en tejidos extra tiroideos en donde se empieza a comprender su función biológica (Aceves y cols., 2005). Aunque la captación principal de yodo tiene lugar en la tiroides, muchos otros órganos lo captan, incluidos las glándulas salivales, mucosa gástrica, glándula mamaria lactante, sistema nervioso, plexo coroideo, cuerpo ciliar del ojo, glándula lagrimal, timo, piel, placenta, ovario, útero y puede mantener o perder esta capacidad en condiciones patológicas (Aceves y Anguiano, 2009; Aceves y cols., 2021; Fig.2).

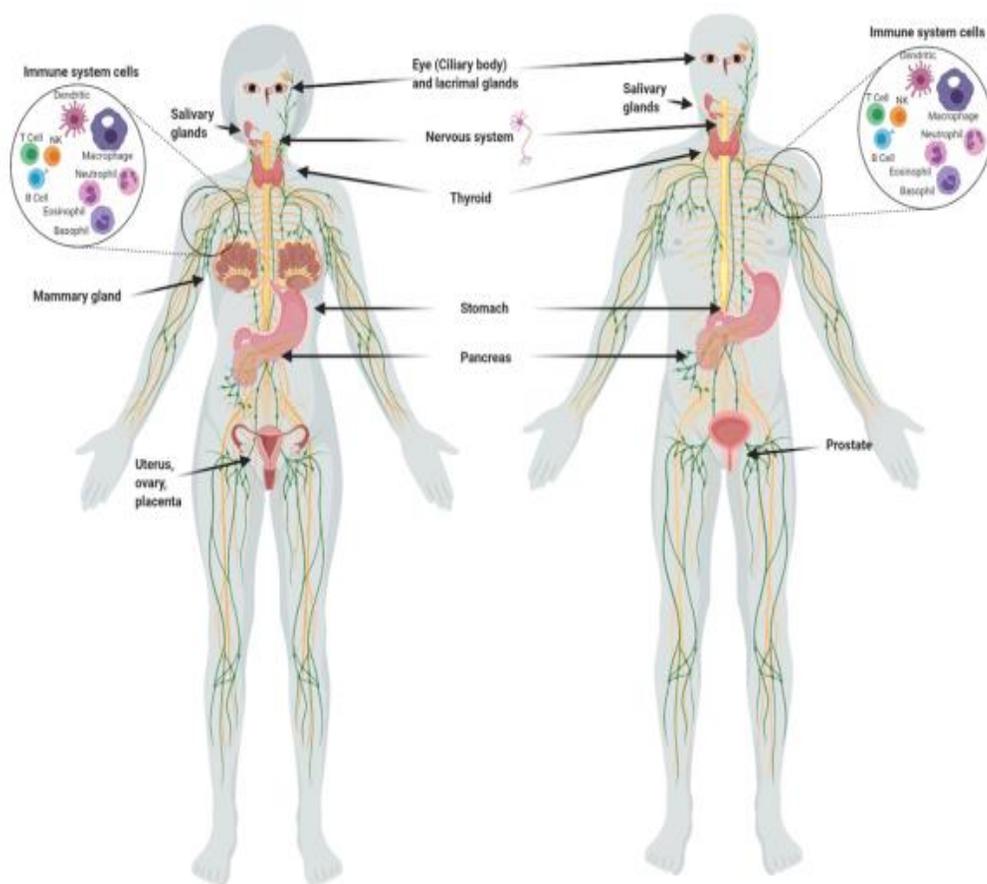


Figura 2. Órganos y tejidos que absorben yodo (Aceves y cols. 2021).

Thrall y Bull (1990) demostraron que la distribución y la absorción del yodo en ratas Sprague- Dawley depende de la forma química en el que este se encuentre. El sistema de transporte de yoduro (I^-) en muchos tejidos extra tiroideos implica la expresión del simportador de yoduro de sodio (NIS) o el intercambiador aniónico pedrina (PDS), aunque también hay reportes sobre la participación de otros transportadores, incluidos anoctamina 1 (ANO1) capaces de captarlo (De La Vieja & Santisteban, 2018). El yodo molecular (I_2) es captado por un mecanismo que tiene una alta afinidad y velocidad, dependiente de la síntesis de proteínas y sin requerimientos energéticos, lo que sugiere que el transporte de esta molécula sea por difusión facilitada (Küpper y cols., 1998).

En poblaciones asiáticas, que consumen alimentos con grandes cantidades de yodo, existe una baja incidencia de cáncer y se ha demostrado que este micronutriente tiene efectos antioxidantes (Aceves y cols, 2021). Por lo anterior, Alfaro y colaboradores (2013) evaluaron la adyuvancia antineoplásica del yodo molecular bajo la administración de doxorrubicina, un medicamento de primera elección para el tratamiento de cáncer de mama que ocasiona efectos adversos en la función cardíaca. La suplementación con yodo molecular tuvo un efecto cardioprotector revelado por la reducción de los niveles séricos de creatina quinasa y la lipoperoxidación del músculo cardíaco (Alfaro y cols., 2013). Por otro lado, Quintero y colaboradores (2018), a través de un estudio en un modelo de hiperplasia prostática, demostraron que la suplementación con yodo molecular en el agua de bebida previno el crecimiento epitelial y redujo el estrés oxidativo inducido por las altas concentraciones de testosterona, posiblemente debido a las acciones inhibitorias sobre la vía de la ciclooxygenasa y el óxido nítrico (Quintero-García y cols. 2018).

Bilal y colaboradores (2017) observaron que en la superficie de los leucocitos se expresan transportadores de yoduro capaces de desplazar la expresión de citocinas pro- hacia anti-inflamatorias (Bilal y cols. 2017). Por otro lado, el yodo molecular activa la respuesta Th2 y el aumento de secreción de citocinas como IL-6, IL-10 o IL-8, ayudando a promover la activación y diferenciación de linfocitos T reguladores y macrófagos anti-inflamatorios (Aceves y cols. 2021; Fig.3). Se ha descrito que cantidades pequeñas de yodo pueden tener una actividad fisiológica importante. El suplemento de yodo molecular (3-6 mg/día) en

pacientes con enfermedad fibroquística de mama se acompaña de remisión de los síntomas, así como efectos antiinflamatorios significativos (Aceves y cols., 2021).

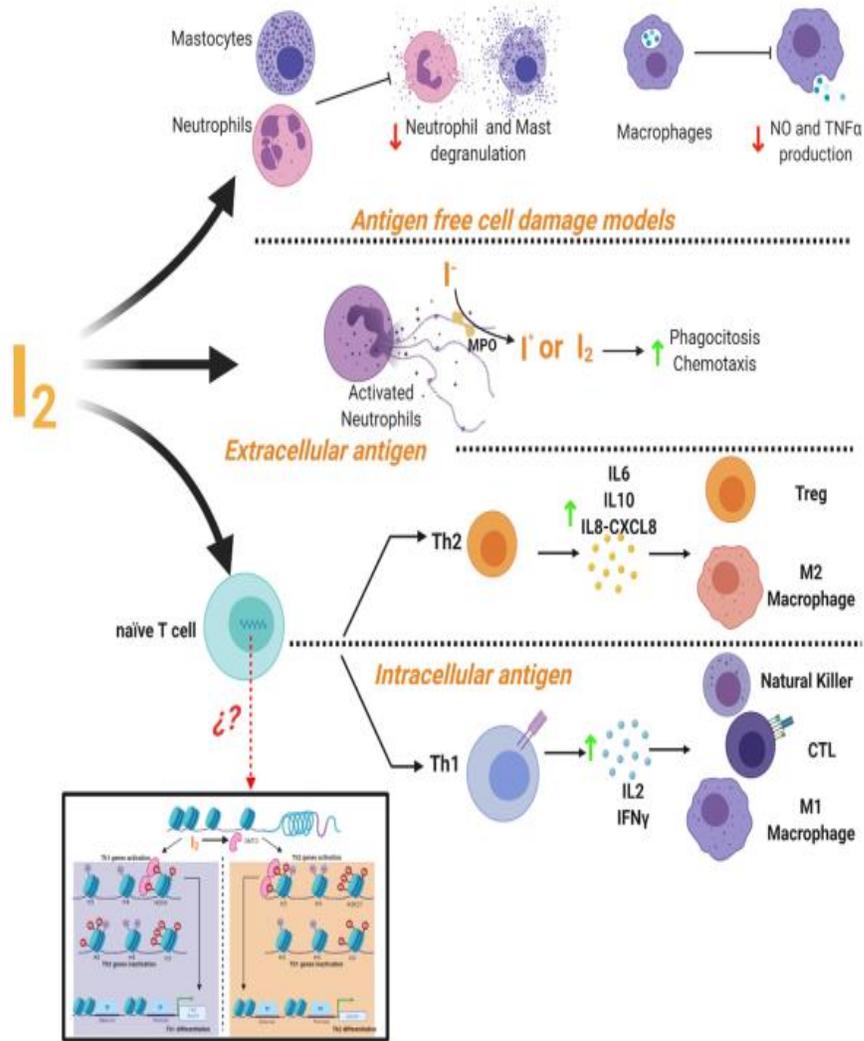


Figure 3. Mecanismos inmunomoduladores del yodo molecular (Aceves y cols., 2021).

2.ANTECEDENTES

2.1 La rata como un organismo modelo para estudiar el suelo pélvico femenino

Para poder entender la fisiopatología de muchas enfermedades y poder dilucidar los tratamientos, técnicas o métodos, se han utilizado animales en experimentación, aunque muchos de ellos no pueden simular con total precisión una patología o el efecto de algún tratamiento en el ser humano. A través de diversos estudios, se compararon los posibles modelos animales que se pueden utilizar para ampliar nuestra comprensión sobre la incontinencia urinaria y permitir de igual manera pruebas preclínicas de posibles tratamientos. La rata de laboratorio es una de las especies más utilizadas debido a su costo de mantenimiento y disponibilidad (Martinez-Gomez y cols., 2012).

En la rata hembra, el músculo pubococcígeo forma una capa laminar gruesa y con forma triangular que tiene origen en el borde ventromedial de los huesos del pubis; es el músculo pélvico más extenso del piso pélvico y sus fibras musculares comienzan a insertarse en la cara interior de la sínfisis de la pelvis (Poortmans & Wyndaele, 1998) (Fig.4). A diferencia de la mujer y la coneja doméstica (Cruz y cols, 2010), el pubococcígeo de la rata hembra está constituido principalmente por fibras de contracción rápida (Cruz y cols, 2010). Por otro lado, las fibras del músculo iliococcígeo se anclan desde el hueso iliaco a las apófisis coccígeas y sus miofibras corresponden también a las de contracción rápida (Cruz y cols, 2010) (Fig.1). La función de ambos está relacionada íntimamente con el movimiento de la cola (Poortmans & Wyndaele, 1998).

Alperin y colaboradores (2014) compararon la arquitectura de los músculos del suelo pélvico del humano con los músculos pélvicos de la ratona, la rata y la coneja, usando un índice de diferencia arquitectónica (ADI). Calculado a partir de la longitud del músculo, la longitud de la fibra, el área de sección transversal fisiológica y la longitud del sarcómero, y considerando que un ADI pequeño refleja una mayor similitud entre los músculos de cualquiera de esas especies y la mujer, se encontró que músculos como el coccígeo, ilio- y pubococcígeo de la rata son los más similares a los de la mujer (Alperin y cols. 2014).

2.2 Efectos de la gestación en los músculos del piso pélvico

Se cree que las vías por las que el parto conduce a trastornos del piso pélvico son multifactoriales y que pueden estar asociados los daños en nervios, tejido conectivo y músculos, para demostrar estas alteraciones existen diversos estudios que ayudan a entender como el parto conlleva a distintas adaptaciones en la anatomía y fisiología del animal. Ciertamente, la gran mayoría de los estudios en la rata se han dirigido a evaluar las alteraciones en el esfínter externo de la uretra (o rabdo esfínter uretral) (Herrera-Imbroda y cols. 2015), y escasamente se han dirigido a músculos pélvicos como el ilio- y pubococcígeo. Aunque diversas especies se han utilizado para abordar la relación entre estructura y función de músculos pélvicos femeninos, es común que la información de estudios de ciencia básica provenga de modelos establecidos en la coneja (Martínez-Gómez y cols. 2011, López-García y cols. 2013, 2016, 2017; Castelán, López-García y cols. 2018; López-Juárez y cols, 2018; Sánchez-García y cols. 2019; Corona-Quintanilla y cols. 2020; Hernández-Reynoso y cols. 2021; Hernández-Bonilla y cols. 2022) y la rata.

La simulación del trauma de parto es uno de los modelos más utilizados en la rata (Hijaz y col. 2008; Abramowitch y cols. 2009; Palacios y cols. 2016). Implica un estiramiento excesivo de músculos del piso pélvico inducida por una distensión vaginal que excede entre 2 y 4 veces la duración del parto (Hudson y cols.1999); ciertamente, simula con suficiencia la segunda etapa del trabajo de parto y, aún, los partos distócicos. Entre sus principales ventajas se encuentran la anatomía de la pelvis de la rata (Sheth y cols, 2019), la distensión vaginal controlada en su totalidad, lesiones musculares muy reproducibles, y un período postparto bastante uniforme para evaluar procesos inflamatorios y anti-inflamatorios, así como la contractilidad muscular. La principal desventaja implica la nula posibilidad de evaluar las adaptaciones plásticas desencadenadas por el estado hormonal de la gestación y el postparto (Lowder y cols. 2007). El aplastamiento o la denervación de músculos del piso pélvico, especialmente del nervio pudendo, es una aproximación utilizada frecuentemente para evaluar las alteraciones neuromusculares; en algunos casos, tal estrategia se realiza en combinación con la simulación del trauma de parto (Damaser y cols. 2003). Una proporción importante de los estudios realizados simulando el trauma de parto no ha tenido en cuenta la fase del ciclo estral de las ratas (Castelán y cols. 2020), mientras que los realizados en ratonas indican que no sería importante (Huang y cols. 2014). Por otro lado, los estudios que utilizan

organismos gestantes y/o lactantes favorecen la evaluación de músculos del piso pélvico bajo las condiciones fisiológicas de la gestación, el parto y la lactancia. Sin embargo, ello también implica una alta variabilidad en condiciones como el número de crías, consumo de alimento y metabolismo energético, duración del parto, entre muchas otras. Resulta evidente que el conocimiento sobre la estructura y función de músculos pélvicos en animales de experimentación se ha analizado en función de estados fisiológicos y extra-fisiológicos, complementado en ocasiones con evidencia proveniente de músculos de las extremidades.

La simulación de trauma de parto causa signos de edema e incrementa la proporción de fibras de contracción lenta (I/II) en el LAM, y reduce la proporción de músculo (estriado y liso en el esfínter uretral) en ratas que han tenido varios partos (Lin y cols. 1998). Algunos de estos signos, como el edema, aparecen dentro de las 24 h posteriores al procedimiento; otros se aprecian 4 semanas después (Lin y cols. 1998). El peso húmedo y el área transversal de la fibra del LAM se encuentran reducidas 3 semanas después de la denervación bilateral del nervio pudiendo, y un efecto similar se reporta para el esfínter externo de la uretra, lo que sugiere que un sugieren una atrofia muscular en el postparto (Yang y cols. 2020,).

Alperin y colaboradores (2015) determinaron las adaptaciones que el parto inducía en músculos del piso pélvico de ratas Sprague-Dawley, vírgenes, gestantes y posparto en la musculatura, a través de los principales parámetros arquitectónicos que determinan la excursión muscular y la capacidad de generar fuerza, longitud de la fibra, área de sección transversal fisiológica y la longitud del sarcómero, encontrando que la gestación indujo un aumento en la longitud de todos los músculos, lo cual demostró que el embarazo induce adaptaciones únicas en la estructura de los músculos del piso pélvico (Alperin y col., 2015). Posteriormente, el mismo grupo de investigación determinó si el embarazo era capaz de alterar las propiedades mecánicas y bioquímicas de la matriz extracelular de los músculos del piso pélvico (Alperin y cols., 2016). Los hallazgos reportados mostraron que los ajustes en la matriz extracelular de los músculos pélvicos son los responsables en la disminución de la tensión muscular, favoreciendo el parto y otorgando una protección parcial a las lesiones musculares asociadas (Alperin y cols., 2016).

En nuestro grupo de trabajo se han observado signos histopatológicos de daño muscular (p.ej. fibras con edema, infiltración de células polimorfonucleares, necrosis focal)

en en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo, aunque solo los del primero asocia con indicadores de daño bioquímico en el día 20 postparto (Xochitemol Nava 2021; Rugerio Zontecomani, 2022; Rodríguez-Jaimes 2023). De manera relevante, tales hallazgos coinciden con una reducción de la fuerza de contracción del músculo iliococcígeo (Rodríguez-Jaimes 2023). No obstante los hallazgos de otros grupos y los nuestros, algunas variables inflamatorias aún tienen que abordarse con más detalle en modelos fisiológicos (Yoshikawa y cols., 2017), como el de la rata primípara, como se ha hecho recientemente para los modelos que simulan el trauma de parto (Duran y cols. 2023; Sesillo y cols. 2022).

2.3 Marcadores bioquímicos de daño muscular

Lopez-García y colaboradores en 2016 determinaron la amplitud del daño asociado a la multiparidad en un modelo de coneja, en donde a través de la actividad de la enzima β -glucuronidasa, se obtuvieron los músculos pubococcígeo y bulboesponjoso de 20 conejas de 6 meses de edad (nulíparas y multíparas), sacrificadas a los 3 días postparto y 20 días postparto para el caso de las conejas multíparas en donde observaron una diferencia entre la actividad de la enzima entre los días 3 y 20 postparto pero únicamente en uno de los dos músculos, el pubococcígeo (López-García y cols. 2016).

Este estudio fue relevante para observar que puede existir un daño en la musculatura asociado a los partos, por lo que se inició la investigación para los animales que solo hubieran tenido un parto y las que no experimentaran gestación. Sánchez-García, Hernandez-Aragón y cols. (2019) compararon los daños en los músculos del piso pélvico (pubococcígeo y bulboesponjoso) de conejas nulíparas, primíparas y en gestación tardía, a través de la actividad de la enzima β -glucuronidasa como marcador directo del daño que existe en estos tejidos, medición del área transversal de la fibra para obtener información sobre la fuerza contráctil de la musculatura, se observó que efectivamente existían diferencias significativas entre los grupos que se analizaron para los parámetros evaluados, para el caso de la actividad de la enzima β -glucuronidasa observaron una diferencia en el músculo bulboesponjoso pero no así en el pubococcígeo, lo grupos que obtuvieron una mayor actividad fueron las gestantes a comparación con las nulíparas y las primíparas, pero de igual forma para el grupo de las

primíparas evaluadas a los 3 días postparto la actividad fue mayor en comparación a las que fueron evaluadas a los 20 días postparto o las nulíparas.

2.4 Efecto del yodo sobre el músculo esquelético

A diferencia de la absorción de yoduro que requiere de transportadores como el NIS, la absorción gastrointestinal del yodo molecular ocurre mediante difusión pasiva (Patrick, 2008; Aceves y cols., 2013). Sin embargo, la absorción de yodo molecular es saturable y dependiente de la síntesis de proteínas en tejidos como la glándula mamaria (Arroyo-Helguera y cols., 2006). Thrall & Bull en 1990 demostraron que la distribución y la captación del yodo en ratas Sprague- Dawley depende de la forma química en el que este se encuentre (Thrall & Bull, 1990).

La acumulación de yodo ha sido abordada en músculo esquelético de seres humanos y otras especies de mamíferos, entre ellas la rata (Carr y Riggs, 1953, Ullberg and Edwaldsson, 1964, Kirchgessner y cols., 1999, Schöne y cols., 2006,; Kursá y cols., 2010,; Pilarczyk y cols., 2019,). En comparación con el contenido reportado para tejidos como las glándulas salivales y lacrimales y la mucosa intestinal, entre otros, el yodo acumulado en músculos es bastante menor (Carr y cols., 1999). Sakar y colaboradores (2019) analizaron las alteraciones derivadas de suplementar, durante 60 días, una dosis 500 veces mayor al consumo recomendado de yoduro sobre alteraciones metabólicas en la rata (Sarkar y cols., 2019,). En el músculo cardíaco y el esquelético se encontró un incremento del contenido de yodo muscular y glucosa sérica, una reducción del glucógeno muscular, y un diámetro de miofibras reducido, entre otras alteraciones histológicas sugerentes de daño muscular (Sarkar y cols., 2019,). Ciertamente, la reducción de los niveles séricos de T3 y el incremento de la T4 no permiten separar los efectos de un estado hipotiroideo (Sarkar y cols.,2019,). Las acciones de hormonas tiroideas son fundamentales para el músculo esquelético (Salvatore y cols., 2014,). En la coneja se conoce que músculos del piso pélvico como el bulbosponjoso, iliococcígeo y el pubococcígeo expresan los receptores de hormonas tiroideas ($TR\alpha$, $TR\beta$) y de la tirotrópina (TSH, TSHR) (Sánchez-García y cols., 2016, 2018; Rodríguez-Castelán y

cols., 2017). Además, el hipotiroidismo farmacológico inducido por metimazol daña la organización histológica y la actividad refleja del bulboesponjoso y el pubococcígeo durante el reflejo de micción (Sánchez-García y cols., 2016, 2018; Rodríguez-Castelán y cols., 2017). Los hallazgos anteriores han contribuido a conocer la relación entre trastornos tiroideos e incontinencia urinaria en la clínica (Minasian y cols., 2008; Cuevas-Romero y cols., 2017).

2.5 Papel del yodo sobre la respuesta inflamatoria

El yodo ejerce acciones importantes sobre el sistema inmunológico, ya que muchas de las células tienen la capacidad de metabolizar y dependiendo del contexto celular puede actuar como inhibidor o activador de la respuesta inmune (Aceves y cols., 2021). Su efecto en el sistema inmunológico y en la respuesta inflamatoria se debe en gran medida a su acción antioxidante; el yodo actúa neutralizando las especies reactivas de oxígeno o como un radical libre capaz de yodar a la tirosina, histidina y los dobles enlaces de los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares, haciéndolos menos reactivos (Gärtner, 2009; Smyth, 2003). Algunos de los efectos antioxidantes pueden ocurrir a través de la señalización mediante el factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide (NRF2), capaz de inducir al alza la transcripción de genes como los de la catalasa y SOD (Aceves y cols., 2021). Otro blanco inflamatorio de interés es el factor de necrosis tumoral tipo alfa (TNF α), una de las citocinas que caracterizan la respuesta inflamatoria tisular.

3. Justificación

Existen estudios del papel del yodo en los procesos antiinflamatorios en los diversos órganos extra tiroideos. Se ha descrito un efecto protector del I₂ en el músculo cardíaco en presencia del cancerígeno doxorrubicina, atenuando la generación de radicales libres y evitando el deterioro de las fibras cardíacas (Alfaro y cols. 2013). En este estudio nos interesa conocer el efecto que tendría sobre el proceso inflamatorio del postparto en el músculo estriado del piso pélvico, que es un componente relevante en enfermedades como la incontinencia urinaria. Aunado a lo anterior, y considerando las propuestas sobre una sensibilidad estrogénica en músculos del piso pélvico (Castelán y cols. 2020), el hallazgo que el I₂ modula la expresión funcional del receptor de estrógenos alfa en células de cáncer de mama (He y cols. 2018), incrementa nuestro interés por un efecto específico en músculos como el iliococcígeo y pubococcígeo.

4.Hipótesis

El yodo molecular tendrá un efecto preventivo en la respuesta inflamatoria en los músculos del piso pélvico durante el postparto en ratas primíparas y nulíparas

5.Objetivo

Evaluar el efecto preventivo del suplemento de I₂ en la respuesta inflamatoria posparto en músculos del piso pélvico de ratas primíparas.

5.1Objetivos particulares

En los músculos iliococcígeo y pubococcígeo de ratas nulíparas y primíparas, durante el día tres postparto

- Determinar el efecto del yodo molecular sobre indicadores bioquímicos de daño muscular.

6. Metodología

6.1 Animales

Se utilizaron 24 ratas hembra de la cepa Wistar de 2.5 meses de edad, alojadas en cajas de polipropileno (37 x 27 x 16 cm) y mantenidas en condiciones invertidas de luz oscuridad (L:D 12:12, encendido de luces a las 20.00 h), con acceso libre de agua y alimento. El Comité Institucional de Cuidado y uso de Animales de Laboratorio del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala aprobó los siguientes procedimientos.

6.2 Grupos experimentales

Al cumplir la edad establecida (2.5 meses para el grupo de nulíparas (N) y 3 meses para el grupo de primíparas (P)) se monitoreó la regularidad del ciclo estral durante dos semanas. Las ratas nulíparas recibieron aleatoriamente agua corriente (N; n=6) o 0.00005% yodo molecular (NI2, n=6) durante tres días. Al finalizar esta intervención las ratas N fueron sacrificadas con una sobredosis de pentobarbital sódico (120 mg/kg, i.p.). En cuanto a las ratas primíparas, al concluir la monitorización del ciclo estral se procedió a alojarlas por 24 h, e individualmente, con un macho experto de la colonia para que ocurriera la cópula (día 0 de gestación). El día del parto, identificado por el hallazgo de las crías en la caja materna, se asignaron aleatoriamente bebederos con agua corriente (P; n=6) o con 0.00005% (250 ug/rata) de yodo molecular (PI2, n=6). Tres días después las ratas del grupo P fueron sacrificadas con una sobredosis de pentobarbital sódico (40 mg/kg, i.p.).

6.3 Obtención de muestras biológicas

Los animales fueron sacrificados mediante punción cardiaca, previamente se anestesiaron con pentobarbital sódico vía intraperitoneal (40 mg/kg). Después se realizó una

incisión longitudinal de unos 3 cm de longitud en la piel sobre la línea media a la altura de la cavidad pélvica y perineal. Se removió el tejido adiposo, así como los huesos del isquion y el pubis, se identificaron los músculos iliococcígeo y pubococcígeo y estos fueron disecados. El día del sacrificio se registró el peso corporal. El peso húmedo y las dimensiones de los músculos ilio- y pubococcígeo se hizo una vez que se extrajeron. Se obtuvo sangre por punción cardíaca; una vez coagulada a temperatura ambiente, se centrifugó a 10000 rpm durante 15 minutos para obtener el suero. El material obtenido se congeló y almacenó a -80° C hasta su procesamiento para las pruebas bioquímicas.

6.4 Niveles de glucosa sérica

Para la cuantificación de glucosa se realizó usando un kit comercial de la marca Licon y se siguieron las instrucciones del inserto que el fabricante proporcionó; se utilizó un espectrofotómetro a una absorbancia de 492 nm.

6.5 Determinación de la actividad del β -glucuronidasa

El músculo completo se rompió utilizando un homogenizador electrónico (Tissue Tearor, BioSpec Products, Inc) en un tampón de lisis (Tris-HCl 20mM pH de 7.4, glicina 100mM, NaCl 100mM, Triton X-100 al 0.1%, 1 mM fluoruro de fenilmetilsulfonilo, DL-ditiotreitol 1mM) añadido a un cóctel inhibidor de proteasa (Sigma-Aldrich, México). Los homogeneizados se centrifugaron a 19900 xg durante 30 min a 4°C en una centrífuga refrigerada (Legend Micro 21 R, Thermo Scientific). El sobrenadante fue recogido y se midió la concentración proteica a través del método de Bradford.

La cuantificación del β -glucuronidasa se realizó como hemos descrito anteriormente (Sánchez-García y col., 2019). Se colocaron 150 μ L de buffer de acetato (100 mM a pH 4.2) en un tubo eppendorf y se adicionaron 16.6 μ L del extracto de músculo. Esto se mezcló en el vórtex durante 10 segundos para posteriormente incubarlo durante 5 min en una incubadora a 37°C. Después de la incubación se le adicionó 83.3 μ L del sustrato (5 mM p-nitrofenil- β -

D-glucurónido). Esta mezcla se incubó durante 18 h a 37°C en una estufa. Terminada la incubación se añadieron 500 ul de buffer de glicina fría (0.1 M pH 10) para detener la reacción y se centrifugó a 3500 rpm durante 10 min a 4°C. Posterior a esto la mezcla se cuantificó a 420 nm en un espectrofotómetro. Se utilizó como control tejido de hígado, el cual se conoce tiene altas concentraciones de la enzima. Los datos se llevaron a una curva estándar de p-nitrofenol previamente realizada y la actividad será reportada como mM·s·kg de proteína.

6.6 Determinación de glucógeno

Se colocaron dos juegos de tubos eppendorf , el primer juego de tubos son para el extracto que se hizo con ambas soluciones: hidróxido de sodio (NaOH) y ácido clorhídrico (HCl). Se roturaron el número de tubos de acuerdo a la cantidad de muestras más el control, la primera solución de NaOH, se realizó el mismo procedimiento, pero con la leyenda HCl. El segundo juego de tubos se utilizó para recolectar el sobrenadante posterior a la hidrólisis, fueron 4 tubos por músculo ya que las muestras se corren por duplicado. El músculo que se encontraba congelación a -80°C, se seccionó en dos partes iguales y cada parte se pesó en la balanza analítica, al primer grupo de tubos rotulados se le agregaron 200ul de HCl o NaOH al 2M, se trituraron los músculos perfectamente con ayuda de un pistilo, una vez homogeneizados los músculos se sellaron con Parafilm los tubos y se colocaron en agua hirviendo durante una hora y cada 10 min se agitaron, posteriormente se centrifugaron a 10000rpm durante 5 min. En el sobrenadante obtenido, colocamos 30ul para cada tubo rotulado del segundo juego de tubos y se le añadieron 300ul del reactivo del kit de glucosa, se homogeneizaron y se dejaron 5 minutos a temperatura ambiente y finalmente se leyeron en el espectrofotómetro

6.7 Inmunodetección en fase sólida (*Western blot*)

Este ensayo se realizó partiendo del protocolo descrito por Carrasco-Ruiz y col. (2018). El tejido se homogeneizó con un homogeneizador electrónico en buffer de lisis

(0.02M tris-HCl, pH 7.4, 0.1m NaCl, 0.1M glicina y Tx 0.1%) adicionado con un cóctel de inhibidores de proteasas (Sigma), 1 mM PMSF y 1 mM ditioneitol. Después se centrifugaron los homogeneizados obtenidos, 30 min a 15000 g a 4°C, se recuperó el sobrenadante y se determinó la concentración de proteínas mediante el método de Bradford. La separación electroforética de las proteínas se realizó utilizando geles de poliacrilamida y dodecil-sulfato de sodio (SDS-PAGE). Las proteínas se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa usando el sistema Mini Trans-Blot Cell (Bio-Rad) y posteriormente las membranas se incubaron con una solución de bloqueo para evitar uniones inespecíficas de los anticuerpos. Las membranas se incubaron durante 16-18 h a 4°C, con el anticuerpo primario (anti-TNF-alfa, Abcam (ab9739)) al término, se incubaron con un anticuerpo secundario acoplado a peroxidasa. Las bandas inmunorreactivas se revelaron utilizando un kit de quimioluminiscencia y la exposición de placas radiográficas a las membranas se midieron mediante densitometría con el programa ImageJ. Los resultados obtenidos fueron expresados en unidades arbitrarias, previa normalización contra la membrana teñida con rojo de Ponceau.

6.8 Análisis estadístico

Los datos son la media \pm error estándar de la media (EEM), a menos que alguna excepción se indique. La normalidad de los datos se inspeccionó con una prueba de Shapiro-Wilks. Para analizar las variables zoométricas y bioquímicas se utilizaron análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para muestras independientes. La primiparidad (P) y el consumo de yodo en el postparto (I) se establecieron como factores principales. Cuando la interacción entre ambos factores (P*I) resultó estadísticamente significativa ($p < 0.05$), se utilizó una prueba post-hoc de Tukey-Kramer para identificar las diferencias entre grupos. Si no, se reportaron los efectos atribuidos a los factores principales. El número de crías paridas entre los grupos P y P+I se comparó con una prueba de Mann-Whitney. Para llevar a cabo los análisis estadísticos anteriores y elaborar las gráficas correspondientes se utilizó el programa Prism 9 para Windows (GraphPad). Para analizar las variables bioquímicas se removieron los valores atípicos identificados como 1.5 veces menores que el cuartil inferior y 1.5 veces mayor que el cuartil superior. Se utilizaron pruebas de Spearman para realizar las

correlaciones presentadas. Para identificar los valores atípicos y llevar a cabo los análisis de correlación se utilizó el programa JASP (JASP Team, 2023).

7. Resultados

7.1. Zometría

La Tabla 1 presenta los datos descriptivos de las variables zométricas evaluadas y los resultados del análisis estadístico.

Tabla 1. Variables zométricas.

Variable	N	N+I	P	P+I	ANOVA de dos vías		
					P*I (F; p)	P (F; p)	I (F; p)
Peso corporal, g	246 ± 6	244 ± 5	276 ± 6	276 ± 14	0.7; 0.4	12.8; <u>0.0019</u>	0.02; 0.9
Glucosa sérica, mmol/L	11 ± 2.7	8.5 ± 1.6	5.4 ± 0.4	5.6 ± 0.3	0.4; 0.5	7.4; <u>0.0133</u>	0.5; 0.5
Número de crías paridas	NA	10.5 (7-13)	NA	10 (7-11)	NA	NA	NA
Iliococcígeo							
Peso húmedo, mg	133 ± 7	127 ± 7	153 ± 11	105 ± 9 ^{##}	5.4; <u>0.0301</u>	0.01; 0.9	9.5; <u>0.0059</u>
Ancho, mm	3.9 ± 0.1	3.8 ± 0.2	5.5 ± 0.5*	3.5 ± 0.2 ^{##}	8.2; <u>0.0095</u>	4.3; 0.0508	12.8; <u>0.0019</u>
Largo, mm	15.3 ± 0.6	15.7 ± 0.4	19.1 ± 0.6	17.2 ± 1.2	2.2; 0.1	11.4; <u>0.0030</u>	0.8; 0.4
Pubococcígeo							
Peso húmedo, mg	120 ± 8	105 ± 6	145 ± 4	126 ± 11	0.07; 0.8	8.7; <u>0.0078</u>	4.8; <u>0.0395</u>
Ancho, mm	4.2 ± 0.2	4.2 ± 0.1 ^{&&}	5.4 ± 0.3**	4.2 ± 0.3 [#]	6.4; <u>0.0201</u>	6.6; <u>0.0186</u>	6.1; <u>0.0231</u>
Largo, mm	16 ± 0.4	17 ± 0.8 ^{&}	20.5 ± 0.6**	17 ± 1 [#]	8.6; <u>0.0082</u>	11; <u>0.0035</u>	2.4; 0.1
EDL							
Peso húmedo, mg	103 ± 5	102 ± 2	98 ± 7	102 ± 2	0.3; 0.6	0.3; 0.5	0.04; 0.8
Ancho, mm	4.3 ± 0.1	4.1 ± 0.1 ^{&}	5.3 ± 0.5	4.9 ± 0.2	0.1; 0.7	9.4; <u>0.0061</u>	1.5; 0.2
Largo, mm	27.1 ± 0.6	26.5 ± 0.7	24.6 ± 1.5	25.9 ± 0.9	0.9; 0.3	2.5; 0.1	0.1; 0.7
Sóleo							
Peso húmedo, mg	115 ± 3	125 ± 4	150 ± 20	102 ± 2	2.6; 0.1	3.1; 0.1	0.4; 0.5
Ancho, mm	6.5 ± 0.1	5.8 ± 0.5	6 ± 0.3	6.3 ± 0.3	2; 0.1	0.02; 0.9	0.4; 0.5
Largo, mm	22.7 ± 0.3	23.5 ± 1.2	23.2 ± 0.6	23.7 ± 0.4	0.04; 0.8	0.3; 0.6	0; 0.3

Los datos son la media ± el EEM excepto para el número de crías paridas que indican la mediana (valor mínimo – máximo). Los datos se analizaron mediante ANOVA de dos vías; se presentan los valores de $F_{(1,20)}$ y p de la interacción primiparidad*consumo de yodo (P*I), primiparidad (P) y consumo de yodo (I), y las diferencias significativas están subrayadas. N vs. P: *, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$; N+I vs. P+I: #, $p < 0.05$, ##, $p < 0.01$; N+I vs. P: &, $p < 0.05$, &&, $p < 0.01$. NA, no aplica.

La primiparidad incrementó el peso corporal y redujo la concentración de glucosa sérica. El número de crías nacidas de las ratas P y P+I fue similar ($U(42,36) = 15, p = 0.3506$). El consumo materno de I_2 en los primeros tres días postparto disminuyó el peso y el ancho del iliococcígeo. Además, evitó el incremento significativo de su longitud. El peso húmedo del pubococcígeo del grupo P fue mayor que la del grupo N+I. En cambio, el consumo de I_2 en el postparto evitó el incremento significativo del ancho y la longitud del pubococcígeo asociado con la primiparidad. Con excepción del ancho del EDL, que se observó incrementado en las primíparas, no se encontraron cambios significativos en la morfometría de los músculos externos al suelo pélvico (Tabla 1).

Considerando el incremento en el peso corporal y la glucosa sérica de las ratas primíparas, ambas variables se utilizaron para condicionar una matriz de correlación entre el número de crías paridas (se asignó un cero a los grupos de nulíparas) y las variables morfométricas de cada músculo. Los resultados obtenidos sólo indicaron una correlación positiva entre el número de crías paridas y la longitud del músculo iliococcígeo (Tabla 2).

Tabla 2. Correlaciones parciales entre el número de crías paridas y las variables morfométricas de los músculos iliococcígeo, pubococcígeo, extensor largo de los dedos y sóleo.

	Peso húmedo	Ancho	Largo
<i>Iliococcígeo</i>	-0.167, 0.459	0.014, 0.952	<u>0.540, 0.01</u>
<i>Pubococcígeo</i>	0.287, 0.196	0.219, 0.327	0.208, 0.354
<i>Extensor largo de los dedos</i>	0.023, 0.921	0.365, 0.095	-0.211, 0.347
<i>Sóleo</i>	-0.169, 0.452	0.042, 0.853	0.232, 0.299

Correlaciones condicionadas por el peso corporal y la concentración de glucosa sérica. Los datos representan el coeficiente Spearman- ρ y el valor de p -entre paréntesis y separados por coma. El resultado estadísticamente significativo se destaca con subrayado.

7.2 Actividad del enzima β -glucuronidasa

La actividad del β -glucuronidasa se considera un parámetro de daño muscular. La primiparidad y el consumo de yodo afectaron significativamente la actividad del enzima β -glucuronidasa en los músculos iliococcígeo ($F_{(1, 19)} = 11.3$, $p = 0.0033$; $F_{(1, 19)} = 5.9$, $p = 0.0247$) y pubococcígeo ($F_{(1, 19)} = 7.4$, $p = 0.01365$; $F_{(1, 19)} = 7.8$, $p = 0.0114$), estimada como el contenido de grupos p-N-fenilo por μg de proteína, cuantificado a una densidad óptica de 420 nm (OD_{420} por μg ; Fig. 5A). Las pruebas estadísticas indicaron que la actividad β -glucuronidasa del iliococcígeo incrementó en las ratas primíparas comparas con las nulíparas ($p = 0.0102$) así como en las nulíparas ($p = 0.0039$) y primíparas que bebieron yodo ($p = 0.0395$). En el músculo pubococcígeo, la actividad del β -glucuronidasa de las ratas nulíparas que consumieron yodo fue menor que el de las ratas primíparas ($p = 0.0039$; Fig. 5B).

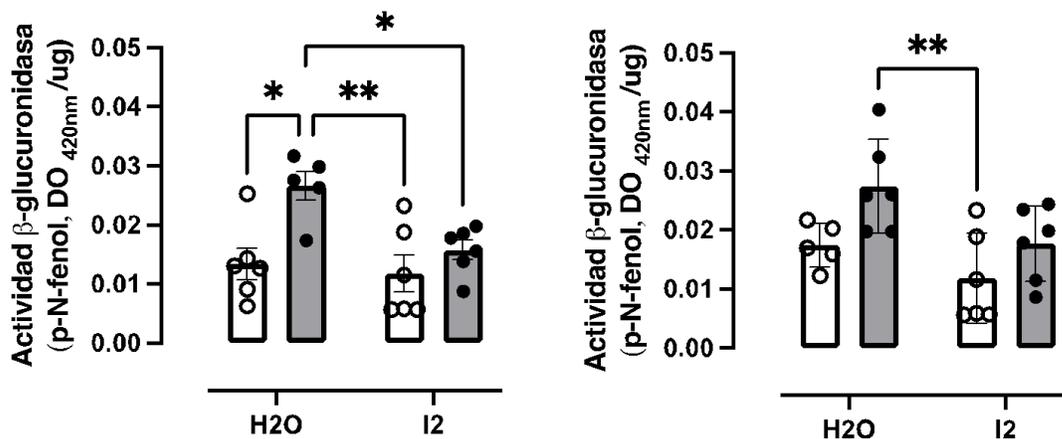


Figura 5. Actividad del enzima β -glucuronidasa en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo de ratas nulíparas (*barras blancas*) y primíparas (*barras grises*) suplementadas o no (H2O) con 0.0005% yodo molecular (I2). *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$.

La actividad del β -glucoronidasa se considera un parámetro de daño muscular. Para estimar si el incremento en la longitud del iliococcígeo correlaciona no sólo el número de crías paridas sino también con la actividad del β -glucoronidasa, se analizaron las correlaciones parciales, condicionadas por el peso corporal y niveles de glucosa sérica. Los resultados indicaron que la longitud del iliococcígeo correlaciona positivamente con la actividad del β -glucoronidasa y con las crías paridas (Tabla 3). Además se encontró una correlación positiva entre las longitudes del ilio- y pubococcígeo (Spearman- $\rho = 0.627$, $p=0.002$).

Tabla 3. Correlaciones parciales entre el número de crías paridas y la longitud o actividad β -glucoronidasa de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo.

Iliococcígeo		Pubococcígeo	
Longitud	β -glucoronidasa	Longitud	β -glucoronidasa
0.540, <u>0.01</u>	0.491, <u>0.028</u>	0.208, 0.354	0.344, 0.127

Correlaciones condicionadas por el peso corporal y la concentración de glucosa sérica. Los datos representan el coeficiente Spearman- ρ y el valor de p . El resultado estadísticamente significativo se indica subrayado.

7.3 Contenido de glucógeno muscular

La primiparidad influyó significativamente sobre el contenido de glucógeno del músculo iliococcígeo ($F_{(1, 19)} = 20.3$, $p = 0.0002$; Fig. 6). En contraste, la interacción P*I afectó significativamente el contenido de glucógeno del músculo pubococcígeo ($F_{(1, 18)} = 7.4$, $p = 0.014$) y el del grupo P incrementó en comparación con los de los grupos N ($p < 0.0001$), N+I ($p < 0.0001$) y P+I ($p = 0.0009$).

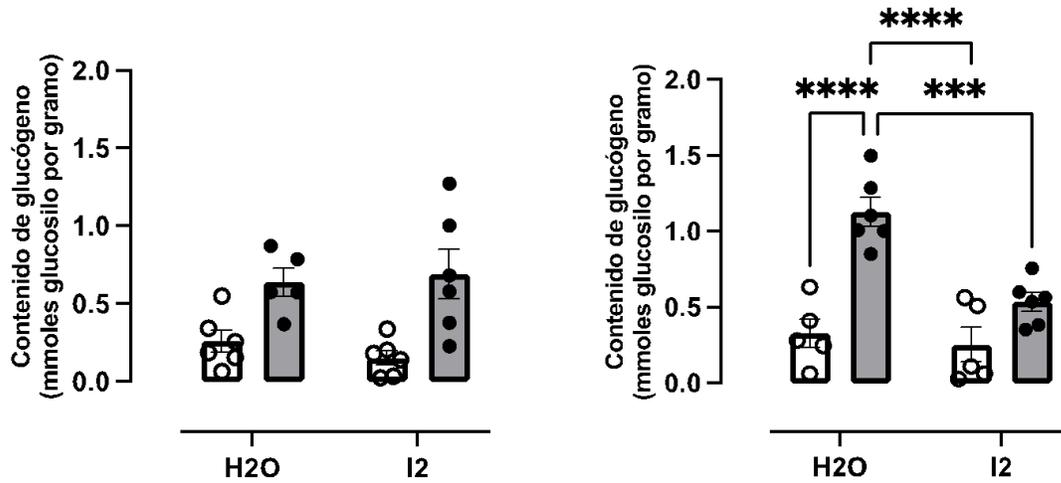


Figura 6. Contenido de glucógeno en los músculos nulíparas (*barras blancas*) y primíparas (*barras grises*) suplementadas o no (H2O) con 0.0005% yodo molecular (I2). ***, $p < 0.001$; ****, $p < 0.0001$.

7.4 Niveles de TNF α

Los experimentos de inmunodetección en fase sólida revelaron una banda inmunorreactiva anti-TNF α de ~ 28 kDa que resultó única en las muestras de ratas nulíparas y la más prominente entre las de las nulíparas (Fig.7). En una de las primíparas también se observó una banda inmunorreactiva de ~ 20 kDa (Fig.7).

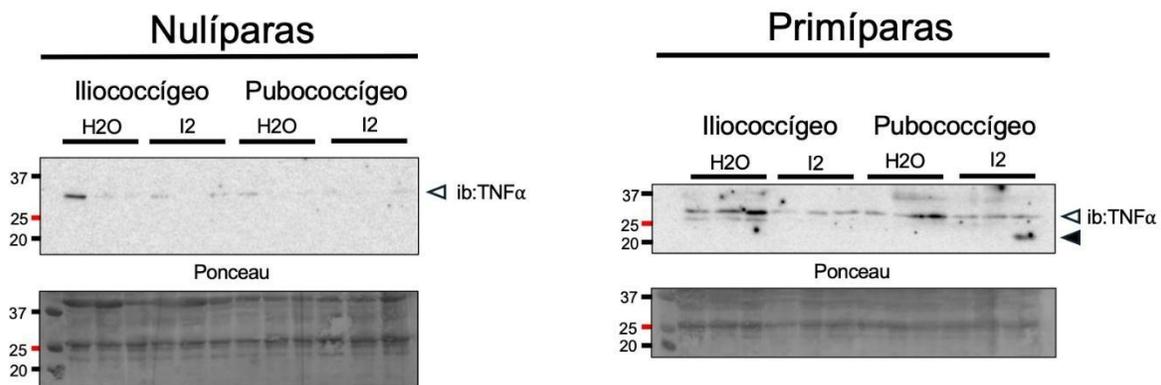


Figura 7. Inmunodetección en fase sólida del TNF α (ib: TNF α) en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo de ratas primíparas y nulíparas que bebieron agua (H2O) o 0.0005% I2 en los primeros tres días postparto. Imágenes representativas del ib: TNF α y de la membrana teñida con rojo de Ponceau (*Ponceau*). Cada carril se cargó con el extracto total de proteínas de animales diferentes (3 por grupo) con excepción del primer carril

desde la izquierda en que se aplicó el marcador de tamaño molecular. Los números representan el tamaño molecular en kilodaltones (kDa).

La interacción P*I2 influyó significativamente en los niveles relativos del TNF α del iliococcígeo ($F_{(1, 20)} = 4.6$, $p = 0.0437$; Fig. 8). Sin embargo, las pruebas de Tukey no señalaron diferencias significativas entre grupos. Dado que la intensidad de las bandas inmunorreactivas anti-TNF α de las ratas primíparas se observó menor que en el resto de los grupos, se realizaron pruebas t de Student, de una cola y para muestras independientes, para comparar los grupos N vs. P, N vs. PI y NI vs. PI. Los resultados mostraron una reducción del TNF α en las ratas primíparas que bebieron yodo en comparación con las ratas nulíparas ($p = 0.0211$). En el músculo pubococcígeo, la primiparidad promovió una reducción de los niveles de TNF α ($F_{(1, 20)} = 8.8$, $p = 0.0076$).

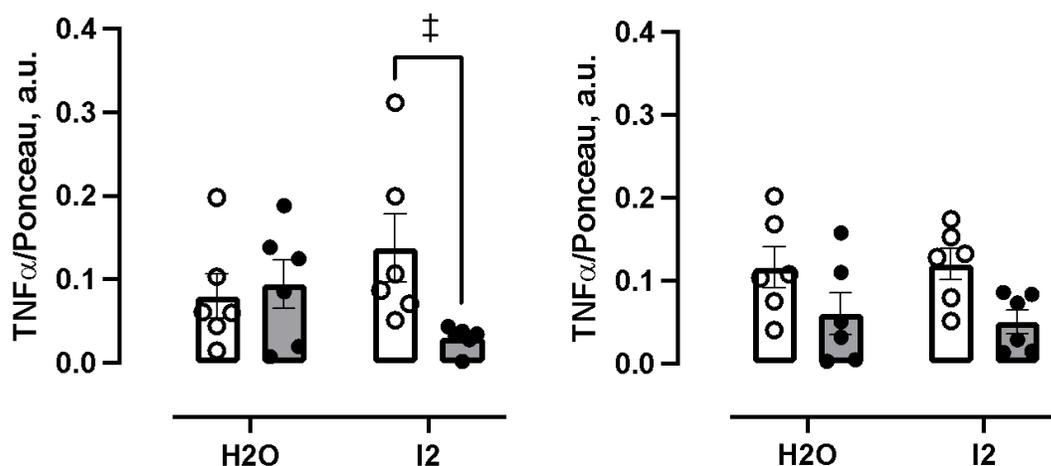


Figura 8. Niveles de expresión relativa del TNF- α en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo de ratas nulíparas (*barras blancas*) y primíparas (*barras grises*) suplementadas o no (H2O) con 0.0005% yodo molecular (I2). ‡, $p < 0.05$; t de Student.

8. Discusión

La primiparidad en la rata incrementó el peso corporal y redujo los niveles de glucosa sérica. Además, incrementó la longitud y el ancho de los músculos ilio- y pubococcígeo. El consumo oral de I₂ durante los primeros tres días posparto evitó ambos cambios musculares. Además, evitó el daño del iliococcígeo, estimado por la actividad del enzima β -glucuronidasa, y redujo el contenido de glucógeno del pubococcígeo en el postparto. Dado que el daño del iliococcígeo se encontró correlacionado positivamente con su longitud y las crías paridas, los hallazgos de esta tesis sugieren que el consumo de I₂ molecular mitiga el daño del iliococcígeo en el postparto temprano de la rata. En contraste, los efectos del I₂ en el pubococcígeo quizá implique la modulación de procesos metabólicos asociados con regeneración muscular.

Variables zoométricas

Considerando que las ratas primíparas fueron sacrificadas a los tres días postparto, el incremento encontrado en el peso corporal muy probablemente es la consecuencia del consumo de alimento durante la gestación (Alperin y cols., 2010; Alperin y cols., 2015; Demir y cols., 2023; González y cols., 2002). Un argumento similar puede explicar los elevados niveles de glucosa sérica en las ratas primíparas (González y cols., 2002). Por otro lado, el consumo de 0.0005 % yodo en el agua de beber durante 3 días, equivalente a un consumo diario de $\sim 150 - 200 \mu\text{g}$ (30-50mL de bebida), no influyó en el peso corporal ni en la concentración de glucosa sérica de las ratas nulíparas y primíparas. Los resultados anteriores concuerdan con los reportados para ratonas CD1 administradas con $200 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ (Rodríguez-Castelán y cols., 2022) y difieren de los reportados como una ingesta excesiva de yodo en ratas (Sarkar y cols., 2019). Dado que tampoco hubo una influencia por la interacción primiparidad y yodo es posible concluir que la suplementación de 0.0005 % de yodo no influye el peso corporal ni la glucosa sérica, a diferencia de lo observado para la primiparidad que incrementó ambas variables.

Entre las variables estimadas a partir de la morfometría muscular se encontró que la primiparidad incrementó el peso húmedo, largo y ancho del pubococcígeo, mientras que solo indujo una mayor longitud en el iliococcígeo. Ello coincide parcialmente con el incremento

del peso del pubococcígeo y la longitud normalizada de ambos músculos pélvicos, al final de la gestación y 12 semanas después del parto en la rata (Alperin, Cook y cols., 2016; Alperin y cols., 2010; Alperin y cols., 2015). Inesperadamente, se encontró un incremento en el ancho del EDL de las ratas primíparas en comparación con las nulíparas. Sin embargo, las subsecuentes correlaciones condicionadas por peso corporal y glucosa sérica indicaron que únicamente la longitud del iliococcígeo correlaciona positivamente con el número de crías paridas. En conjunto, la literatura disponible (Alperin, Cook y cols., 2016; Alperin y cols., 2010; Alperin y cols., 2015) y nuestros hallazgos sugieren que algunos de los cambios en la morfometría de los músculos pélvicos encontradas en las ratas primíparas podrían deberse a la gestación y otros estarían consolidándose en el postparto temprano.

Además de los cambios en el tejido conectivo del aparato urogenital femenino debido a la gestación y el parto (Alperin y cols., 2010; Dhital y cols., 2016), la adición de sarcómeros es considerada una adaptación protectora en músculos pélvicos de la rata Alperin y cols., 2010, 2015; Catanzarite y cols., 2018; Sieger y cols., 2022). La gestación induce cambios en los sarcómeros añadidos en serie de los músculos coccígeo, iliococcígeo y pubococcígeo, que con un incremento en la longitud de sus miofibras al final de la gestación (Alperin y cols., 2015). Ello, y el incremento en el tejido conectivo intramuscular hacia el final de la gestación, pudieron haber influido en la contención del alargamiento sarcomérico evaluado en la gestación y el postparto (Lieber, 2018; Alperin y cols. 2015). Los cambios en el ilio- y pubococcígeo se observaron aun 4 semanas después del parto (Alperin y cols., 2015). Un análisis similar realizado en cadáveres de mujeres jóvenes encontró que el parto incrementa la longitud de las miofibras del coccígeo y pubococcígeo y reduce el área transversal fisiológica miofibrilar (Alperin, Cook y cols., 2016). Ciertamente, las adaptaciones sarcoméricas asociadas con el final de la gestación protegerían en mayor medida a los músculos coccígeo y pubococcígeo sometidos a un estiramiento mayor durante el parto en la rata (Catanzarite y cols., 2018; Sieger y cols., 2022). En contraste, la ausencia de adaptaciones oportunas a nivel del sarcómero y el tejido conectivo intramuscular, y la influencia de un edema transitorio harían al iliococcígeo más susceptible de daño en el postparto temprano (Alperin y cols., 2010, 2015; Catanzarite y cols., 2018; Sieger y cols., 2022; Edman y Andersson, 1967; Lin y cols., 1998). En dicho contexto, los hallazgos morfométricos en esta tesis, así como otros histológicos y funcionales son consistentes con

daño en el músculo iliococcígeo de la rata primípara (Xochitemol Nava 2021; Rugerio Zontecomani, 2022; Rodríguez Jaimes, 2023).

Mientras que la suplementación de yodo no influyó sobre las variables morfométricas de los músculos EDL y sóleo, sí tuvo efecto sobre las de los músculos pélvicos. En el iliococcígeo promovió una disminución en el peso húmedo y el ancho muscular, que fue aún más relevante para las ratas primíparas de acuerdo con el análisis estadístico (Tabla 1). En el pubococcígeo, el consumo de yodo redujo el peso húmedo e influyó significativamente en la disminución del ancho y largo muscular en ratas primíparas. No obstante las adaptaciones plásticas de músculos pélvicos de la rata, y considerando algunos reportes clínicos (DeLancey y cols., 2024), es posible que el incremento en el peso húmedo y el ancho sean la manifestación de un edema muscular desencadenado por la compresión de ambos músculos hacia el final de la gestación o durante el parto (Lin y cols., 1998). La suplementación de 0.0005 % yodo durante 3 días promovió la reducción del peso y ancho muscular, quizá en relación a los efectos anti-edematosos descritos para compuestos yodados, de uso tópico, como la yodo-povidona (PVP-I, ~ 1% I2 disponible; (Arakeri & Brennan, 2011; Eggers, 2019), que modulan las acciones de citocinas pro-inflamatorias (Aceves y cols., 2021; Lee y cols., 2022).

Variables bioquímicas

La activación de respuestas celulares y mecanismos involucrados en la fagocitosis y la degradación de tejido necrótico distinguen el daño muscular. Entre ellas, el incremento de la actividad de hidrolasas ácidas se considera un parámetro estándar para informar de lesiones en músculos específicos (Barret, 1977; Komulainen y cols., 1994; Koskinen y cols., 2001). El incremento de la actividad del β -glucuronidasa en músculos pélvicos de conejas gestantes, primíparas y multíparas, relacionada con alteraciones morfométricas e histológicas, es un parámetro confiable de daño muscular (López-García y cols., 2016; Sánchez-García y cols., 2019). Los hallazgos en músculos pélvicos de la rata primípara, presentados en esta tesis, indican daño tanto en el ilio- como en el pubococcígeo. Por otro lado, los resultados de las correlaciones parciales sugieren que el alargamiento muscular, correlacionado con el número de crías paridas (Tabla 2), correlaciona únicamente con el grado de daño en el iliococcígeo

(Tabla 3). Ciertamente, el iliococcígeo carece de adaptaciones sarcoméricas y de tejido conectivo que protegerían del daño a otros músculos pélvicos como el coccígeo y el pubococcígeo (Alperin y cols., 2010, 2015; Catanzarite y cols., 2018; Sieger y cols., 2022)

El suplemento de 0.0005 % I2 durante los primeros tres días postparto evitó la elevación de la actividad β -glucoronidasa del iliococcígeo, quizá modulando la respuesta inflamatoria desencadenada por la sobredistensión o compresión durante el parto. El parto es un evento en donde la respuesta inflamatoria se presenta debido a las lesiones musculares que el estiramiento excesivo desencadena (Catanzarite y cols., 2018). La inflamación implica un reclutamiento de células inmunes al sitio de lesión, entre ellas neutrófilos y macrófagos tipo I dentro de las primeras 48 horas post-traumatismo (Callewaert y cols., 2017; Duran y cols., 2023; Sesillo y cols., 2022; Tidball, 2017). La disminución en la actividad del β -glucoronidasa promovida por el suplemento de yodo podría relacionarse con sus efectos como anti-inflamatorio y anti-oxidante (Aceves y cols., 2021; Espino-Vázquez y cols., 2022; Quintero-García y cols., 2018). En ello también podría argumentarse los aparentes efectos antiinflamatorios del yodo, posiblemente asociados con su papel como osmo-modulador (Arakeri & Brennan, 2011; Espino-Vázquez y cols., 2022).

Considerando los hallazgos de la actividad del β -glucoronidasa en esta tesis y los morfométricos reportados en esta tesis y por otros autores (Lin y cols., 1998; Alperin y cols., 2015; Catanzarite y cols., 2018; Rieger y cols., 2022), es posible que el daño en el iliococcígeo se deba a su contracción excéntrica durante el parto. El glucógeno es la principal fuente energética del músculo en condiciones fisiológicas y durante una contracción continua (Hargreaves & Spriet, 2020), que conduciría a una reducción del glucógeno muscular, especialmente en respuesta a la contracción excéntrica (Asp y cols., 1995). Estudios realizados en humanos y animales de experimentación, analizadas antes y después de rutinas de ejercicio de contracción muscular excéntrica, han mostrado que a la caída de glucógeno le sigue una fase de restablecimiento que se aprecia dentro de las subsecuentes 48-72 h (Holness y cols., 1993). Sin embargo, el contenido de glucógeno en el ilio- y el pubococcígeo incrementó en las ratas primíparas, que también tuvieron una menor concentración de glucosa sérica. Aunque las ratas de ambas condiciones accedieron libremente al alimento y no tuvieron un período de ayuno antes del sacrificio, es posible que una elevación en la

sensibilidad a la insulina, en el postparto temprano, hubiera favorecido la captura de glucosa y el contenido de glucógeno (Anhê y cols., 2007). No obstante, el edema (incremento del volumen celular) muscular, y la propia contracción excéntrica, también podrían haber favorecido el transporte de glucosa y el glucógeno intracelular (Andersen y cols., 2019; Low y cols., 1996). Además es posible que las acciones estrogénicas hacia el final de la gestación hayan influido pero solo en la respuesta del pubococcígeo (Carrasco-Ruiz y cols., 2018).

Mientras que el consumo de yodo no afectó el contenido de glucógeno en el músculo iliococcígeo, en el pubococcígeo abolió su elevación en ratas primíparas. Este hallazgo específico podría relacionarse con la actividad antioxidante que el yodo promueve a través de la regulación positiva de NRF2, que a su vez incrementaría la expresión de los enzimas catalasa y SOD (Aceves y cols., 2021). En músculos esqueléticos la elevación de NRF2 reduce la síntesis de glucógeno (Uruno y cols., 2016). Aunque la simulación del trauma de parto promueve la aparición de signos de estrés oxidante en el aparato urogenital de la rata (Damaser et al., 2005), la posibilidad de que tales efectos deletéreos sean más prominentes en el pubo- que en el iliococcígeo tendrá que abordarse apropiadamente. En la coneja, el grado de estrés oxidante, estimado mediante el marcaje inmunorreactivo anti-3-N-tirosina, incrementó a partir del día 3 postparto en el músculo pubococcígeo pero no en el bulboesponjoso (Sánchez-García y cols., 2019).

Algunos autores han abordado el estudio de factores inflamatorios en músculos de las extremidades, y dada la escasez de reportes sobre músculos pélvicos, los hallazgos de aquellos han sido extrapolados (Callewaert 2007). En el concierto de citocinas proinflamatorias que seguirían a la lesión por el trauma de parto, el TNF- α secretado de los macrófagos y/o liberado de las miofibras dañadas, contribuiría en la degradación de restos celulares que caracteriza la fase degenerativa de la lesión (Arnold y cols. 2007; Callewaert 2007). Sin embargo, los hallazgos de esta tesis indicaron que los niveles relativos de TNF- α total en el músculo pubococcígeo de las primíparas yodadas fueron menores que en las primíparas. Los resultados de las variables morfométricas y la actividad del β -glucuronidasa distan de sugerir un daño muscular importante. Así, aunque los antecedentes consultados llevaron a suponer un pico de TNF- α entre los días 2 y 3 postparto debido al estado inflamatorio, es posible que la dinámica de expresión del TNF- α haya escapado a esta

ventana de tiempo como se ha reportado para músculos de contracción rápida de las extremidades (Huey y cols., 2007). Por otro lado, la estimación del TNF- α en extractos de proteínas totales, con aparente predominio del péptido inmaduro, y la falta de un abordaje mediante inmunohistoquímica, limita la interpretación de los resultados.

A diferencia de lo observado en el pubococcígeo, en el iliococcígeo se encontró que los niveles del TNF- α de las ratas primíparas que bebieron 0.0005 % yodo son menores que los de las ratas primíparas tratadas similarmente. Si bien una interpretación que considere el estado inflamatoria es complicada por los factores descritos líneas arriba, es notorio que los bajos niveles del TNF- α coincidieran con un alivio de signos morfométricos y bioquímicos de daño muscular. La elevación del TNF- α interfiere negativamente sobre la diferenciación de células satélite quiescentes transplantadas al esfínter externo de la uretra (Hanada y cols., 2010; Shinohara y cols., 2017). Por lo tanto, es factible especular que el consumo de yodo en el postparto podría influir positivamente sobre procesos como la diferenciación de macrófagos M1 a M2; división, activación, y quizá, fusión de mioblastos; y contener la pérdida de fuerza muscular. El abordaje adecuado de estos eventos debe realizarse en estudios futuros para conocer con más detalle el aparente beneficio que el consumo de yodo ha significado para el músculo iliococcígeo de ratas primíparas.

9. Conclusiones

1. Las variables morfométricas y bioquímicas evaluadas en esta tesis indican daño en el músculo iliococcígeo, pero no en el pubococcígeo, de ratas primíparas.
2. La suplementación de 0.0005 % yodo molecular no afectó la morfometría evaluada en los músculos de las patas traseras. En términos generales, tampoco pareció haber afectado la morfometría ni los marcadores bioquímicos evaluados en el pubococcígeo. Sin embargo, habría que evaluar una asociación potencial entre si la disminución del contenido de glucógeno y los efectos anti-oxidantes del yodo, específicamente mediados por acciones de NRF2.
3. La suplementación de 0.0005 % I2 durante los 3 días que siguen al parto alivian alteraciones morfométricas y bioquímicas del iliococcígeo, presuntamente relacionadas con una contracción muscular excéntrica al final de la gestación o durante el parto.

10. Perspectivas

Para nuestro estudio sería importante utilizar indicadores histopatológicos para complementar nuestros hallazgos de los marcadores bioquímicos de daño muscular, como la tasa de macrófagos de tipo proinflamatorio en el músculo, también se pueden utilizar otros marcadores bioquímicos como la cuantificación de Malondialdehído, un indicador de daño por estrés oxidativo a la membrana lipídica.

De igual forma sería interesante ampliar nuestros grupos experimentales con ratas multíparas para poder comparar el daño a los músculos y el posible efecto del yodo sobre estas estructuras.

Evaluar el tratamiento con una administración más larga postparto, para determinar si pudiera servir como una terapia farmacológica de reducción de la respuesta inflamatoria y no solo como un preventivo.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aceves, C., & Anguiano, B. (2009). Is Iodine an Antioxidant and Antiproliferative Agent for the Mammary and Prostate Glands? In *Comprehensive Handbook of Iodine* (Issue January 2020, pp. 249–257). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374135-6.00026-1>
- Aceves, C., Anguiano, B., & Delgado, G. (2005). Is iodine a gatekeeper of the integrity of the mammary gland? *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, *10*(2), 189–196. <https://doi.org/10.1007/s10911-005-5401-5>
- Aceves, C., Mendieta, I., Anguiano, B., & Delgado-González, E. (2021). Molecular iodine has extrathyroidal effects as an antioxidant, differentiator, and immunomodulator. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(3), 1–15. <https://doi.org/10.3390/ijms22031228>
- Aceves, C., Mendieta, I., Anguiano, B., & Delgado-González, E. (2021). Molecular Iodine Has Extrathyroidal Effects as an Antioxidant, Differentiator, and Immunomodulator. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(3), 1228. <https://doi.org/10.3390/ijms22031228>
- Alfaro, Y., Delgado, G., Cárabez, A., Anguiano, B., & Aceves, C. (2013). Iodine and doxorubicin, a good combination for mammary cancer treatment: Antineoplastic adjuvancy, chemoresistance inhibition, and cardioprotection. *Molecular Cancer*, *12*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-12-45>
- Alperin, M. (2016). Impact of Pregnancy and Delivery on Pelvic Floor Biomechanics. In *Biomechanics of the Female Pelvic Floor* (pp. 229-238). Elsevier.
- Alperin, M., Cook, M., Tuttle, L. J., Esparza, M. C., & Lieber, R. L. (2016). Impact of vaginal parity and aging on the architectural design of pelvic floor muscles. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *215*(3), 312.e311-312.e319. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.02.033>
- Alperin, M., Feola, A., Duerr, R., Moalli, P., & Abramowitch, S. (2010). Pregnancy- and delivery-induced biomechanical changes in rat vagina persist postpartum. *International Urogynecology Journal*, *21*(9), 1169-1174. <https://doi.org/10.1007/s00192-010-1149-6>
- Alperin, M., Kaddis, T., Pichika, R., Esparza, M. C., & Lieber, R. L. (2016). Pregnancy-induced adaptations in intramuscular extracellular matrix of rat pelvic floor muscles. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *215*(2), 210.e1-210.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.02.018>
- Alperin, M., Kaddis, T., Pichika, R., Esparza, M. C., & Lieber, R. L. (2016). Pregnancy-induced adaptations in intramuscular extracellular matrix of rat pelvic floor muscles. *American journal of obstetrics and gynecology*, *215*(2), 210.e211-217. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.02.018>
- Alperin, M., Lawley, D. M., Esparza, M. C., & Lieber, R. L. (2015). Pregnancy-induced adaptations in the intrinsic structure of rat pelvic floor muscles. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *213*(2), 191.e1-191.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.05.012>
- Alperin, M., Lawley, D. M., Esparza, M. C., & Lieber, R. L. (2015). Pregnancy-induced adaptations in the intrinsic structure of rat pelvic floor muscles. *American journal of*

- obstetrics and gynecology, 213(2), 191.e191-197.
<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.05.012>
- Alperin, M., Tuttle, L. J., Conner, B. R., Dixon, D. M., Mathewson, M. A., Ward, S. R., & Lieber, R. L. (2014). Comparison of pelvic muscle architecture between humans and commonly used laboratory species. *International Urogynecology Journal*, 25(11), 1507–1515. <https://doi.org/10.1007/s00192-014-2423-9>
- Andersen, O. E., Nielsen, O. B., & Overgaard, K. (2019). Early effects of eccentric contractions on muscle glucose uptake. *Journal of Applied Physiology*, 126(2), 376–385. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00388.2018>
- Anhê, G. F., Hirabara, S. M., Turrer, T. C., Caperuto, L. C., Anhê, F. F., Ribeiro, L. M., . . . Bordin, S. (2007). Postpartum glycemic homeostasis in early lactating rats is accompanied by transient and specific increase of soleus insulin response through IRS2/AKT pathway. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 292(6), R2225-R2233.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00902.2006>
- Aoki, Y., Brown, H. W., Brubaker, L., Cornu, J. N., Daly, J. O., & Cartwright, R. (2017). Urinary incontinence in women. *Nature Reviews Disease Primers*, 3.
<https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.42>
- Arakeri, G., & Brennan, P. A. (2011). Povidone-iodine: an anti-oedematous agent? *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 40(2), 173-176.
<https://doi.org/10.1016/j.ijom.2010.09.012>
- Arnold, L., Henry, A., Poron, F., Baba-Amer, Y., Van Rooijen, N., Plonquet, A., Gherardi, R. K., & Chazaud, B. (2007). Inflammatory monocytes recruited after skeletal muscle injury switch into antiinflammatory macrophages to support myogenesis. *Journal of Experimental Medicine*, 204(5), 1057–1069. <https://doi.org/10.1084/jem.20070075>
- Barret, A. J. (1977). Lysosomal enzymes: α - and β -glucosidase, α - and β -galactosidase, α - and β -mannosidase, α - and β - N -acetylglucosaminidase, α - N -acetylgalactosaminidase, α - 1 -fucosidase and β -glucuronidase. In J. T. Dingle (Ed.), *Lysosomes, a laboratory handbook* (pp. 46-126). North-Holland Publishing Co.
- Bharucha, A. E. (2006). Pelvic floor: Anatomy and function. *Neurogastroenterology and Motility*, 18(7), 507–519. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2006.00803.x>
- Bilal, M. Y., Dambaeva, S., Kwak-Kim, J., Gilman-Sachs, A., & Beaman, K. D. (2017). A role for iodide and thyroglobulin in modulating the function of human immune cells. *Frontiers in Immunology*, 8(NOV), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01573>
- Birder, L., de Groat, W., Mills, I., Morrison, J., Thor, K., & Drake, M. (2010). Neural control of the lower urinary tract: Peripheral and spinal mechanisms. *Neurourology and Urodynamics*, 29(1), 128–139. <https://doi.org/10.1002/nau.20837>
- Bortolini, M. A. T., Drutz, H. P., Lovatsis, D., & Alarab, M. (2010). Vaginal delivery and pelvic floor dysfunction: current evidence and implications for future research. *International Urogynecology Journal*, 21(8), 1025–1030.
<https://doi.org/10.1007/s00192-010-1146-9>
- Callewaert, G., Monteiro Carvalho Mori Da Cunha, M., Sindhvani, N., Sampaolesi, M., Albersen, M., Deprest, J., & Da Cunha, M. M. C. M. (2017). Cell-based secondary prevention of childbirth-induced pelvic floor trauma. *Nature Reviews Urology*, 14(6), 373-385. <https://doi.org/10.1038/nrrol.2017.42>

- Carrasco-Ruiz, M. L. Á., Hernández-Aragón, L. G., Chávez-Ríos, J. R., Rodríguez-Antolín, J., Pacheco, P., Martínez-Gómez, M., . . . Castelán, F. (2018). High Estradiol Differentially Affects the Expression of the Glucose Transporter Type 4 in Pelvic Floor Muscles of Rats. *Int Neurourol J*, 22(3), 161-168. <https://doi.org/10.5213/inj.1836116.058>
- Castelán, F., Cuevas-Romero, E., & Martínez-Gómez, M. (2020). The Expression of Hormone Receptors as a Gateway toward Understanding Endocrine Actions in Female Pelvic Floor Muscles. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*, 20(3), 305–320. <https://doi.org/10.2174/1871530319666191009154751>
- Catanzarite, T., Bremner, S., Barlow, C. L., Bou-Malham, L., O'Connor, S., & Alperin, M. (2018). Pelvic muscles' mechanical response to strains in the absence and presence of pregnancy-induced adaptations in a rat model. *American journal of obstetrics and gynecology*, 218(5), 512.e511 - 512.e519. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.02.001>
- Chazaud, B. (2020). Inflammation and Skeletal Muscle Regeneration: Leave It to the Macrophages! *Trends in Immunology*, 41(6), 481–492. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.04.006>
- Chen, G. Y., & Nuñez, G. (2010). Sterile inflammation: Sensing and reacting to damage. *Nature Reviews Immunology*, 10(12), 826–837. <https://doi.org/10.1038/nri2873>
- Costamagna, D., Costelli, P., Sampaolesi, M., & Penna, F. (2015). Role of Inflammation in Muscle Homeostasis and Myogenesis. *Mediators of Inflammation*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/805172>
- Cruz, Y., Corona-Quintanilla, D. L., Juárez, M., & Martínez-Gómez, M. (2010). Características anatómicas y fisiológicas de los músculos pélvicos en la coneja doméstica (*Oryctolagus cuniculus*). *Veterinaria Mexico*, 41(4), 263–274. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922010000400003
- Damaser, M. S., Whitbeck, C., Chichester, P., & Levin, R. M. (2005). Effect of vaginal distension on blood flow and hypoxia of urogenital organs of the female rat. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 98(5), 1884-1890. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01071.2004>
- De La Vieja, A., & Santisteban, P. (2018). Role of iodide metabolism in physiology and cancer. *Endocrine-Related Cancer*, 25(4), R225–R245. <https://doi.org/10.1530/ERC-17-0515>
- DeLancey, J. O. L., Masteling, M., Pipitone, F., LaCross, J., Mastrovito, S., & Ashton-Miller, J. A. (2024). Pelvic floor injury during vaginal birth is life-altering and preventable: what can we do about it? *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, S0002937823021166. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2023.11.1253>
- Demir, E., Mutluay, S. D., & Buyuknacar, H. S. (2023). Effects of the Oxytocin Hormone on Pelvic Floor Muscles in Pregnant Rats. *Medicina*, 59(2), 234. <https://doi.org/10.3390/medicina59020234>
- Duchesne, E., Dufresne, S. S., & Dumont, N. A. (2017). Impact of inflammation and anti-inflammatory modalities on skeletal muscle healing: From fundamental research to the clinic. *Physical Therapy*, 97(8), 807–817. <https://doi.org/10.1093/ptj/pzx056>
- Duran, P., Boscolo Sesillo, F., Cook, M., Burnett, L., Menefee, S. A., Do, E., . . . Alperin, M. (2023). Proregenerative extracellular matrix hydrogel mitigates pathological

- alterations of pelvic skeletal muscles after birth injury. *Science Translational Medicine*, 15(707), eabj3138. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abj3138>
- Eggers, M. (2019). Infectious Disease Management and Control with Povidone Iodine. *Infectious Diseases and Therapy*, 8(4), 581-593. <https://doi.org/10.1007/s40121-019-00260-x>
- Espino-Vázquez, A. N., Rojas-Castro, F. C., & Fajardo-Yamamoto, L. M. (2022). Implications and Practical Applications of the Chemical Speciation of Iodine in the Biological Context. *Future Pharmacology*, 2(4), 377-414. <https://doi.org/10.3390/futurepharmacol2040026>
- Espinoza, C. J. M., Carreras, O. F., García De Alba García, J. E., Castellanos, P. I. V., Ruiz, M. I. G., & Allegre, R. M. (2006). Prevalencia de incontinencia urinaria y anal en mujeres de la zona metropolitana de Guadalajara. *Ginecología y Obstetricia de Mexico*, 74(6), 300–305. www.revistasmedicasmexicanas.com.mx
- Feola, A., Moalli, P., Alperin, M., Duerr, R., Gandley, R. E., & Abramowitch, S. (2011). Impact of pregnancy and vaginal delivery on the passive and active mechanics of the rat vagina. *Annals of biomedical engineering*, 39(1), 549-558. <https://doi.org/10.1007/s10439-010-0153-9>
- Gärtner, R. (2009). Autoregulation of Thyroid Growth and Function by Iodine. In *Comprehensive Handbook of Iodine*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374135-6.00025-X>
- Gerard Tortora & Bryan Derrickson. (2014). *Principles of anatomy & physiology* (K. W. Kaye Pace & M. G. L. E. Bonnie Roesch (eds.); 14th ed.). Wiley. https://doi.org/10.1007/978-3-540-75863-1_1
- Gill, B. C., Moore, C., & Damaser, M. S. (2010). Postpartum stress urinary incontinence: Lessons from animal models. *Expert Review of Obstetrics and Gynecology*, 5(5), 567–580. <https://doi.org/10.1586/eog.10.48>
- González, C. G., Alonso, A., Balbín, M., Díaz, F., Fernández, S., & Patterson, A. M. (2002). Effects of pregnancy on insulin receptor in liver, skeletal muscle and adipose tissue of rats. *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 16(3), 193-205.
- Hanada, M., Sumino, Y., Hirata, Y., Sato, F., & Mimata, H. (2010). Growth inhibition and apoptosis induction by tumor necrosis factor- α in human urethral rhabdosphincter satellite cells. *The Journal of Urology*, 183(6), 2445-2450. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2010.01.063>
- Hargreaves, M., & Spriet, L. L. (2020). Skeletal muscle energy metabolism during exercise. *Nature Metabolism*, 2(9), 817-828. <https://doi.org/10.1038/s42255-020-0251-4>
- He, S., Wang, B., Lu, X., Miao, S., Yang, F., Zava, T., Ding, Q., Zhang, S., Liu, J., Zava, D., & Shi, Y. E. (2018). Iodine stimulates estrogen receptor signaling and its systemic level is increased in surgical patients due to topical absorption. *Oncotarget*, 9(1), 375–384. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20633>
- Herschorn, S. (2004). TREATMENT OF SUI Female Pelvic Floor Anatomy: The Pelvic Floor, Supporting Structures, and Pelvic Organs. In *REVIEWS IN UROLOGY* (Vol. 6, Issue 5).
- Huey, K. A., McCall, G. E., Zhong, H., & Roy, R. R. (2007). Modulation of HSP25 and TNF- α during the early stages of functional overload of a rat slow and fast muscle. *Journal of Applied Physiology*, 102(6), 2307-2314. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00021.2007>

- JASP Team (2023). JASP (Version 0.18.2) [Computer software].
- Katya Carrillo, G., & Antonella Sanguineti, M. (2013). Anatomía del piso pélvico. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 24(2), 185–189. [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(13\)70148-2](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(13)70148-2)
- Komulainen, J., Kytölä, J., & Vihko, V. (1994). Running-induced muscle injury and myocellular enzyme release in rats. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md. : 1985), 77(5), 2299-2304. <https://doi.org/10.1152/jappl.1994.77.5.2299>
- Koskinen, S. O. A., Wang, W., Ahtikoski, A. M., Kjær, M., Han, X. Y., Komulainen, J., . . . Takala, T. E. S. (2001). Acute exercise induced changes in rat skeletal muscle mRNAs and proteins regulating type IV collagen content. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 280(5), R1292-R1300. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.2001.280.5.r1292>
- Küpper, F. C., Schweigert, N., Ar Gall, E., Legendre, J.-M., Vilter, H., & Kloareg, B. (1998). Iodine uptake in Laminariales involves extracellular, haloperoxidase-mediated oxidation of iodide. *Planta*, 207(2), 163–171. <https://doi.org/10.1007/s004250050469>
- Lee, S. H., Choi, M.-R., Chung, J., Choi, S.-H., Park, S. K., & Kim, Y. M. (2022). Povidone iodine suppresses LPS-induced inflammation by inhibiting TLR4/MyD88 formation in airway epithelial cells. *Scientific Reports*, 12(1), 3681. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-07803-2>
- Lien, K.-C., Mooney, B., DeLancey, J. O. L., & Ashton-Miller, J. A. (2004). Levator Ani Muscle Stretch Induced by Simulated Vaginal Birth. *Obstetrics & Gynecology*, 103(1), 31–40. <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000109207.22354.65>
- López-García, K., Cuevas, E., Sánchez-García, O., Pacheco, P., Martínez-Gómez, M., & Castelán, F. (2016). Differential damage and repair responses of pubococcygeus and bulbospongiosus muscles in multiparous rabbits. *Neurourology and Urodynamics*, 35(2), 180–185. <https://doi.org/10.1002/nau.22702>
- López-García, K., Cuevas, E., Sánchez-García, O., Pacheco, P., Martínez-Gómez, M., & Castelán, F. (2016). Differential damage and repair responses of pubococcygeus and bulbospongiosus muscles in multiparous rabbits. *Neurorol Urodyn*, 35(2), 180-185. <https://doi.org/10.1002/nau.22702>
- Low, S. Y., Rennie, M. J., & Taylor, P. M. (1996). Modulation of glycogen synthesis in rat skeletal muscle by changes in cell volume. *The Journal of Physiology*, 495 (Pt 2)(Pt 2), 299-303. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1996.sp021594>
- Magaña, M. V., López, H. H. B., Poceros, G. R., Ortega, G. O., Neri Ruz, E. S., & Castrillo, C. S. (2007). Prevalencia y calidad de vida en mujeres con incontinencia urinaria. Estudio en población abierta. *Ginecología y Obstetricia de Mexico*, 75(6), 347–356.
- Martinez-Gomez, M., Luz, D., Cruz-Gomez, Y., Zempoalteca, R., Rodriguez-Antolin, J., & Castela, F. (2012). The Role of Pelvic and Perineal Muscles in Reproductive and Excretory Functions. In *Applications of EMG in Clinical and Sports Medicine*. InTech. <https://doi.org/10.5772/27393>
- Norton, P., & Brubaker, L. (2006). Urinary incontinence in women. *The Lancet*, 367(9504), 57–67. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)67925-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)67925-7)
- Owen, J. A., Punt, J., Stranford, S. A., Jones, P. P., & Kuby, J. (2014). *Kuby inmunología* (7th ed.). McGraw Hill

- Poortmans, A., & Wyndaele, J. J. (1998). M. Levator ani in the rat: Does it really lift the anus? *Anatomical Record*, 251(1), 20–27. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(199805\)251:1<20::AID-AR5>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(199805)251:1<20::AID-AR5>3.0.CO;2-I)
- Quintana, Erendira, & Fajardo, Víctor, & Rodríguez-Antolín, Jorge, & Aguilera, Ulises, & Martínez-Gómez, Margarita (2009). Fisiopatología de la incontinencia urinaria femenina. *Salud en Tabasco*, 15(1), 839-844 ISSN: 1405-2091. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48712088004>
- Quintero-García, M., Delgado-González, E., Sánchez-Tusie, A., Vázquez, M., Aceves, C., & Anguiano, B. (2018). Iodine prevents the increase of testosterone-induced oxidative stress in a model of rat prostatic hyperplasia. *Free Radical Biology and Medicine*, 115(December 2017), 298–308. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.12.014>
- Quintero-García, M., Delgado-González, E., Sánchez-Tusie, A., Vázquez, M., Aceves, C., & Anguiano, B. (2018). Iodine prevents the increase of testosterone-induced oxidative stress in a model of rat prostatic hyperplasia. *Free Radical Biology & Medicine*, 115, 298-308. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.12.014>
- Rodríguez-Castelán, J., Delgado-González, E., Varela-Floriano, V., Anguiano, B., & Aceves, C. (2022). Molecular Iodine Supplement Prevents Streptozotocin-Induced Pancreatic Alterations in Mice. *Nutrients*, 14(3), 715. <https://doi.org/10.3390/nu14030715>
- Rodríguez-Jaimes, S. Y. (2023). Análisis del efecto que la administración del péptido XT1 ejerce sobre indicadores de daño y regeneración en músculos pélvicos de la rata primípara [Universidad Autónoma de Tlaxcala]. Tlaxcala, Tlax.
- Sampselle, C. M., Harlow, S. D., Skurnick, J., Brubaker, L., & Bondarenko, I. (2002). Urinary incontinence predictors and life impact in ethnically diverse perimenopausal women. *Obstetrics and Gynecology*, 100(6), 1230–1238. [https://doi.org/10.1016/S0029-7844\(02\)02241-X](https://doi.org/10.1016/S0029-7844(02)02241-X)
- Sánchez-García, O., G, L. H.-A., K, L.-G., M, J., M, M.-G., & F, C. (2019). Signs of damage in pelvic floor muscles at the end of pregnancy in rabbits. *Int Urogynecol J*, 30(6), 977-984. <https://doi.org/10.1007/s00192-019-03872-6>
- Sánchez-García, O., Hernández-Aragón, L. G., López-García, K., Juárez, M., Martínez-Gómez, M., & Castelán, F. (2019). Signs of damage in pelvic floor muscles at the end of pregnancy in rabbits. *Int Urogynecol J*, 30(6), 977-984. <https://doi.org/10.1007/s00192-019-03872-6>
- Schiaffino, S., & Reggiani, C. (2011). Fiber types in Mammalian skeletal muscles. *Physiological Reviews*, 91(4), 1447–1531. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2010>
- Sesillo, F. B., Rajesh, V., Wong, M., Duran, P., Rudell, J. B., Rundio, C. P., . . . Alperin, M. (2022). Muscle stem cells and fibro-adipogenic progenitors in female pelvic floor muscle regeneration following birth injury. *NPJ Regen Med*, 7(1), 72. <https://doi.org/10.1038/s41536-022-00264-1>
- Shinohara, M., Sumino, Y., Sato, F., Kiyono, T., Hashimoto, N., & Mimata, H. (2017). Tumor necrosis factor-alpha inhibits differentiation of myogenic cells in human urethral rhabdosphincter. *International Journal of Urology: Official Journal of the Japanese Urological Association*, 24(6), 461-467. <https://doi.org/10.1111/iju.13330>
- Smyth, P. P. A. (2003). *Role of iodine in antioxidant defence in thyroid and breast disease*. 19, 121–130.

- Thrall, K. D., & Bull, R. J. (1990). Differences in the distribution of iodine and iodide in the sprague-dawley rat. *Toxicological Sciences*, 15(1), 75–81.
<https://doi.org/10.1093/toxsci/15.1.75>
- Tidball, J. G. (2017). Regulation of muscle growth and regeneration by the immune system. *Nature Reviews Immunology*, 17(3), 165-178.
<https://doi.org/10.1038/nri.2016.150>
- Townsend, M. K., Lajous, M., Medina-Campos, R. H., Catzin-Kuhlmann, A., López-Ridaura, R., & Rice, M. S. (2017). Risk factors for urinary incontinence among postmenopausal Mexican women. *International Urogynecology Journal*, 28(5), 769–776. <https://doi.org/10.1007/s00192-016-3196-0>
- Urano, A., Yagishita, Y., Katsuoka, F., Kitajima, Y., Nunomiya, A., Nagatomi, R., . . . Yamamoto, M. (2016). Nrf2-Mediated Regulation of Skeletal Muscle Glycogen Metabolism. *Molecular and Cellular Biology*, 36(11), 1655-1672.
<https://doi.org/10.1128/MCB.01095-15>
- Willians, Cunningham Gary, L. K. (2011). *Williams_Obstetricia.Pdf* (pp. 15–20).