



**Universidad Autónoma de Tlaxcala**

---

---

**Posgrado en Ciencias Biológicas**

**Evaluación de la expresión del receptor de andrógenos en  
músculos pélvicos durante el metaestroy el proestro en la rata**

**T E S I S**

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

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

**Monica Pérez Sánchez**

**Director: Dr. Francisco Castelán**

Tlaxcala, Tlax.

Enero, 2021



**Universidad Autónoma de Tlaxcala**

---

---

**Posgrado en Ciencias Biológicas**

**Evaluación de la expresión del receptor de andrógenos en  
músculos pélvicos durante el metaestro y el proestro en la ratona**

**T E S I S**

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

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

**Nombre de la alumna**

**Monica Pérez Sánchez**

**Comité Tutorial**

**Dr. Francisco Castelán  
Dr. Octavio Sánchez García  
Dra. María de los Ángeles Carrasco Ruiz  
Dra. Dora Luz Corona Quintanilla**



Universidad  
Autónoma de  
Tlaxcala

**Posgrado en Ciencias Biológicas**  
Coordinación de la División de Ciencias Biológicas  
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado



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

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Mónica Pérez Sánchez** 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: **“Evaluación de la expresión del receptor de andrógenos en músculos pélvicos durante el metaestro y el proestro en la rata”**.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
TLAXCALA, TLAX., ENERO 26 DE 2021

\_\_\_\_\_  
DRA. DORA LUZ CORONA QUINTANILLA

\_\_\_\_\_  
DR. FRANCISCO CASTELÁN

\_\_\_\_\_  
DRA. LETICIA NICOLÁS TOLEDO

\_\_\_\_\_  
DR. OCTAVIO SANCHEZ GARCÍA

\_\_\_\_\_  
DRA. MARÍA DE LOS ÁNGELS CARRASCO RUIZ



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



Esta tesis se realizó bajo la dirección del Dr. Francisco Castelán en la Unidad Foránea de Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, con sede en el Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala. Fue dirigida por el Dr. Francisco Castelán y en el Comité Tutoral participaron los Dres. Dora Luz Corona Quintanilla, Octavio Sánchez García y María de los Ángeles Carrasco Ruiz. Durante el desarrollo experimental se contó con apoyo técnico del Biol. Jesús Ramsés Chávez Ríos y la Q.F.B Laura García.

El Consejo nacional de Ciencia y Tecnología otorgó una beca a Monica Pérez Sánchez para cursar los estudios de maestría en el Programa en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, debido a que cuenta con reconocimiento del Padrón Nacional de Posgrados de Calidad.

## **Agradecimientos**

Al Dr. Francisco Castelán por haberme aceptado en su laboratorio y grupo de trabajo a pesar de las adversidades que podría tener al aceptarme con un año para terminar la maestría, por sus enseñanzas y tiempo dedicado, por sus palabras de aliento en los tutorales, por ser una gran persona, siempre preguntando por el bienestar de sus alumnos, agradezco las convivencias que no fueron muchas pero que disfrute cada una, supe lo que era trabajar en equipo y lo mejor encontré con mi director la confianza de expresar mis problemas académicos y personales. Nunca lo olvidare Dr. Paco, siempre lo recordare con respeto y admiración, agradezco su forma de ser. Muchas gracias.

A mis sinodales por su tiempo dedicado en cada tutorial por compartir su conocimiento y recomendaciones, aprendí mucho de cada uno de ustedes, gracias.

A mis compañeros de laboratorio, Sharet, Guadalupe, Mayra, Iván y Emanuel por su paciencia al enseñarme las metodologías, agradezco su apoyo en cada experimento, gracias por las convivencias y por hacerme parte de su grupo.

Al biólogo Ramsés y a la Dra. Angie por su tiempo y apoyo brindado en el laboratorio, muchas gracias por sus enseñanzas.

Agradezco al Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta (CTBC), y a todos sus integrantes por haberme dado la oportunidad de entrar a la maestría y aprender muchas cosas de mis maestros y compañeros.

Agradezco a CONACyT por las facilidades otorgadas.

## **Dedicatoria**

En primer lugar, quiero agradecer a mis padres Micaela y Lázaro por darme la vida y sustento, por hacerme una persona de bien, por forjar en mis valores, por todos los momentos felices en familia, agradezco a mis hermanos por sus palabras de éxito y superación, cada uno desde donde este agradezco su apoyo los amo mucho a todos, y a todos ustedes les dedico este logro.

Por último, quiero agradecer y dedicar este logro a mi novio Hector que siempre estuvo a mi lado apoyándome, dándome fuerzas cuando todo parecía derrumbarse, por regalarme su tiempo, por cada momento que pasamos juntos, por sus palabras de aliento y amor. Porque lo amo y agradezco haberlo conocido.

# ÍNDICE

RESUMEN.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
MARCO TEÓRICO.....	7
Músculos pélvicos.....	8
Receptores nucleares.....	10
Andrógenos y su receptor.....	11
Topología del receptor de andrógenos.....	12
Mecanismo de acción del RA.....	14
Modelos animales.....	15
Ciclo estral de la rata.....	16
ANTECEDENTES.....	19
JUSTIFICACIÓN.....	21
HIPÓTESIS.....	22
OBJETIVOS.....	23
Objetivo general.....	23
Objetivo específico.....	23
METODOLOGÍA.....	24
Animales.....	24
Inmunodetección en fase sólida del receptor de andrógenos.....	24
Análisis estadístico.....	26
RESULTADOS.....	27
Parámetros morfométricos.....	27
Detección del receptor de andrógenos en testículo.....	28
Niveles de expresión del receptor de andrógenos.....	29
DISCUSIÓN.....	32
CONCLUSIONES.....	37
REFERENCIAS.....	38

## RESUMEN

Los músculos del piso pélvico de la rata cumplen funciones excretoras, reproductivas y sexuales y su disfunción está asociada con disfunciones uroginecológicas como la incontinencia urinaria de esfuerzo y el prolapso de órganos pélvicos. El papel de las hormonas gonadales en la estructura y función de estos músculos ha sido inadecuadamente abordada y, en ello, destaca la pobre información acerca de sus receptores específicos. En la rata, andrógenos como la testosterona y la dihidrotestosterona (DHT) han sido asociados con la hipertrofia de las miofibras del músculo pubococcígeo. Al respecto nuestro grupo de trabajo ha reportado que el área transversal de la fibra del músculo pubococcígeo incrementa durante el proestro en comparación con el metaestro. Dado que ello no ocurre con el músculo iliococcígeo, hemos hipotetizado que la expresión de receptores de andrógenos en ambos músculos es diferente durante las fases de metaestro y proestro. El objetivo de esta tesis fue determinar la expresión total del RA en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo en las fases de metaestro y proestro del ciclo estral de la rata. Para ello utilizamos ratas hembra de la cepa Wistar que fueron sacrificadas para extraer los músculos iliococcígeo y pubococcígeo en cada una de esas fases del ciclo estral. Los músculos extraídos se utilizaron para analizar la expresión del receptor de andrógenos mediante inmunodetección en fase sólida (*Western blot*). Los resultados indicaron que no hay diferencia en la expresión total del receptor de andrógenos de ambos músculos al comparar entre el metaestro y el proestro. Tampoco observamos diferencias cuando se comparó esta expresión entre cada músculo y descartando las fases del ciclo estral. Estos resultados constituyen el primer reporte de la expresión del receptor de andrógenos en más de un músculo pélvico de la rata. La aparente insensibilidad de este receptor a los cambios hormonales del ciclo estral es un aspecto de interés para experimentos futuros.

## INTRODUCCIÓN

El sistema muscular cumple una función importante en la vida del ser humano. Entre los músculos esqueléticos se encuentran los del piso pélvico cumpliendo funciones relacionadas con el parto, la micción y la defecación; el mal funcionamiento de estos músculos conlleva a diferentes patologías que repercuten en la sociedad entre las que destaca la incontinencia urinaria.

Las hormonas esteroides permiten integrar una comunicación bidireccional entre el componente nervioso y el músculo incrementando su desempeño. Los andrógenos al unirse con su receptor regulan la transcripción de ciertos genes. Algunas de sus funciones son bien conocidas en músculos de las extremidades, sin embargo, se desconoce cómo afecta la fisiología de los músculos esqueléticos del piso pélvico.

El presente trabajo se desarrolló para evaluar la expresión del receptor de andrógenos en los mPc y mIc en la rata hembra durante las fases de metaestro y proestro del ciclo estral. El grupo de trabajo ha demostrado que hay sensibilidad androgénica diferente en los músculos esqueléticos del piso pélvico y se ha observado que en la fase de proestro hay un incremento del área transversal de las fibras del mPc pero no del mIc. Con relación a lo anterior se evaluó la presencia de la expresión del receptor de andrógenos en los dos músculos de estudio, debido a que los andrógenos representan un blanco terapéutico de algunos trastornos pélvicos relacionados con el debilitamiento de músculos esqueléticos.

## MARCO TEÓRICO

Los músculos realizan funciones de gran importancia para mantener la supervivencia y calidad de vida, entre ellas el movimiento, la producción de calor y el mantenimiento de la postura.

El cuerpo humano realiza dos tipos de movimientos: los voluntarios como correr, caminar, hablar y los involuntarios, realizados por órganos internos, como el estómago, las arterias, el diafragma y el corazón. De acuerdo al tipo de movimiento, los músculos se clasifican en: a) estriados, unidos a los huesos, son de contracción rápida y voluntaria, sin embargo, son más fuertes y sensibles a la fatiga; b) lisos, componen una parte de los órganos internos, a pesar de su movimiento constante no sufren fatiga, presentan contracción involuntaria; c) cardiaco, localizado en el corazón, presenta contracción autonómica.

El sistema muscular está formado por células especializadas llamadas miofibras que participan en la conversión de la energía química en fuerza contráctil; son capaces de estirarse sobre su eje de contracción. La célula se encuentra cubierta por una membrana estimulable llamada sarcolema, mientras su citoplasma se denomina sarcoplasma y en ella existen un gran número de mitocondrias grandes y abundantes gránulos de glucógeno. Una característica especial es la presencia de filamentos proteicos contráctiles distribuidos por toda la célula: se clasifican en finos y gruesos. Los filamentos gruesos consisten en una proteína la actina, de forma fibrilar, aunque también puede ser de forma globular; los finos consisten en otra proteína, la miosina. Cuando los miofilamentos se agrupan se conocen como miofibrillas. (Le Vay D. 2008).

El sistema muscular incluye los músculos de piso pélvico, implicados en procesos reproductivos y excretorios en mamíferos.

## Músculos pélvicos

El suelo pélvico es un conjunto de músculos que sustentan la porción abdominal inferior y sirven de apoyo a la vejiga, el útero y una porción del intestino. Es fundamental que esta musculatura mantenga una buena función, ya que la debilidad del suelo pélvico es causa de incontinencia urinaria de esfuerzo, cisto y rectocele, prolapsos genitales, disfunciones sexuales (dispareunia, disminución de la sensibilidad e intensidad del orgasmo). La lesión o debilidad de la musculatura perineal puede estar ocasionada por diversas causas.

La pelvis se divide en pelvis mayor y pelvis menor o pelvis verdadera. Esta última está delimitada anterolateral por los huesos isquion y pubis, a su vez, por partes del hueso coxal y posteriormente por los huesos sacro y coxal (Orlandi y Ferlosio 2014). La pelvis es un espacio que se continúa con la cavidad abdominal y contiene los órganos de distintos sistemas, tanto del sistema urinario (vejiga y uretra), sistema genital o reproductivo (útero, anexos y vagina en la mujer), y sistema digestivo en su extremo más distal (recto y ano) (Wagnlehner y cols. 2010).

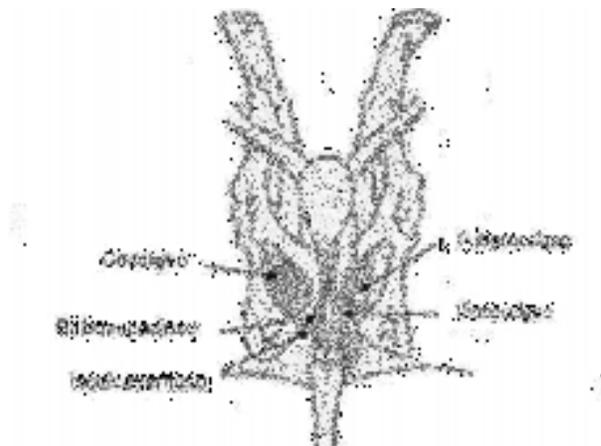
Los músculos del piso pélvico sirven de sostén a la vejiga y le ayudan a controlar el flujo de la orina. El funcionamiento normal de la vejiga depende de la función normal del músculo detrusor durante el almacenamiento y las fases de vaciado (Cimentepe y cols. 2013). Hay una íntima relación entre estas estructuras no solo por representar un soporte mecánico estático, sino además una estructura dinámica que participa en la continencia urinaria y fecal (Carrillo y Sanguineti 2013).

Los músculos del periné son las principales estructuras encargadas de sostener los órganos pélvicos y de mantener la continencia, estos se dividen en una capa profunda y una superficial. La capa profunda, también denominada diafragma pélvico, está conformada por el músculo elevador del ano (iliococcígeo, pubococcígeo y coccígeo). El pubococcígeo se origina del pubis, arco tendinoso y se inserta en el cóccix, el iliococcígeo tiene origen en el arco tendinoso hasta la espina isquiática y se va a insertar en los dos últimos segmentos del cóccix; por último, el coccígeo se origina de la espina isquiática, insertándose en el sacro y el cóccix, cuya función es el mantenimiento del cuello uterino en su posición (Drake y

cols. 2005). La disposición de estos músculos alrededor de la uretra se asimila a una hamaca, proporcionando sostén a la vagina y al recto. Están conformados por fibras de tipo I de contracción lenta, que permanecen contraídos estando de pie para contener las vísceras al mantenerse en contracción en todo momento y fibras tipo II que, tras aumentos repentinos de presión, se activan asegurando que no haya alguna pérdida de orina (Tortora y Derricksson 2013).

Los músculos pélvicos participan en la micción, la defecación y algunas funciones sexuales como la cópula y el parto (Barber y Matthew 2005).

En la rata la musculatura pélvica comprende el músculo iliococcígeo (mlc), pubococcígeo (mPc) y el coccígeo (mCc) (Poortmans y Wyndaele 1998) (Figura 1), los dos primeros son músculos de la cola que están conformados por fibras rápidas principalmente. El mPc se origina en la cara interna del hueso pélvico a nivel del acetábulo y se inserta en la tercera y cuarta vertebra caudal (Brink y Pfaff, 1980). Las fibras del mlc tienen su origen en el borde ventromedial del eje posterior a la muesca glútea a nivel del acetábulo.



**Figura 1.** Ilustración de músculos pélvicos de la rata hembra (Martínez Gómez y cols. 2012).

## Receptores nucleares

La superfamilia de receptores de hormonas nucleares, es un amplio grupo de proteínas cuya función es actuar como factores de transcripción para modular, de manera positiva o negativa, la expresión de genes involucrados en procesos de diferenciación, crecimiento, reproducción y metabolismo.

Dada su participación en procesos fisiológicos claves, las disfunciones asociadas con estos receptores tienen enormes implicaciones en enfermedades de elevada importancia en salud pública como la enfermedad cardiovascular, la diabetes mellitus tipo 2 y el cáncer, entre otras.

Todos los miembros de la superfamilia de receptores nucleares comparten una organización estructural que puede dividirse en tres regiones o dominios funcionales:

- Una región N-terminal (dominio A/B), que varía en secuencia y longitud entre los diferentes miembros y contiene determinantes estructurales para la interacción con la maquinaria de transcripción basal y la regulación de su actividad.
- Una región muy conservada (dominio C, que también se conoce como DBD por las siglas del término en inglés *Dominio de Unión a ADN*), implicada en la unión a ADN a nivel de los elementos genéticos específicos localizados en la región reguladora de cada gen diana.
- Por último, una región moderadamente conservada a la cual se fija el ligando (o fármaco) de cada receptor (dominio de unión a ligando o LBD por sus siglas en inglés) (Robinson-Rechavi y cols. 2003, Germain y cols. 2006).

Los receptores nucleares se clasifican en similitud de sus ligandos en tres grupos:

- Receptores de esteroides (ER), donde se encuentra el receptor de andrógenos (RA), receptor de progesterona (PR) y receptor de glucocorticoides (GR) entre otros, éstos receptores se unen al ADN en forma de homodímeros, sus ligandos se sintetizan exclusivamente de fuentes endógenas endocrinas que son reguladas por el control de retroalimentación negativa del eje hipotálamo-hipófisis (Sandoval y cols. 2009, Cuesta 2012).
- Receptores que forman heterodímeros con el receptor del ácido retinoico (RXR), incluyendo el receptor tiroideo (TR) y el receptor de vitamina D (VDR) (Sandoval y cols. 2009, Cuesta 2012).
- Receptores huérfanos son llamados así porque no se tienen bien determinados sus ligandos fisiológicos (Sandoval y cols. 2009).

### Andrógenos y su receptor

Los andrógenos son esteroides constituidos por 19 átomos de carbono y presentan una estructura química de 4 anillos basada en el hidrocarburo policíclico ciclopentanoperhidrofenantreno (Nieschlag y cols. 2012).

Los andrógenos son los responsables del desarrollo del fenotipo masculino durante la embriogénesis, y de la adquisición de la maduración sexual en la pubertad. En la edad adulta son esenciales para el mantenimiento de la función reproductiva y la conducta sexual (Heemers y cols. 2005), también ejercen efectos metabólicos importantes sobre las proteínas, los carbohidratos y las grasas, por lo que

contribuyen al mantenimiento de la masa y la fuerza de los músculos, e intervienen en la regulación del hueso y en la de la masa grasa. La testosterona es el andrógeno activo en el músculo debido a la baja acción de la enzima 5 $\alpha$ -reductasa al no poder formar la DHT (Deslypere y Vermeulen 2005). La acción de la testosterona en los músculos es favorecer la hipertrofia de las fibras de tipo I y II, al estimular la síntesis de sus proteínas. El factor de crecimiento similar a la insulina IGF-I y las células satélites intervienen en el engrosamiento de la masa muscular, lo cual, es posible por la acción de la testosterona (Chen y cols. 2005).

Los andrógenos en los hombres participan en diversos procesos fisiológicos desde la diferenciación sexual durante la vida intrauterina hasta el desarrollo de caracteres sexuales secundarios en la pubertad, inicio y mantenimiento de la espermatogénesis y desarrollo de masa muscular, entre otros. En mujeres los andrógenos provienen de las glándulas adrenales y los ovarios (Arlt 2006), en estos últimos las células tecaes en respuesta a la LH producen testosterona y androstenediona. La importancia de los andrógenos en el ovario consiste en convertir estos esteroides en estrógenos mediante la aromatasa (Dorrington y cols.1975). Los andrógenos principales en las mujeres en condiciones normales son la androstenediona, testosterona (To), DHEAS y DHEA. En el hombre los principales son la testosterona y la dihidrotestosterona (DHT) (Levalle y Lalosa 2015). La testosterona es el andrógeno más común en la sangre, sus niveles se encuentran regulados por el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal (Kaprra y Huhtaniemi 2018).

#### Topología del receptor de andrógenos

El RA constituye una proteína de 110 kDa, que forma parte de la súper familia de los Receptores Nucleares.

Se encuentra codificado en el brazo largo del cromosoma X (Xq11-12). El gen está constituido por 8 exones que codifican una proteína de 919 aminoácidos. El exón 1

presenta dos repeticiones polimórficas (CAG y GGN) que codifican segmentos variables de poliglutamina y poliglicinas (Figura 2), ubicadas en el extremo amino terminal que constituye el dominio de transactivación independiente del ligando del receptor (Dominio amino terminal: DNT). Estas dos regiones polimórficas están separadas por una secuencia no polimórfica de 248 aminoácidos (Chang 1988, Brinkmann 2001).

CAG es una repetición de longitud variable (entre 8-35 repeticiones) y su longitud se correlaciona inversamente con la actividad del RA, GGN es una repetición compleja de (GGT) GGG(GGT)(GGC), que varían en una longitud de 0 a 30 repeticiones.

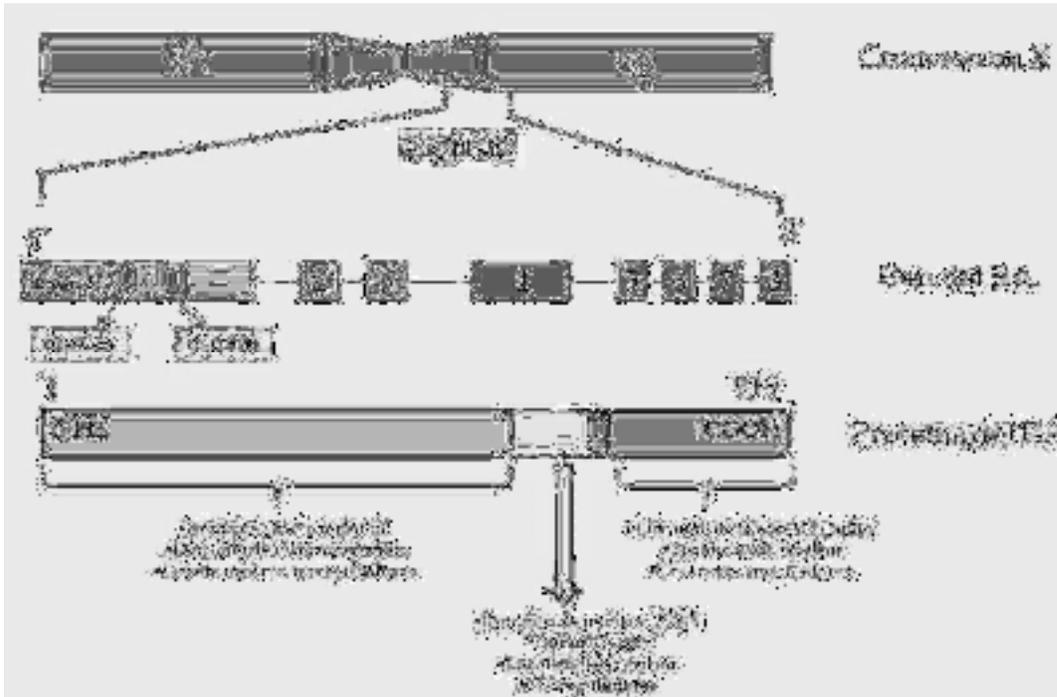
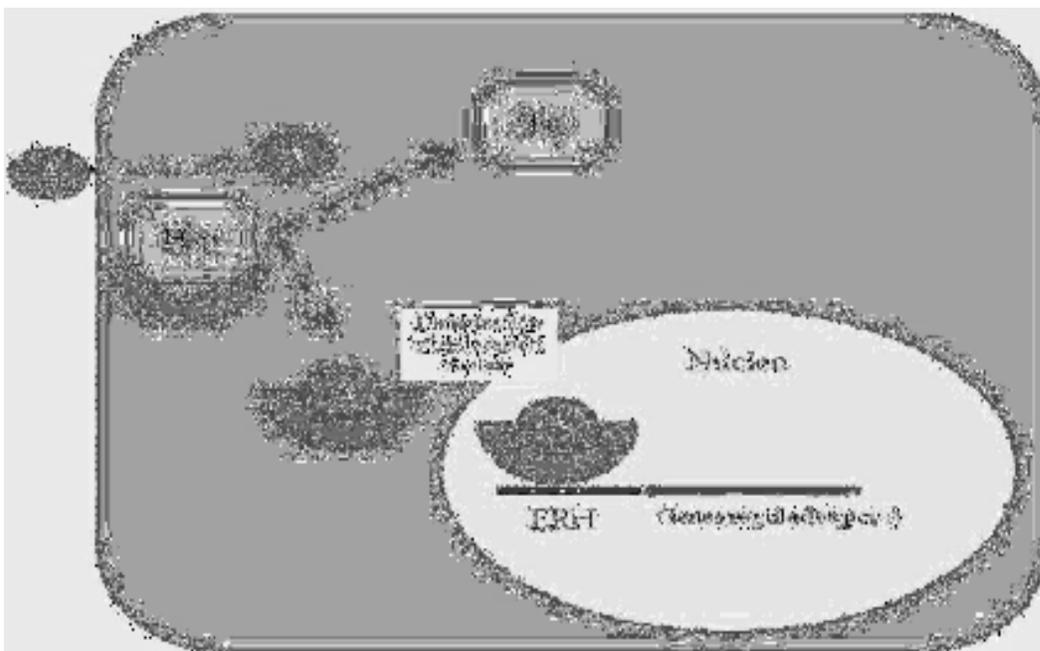


Figura 2. Esquema de la organización cromosómica, genética y proteica del receptor androgénico (RA) (Brinkmann 2001).

## Mecanismo de acción del RA

Los RA son factores de transcripción que se activan cuando se da la unión con su ligando, son capaces de modular la expresión génica al unirse a elementos de respuesta a andrógenos ubicados en el ADN (Matsumoto y cols. 2013).

El RA en ausencia de ligando se encuentra inactivo en el citoplasma, unido a proteínas de Shock térmico (Hsp70 y Hsp90) y sus chaperonas formando un complejo dinámico. En presencia de ligando se produce la disociación del receptor y las Hsp y se da la unión al andrógeno, se dimeriza del receptor y se forman homodímeros, se translocan al núcleo y se unen al ADN en los elementos de respuesta a la hormona, para facilitar la transcripción o no de los genes regulados por los andrógenos (Figura 3)(Dehm y Tindall 2007).



**Figura 3.** Mecanismo acción del RA (Brinkmann y cols. 1989).

Existen correguladores del RA como las enzimas que modifican histonas induciendo modificaciones epigenéticas como la acetilación, metilación, fosforilación, ubiquitinación, glicosilación y ribosilación del ADP (Bennett y cols. 2010). También ha sido reportado el importante efecto de las enzimas demetilasa KMD1A al encargarse de la demetilación de la lisina 9 en la histona 3 (K9H3) para inducir la activación de la transcripción (Metzger y cols. 2005). Hay otros tipos de correguladores del AR, son proteínas involucradas en el splicing y degradación del ARN, reguladores del ciclo celular y la apoptosis, proteínas quinasas y fosfatasas, supresores tumorales, oncogenes entre otras (Matsumoto y cols. 2013).

## Modelos animales

El animal de laboratorio es una de las piezas fundamentales en las ciencias biomédicas. Son usados como modelos para investigar y comprender las causas, diagnóstico y tratamiento. Por ello, representan un elemento fundamental en el desarrollo de importantes avances para la prevención y tratamiento de enfermedades.

Entre los animales más usados como modelos se encuentran las ratas, éstas tienen particularidades que las hacen favorables como animal de laboratorio. Se encuentran exactamente caracterizadas desde los diferentes puntos de vista anatómico, fisiológico y genético.

Son animales que se adaptan perfectamente, son fáciles de cuidar y manejar, el peso promedio del macho adulto es de 250 a 520g, las hembras suelen ser de menor talla.

Tienen una reproducción rápida, el ciclo estral de la hembra dura de 4 a 5 días, el celo dura aproximadamente 12h y se produce generalmente durante la noche. La gestación tiene una duración de 20 a 22 días, el tamaño de la camada varía de acuerdo a la cepa, pero generalmente es de 6 a 12 crías.

## Ciclo estral de la rata

En la rata hembra, las variaciones cíclicas de su actividad reproductora tiene un lapso de tiempo mucho más corto que en la mujer. El cambio se refleja en el epitelio vaginal los cuales se repiten cada cuatro días, como consecuencia de la secreción ovárica de hormonas esteroides. Las fases que se distinguen en el ciclo estral son las siguientes:

**Estro:** la duración de esta fase consta de 24-48h. el epitelio vaginal se caracteriza por presentar principalmente células queratinizadas y sin núcleo. En esta etapa se lleva a cabo la ovulación (Tsafriiri y Kraicer 1972), y el folículo postovulatorio comienza a estructurarse como cuerpo lúteo, mientras se desarrolla una nueva serie de folículos.

**Metaestro:** esta fase presenta una duración de 6-8h (Grasso y cols. 1998). El epitelio vaginal se distingue por la presencia de neutrófilos y células queratinizadas sin núcleo. En esta etapa hay una inhibición de la secreción de gonadotropinas por la presencia de progesterona y estradiol.

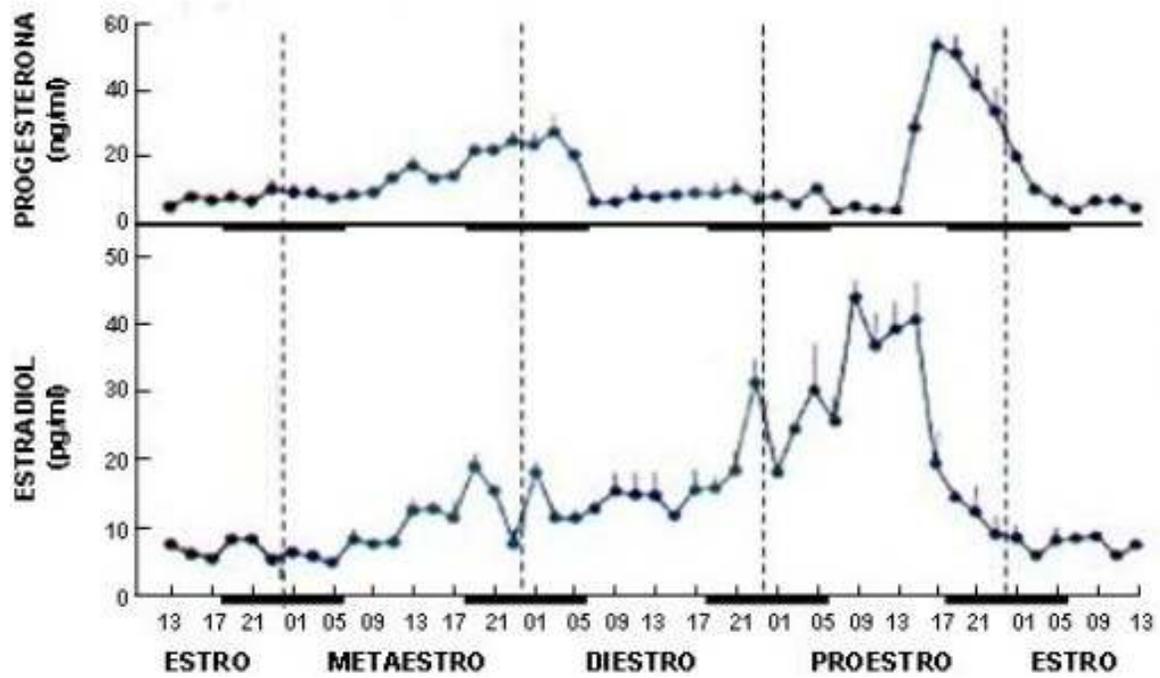
**Diestro:** es la fase más larga que presenta el ciclo con una media de duración de 48-72h (Grasso y cols. 1998). Se diferencia por el decremento de células queratinizadas y por el incremento de neutrófilos. En esta fase se da la regresión funcional del cuerpo lúteo cuando no hay copula.

**Proestro:** es la fase más corta del ciclo con un lapso medio de 14h. el epitelio vaginal se distingue por la presencia de células epiteliales uniformes con núcleo (Grasso y cols. 1998). Durante esta fase los folículos pasan a ser folículos preovulatorios secretando gran cantidad de estradiol estimulando la secreción de gonadotropinas.

La conducta sexual de las ratas depende de la secreción de hormonas sexuales. La concentración sérica de estradiol alcanza su máximo nivel en la fase proestro en comparación con la concentración mínima registrada en el metaestro (tesis de doctorado).

En el ovario, los andrógenos son la fuente para la producción de estrógenos (estradiol y estrona) usando el complejo enzimático citocromo P450 aromatasa.

Igualmente, en el ovario se produce la dehidroepiandrosterona circulante (DHEA), la cual, se convierte en testosterona o estrógeno en los tejidos diana. Se ha demostrado que los músculos esqueléticos son capaces de sintetizar localmente la DHEA circulante en testosterona y estrógeno. La testosterona se convierte en 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona (DHT) por la 5 $\alpha$ -reductasa y así ejercer acciones biofisiológicas al unirse a los receptores de andrógenos. El músculo esquelético es capaz de sintetizar DHT a partir de la testosterona y también puede activar la vía de señalización relacionada con el metabolismo de la glucosa (Glut-4) (Sato y cols. 2007).



**Figura 4.** Diagrama de las concentraciones plasmáticas de progesterona y estradiol, lo largo del ciclo estral de la rata (Smith y cols. 1975) (tomado de la tesis de doctorado de Carrasco-Ruiz, 2017)

## ANTECEDENTES

Copas y colaboradores en el 2001 realizaron un estudio para conocer la expresión del receptor de estrógenos, progesterona y andrógenos en el músculo elevador del ano y la fascia. El estudio incluyó a 55 mujeres sometidas a cirugía por daño ginecológico (asintomáticas, n=10) o uroginecológicas (sintomáticas, n=45). Las asintomáticas y 21 mujeres sintomáticas no recibieron terapia de reemplazo hormonal (TRH). Las restantes 24 mujeres sintomáticas recibieron alguna forma de TRH. Se obtuvieron biopsias del músculo elevador del ano y la fascia suprayacente, se hicieron mediciones cuantitativas de la tinción inmunohistoquímica mediante el análisis de imágenes. Ninguna de las muestras del músculo elevador del ano mostró evidencia de expresión de ER nuclear en fibras musculares estriadas, pero sí en algunas células del estroma muscular. Sin embargo, si se encontró expresión de progesterona (PR) y RA en células musculares y estromales. La fascia del elevador del ano mostró expresión nuclear de ER, PR, y RA en diversos grados. Hubo un aumento significativo en la expresión de RE en la fascia del elevador del ano de pacientes sintomáticos sin TRH en comparación con mujeres asintomáticas de la misma edad. La expresión de ER fue significativamente menor en mujeres sintomáticas posmenopáusicas que recibieron reemplazo de estrógenos a largo plazo en comparación con mujeres sin TRH de la misma edad. Finalmente se indica que la expresión de RE es significativamente mayor en mujeres sintomáticas en comparación con mujeres asintomáticas de la misma edad.

Johansen y colaboradores en el 2007, realizaron un estudio para observar la expresión del receptor de andrógenos en el músculo elevador del ano de ratones machos, examinando la expresión de RA en los músculos esqueléticos de ratones machos adultos C57 / B1J6 usando inmunotransferencia e inmunocitoquímica, comparando el bulbocavernoso (BC) y el elevador del ano (LA) con el extensor largo de los dedos (EDL) que no responde a los andrógenos. Encontrando diferencias similares en la expresión de RA para estos músculos en el ratón como se ha informado para las ratas. En ratones, el BC / LA contiene más proteína RA que el EDL. A nivel celular, el LA contiene un mayor porcentaje de fibroblastos y

mionúcleos positivos para AR que el EDL. Finalmente, la expresión de RA se enriquece en la unión neuromuscular de las fibras LA de ratón. El aumento de la expresión de RA en el LA en comparación con el EDL tanto en fibras musculares como en fibroblastos indica que cada tipo de célula puede mediar críticamente la acción de andrógenos en el sistema núcleo espinal del bulbocavernoso en ratones.

Monks y colaboradores en el 2008, realizaron un estudio para medir la inmunorreactividad del receptor de andrógenos (RA) en el músculo esquelético, comparando la distribución celular de los núcleos positivos al RA en el músculo elevador del ano altamente sensible a los andrógenos con el músculo extensor digitorum longus (EDL) que no responde a los andrógenos. Encontrando que la capacidad de respuesta a los andrógenos se correlaciona con la expresión de AR en las fibras musculares y no en los fibroblastos. Los resultados indican que un porcentaje mucho más alto de mionúcleos en el músculo elevador del ano son (+) a RA que en EDL (74% vs. 7%), correlacionando con diferencias en la respuesta a los andrógenos. Ambos músculos contienen una proporción equivalente de fibroblastos RA (+) (aproximadamente 62%). No se observaron núcleos RA (+) en las células terminales de Schwann en ninguno de los músculos. Estos resultados sugieren que los AR dentro de las fibras musculares del elevador del ano median la supervivencia y el crecimiento dependientes de andrógenos del músculo y sus motoneuronas.

## **JUSTIFICACIÓN**

La musculatura pélvica juega un papel importante en procesos excretores y reproductivos. Existen diversos factores de riesgo que conducen a la incontinencia urinaria y a otros trastornos a raíz de esta patología, debido a ello, es necesario generar conocimiento básico evaluando la presencia de receptores en los músculos del piso pélvico, así como la acción que realizan, esto para poder generar en un futuro estrategias de reemplazo hormonal que no sean agresivas a la salud de las personas.

## **HIPÓTESIS**

Mientras que la expresión del receptor de andrógenos en el músculo pubococcígeo de la rata en proestro es mayor que en el metaestro, la del músculo iliococcígeo no se modifica.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

Determinar la expresión total del RA en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo en las fases de metaestro y proestro del ciclo estral de la rata.

### Objetivo específico

Evaluar la expresión del RA mediante la técnica de inmunodetección en fase sólida (*Western blot*) en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo de la rata hembra durante el metaestro y el proestro.

## METODOLOGÍA

### Animales

Se utilizaron 11 ratas de 3 meses de edad de la cepa *Wistar* alojadas individualmente en cajas de polipropileno (37x27x16 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 total de animales se dividieron en 2 grupos, metaestro (n=6) y proestro (n=5), de acuerdo con la fase del ciclo estral en la que fueron sacrificados. Las ratas se asignaron a cada grupo después de 3 a 5 ciclos regulares. Para determinar la fase del ciclo estral se realizaron citologías vaginales diariamente entre las 9:00 y 10:00 h. El sacrificio de los animales se hizo con una sobredosis de pentobarbital sódico (120 mg/kg, i.p.). Se registró el peso corporal y el peso húmedo de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo. La identificación y disección de los músculos se hizo partiendo de la descripción en Carrasco-Ruiz y cols. (2018). Inmediatamente después de la extracción de cada músculo se procedió a su congelamiento inmediato y se almacenó a -80 °C hasta su procesamiento.

### Inmunodetección en fase sólida del receptor de andrógenos

El tejido fue homogenado en solución 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), 1mM PMSF y 1 mM ditiotreitól y utilizando un dispositivo electrónico; este procedimiento se realizó en baño de hielo. Los homogenados obtenidos fueron centrifugados a 15000g durante 30 min y a 4°C. Se recuperó el sobrenadante y la concentración de proteínas se determinó, por duplicado, mediante el método de Bradford.

La separación electroforética de las proteínas se realizó cargando 80 µg de proteínas totales (50 µg en el caso de extractos de testículo de rata como control

positivo) y utilizando geles de poliacrilamida y dodecil-sulfato de sodio (SDS-PAGE, 8%) de acuerdo al método de Laemmli (1970). Las proteínas fueron transferidas a una membrana de nitrocelulosa con el sistema Mini Trans-Blot Cell (Bio-Rad). Al finalizar la electrotransferencia, las membranas fueron incubadas con una solución 0.3% rojo de Ponceau (diluido en 1% ácido acético) para estimar que la cantidad de proteína cargada en cada carril fuera similar. Antes de desteñirla se realizaron fotografías que fueron utilizadas para normalizar los niveles del receptor de andrógenos (ver mas adelante). Con la membrana desteñida se procedió al bloqueo de uniones inespecíficas. Con tal fin, se incubó en una solución de 5% de leche descremada y 0.1% tween-20 en TBS (Tris-HCl Ph 7.4, NaCl 150 mM) por 60 min a temperatura ambiente. Al finalizar, las membranas se incubaron con el anticuerpo primario (polyclonal rabbit anti-human AR, cat. Santa Cruz Biotechnology) diluido 1:200 en 1% leche descremada y 0.1% tween-20 en TBS durante 16-18 h a 4°C. Después se incubaron con el anticuerpo secundario (goat anti-rabbit IgG-HRP sc-2004) diluido 1:2000 en 1% de leche descremada y 0.1% Tween 20 en TBS, durante 2 h a temperatura ambiente. Las bandas inmunorreactivas se revelaron utilizando un kit de quimioluminiscencia (SuperSignal West Pico, Pierce) y la exposición de placas radiográficas (KODAK) a las membranas. Las placas fueron fotografiadas y las imágenes almacenadas para ser utilizadas en análisis densitométrico.

La determinación de los niveles totales del receptor de andrógenos se hizo mediante densitometría utilizando el programa ImageJ (National Institutes of Health, USA). Para cada fotografía, la intensidad de las bandas inmunorreactivas anti-RA se cuantificaron en cada carril y se registraron en una hoja de Excel (Microsoft). Se localizó la imagen de la membrana teñida con rojo de Ponceau correspondiente a las bandas inmunorreactivas anti-RA y se cuantificó la densidad de, al menos, el 90% de cada carril; los datos obtenidos se registraron. El cociente de la relación entre la densidad de las bandas inmunorreactivas anti-RA y la del carril correspondiente teñido con rojo de Ponceau, representó los niveles de expresión relativa (en unidades arbitrarias, a.u.) del RA para cada músculo.

## Análisis estadístico

Los datos son la media  $\pm$  error estándar de la media (SEM) o la mediana y su intervalo de confianza 95%. La normalidad de los datos analizados se evaluó con una prueba de Kolmogorov-Smirnov. Cuando los datos se ajustaron a una distribución normal, las diferencias estadísticas entre las variables comparadas en el mestastro y el proestro se inspeccionaron con una prueba t de Student, de dos colas, para datos independientes. Cuando los datos se apartaron de una distribución normal, las diferencias significativas se evaluaron con una prueba U de Mann-Whitney. En cualquier caso, las diferencias significativas se aceptaron con un valor de  $p \leq 0.05$ . Todas las pruebas estadísticas se hicieron con el programa Prism 6 (GraphPad).

## RESULTADOS

### Parámetros morfométricos

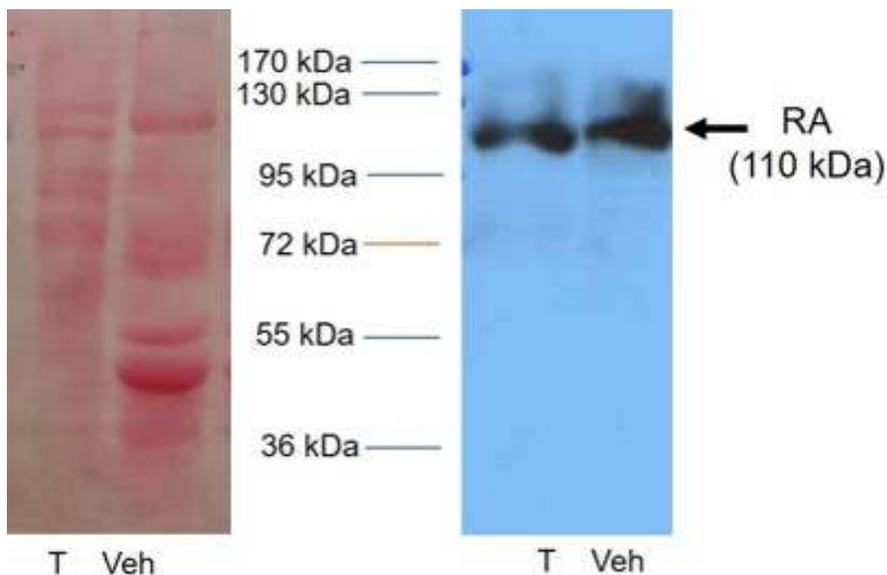
La Tabla 1 muestra los parámetros morfométricos de las ratas durante las fases de metaestro y proestro. No se observaron diferencias significativas entre el peso corporal, la longitud ni el ancho de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo entre las fases de metaestro y proestro.

	Metaestro	Proestro	Valor de p
<b>Peso corporal (g)</b>	229.7 ± 21.6	223.3 ± 16.3	0.8244
<i>Músculo pubococcígeo</i>			
<b>Peso (mg)</b>	76.1 (52.2-154)	72.5 (39.8-134.7)	0.7511
<b>Longitud (mm)</b>	18.8 ± 0.9	19.6 ± 1	0.5833
<b>Ancho (cm)</b>	4.4 ± 0.3	4.1 ± 0.2	0.5793
<i>Músculo iliococcígeo</i>			
<b>Peso (mg)</b>	64.6 (43.2-133.5)	71 (41.3-127)	0.9307
<b>Longitud (cm)</b>	10.4 ± 0.8	9.6 ± 0.2	0.6234
<b>Ancho (cm)</b>	4.3 ± 0.2	4 ± 0.2	0.4818

**Tabla 1.** Los datos muestran el promedio ± SEM o la mediana (intervalo de confianza a 95%) (n=6 para metaestro y n=5 para proestro). La comparación entre etapas del ciclo estral se realizó con una prueba t de Student de una cola para datos independientes o una prueba U de Man Whitney.

## Detección del receptor de andrógenos en testículo

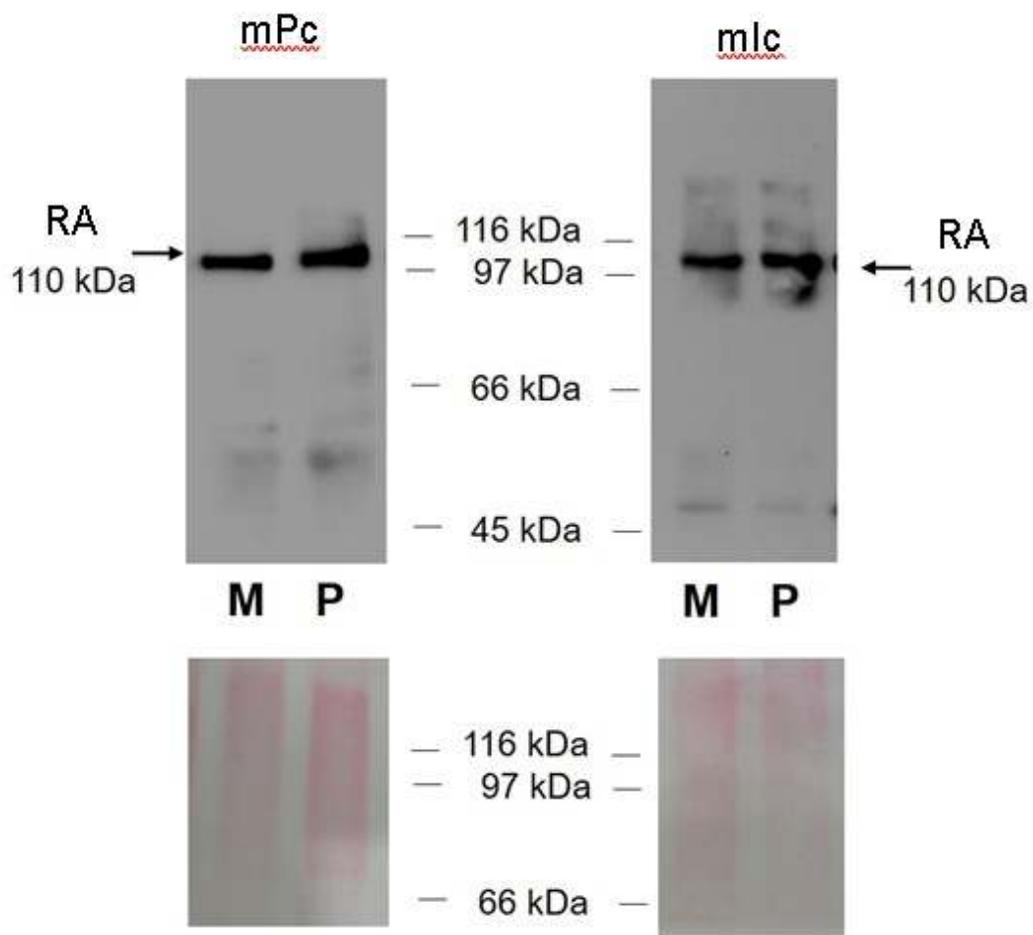
La Figura 5 muestra imágenes representativas de una placa autorradiográfica en la que se aprecian las bandas inmunorreactivas anti-RA en testículo de rata y la imagen correspondiente a la membrana teñida con rojo de Ponceau. En la placa autorradiográfica se indica una banda inmunorreactiva bien definida y de un tamaño molecular ~ 110 kDa que corresponde con la esperada para el RA. Este resultado es un indicador de la validez del anticuerpo anti-RA y las condiciones experimentales para realizar los ensayos de inmunodetección en fase sólida.



**Figura 5.** Expresión del receptor de andrógenos (RA) en testículo de rata. Fotografías representativas de a) la membrana teñida con rojo de Ponceau y b) la misma membrana una vez concluido el ensayo de inmunodetección.

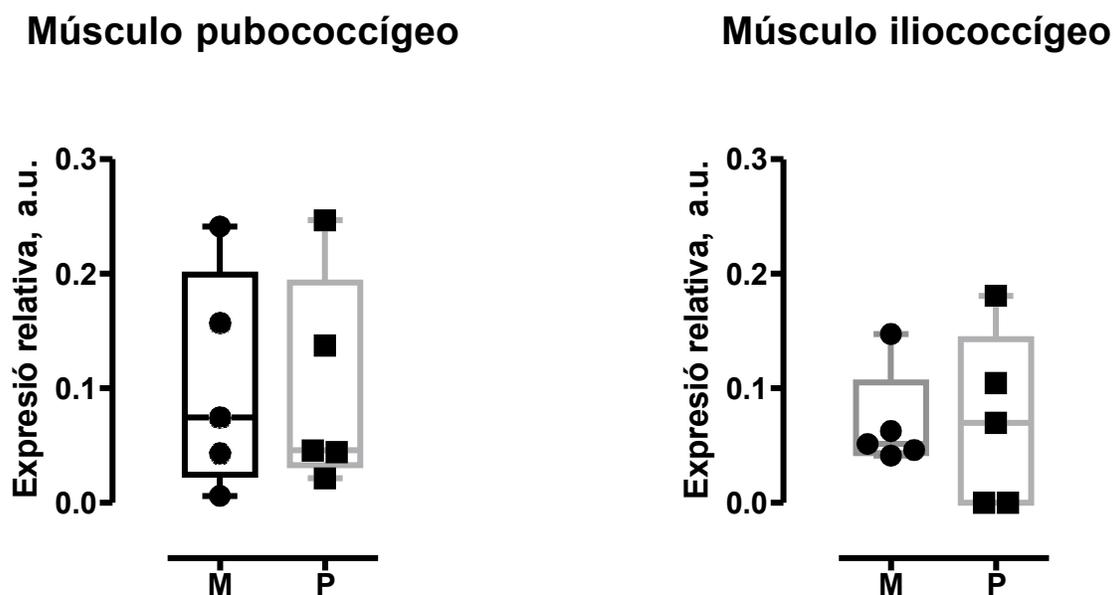
## Niveles de expresión del receptor de andrógenos

La Figura 6 muestra fotografías representativas de la expresión del receptor de andrógenos en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo de la rata hembra en el metaestro y el proestro. Las imágenes de las placas reveladas para ambos músculos muestran una banda predominante alrededor de los 110 kDa. Esta banda inmunorreactiva anti-RA estuvo presente en la fase de metaestro como de proestro.



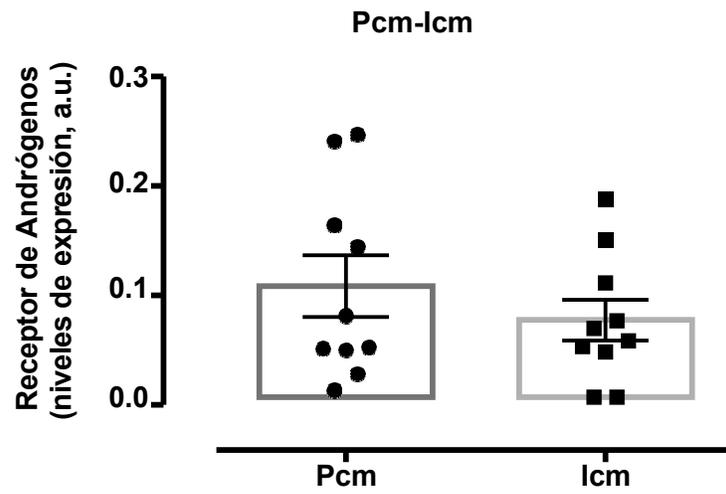
**Figura 6.** Expresión del receptor de andrógenos (RA) en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo de la rata hembra en las fases de metaestro y proestro. Fotografías representativas de a) la membrana teñida con rojo de Ponceau y b) la misma membrana una vez concluido el ensayo de inmunodetección.

Al comparar los niveles de expresión del RA del músculo iliococcígeo durante las fases de metaestro y proestro, no se observaron diferencias significativas (Figura 7A). Un hallazgo similar se obtuvo al comparar los niveles de expresión del RA en el músculo iliococcígeo (Figura 7B).



**Figura 7.** Niveles de expresión del receptor de andrógenos (RA) en los músculos iliococcígeo (mIc) y pubococcígeo (mPc) en las fases de metaestro y proestro. Las cajas la mediana y los rangos intercuartiles y las líneas los valores máximos y mínimos; se muestran también los valores individuales. *a.u.*, unidades arbitrarias.

Debido a que la etapa del ciclo estral en que se obtuvieron las muestras no influyó en los niveles de expresión del receptor de andrógenos, se realizó una comparación entre los niveles de expresión de cada músculo. Los resultados obtenidos indicaron que no hay diferencias estadísticas entre los niveles de expresión del receptor de andrógenos (Figura 8).



**Figura 8.** Niveles de expresi3n del receptor de andr6genos (RA) en los m6sculos iliococcygeo (lcm) y pubococcygeo (mPc). Los datos son la media  $\pm$  (SEM); se muestran tambi3n los valores individuales. *a.u.*, unidades arbitrarias.

## DISCUSIÓN

Los hallazgos de esta tesis confirman la expresión del receptor de andrógenos en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo de la rata hembra. También indican que los niveles de expresión son similares entre las fases de mestaestro y proestro y, al descartar la fase del ciclo estral, entre ambos músculos.

De acuerdo con los datos morfométricos reportados por Carrasco-Ruiz y cols. (2018), los hallazgos de esta tesis indican que no hay diferencias en lo que se refiere al peso corporal, largo y ancho de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo. En cierto modo, las condiciones de alimentación y alojamiento constantes y no haber realizado manipulaciones experimentales, las fluctuaciones hormonales a lo largo de 4 días de duración del ciclo estral (Butcher y cols. 1974), representarían estímulos que no parecen afectar estas variables.

Algunos trabajos previos han descrito la presencia del receptor de andrógenos en músculos del piso pélvico en mujeres y otras hembras de mamíferos (Copas y cols. 2001; Söderberg y cols. 2007; Chen y Hua 2008; Castelán y cols. 2020). Entre los métodos utilizados para analizarlos en especies animales están los estudios de radioligando, inmunohistoquímica y el tratamiento con agonistas y/o moduladores selectivos. Nuestros hallazgos, y los reportados por Carrasco-Ruiz (2017), utilizando la inmunodetección en fase sólida (*Western blot*), extienden este conocimiento y confirman que los músculos pélvicos son un blanco directo de andrógenos como la testosterona y la DHT. En este contexto, los efectos androgénicos descritos a nivel el área transversal de la fibra del músculo pubococcígeo (Lara-García y cols. 2011) y *levator ani* (Mammadov y cols. 2008) de la rata hembra pueden ocurrir directamente.

Algunos reportes indican que la activación de receptores de andrógenos participa en el metabolismo de carbohidratos y la síntesis de proteínas muscular (Fink y cols. 2017; Carrasco-Ruiz y cols. 2018). Ambos procesos son críticos para los efectos hipertróficos descritos a nivel de músculo completo y/o de las miofibras (Mammadov y cols. 2008; Lara-García y cols. 2011). En la rata hembra, nuestro

grupo de trabajo ha reportado que durante el proestro hay un crecimiento significativo del área transversal de las fibras del músculo pubococcígeo en comparación con el metaestro (Carrasco-Ruiz y cols. 2021). A pesar de que ambas etapas del ciclo estral se relacionan con niveles altos y basales de estrógenos, hallazgos en roedores ovariectomizados indican una relación con los niveles de andrógenos que también incrementan en el proestro (Lara-García y cols. 2011; Ponnusamy y cols. 2017; Carrasco-Ruiz y cols. 2021). En este contexto, y dado que el área de las miofibras del músculo iliococcígeo no cambia entre el metaestro y proestro ni se afecta por la ovariectomía, era posible suponer diferencias en los niveles del receptor de andrógenos.

Con frecuencia, las diferencias sexualmente dimórficas entre individuos se atribuyen a efectos de hormonas como los estrógenos y andrógenos, asumidas como femeninas y masculinas (Haizlip, Harrison, Leinwand, 2015). Ciertamente, ambas hormonas actúan a través de receptores específicos. Niveles suprafisiológicos de testosterona regulan a la alza la expresión del receptor de andrógenos en células musculares provenientes del vasto lateral en humanos (Sinha-Hikim y cols. 2004) y en la línea celular C2C12 (Wannenes y cols. 2008). En la rata macho, una regulación similar del receptor de andrógenos se observa en células de Leydig en respuesta a cuando dosis crecientes de testosterona (Kostic y cols. 2011). El complejo muscular *levator ani* de la rata macho representa el tejido por excelencia de acciones androgénicas y para evaluar los efectos de hormonas como testosterona y DHT en hipertrofia muscular (Ho y cols. 2004; Alvarado y cols. 2008). En este *levator ani*, el receptor de andrógenos co-localiza en la unión neuromuscular; su expresión se reduce después de la castración y se recupera al administrar testosterona (Monks y cols. 2004). Considerando toda esta información, y dado que los niveles de testosterona están elevados en el proestro (Butcher y cols. 1974), los hallazgos de esta tesis permiten rechazar la hipótesis propuesta en el estudio presente.

Al tratarse de un estudio de aproximación, los subsecuentes a esta tesis deberían considerar los siguientes aspectos. 1) Evaluar la expresión del receptor de

andrógenos en las cuatro etapas del ciclo estral ya que la elevación de los niveles de testosterona comienza en el diestro (Butcher y cols. 1974). 2) Determinar la fracción nuclear del receptor presente en los músculos iliococcígeo y el pubococcígeo; de ella se esperaría una relación directa con los efectos descritos a nivel del área transversal de la fibra en la rata hembra (Carrasco-Ruiz y cols. 2021). 3) Analizar los niveles de expresión del receptor de andrógenos en conjunto con los niveles intramusculares de testosterona y/o DHT; el ciclo estral también podría alterar las acciones intracrinas de ambas hormonas (Brandt y cols. 1990; Lephart y cols. 1992; Carrasco-Ruiz y cols. 2021). 4) Extender el análisis a otros músculos como el coccígeo dada el prominente incremento en su peso ante el tratamiento con moduladores selectivos del receptor de andrógenos en ratones macho (Ponnusamy y cols. 2017). 5) Determinar la inmunorreactividad anti-receptor de andrógenos con el fin de identificar las estirpes celulares y posibles modificaciones a lo largo del ciclo estral. 6) Considerar el uso de ratas hembra ovariectomizadas y tratadas con dosis fisiológicas y supra fisiológicas de agonistas, como la testosterona y/o la DHT, y antagonistas como la flutamida.

En ratones macho, la expresión del receptor de andrógenos en el complejo muscular bulbocavernoso/levator ani es mayor que en el extensor largo de los dedos, el soleo y el gastrocnemio (proteína: Johanssen y cols. 2007; RNA: Rana y cols. 2014). En la rata neonata, la expresión del receptor de andrógenos en células satélite del complejo *levator ani* es similar entre machos y hembras (Swift-Gallant y Monks 2013). Los datos de esta tesis mostraron que la expresión total del receptor de andrógenos en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo no es significativamente diferente; este hallazgo constituye el primer reporte al respecto de la comparación entre más de un músculo del piso pélvico de la rata hembra. De manera similar a lo reportado para el *levator ani* de ratones macho (Johanssen y cols. 2007), comparación con músculos externos al piso pélvico ofrecería un panorama relevante sobre la sensibilidad androgénica relativa del iliococcígeo y pubococcígeo en la rata hembra.

Una de las limitaciones inherentes en este estudio ha sido la falta de alguna variable que permitiera relacionar cambios en efectores relacionados con la activación del receptor de andrógenos. Quizá una de las más útiles habría sido monitorear la hipertrofia de las miofibras, reportada para el músculo pubococcígeo (Lara-García y cols. 2011) y el "*levator ani*" de la rata hembra (Mammadov y cols. 2008). Ciertamente, las ratas utilizadas para esta tesis incluyen una subpoblación de las utilizadas para evaluar cambios en el área transversal de la fibra de los músculos iliococcígeo y pubococcígeo entre el metaestro y proestro (Carrasco-Ruiz y cols. 2021). Dado que el área transversal de la fibra del pubococcígeo incrementa en el proestro, los resultados de esta tesis permiten sugerir que tal efecto no está relacionado con la expresión total del receptor de andrógenos, al menos en las etapas del ciclo estral evaluadas. Los datos para el iliococcígeo también apoyarían esta propuesta. Experimentos futuros deberían explorar la posibilidad de evaluar efectores celulares directamente relacionados con la hipertrofia asociada con andrógenos de las fibras observada para el músculo pubococcígeo, como el caso de y/o los relacionados con la activación de cinasas como PI3K y mTOR (Basualto-Alarcón y cols. 2013; Fink y cols. 2017). En cuanto a la aparente falta de relación entre el tamaño de la fibra y la expresión del receptor de andrógenos en el músculo iliococcígeo, sería necesario considerar una interrelación entre acciones iniciadas por andrógenos, estrógenos y, quizá, progestinas (Lara-García y cols. 2011). Otra propuesta podría explorar alteraciones en la comunicación intracrina que pudiera desajustar la disponibilidad intramuscular de andrógenos, incluido la DHT, y estrógenos (que reducen el área de la miofibra). Esta posibilidad ha sido explorada en nuestro grupo de investigación administrando sistémicamente un bloqueador de la actividad aromatasa (Carrasco-Ruiz y cols. 2021). Sin embargo, solo una población menor de las fibras del músculo iliococcígeo parecen sensible a esta manipulación (Carrasco-Ruiz y cols. 2021).

Para comprender la fisiopatología de disfunciones del piso pélvico femenino hay que comprender los cambios fisiológicos que ocurren a lo largo del período de vida de la mujer. Las hormonas gonadales desempeñan acciones organizacionales y activacionales involucradas en las funciones del piso pélvico (Huseynov y cols.

2016). Así, el conocimiento de acciones promovidas por andrógenos, estrógenos, y progestinas, entre otras hormonas, y sus receptores (Castelán y cols. 2020), permiten identificar su contribución en la plasticidad de músculos del piso pélvico, alterada en casos de incontinencia urinaria de esfuerzo y prolapso de órganos pélvicos. Los hallazgos de esta tesis contribuyen a conocer la expresión del receptor de andrógenos en un contexto relevante para la historia de vida de las hembras mamíferos. Además, los hallazgos proveen un punto de referencia para discutir con profundidad la relevancia que tiene evaluar la expresión del receptor de andrógenos en mujeres que padecen trastornos del suelo pélvico (Copas y cols. 2001; Söderberg y cols. 2007; Chen y cols. 2008; Kim y Kreydin, 2018) y proponer tratamientos que modulen acciones androgénicas en músculos del piso pélvico (Ho y cols. 2004).

## **CONCLUSIONES**

1. El receptor de andrógenos se expresa en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo de la rata hembra.
2. La expresión total del receptor de andrógenos en los músculos iliococcígeo y pubococcígeo no es diferente entre el el metaestro y proestro de la rata.

## REFERENCIAS

1. Alvarado, M. 2008. Effect of gonadal hormones on the cross-sectional area of pubococcygeus muscle fibers in male rat. *Anatomical record*. 291:586–592.
2. Arlt.W. 2006. Androgen therapy in women. *Eu. J. Endocrinol*. 154.
3. Barber y Matthew D. 2005. Contemporary views on female pelvic anatomy. *Cleveland Clinic Journal of medicine*: 72:S3-S10
4. Basualto-Alarcón C, Jorquera G, Altamirano F, Jaimovich E y Estrada M. 2013. Testosterone signals through mTOR and androgen receptor to induce muscle hypertrophy. *Medicine and science in sports and exercise*. 45:1712–1720.
5. Bennett NC, Gardiner RA, Hooper JD, Johnson DW y Gobe GC. 2010. Molecular cell biology of androgen receptor signalling. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 42:813-827.
6. Brandt ME, Puett D y Zimniski SJ. 1990. Divergence between Ovarian Aromatase Activity, Estrogen, and Androgen Levels in the Cycling Rat\*. *Endocrinology*. 126:72–79.
7. Brinkmann A, Faber P, van Rooij H, Kuiper G, Ris C y Klaassen P. 1989. The human androgen receptor domain structure, genomic organization and regulation of expression. *J Steroid Biochem* 34:307-10.
8. Brinkmann A. 2001. Molecular basis of androgen insensitivity. *Mol Cel Endocrinol*. 179:105-09.
9. Brink EE y Ptaff DW. 1980. Vertebral muscles of the back and tail of the albino rat (*Rattus norvegicus albinus*). *Brain Behav. Evol*. 17:1-47.
10. Butcher RL, Collins WE, y Fugo NW. 1974. Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17beta throughout the 4-day estrous cycle of the rat. *Endocrinology* 94:1704–1708.

11. Carrasco-Ruiz. 2017. Diferencias en la sensibilidad estrogénica de los musculos pubococcí e iliococcígeo de la rata hembra. Tesis de doctorado. Doctorado en Neuroetología, Universidad Veracruzana.
12. Carrasco-Ruiz A. 2018. High Estradiol Differentially Affects the Expression of the Glucose Transporter Type 4 in Pelvic Floor Muscles of Rats. *Int Neurourol J* 22:161–168.
13. Carrasco-Ruiz A, Sánchez-García O, Pacheco P, Martínez-Gómez M, Cuevas-Romero E y Castelán F. 2021. Differential estrogen-related responses in myofiber cross-sectional area of pelvic floor muscles in female rats. *Gynecological Endocrinology*.
14. Carrillo G y Sanguineti M. 2013. Pelvic Floor Anatomy. *Med.Clin:* 2:185-189.
15. Castelan F, Cuevas-Romero E. y Martinez-Gomez M. 2010. The Expression of Hormone Receptors as a Gateway toward Understanding Endocrine Actions in Female Pelvic Floor Muscles. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*. 20:305–320.
16. Chang AR. 1998. Structure. *Experimental Clinical Endocrinol Diabetes*.
17. Chen YS y Hua KQ. 2008. Expression of androgen receptor in the vaginal wall and cardinal ligament of patients with pelvic organ prolapse. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 88:2920-2923.
18. Chen Y, Zajac JD y Maclean HE. 2005. Androgen regulation of satellite cell function. *Journal of Endocrinology*.186:21–31.
19. Cimentepe E, Erol M y Bekir I. 2013. The effects of thyroid hormones on uroflowmetry parameters in asymptomatic women. *Turk J Med Sci:* 43:821-824.
20. Copas P, Bukovsky A, Asbury B, Elder RF y Caudle MR. 2001. Estrogen, progesterone, and androgen receptor expression in levator ani muscle and fascia. *J. Womens Health Gend. Based Med*. 10:785-795.
21. Cuesta Pedraz E. 2012. Identificación de nuevo genes diana del receptor nuclear FXR. 296p recuperado de: <http://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/36326>.

22. Dehm S y Tindall D. 2007. Androgen receptor structural and functional elements: Role and regulation in prostate cancer. *Mol Endocrinol* 21:2855-63.
23. Deslypere JP y Vermeulen A. 1985. Influence of age on steroid concentrations in skin and striated muscle in women and in cardiac muscle and lung tissue in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 61:648–653.
24. Dorrington JH, Moon YS y Armstrong DT. 1975. Oestradiol-17 biosynthesis in cultured granulosa cells from hypophysectomised immature rats: stimulation by follicle-stimulating hormone. *Endocrinology.* 97:1328–1331.
25. Drake R, Vogl W, W. A y Gray H. 2005. Anatomía para estudiantes. 2nd ed. España: Elsevier.
26. Fink J, Schoenfeld BJ y Nakazato K. 2017. The role of hormones in muscle hypertrophy. *Physician Sportsmed.* 46:129–134.
27. Germain P, Staels B, Dacquet C, Spedding M y Laudet V. 2006. Overview of nomenclature of nuclear receptors. *Pharmacol Rev.* 58: 685-704.
28. Grasso P, Rozhavskaya M y Reichert LE. 1998. In vivo effects of human follicle-stimulating hormone-related synthetic peptide hFSH-b-90-95) on the mouse estrous cycle. *Biol Reprod.* 58: 821–25
29. Haizlip KM, Harrison BC y Leinwand LA. 2015. Sex-Based Differences in Skeletal Muscle Kinetics and Fiber-Type Composition. *Physiology.* 30:30–39.
30. Heemers.H.V, Verhoeven.G, y J. V. 2005. Swinnen. Androgen Activation of the Sterol Regulatory Element-Binding Protein Pathway: Current Insights *Molecular Endocrinology.* 20:2265-2277.
31. Ho MH, Bhatia NN y Bhasin S. 2004. Anabolic effects of androgens on muscles of female pelvic floor and lower urinary tract. *Current opinion in obstetrics & gynecology.* 16:405–409.
32. Huseynov A. 2016. Developmental evidence for obstetric adaptation of the human female pelvis. *Proc National Acad Sci.* 113:5227–5232.

33. Johansen JA, Breedlove SM y Jordan CL. 2007. Androgen Receptor Expression in the Levator Ani Muscle of Male Mice. *J Neuroendocrinol.* 19: 823–826.
34. Kaprara A y Huhtaniemi IT. 2018. The hypothalamus-pituitary-gonad axis: Tales of mice and men. *Metabolism: clinical and experimental.* 86:3-17.
35. Kim MM y Kreydin EI. 2018. The Association of Serum Testosterone Levels and Urinary Incontinence in Women. *J Urology.* 199:522–527.
36. Kostic TS. 2011. Pharmacological Doses of Testosterone Upregulated Androgen Receptor and 3-Beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase/Delta-5-Delta-4 Isomerase and Impaired Leydig Cells Steroidogenesis in Adult Rats. *Toxicol Sci.* 121:397–407.
37. Lara-García M. 2011. The effects of castration and hormone replacement on the cross-sectional area of pubococcygeus muscle fibers in the female rat. *Anatomical record.* 294:1242–1248.
38. Lephart ED, Doody KJ, McPhaul MJ y Simpson ER. 1992. Inverse relationship between ovarian aromatase cytochrome P450 and 5 alpha-reductase enzyme activities and mRNA levels during the estrous cycle in the rat. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology.* 42: 439–447.
39. Mammadov. 2011. The effect of testosterone treatment on urodynamic findings and histopathomorphology of pelvic floor muscles in female rats with experimentally induced stress urinary incontinence. *International urology and nephrology.* 43:1003–1008.
40. Martínez-Gómez M, Corona-Quintanilla DL, Cruz-Gómez Y, Zempoalteca R, Rodríguez-Antolín J y Castelán F. 2012. The role of pelvic and perineal muscles in reproductive and excretory functions. In *Applications of EMG in Clinical and Sports Medicine*, Steele C (ed.). Intech: Rijeka; 269–288.
41. Matsumoto T, Sakari M, Okada M, Yokoyama A, Takahashi S, Kouzmenko A y Kato S. 2013. The androgen receptor in health and disease. *Annual review of physiology.* 75:201-224.

42. Metzger E, Wissmann M, Yin N, Muller JM, Schneider R, Peters AH, Gunther T, Buettner R y Schule R. 2005. LSD1 demethylates repressive histone marks to promote androgen-receptor-dependent transcription. *Nature*. 437:436-439
43. Monks DA, O'Bryant EL y Jordan CL. 2004. Androgen receptor immunoreactivity in skeletal muscle: Enrichment at the neuromuscular junction. *J Comp Neurol*. 473:59-72.
44. Nieschlag E, Behre HM y Nieschlag S. 2012. *Testosterone: action, deficiency, substitution*. Cambridge University Press.
45. Orlandi A y Ferlosio A. 2014. *Updates in Surgery. Pelvic Floor Disorders: surgical approach*. Italia: Springer. 19-25.
46. Ponnusamy S. 2017. Tissue Selective Androgen Receptor Modulators (SARMs) Increase Pelvic Floor Muscle Mass in Ovariectomized Mice. *J Cell Biochem*. 118: 640-646.
47. Poortmans A y Wyndaele JJ. 1998. Levator ani in the rat: Does it really lift the anus?. *Anat. Rec*. 251: 20-7.
48. Rana K, Lee NK, Zajac JD y MacLean HE. 2014. Expression of androgen receptor target genes in skeletal muscle. *Asian J Androl*. 16:675-683.
49. Robinson-Rechavi M, Escriva GH y Laudet V. 2003. The nuclear receptor superfamily. *J Cell Sci*. 116: 585-6.
50. Sato K, Iemitsu M, Aizawa K y Ajisaka R. 2007. Testosterone and DHEA activate the glucosa metabolism-related signaling pathway in skeletal muscle. *Physiol. Endocrinol Metab*. 294:961-968.
51. Sinha-Hikim I, Taylor WE, Gonzalez-Cadavid NF, Zheng W y Bhasin S. 2004. Androgen Receptor in Human Skeletal Muscle and Cultured Muscle Satellite Cells: Up-Regulation by Androgen Treatment. *J Clin Endocrinol Metabolism*. 89:5245-5255.
52. Söderberg MW, Johansson B, Masironi B, Byström B, Falconer C, Sahlin L y Ordeberg GE. 2007. Pelvic floor sex steroid hormone receptors, distribution and expression in pre- and postmenopausal stress urinary incontinent women. *Acta Obstet. Gynecol. Scand*. 86:1377-1384.

53. Swift-Gallant A y Monks DA. 2013. Androgen receptor expression in satellite cells of the neonatal levator ani of the rat. *Dev Neurobiol.* 73:448–454.
54. Tortora G, Derricksson B. 2013. *Principios de Anatomía y Fisiología.* 13th ed. Mexico DF. Panamericana.
55. Tsafiri A, Kraicer PF. 1972. The time sequence of ovum maturation in the rat. *J Reprod Fertil.* 29: 387-393.
56. Wagnlehner FM, Bschiepfer T, Gunnemann A, Petros P y Weidner W. 2010. Surgical Reconstruction of Pelvic Floor Descent: Anatomic Funcional Aspects. *Urol Int:* 84: 1-9.
57. Wannenes F. 2008. Androgen receptor expression during C2C12 skeletal muscle cell line differentiation. *Mol Cell Endocrinol.* 292:11–19.