



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

Campus UNAM, Juriquilla, Querétaro

**Influencia de la inervación simpática en la producción  
local de T<sub>3</sub> en la próstata**

TESIS

Que para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)**

PRESENTA

**I.B.Q. Evangelina Delgado González**

DIRECTORA DE TESIS:

**Dra. Rocío Brenda Anguiano Serrano**

Santiago de Querétaro, 2008



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

Los miembros del Comité Tutorial certificamos que la tesis elaborada por Evangelina Delgado González, cuyo título es: "Influencia de la inervación simpática en la producción local de T<sub>3</sub> prostática" se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Firman

Presidente

Dr. Carlos Manuel Valverde Rodríguez

Secretario (Tutora)

Dra. Rocío Brenda Anguiano Serrano

Vocal

Dr. Andrés Quintanar Stephano

Suplente

Dr. Emilio Domínguez Salazar

Suplente

Dra. María Teresa Morales Guzmán

Aprobado por el Comité Académico

Dra. María Teresa Morales Guzmán  
Coordinadora del Programa

Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Metabolismo Energético del Instituto de Neurobiología de la UNAM, Campus Juriquilla, bajo la tutoría de la Dra. R. Brenda Anguiano Serrano. Este trabajo fue apoyado por PAPIIT-UNAM (IN201207) y CONACyT (44976-M, 52077). Beca por parte de CONACyT (207068).

## RESUMEN

La desyodasa tipo 1 (D1) es una enzima que puede convertir a la tiroxina ( $T_4$ ) en una molécula activa (triyodotironina o  $T_3$ ). La próstata de rata expresa una elevada actividad D1 en la pubertad y desaparece en la vejez. La actividad sexual continua evita el decline de dicha actividad asociada a la edad. El propósito de este trabajo fue: caracterizar la respuesta de la actividad D1 ante 5 series eyaculatorias, y evaluar la influencia de la inervación simpática (nervio hipogástrico, HPG); sobre la actividad D1, los niveles prostáticos de  $T_3$  y la expresión de un gen dependiente de  $T_3$  (Ornitín descarboxilasa, ODC). La actividad D1 se midió con la técnica de liberación de radioyodo, los niveles de  $T_3$  por RIA y la expresión de ODC por RT-PCR en tiempo real. La simpatectomía prostática preganglionar se llevó a cabo quirúrgicamente, seccionando el nervio hipogástrico. La actividad D1 aumentó a partir de la 1ª eyaculación, alcanzó los valores más altos hasta la 4ª y disminuyó en la 5ª. El aumento en D1 en la 4ª eyaculación, correlacionó con un incremento en los niveles prostáticos de  $T_3$  y en la expresión del gen ODC. La ablación bilateral del nervio hipogástrico (HPGx) evitó dichos incrementos ante este estímulo. Estos resultados indican que la inervación simpática regula positivamente la generación local de  $T_3$ .

## ABSTRACT

Deiodinase type 1 (D1) is an enzyme that converts the prohormone thyroxine ( $T_4$ ) into the active molecule triiodothyronine ( $T_3$ ). The rat prostate expresses high levels of D1 activity during puberty, and these gradually decrease with age. However, continuous sexual activity prevents the age-associated D1 decline. The purpose of this work was: to characterize the D1 activity in response from 1 to 5 ejaculations, and to evaluate the influence of sympathetic innervation (hypogastric nerve, HPG) on D1 activity, prostatic levels of  $T_3$ , and the expression of the  $T_3$ -dependent gene ornithine decarboxylase (ODC). D1 activity was measured by the radioiodine release technique,  $T_3$  levels by RIA, and ODC expression by real-time RT-PCR. Prostatic sympathectomy was performed surgically by the bilateral sectioning of the hypogastric nerve. D1 activity increased beginning with the 1<sup>st</sup> ejaculation; it reached the highest levels by the 4<sup>th</sup>, and decreased in the 5<sup>th</sup>. The increase of D1 at the 4<sup>th</sup> ejaculation correlated with local generation of  $T_3$  and prostatic expression of the ODC gene. Sympathectomy eliminates the response of the D1 enzyme to ejaculation, suggesting that the hypogastric nerve up-regulates local generation of  $T_3$ .

## **AGRADECIMIENTOS**

Doy gracias infinitamente a las Dras. Brenda Anguiano y Carmen Aceves por haberme abierto las puertas de su laboratorio y apoyarme para iniciar esta nueva etapa en mi formación profesional, además de su apoyo y constantes enseñanzas, que diariamente enriquecen mi trabajo.

A los miembros del Jurado: Dr. Carlos Valverde Rodríguez, Dr. Andrés Quintanar Stephano, Dra. Teresa Morales Guzmán y Dr. Emilio Domínguez Salazar, quienes aportaron detalles muy importantes a este trabajo con sus distintos puntos de vista, con el fin de enriquecerlo.

A mi Comité Tutorial, Dra. Teresa Morales, Dra. Carmen Mejía y Dra. Elena Hernández, que mejoraron e hicieron más completo este proyecto y aportaron valiosas ideas cada semestre para el desarrollo de este trabajo.

Al M.V.Z. Francisco Camacho del laboratorio de Conducta Sexual del Instituto de Neurobiología, quien me enseñó a observar y registrar los parámetros de conducta sexual en roedores, parte importante de esta tesis.

Al grupo liderado por la Dra. Ma. Elena Hernández, del laboratorio de Neuroendocrinología de la Reproducción del Instituto de Neuroetología de la Universidad Veracruzana, y al laboratorio de Neuroinmunoendocrinología de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, encabezado por el Dr. Andrés Quintanar Stephano, quienes me entrenaron en la realización de las cirugías practicadas a los animales empleados en este proyecto, fase medular de este trabajo.

Al M.V.Z. Martín García Servín (Bioterio del Instituto de Neurobiología), Quím. Leonor Casanova Rico (Unidad de Enseñanza), Bib. Pilar Galarza y Bib. Rafael Silva (Biblioteca), Ing. Alberto Lara e Ing. Omar González (Cómputo) y a Dorothy Pless (Revisión de manuscritos en inglés).

A la Q.F.B. Guadalupe Delgado, Biól. Felipe Ortiz Cornejo por el apoyo técnico brindado en este proyecto, además de mis compañeros del laboratorio: Yunuén, Nuri,

Elvira, Laura, Mario, Paloma, Irasema, Susana, Miguel y Erick, quienes me han brindado su compañerismo y amistad.

A mis compañeros de esta maestría, todos brillantes e inteligentes, por todos los momentos buenos y malos que implicaron el pasar por esta maestría.

## **DEDICATORIAS**

Esta tesis no la pude haber realizado sin el apoyo de muchas personas importantes, las cuales me brindaron mucha motivación para que yo emprendiera esta etapa de mi vida:

A mis papás, Rafael Delgado y Guadalupe González, quienes siempre me impulsan incondicionalmente a seguir adelante, sin dejar que cualquier obstáculo me distraiga de mis proyectos.

A mis hermanos Carlos Rafael y José Miguel, mis queridos ángeles guardianes, que siempre están al pendiente de mí, creyendo siempre en mis sueños y apoyándome para realizarlos.

A mis primos Juan Eduardo, Fabiola, Griselda, Héctor M., Miguel, Elizabeth, Yadira, Gustavo C., Adriana, Eduardo S., Héctor J., Elisa I., a sus respectivos papás, y en especial a Tavo, quien me ayudó a recuperar las pérdidas...

A mis sobrinos Juan Eduardo, María Inés, Héctor de Jesús, Yadira, Gustavo E., María José, Eduardo y Eugenio, y los que no han nacido, todos el futuro y motor en mi persona para mostrarles que si yo puedo lograr un proyecto hoy, ellos lo harán mejor que yo mañana.

A todos mis amigos, los viejos: por entenderme en esta necesidad de seguir estudiando, y empujarme a hacerlo; y los nuevos: con quienes la vida me ha identificado en este camino que tenemos en común.

A quien me faltaría una sección entera para dedicar y reiterar toda mi admiración y cariño: a Ramón.

# ÍNDICE

	<b>Página</b>
<b>Agradecimientos</b>	4
<b>Dedicatorias</b>	6
<b>Introducción</b>	10
<b>Resumen</b>	12
<b>Abstract</b>	13
<b>Planteamiento del problema</b>	14
<b>Antecedentes</b>	15
<b>I. Próstata</b>	15
A. Generalidades	15
B. Tipos celulares y citoarquitectura	16
1. Células epiteliales	17
2. Células basales	17
3. Células neuroendócrinas	17
4. Células estromales	17
5. Células pluripotenciales	17
C. Función prostática	17
D. Regulación hormonal del crecimiento y función prostática	18
E. Inervación	19
1. Nervio hipogástrico	19
2. Nervio pélvico	21
3. Nervio pudendo	22
F. Actividad sexual	22
<b>II. Hormonas tiroideas y desyodasas</b>	24
A. Generalidades	24
B. Eje Hipotálamo-Hipófisis-Tiroides y síntesis de hormonas tiroideas	24
C. Transporte	26
D. Metabolismo de hormonas tiroideas: Desyodación	27

1. Desyodasa tipo 1	28
a. Características moleculares: gen, mensajero y proteína	29
b. Distribución en tejidos	29
c. Regulación	30
2. Desyodasa tipo 2	30
a. Características moleculares: gen, mensajero y proteína	31
b. Distribución en tejidos	31
c. Regulación	31
3. Desyodasa tipo 3	31
a. Características moleculares: gen, mensajero y proteína	32
b. Distribución en tejidos	32
c. Regulación	32
E. Hormonas tiroideas y desyodación en la próstata	33
<b>Hipótesis</b>	34
<b>Objetivos</b>	34
I. General	34
II. Particulares	34
<b>Material y métodos</b>	35
<b>I. Material biológico</b>	35
<b>II. Diseño experimental</b>	35
A. Efecto de la conducta sexual sobre la actividad D1 y la generación de T <sub>3</sub> prostática	35
B. Influencia de la simpatectomía prostática sobre la actividad D1 y generación local de T <sub>3</sub> , en condiciones basales y en respuesta a la eyaculación	35
C. Efecto de la administración de noradrenalina (NA) sobre la actividad D1 prostática	36
<b>III. Entrenamiento y evaluación de la actividad sexual</b>	36
<b>IV. Simpatectomía preganglionar (HG Px)</b>	37
<b>V. Métodos analíticos</b>	37
A. Cuantificación de la actividad D1	37
B. Cuantificación de T <sub>3</sub>	37
C. Expresión del gen Ornitín descarboxilasa (ODC)	38
D. Estadística	39
<b>Resultados</b>	41

<b>I. Efecto de la conducta sexual sobre la actividad D1 y la producción local de T<sub>3</sub> prostática</b>	41
A. Pesos corporal y prostático	41
B. Actividad D1 prostática	42
C. Niveles prostáticos de T <sub>3</sub>	42
<b>II. Efecto de la sección del nervio hipogástrico sobre la producción local de T<sub>3</sub> prostática en respuesta a la eyaculación</b>	43
A. Actividad D1 prostática	44
B. Niveles prostáticos de T <sub>3</sub>	44
C. Expresión del gen de orinitín descarboxilasa	45
<b>III. Efecto de la administración de noradrenalina (NA) sobre la actividad D1 prostática.</b>	45
A. Actividad D1 prostática	46
<b>Discusión</b>	47
<b>Conclusiones</b>	52
<b>Referencias</b>	53
<b>Apéndice 1</b>	64

## INTRODUCCIÓN

La próstata es una glándula accesoria del tracto reproductor masculino, exclusiva de los mamíferos. La función de esta glándula consiste en sintetizar y secretar una serie de componentes al plasma seminal, los cuales mantienen la integridad y viabilidad de los espermatozoides (Knobil, 1994). La maduración de esta glándula, ocurre durante la pubertad, y a partir de esta etapa, su función depende de la participación tanto de factores locales (factores de crecimiento), como del sistema nervioso autónomo (noradrenalina, acetilcolina, péptidos), y de mensajeros endócrinos (andrógenos, estrógenos, prolactina y hormonas tiroideas) (McVary et al., 1998; Marker et al., 2003).

El papel de las hormonas tiroideas (HT) en el desarrollo y función de la próstata ha sido poco estudiado. Se conoce que el hipotiroidismo pre-puberal retrasa el crecimiento de esta glándula, y reduce la actividad de algunas enzimas involucradas con el metabolismo de glicoproteínas (Maran et al., 2000; Maran y Aruldas, 2002). Estudios de nuestro laboratorio han mostrado la presencia de la desyodasa tipo 1 (D1) en la próstata de ratas púberes (Anguiano et al., 2006). La actividad de esta enzima regula la conversión de la prohormona tiroxina o  $T_4$  a una forma activa ( $T_3$ ) o inactiva ( $rT_3$ ). La D1 está ausente en la próstata de los neonatos, se expresa abundantemente en la pubertad y declina gradualmente en los animales viejos. Sin embargo, hemos encontrado que la actividad sexual continua evita el decline de la actividad D1 asociado a la edad (López, 2006). Además, experimentos preliminares mostraron que la actividad D1 prostática aumentó de manera casi inmediata (minutos) en respuesta a la eyaculación, sugiriendo la participación de un mecanismo rápido de activación. Está bien establecido que el proceso de emisión de la respuesta eyaculatoria, está mediada por la activación simpática, la cual aumenta la contractilidad de la próstata y su actividad secretora (Bruschini et al., 1978; Wang, 1991b). En este mismo contexto, estudios previos de nuestro laboratorio han mostrado que la inervación simpática estimula el aumento de la actividad de la D1 mamaria asociada al estímulo de succión (Aceves et al., 1999b). Con base en estos antecedentes, el propósito de este trabajo fue explorar la participación de la inervación simpática en la respuesta de la actividad D1 asociada a la eyaculación, así como establecer una posible asociación entre la  $T_3$  y la función prostática.

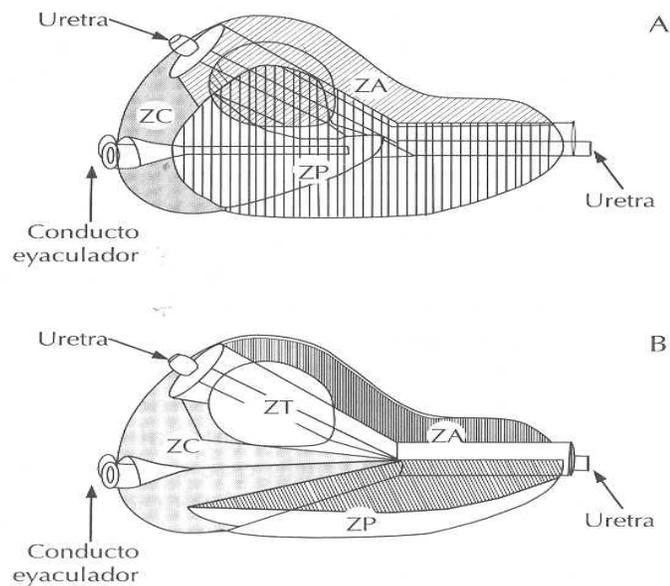
En la primera parte de esta tesis se revisan antecedentes básicos relacionados con la anatomía y fisiología prostática. En la segunda parte se revisan algunas de las generalidades de las hormonas tiroideas, relacionadas con su síntesis, transporte y metabolismo. Con respecto a este último, se hizo especial énfasis en el proceso enzimático de desyodación, por medio del cual se regulan las concentraciones intracelulares de T<sub>3</sub>. Posteriormente se plantea el problema experimental, la hipótesis de trabajo, y se describen el material y métodos utilizados. Finalmente, se presentan los resultados y la discusión, terminando con las conclusiones.

## ANTECEDENTES

### I. PRÓSTATA

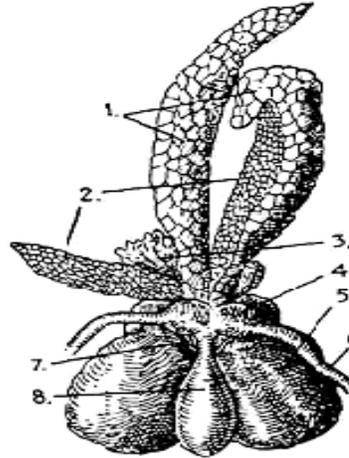
#### A. Generalidades

La próstata es una glándula accesoria del aparato reproductor masculino, cuya función consiste en aportar diversos componentes al semen (enzimas, aminos, iones, citrato, etc.) para mantener la viabilidad de los espermatozoides. Es una glándula de secreción mixta, túbulo-alveolar, que está presente exclusivamente en los mamíferos. La próstata humana se localiza unida al esfínter externo de la uretra, debajo de la vejiga urinaria y se divide en cuatro zonas: anterior, central, periférica y de transición (Figura 1) (Knobil, 1994).



**Figura 1. Próstata humana.** A) Vista lateral. ZA, zona anterior; ZP, zona periférica; ZC, zona central. B) Vista lateral de la próstata después de retirar parte de la ZP y ZA, lo que permite visualizar la zona de transición (ZT), en íntima relación con la uretra. (Tomado de Hernández et al., 2006a).

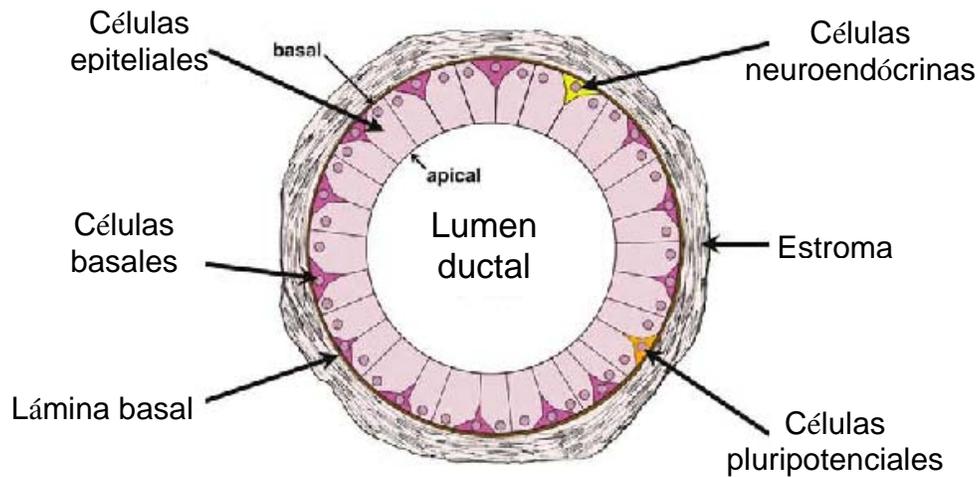
En contraste, la próstata de roedores es una estructura multi-lobulada, cuyos lóbulos se clasifican en ventrales, dorsolaterales y anteriores. Estos últimos también se conocen como glándulas coagulantes y se localizan adyacentes a las vesículas seminales. La clasificación de los lóbulos se basa en su localización respecto a la uretra (Figura 2) (Knobil, 1994; Marker et al., 2003).



**Figura 2. Vista ventral de los lóbulos prostáticos de la rata** 1) Vesículas seminales, 2) Lóbulos anteriores o glándulas coagulantes, 3) Lóbulo dorsolateral, 4) Glándula ampular, 5) Lóbulo ventral, 6) Conductos deferentes, 7) Uréter, 8) Vejiga. (Modificado de Knobil, 1994).

### B. Tipos celulares y citoarquitectura

En todas las especies que la presentan, la próstata está compuesta por al menos 6 diferentes tipos celulares, que se encuentran dispuestos en un arreglo túbulo alveolar, organizados y encapsulados en acinos o zonas (Cunha et al., 1987). Estos tipos celulares, esquematizados en la Figura 3, comprenden las células epiteliales o secretoras (dependientes de hormonas) (Hayward et al., 1996), las células basales (Wang et al., 2001), las estromales (Morrisey et al., 2002), las neuroendócrinas (Pozuelo et al., 2002) y las pluripotenciales (Wang et al., 2001).



**Figura 3. Tipos celulares presentes en los túbulos prostáticos.** (Modificado de Marker et al., 2003).

### **1. Células epiteliales**

En los alvéolos, las células epiteliales forman una monocapa, la cual rodea al lumen. Estas células presentan una membrana apical y basal. Son células columnares unidas por moléculas de adhesión celular. El epitelio glandular es identificado como simple o pseudoestratificado (Marker et al., 2003).

### **2. Células basales**

Entre la capa de células secretoras (epiteliales) y la lámina basal, se encuentran algunas células llamadas basales, las cuales se encuentran dispersas como una capa discontinua alrededor de los conductos. Estas células son menos diferenciadas que las epiteliales (Marker et al., 2003).

### **3. Células neuroendócrinas**

Este tipo celular se ha identificado primordialmente en humanos. Estas células expresan varios neuropéptidos (cromograninas A y B, neuropéptido Y, calcitonina, etc.), serotonina y somatostatina, los cuales se ha sugerido participan tanto en el desarrollo prostático, como en la regulación de procesos secretores prostáticos, de manera autócrina y parácrina (Ross y Reith, 1985; Abrahamson, 1999; Burden et al., 2006).

### **4. Células estromales**

Este tejido está compuesto de fibroblastos, células neurales, células de tejido conectivo, linfáticas y vasculares y se encuentra rodeado de músculo liso. En conjunto, estas células se encuentran embebidas en una matriz extracelular de colágeno (Cunha et al., 1987; Marker et al., 2003).

### **5. Células pluripotenciales**

Se cree que las células basales se diferencian a partir de esta estirpe celular (Wang et al., 2001).

## **C. Función prostática**

La próstata es una glándula exócrina del tipo apócrino (desprendimiento de la región apical de la célula junto con el producto de secreción) y merócrino (desprendimiento del producto de secreción por exocitosis) (Groos et al., 1998;

Andrade-Rocha, 2007). Las células epiteliales de la próstata producen y secretan una serie de componentes al plasma seminal, los cuales en conjunto, mantienen la viabilidad y movilidad de los espermatozoides (Knobil, 1994). Incluso existen evidencias de que algunos de estos componentes son esenciales para que se lleve a cabo una adecuada fecundación e implantación del embrión (Chow y O, 1989). La secreción prostática es ligeramente ácida (pH 6.5), y entre sus componentes destacan algunas enzimas, como la fosfatasa ácida prostática, el antígeno específico prostático (PSA) y la proteína de unión prostática (PBP), además de otros compuestos como el ácido cítrico, fructosa, poliaminas (espermina, espermidina y putrescina), fibrinolisisina, putrescina, prostaglandinas, colesterol, lípidos y zinc. En la Tabla 1 se resume la función de algunos de estos componentes.

<b>Compuesto</b>	<b>Función</b>
Ácido cítrico	Agente antioxidante
Espermina	Une iones fosfato, ácidos nucleicos y fosfolípidos
Zinc	Une enzimas al plasma seminal y actúa como agente antibacteriano
PSA, fibrinolisisina	Licuefacción del semen
Fosfatasa ácida prostática	Hidrólisis de aldehídos. Unión a poliaminas
Fosforilcolina	Probable sustrato específico para fosfatasa ácida
Espermidina	Agente antibacterial
PBP	Posible acarreo de esteroides
Putrescina	Agente antibacteriano. Proporciona olor característico al semen

**Tabla 1.** Principales productos de secreción emitidos por el epitelio prostático (Modificado de Burden et al., 2005)

#### **D. Regulación hormonal del crecimiento y función prostática**

Se sabe que las principales hormonas que regulan el desarrollo y crecimiento, así como la función prostática, son los andrógenos testiculares, principalmente la testosterona y la dihidrotestosterona (DHT). Estos esteroides promueven el crecimiento y diferenciación de esta glándula desde la etapa fetal y continua en el período post-natal (Marker et al., 2003). También en la etapa adulta, la integridad morfológica y funcional del epitelio prostático depende de andrógenos (Cunha et al., 1987). Está bien caracterizado que la próstata involuciona después de la castración (Lee, 1981), y que las células epiteliales pierden su arreglo de monocapa alrededor del lumen (DeKlerk y Coffey, 1978). Estos cambios se revierten con la administración de testosterona

(Sugimura et al., 1986). Sucede lo mismo con la producción de la mayoría de secreciones prostáticas, como por ejemplo PBP, ya que en animales castrados suplementados con DHT, la síntesis del RNAm de esta proteína de secreción se restablece (Pelletier et al., 1988).

## **E. Inervación**

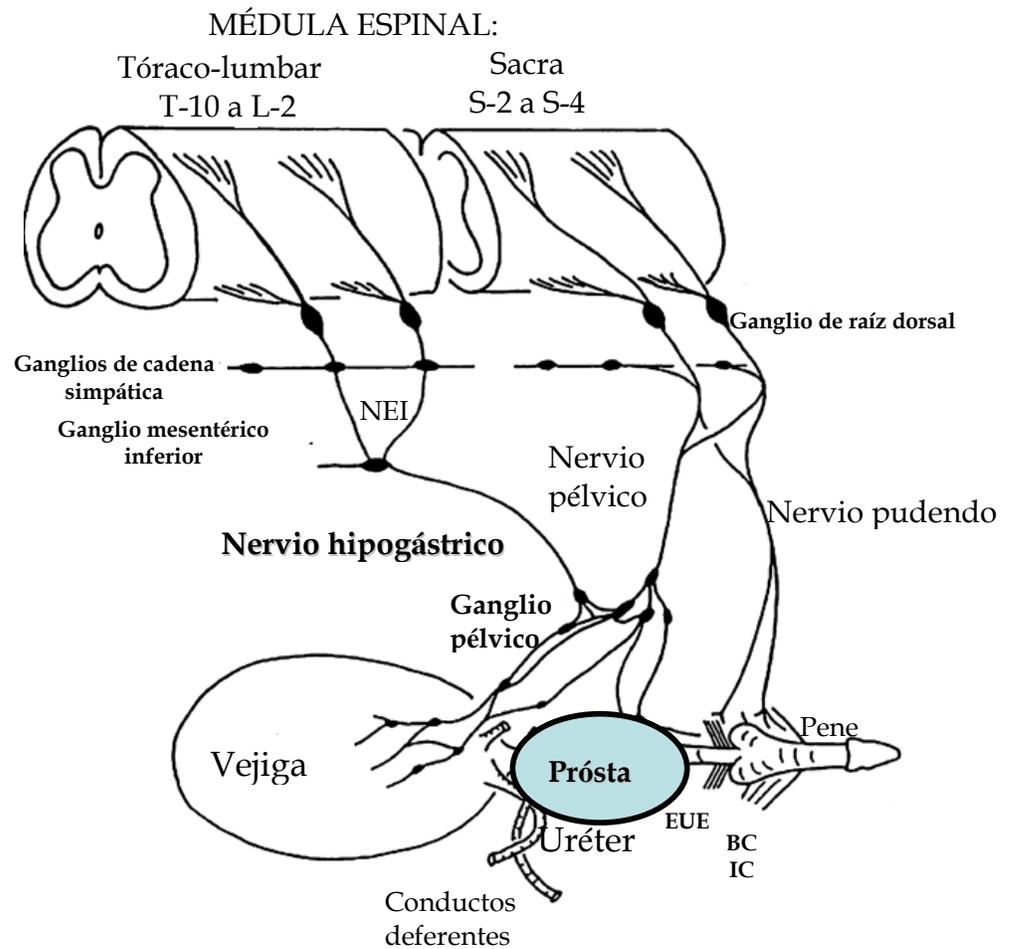
El sistema nervioso autónomo a través de su división simpática y parasimpática, controla la contractilidad y la secreción del epidídimo y de las glándulas sexuales accesorias (Jänig, 2006). La inervación autonómica además de controlar la contracción del músculo liso que rodea a los alvéolos y al sistema de túbulos, también controla el tono vascular de estas glándulas.

La mayor parte de la inervación simpática es conducida por el nervio hipogástrico, el cual regula la contractilidad de la próstata (Bruschini et al., 1978); mientras que la parasimpática es conducida por el nervio pélvico, involucrado en regular la secreción de este tejido (Jacobs y Story, 1989). Además, ramas nerviosas somato-sensoriales provenientes del nervio pudendo, abastecen a la glándula. Las fibras autonómicas convergen en la misma proporción al ganglio pélvico (Wang et al., 1991b; Keast, 1999), mientras que las somato-sensoriales, además de tener fibras que van a este ganglio, el resto de ellas viajan a través de ramas viscerales del plexo pudendo (Acone et al., 2001). El 75% de las fibras simpáticas que se encuentran en el ganglio pélvico son noradrenérgicas (NA), aunque también se han encontrado células inmunorreactivas a neuropéptido Y (NPY), y en menor cantidad al péptido vasointestinal (VIP). Las fibras parasimpáticas son prácticamente colinérgicas en su totalidad; sin embargo, también se han encontrado neuronas que expresan NPY y VIP (Keast, 1995). A continuación se detallan las características de los nervios autónomos y motor que abastecen a la próstata.

### **1. Nervio hipogástrico**

Las fibras eferentes de este nervio, provienen de los cuerpos neuronales localizados en el ganglio mesentérico inferior (Figura 4), el cual a su vez recibe fibras preganglionares de la región intermediolateral de los segmentos T10 – L2 de la médula espinal (Berkeley, 1999). Estas fibras, después de salir de sus raíces tóraco-lumbares,

llegan a la cadena ganglionar simpática paravertebral, y de ahí a la cabeza del plexo abdominal celiaco, del cual emergen varias ramificaciones; una de ellas, el plexo aórtico abdominal, incluyendo el ganglio mesentérico inferior, encabeza la dirección caudal para formar el plexo hipogástrico, el cual, se bifurca en ramas derecha e izquierda hasta los ganglios pélvicos (Purinton et al., 1973; Wanigasekara et al., 2003). El nervio hipogástrico también incluye fibras aferentes sensoriales. Se localiza en el polo craneal del ganglio pélvico y es retroperitoneal, medial a la arteria iliaca externa y pasa detrás del uréter, donde se ramifica hacia las glándulas accesorias (Gabella, 1995). Existen evidencias de que la inervación simpática a través de la activación del nervio hipogástrico, estimula los receptores  $\alpha$ 1-adrenérgicos del tejido fibro-muscular que rodea a los túbulos y controla la expulsión del contenido prostático a la uretra (Bruschini et al., 1978). En contraste, los receptores  $\beta$  están presentes en el epitelio prostático y su activación estimula la síntesis de varios componentes de la secreción prostática, como la proteína unida a la próstata. Aunque se desconocen los mecanismos, existen evidencias de que la inervación simpática controla el tamaño de la próstata, ya que se ha visto que la simpatectomía unilateral de la glándula atrofia al epitelio, reduciendo el peso y su contenido de DNA (McVary et al., 1994).



**Figura 4. Representación esquemática de la inervación autonómica de la próstata.** La próstata se encuentra inervada de manera dual por el sistema nervioso simpático (nervio hipogástrico) y parasimpático (nervio pélvico). Nótese como ambas ramificaciones convergen en el ganglio pélvico). NEI = Nervio esplácnico inferior, EUE = Esfínter uretral externo, BC = Músculo bulbocavernoso, IC = Músculo isquiocavernoso. (Modificado de de Groat, 2006).

## 2. Nervio pélvico

Las fibras eferentes preganglionares que llegan al nervio pélvico (Figura 4), emergen de neuronas localizadas en la región sacra S2-S4 (Berkeley, 1999). El nervio pélvico consta de siete fascículos, los cuales viajan paralelamente a la arteria urogenital o pélvica (Gabella, 1995). Estudios farmacológicos han mostrado la presencia de receptores muscarínicos en el epitelio prostático, y que su activación con agonistas colinomiméticos aumenta la secreción prostática (Maggi, 1993). Estudios de desnervación parasimpática muestran que la sección preganglionar unilateral del nervio pélvico, no afecta la próstata ventral ipsilateral; pero, aumenta el peso, el contenido de proteína y de DNA del lóbulo contralateral (McVary et al., 1994).

### **3. Nervio pudendo**

Este nervio lleva fibras que emergen de la raíz sacra (S1-S4), y éstas convergen con el ganglio pélvico. Las ramificaciones viscerales de este nervio convergen en el plexo pudendo, y dan inervación, además de la próstata, a los órganos viscerales pélvicos, como la vejiga urinaria, la uretra y el recto. Estas ramas son mixtas (aférentes y eférentes) (Berkeley et al., 1999; Santamaría et al., 2007). Estas fibras sensitivas se encuentran en la capa superficial de la cápsula prostática formando redes, y tienen receptores capsulados, como los corpúsculos de Pacini y Golgi-Mazzoni (Acone et al., 2001). Este nervio es responsable de la respuesta eyaculatoria, activando motoneuronas que inervan los músculos bulbo e isquiocavernoso, la uretra y otros músculos del piso pélvico (Jänig, 2006).

### **F. Actividad sexual**

Existen estudios que muestran que la actividad sexual modifica varios aspectos de la fisiología prostática. Las secreciones seminales producidas por la próstata y las demás glándulas accesorias del tracto reproductor masculino, son emitidas a la uretra junto con los espermatozoides en el momento de la eyaculación, y dicho proceso comprende dos fases: emisión y eyaculación. Para que esta respuesta fisiológica ocurra, se requiere de una estrecha coordinación entre el sistema nervioso simpático, parasimpático y somático (Giuliano et al., 2005).

El proceso de emisión se encuentra bajo el control de vías simpáticas tóraco-lumbares que inervan el músculo liso y el epitelio secretor de los órganos reproductores masculinos (epidídimo, conductos deferentes, vesículas seminales, glándula ampular, próstata y uretra). (Jänig, 2006).

Se sabe que durante la cópula, la contracción de los órganos reproductores internos expulsa el semen a la uretra prostática. La contracción de la uretra proximal previene el reflujo de la secreción a la vejiga urinaria. La activación de neuronas simpáticas a los órganos reproductores internos requiere de poderosa "potenciación" de centros cerebrales supraespinales (Coolen, 2005). Después de un retardo, comienza la eyaculación. Esta acción es desencadenada por activación de aférentes del nervio pudendo y posibles aférentes espláncnicas pélvicas de la uretra, y consisten en contracciones rítmicas de los músculos bulbo e isquiocavernoso, los cuales rodean el

tejido eréctil proximal, y los músculos del piso pélvico. Estas contracciones expulsan la secreción desde la uretra proximal hacia la uretra anterior (Jänig, 2006).

Fisiológicamente, se ha visto que en ratas con actividad sexual continua se registra mayor peso prostático versus animales sexualmente inactivos (Huang et al., 1989). En la próstata de rata se ha mostrado un aumento rápido en la expresión (RNAm) del receptor a andrógenos asociado a la eyaculación (Hernández et al., 2007). Asimismo, se ha encontrado que la actividad sexual continua y a largo plazo, se acompaña de un aumento en las concentraciones intracelulares de DHT (dihidrotestosterona) y del número de receptores a andrógenos en la fracción nuclear (Huang et al., 1989). Estos datos son congruentes con estudios de nuestro laboratorio, los cuales muestran que a largo plazo, la actividad sexual hipertrofia el epitelio prostático y estimula la actividad de la fosfatasa ácida (enzima marcadora de secreción, dependiente de andrógenos) (López, 2006). Estos hallazgos correlacionan con el bien conocido aumento en las concentraciones circulantes de testosterona y prolactina que ocurren en respuesta a la actividad sexual (Hernández et al., 2007).

## II. HORMONAS TIROIDEAS Y DESYODASAS

### A. Generalidades

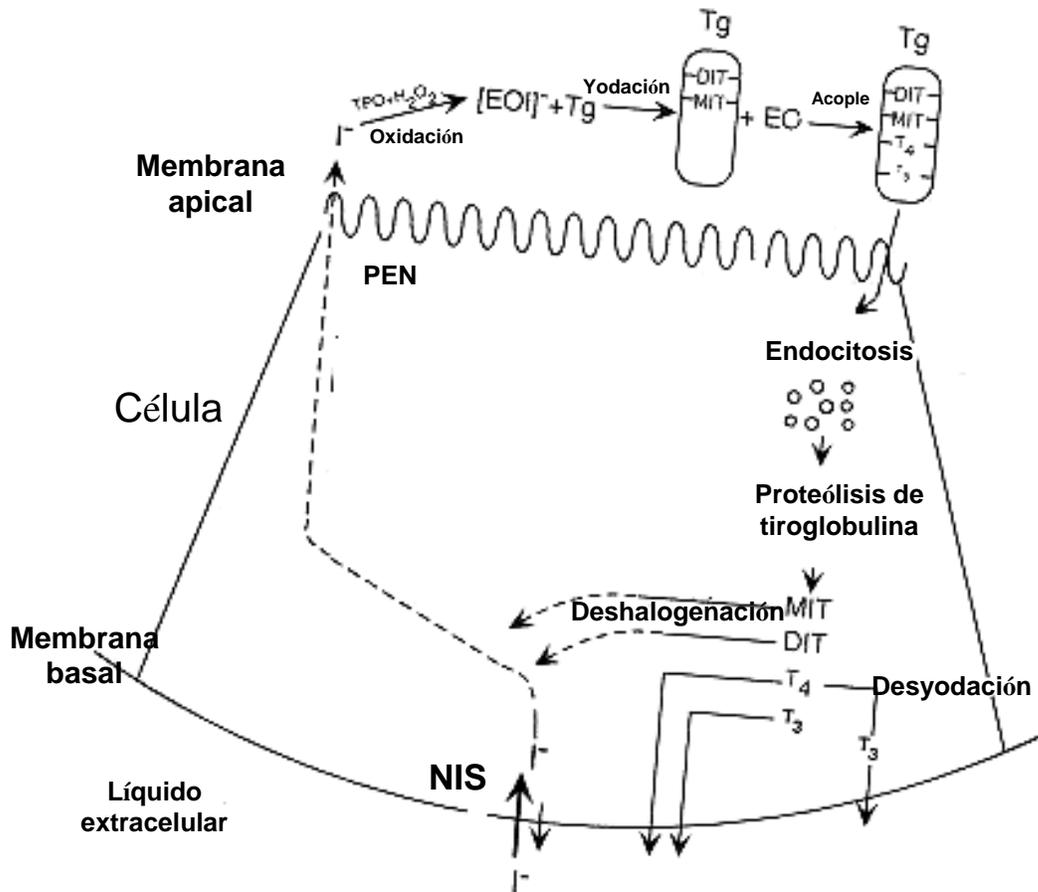
Las hormonas tiroideas (HT) son moléculas hidrofóbicas de bajo peso molecular, representadas por la tiroxina ( $T_4$ ), la triyodotironina ( $T_3$ ), triyodotironina reversa ( $rT_3$ ), la 3,5 diyodotironina ( $3,5 T_2$ ) y 3,3' diyodotironina ( $3,3'T_2$ ) (Goglia, 2005; Solís y Valverde, 2006). La tiroxina es producida exclusivamente en la tiroides (cuya unidad funcional es el folículo tiroideo), y la  $T_3$  se produce tanto en la glándula (20%) como en tejidos periféricos (80%) (Bianco et al., 2006). Estudios recientes muestran que la  $3,5-T_2$  tiene efectos en el hígado (García-G et al., 2007). Es bien conocido que estas hormonas pueden actuar por medio de mecanismos genómicos, activando o reprimiendo la transcripción de genes (Yen et al., 2006), y mecanismos no-genómicos, activando cascadas de segundos mensajeros como proteína cinasa A (PKA), proteína cinasa C (PKC), cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK) y proteína cinasa activada por mitógeno (MAPK); o bien modulando corrientes iónicas en las membranas celulares, así como la regulación de fosfolípidos por activación de fosfolipasa C (PLC) y fosfolipasa D (PLD) (Davis et al., 2008). La señalización de la  $T_3$  está mediada principalmente por su unión a receptores nucleares (TR). El complejo ligando-receptor, interactúa en la región promotora de los genes “blanco”, con secuencias específicas (elementos de respuesta a HT, TRE), activando o reprimiendo su transcripción (Wu et al., 2000). En todos los vertebrados, las hormonas tiroideas son esenciales en el crecimiento, desarrollo y diferenciación del organismo, así como en el metabolismo de lípidos, carbohidratos y proteínas (Kohrle, 2007; Gereben et al., 2008).

### B. Eje hipotálamo-hipófisis-tiroides y síntesis de hormonas tiroideas

La función de la glándula tiroides es regulada por la unidad neuroendócrina hipotálamo-hipófisis. En la región parvocelular del núcleo paraventricular (PVN) del hipotálamo se produce la hormona liberadora de tirotrópina (TRH), la cual viaja hacia los tirotrópos de la hipófisis anterior a través de los vasos sanguíneos del sistema porta de esta unidad, para producir la secreción de hormona estimulante de la tiroides (TSH) a través de la cascada de segundos mensajeros de  $IP_3$  y diacilglicerol (DAG) y activación de PKC, que lleva a la fosforilación de proteínas involucradas en exocitosis y regula la secreción (Ojeda, 2004).

Una vez que la TSH es liberada de la hipófisis, viaja por torrente sanguíneo hasta llegar al tirocito (célula folicular tiroidea), donde se une a sus receptores de membrana, que son receptores acoplados a proteínas G, los cuales incrementan la actividad de la enzima adenilato ciclasa, y por lo tanto estimulan la generación de AMP cíclico, para propiciar la síntesis de dos proteínas importantes en la síntesis de las HT, tiroglobulina (Tg) y tiroperoxidasa (TPO), y en la captación del yodo por la tiroides a través del transportador de sodio-yodo (NIS) (Griffin, 2004).

La captura de yodo por la glándula tiroides es el paso esencial en la síntesis de hormonas tiroideas. La Figura 5 muestra como el yoduro (I<sup>-</sup>) es captado de manera activa por la membrana basal del tirocito, a través del transportador NIS. En la membrana apical del tirocito, el I<sup>-</sup> es transportado al coloide por medio de otra proteína de membrana llamada pendrina. En el coloide, la organificación del yodo se lleva a cabo por medio de la tiroperoxidasa (TPO). A través de un mecanismo de oxidación donde participa el peróxido de hidrógeno, el yodo se une a los residuos de tirosina de la proteína coloidal tiroglobulina Tg. Consecuentemente, en la misma Tg, las tirosinas yodadas (monoyodotirosinas, MIT) se unen para formar diyodotirosinas (DIT). El acoplamiento de dos DIT da lugar a la formación de T<sub>4</sub>, y la unión de una DIT con una MIT forma T<sub>3</sub>. Después de estos acoplamientos, la tiroglobulina yodada es endocitada por el tirocito. En el citosol se lleva a cabo la proteólisis de la Tg, y se liberan tanto T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>, MIT y DIT. En el interior del tirocito, la T<sub>4</sub> puede ser desyodada a T<sub>3</sub>. Las MIT y DIT residuales son deshalogenadas para el reciclamiento del yodo, mientras que las hormonas tiroideas, son secretadas al torrente sanguíneo, en donde se unen principalmente a proteínas transportadoras que las distribuyen por todo el organismo. En los órganos blancos, las hormonas ejercen sus efectos por su unión a receptores nucleares (Taurog, 2000).



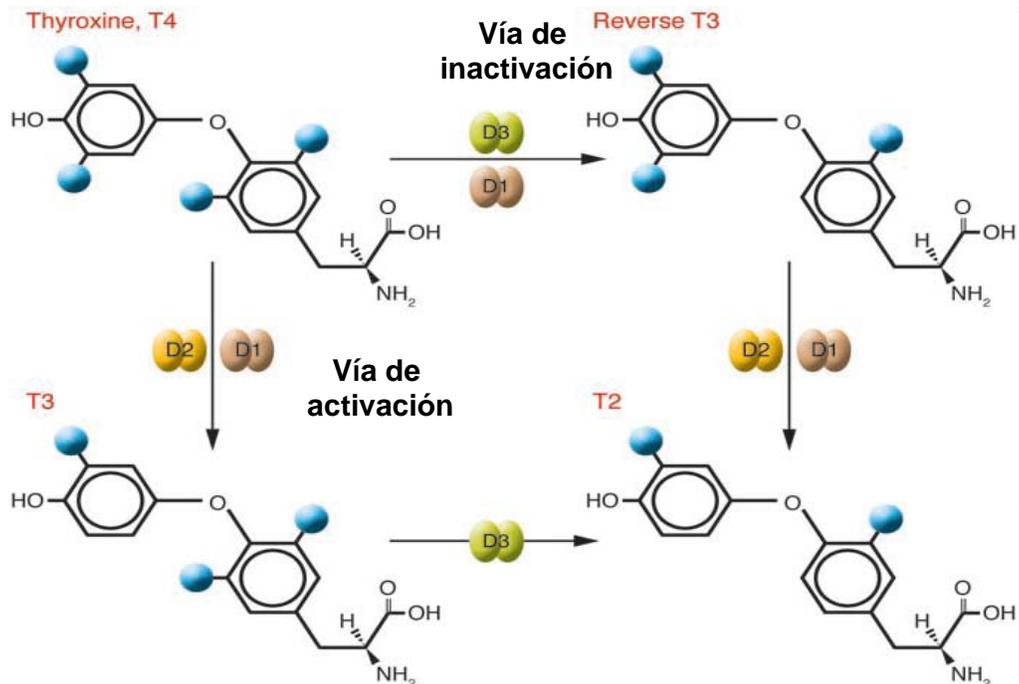
**Figura 5. Síntesis y secreción de las hormonas tiroideas.** NIS = Transportador sodio yodo, PEN = Pendrina, TPO = Tiroperoxidasa, EOI = Complejo enzima-hipoyodito, Tg = Tiroglobulina, DIT = Diyodotirosina, MIT = Monoyodotirosina, EO = Complejo de yodo-TPO. (Modificado de Taurog, 2000).

### C. Transporte

Una vez en la circulación sanguínea y por su carácter hidrofóbico, las hormonas tiroideas son transportadas por proteínas. Se conocen tres de ellas: la globulina fijadora de tiroxina (TBG), la transtiretina (TTR), y la albúmina. La TBG transporta más del 70% de las hormonas tiroideas; es decir, es más afín a ellas. Le sigue la transtiretina, que transporta del 10 al 15% de las hormonas tiroideas, y es la principal proteína de unión a estas hormonas en el líquido cefalorraquídeo, donde juega un papel fundamental en el ingreso y en la distribución de hormonas tiroideas al sistema nervioso central. Finalmente, la albúmina transporta el 15% restante de las hormonas en el plasma (Robbins, 2000).

## **D. Metabolismo de hormonas tiroideas: Desyodación**

Las hormonas tiroideas pueden ser metabolizadas por varias vías, entre las cuales se encuentra la desyodación. Es un proceso enzimático, por medio del cual se regulan las concentraciones intracelulares de  $T_3$  (una de las formas activas de las HT) en los tejidos extratiroideos. La generación de  $T_3$  ocurre a partir de la desyodación de la  $T_4$ . Esta reacción consiste en remover un átomo de yodo en la posición 5' del anillo externo de la  $T_4$  (Figura 6). La remoción del halógeno se lleva a cabo por medio de un par de enzimas denominadas desyodasas: tipo 1 (D1) y tipo 2 (D2). En contraste, la desyodasa tipo 3 (D3), remueve selectivamente átomos de yodo del anillo interno de la hormona tiroidea, y genera un metabolito inactivo, la triyodotironina reversa ( $rT_3$ ) (Gereben et al., 2008). Las desyodasas, a través de la vía de activación (D1 o D2), proveen de HT biológicamente activa a todos los tejidos periféricos, ya sea para su autoconsumo, o bien para exportarla al torrente sanguíneo. Con respecto a esto último, durante mucho tiempo se consideró que la enzima D1 era la principal proveedora de  $T_3$  a la circulación y la D2 para “autoconsumo” (Bianco et al., 2002). Sin embargo, en los últimos años estas nociones han cambiado. La  $T_3$  circulante proviene primordialmente de la actividad D2 (Maia et al., 2005), mientras que la  $T_3$  local parece también provenir de la actividad D1 (Galton et al., 1991; Aceves y Valverde, 1989; Anguiano et al., 2006). La D3, por su parte, se ha visto que se encarga exclusivamente de desyodar a la  $T_4$  y a la  $T_3$  en la posición 5 de su anillo interno, convirtiéndolos en tironinas biológicamente inactivas (vía de inactivación) (Sorimachi y Robbins, 1977). Recientemente se ha mostrado que esta enzima puede jugar un rol crucial en la maduración de los tejidos, “protegiéndolos” de un exceso de  $T_3$  (Hernández et al., 2006). Estudios en ratones *knock out* (KO) para el gen de la enzima D1 muestran que estos animales presentan niveles normales en los niveles de  $T_3$  circulante, pero niveles elevados de  $T_4$  (Schneider et al., 2006). En los ratones KO para el gen de D2, no se modifican los niveles circulantes de  $T_3$ , pero aumentan los de  $T_4$  y de TSH (Schneider et al., 2001); además, estos animales cursan con una disminución de la capacidad termorreguladora (De Jesús et al., 2001), y deterioro de la capacidad auditiva (Ng et al., 2004). Contrariamente a los KO de D1 y D2, en el modelo de ratón que no expresa D3, el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides se ve afectado, ya que los niveles de  $T_3$  sérica están disminuidos; la  $T_4$  está elevada y la TSH no cambia. Fenotípicamente, estos ratones presentan hipotiroidismo y son poco fértiles, presentan retraso en el crecimiento y alta mortalidad neonatal, a consecuencia de la alta exposición a HT materna en la vida uterina (Hernández et al., 2006).



**Figura 6. Mecanismo enzimático de desyodación.** Las desyodasas catalizan la remoción de átomos de yodo del anillo fenólico (externo) o tirosilo (interno). Estas vías pueden transformar a la T<sub>4</sub> en T<sub>3</sub> (vía D1 o D2), o en T<sub>3</sub> reversa (vía D1 o D3) (Figura tomada de: Bianco et al., 2006).

Estas enzimas forman parte de una familia de proteínas que contienen en su sitio activo al aminoácido selenocisteína (Sec). Las desyodasas son codificadas por genes distintos, la afinidad por su sustrato es diferente y son reguladas de manera distinta.

### 1. Desyodasa tipo 1

Dependiendo del estado fisiológico, esta selenoenzima es capaz de remover átomos de yodo del anillo externo de la tiroxina para producir T<sub>3</sub> (vía de activación) (Braverman et al., 1970), o bien del anillo interno para producir T<sub>3</sub> reversa, o 3,3'-T<sub>2</sub> (vía de inactivación) (Sorimachi y Robbins, 1977). Esta enzima fue la primera en ser caracterizada bioquímicamente al ser inhibida *in vitro* por el 6-n-propil-2-tiouracilo (PTU) (Geffner et al., 1975). Anteriormente se creía que era la principal enzima involucrada en la vía de activación, y que por lo tanto propocionaba el principal aporte de T<sub>3</sub> extratiroidea; sin embargo, estudios recientes en humanos sugieren que la enzima que primordialmente provee de T<sub>3</sub> a la circulación es la desyodasa tipo 2 (D2) (Maia et al., 2005).

### **a. Características moleculares: gen, mensajero y proteína**

El gen de la desyodasa tipo 1 (*Dio 1*) consta de 4 exones, y en el segundo exón se encuentra la región que codifica para el triplete UGA, el cual, en lugar de funcionar como codón de paro en la transcripción, codifica para el aminoácido selenocisteína (Jacobs et al., 1997), el cual forma parte del sitio activo de las dos desyodasas (Bianco et al., 2002). Este gen es altamente regulado por el estado tiroideo, pues en su secuencia tiene elementos responsivos a hormonas tiroideas (TRE), así como para ácido retinoico (RARE) (Zhang et al., 1998).

El RNAm de la D1 es un fragmento de alrededor de 2 kb (Berry et al., 1991), y en la rata, es codificada por dos transcritos diferentes que varían en la longitud de la región 3'UTR (Aceves et al., 2001; Arroyo-Helguera et al., 2005), y también se han identificado dos polimorfismos de nucleótido simple (Peeters et al., 2003).

La proteína de la D1 es un fragmento de 27 kDa (Berry et al., 1991a), con el aminoácido selenocisteína en su sitio activo (Berry et al., 1991b). La actividad de esta enzima sigue una cinética “ping-pong” (Bianco et al., 2002), es decir, donde la enzima se reduce al reaccionar con el cofactor, y al llevar a cabo la desyodación, queda oxidada. Sus sustratos preferentes son la T<sub>3</sub> reversa (rT<sub>3</sub>) y la T<sub>3</sub> sulfatada (T<sub>3</sub>S). Es altamente sensible a inhibición por el PTU (Geffner et al., 1975), y el sitio catalítico de esta proteína de membrana plasmática está expuesto hacia el citoplasma (Toyoda et al., 1995). Esta enzima tiene una vida media larga (≈ 12 h) (Gereben, 2000).

### **b. Distribución en tejidos**

La D1 se expresa en varios tejidos como el hígado (Kohrle, 1996), el riñón (Leonard y Kohrle, 2000) y la glándula mamaria lactante (Aceves y Valverde, 1989). También se ha encontrado en tiroides, hipófisis, intestino, placenta y sistema nervioso central en la rata (Bianco et al., 2002; Gereben et al., 2008). En nuestro laboratorio, se ha encontrado que la D1 se encuentra presente en el sistema reproductor masculino de rata, particularmente en la próstata, el epidídimo y el semen (Anguiano et al., 2006; 2008).

### **c. Regulación**

El gen *Dio1* se encuentra regulado por  $T_3$  y por ácido retinoico por tener en su región promotora elementos responsivos a estas moléculas, por lo que en casos de hipertiroidismo se favorece la expresión de este gen (Toyoda, 1995). En cuanto a la regulación negativa, se sabe que las citoquinas,  $TNF-\alpha$ , e  $IF-\gamma$  inhiben la expresión del gen de la D1 (Pekary et al., 1994). Otro de los factores que regulan la actividad de las desyodasas es la inervación autónoma. Estudios de nuestro laboratorio han mostrado que en la actividad D1 de la glándula mamaria, está regulada por la inervación simpática, a través de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos (Aceves et al., 1999).

## **2. Desyodasa tipo 2**

Esta enzima, a diferencia de la D1, remueve selectivamente átomos de yodo del anillo externo de las hormonas tiroideas, por lo que convierte  $T_4$  a  $T_3$ , o bien, la  $rT_3$  en  $3,3'-T_2$  (Gereben et al., 2008). Los datos proporcionados por estudios hechos en ratones KO de D2, indican que esta enzima tiene relevancia en la regulación de la secreción de TSH (Schneider et al., 2001), en la homeostasis de la  $T_3$  cerebral (Galton et al., 2007) y termogénesis adaptativa en el tejido adiposo café (de Jesús et al., 2001).

### **a. Características moleculares: gen, mensajero y proteína**

La desyodasa tipo 2 es codificada por un gen de 2 exones (gen *Dio 2*) (Celi et al., 1998), el cual posee elementos responsivos a AMP cíclico (*cre*) (Bartha et al., 2000), y al factor de transcripción tiroidea 1 (TTF-1) (Gereben et al., 2001).

El RNAm de la D2 es mas grande que el de la D1, pues tiene una longitud aproximada de 7.5 kb (Salvatore et al., 1996). A semejanza de la D1, contiene en su secuencia el elemento de inserción de selenocisteína, para la incorporación de este importante aminoácido en el sitio catalítico de las desyodasas (Buettner et al., 1998). Además, cuenta con varios marcos de lectura abierta, lo que hace que la eficiencia de la traducción sea menor. (Gereben et al., 2002).

La D2 es una proteína membranal que se localiza en el retículo endoplásmico y su sitio catalítico se encuentra expuesto hacia el citosol (Baqui et al., 2000), Su peso aproximado es de 31 kDa (Salvatore, 1996), es poco sensible a PTU (Silva y Larsen, 1977), y su mecanismo de acción es secuencial (Salvatore et al., 1996). Aunque esta

enzima es más sensible a su sustrato que la D1 (Buettner et al., 2000) (su afinidad se encuentra en el orden nanomolar contra el orden micromolar de la D1), su vida media es menor, de tan sólo 40 minutos, y su inactivación se lleva a cabo por sustrato a través de un mecanismo de ubiquitinación (Gereben et al., 2000).

#### **b. Distribución en tejidos**

La D2 se expresa principalmente en el cerebro, la hipófisis, el tejido adiposo café y la glándula pineal (Murakami et al., 1989; Meywirth et al., 1991). La actividad de esta enzima es particularmente elevada en la glia (Guadano-Ferraz, 1997), la cóclea (Campos Barros et al., 2000; 1996) y el músculo esquelético en el caso de humanos (Croteau et al., 1996).

#### **c. Regulación**

Se sabe que el hipotiroidismo regula a la alza la actividad de la D2; sin embargo, se ha observado que en tejido adiposo café la actividad de la enzima aumenta cuando la norepinefrina incrementa los niveles de AMP cíclico, activando la producción de calor y la lipólisis (Silva y Larsen, 1983; 1982). El eje hipotálamo hipófisis adrenal juega un papel muy importante en la regulación simpática de la D2 ante el estímulo del frío, ya que el aporte autonómico aportado por el nervio esplácnico y la regulación neural hipotalámica, modulan de manera muy compleja la activación de la D2 adrenal en esta respuesta. (Anguiano et al., 1995). Los corticosteroides, como la dexametasona, también incrementan la conversión de  $T_4$  a  $T_3$  vía D2. Esto se ha reportado en células de tumores hipofisarios (Kim et al., 1998), en el cerebro de pollo (Van der Geyten et al., 2001) y en astrocitos de rata (Courtin et al., 1989); mientras que el efecto contrario se ha observado en células de neuroblastoma de ratón (St. Germain, 1986).

### **3. Desyodasa tipo 3**

Esta selenoenzima se encarga de remover átomos de yodo del anillo interno de las hormonas tiroideas, por lo que esta enzima es exclusiva de la vía de inactivación (Sorimachi y Robbins, 1977). El patrón de expresión de la D3 sugiere que en el desarrollo fetal juega un rol regulador en la exposición limitada de los tejidos fetales a las HT maternas (Gereben et al., 2008).

### **a. Características moleculares: gen, mensajero y proteína**

Esta enzima es codificada por el gen *Dio 3* cuya región codificante y región 3'UTR se encuentra contenida en un sólo exón, de 1.9 kb de longitud (Hernández et al., 2002). Este gen tiene la particularidad de que en una región, se lleva a cabo transcripción antisentido, por lo que se le conoce como *Dio3os* (*Dio 3 opposite strand*), que transcribe 6 exones y dos sitios de poliadenilación, indicando un complejo patrón de expresión (Hernández et al., 2004).

El RNAm de la D3 es un fragmento de 2.1 kb en los tejidos que expresan abundantemente esta enzima, aunque también se han identificado transcritos de mayor longitud en cerebro de ratas hipertiroideas (Salvatore et al., 1995).

La D3 es una proteína ubicada en la membrana plasmática, cuyo centro activo se encuentra activo hacia el citoplasma, bloqueando la entrada de HT al interior de la célula (Baqui et al., 2003). Su peso aproximado es de 32 kDa, y al igual que la D1 y la D2, tiene al aminoácido Sec en su sitio activo (Salvatore et al., 1995; Croteau et al., 1995); su mecanismo de acción es secuencial, es sensible a inhibirse por el ácido iopanoico y resistente al PTU, y su vida media se encuentra en el rango de horas (Salvatore et al., 1995).

### **c. Distribución en tejidos**

Es ampliamente conocido que la D3 es muy importante en la etapa de gestación, ya que la enzima presenta amplia actividad en el útero durante el embarazo (Huang et al., 2003), en la placenta (Koopdonk-Kool et al., 1996), y en la mayoría de los tejidos embrionarios (Huang et al., 2003). En animales adultos, se encuentra presente en la piel (Dentice et al., 2007) y en distintas estructuras cerebrales en la etapa neonatal, como la corteza (Huang et al., 2003), núcleo de la cama de la estría terminalis, área preóptica y amígdala (Bayer et al., 1987).

### **c. Regulación**

Las HT, especialmente la T<sub>3</sub>, regula a la alza la expresión del RNAm de la D3 en el cerebro; por consiguiente, el hipertiroidismo también la estimula, mientras que en cerebros hipotiroideos, el RNAm de esta enzima se encuentra ausente (Tu et al., 1999). Factores de crecimiento y cascadas de señalización involucradas en angiogénesis

inducen la expresión de la D3 en células de tejido adiposo café (Hernández et al., 1995). La hormona de crecimiento y los glucocorticoides, específicamente la dexametasona, inhiben la expresión de la D3 en hígado de embrión de pollo (Van der Geyten et al., 1999).

### **E. Hormonas tiroideas y desyodación en la próstata**

Existen pocos estudios sobre la participación de las hormonas tiroideas en el desarrollo y función de la glándula. Se conoce que el hipotiroismo neonatal reduce el tamaño de la próstata y que la deficiencia de estas hormonas antes de la pubertad reduce de manera lóbulo-específica la actividad de una gran variedad de enzimas involucradas en los procesos de transporte activo y del metabolismo de azúcares (fosfatasa acida, fosfatasa alcalina, ATPasa dependiente de Na/K, Ca, Mg y glucosidasas) (Sidarthan et al., 1993, 1994). Estudios recientes de nuestro laboratorio han mostrado la presencia de actividad de D1 en la próstata, y que la T<sub>3</sub>, la prolactina y los estrógenos estimulan su actividad, mientras que los andrógenos la inhiben (Anguiano et al., 2006). Esta enzima se expresa a partir de la pre-pubertad, alcanza los valores más altos en la pubertad-madurez sexual y declina gradualmente con la edad. Además, la actividad sexual continua evita el decline de la actividad enzimática asociado a la edad (López, 2006).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Existen evidencias de que en la glándula mamaria y el corazón, la inervación simpática regula la expresión de D1 y que este incremento está mediado por los receptores  $\beta$ -adrenérgicos (Aceves et al., 1999 a,b; 2001). Datos preliminares de nuestro laboratorio mostraron una relación positiva de la actividad D1 prostática y la eyaculación (Anguiano, 2006, datos no publicados). Además, es bien conocido que la estimulación simpática a través del nervio hipogástrico, modula la función prostática, estimulando la emisión del fluido prostático hacia la uretra (Bruschini et al., 1978). Por todo lo anterior, proponemos que la regulación de la actividad D1 y la consecuente generación de  $T_3$  prostática, podrían estar bajo el control del sistema nervioso autónomo, probablemente a través de la división simpática.

## **HIPÓTESIS**

El sistema nervioso simpático regulará positivamente la actividad D1 prostática y la generación local de T<sub>3</sub>.

## **OBJETIVOS**

### **I. General**

Analizar durante la conducta sexual, la influencia de la inervación simpática sobre la generación local de T<sub>3</sub>

### **II. Particulares**

- A. Evaluar en animales sexualmente expertos, la actividad D1 prostática en respuesta a 1, 2, 3, 4 y 5 series eyaculatorias consecutivas.
- B. Analizar los efectos de la sección del nervio hipogástrico sobre la respuesta de la actividad D1 a la eyaculación.
- C. Correlacionar los cambios de la actividad D1 con la generación local de T<sub>3</sub> y con la expresión del gen dependiente de T<sub>3</sub>, ornitín descarboxilasa (ODC).
- D. Evaluar el efecto de la administración de Noradrenalina (NA) sobre la actividad D1 prostática.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### I. Material biológico

Se utilizaron ratas machos y hembras de la cepa Wistar. Los animales se mantuvieron a temperatura constante ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ) e iluminación controlada (oscuridad 10:00 – luz 10:00). Tuvieron acceso *ad libitum* al agua y alimento (Purina Rat Lab). Los animales fueron sacrificados por decapitación (método de eutanasia aceptado por la Asociación Americana Médica Veterinaria). Todos los machos utilizados en este estudio fueron sexualmente expertos (ver sección III de este capítulo). Al final de los experimentos, los animales se pesaron, se sacrificaron, y se obtuvo la próstata. El tejido se congeló inmediatamente en hielo seco y se almacenó a  $-70^\circ\text{C}$  hasta el momento de su utilización.

### II. Diseño Experimental

**A. Efecto de la conducta sexual sobre la actividad D1 y generación local de  $T_3$  en la próstata.** El propósito de este experimento fue analizar la respuesta de la actividad D1 prostática en función del número de eyaculaciones. Se utilizaron machos sexualmente expertos de 3.5 meses de edad. Los animales se sacrificaron después de la 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup>, y 5<sup>a</sup> eyaculación. Cada grupo tuvo 5 ratas. En los animales que ejecutaron 4 eyaculaciones, se cuantificaron los niveles prostáticos de  $T_3$ . Como grupos controles se utilizaron machos que nunca tuvieron actividad sexual, y machos sexualmente expertos, que tuvieron el entrenamiento, pero que no eyacularon el día de la prueba.

**B. Influencia de la simpatectomía prostática sobre la actividad D1 y generación local de  $T_3$ , en condiciones basales y en respuesta a la eyaculación.** El objetivo de este experimento fue analizar la participación del nervio hipogástrico en el control de la actividad D1 prostática. Se formaron 2 grupos de animales sexualmente expertos: falsos lesionados y los simpatectomizados con 7 ratas por grupo. Cada grupo se dividió en 2 subgrupos, de los cuales uno fue sometido a conducta sexual (4 eyaculaciones) y el otro no (cada subgrupo tuvo de 3 a 4 animales). Este experimento fue realizado dos semanas después de la cirugía. En el tejido prostático se determinó

además de la actividad D1, el contenido intracelular de T<sub>3</sub> y la expresión de un gen dependiente de T<sub>3</sub> (ODC).

*C. Efecto de la administración de NA sobre la actividad D1 prostática.* Se administró por vía intraperitoneal una dosis única (1.0 mg/kg peso) de NA (Arterenol, Sigma) disuelta en solución salina acidificada con HCl (pH de 7.4). Se formaron dos grupos, a uno se le inyectó el vehículo (grupo control), y al otro se le administró la NA. Se contó con un total de 3 animales por grupo. Los animales se sacrificaron 4 horas post-administración. Los animales control recibieron solución salina acidificada (pH 7.4) como vehículo. Todos los animales utilizados en este experimento eran sexualmente expertos.

### **III. Entrenamiento y evaluación de la actividad sexual**

Para evaluar si una rata macho es sexualmente experta, es necesario analizar los parámetros y patrones conductuales que estos animales ejecutan durante la cópula (monta, intromisión y eyaculación). En la monta, el macho se sube a los flancos de la hembra receptiva e inicia movimientos pélvicos sin hacer inserción peneana. En la intromisión, ocurre el mismo patrón, con la diferencia de que el macho sí realiza inserción peneana. Después de 10 a 12 intromisiones, el macho alcanza la eyaculación; es decir, libera el semen, constituido por los espermatozoides y el líquido seminal proveniente de las glándulas accesorias del tracto reproductor masculino. Después de esta acción, el macho realiza limpieza genital y se retira de la hembra, en un periodo refractario de 5 a 10 minutos, para posteriormente iniciar nuevamente la conducta sexual (Hull y Domínguez, 2007).

En presencia de hembras receptivas, los machos fueron sometidos a 3 sesiones de entrenamiento para hacerlos sexualmente expertos. La receptividad sexual se indujo en hembras ovariectomizadas, tratadas con 25 µg de estradiol y 1 mg de progesterona. La administración de estas hormonas se realizó por vía sc, 48 y 4 horas respectivamente, antes de someterlas a la prueba de conducta sexual. Cada sesión tuvo una duración de 1 hora. El entrenamiento consistió en poner en contacto a un macho con una hembra en cajas de cópula. Se registró la latencia de la eyaculación. El día del experimento, además de las latencias de cada eyaculación, se registró el número de montas e

intromisiones. Se considera que un macho es sexualmente experto si presenta un índice de eficiencia copulatoria mayor a 0.5. Este parámetro se obtiene a partir del siguiente cociente (número de intromisiones/  $\sum$  número de intromisiones y montas) (Knobil, 1994).

#### **IV. Simpatectomía preganglionar**

La simpatectomía del nervio hipogástrico (HPGx) se llevó a cabo con métodos quirúrgicos, en machos sexualmente expertos de 3 meses de edad. Las ratas se anestesiaron con una mezcla de ketamina (30 mg /kg peso) y xilaxina (6 mg/kg peso). El nervio hipogástrico se seccionó a una altura de 1-2 mm antes del ganglio pélvico. Como grupo control se utilizaron animales falsos lesionados, los cuales fueron sometidos al mismo procedimiento quirúrgico, pero no se les seccionó el nervio.

#### **V. Métodos Analíticos**

**A. Cuantificación de la Actividad DI.** La actividad desyodativa se determinó por el método de liberación de radio-yodo (Anguiano et al, 2006). En dicho método se utiliza un sustrato radiactivo ( $^{125}\text{I-rT}_3$ ) y se mide la cantidad de yodo radiactivo liberado por acción enzimática. La actividad se midió en el tejido prostático, el cual fue homogenizado en amortiguador HEPES (pH 7.5), en proporción peso: volumen (1:5). El homogenizado se centrifugó a 2500 rpm, durante 10 minutos (4°C) y el sobrenadante se almacenó en alícuotas a -70°C. El ensayo enzimático consistió en incubar 200  $\mu\text{g}$  de proteína con una mezcla isotópica la cual contiene 2 nM  $^{125}\text{I rT}_3$ , + 0.25  $\mu\text{M rT}_3$  + 10 mM DTT. La incubación se llevó a cabo durante 3 horas a 37°C en un volumen final de 100  $\mu\text{l}$ . La reacción se detuvo adicionado una solución de albúmina sérica bovina + PTU y ácido tricloroacético (10%). La muestra se centrifugó a 2500 rpm (10 minutos) y el sobrenadante se pasó a través de una columna de intercambio iónico (Dowex) y se eluyó con 2 ml de ácido acético (10%). El yodo liberado se cuantificó en un espectrómetro gamma. La actividad se reporta como pmol I liberado/mg proteína/h. La concentración de proteínas se determinó por el método colorimétrico de Bradford.

**B. Cuantificación de T<sub>3</sub>.** El contenido prostático de T<sub>3</sub> se determinó por radioinmunoanálisis (RIA) (Anguiano et al, 2006). Esta técnica se basa en la ley de

acción de masas de la reacción antígeno-anticuerpo, y consiste en poner a competir el antígeno marcado ( $^{125}\text{I-T}_3$ ) con la hormona no marcada ( $\text{T}_3$ ), contenida en los estándares o en la muestra problema. La extracción de  $\text{T}_3$  de los tejidos se realizó de la siguiente manera: Las próstatas se pesaron y se homogenizaron en metanol y PTU (1mM) en una proporción 1:4 (p/v). El homogenizado se centrifugó a 3,000 rpm, durante 10 minutos ( $4^\circ\text{C}$ ) y el sobrenadante se evaporó a  $65^\circ\text{C}$ . El precipitado se resuspendió en suero hipotiroideo. El coeficiente de recuperación de la extracción de  $\text{T}_3$  fue de 75%. El anticuerpo a  $\text{T}_3$  se utilizó a una dilución 1:8000 y se incubó a  $4^\circ\text{C}$  durante 24 horas. La separación del antígeno unido del libre se llevó a cabo agregando una solución de carbón activado – dextran (0.5%). La solución se centrifugó a 2500 rpm, durante 30 minutos ( $4^\circ\text{C}$ ). Se cuantificó la radiactividad obtenida en la fracción unida (sobrenadante) y libre (botón). La curva estándar se construyó en un intervalo de 4 a 500 pmol  $\text{T}_3$  / 100  $\mu\text{l}$ . Los resultados se expresan como ng de  $\text{T}_3$ /g de tejido.

**C. Expresión del gen de ornitín descarboxilasa (ODC).** Este análisis se realizó mediante RT-PCR en tiempo real. La extracción, precipitación y purificación de RNA se realizó homogenizando el tejido prostático en trizol en una proporción 1:10 peso:volumen. El tejido homogenizado se incubó 5 minutos a temperatura ambiente. La extracción del RNA se realizó con 200  $\mu\text{l}$  de cloroformo. Posteriormente la mezcla se centrifugó (12000 rpm a  $4^\circ\text{C}$ ) durante 30 minutos, y la fase acuosa se mezcló con 500  $\mu\text{l}$  de isopropanol para precipitar el RNA. El RNA se lavó con 1 ml de etanol (75%), se resuspendió en 100  $\mu\text{l}$  de agua estéril, y se almacenó a  $-70^\circ\text{C}$ . La cuantificación de RNA, se realizó en un espectrofotómetro UV a 260 nm y la pureza se determinó con el cociente de absorbancia 260/280 nm.

La generación del cDNA se realizó a partir de la retrotranscripción de 2  $\mu\text{g}$  de RNA. El RNA se incubó con oligo dT (50  $\mu\text{M}$ ), durante 5 minutos a  $65^\circ\text{C}$ . Posteriormente se agregó buffer (Tris HCl 200 mM a pH 8.4 y KCl 500 mM), DTT (0.1 M), enzima RNasin (40 u/ $\mu\text{l}$ ), dNPTs (10 pmoles). Esta mezcla se incubó en termociclador a  $42^\circ\text{C}$ , una vez que el aparato alcanzó esta temperatura, se agregó la enzima Superscript II. Esta incubación se lleva a cabo durante una hora, seguida de otra a  $55^\circ\text{C}$  por 20 minutos.

La amplificación del cDNA se llevó a cabo por PCR en tiempo real. El cDNA se mezcló con los siguientes componentes: Platinum (mezcla de Taq polimerasa, colorante SYBR Green I, Tris HCl, KCl y MgCl<sub>2</sub> 6 mM, dNTP's 400 μM y UDG 800 μM), fluoróforo 1 μM (Rox) y los oligonucleótidos correspondientes de ODC y ciclofilina. En la tabla 2 se muestran las características de ambos oligonucleótidos. Las condiciones de la PCR fueron: 50°C por 2 minutos, 95°C por 10 minutos, 35 ciclos de 95°C 10 segundos, 55°C 15 segundos y 72°C 20 segundos, con una alineación final de 72°C a 95°C durante 5 minutos.

La expresión relativa del gen de interés (ODC) se calculó con relación a la expresión del gen constitutivo (ciclofilina), utilizando el método  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  (Livak y Schmittgen, 2001). Este método considera el número de ciclo donde comienza la fase estacionaria de amplificación de cada gene (C<sub>T</sub>). Al C<sub>T</sub> del gen constitutivo se le resta el C<sub>T</sub> del gen de interés ( $\Delta C_T$ ). Posteriormente al  $\Delta C_T$  de cada muestra se le resta el  $\Delta C_T$  de una muestra control, para así obtener el ( $\Delta\Delta C_T$ ). Sustituyendo este valor en la relación exponencial  $2^{-\Delta\Delta C_T}$ , se obtiene un valor de unidades relativas (U.R.) de expresión.

**Tabla 2. Oligonucleótidos utilizados en la PCR**

Gen	Ciclofilina	ODC
Secuencia GenBank	M19533	X07944
Tamaño (pb)	520	426
Secuencia Sentido	AGA CGC CGC TGT CTC TTT TCG	AGC AGA CCG GCT CGG ACG AT
Secuencia Antisentido	CCA CAC AGT CGG AGA TGG TGA TC	AGA CAT GGG CAG AGT GCC AA
Temperatura de Alineamiento (°C)	55	55
Ciclos amplificación	35	35

**D. Estadística.** Todos los datos representan la media ± E.E. Dependiendo del experimento los datos se analizaron con una t de Student ( $p < 0.05$ ), análisis de varianza

(ANOVA) de una o dos vías. Se utilizó el análisis de Tukey como prueba post-hoc de comparación múltiple ( $p < 0.05$ ).

## RESULTADOS

### I. Efecto de la conducta sexual sobre la actividad D1 prostática en respuesta al estímulo de la eyaculación.

En animales sexualmente expertos se analizó la respuesta de la actividad D1 prostática en función del número de eyaculaciones. Como era de esperarse, los resultados de la Tabla 3 mostraron que a mayor número de sesiones, se redujeron significativamente las latencias de las eyaculaciones.

**Tabla 3. Latencias de eyaculación en animales intactos**

Grupo (eyaculaciones) n = 5	Sesiones de entrenamiento			p
	1	2	3	
0	37.68±7.22 <sup>a</sup>	19.98±3.91 <sup>b</sup>	8.02 ± 0.37 <sup>c</sup>	<b>0.006</b>
1	32.4 ± 5.38 <sup>a</sup>	19.83 ± 2.74 <sup>b</sup>	12.92 ± 2.1 <sup>c</sup>	<b>0.005</b>
2	47.04 ± 4.00 <sup>a</sup>	20.2 ± 4.4 <sup>b</sup>	12.8 ± 2.02 <sup>c</sup>	<b>0.003</b>
3	30.63 ± 1.62 <sup>a</sup>	23.16 ± 2.19 <sup>b</sup>	5.14 ± 1.84 <sup>c</sup>	<b>0.0001</b>
4	36.6 ± 7.18 <sup>a</sup>	16.05 ± 0.75 <sup>b</sup>	8.67 ± 0.99 <sup>c</sup>	<b>0.005</b>
5	34.99 ± 5.47 <sup>a</sup>	22.9 ± 4.14 <sup>b</sup>	12.9 ± 2.08 <sup>c</sup>	<b>0.007</b>

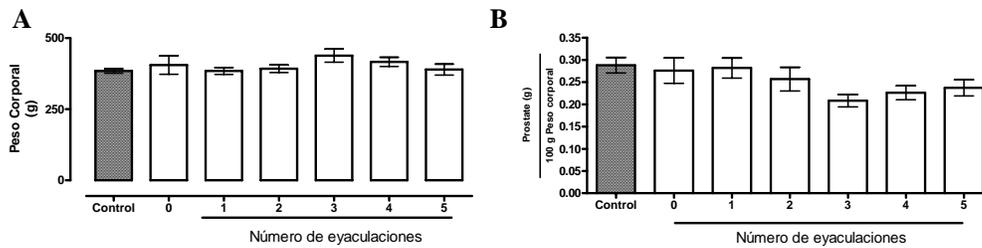
Latencias expresadas en minutos. Los datos fueron analizados con ANOVA de medidas repetidas.

Se corroboró que los animales eran sexualmente expertos calculando la eficiencia copulatoria, la cual en todos los casos fue mayor a 0.5. Estos datos se muestran a continuación en la Tabla 4.

**Tabla 4. Eficiencia copulatoria de animales intactos**

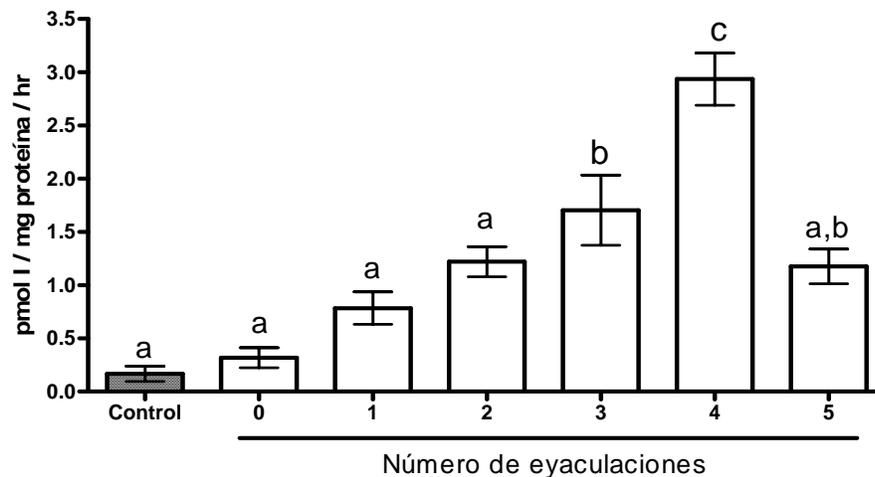
	Número de eyaculaciones					
	0	1	2	3	4	5
<b>Índice</b>	0.64 ± 0.04	0.68 ± .06	0.66 ± .06	0.56 ± 0.04	0.62 ± .05	0.66 ± .02

**A. Peso corporal y prostático.** Los resultados de la figura 7 muestran que en los diferentes grupos experimentales no hubo diferencias significativas en el peso corporal, ni en el peso prostático. No obstante, este último mostró una tendencia a disminuir entre la 3<sup>a</sup> y 4<sup>a</sup> eyaculación.



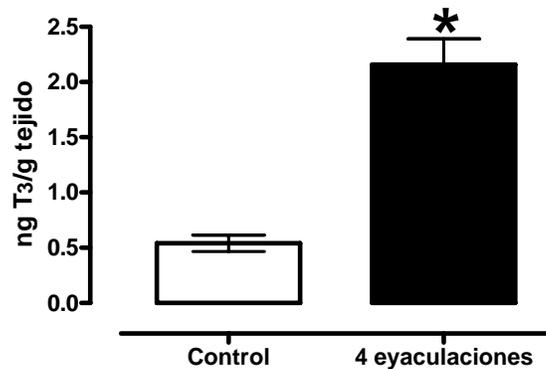
**Figura 7. Peso Corporal (A) y Prostático (B).** El peso de la próstata se normalizó a 100 g de peso corporal. El control incluye un grupo de machos sin experiencia sexual. n = 5 animales por grupo. No hubo diferencias significativas entre grupos.

**B. Actividad D1 prostática.** En la figura 8 se muestra la respuesta de la actividad D1 prostática en función del número de eyaculaciones. Los resultados muestran un aumento gradual, alcanzando un incremento significativo entre la 3ª y 4ª eyaculación y disminuyendo significativamente a partir de la 5ª. Cabe notar que el aumento de D1 entre la 3ª y 4ª eyaculación coincide con la disminución no significativa del peso prostático, mostrado en la figura 7B.



**Figura 8. Actividad D1 prostática en animales sexualmente expertos.** El control incluye un grupo de machos sin experiencia sexual. Se utilizó un análisis de varianza de una vía y una prueba post-hoc (Tukey). Letras diferentes indican diferencias significativas  $p < 0.0001$ . n = 5 animales por grupo.

**C. Niveles prostáticos de  $T_3$ .** Para correlacionar el "pico" de actividad D1 prostática con la producción local de  $T_3$ , se midieron los niveles prostáticos de esta hormona, obteniendo a 4 eyaculaciones, como aprecia en la figura 9, la producción de  $T_3$  incrementa significativamente versus los niveles del grupo control.



**Figura 9. Niveles prostáticos de T<sub>3</sub> en los animales que ejecutaron 4 eyaculaciones.** El grupo control corresponde a machos sexualmente expertos que no fueron sometidos a conducta sexual. n = 3 animales /grupo. Análisis estadístico con t de Student. \* p<0.001.

## II. Efecto de la sección del nervio hipogástrico sobre la actividad D1 y los niveles prostáticos de T<sub>3</sub> en respuesta a la eyaculación.

El objetivo de este experimento fue determinar si la inervación simpática, conducida por el nervio hipogástrico, tiene un efecto sobre la actividad D1 y consecuentemente en la producción local de T<sub>3</sub>. Este experimento se llevó a cabo en animales sexualmente expertos, y como era de esperarse, los resultados de la tabla 4 muestran que a mayor número de sesiones disminuye significativamente la latencia eyaculatoria.

**Tabla 5. Latencias de eyaculación en animales falsos lesionados y HPGx**

Grupo	Sesiones de entrenamiento			p
	1	2	3	
<b>Falsa lesión 0 eyac (n=4)</b>	30.07 ± 7.5 <sup>a</sup>	20.06 ± 3.19 <sup>b</sup>	8.12 ± 0.42 <sup>c</sup>	<b>0.023</b>
<b>Falsa lesión 4 eyac (n=3)</b>	31.22 ± 6.67 <sup>a</sup>	14.47 ± 3.22 <sup>b</sup>	9.11 ± 0.69 <sup>c</sup>	<b>0.020</b>
<b>HPGx 0 eyac (n= 3)</b>	44.23 ± 5.81 <sup>a</sup>	16.17 ± 3.15 <sup>b</sup>	6.38 ± 1.16 <sup>c</sup>	<b>0.008</b>
<b>HPGx 4 eyac (n=4)</b>	32.51 ± 13.92 <sup>a</sup>	20.44 ± 2.90 <sup>b</sup>	8.29 ± 0.32 <sup>c</sup>	<b>0.009</b>

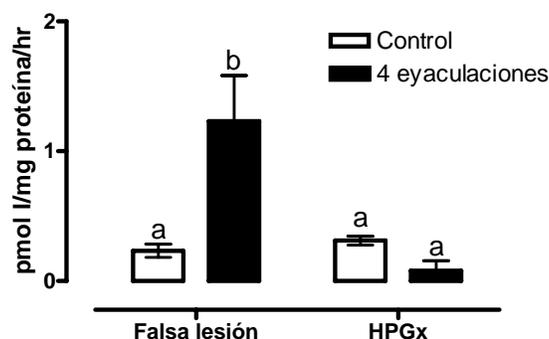
Las latencias se expresan en minutos. Los datos fueron analizados con un análisis de ANOVA de medidas repetidas.

La Tabla 6 muestra que en todos los grupos la eficiencia copulatoria de estos animales fue mayor a 0.5, confirmando que eran sexualmente expertos.

**Tabla 6. Eficiencia copulatoria en animales falsos operados y HPGx**

Grupo	Índice
Falsa lesión 0 eyac (n = 4)	0.65 ± 0.04
Falsa lesión 4 eyac (n =3)	0.67 ± 0.06
HPGx 0 eyac (n =3)	0.63 ± 0.03
HPGx 4 eyac (n = 4)	0.64 ± 0.03

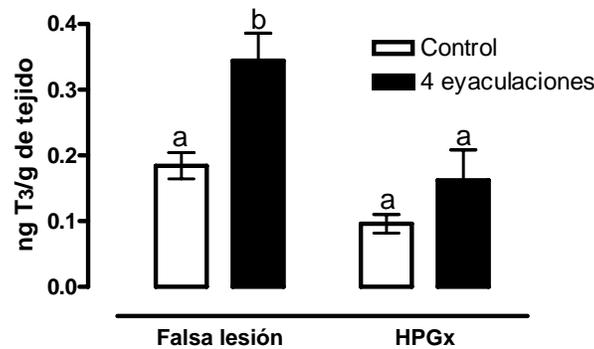
**A. Actividad D1 prostática.** En la figura 10 se muestra el efecto de la simpatectomía del nervio hipogástrico (HPGx) sobre la actividad D1 prostática, lo cual fue explorado en el modelo de 4 eyaculaciones repetidas. Como grupo control se utilizaron animales falsos lesionados y como era de esperarse se observó un aumento significativo de la actividad D1 prostática a la eyaculación. Sin embargo esta respuesta fue 2 veces menor a la observada en los animales intactos que eyacularon 4 veces (Figura 8). Con respecto a la HPGx, los resultados muestran que la ablación del nervio, no tuvo ningún efecto sobre la actividad basal, pero inhibió totalmente la respuesta de la actividad D1 a la eyaculación.



**Figura 10. Efecto de la HPGx sobre la respuesta de la actividad D1 prostática a la eyaculación.** Los animales ejecutaron una serie de 4 eyaculaciones. Los datos representan la  $\bar{X} \pm EE$ . Para el análisis estadístico se utilizó un análisis de varianza de dos vías y una prueba post-hoc (Tukey). Letras diferentes indican diferencias significativas  $p < 0.01$ .  $n = 3-4$  animales por grupo.

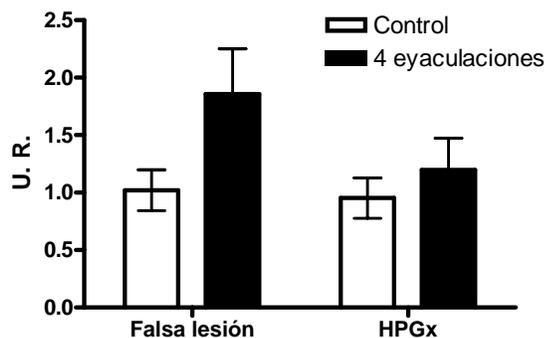
**B. Niveles prostáticos de  $T_3$ .** Como se observa en la figura 11, los niveles basales de  $T_3$  generada en la próstata no se modificaron con la falsa lesión, ni con la

simpatectomía. En contraste, después de 4 eyaculaciones, hubo un incremento significativo en la T<sub>3</sub> generada en el grupo falso lesionado. Dicho incremento no se presentó en el grupo HPGx.



**Figura 11. Efecto de la HPGx sobre los niveles prostáticos de T<sub>3</sub>.** Los datos representan la  $\bar{X} \pm EE$ .  $n = 4$  animales por grupo. Análisis estadístico con ANOVA de dos vías. Las letras diferentes indican diferencia significativa con una  $p < 0.015$ .

**C. Expresión del gen ornitín descarboxilasa.** Los resultados de la figura 12 indican que la expresión (RNAm) de este gen incrementa en respuesta a 4 eyaculaciones versus los controles. La HPGx no altera la expresión basal, pero cancela la expresión de este gen en respuesta a 4 eyaculaciones. En este experimento, no se realizó análisis estadístico, ya que el tamaño de muestra por grupo sólo fue de 2 animales.



**Figura 12. Expresión prostática del gen ODC en respuesta a la eyaculación.** Los animales ejecutaron una serie de 4 eyaculaciones. Los resultados muestran el promedio de dos muestras de RNA independientes analizadas por duplicado.

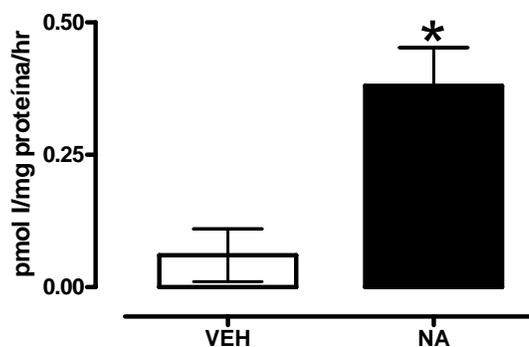
**III. Efecto de la administración de noradrenalina (NA) sobre la actividad D1 prostática.** Por último, este experimento se realizó con el propósito de corroborar la participación de la NA en la regulación de la actividad D1 prostática. En la tabla 7 se muestran las latencias de eyaculación y la eficiencia copulatoria, confirmando que todos los animales eran sexualmente expertos.

**Tabla 7. Latencias de eyaculación e índice de eficiencia copulatoria en animales tratados con NA**

Grupo (n =3)	Sesiones de entrenamiento				Índice
	1	2	3	p	
VEH	30.15 ± 1.58 <sup>a</sup>	21.88 ± 2.57 <sup>b</sup>	8.173 ± 2.166 <sup>c</sup>	<b>0.0005</b>	0.72 ± 0.08
NA	30.13 ± 7.35 <sup>a</sup>	18.09 ± 3.22 <sup>b</sup>	4.26 ± 1.284 <sup>c</sup>	<b>0.022</b>	0.55 ± 0.04

Latencias expresadas en minutos. Datos analizados por ANOVA de medidas repetidas.

**A. Actividad D1 prostática.** Los resultados de la figura 13 muestran un aumento significativo ( $\approx 5$  veces) de la actividad D1 en respuesta a la administración aguda de NA. Llama la atención que aunque la magnitud de esta respuesta fue muy notable, no alcanza los valores que se obtienen ante el estímulo de eyaculaciones repetidas que se observan en la Fig. 8 ( $\approx 10$  veces).



**Figura 13. Efecto de la administración de NA sobre la actividad D1 prostática.** Los datos representan la  $X \pm EE$ .  $n = 3$  animales por grupo. VEH = Vehículo, NA = Noradrenalina. El análisis estadístico se realizó con t de Student. \*  $p < 0.01$

## DISCUSIÓN

Este estudio muestra por primera vez un aumento gradual de la actividad D1 prostática en respuesta a eyaculaciones sucesivas. El incremento fue significativo a partir de la tercera eyaculación y alcanzó un “pico” alrededor de la cuarta. Desconocemos los mecanismos implicados en dicha activación, pero dado que un macho sexualmente experto alcanza la tercera y cuarta eyaculación en un lapso de 40 a 60 minutos, proponemos la participación de un componente neural rápido en esta regulación. En efecto, nuestros resultados mostraron que la simpatectomía prostática no tuvo ningún efecto sobre la actividad de los grupos controles, pero evitó el incremento de la actividad D1 prostática al estímulo de la cópula. Estos resultados sugieren que la inervación simpática (noradrenérgica) a través del nervio hipogástrico, modula positivamente la respuesta de D1 al estímulo de la eyaculación. Estos hallazgos son congruentes con la bien conocida activación del SNS que ocurre durante la cópula (Coolen, 2005). Está bien establecido que la inervación simpática a través de los receptores  $\alpha_1$  adrenérgicos, regula la contractilidad de la próstata, permitiendo su vaciamiento durante el proceso de emisión / expulsión de la respuesta eyaculatoria (Keast, 1999). También se ha mostrado que la activación  $\beta$ -adrenérgica, estimula la expresión de varios componentes del epitelio prostático, entre los cuales destaca la síntesis de PBP (Guthrie et al., 1990). El efecto estimulador de la inervación noradrenérgica sobre la actividad D1, se corroboró mediante la administración de NA. Como era de esperarse, la NA aumentó la actividad de dicha enzima, aunque el incremento fue de menor magnitud al observado en respuesta a la eyaculación. Es probable que esta diferencia pueda deberse a que en el experimento farmacológico, la NA fue administrada de manera aguda. Mientras que en el experimento conductual, la estimulación neural es más crónica, pues por cada serie eyaculatoria, el tono simpático aumenta. Otra posibilidad que podría explicar la menor respuesta enzimática a la administración de NA, es que además de esta catecolamina, haya algún otro factor neural que estimule la actividad de D1. El nervio hipogástrico conduce entre sus fibras, varios mensajeros de naturaleza peptídica, como el neuropéptido Y (NPY) y el péptido vasointestinal (VIP). Estudios de la literatura en pinealocitos y en neuronas del núcleo arcuato, muestran que estos neurotransmisores estimulan la actividad D2 de la glándula pineal e hipotálamo (Molinero y Guerrero, 1993; Coppola et al., 2007). Nuestros resultados son acordes con estudios previos de nuestro laboratorio, los cuales han

mostrado que en las ratas lactantes, la inervación simpática regula el aumento de la actividad D1 mamaria al estímulo de succión, a través de un mecanismo  $\beta$ -adrenérgico (Aceves et al., 1999a,b). También son bien conocidos los efectos de la inervación noradrenérgica, sobre la respuesta de la D2 al estímulo del frío y al ciclo luz-oscuridad; en el tejido adiposo café y en la glándula pineal, respectivamente (Meywirth et al., 1991; Murakami et al., 1989).

Los resultados de éste y otros trabajos, indican que la actividad D1 se encuentra bajo un complejo control neuroendócrino. Además de la influencia neural, en estudios previos hemos mostrado un efecto estimulador de PRL, e inhibidor de los andrógenos, sobre la actividad D1 prostática (Anguiano et al., 2006). Utilizando el modelo experimental de eyaculaciones sucesivas, estudios de la literatura muestran un aumento en los niveles circulantes de PRL y testosterona, a partir de la segunda eyaculación (Hernández et al., 2006b; 2007). Pensamos que es poco probable que PRL module la actividad D1 prostática al estímulo de la cópula, porque la simpatectomía completamente evitó dicha respuesta, sugiriendo que la inervación simpática es fundamental en la regulación de la actividad D1. Sin embargo, no podemos descartar que haya algún otro factor involucrado, como es el hecho de que en ausencia del tono simpático, se potencie el efecto inhibidor de la testosterona sobre la actividad D1. Mas aún, de nuestros datos llama la atención, que los animales falsos lesionados presentaran una respuesta parcial de la actividad D1 prostática al estímulo de la cópula. Esto puede deberse a la presencia de algún factor inhibidor asociado al estrés quirúrgico. Se ha reportado que algunos mediadores de la respuesta inmune (IL-1,  $\gamma$ -interferón y  $\text{TNF}\alpha$ ), inhiben la actividad D1 (Pekary et al., 1994).

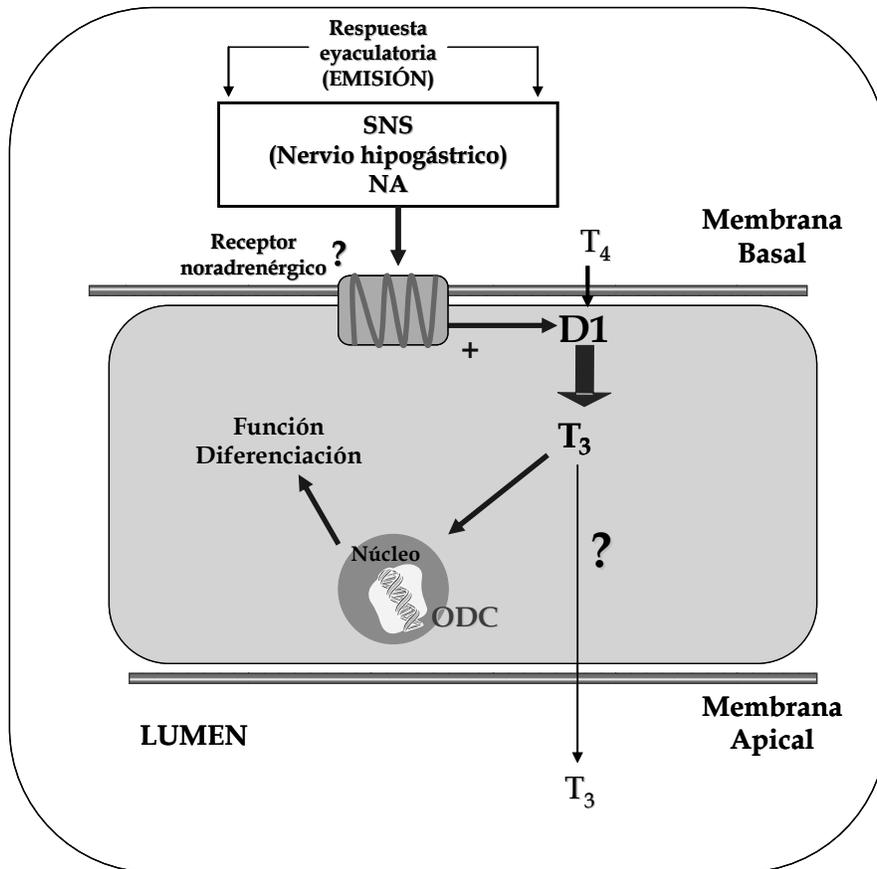
Paradójicamente, nuestros resultados mostraron una disminución de la actividad D1 prostática observada a la 5ª eyaculación. Este dato llama mucho la atención, porque es bien conocido que la vida media de esta enzima es de aproximadamente 12 horas (Gereben et al., 2000) y el tiempo que transcurrió entre la cuarta y quinta eyaculación fue entre 30 y 40 minutos. Desconocemos el mecanismo asociado a dicha disminución, pero hemos planteado 3 hipótesis: 1) Una posibilidad es que la enzima D1 sea secretada al semen, por un mecanismo de secreción apócrina, el cual se caracteriza por el desprendimiento de la membrana apical (Andrade-Rocha, 2007). De hecho, estudios de nuestro y otros laboratorios han mostrado la presencia de hormonas tiroideas y actividad

D1 en el semen (Eiler et al., 1987; Anguiano et al., 2008). 2) Otra posibilidad es que la vida media de esta enzima disminuya ante eyaculaciones sucesivas. Sin embargo, esto es más remoto, porque si bien para la D2 existe un mecanismo bien caracterizado de inactivación rápida (minutos) a través del sistema ubiquitin-proteasoma; para la D1 no se ha reportado un mecanismo semejante (Gereben et al., 2000). Se requieren hacer más estudios al respecto. La falta de respuesta de la D1 en la 5ª eyaculación no puede deberse a la falta de sustrato, ya que todos los experimentos se realizaron en concentraciones de saturación de la enzima (Anguiano et al., 2006).

Nuestros resultados mostraron una relación directamente proporcional entre la actividad D1, la generación de  $T_3$  y la expresión de ornitín descarboxilasa (ODC). Esta enzima forma parte de la vía de síntesis de poliaminas (espermina, espermidina y putrescina). Estos compuestos participan en procesos de proliferación celular (Piik, et al, 1977). La ODC es una enzima cuya transcripción depende de  $T_3$  (Miller et al., 2001; Chideckel et al., 1980). Por lo tanto una elevación en su expresión, corrobora que efectivamente la  $T_3$  generada localmente, ejerce efectos biológicos en el tejido prostático.

Desconocemos la relevancia fisiológica de la generación de  $T_3$  en la próstata, pero sugerimos que podría estar relacionada con el elevado gasto energético asociado a los procesos de síntesis/secreción prostática que acompañan a la respuesta eyaculatoria. Existen evidencias de que el tejido prostático expresa receptores a hormonas tiroideas (Hsieh et al., 2005), y que la actividad sexual continua, mantiene elevada la actividad D1 prostática incluso en los animales viejos (López, 2006). Nuestros resultados son acordes con estudios de nuestro laboratorio, los cuales han mostrado que la actividad D1 está relacionada con procesos de diferenciación y funcionalidad. En la glándula mamaria la actividad D1 se expresa muy abundantemente en el periodo de gestación y lactancia, y desaparece durante el destete (Valverde y Aceves, 1987). En el caso del epidídimo, hemos reportado una elevada actividad D1 a partir de la pubertad. Dicha enzima se localiza primordialmente en la región de la cabeza (sitio de maduración de los espermatozoides) y se encuentra positivamente regulada por su propio producto ( $T_3$ ) y por estrógenos. En este tejido, la actividad D1 correlaciona fuertemente con la expresión de un marcador de funcionalidad como lo es la enzima  $\alpha$ -glucosidasa (Anguiano et al., 2008).

En conjunto, nuestros hallazgos sugieren que la generación local de  $T_3$  participa en los procesos de funcionalidad prostática. A continuación se muestra un modelo de cómo pensamos que el sistema nervioso simpático podría estar regulando estos procesos.



**Figura 14. Posible influencia de la inervación simpática y de la  $T_3$  sobre la funcionalidad prostática.** La activación simpática noradrenérgica que ocurre durante la respuesta eyaculatoria, incrementa la actividad D1 prostática y consecuentemente la producción local de  $T_3$ . Desconocemos el mecanismo por medio del cual la NA incrementa la actividad D1, pero proponemos que pudiera ser a través de un mecanismo indirecto, pues el gen de la D1, no posee en su región promotora sitios responsivos a AMPc (cre). Los cambios en los niveles de  $T_3$  correlacionaron con la expresión de ornitín Descarboxilasa (ODC), un gen cuya expresión depende de  $T_3$ . Esto significa que efectivamente, la producción local de esta hormona ejerce efectos biológicos a nivel de la expresión de genes. Desconocemos la relevancia fisiológica de la  $T_3$  en la próstata, pero es probable que esté asociado al elevado gasto energético que implica mantener una elevada actividad secretora en respuesta a la actividad sexual. Otra posibilidad es que parte de la  $T_3$  también sea secretada al plasma seminal y ejerza efectos biológicos sobre los espermatozoides. Sin embargo está hipótesis requiere ser explorada. += estimulación. ? = no se conoce.

## CONCLUSIONES

1. La actividad D1 aumenta gradualmente a partir de la 1ª eyaculación, alcanza los valores más altos hasta la 4ª y disminuye significativamente en la 5ª.
2. La inervación simpática (nervio hipogástrico) regula positivamente el aumento de la actividad D1 prostática asociada a la conducta sexual.
3. Los cambios en la actividad D1 prostática son directamente proporcionales a los niveles prostáticos de  $T_3$  y a la expresión de un gen dependiente de  $T_3$ .
4. La aplicación exógena de NA estimula el incremento de la D1 prostática.

Es probable que la  $T_3$  generada por la estimulación simpática, regule el gasto energético asociada a mantener una elevada actividad secretora en los animales sexualmente activos.

## REFERENCIAS

- Abrahamsson PA. 1999. Neuroendocrine cells in tumour growth of the prostate. *Endocr. Relat. Cancer.* 6, 503-519.
- Aceves C y Valverde C. 1989. Type I, 5'-monodeiodinase activity in the lactating mammary gland. *Endocrinology* 124, 2818-2820.
- Aceves C, Pineda O, Ramírez-C I, Navarro L y Valverde C. 1999a. Mammary type I deiodinase is dependent on the suckling stimulus: differential role of norepinephrine and prolactin. *Endocrinology* 140, 2948-2953.
- Aceves C, Rojas-Huidobro R, Marina N, Morales, MT y Mena F. 1999b. Mammary gland sympathetic innervation is a major component in type 1 deiodinase regulation. *Endocrine* 11, 115-121.
- Aceves C y Rojas-Huidobro R. 2001. Effect of suckling stimulation on peripheral deiodination in lactating rats: differential expression of type 1 deiodinase mRNA forms. *J. Endocrinol.* 171,533-540.
- Acone F, Botti M, Garza F, Sanna M, Cappai MG y Bo ML. 2001. Morphological characteristics and distribution of the autonomic and sensitive innervation of the prostate in some animal species. *Ital J Anat Embryol* 106, 1-11.
- Andrade-Rocha FT. 2007. Assessment of exfoliated prostate cells in semen. *Am. J. Clin. Pathol.* 128, 788-793.
- Anguiano B, Quintanar A, Luna M, Navarro L, Ramírez del Angel A, Pacheco P y Valverde C. 1995. Neuroendocrine regulation of adrenal gland and hypothalamus 5'deiodinase activity. II. Effects of splanchnicotomy and hypophysectomy. *Endocrinology* 136, 3346-3352
- Anguiano B, López A, Delgado G, Romero C y Aceves C. 2006. Deiodinase type 1 activity is expressed in the prostate of pubescent rats and is modulated by thyroid hormones, prolactin and sex hormones. *J. Endocrinol.* 190, 363-371.
- Anguiano B, Aranda N, Delgado G y Aceves C. 2008. Epididymis Expresses the Highest 5'Deiodinase Activity in the Male Reproductive System: Kinetic Characterization, Distribution, and Hormonal Regulation. *Endocrinology* 149, 4209-4217.
- Arroyo-Helguera O, Mejía-Viggiano C, Varela-Echavarría A, Cajero-Juárez M y Aceves C. 2005. Regulatory role of the 3'untranslated region (3'UTR) of rat 5'deiodinase (D1). Effects on messenger RNA translation and stability. *Endocrine* 27, 219-225.
- Baqui MM, Gereben B, Harney JW, Larsen PR y Bianco AC. 2000. Distinct subcellular localization of transiently expressed types 1 and 2 iodothyronine deiodinases as determined by immunofluorescence confocal microscopy. *Endocrinology* 141, 4309-4312.

- Baqui M, Botero D, Gereben B, Curcio C, Harney JW, Salvatore D, Sorimachi K, Larsen PR y Bianco AC. 2003. Human type 3 iodothyronine selenodeiodinase is located in the plasma membrane and undergoes rapid internalization to endosomes. *J. Biol. Chem.* 278, 1206-1211.
- Bartha T, Kim SW, Salvatore D, Gereben B, Tu HM, Harney JW, Rudas P y Larsen PR. 2000. Characterization of the 5'-flanking and 5'-untranslated regions of the cyclic adenosine 3'5'-monophosphate-responsive human type 2 iodothyronine deiodinase gene. *Endocrinology* 141, 229-237.
- Bayer SA. 1987. Neurogenetic and morphogenetic heterogeneity in the bed nucleus of the stria terminalis. *J. Comp. Neurol.* 265, 47-64.
- Berkeley K., The Pelvic Nerve. 1999. En E. Knobil y J. Neill (eds) *Encyclopedia of Reproduction*. USA: Academic Press.
- Berry MJ, Bany L, y Larsen PR. 1991a. Type 1 iodothyronine deiodinase is a selenocysteine-containing enzyme. *Nature* 349, 438-440.
- Berry, MJ, Banu L, Chen YY, Mandel SJ, Kieffer JD, Harney JW y Larsen PR. 1991b. Recognition of UGA as a selenocysteine codon in type 1 deiodinase requires sequences in the 3' untranslated region. *Nature* 353, 273-276.
- Bianco A, Salvatore D, Gereben B, Berry M y, Larsen PR. 2002. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocr. Rev.* 23, 38-89.
- Bianco A, y Kim B. 2006. Deiodinases: implications of the local control of thyroid action. *J. Clin. Invest.* 116, 2571-2579.
- Björnström I y Sjöberg M. 2005. Mechanisms of estrogen receptor signaling: Convergence of genomic and nongenomic actions on target genes. *Mol. Endocrinol.* 19, 833-842.
- Braverman LE, Ingbar SH y Sterling K. 1970. Conversion of thyroxine (T<sub>4</sub>) to triiodothyronine (T<sub>3</sub>) in athetotic human subjects. *J. Clin. Invest.* 49, 855-864.
- Bruschini H, Schmidt RA y Tanagho EA. 1978. Neurologic control of prostatic secretion in the dog. *Invest Urol* 15, 288-290.
- Buettner C, Harney JW and Larsen PR. 1998. The 3'-untranslated region of human type 2 iodothyronine deiodinase mRNA contains a functional selenocysteine insertion sequence element. *J. Biol. Chem.* 273, 33374-33378.
- Buettner C, Harney JW y Larsen PR. 2000. The role of selenocystein 133 in catalysis by the human type 2 iodothyronine deiodinase. *Endocrinology* 141, 4606-46-12.
- Burden HP, Holmes CH, Persad R y Whittington K.. 2005. Prostatosomes – Their effects on human role reproduction and fertility. *Hum. Reprod. Update* 12, 283-292.

- Celi FS, Canettieri G, Yarnall DP, Burns DK, Andreoli M, Shuldiner AR y Centanni M. 1998. Genomic characterization of the coding region of the human type II 5'-deiodinase gene. *Mol. Cell. Endocrinol.* 141, 49-52.
- Campos-Barros A, Hoell T, Musa A, Sampaolo S, Stoltenburg G, Pinna G, Eracvi N, Meinhold H y Baumgartner A. 1996. Phenolic and tyrosil ring deiodination and thyroid hormone concentrations in the human nervous system. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81, 2179-2185.
- Campos-Barros, A, Amma, LL, Faris, JS, Shailam R, Kelley M y Forrest D. 2000. Type 2 iodothyronine deiodinase expression in the cochlea before the onset of hearing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97, 1287-1292.
- Carvalho TL, Kempinas WG y Favaretto AL. 1993. Morphometric evaluation of the rat testis, epididymis and vas deferens following chemical sympathectomy with guanethidine. *Ann. Anat.* 175, 453-457.
- Chideckel EW, Rozovski SJ y Belur ER. 1980. Thyroid hormone effects on ornithine decarboxylase. *Biochem. J.* 192, 765-767.
- Chopra I y Sabatino L. 2000. Nature and sources of circulating thyroid hormones. En Werner & Ingbar's *The Thyroid A Fundamental Clinical Text*. USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Chow PH y O WS. 1989. Effects of male accessory sex glands on sperm transport, fertilization and embryonic loss in golden hamsters. *Int. J. Androl.* 12, 155-163.
- Coolen L. 2005. Neural control of ejaculation. *J. Comp. Neurol.* 493, 39-45.
- Coppola A, Liu ZW, Andrews ZB, Paradis E, Roy MC, Friedman JM, Ricquier D, Richard D, Horvath TL, Gao XB y Diano S. 2007. A central thermogenic-like mechanism in feeding regulation: an interplay between arcuate nucleus T<sub>3</sub> and UCP-2. *Cell Metab.* 5, 21-33.
- Courtin F, Chantoux F, Gavaret, JM, Toru-Delbauffe D, Jacquemin C y Pierre M. 1989. Induction of type 2 5'-deiodinase activity in cultured rat astroglial cells by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate: Dependence on glucocorticoids. *Endocrinology* 125, 1277-1281.
- Croteau W, Whittemore SL, Schneider MJ y St. Germain DL. 1995. Cloning and expression of a cDNA for a mammalian type III iodothyronine deiodinase. *J. Biol. Chem.* 270, 16569-16575.
- Croteau W, Davey JC, Galton VA y St. Germain DL. 1996. Cloning of the mammalian type 2 iodothyronine deiodinase. A selenoprotein differentially expressed and regulated in human and rat brain and other tissues. *J. Clin. Invest.* 98, 405-417.
- Cunha GR, Donjacour AA, Cooke PS, Mee S, Bigsby RM, Higgins SJ y Sugimura Y. 1987. The endocrinology and developmental biology of the prostate. *Endocr. Rev.* 8, 338-361.

Davis PJ, Leonard JL, Davis FB. 2008. Mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone. *Front Neuroendocrinol* 29, 211-218.

De Groat WC. 2006. Integrative control of the lower urinary tract: preclinical perspective. *Br J Pharmacol* 147, 25-40.

De Jesus LA, Carvalho SD, Ribeiro MO, Schneider M, Kim SW, Harney JW, Larsen PR y Bianco AC. 2001. The type 2 iodothyronine deiodinase is essential for adaptive thermogenesis in brown adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 108, 1379–1385.

DeKlerk DP y Coffey DS. 1978. Quantitative determination of prostatic epithelial and stromal hyperplasia by a new technique: biomorphometrics. *Invest Urol* 16, 240-245.

Dentice M, Lupongo C, Huang S, Ambrosio R, Elefante A, Mirebeau-Prunie D, Zavacki AM, Fenzi G, Grachtchouk M, Hutchin M, Dlugosz AA, Bianco AC, Missero C, Larsen PR y Salvatore D. 2007 Sonic hedgehog-induced type 3 deiodinase blocks thyroid hormone action enhancing proliferation of normal and malignant keratinocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 14466-14471.

Gabella, G. 1995. Autonomic Nervous System. En George Paxinos (ed.) *The rat nervous system*. USA: Academic Press.

Galton VA, McCarthy PT y St. Germain DL. 1991. The ontogeny of iodothyronine deiodinase systems in liver and intestine of the rat. *Endocrinology* 128, 1717-1722

Galton VA, Wood ET, St. Germain EA, Withrow CA, St. Germain GM, Clark AS, y St. Germain DL. 2007. Thyroid hormone homeostasis and action in type 2 deiodinase-deficient rodent brain during development. *Endocrinology* 148, 3080-3088

García-G C, López-Bojórquez L, Núñez J, Valverde-R C y Orozco A. 2007. 3,5-Diiodothyronine in vivo maintains euthyroidal expression of type 2 iodothyronine deiodinase, growth hormone, and thyroid hormone receptor beta1 in the killifish. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 29, 877-83.

Geffner, DL, Azukizawa M, y Hershman JM. 1975. Propylthiouracil blocks extrathyroidal conversion of thyroxine to triiodothyronine and augments thyrotropin secretion in man. *J. Clin. Invest.* 55, 224-229.

Gereben B, Goncalves C, Harney J, Larsen PR y Bianco, A. 2000. Selective proteolysis of human type 2 deiodinase: A novel ubiquitin-proteasomal mediated mechanism of regulation of hormone action. *Mol. Endocrinol.* 14, 1697-1708.

Gereben B, Salvatore D, Harney JW, Tu HM and Larsen PR. 2001. The human but not rat, *dio 2* gene is stimulated by thyroid transcription factor-1 (TTF-1). *Mol. Endocrinol.* 15, 112-124.

- Gereben B, Kollar A, Harney JW and Larsen PR. 2002. The mRNA structure has potent regulatory effects on type 2 iodothyronine deiodinase expression. *Mol. Endocrinol.* 16, 1676-1679.
- Gereben B, Zeöld A, Dentice M, Salvatore D y Bianco A. 2008. Activation and inactivation of thyroid hormone by deiodinases: Local activation with general consequences. *Cell. Mol. Life Sci.* 65, 570-590.
- Giles GG, Severi F, English DR, Mccredie MRE, Borland R, Boyle P y Hopper JL. 2003. Sexual factors and prostate cancer. *BJU Int.* 92, 211-216
- Giuliano, F., Clement, P. 2005. Neuroanatomy and physiology of ejaculation. *Annu Rev Sex Res* 16, 190-216.
- Goglia F. 2005. Biological effects of 3,5-diiodothyronine (T<sub>2</sub>). *Biochemistry* 7, 164-172.
- Griffin JE y Wilson JD 1998. Disorders of the testes and the male reproductive tract. En *Williams Textbook of Endocrinology*. USA: W.B. Saunders Company.
- Griffin JE. 2004. The thyroid. En James E. Griffin y Sergio Ojeda (eds.) *Textbook of Endocrine Physiology*. USA: Oxford University Press.
- Groos S, Wilhelm B, Renneberg H, Riva A, Reichelt R, Seitz J y Amüller G. 1999. Simultaneous apocrine and merocrine secretion in the rat coagulating rat. *Cell Tissue Res.* 295, 495-504.
- Guadano-Ferraz A, Obregón MJ, St. Germain DL y Bernal J. 1997. The type 2 iodothyronine deiodinase is expressed primarily in glial cells in the neonatal rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 10391-10396.
- Guthrie PD, Freeman MR, Liao ST y Chung LW. 1990. Regulation of gene expression in rat prostate by androgen and beta-adrenergic receptor pathways. *Mol. Endocrinol.* 4, 1343-1353.
- Hayward S, Bakin LS, Haughney PC, Cunha AR Foster BA, Dahiya R, Prins GS y Cunha GR. 1996. Epithelial development in the rat ventral prostate, anterior prostate and seminal vesicles. *Acta Anat* 155, 81-93.
- Hernández A and Obregón MJ. 1995. Presence of growth factors-induced type III iodothyronine 5-deiodinase in cultured rat brown adipocytes. *Endocrinology* 136, 4543-4550.
- Hernández A, Fiering S, Martínez E, Galton V y St. Germain D. 2002. The gene locus encoding iodothyronine deiodinase type 3 (Dio3) is imprinted in the fetus and expresses antisense transcripts. *Endocrinology* 143, 4483-4486.
- Hernández A, Martínez ME, Croteau W y St. Germain DL. 2004. Complex organization and structure of sense and antisense transcripts expressed from the DIO 3 gene imprinted locus. *Genomics* 83, 413-424.

- Hernández A, Martínez ME, Fiering S y Galton VA. 2006. Type 3 deiodinase is critical for the maturation and function of the thyroid axis. *J. Clin. Invest.* 116, 476-484.
- Hernández, ME, Soto A, Rojas F, Díaz R, Aranda G, Toledo MR, y Manzo J. 2006a. Acciones androgénicas en la rata. En José Luis Quintanar (compilador) *Neurobiología Experimental de la Conducta: Fundamentos y Tópicos Afines*. México: Universidad Autónoma de Aguascalientes.
- Hernández ME, Soto-Cid A, Rojas F, Pascual LI, Aranda-Abreu GE, Toledo R, García LI, Quintanar-Stephano, A y Manzo J. 2006b. Prostate response to prolactin in sexually active male rats. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 4, 28.
- Hernández ME, Soto-Cid A, Aranda-Abreu GE, Díaz R, Rojas F, García LI, Toledo R y Manzo J. 2007. A study of the prostate, androgens and sexual activity of male rats. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 5, 11.
- Heyns W, y De Moor P. 1977. Prostatic binding protein. A steroid binding protein secreted by rat prostate. *Eur. J. Biochem.* 78, 221-230.
- Hsieh ML y Juang, HH. 2005. Cell growth effects of triiodothyronine and expression of thyroid hormone receptor in prostate carcinoma cells. *Asian J. Androl.* 26, 422-428.
- Huang JK, Chang, LS, Ho, DM, Ho, LT. 1989. Effect of sexual activity on androgen metabolism, androgen-receptor translocation, and glandular weight of ventral prostates of rats. *Acta Endocrinol.* 120, 505-510.
- Huang SA, Dorfman DM, Genest DR, Salvatore D y Larsen PR. 2003. Type 3 iodothyronine deiodinase is highly expressed in the human uteroplacental unit and in fetal epithelium. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 1384-1388.
- Hull EM y Domínguez JM. 2007. Sexual behavior in male rodents. *Horm Behav* 52, 45-55.
- Jacobs SC y Story MT. 1989. Autonomic control of acid phosphatase exocrine secretion by the rat prostate. *Urol. Res.* 17, 311-315.
- Jakobs TC, Koheler MR, Schmutzler C, Glaser F, Schmid M y Kohrle J. 1997. Structure of the human type 1 iodothyronine 5'-deiodinase gene and localisation to chromosome 1p32-p33. *Genomics* 42, 361-363.
- Jänig W. 2006. *The integrative action of the autonomic nervous system. Neurobiology of homeostasis*. UK: Cambridge Press.
- Keast JR. 1995. Visualization and immunohistochemical characterization of sympathetic and parasympathetic neurons in the rat major pelvic ganglion. *Neuroscience* 66, 655-662.
- Keast, JR. 1999. The autonomic nerve supply of male sex organs – An important target of circulating androgens. *Behav. Brain Res.* 105, 81-92.

Kim S, Harney JW y Larsen PR. 1998. Studies of the hormonal regulation of type 2 5'deiodinase messenger ribonucleic acid in pituitary tumor cells using semiquantitative reverse transcription-polimerase chain reaction. *Endocrinology* 139, 4985-4905.

Knobil E y Neill J. 1994. *The Physiology of Reproduction*. USA: Raven Press.

Koopdonk-Kool JM, de Vijlder JJ, Veenboer GJ, Ris-Stalpers C, Kok JH, Vulmsa T, Boer K and Visser TJ. 1996. Type II and type III deiodinase activity in human placenta as a function of gestational age. *J. Clin. Endocrinol. Metabl.* 81, 2154-2158.

Kohrle J. 1996. Thyroid hormone deiodinases--a selenoenzyme family acting as gate keepers to thyroid hormone action. *Acta Med. Austriaca* 23, 17-30.

Kohrle J. 2000. The deiodinase family: selenoenzymes regulating thyroid hormone availability and action. *Cell. Mol. Life Sci.* 57, 1853-1863.

Kohrle J. 2007. Thyroid hormone transporters in health and disease: advances in thyroid hormone deiodination. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 21, 173-91.

Kralj M y Pipan, N. 1992. The role of exocytosis en the apocrine secretion of milk lipid globules in mouse mammary gland during lactogenesis. *Biol. Cell* 75, 211-216.

Lamano-Carvalho TL, Favaretto AL, Petenusci SO y Kempinas WG. 1993. Prepubertal development of rat prostate and seminal vesicle following chemical sympathectomy with guanethidine. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 26, 639-646

Langworthy OR. 1965. Innervation of the pelvic organs of the rat. *Invest Urol* 2, 491-511.

Lee C. 1981. Physiology of castration-induced regression in rat prostate. En Karr, JP, Sandberg AA y Murphy GH (eds.) *The Prostatic Cell: Structure and Function*. USA: Alan R Liss.

Levak KJ, y Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-Ct}$  method. *Methods* 25, 402-408.

Lehrer S, Diamond EJ, Stone N, Droller M, y Stock, R. 2002. Serum triiodothyronine is increased in men with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *J. Urol.* 168, 2431-2433.

Leitzmann MF, Platz EA, Stampfer MJ, Willet WC y Giovannucci, E. 2004. Ejaculation frequency and subsequent risk of prostate cancer. *J Am Med Assoc.* 291, 1578-1586.

Leonard J, Koehrlle J. 2000. Intracellular pathways of iodothyronine metabolism. En Werner & Ingbar's *The Thyroid A Fundamental Clinical Text*. USA: Lippincott Williams & Wilkins.

- Lin CH, Vijesurier R, Ho, YS, Schipper RG, Tolia V, Moshier JA y Majumdar APN. 2002 Expression of intestinal ornithine decarboxilase during postnatal development y neonatal rats. *Biochim. Biophys. Acta* 1589, 298-304.
- López, A. 2006. Actividad 5'desyodasa durante diferentes etapas de diferenciación y funcionalidad de la próstata. Tesis de Maestría. INB UNAM.
- Maggi CA. Nervous Control of the Urogenital System. 1993. En *The Autonomic Nervous System*. Harwood UK: Academic Publishers.
- Maia AL, Kim BW, Huang SA, Harney JW and Larsen PR. 2005. Type 2 iodothyronine deiodinase is the major source of plasma T<sub>3</sub> in euthyroid humans. *J. Clin. Invest.* 115, 2524-2533.
- Maran RR, Senthilkumaran B, Udhayakumar RC, Arunakaran, J y Aruldas MM. 2000. Thyroidectomy modulates rat prostatic monosaccharides. *Int. J. Androl.* 23, 156-162.
- Maran RR y Aruldas MM. 2002. Adverse effects of neonatal hypothyroidism on Wistar rat spermatogenesis. *Endocr. Res.* 28, 141-154.
- Marker P, Donjacour A, Dahiya R y Cunha GR. 2003. Hormonal, cellular and molecular control of prostatic development. *Dev. Biol.* 253, 165-174.
- McVary K., Razzaq A, Lee C, Venegas M, Rademaker A y McKenna K. 1994. Growth of the rat prostate gland is facilitated by the autonomic nervous system. *Biol. Reprod.* 51, 99-107.
- McVary KT, McKenna KE y Lee C. 1998. Prostate Innervation. *Prostate Suppl* 8, 2-13.
- Meywirth A, Redlin U, Steinlechner S, Heldmaier G y Reiter RJ. 1991, Role of sympathetic innervation in the cold-induced activation of 5'deiodinase in brown adipose tissue of the Djungarian hamster. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 69, 1896-1900.
- Miller LD, Kyung SP, Qingbim MG, Nawal WA, Malek RL, Lee NH, Liu ET y Cheng SY. 2001. Silencing of Wnt signaling and activation of multiple metabolic pathways in response to thyroid hormone-stimulated cell proliferation. *Mol. Cell. Biol.* 21, 6626-6639.
- Molineró, P y Guerrero, JM. 1993. Vasoactive intestinal peptide stimulates type II thyroxine 5'-deiodinase and N-acetyltransferase activities in dispersed pineal cells of euthyroid and hypothyroid rats. *Neurosci. Lett.* 19, 130-133.
- Morreale de Escobar, G, Calvo R, Escobar del Rey F y Obregón MJ. 1994. Thyroid hormone in tissues from fetal and adult rats. *Endocrinology* 134, 2410-2415.
- Morrissey C, Buser A, Scolaro J, O'Sullivan J y Moquin A. 2002. Changes in hormone sensitivity in the ventral prostate of aging Sprague-Dawley rats *J. Androl.* 23, 341-51.

Murakami M, Greer MA, Lewy AJ, Greer SE y McAdams S. 1989. Ontogenesis of pineal thyroxine 5'-deiodinase activity and plasma melatonin concentration in the rat. *Neuroendocrinology* 50, 476-480.

Ng L, Goodyear RJ, Woods CA, Schneider MJ, Diamond E, Richardson GP, Kelley MW, Germain DL, Galton VA y Forrest D. 2004. Hearing loss and retarded cochlear development in mice lacking type 2 iodothyronine deiodinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 3474-9.

Ojeda SR. 2004. The anterior pituitary and the hypothalamus. En James E. Griffin y Sergio Ojeda (eds.) *Textbook of Endocrine Physiology*. USA: Oxford University Press.

Peeters, RP, van Toor H, Klootwijk W, de Rijke YB, Kuiper GG, Uitterlinden AG y Visser TJ. 2003. Polimorfisms in thyroid hormone pathway genes are associated with plasma TSH and iodothyronine levels in healthy subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 2880-2888.

Pekary AE, Berg L, Santini F, Chopra I y Hershman JM. 1994. Cytokines modulate type I iodothyronine deiodinase mRNA levels and enzyme activity in FRTL-5 rat thyroid cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* 101, 31-35.

Pelletier G, Labrie C, Simard J, Duval M, Martinoli MG, Zhao H y Labrie F. 1988. Effects of sex steroids on the regulation of the levels of C1 peptide of rat prostatic steroid-binding protein mRNA evaluated by in situ hybridization. *J. Mol. Endocrinol.* 1, 213-223.

Piik K, Rajamäki P, Guha SK y Jänne J. 1977. Regulation of L-ornithine decarboxylase and S-adenosyl-L-methionine decarboxylase in rat ventral prostate and seminal vesicle. *Biochem. J.* 168, 379-385.

Purinton PT, Fletcher TF y Bradely WE. 1973. Gross and light microscopic features of the pelvic plexus in the rat. *Anat. Rec.* 175, 697-705.

Pozuelo JM, Rodríguez R, López RM, Arraiazu R y Santamaría L. 2002. Estudio inmunohistoquímico y cuantitativo de las células neuroendocrinas de la próstata de la rata a lo largo del desarrollo postnatal. V Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica.

Robbins, J. Thyroid hormone transport proteins and the physiology of hormone binding. 2000. En Werner & Ingbar's *The thyroid A Fundamental Clinical Text*. USA: Lippincott Williams & Wilkins.

Ross MH y Reith EJ. 1985. *Histology. A text and Atlas*. Harper International Edition. USA: Harper and Row, Publishers, J.B. Lippincott Company.

Salvatore D, Low SC, Berry M, Maia AL, Harney JW, Croteau W, St. Germain DL y Larsen PR. 1995. Type 3 iodothyronine deiodinase: Cloning, *in vitro* expression, and functional analysis of the placental selenoenzyme. *J. Clin. Invest.* 96, 2421-2430.

Salvatore D, Bartha T, Harney JW and Larsen PR. 1996. Molecular, biological and biochemical characterization of the human type 2 selenodeiodinase. *Endocrinology* 137, 3308-3315.

Santamaría L, Ingelmo I, Alonso L, Pozuelo JM y Rodríguez R. 2007. Neuroendocrine Cells and Peptidergic Innervation in Human and Rat Prostate. *Advances in Anatomy, Embriology and Cell Biology* 194. España: Springer.

Schneider MJ, Fiering SN, Pallud SE, Parlow AF, St. Germain DL y Galton AV. 2001. Targeted disruption of the type 2 selenodeiodinase gene (*Dio 2*) results in a phenotype of pituitary resistance to T<sub>4</sub>. *Molecular Endocrinology* 15, 2137-2148.

Schneider MJ, Fiering SN, Thai B, Wu S, St. Germain E, Parlow AF, St. Germain DL y Galton AV. 2006. Targeted disruption of the type 1 selenodeiodinase gene (*Dio 1*) results in marked changes in thyroid hormone economy in mice. *Endocrinology* 147, 580-589.

Sidharthan V, Rajalingam R, Aruldas MM, Govindarajulu P. 1993. Ventral prostatic phosphomonoesterases and adenosine triphosphatases in hypo- and hyperthyroid albino rats. *Indian J. Exp. Biol.* 31, 414-6.

Sidharthan V, Rose PJ, Rajalingam R, Udhayakumar RC, Aruldas MM, Govindarajulu P. 1994. Dorsolateral prostatic phosphomonoesterases and adenosine triphosphatases in hypo- and hyperthyroid rats. *Indian J. Exp. Biol.* 32, 616-8.

Silva JE y Larsen PR. 1977. Pituitary nuclear 3,5,3' triiodothyronine and thyrotropine secretion: An explanation for the effect of thyroxine. *Science* 198, 617-620.

Silva JE y Larsen PR. 1982. Comparison of iodothyronine 5'deiodinase and other thyroid hormone-dependent enzyme activities in the cerebral cortex of hypothyroid neonatal rat. Evidence for adaptation to hypothyroidism. *J. Clin. Invest.* 76, 890-893.

Silva JE y Larsen PR. 1983. Adrenergic activation of triiodothyronine production in brown adipose tissue. *Nature* 305, 712-713.

Solís JC y Valverde C. 2006. Hipotiroidismo neonatal: fisiopatogenia, aspectos moleculares, metabólicos y clínicos. *Rev. Invest. Clin.* 58, 318-334.

Sorimachi K y Robbins J. 1977. Metabolism of thyroid hormones by cultured monkey hepatocarcinoma cells. Nonphenolic ring deiodination and sulfation. *J. Biol. Chem.* 252, 4458-4463.

St. Germain DL. 1986. Hormonal control of a low Km (type 2) iodothyronine deiodinase in cultured NB41A3 mouse neuroblastoma cells. *Endocrinology* 119, 840-846.

Sugimura Y, Cunha GR, y Donjacour AA. 1986. Morphological and histological study of castration-induced degeneration and androgen-induced regeneration in the mouse prostate. *Biol. Reprod.* 34, 973-983.

Taurog A. Hormone Synthesis: Thyroid iodine metabolism. 2000. En Werner & Ingbar's The Thyroid A Fundamental Clinical Text. USA: Lippincott Williams & Wilkins.

Toyoda N, Berry MJ, Harney JW y Larsen RP. 1995. Topological analysis of the integral membrane protein, type 1 iodothyronine deiodinase (D1). *J. Biol. Chem.* 270, 12310-12318.

Tu HM, Legradi G, Bartha T, Salvatore D, Lechan RM y Larsen PR. 1999. regional expression of the type 3 iodothyronine deiodinase messenger ribonucleic acid in the rat central nervous system and its regulation by thyroid hormone. *Endocrinology* 140, 784-790.

Valverde C y Aceves C. 1989. Circulating thyronines and peripheral monodeiodination in lactating rats. *Endocrinology* 124, 1340-4.

Van der Geyten S, Buys N, Sanders JP, Decuypere E, Visser TJ, Kuhn ER y Darras VM. 1999. Acute pretranslational regulation of type III iodothyronine deiodinase by growth hormone and dexamethasone in chicken embryos. *Mol. Cell. Endocrinol.* 147, 49-56.

Van der Geyten S, Segers I, Gereben B, Bartha T, Rudas P, Larsen PR, Kuhn ER y Darras VM. 2001. Transcriptional regulation of iodothyronine deiodinases during embryonic development. *Mol. Cell. Endocrinol.* 183, 1-9.

Wang J, Hayward S, Cao M, Thayer K y Cunha G. 2001. Cell differentiation lineage in the prostate. *Differentiation* 68, 270-279.

Wang J, McKenna K, McVary K y Lee C. 1991a. Requirement of innervation for maintenance of structural and functional integrity in the rat prostate. *Biol. Reprod.* 44, 1171-1176.

Wang JM, McKenna KE, Lee C. 1991b. Determination of prostatic secretion in rats: effects of neurotransmitters and testosterone. *Prostate* 18, 289-301.

Wanigasekara Y, Kepper ME y Keast JR. 2003. Immunohistochemical characterisation of pelvic autonomic ganglia in male mice. *Cell Tissue Res.* 311, 175-185.

Wu Y y Koenig RJ. Gene regulation by thyroid hormone. 2000. *Trends Endocrinol. Metab.* 11, 207-211.

Yen PM, Ando S, Feng S, Liu Y, Maruvada P y Xia, X. 2006. Thyroid hormone action at cellular, genomic and target gene levels. *Mol. Cell. Endocrinol.* 246, 121-127.

Zhang C, Kim S, Harney JW y Larsen PR. 1998. Further characterization of thyroid hormone response elements in the human type 1 iodothyronine deiodinase gene. *Endocrinology* 139, 1156-1163.

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

<b>Figura</b>	<b>Nombre</b>	<b>Pág.</b>
1	Próstata humana	3
2	Vista ventral de los lóbulos prostáticos de la rata	4
3	Tipos celulares presentes en la próstata	4
4	Representación esquemática de la inervación autónoma de la próstata	8
5	Síntesis y secreción de las hormonas tiroideas	13
6	Mecanismo enzimático de desyodación	15
7	Peso corporal y prostático	28
8	Actividad D1 prostática en animales sexualmente expertos	28
9	Niveles prostáticos de T <sub>3</sub> en los animales que ejecutaron 4 eyaculaciones	29
10	Efecto de la HPGx sobre la respuesta de la actividad D1 prostática a la eyaculación	30
11	Efecto de la HPGx sobre los niveles prostáticos de T <sub>3</sub>	31
12	Expresión prostática del gen ODC en respuesta a la eyaculación	31
13	Efecto de la administración de NA sobre la actividad D1 prostática	32
14	Posible influencia de la inervación simpática y de la T <sub>3</sub> sobre la funcionalidad prostática.	36

<b>Tabla</b>	<b>Nombre</b>	<b>Pág.</b>
1	Principales productos de secreción emitidos por el epitelio prostático	6
2	Oligonucleótidos utilizados en la PCR	26
3	Latencias de eyaculación en animales intactos	27
4	Eficiencia copulatoria en animales intactos	27
5	Latencias de eyaculación en animales de falsa lesión y HPGx	29
6	Eficiencia copulatoria en animales de falsa lesión y HPGx	30
7	Latencias de eyaculación e índice de eficiencia copulatoria en animales tratados con NA	32

## APÉNDICE 1

### ABREVIATURAS

$^{125}\text{I-rT}_3$	T <sub>3</sub> reversa marcada radioactivamente
3'UTR	Región 3' no traducida
AMP	Adenosín monofosfato
ANOVA	Análisis de varianza
ATP	Adenosín trifosfato
cDNA	Acido desoxirribonucleico complementario
CRE	Elemento responsivo a AMP cíclico
D1	Desyodasa tipo 1
D2	Desyodasa tipo 2
D3	Desyodasa tipo 3
DHT	Dihidrotosterona
<i>Dio 1</i>	Gen de la desyodasa tipo 1
<i>Dio 2</i>	Gen de la desyodasa tipo 2
dNTPs	Desoxirribonucleótidos
DTT	Ditiotreitol
E.E.	Error estándar
ERK	Cinasas reguladas por señales extracelulares
HCl	Acido clorhídrico
HPGx	Hipogastrectomía
HT	Hormonas tiroideas
IF - $\gamma$	Interferón gamma
IL-1	Interleucina 1
Kb	Kilobase
kDa	Kilodaltones
MAPK	Protein cinasas activadas por mitógenos
$\mu\text{g}$	Microgramo
mg	Miligramo
$\mu\text{M}$	Micromolar
mM	Milimolar
NA	Noradrenalina
nm	Nanómetro
nM	Nanomolar
NPY	Neuropéptido Y
pb	Pares de bases
PBP	Proteína unida a la próstata
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
pH	Potencial de hidrógeno
PKA	Proteína cinasa A
PKC	Proteína cinasa C
PLC	Fosfolipasa C
PLD	Fosfolipasa D
pmol	Picomol
PRL	Prolactina
PSA	Antígeno prostático específico
PTU	6-n-propil-2-tiouracilo
RARE	Elemento responsivo a ácido retinoico

RIA	Radioinmunoensayo
RNA <sub>m</sub>	Acido ribonucleico mensajero
rpm	Revoluciones por minuto
rT <sub>3</sub>	3, 3', 5'-triyodotironina reversa
RT-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa por retrotranscripción
sc	Subcutánea
Sec	Selenocisteína
SNC	Sistema nervioso central
SNS	Sistema nervioso simpático
T <sub>2</sub>	3,5-diyodotironina
T <sub>3</sub>	3,3'5-triyodotironina
T <sub>3</sub> S	T <sub>3</sub> sulfatada
T <sub>4</sub>	Tiroxina
TCA	Acido tricloroacético
TGB	Globulina unida a tiroxina
TNF - $\alpha$	Factor de necrosis tumoral alfa
TR	Receptor a hormonas tiroideas
TRE	Elemento responsivo a hormonas tiroideas
TRH	Hormona liberadora de tirotropina
TSH	Hormona estimulante de la tiroides
TTF-1	Factor de transcripción tiroidea 1
TTR	Transtiretina
UGA	Codón de paro Uracilo Guanina Adenina
UV	Ultravioleta
VEH	Vehículo
VIP	Péptido vasointestinal
X	Media