

Comunicación breve

Expresión del receptor a prolactina en el ganglio pélvico mayor en ratas macho

Prolactin receptor expression in the major pelvic ganglion of male rats

¹Fabiola Pérez-Soto, ²Miguel A. Morales, ³Gonzalo E. Aranda-Abreu, ³Jorge Manzo, ³Fausto Rojas-Durán, ³Deissy Herrera-Covarrubias, ³María R. Toledo-Cárdenas, ³Jorge Suárez-Medellín, ^{3*}María E. Hernández-Aguilar.

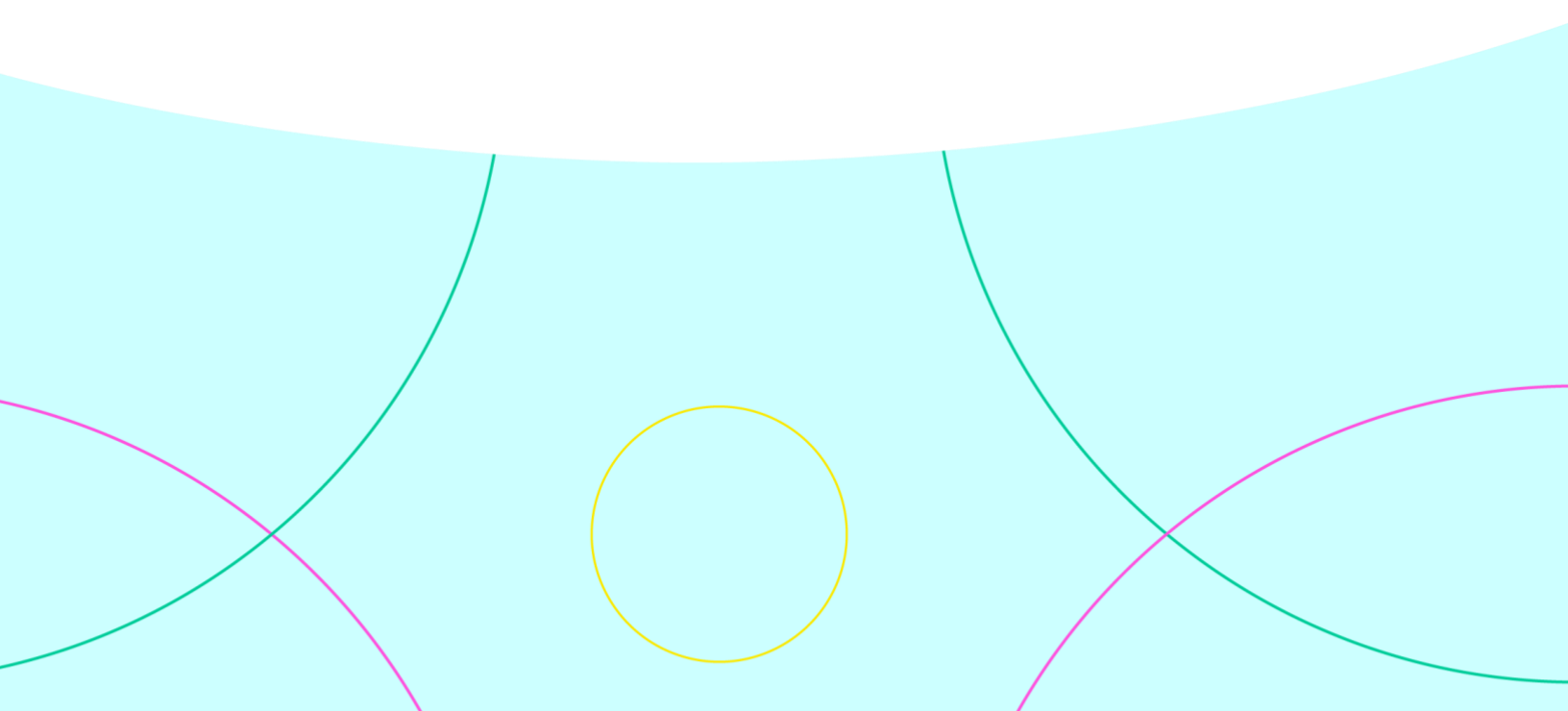
¹Doctorado en Investigaciones Cerebrales, Universidad Veracruzana. ²Laboratorio de Biología y Fisiología Celular, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, ³Laboratorio de Neuroendocrinología, Instituto de Investigaciones Cerebrales, Universidad Veracruzana.

Este artículo está disponible en: <https://eneurobiologia.uv.mx/index.php/eneurobiologia/issue/view/295>

*Correspondencia: María Elena Hernández-Aguilar. Universidad Veracruzana, Instituto de Investigaciones Cerebrales, Laboratorio de Neuroendocrinología. Dirección: Av. Luis Castelazo s/n, Industrial Ánimas, Xalapa, Veracruz, México. Código postal: 91000. Teléfono: +52 228 8418900 ext. 16308. Correo electrónico: elenahernandez@uv.mx

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional](#). Se permite el uso, distribución o reproducción en otros medios, siempre que se acredite al autor y se cite la publicación original en esta revista, de acuerdo con la práctica académica aceptada.

Descargo de responsabilidad: Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.



Resumen

El ganglio pélvico mayor (GPM) forma parte del sistema nervioso periférico, inerva a diversos órganos del área pélvica incluyendo la próstata y se ha mostrado que contiene receptores a hormonas esteroides y a prolactina (PRL). En trabajos anteriores se mostró que ni la ejecución de la conducta sexual ni la denervación preganglionar cambian la expresión del receptor a PRL (RPRL) en GPM, aunque en condiciones de hiperprolactinemia altera su morfología e histología. La PRL ejerce sus funciones mediante su receptor del cual se han reportado al menos tres isoformas que difieren en su dominio intracelular, conocidas como larga, intermedia y corta; sin embargo, en el GPM no se ha evidenciado si existen isoformas para este receptor. El objetivo de este trabajo fue determinar la localización del RPRL en el GPM y la expresión de las diferentes isoformas. Para ello, se extrajo el GPM de ratas macho adultas y se analizó el RPRL mediante inmunodetección en fase sólida e inmunohistoquímica. Los resultados mostraron que, mediante inmunohistoquímica, el RPRL está presente en la membrana de las neuronas del GPM. Mientras que la inmunodetección en fase sólida permitió evidenciar una banda con movilidad relativa de 75 kDa y otra similar a 100 kDa. Esto sugiere la existencia de dos isoformas en el GPM que probablemente correspondan a las isoformas reportadas corta y larga. Concluimos que las neuronas del GPM expresan el RPRL y que los efectos de PRL son mediados posiblemente por estas dos isoformas.

Palabras clave: prolactina; receptor a prolactina; ganglio pélvico mayor; sistema nervioso periférico.

Abstract

The Major Pelvic Ganglion (MPG) is part of the peripheral nervous system, innervates several organs of the pelvic area including the prostate, and it has been shown to contain receptors for steroid hormones and prolactin (PRL). In previous works, it was shown that neither the execution of sexual behavior nor preganglionic denervation changes the expression of the prolactin receptor (RPRL) in the MPG, but in conditions of hyperprolactinemia, its morphology and histology are modified. Prolactin exerts its functions through its receptor with at least three isoforms that differ in the intracellular domain known as long, intermediate, and short. However, in the MPG it has not been shown whether isoforms exist for this receptor. This work aimed to determine the RPRL location in the MPG tissue and the existence of the different isoforms. The MPG was extracted from adult male rats, and the prolactin receptor was analyzed using solid-phase immunodetection and immunohistochemistry. Immunohistochemistry results indicated that the prolactin receptor is expressed in the MPG. While solid-phase immunodetection revealed a band with relative mobility of 75 kDa and another similar to 100 kDa. This suggests the existence of the short and long isoforms. We conclude that MPG neurons express the prolactin receptor and that its effects probably are mediated by these two isoforms.

Keywords: prolactin; prolactin receptor; major pelvic ganglion; peripheral nervous system.

I. Introducción

El ganglio pélvico mayor (GPM) es una estructura principal localizada en el lóbulo dorsolateral de la próstata en la rata macho, encargada de inervar órganos pélvicos como el colon, la vejiga, el pene y la próstata.¹⁻⁴ Este ganglio es de tipo mixto, ya que recibe inervación tanto de fibras simpáticas como parasimpáticas originadas en los nervios pélvicos e hipogástricos.⁵ Su función y morfología están reguladas por neurotransmisores, como la noradrenalina y la acetilcolina, así como por hormonas esteroides, como la testosterona.¹⁻⁴ El desarrollo de las neuronas del GPM está determinado principalmente por la testosterona, que actúa mediante la activación de sus receptores.^{6,7}

Otra hormona cuyo receptor también está presente en el GPM es la prolactina (PRL)⁸ que, al igual que las hormonas esteroides, participa en eventos reproductivos.⁹ A diferencia de los esteroides, la PRL es una hormona peptídica liberada principalmente por los lactotrofos de la adenohipófisis, y además está implicada en procesos como el aprendizaje y la memoria.^{10,11} Esta hormona interactúa con su receptor transmembranal (RPRL), del cual se han identificado tres isoformas derivadas del *splicing* alternativo del transcrito primario, que incluye la eliminación parcial o total de intrones y exones. Como resultado, se generan transcritos con longitudes variables que dan lugar a tres isoformas distintas: una corta, de 291 aminoácidos; una intermedia, de 393 aminoácidos; y una larga, de 591 aminoácidos. Estas isoformas se expresan en distintas regiones del cerebro, como el núcleo preóptico medial, el núcleo supraóptico y el área hipotalámica anterior, todas ellas vinculadas al control de la conducta sexual masculina.^{10,11} Asimismo, están presentes en órganos periféricos

como el hígado, la pituitaria, los ovarios, los testículos y la próstata.¹²⁻¹⁴

Se ha documentado la existencia de una interacción entre PRL y el sistema nervioso autónomo. En ratas, la adición de PRL al ganglio cervical superior estimula la liberación de progesterona y estradiol por el ovario,¹⁵ un efecto mediado por la activación de los receptores $\alpha 1$ -adrenérgicos.¹⁶ Por otro lado, en ganglios cervicales superiores de bovinos, la PRL no solo bloquea la unión de atropina al receptor muscarínico, sino que también reduce la afinidad de este alcaloide, lo que sugiere que esta hormona puede influir en la neurotransmisión en ambos ganglios.¹⁷

En los ganglios de la raíz dorsal (L3-L5) de ratones, se ha reportado la expresión del RPRL en neuronas nociceptivas peptidérgicas, tanto en hembras como en machos, lo que indica una posible participación en la nocicepción y el dolor.¹⁸ En el GPM de animales sexualmente expertos, también se ha demostrado la presencia del RPRL; sin embargo, su densidad no se ve afectada ni por la ejecución de la conducta sexual ni por la denervación preganglionar.⁸

Aunque está documentada la expresión del RPRL en el GPM, aún se desconoce si existen isoformas específicas de este receptor y cuál es su localización celular exacta. Por esta razón, el objetivo del presente estudio fue identificar las isoformas del RPRL y determinar su localización celular.

2. Materiales y métodos

Animales: Se utilizaron cuatro ratas macho de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus domestica*) con un peso corporal de 250-300 g, mantenidas en condiciones controladas de temperatura (22 °C) y un ciclo luz-oscuridad invertido (12:12), con acceso a comida y agua *ad libitum*. Todos los experimentos se realizaron siguiendo los

lineamientos éticos para el cuidado y uso de animales de laboratorio, aprobados por el Comité de Ética del Instituto de Investigaciones Cerebrales de la Universidad Veracruzana (número de registro 2019-02) y cumpliendo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Las ratas fueron anestesiadas mediante una combinación de xilazina (Procin; 10 mg/kg, IM) y ketamina (Cheminova; 90 mg/kg, IM). Posteriormente, se rasuró el área abdominal, donde se practicó una incisión en la línea media para localizar y extraer el GPM, así como el hígado, que se utilizó como control positivo.¹⁹ Del hígado, se procesaron dos fragmentos: uno fue congelado a -20 °C y el otro se fijó en paraformaldehído al 4%. En cuanto al GPM, el izquierdo se congeló a -20 °C, mientras que el derecho se fijó en paraformaldehído al 4%. Finalmente, las ratas fueron sacrificadas con el uso de una cámara de CO₂.

Inmunodetección en fase sólida (Western blot): Las muestras de hígado y del GPM (100 mg de cada uno) se homogenizaron en 200 µL de un buffer de lisis que contenía Solulyse M (Genlantis Inc., cat. L-30012) e inhibidores de proteasas (complete, libre de EDTA, Roche). Posteriormente, se colocaron en agitación constante a 4 °C durante una hora. El homogenizado fue centrifugado a 13,000 rpm durante 30 minutos a 4 °C, recuperándose el sobrenadante, el cual se almacenó en alícuotas que se mantuvieron a -70 °C hasta su uso. La concentración de proteína total se determinó mediante el método de Bradford (Sigma-Aldrich).

Las muestras se calentaron en baño maría a una temperatura de 95-100 °C durante 5 minutos. Se cargaron 25 µg de proteína por carril para las muestras de GPM y 75 µg por carril para las de hígado, separándolas mediante electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS al 12%. Posteriormente, las proteínas fueron

transferidas a membranas de PVDF (Immobilon-P; EMD Millipore).

La inmunodetección en fase sólida de las proteínas de interés se realizó utilizando anticuerpos policlonales de conejo contra RPRL (1:100; Santa Cruz Biotechnology, cat. H-300; sc-20992) y GAPDH como control de carga (1:500; ImmunoStar, cat. 20065). Las membranas se incubaron con estos anticuerpos durante toda la noche a 4 °C. Al día siguiente, se incubaron con un anticuerpo secundario anti-conejo (Millipore, 1:500; cat. AP187P) durante una hora a temperatura ambiente. Las muestras utilizadas como control negativo se sometieron a todo el procedimiento, exceptuando la incubación con el anticuerpo primario. Finalmente, las bandas de proteínas se visualizaron utilizando un kit de sustrato quimioluminiscente para HRP (Kit Immobilon Western; Millipore). El análisis densitométrico de las bandas se llevó a cabo utilizando la estación de imagen Gel Logic 1500 de Kodak, equipado con una cámara digital CCD, diseñada específicamente para el análisis de inmunodetección en fase sólida.

Inmunohistoquímica: El GPM y el hígado se crioprotegieron en soluciones sucesivas de sacarosa al 10%, 20% y 30% (PB 0.1 M, 10 mL, 24 h, respectivamente) durante tres días. Se obtuvieron cortes longitudinales a 14 µm para GPM y a 7 µm para hígado, utilizando un criostato (Leica CM 1850) a -24 °C, y se lavaron tres veces con agua desionizada, posteriormente los cortes se incubaron en un buffer citrato (SIGMA-ALDRICH) a 37 °C durante 2 h para optimizar la unión del antígeno con el anticuerpo y se bloqueó durante 2 h con 10% BSA (SIGMA); luego, se incubaron con anticuerpo primario contra RPRL por 48 h (1:50; Abcam; cat. ab2772). Posteriormente, las muestras se lavaron tres veces con BSA y se incubaron con anticuerpo secundario anti-ratón biotinilado durante 2 h (1:200; Abcam

ab6728). Finalmente, se aplicó el complejo de avidina-biotina (Vectastain Elite ABC-Peroxidase Kit Standard, Vector Laboratories PK-6100) durante 1 h y se expuso utilizando peróxido de hidrógeno y sustrato DAB (Kit Vector Laboratories SK-4100) como cromógeno, que contenía níquel (1%). Se usó tinción con hematoxilina como color de contraste. El control negativo se desarrolló sin el anticuerpo primario. Las fotografías se tomaron utilizando un microscopio Optisum MIC 440, DESEGO y una cámara fotográfica Optisum 14 megapíxeles 1/2.3 adaptada al software de cómputo Levenhuk Toup View.

3. Resultados

Las bandas inmunoreactivas del RPRL fueron evaluadas mediante su inmunodetección en fase sólida (Fig. 1A) y su identificación en el tejido se analizó mediante inmunohistoquímica (Fig. 1B). Con el análisis de inmunodetección en fase sólida, se

detectaron dos bandas tanto en el GPM como en el hígado, este último utilizado como control positivo debido a que se ha descrito previamente que expresa RPRL.¹² La banda más intensa tuvo una movilidad relativa similar a los 100 kDa y mostró una reacción comparable en ambos tejidos. Por otro lado, la banda de menor tamaño, con una movilidad relativa entre 75 y 80 kDa, tuvo una reacción menos intensa en el hígado que en el GPM. El control negativo no mostró ninguna banda (Fig. 1A).

Mediante inmunohistoquímica se observó inmunoreactividad anti-RPRL en ambos tejidos. En el GPM y en el hígado, la inmunoreactividad se observó principalmente en la membrana celular, tanto de las neuronas ganglionares como en los hepatocitos (Fig. 1B). No se detectó inmunotinción anti-RPRL cuando se omitió la incubación con el anticuerpo primario (Fig. 1B).

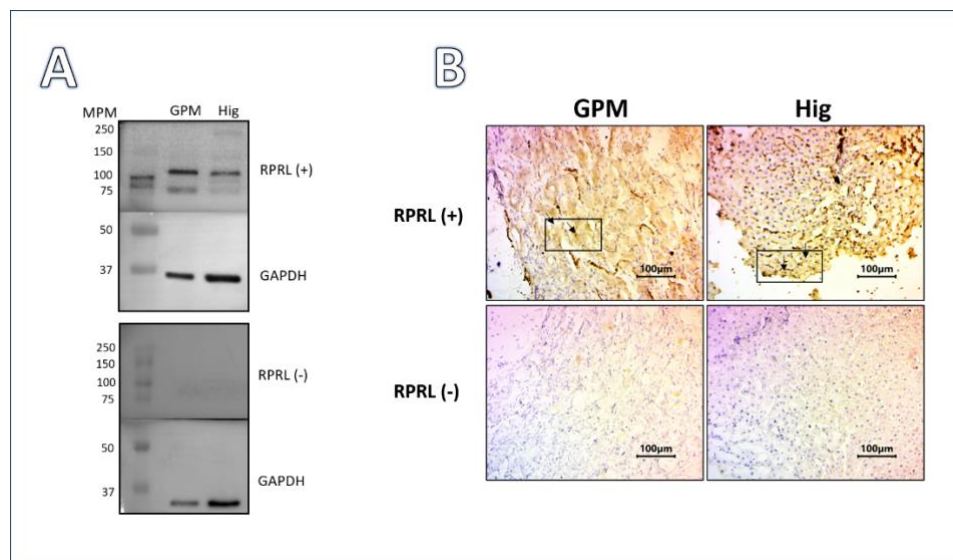


Figura 1. El ganglio pélvico mayor (GPM) expresa receptor a prolactina (RPRL). Western blot e inmunohistoquímica del RPRL en GPM. **A)** Western blot del RPRL en GPM e hígado (hig) con su respectivo control negativo (RPRL-) y marcador de peso molecular (MPM). La figura muestra que el anticuerpo reconoció dos bandas: una de 80-75 kDa y otra de movilidad relativa mayor a 100 kDa. GAPDH se utilizó como proteína de control de carga; n=4. **B)** Inmunohistoquímica del RPRL en cortes de GPM e hígado (hig) de rata. La inmunohistoquímica se detectó en varias neuronas ganglionares. El núcleo se puede detectar

gracias a la contra tinción con hematoxilina. En el hígado también se detectó inmunomarcaje. Todos los controles sin anticuerpo primario fueron negativos (RPRL-), barra de calibración = 100 μ m; n=4.

4. Discusión

El GPM, una estructura que es parte del sistema nervioso autonómico, regula diversas funciones pélvicas dentro de las que se encuentran las reproductivas.^{20,21} La función y la morfología del ganglio están bajo el control de neurotransmisores como la noradrenalina y la acetilcolina. Aunque este ganglio ha sido estudiado desde los años 70, gran parte de sus funciones siguen siendo desconocidas. Los neurotransmisores acetilcolina y noradrenalina ejercen sus efectos al unirse a sus respectivos receptores. Además, se ha identificado la presencia de receptores para hormonas esteroides, las cuales están implicadas en la regulación del número celular y la neurotransmisión.^{6,7,22-24}

En el caso de la PRL, aunque se han reportado receptores en el ganglio autónomo,⁸ aún no se comprenden completamente sus acciones específicas. Se puede suponer que la unión de la PRL a su receptor modula la neurotransmisión y la plasticidad neuronal en respuesta a eventos conductuales, como la conducta sexual. Esto se debe a que dicha conducta induce cambios plásticos en el ganglio, incrementando el área del ganglio, el tamaño de las neuronas y las células intensamente fluorescentes.²⁵ Estos efectos se llevan a cabo mediante la interacción de la PRL con sus receptores. Sin embargo, dado que se han identificado diversas isoformas del RPRL, fue necesario investigar si estas isoformas también están presentes en el GPM.

En este estudio, la inmunodetección en fase sólida permitió identificar dos proteínas con una movilidad relativa entre 75 y 80 kDa, así como otra con una movilidad superior a 100 kDa, tanto en el ganglio como en el hígado (Fig. 1A). Estos hallazgos

sugieren la presencia de dos isoformas en ambos tejidos, lo que concuerda con reportes previos en diversos tejidos y especies.^{12,19,26,27} En este trabajo, se utilizó el hígado como control positivo debido a la evidencia previa de la existencia de las isoformas larga y corta en este tejido.²⁸

La presencia de estas dos bandas en ambos tejidos podría explicarse por el empalme alternativo del transcrito primario, el cual da lugar a las formas larga y corta del RPRL.²⁹ Estas formas se diferencian principalmente en el dominio intracelular, mientras que los dominios transmembranal y extracelular permanecen conservados. Sin embargo, el uso de anticuerpos no permite diferenciar entre isoformas, ya que reconocen únicamente el dominio extracelular, común a todas las isoformas existentes. Por este motivo, es necesario emplear técnicas como la RT-PCR, que utiliza oligonucleótidos diseñados específicamente para reconocer el dominio intracelular, como se ha demostrado en otros estudios,^{30,31} o la técnica de hibridación *in situ*.³²

Adicionalmente, el nivel de expresión de cada isoforma podría determinar la capacidad de respuesta de los tejidos, lo que representa un aspecto que debe explorarse en el GPM. También es fundamental evaluar cuál de estas isoformas predomina en este tejido y si su expresión está regulada por hormonas como testosterona o estradiol, tal como se ha demostrado en otros tejidos,³³ o por neurotransmisores como acetilcolina y noradrenalina.

Las neuronas del GPM son responsables de recibir información preganglionar y generar respuestas hacia los órganos de la región pélvica. Dado que se ha identificado la presencia del RPRL en el GPM, se procedió a su evaluación mediante inmunohistoquímica para determinar su

localización. Utilizando anticuerpos dirigidos contra el dominio extracelular del receptor, se detectó inmunomarcaje predominantemente en la membrana celular de las neuronas del GPM, lo cual se explica porque el RPRL es un receptor transmembranal.¹² Este hallazgo es consistente con lo reportado previamente en neuronas dopaminérgicas.³⁴

Como se mencionó anteriormente, es fundamental determinar cuál de las dos isoformas del receptor es más abundante en el GPM. Este aspecto adquiere especial relevancia porque, como se ha observado en neuronas dopaminérgicas, la PRL puede inducir potenciales de acción a través de su unión a la isoforma corta del receptor.³² Asimismo, será importante investigar si la diferencia en la expresión de cada receptor está influida por la ejecución de la conducta sexual o por la disminución de la innervación asociada al envejecimiento, como ha sido reportado anteriormente.⁵

Como conclusión, este estudio proporciona la primera evidencia directa que confirma no sólo la expresión de RPRL en las neuronas del GPM, sino también la existencia de al menos dos isoformas distintas del receptor. Aunque la función precisa de PRL-RPRL en el GPM aún no se conoce, se sugiere que podría estar involucrado en la regulación de funciones autonómicas más específicas, como las reproductivas, abriendo así la puerta a futuras investigaciones.

5. Agradecimientos

Agradecemos a Pedro Medina por su contribución a este trabajo, a la beca SECIHTI [PSF No. 576596], al Cuerpo académico CA-UV-307 y al proyecto SIREI (No. 10480202412).

6. Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

7. Referencias

1. Shimizu T, Egan-Konopka LM, Ohta Y, Dun NJ. Localization of Postganglionic neurons to the male genital organ in the mayor pelvic ganglion of the rat. *Took J Exp Med* 1982 136(3): 351-52.
2. Keast JR, Booth AM, De Groat WC. Distribution of neurons in the major pelvic ganglion of the rat which supply the bladder, colon or penis. *Cell Tissue Res* 1989 256(1): 105-12.
3. Kepper M, Keast JR. Immunohistochemical properties and spinal connections of pelvic autonomic neurons that innervate the rat prostate gland. *Cell Tissue Res* 1995 281(3): 533-42.
4. Rauchenwald M, Steers WD, Desjardins C. Efferent innervation of the rat testis. *Biol Reprod* 1995 52(5): 1136-43.
5. Landa-García, JN, Palacios-Arellano, MdIP, Morales MA, Aranda-Abreu GE, Rojas-Durán F, Herrera-Covarrubias D, Toledo-Cárdenas MR, Suárez-Medellín JM, Coria-Avila GA, Manzo J, Hernández-Aguilar ME. The Anatomy, Histology, and Function of the Major Pelvic Ganglion. *Animals* 2024 14(7): 1-12.
6. Keast JR, Saunders RJ. Testosterone has potent, selective effects on the morphology of pelvic autonomic neurons which control the bladder, lower bowel and internal reproductive organs of the male rat. *Neuroscience* 1998 85(2): 543-56.
7. Purves-Tyson TD, Arshi MS, Handelsman DJ, Cheng Y, Keast JR. Androgen and estrogen receptor-mediated mechanisms of testosterone action in male rat pelvic autonomic ganglia. *Neuroscience* 2007 148(1): 92-104.

8. Mateos-Moreno A, Sánchez-Zavaleta V, Aranda-Abreu GE, Herrera-Covarrubias D, Rojas-Durán F, Manzo J, Suárez-Medellín J, Toledo MR, Hernández-Aguilar ME. Efecto de la denervación preganglionar sobre la expresión de receptores adrenérgicos, muscarínicos, de andrógenos y de prolactina en el ganglio pélvico principal de ratas macho con comportamiento sexual a largo plazo. *eNeurobiología* 2021 12(29): 1-8.
9. Grattan DR, Szawka RE. Kisspeptin and prolactin. *Semin Reprod Med* 2019 37(2): 93-104.
10. Imegawa W, Yang J, Guzman R, Nandi S. Control of mammary gland growth and development. En: Neill JD (ed) *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* (3rd). Raven Press 1994. 1033-63.
11. Cabrera-Reyes EA, Limón-Morales O, Rivero-Segura NA, Camacho-Arroyo I, Cerbón M. Prolactin function and putative expression in the brain. *Endocrine* 2017 57(2): 199-213.
12. Bole-Feysot C, Goffin V, Edery M, Binart N, Kelly PA. Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways, and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocr Rev* 1998 19(3): 225-68.
13. Hair WM, Gubbay O, Jabbour HN, Lincoln GA. Prolactin receptor expression in human testis and accessory tissues: localization and function. *Mol Hum Reprod*. 2002 8(7): 606-11.
14. Poindexter AN, Buttram VC, Besch PK, Smith RG. Prolactin receptors in the ovary. *Fertil Steril* 1979 31(3): 273-7.
15. Vallcaneras SS, Delgado SM, Motta A, Telleria CM, Rastrilla AM, Casais M. Effect of prolactin acting on the coeliac ganglion via the superior ovarian nerve on ovarian function in the postpartum lactating and non-lactating rat. *Gen Comp Endocrinol* 2013 184:1-8.
16. Cardinali DP, Romeo HE, Ochan CM, Moguilevsky JA. Estrous Cycle delay and inhibition of gonadotropin and prolactin release during sympathetic nerve degeneration after superior cervical ganglionectomy of rats. *Neuroendocrinol*. 1989 50: 59-65.
17. Gejman PV, Cardinali DP. Hormone effects on muscarinic cholinergic binding in bovine and rat sympathetic superior cervical ganglia. *Life Sci* 1983 32: 965-72
18. Patil M, Belugin S, Mecklenburg J, Wangzhou A, Paige C, Barba-Escobedo PA, Boyd JT, Goffin V, Grattan D, Boehm U, Dussor G, Price TJ, Akopian AN. Prolactin Regulates Pain Responses via a Female-Selective Nociceptor-Specific Mechanism. *Science*. 25(20): 449-65.
19. Shirota M, Banville D, Ali S, Jolicoeur C, Boutin JM, Edery M, Djiane J, Kelly PA. Expression of two forms of prolactin receptor in rat ovary and liver. *Mol Endocrinol* 1990 4(8): 1136-43.
20. NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
21. Crowcroft PJ, Szurszewski JH. A study of the inferior mesenteric and pelvic ganglia of guinea-pigs with intracellular electrodes. *J Physiol* 1971 219(2): 421-41.

22. Greenwood D, Coggeshall RE, Hulsebosch CE. Sexual dimorphism in numbers of neurons in the pelvic ganglia of adult rats. *Brain Res* 1985 340: 160-2.
23. Melvin JE, Hamill RW. Androgen-Specific Critical Periods for the Organization of the Major Pelvic Ganglion. *The Journal of Neuroscience*. 1989 9(2): 738-42.
24. Janig W, McLachlan EM. Organization of lumbar spinal outflow to distal colon and pelvic organs. *Physiol Rev* 1987 67(4): 1332-1404.
25. Sánchez Zavaleta V. Efecto de la conducta sexual y la denervación preganglionar sobre las características histológicas de la próstata y del ganglio pélvico mayor en la rata [tesis doctoral]. Xalapa: Universidad Veracruzana; 2021.
26. Lösel R, Wehling M. Nongenomic actions of steroid hormones. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003 4: 46-55.
27. Jabbour HN, Kelly PA. Prolactin receptor subtypes: a possible mode of tissue specific regulation of prolactin function. *Reviews of Reproduction* 1997 2: 14-8.
28. Okamura H, Raguette S, Bell A, Gagnon J, Kelly PA. Purification and protein sequence analysis of rat liver prolactin receptor. *J Biol Chem* 1989 264(10): 5904-11.
29. Rojas-Durán F, Pascual-Mathey LI, Serrano K, Aranda-Abreu GE, Manzo J, Soto-Cid AH, Hernández ME. Correlation of prolactin levels and PRL-receptor expression with Stat and Mapk cell signaling in the prostate of long-term sexually active rats. *Physiol Behav* 2015 138: 188-92.
30. Bogorad RL, Ostroukhova TY, Orlova AN, Rubtsov PM, Smirnova OV. Long isoform of prolactin receptor predominates in rat intrahepatic bile ducts and further increases under obstructive cholestasis. *J Endocrinol* 2006 188(3): 345-54.
31. Abramicheva PA, Smirnova OV. Prolactin receptor isoforms as the basis of tissue-specific action of prolactin in the norm and pathology. *Biochemistry (Mosc)*. 2019 84(4): 329-45.
32. Patil MJ, Henry MA, Akopian AN. Prolactin receptor in regulation of neuronal excitability and channels. *Channels (Austin)* 2014 8(3): 193-202.
33. Sakaguchi K, Ohkubo T, Sugiyama T, Tanaka M, Ushiro H, Nakashima N. Differential regulation of prolactin receptor mRNA expression in rat liver and kidney by testosterone and oestradiol. *Journal of Endocrinology* 1994 143: (2): 383-92.
34. Morel G, Ouhtit A, Kelly P. Prolactin Receptor Immunoreactivity in Rat Anterior Pituitary. *Neuroendocrinology* 1994 59 (1): 78-84.