



Resumen #131

### **Expresión de receptores de andrógeno clásicos en la superficie de células musculares lisas prostáticas**

1Peinetti N, 1Leimgruber C, 1Quintar AA, 1Maldonado CA

1Centro de Microscopia Electrónica - INICSA - CONICET. Facultad de Ciencias Médicas. U.N.C.  
Área: Básica

Resumen:

La testosterona (T) es fundamental en el desarrollo y fisiología de la próstata. Su mecanismo de acción principal involucra su unión al receptor clásico de andrógenos (RA) y la posterior migración del complejo al núcleo para la activación genómica. Por otro lado, los andrógenos pueden señalar a través de una vía no clásica (VNC), para la cual se han descrito receptores en la superficie celular, que involucra la activación de segundos mensajeros, proteínas quinasas y factores de transcripción. Las células musculares lisas prostáticas (CMLp) cumplen un rol clave en la homeostasis glandular, por lo que nos propusimos analizar si la T induce efectos mediados por la VNC en ellas.

Cultivos primarios de CMLp de ratas Wistar fueron estimulados con T o con T unida a BSA (T-BSA), conjugado incapaz de atravesar la membrana plasmática, o sus vehículos, en concentración de 10<sup>-7</sup>M, durante tiempos cortos (10-30 minutos) o largos (24h). Se analizó la presencia del RA en la superficie celular mediante citometría de flujo y microscopia confocal. A su vez se evaluó la participación de las vías de las MAPK y de PI3K/Akt en tiempos cortos mediante western blot de pERK y pAkt; la expresión del RA total se analizó en tiempos largos de exposición a ambas formas de testosterona a través de la técnica de western blot. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante ANOVA-tukey.

Células analizadas mediante citometría de flujo mostraron marca positiva ( $p < 0,01$ ) para el receptor de andrógenos en la membrana celular, y dichos resultados se correlacionaron con las marcas obtenidas mediante microscopia confocal. Asimismo, luego de estímulos cortos tanto T como T-BSA incrementaron significativamente la expresión pERK y pAkt en forma tiempo-dependiente. Finalmente, a tiempos largos T-BSA no produjo cambios en la expresión del RA con respecto al control, en contraste T indujo un aumento significativo ( $p < 0,05$  vs control).

En resumen, estos datos constituyen las primeras evidencias de la presencia de RA funcionales en la membrana de CMLp, cuya activación se produce por una VNC con participación de ERK y Akt.

Palabras Clave: próstata, testosterona, receptor de andrógenos, células estromales, vía no clásica.  
Abstract #131

Expression of classical androgen receptors on the surface of prostate smooth muscle cells

1Peinetti N, 1Leimgruber C, 1Quintar AA, 1Maldonado CA

1Centro de Microscopia Electrónica - INICSA - CONICET. Facultad de Ciencias Médicas. U.N.C.

#### Abstract:

Testosterone (T) is essential in the development and physiology of the prostate. Its main mechanism of action involves binding to classical androgen receptor (AR) and the subsequent migration of the complex to the nucleus for genomic activation. Moreover, androgens may signal via a non-classical pathway (NCP), for which receptors on the cell surface have been described, involving the activation of second messengers, protein kinases and transcription factors. Prostate smooth muscle cells (pSMC) play a key role in the glandular homeostasis, so we decided to analyze whether T mediated effects induced a NCP in these cell type.

Primary cultures of Wistar rat pSMC were challenged with T or T bound to BSA (T-BSA), conjugate unable to cross the cell membrane or their vehicles at a concentration of  $10^{-7}M$ , for short periods of time (10-30 minutes) or long periods of time (24h). The presence of AR on the cell surface was analyzed by flow cytometry and confocal microscopy. In turn, we evaluated the involvement of the MAPK and PI3K/Akt pathways during short stimuli by western blot of pERK and pAkt; total AR expression was analyzed in long time exposure to both forms of testosterone through Western blotting. Statistical analyzes were performed using ANOVA-Tukey.

Cells analyzed by flow cytometry showed positive mark ( $p < 0.01$ ) for the AR in the cell membrane, and these results were correlated with the marks obtained by confocal microscopy. Also, after short stimuli, both T and T-BSA significantly increased pERK expression and pAkt in a time-dependent way. Finally, long time exposure to T- BSA produced no change in the AR expression over control; in contrast T induced a significant increase ( $p < 0.05$  vs control).

In summary, these data constitute the first evidence of the presence of functional AR in the membrane of pSMC, and its activation occurs by a NCP involving ERK and Akt.

#### Keywords:

Prostate, testosterone, Androgen receptor, Stromal cells, non classical pathway