



Humanidades, Ciencia, Tecnología e Innovación en Puebla

ISSN 2644-0903 online

Vol. 3. No. 1, 2021

www.academiajournals.com

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN AUSPICIADO POR EL
CONVENIO CONCYTEP-ACADEMIA JOURNALS



Gobierno de Puebla

Hacer historia. Hacer futuro.



Secretaría
de Educación
Gobierno de Puebla

CONCYTEP
Consejo de Ciencia
y Tecnología del Estado
de Puebla

BRENDA LIZETH MALDONADO MACIAS

CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE LOS GANGLIOS PREVERTEBRALES RELACIONADOS CON LA INERVACIÓN DEL OVARIO DERECHO DURANTE EL PROESTRO DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

COMITÉ SUPERVISOR:

DRA. CAROLINA MORÁN RAYA

DR. ARNULFO VILLANUEVA CASTILLO

MPA. ERICK CECILIO FERNÁNDEZ MENESES

MPA. MIGUEL ÁNGEL ZAMBRANO GONZÁLEZ

DR. CÉSAR FELICIANO PASTELÍN ROJAS (DIRECTOR DE TESIS)



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Título: Caracterización morfométrica de los ganglios prevertebrales relacionados con la inervación del ovario derecho durante el proestro del ciclo estral de la rata.

Comité supervisor: Dra. Carolina Morán Raya, Dr. Arnulfo Villanueva Castillo, MPA. Erick Cecilio Fernández Meneses, MPA. Miguel Ángel Zambrano González, Dr. César Feliciano Pastelín Rojas (Director de Tesis)

Institución: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; Centro de Investigaciones en Físicoquímica de Materiales, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Fecha de aprobación: 9 de Septiembre 2021

Título o grado académico: Médico Veterinario y Zootecnista

Caracterización morfométrica de los ganglios prevertebrales relacionados con la inervación del ovario derecho durante el proestro del ciclo estral de la rata

Brenda Lizeth Maldonado Macias

RESUMEN

En el presente estudio describimos la organización anatómica microscópica de los ganglios prevertebrales (GP) relacionados con los ovarios y si la comunicación de los GP con el ovario derecho es asimétrica. Para ello utilizamos métodos y técnicas histológicas y un trazador retrógrado true blue (TB), el cual fue inyectado en la bursa ovárica derecha de cuatro ratas adultas cíclicas de la cepa CIIZ-V. Las ratas fueron perfundidas cuatro días después de la administración del trazador y los GP (ganglio celiaco derecho-izquierdo, ganglio suprarrenal derecho-izquierdo y ganglio mesentérico superior) fueron removidos, recolectados, seccionados y analizados para identificar somas posganglionares positivos al trazador TB. Los resultados del análisis morfológico y morfométrico mostrarán una notable asimetría entre los GP derechos e izquierdos, donde el ganglio celiaco izquierdo es el GP de mayor área (2.8718 mm^2) y longitud ($6.551 \mu\text{m}$); pero también, es el de mayor número de neuronas posganglionares (1485 ± 125). Respecto a, las neuronas posganglionares se aprecian formas ovaladas, circulares y piriformes, cuyo diámetro mide $36 \mu\text{m}$ aproximadamente. El mayor número de somas positivos a TB se observó en el ganglio celiaco derecho (50 ± 2.8). Y también, se pudo observar marca positiva a TB en el ganglio celiaco izquierdo, en los suprarrenales y en el ganglio mesentérico superior.

Concluimos que las neuronas posganglionares que controlan las funciones ováricas están localizadas en diversos ganglios, pero la mayoría se encuentran en los ganglios celíacos, debido a ello, se les atribuye el papel fundamental de centros reguladores de las funciones ováricas. La asimetría morfológica y en el marcaje de las neuronas posganglionares de los GP cuando se inyecta el ovario derecho puede atribuirse a que las diferentes vías nerviosas de comunicación entre neuronas posganglionares se realice interconexión asimétrica inespecífica.

Morphometric characterization of the prevertebral ganglia related to the innervation of the right ovary during the estrous cycle proestrus of the rat

Brenda Lizeth Maldonado Macias

ABSTRACT

In the present study we describe the microscopic anatomical organization of the prevertebral ganglia (PG) related to the ovaries and whether the communication of the GP with the right ovary is asymmetric. For this we used histological methods and techniques and true blue (TB) retrograde tracer, which was injected into the right ovarian bursa of four cyclic adult rats of the CIIZ-V strain. The rats were perfused four days after the administration of the tracer and the PG (right-left celiac ganglion, right-left suprarenal ganglion and superior mesenteric ganglion) were removed, collected, sectioned and analyzed to identify positive postganglionic cell to the TB tracer. The results of the morphological and morphometric analysis showed a notable asymmetry between the right and left GP, where the left celiac ganglion is the GP with the largest area (2.8718mm^2) and length ($6.551\mu\text{m}$); but it is also the one with the highest number of postganglionic neurons (1485 ± 125). Regarding postganglionic neurons, oval, circular and pyriform shapes are seen, whose diameter measures approximately $36\mu\text{m}$. The highest number of TB positive cells was observed in the right of TB positive cells was observed in the right celiac ganglia (50 ± 2.8). And also, positive TB mark could be observed in the left celiac ganglion, in the suprarenal and the superior mesenteric ganglion.

We conclude that the postganglionic neurons that control ovarian functions are located in various ganglia, but most are found in the celiac ganglia, due to this, they are attributed the fundamental role of regulatory centers of ovarian functions. The morphological asymmetry and in the marking of the postganglionic neurons of the GP when the right ovary is injected can be attributed to the fact that the different nerve pathways of communication between postganglionic neurons perform nonspecific asymmetric interconnection.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mi tutor Dr. César F. Pastelín Rojas, quien con sus conocimientos y apoyo me guió a través de cada una de las etapas de este proyecto para alcanzar los resultados que buscaba, por apoyarme en todo momento durante este largo camino y animarme a seguir adelante.

También, me gustaría agradecer a la Dra. Carolina Morán Raya, por el respeto a mis sugerencias e ideas, por haberme permitido formar parte de su equipo dentro y fuera del laboratorio, por hacer siempre todo lo posible para que el proyecto siguiera adelante, pero sobre todo por brindarme su confianza y apoyo, siempre estaré agradecida con ella.

Me gustaría agradecer también, a mis compañeros de laboratorio en especial al Dr. Juan Manuel por estar conmigo desde mi primer día en el laboratorio, por sus enseñanzas, su paciencia, tiempo, dedicación y voto de confianza, sin duda un gran maestro. A la Dra. Adriana Espinosa Valdez que aunque fue corto el tiempo, me dejó muchas enseñanzas tanto académicas como sobre la vida, una gran maestra y amiga. Por último, pero no menos importante agradecer a mi compañera y amiga de laboratorio Rebeca Beltrán Hernández por apoyarme con mi proyecto y ayudarme con mis deberes, estar conmigo en las buenas y en las malas. Un agradecimiento en general para todos ustedes, por haberme apoyado y darme ánimos cuando más lo necesitaba para seguir adelante y concluir con este gran proyecto, muchas gracias.

Este trabajo fue realizado en el Centro de Investigaciones en Fisicoquímica de Materiales, Instituto de Ciencias (ICUAP), Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) y al laboratorio de patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la BUAP por prestarme sus instalaciones para poder llevar a cabo el proceso de investigación. Se realizó con apoyo de la **VIEP (PARC-NAT16-1)**, **PRODEP (BUAP-PTC-476)** y **CONACYT(CFPR 172023)**.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de con todo cariño y amor a mi familia por haber sido mi apoyo a lo largo de toda mi carrera universitaria y a lo largo de mi vida. A todas las personas especiales que me acompañaron en esta etapa, aportando a mi formación tanto profesional y como ser humano.

A mi mamá Rosario y mi tía Liliana por ser mis pilares, apoyarme en todo momento y estar al pie del cañón conmigo, aconsejarme y enseñarme a no rendirme, por impulsarme a seguir adelante e ir por más, por hacer de mí una persona de bien con valores y amor. Para mí son las mujeres más valientes, amables, amorosas, honestas y trabajadoras, que no se dan por vencidas tan fácilmente. Las amo y admiro mucho.

A mi papá Joel por animarme a seguir mis sueños, estar conmigo en las buenas y en las malas y apoyarme en mis decisiones, siempre serás mi papiringo.

A mi tío Óscar por brindarme su apoyo durante la carrera y hacerla de despertador y chófer en diversas ocasiones.

A mi hermano Daniel quien siempre ha estado junto a mí, apoyándome y dando palabras de aliento, por inspirarme a ser una mejor persona. Siempre te apoyare en lo más que pueda tanto profesional como emocionalmente. Te quiero mucho.

A mi amigo Antonio que durante la carrera y aun después nos hemos apoyado para salir adelante y materializar nuestros sueños y metas, espero esta amistad perdure y sigamos en las buenas, en las malas y en las peores.

A mi maestra y amiga Oliva, quien desde el inicio de mi carrera ha puesto empeño en explicarme y enseñarme lo que sabe sobre medicina veterinaria y zootecnia; también, por apoyarme en todo momento y ofrecerme su amistad incondicional. Es

una gran maestra y mujer, siempre estaré agradecida y la apoyare en lo más que pueda, gracias “mi Doc oli”.

También, quiero dedicar este trabajo a todos los animales que fueron parte del estudio, ya que también son seres vivos y merecen su reconocimiento por formar parte de la investigación y sin saberlo han modificado un poco el mundo de la Ciencia.

ÍNDICE

RESUMEN	II
INTRODUCCIÓN	1
Nervios	1
Plexos nerviosos	2
Ganglios	3
Inervación ovárica	3
El nervio ovárico superior (NOS)	5
El nervio del plexo ovárico (NPO)	5
Plexos autonómicos	6
Los plexos abdominales	6
El plexo intermesentérico	6
El plexo celiaco	7
El ganglio celiaco	8
El ovario: estructura y función	9
El ciclo estral	10
Transporte axonal	13
Métodos de trazado de vías neuronales	16
True Blue (TB)	17
ANTECEDENTES	19
Asimetría en las gónadas femeninas y en los circuitos neuronales	19
Inyección de las gónadas con trazadores neuronales para determinar sus vías nerviosas	20
JUSTIFICACIÓN	23
HIPÓTESIS	25
OBJETIVO	25
OBJETIVOS PARTICULARES	25
METODOLOGÍA	26
Procedimiento de marcaje neuronal	26
Análisis estadístico	27
Procedimiento histológico	27
RESULTADOS	28

Caracterización morfométrica de los ganglios prevertebrales	28
Ganglio mesentérico superior (GMS)	29
Ganglio celiaco derecho (GCD)	30
Ganglio celiaco izquierdo (GCI)	32
Ganglio suprarrenal (GS)	33
Inyección del trazador True Blue (TB) en la bursa ovárica derecha.	34
DISCUSIÓN	36
CONCLUSIÓN	39
BIBLIOGRAFÍA	40

INTRODUCCIÓN

En los mamíferos el sistema nervioso se encuentra dividido en dos segmentos: el primero, es el sistema nervioso central (SNC), que comprende el encéfalo y la médula espinal. El segundo, es el sistema nervioso periférico (SNP), que comprende nervios (craneales y espinales) y los ganglios. A su vez el SNP consta de dos subdivisiones, el sistema nervioso autónomo acompañado del sistema nervioso somático. Estructuralmente y funcionalmente, el SNC y SNP están interconectados con el resto del cuerpo controlando los movimientos voluntarios, la digestión o a la respuesta de lucha-huida. Los cuerpos celulares de los nervios periféricos pueden ubicarse en el cerebro o la médula espinal, o en los ganglios sensoriales o autonómicos (Gabella, 1995; Gabella, 2004).

Nervios

Los nervios se consideran como órganos compuestos principalmente de tejido nervioso (neuronas y neuroglia) y tejido conectivo fibroso con un rico suministro de vasos sanguíneos. Cada nervio está envuelto por tres capas de tejido conectivo que los organiza y protege. Estas capas son, el endoneuro, el perineuro, y el epineuro. El endoneuro rodea a cada uno de los axones asociados a una célula de Schwann formando fibras nerviosas. Estas fibras nerviosas, se agrupan formando fascículos, los cuales están rodeados de perineuro, que actúa como barrera hemato-neural. Por último, varios fascículos se agrupan formando un nervio, el cual se encuentra rodeado de epineuro, la más gruesa de las tres capas (Figura 1). La unidad funcional del nervio es el axón, y su número varía de acuerdo a cada tipo de nervio. Los axones pueden o no estar mielinizados. Las fibras mielinizadas poseen una célula de Schwann por cada axón, estas células están separadas por intervalos no mielinizados llamados nodos de Ranvier. Las fibras y fascículos de los nervios son agrupados, interconectados y distribuidos hacia las extremidades en forma de plexos (Gabella, 1995; Gabella, 2004).

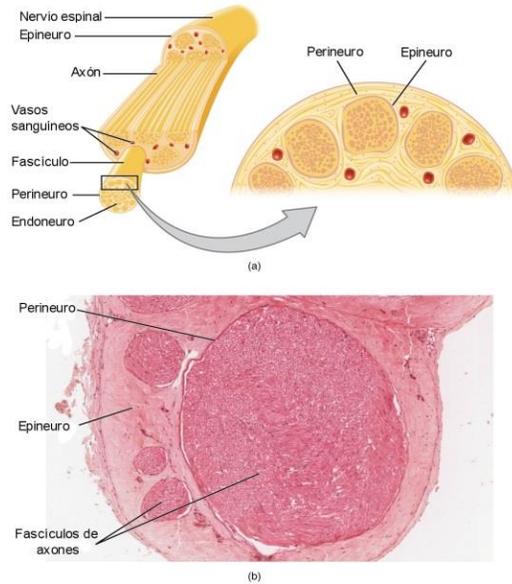


Fig. 1. a) Representación esquemática del nervio con sus principales componentes. b) Microfotografía del nervio con sus tres capas de tejido conectivo de adentro hacia afuera, el endoneuro, el perineuro y el epineuro.

Plexos nerviosos

Un plexo es una interconexión en red de fibras de los ramos anteriores de los nervios espinales (raíces) y se pueden diferenciar en plexos espinales, de los cuales forman sucesivamente (de proximal a distal), los troncos, divisiones, fascículos o cordones y nervios periféricos (ramos terminales; Figura 2), de estos ramos terminales mixtos se ramifican e interconectan para conformar plexos autonómicos (Gabella, 2004).

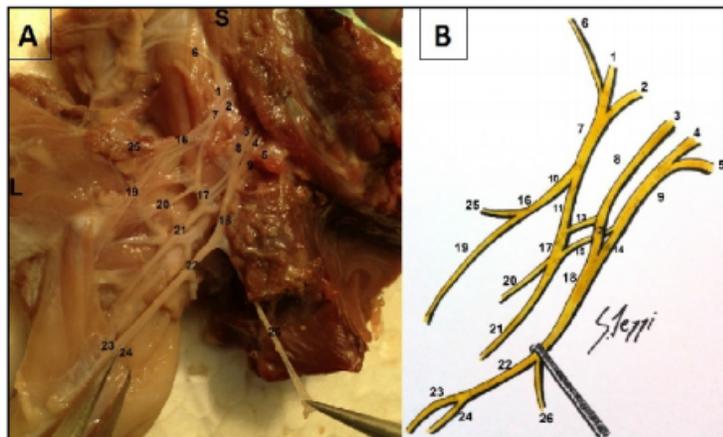


Fig. 2. Vista anterior del plexo espinal. A. Anatomía gruesa del plexo braquial B. Esquema del plexo: 1, 2, 3, 4, 5, raíces; 6, ramo comunicante; 7, 8, 9, 22, troncos; 10, 11, 12, 13, 14, 15, divisiones; 16, 17, 18, fascículos; 19, 20, 21, 23, 24, 25, 26, nervios.

Ganglios

Los ganglios son un grupo células neuronales (neuronas motoras y sensoriales), axones aferentes y eferentes, células SIF (células pequeñas intensamente fluorescentes), células gliales (células de Schwann y células satélite), células vasculares, mastocitos y fibroblastos (Figura 3; Gabella, 1995).

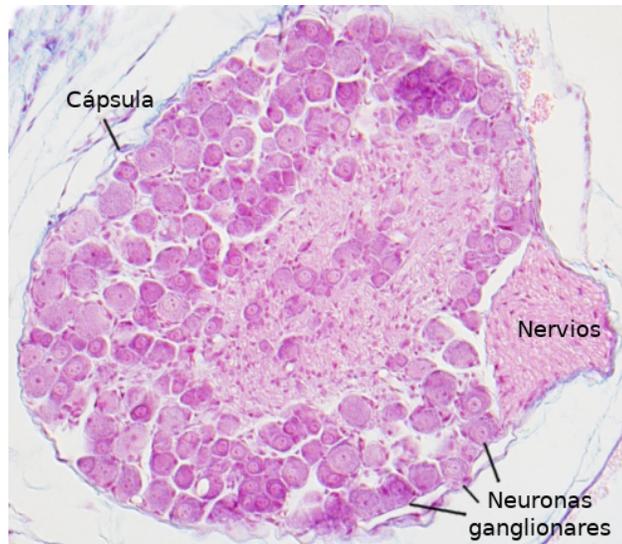


Fig. 3. Microfotografía de un ganglio periférico y sus cuerpos celulares. Tinción H-E.

Inervación ovárica

En la rata como en otros mamíferos los nervios y las células nerviosas del sistema nervioso autonómico (simpático y parasimpático) provee al corazón, a los vasos sanguíneos, los órganos intestinales, a las vías respiratorias, a los órganos urinarios y genitales. Los nervios regulan y coordinan las funciones corporales basadas en la actividad secretora de las glándulas, sobre la contracción y relajación del músculo liso y cardíaco.

En la rata, los nervios ováricos (nervio ovárico superior y nervio plexo ovárico) son derivados del plexo celíaco, plexo intermesentérico y del nervio esplácnico superior, sus somas aferentes (componentes somáticos) se localizan en los ganglios de la raíz dorsal de la región torácica superior y lumbar. Por el contrario, somas eferentes posganglionares simpáticos y parasimpáticos (componentes autonómicos) se

localizaron en los ganglios paravertebrales (cadena simpática), prevertebrales (complejo ganglionar mesentérico-celiaco-superior) y paraviscerales (Figura 4) que llegan a los ovarios por medio del nervio ovárico superior y el nervio plexo ovárico (Baljet y Drukker, 1979; Lawrence y Burden, 1980). Por otra parte, se ha descrito que las fibras de estos nervios son de tipo adrenérgico, colinérgicos (Lawrence y Burden, 1980) y que también poseen fibras inmunorreactivas a diversos péptidos y óxido nítrico (Aguado, 2002).

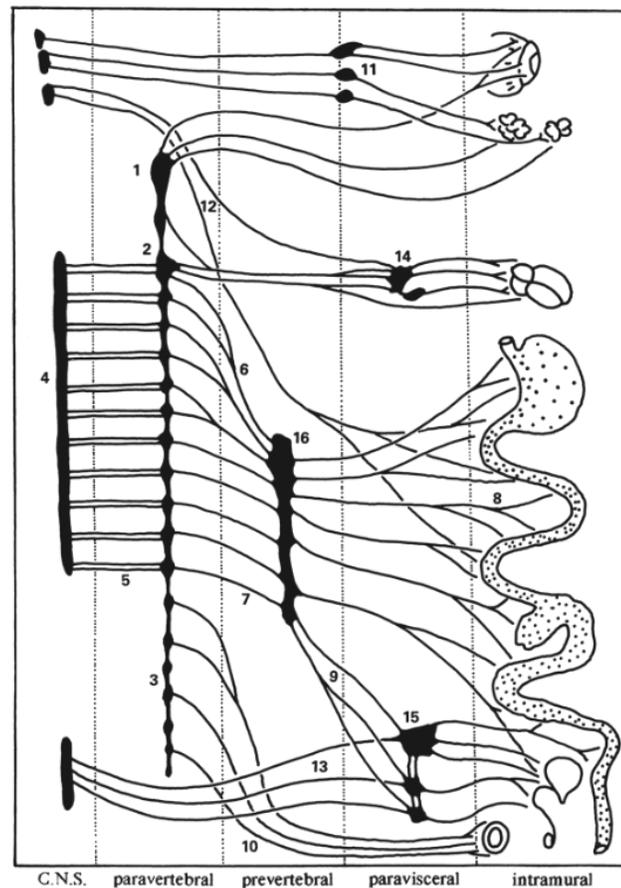


Fig. 4. Representación esquemática de los principales grupos de ganglios periféricos. Los números indican la posición topográfica de los principales nervios y algunos ganglios autonómicos: 1, ganglio cervical superior; 2, ganglio estrellado; 3, ganglio simpático lumbar; 4 columna intermedio lateral en el cordón espinal toracolumbar; 5, ramos comunicantes; 6, nervio esplácnico torácico; 7, nervio esplácnico lumbar; 8, nervio mesentérico; 9, nervio hipogástrico; 10, nervios perivascuales a los vasos sanguíneos; 11, ganglio ciliar, óptico y esfenopalatino; 12, nervio vago; 13, nervio pélvico; 14, ganglio cardíaco; 15, ganglio pélvico; 16, ganglios prevertebrales (Gabella, 2004).

El nervio ovárico superior (NOS)

En la rata, el NOS es una rama del plexo celiaco, sus cuerpos celulares preganglionares simpáticos se encuentran en los segmentos torácicos 7 (T7) a lumbar 3 (L3) de la médula espinal; dicho nervio corre por el borde del ligamento suspensorio, este ligamento ocupa un pliegue en el peritoneo y se inserta cerca del lado ventral de la última costilla (Figura 5; Lawrence y Burden, 1980; Klein y Burden, 1988). El NOS inerva a el ovario, al oviducto y caudalmente a la musculatura del útero. Se describe como la principal vía relacionada con la esteroidogénesis ovárica (Burden et al., 1981).

El nervio del plexo ovárico (NPO)

En la rata, el NPO es una rama del plexo aórtico y renal, está formado principalmente por axones adrenérgicos, sus cuerpos celulares preganglionares simpáticos se originan del segmento torácico 10 (T10), mientras que inervan los oviductos corresponden al segmento torácico 11 (T11), segmento torácico 12 (T12) y el segmento lumbar 1 (L1) (Baljet y Drukker, 1979; Lawrence y Burden, 1980; Klein y Burden, 1988). Muchos de los paquetes de fibras nerviosas que se encuentran en este plexo derivan del plexo renal, cerca del origen de la arteria ovárica (Baljet y Drukker, 1979). El NPO se observa embebido en una matriz de colágeno que reviste a la arteria ovárica; dicho nervio corre lateral a la vena ovárica para proyectar sus fibras principalmente a la vascularización arterial del ovario, a los oviductos, al ligamento ancho que se comunica con fibras del plexo uterino y de esta forma inerva el útero (Figura 5; Baljet y Drukker, 1979; Klein et al., 1989; Pastelin et al., 2017). Por el contrario, la inervación parasimpática proveniente del nervio vago. Estudios donde utilizan trazadores retrógrados, muestran que el soma de las neuronas cuyos nervios inervan al ovario y provienen del nervio vago, se localizan en el ganglio nodoso, lo que sugiere que parte de los nervios ováricos, especialmente los parasimpáticos, son de naturaleza sensorial (Burden et al., 1983).

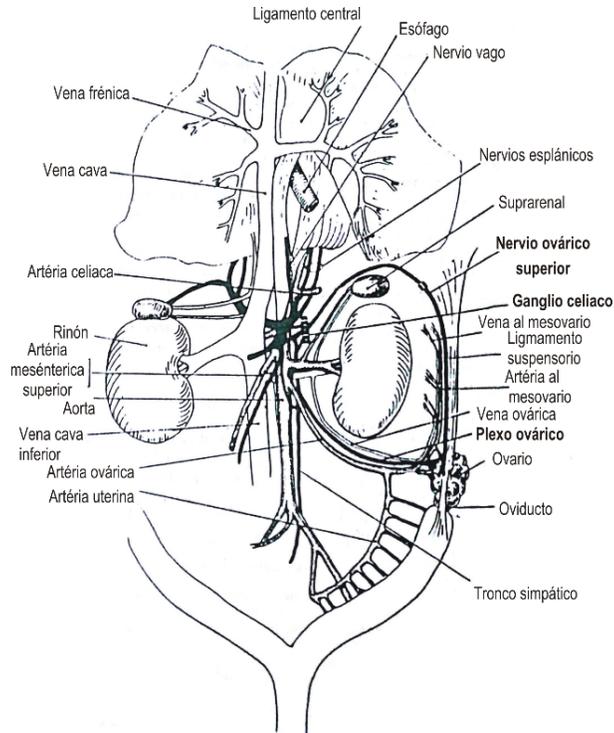


Fig. 5. Esquema anatómico de los nervios ováricos. Donde se ilustra en líneas remarcadas en negrito la inervación del ovario por el nervio ovárico superior y nervio del plexo ovárico; así como, el ganglio celiaco donde convergen ambos nervios en la ratona hembra (Lawrence y Burden, 1980).

Plexos autonómicos

Los plexos abdominales

En la cavidad abdominal se describen dos principales estructuras ganglionares que son referidas como plexos nerviosos. El plexo intermesentérico (PI) y plexo celiaco (PC; Baljet y Drukker, 1979).

El plexo intermesentérico

Se sitúa en posición ventral y ventrolateral a la aorta, entre las raíces de las arterias mesentéricas, y conecta al PC con el PI. El tronco intermesentérico derecho contiene ganglios alargados cerca de las arterias ováricas; pero también, se han encontrado en la parte caudal periférica. El tronco intermesentérico reciben contribuciones de los nervios espláncnicos lumbares (Figura 6; Baljet y Drukker, 1979).

El plexo celiaco

Es una densa red nerviosa que rodea a la arteria aorta ventral, localizado alrededor y entre la arteria celiaca junto a la arteria mesentérica superior extendiéndose bajo las dos glándulas suprarrenales, entre los dos riñones, dorsal al estómago, y a la vena cava inferior. Este plexo recibe contribución del nervio esplácnico mayor, menor y del nervio vago derecho. En dicho plexo se combinan las fibras nerviosas del sistema nervioso simpático y del parasimpático.

El PC está constituido por un complejo ganglionar, el cual está conformado por el ganglio suprarrenal, el ganglio mesentérico superior y el ganglio celiaco. Estos ganglios contribuyen a la innervación de las vísceras intra-abdominales (Baljet y Drukker, 1979, Berthoud y Powley, 1996).

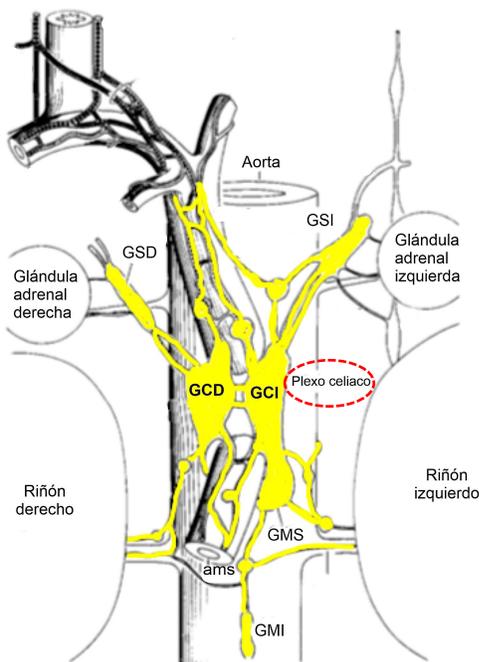


Fig. 6. Ilustración de los componentes nerviosos que conforman el plexo celiaco. GCD, ganglio celiaco derecho; CGI, ganglio celiaco izquierdo; GMS, ganglio mesentérico superior; GMI, ganglio mesentérico inferior; GSD, ganglio suprarrenal derecho; GSI, ganglio suprarrenal izquierdo; AMS, arteria mesentérica superior (Berthoud y Powley 1996).

El ovario: estructura y función

El ovario es un órgano dinámico, debido a los constantes procesos de proliferación y regresión celular. Se desarrolla a partir de la cresta gonadal como un engrosamiento bilateral del epitelio celómico, que recubre el espacio intersticial en la superficie ventromedial de los mesonefros en el día 34 del embrión humano (Van Wagemen y Simpsons, 1965), se desconoce el motivo por el cual el engrosamiento del epitelio celómico es el lugar donde se desarrollan las gónadas y donde migraran las células germinales primordiales. Las células germinales primordiales (CGP), son los precursores embrionarios de los gametos adultos que se originan del epiblasto proximal adyacente al ectodermo. Las células germinales son esenciales para la formación y mantenimiento del ovario; en su ausencia durante el desarrollo embrionario, la gónada degenera en estructuras con forma de cordón (Merchant-Larios y Centeno, 1981).

En los mamíferos el ovario es un órgano de forma oval, es bilateral y se encuentra localizado caudalmente a los riñones. Los ovarios están rodeados por la bursa ovárica, que es una cubierta formada por tejido escamoso simple. El ovario está cubierto por epitelio cuboidal simple, el cual al llegar al hilio se fusiona con el epitelio escamoso simple de la bursa ovárica (Krinke, 2000). Debajo del epitelio cuboidal simple se encuentra una capa compacta de tejido fibroso formada por fibras de colágena y fibroblastos llamada túnica albugínea. El estroma ovárico presenta células fusiformes extremadamente compactas con núcleo oval, el cual presenta tejido conectivo con presencia de fibras colágenas distribuidas en forma dispersa. El ovario presenta dos zonas con un límite no muy definido: una zona externa llamada corteza y una zona interna llamada médula (Figura 8; Krinke, 2000).

En la corteza se encuentran grupos celulares distintos al estroma ovárico. Estas se llaman células intersticiales, las cuales están bien irrigadas, presentan actividad secretora y están rodeadas de tejido conectivo. En la corteza se encuentran folículos

en diferentes etapas de desarrollo, así como, cuerpos lúteos de diferentes tamaños y folículos en proceso de atresia (Krinke, 2000).

En la médula se encuentran nervios, vasos sanguíneos y vasos linfáticos (hilio ovárico). Restos de la *rete ovarii* están presentes como ductos interconectados en línea por un epitelio cuboidal pseudoestratificado rodeado por tejido conectivo laxo. En la parte superior de la imagen, marcados con una flecha se ven diferentes cortes del oviducto, envuelto en tejido denso (azul oscuro) y también muestra la porción inicial del oviducto (infundíbulo), rodeada por las fimbrias, son visibles los folículos (F) en desarrollo localizados en la corteza (Krinke, 2000).

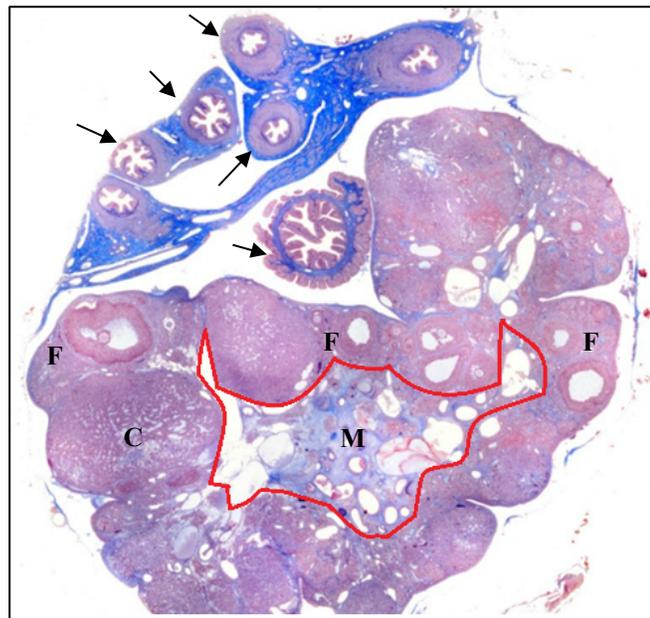


Fig. 8. Sección transversal del ovario donde son visibles la capa externa (corteza) y la zona central (médula). La corteza (C) está ocupada por una gran cantidad de folículos en diferentes etapas de desarrollo. La médula (M, delimitada por una línea roja) está formada por tejido conectivo denso altamente vascular. Tinción tricrómica de Masson.

El ciclo estral

En la rata el fotoperiodo participa en el ciclo estral. La periodicidad de la luz juega un papel dominante en la aparición y duración de las etapas del ciclo ovárico. La rata de laboratorio es un mamífero no estacional. La etapa fértil de la vida de las hembras se

caracteriza por cambios periódicos en la secreción de hormonas secretadas por la hipófisis y los ovarios que resultan en el crecimiento, la maduración y la liberación de ovocitos fértiles, así como cambios en la conducta sexual que asegura la máxima receptividad de las hembras durante la etapa ovulatoria.

En las ratas el ciclo estral tiene una duración de 4 a 5 días (Diestro-1, D1; Diestro-2, D2; Proestro, P; Estro, E; Figura 9) y es regulado principalmente por factores endógenos, particularmente por la interacción del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, el cual, a su vez recibe influencia de factores exógenos (Freeman, 1988; Kilen y Schwartz, 1999).

El diestro-1 o metaestro tiene una duración de 6 a 8 horas (h), durante la cual la concentración plasmática de la hormona luteinizante (LH), la hormona folículoestimulante (FSH), los estrógenos y la progesterona son basales: 4.00 ± 0.98 picogramos por mililitros (pg/ml). La secreción de progesterona por el cuerpo lúteo y la del estradiol por los folículos inhiben la secreción de gonadotropinas, la vascularización y motilidad del útero están disminuidas. En el frotis vaginal se aprecia infiltración leucocitaria y presencia de células cornificadas que empiezan a degenerar, comenzando esta degeneración por el núcleo que desaparece, en esta etapa los cuerpos lúteos de formación reciente son la principal fuente de secreción de progesterona, durante este día comienza la regresión funcional del cuerpo lúteo, siempre y cuando no haya habido una cópula que podría estimular la producción de prolactina. Por otro lado, la secreción de estradiol por los folículos sigue aumentando (Freeman, 1988; Kilen y Schwartz, 1999).

El diestro-2 fase que dura de 55 a 57 horas, la producción local de esteroides en el ovario inhibe la secreción basal de gonadotropinas que a su vez mantienen el crecimiento folicular, la concentración plasmática de estrógenos comienza acrecentar en la tarde de este día: 17.37 ± 3.22 pg/ml, como resultado de la estimulación de la enzima aromatasa por la FSH. También la FSH estimula la división mitótica de las células de la granulosa, lo que se traduce en el crecimiento y diferenciación de los

folículos que ovularan en ese ciclo. Por su parte, el cuerpo lúteo, continúa en proceso de regresión, el útero se encuentra de tamaño pequeño y no contráctil; cabe observar que en esta fase aparecen abundantes leucocitos y muy escasas células epiteliales de la capa basal (Freeman, 1988; Kilen y Schwartz, 1999).

El proestro tiene una duración de 12 a 14 h, los folículos han adquirido el estadio de folículos preovulatorios y secretan grandes cantidades de estrógenos, el estradiol ejerce un efecto estimulante de retroalimentación positiva sobre la secreción de gonadotropinas, por la mañana de ese día las concentraciones plasmáticas de los estrógenos suben súbitamente: 31.47 ± 8.79 pg/ml hasta alcanzar un pico preovulatorio de estrógenos y se reduce también de manera brusca, incitando la secreción preovulatoria de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), esto estimula la liberación preovulatoria de la FSH y la LH, pero la liberación de FSH ocurre ligeramente antes que la descarga preovulatoria de LH, en la tarde de este mismo día se alcanzan las máximas concentraciones de estas hormonas, el pico en la concentración plasmática de la LH estimula en el ovario la síntesis de plasminógeno que inicia los mecanismos celulares que llevan a cabo el rompimiento de la pared del folículo para que el ovocito pueda ser expulsado horas más tarde, la LH induce la ovulación y la luteinización del folículo posovulatorio. Por acción del estradiol el útero se torna muy contráctil y en la vagina aparecen células epiteliales nucleadas, la cópula es aceptada solamente en el proestro tardío con el comienzo de las horas de oscuridad, la secreción de FSH en la mañana del estro, que es debido a la disminución de la secreción ovárica de inhibina, estimula el crecimiento folicular. Es en esta fase donde se observan en su mayoría células nucleadas (Freeman, 1988; Kilen y Schwartz, 1999).

El estro coincide con el máximo aumento de actividad estrogénica, las concentraciones plasmáticas de estrógenos son de: 7.53 ± 0.62 , tiene una duración de 25 a 72 h, en este día ocurre el periodo del celo en que la hembra presenta los patrones de conducta sexual: el acercamiento, lordosis, la monta y la cópula. En la madrugada de este día, ocurre la ovulación y los óvulos se encuentran en el

oviducto. Por otra parte, el folículo posovulatorio comienza a estructurarse en el cuerpo lúteo, la mucosa vaginal se encuentran numerosas mitosis, que desplazan a las capas más superficiales que son el epitelio escamoso y cornificado, que son exfoliadas a la luz de la vagina, la presencia de estas células en frotis vaginal es evidencia del estro (Freeman, 1988; Kilen y Schwartz, 1999).

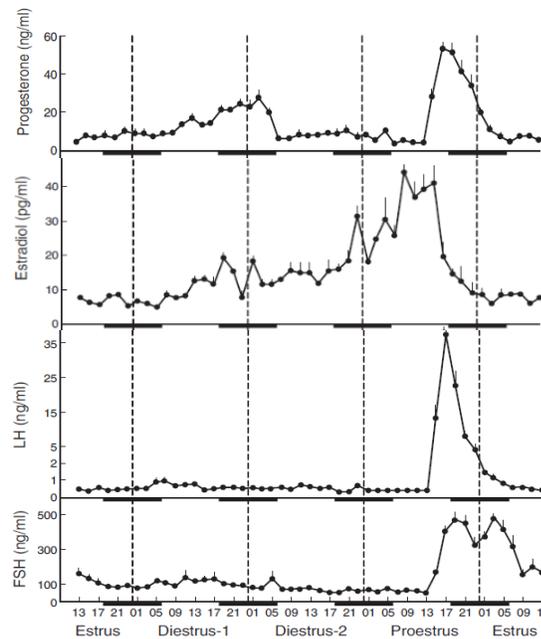


Fig. 9. Concentraciones de progesterona, estradiol, LH y FSH en plasma periférico, obtenido en intervalo de 2 h. A lo largo de los cuatro días del ciclo estral de la rata. Cada punto representa la media de la concentración de la hormona (promedio \pm SE). Las barras oscuras representan el intervalo de oscuridad en el bioterio y los números delante las horas de luz.

Transporte axonal

En la neurona una gran variedad de proteínas del citoesqueleto, proteínas solubles y vesículas son transportadas a lo largo del axón, los cuales, tienen un importante papel en el mantenimiento de la función axonal y sináptica. Dicho proceso de distribución se le conoce como transporte axonal y es dividido para su estudio por la dirección (anterógrada o retrógrada) en la que se desplazan los elementos neuronales y por la velocidad (lenta o rápida) en la que son transportados dichos elementos neuronales. Conocido como transporte lento (Figura 10) que es el encargado de desplazar microtúbulos, neurofilamentos, proteínas de actina y

proteínas relacionadas a actina, enzimas metabólicas, chaperonas, proteínas sinápticas involucradas en la endocitosis y exocitosis, e incluso proteínas motoras como la dineína-kinecina y miosina-actina (Roy, 2014; Rosales et al., 2015). Los paquetes distribuidos a esta velocidad se mueven a una tasa de velocidad de aproximadamente de 0.2 a 1 milímetros por días (mm/día) (Hoffman y Lasek, 1975).

La tubulina y proteínas neurofilamentosas se mueven a la velocidad más baja aproximadamente 0.2 a 1 mm/día (llamados “componente lento a” o por sus siglas en ingles SCa, slow component a). Mientras que, la actina, las proteínas relacionadas a actina, proteínas del citosol, proteínas solubles se mueven un poco más rápido, a una velocidad aproximada de 1 a 10 mm/día (llamados “componente lento b” o por sus siglas en ingles SCb, slow component b) (Black y Lasek, 1980; Brady et al., 1981). Los neurofilamentos se mueven rápidamente (Figura 10) con velocidades espontáneas, de la misma forma que lo hacen las vesículas. Pero en comparación con las vesículas, el movimiento de los neurofilamentos es muy infrecuente, y más aún, los neurofilamentos se detienen durante su transporte, en contraste con las vesículas que se mueven de manera constante. Este patrón en conjunto del movimiento de los neurofilamentos es lo que se conoce como transporte lento y como la teoría “The stop-and-go” (Figura 10). El primer paso para que el transporte rápido se lleve a cabo, es la síntesis, la clasificación y el empaquetado de los organelos. Una vez ensamblado, el organelo es llevado a la maquinaria de transporte para ser distribuido a lo largo del axón. Finalmente, el organelo es dirigido y entregado al dominio específico en el axón como una terminal presináptica, del axolema o un nódulo de Ranvier (Brady, 1993).

Las proteínas que viajan anterógrada y retrógradamente son principalmente asociadas a membrana, mientras que las que son transportadas en velocidad lenta son recuperadas de fracciones solubles o de gránulos de citoesqueleto (Tyllet et al., 1981). Todas las proteínas destinadas al transporte rápido deben pasar por el aparato de Golgi para su procesamiento (Hammerschlag et al., 1982) que incluye, glicosilación, sulfatación; así como, su clasificación después de ser procesadas en el

aparato de Golgi. Posteriormente, las vesículas salen transmembranalmente y son transportadas regularmente por microtúbulos y proteínas motoras. La membrana y las proteínas secretadas se asocian ya sea durante o inmediatamente después de su síntesis, y mantienen esa relación hasta que son eliminadas. Por ejemplo, inhibir la síntesis de la proteína o del fosfolípido, produce una disminución proporcional tanto en las proteínas como en los fosfolípidos (Rothman y Wieland, 1996). El transporte rápido anterógrado representa el movimiento de las vesículas a lo largo de los microtúbulos del soma y en dirección a la terminal del axón (Figura 10), a tasas que van en los mamíferos entre 200 y 400 mm por día o del 2 al 5 m por segundo (Brady, 1991; Brady, 1993).

Estudios ultra-estructurales han demostrado que el material en movimiento en el transporte anterógrado rápido incluye muchas pequeñas vesículas y estructuras túbulo-vesicular, así como las mitocondrias y vesículas de núcleo denso (Tsukita y Ishikawa, 1980). La tasa neta parece estar determinado en gran medida por tamaño, con los paquetes de vesículas asociados a membrana, el movimiento es casi constante, mientras que las mitocondrias y las estructuras más grandes con frecuencia se detienen, dando una tasa promedio inferior (Brady et al., 1985). En el transporte retrógrado son regresados al soma: factores tróficos, material exógeno y componentes de desecho de la membrana (Brady et al., 1990).

Los organelos asociados a membrana que se mueven en transporte retrógrado son estructuralmente heterogéneos y, en promedio, más grandes que las estructuras observadas en el transporte anterógrado, (Smith, 1980; Tsukita y Ishikawa, 1980). El mayor tamaño de estos vectores retrógradas afecta a la tasa de transporte mediante el aumento de la fricción debido a las interacciones con las estructuras citoplasmáticas (Brady et al., 1981; Brady et al., 1990). El retorno de los materiales de dirección anterógrada a retrograda se ve acompañado de un reempaquetado de los componentes membranosos. Los mecanismos del reempaquetado se desconocen por completo, pero ciertos inhibidores de la proteasa y agentes neurotóxicos evitan el retorno de las vesículas sin afectar el movimiento retrógrado. De acuerdo con esta

propuesta, el tratamiento con proteasas a vesículas sinápticas purificadas afecta la direccionalidad de sus movimientos en el axoplasma y terminales presinápticas (Brady, 1993).

La captación de materiales exógenos por endocitosis en las regiones distales de los axones resulta en el retorno de factores tróficos y de crecimiento para el cuerpo de la célula (Kristensson, 1987). Estos factores aseguran la supervivencia de la neurona además de modular la expresión génica neuronal. Los cambios en el retorno de sustancias tróficas desempeñan papeles críticos durante el desarrollo y la regeneración de neuritas (Varon et al., 1995). El transporte retrógrado de sustancias exógenas, también proporciona una vía que agentes virales usan para entrar en el CNS. Una vez que el material retrógradamente transportado alcanza el cuerpo celular, la carga puede ser entregada al sistema para la degradación lisosomal, a los compartimentos nucleares en la regulación de la expresión génica o en el re-empaquetado en el complejo de Golgi (Rosales et al., 2015).

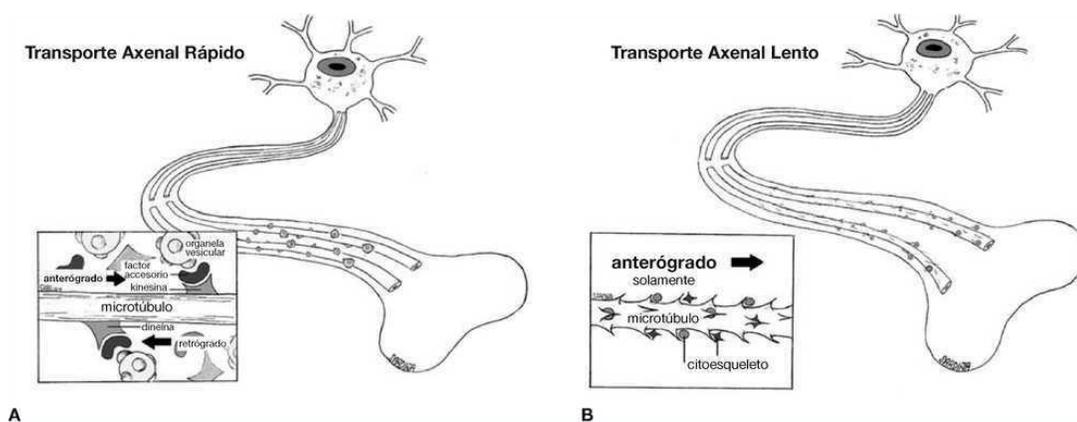


Fig. 10. Ilustración del transporte axonal. A. Transporte axonal rápido. B. Transporte axonal lento (Rosales et al., 2015).

Métodos de trazado de vías neuronales

Las técnicas más utilizadas para trazar las vías neuronales del sistema nervioso se concentran en 4 principales grupos (Lennart et al., 1981). La primera categoría, incluye las técnicas de Golgi y la inyección de colorantes in vivo, para estudios de

neuronas sanas. Estos métodos son utilizados cuando es evaluada la relación con neuronas vecinas y cuando la geometría axonal es de especial interés. La segunda categoría, incluye métodos que se enfocan en la degeneración y cambios en respuesta en varias partes de la neurona a consecuencia de una lesión, incluso las partes más lejanas de las neuronas involucradas en dicha lesión responderán a ella. Estos métodos por lo tanto usualmente permiten trazar conexiones más lejanas y más efectivamente que los métodos del primer grupo. Con el uso de varios filtros del microscopio de luz o sometiendo el tejido a microscopia electrónica, se pueden visualizar varios aspectos del proceso degenerativo y de respuesta. Ejemplos clásicos, de este grupo son la tinción de Nissl para demostrar la cromatolisis en el soma, métodos con plata para la degeneración de axones o terminales neuronales (Lennart et al., 1981). Las terceras categorías, incluyen los métodos de trazado de vías neuronales que se basan en la incorporación de una sustancia dentro de la neurona (Lennart et al., 1981). Por ejemplo: true blue, evans blue, diamidino yellow, peroxidasa de rábano (Bentivoglio et al., 1979; Bentivoglio et al., 1980; Evans y Jindal, 1996).

True Blue (TB)

El TB es un trazador retrogrado fluorescente usado para identificar vías neuronales, es un colorante excitable con luz ultravioleta (UV), catiónico divalente que tiñe el citoplasma de azul fluorescente, de fórmula molecular $C_{20}H_{16}N_4O_2 \cdot 2C_4H_7NO_3$ (Figura 11), estable aun cuando se somete a procedimientos de histoquímica con el fin de conocer aspectos neuroquímicos de las neuronas, es menos neurotóxico que el fluoro gold, dado que este no afecta la sobrevivencia de la neurona y como marcador retrogrado es más eficiente que el amarillo diamidino (Garret, 1991).

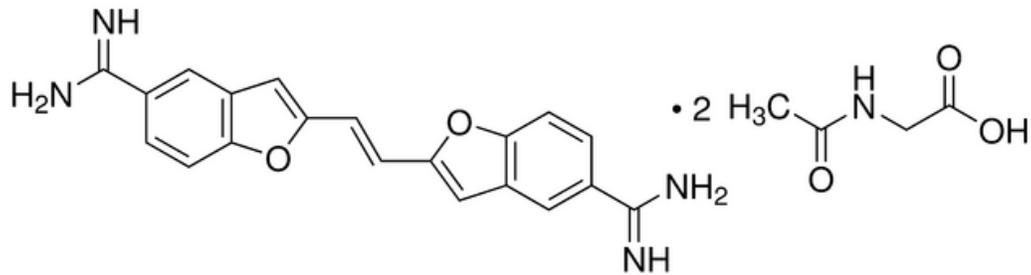


Fig. 11. Estructura química en 2D del trazador True Blue.

El mecanismo del TB es exclusivamente en dirección retrógrada y su velocidad de transporte aproximada es de 20 mm/día lo cual puede ser usado para estimar el tiempo de supervivencia que se requiere para un marcaje retrogrado. Por ejemplo, si se pretende marcar a una distancia de 3-4 centímetros (cm), es necesario esperar por los menos dos días y medio (Garret, 1991).

Para distancias mayores como la médula espinal se requiere al menos de una semana; obteniendo mayores resultados si se mantiene por un periodo más largo. Para que el TB sea liberado se requieren 10-15 h, este tiempo se debe adicionar al tiempo requerido para el transporte total (Garret, 1991).

La cantidad de marcador detectado en los cuerpos neuronales está directamente relacionada con la actividad funcional de la neurona y con el área terminal nerviosa que está en contacto directo con el sitio donde fue inyectado el marcador. El TB tiene la desventaja de que dicho colorante se difunde con facilidad a través del espacio intraperitoneal, así como a las proyecciones de los tejidos distantes desde el sitio de la aplicación del trazador, lo que puede ocasionar una marca falsa (Fox y Powley, 1985).

ANTECEDENTES

Asimetría en las gónadas femeninas y en los circuitos neuronales

Existen evidencias de lateralización en la funcionalidad de las gónadas en distintas especies. Por ejemplo, en las aves su tracto reproductor está caracterizado por un desarrollo lateralizado. Como ejemplo, en el gallo solo el ovario izquierdo es funcional, ya que el lado derecho de la gónada se reduce a una hebra estrecha de células que yace contra la vena cava inferior (Boneit, 1923). Por otra parte, Domm (1924), realizó ovariectomías en las gónadas izquierda de Guinea y observó que se reactiva la gónada derecha, la cual crece considerablemente. Por su parte Reyss-Brion y Scheib (1980) demostraron que al realizar ovariectomías se desarrolla un tejido glandular tipo *testis*, que en algunos casos llega a contener espermatozoides.

A su vez, en el murciélago, la ovulación ocurre predominantemente en el ovario derecho, mientras que el izquierdo es capaz de funcionar, solo cuando el ovario derecho es removido (Bleier y Ehteshami, 1981). Por su parte, en ratas ovariectomizadas unilaterales, el ovario derecho parece más capaz de reaccionar a los sistemas reguladores compensatorios que el izquierdo. El carácter de la información transportada por la inervación periférica es asimétrica (Cháves et al., 1987). Debido a eso, hay estudios que ha reportado que el ovario derecho de la rata tiene inervación periférica más abundantes que en el ovario izquierdo (Klein et al., 1989).

Respecto a los circuitos neuronales que intervienen en la regulación del funcionamiento de las gónadas incluyen ganglios y nervios periféricos que se originan de los segmentos toracolumbares de la médula espinal. Existen dos vías de inervación (NOS y NPO) para la parte craneal del útero donde se ubican los ovarios (Baljet y Drukker, 1979; Houdeau y Rosseau, 1998). El GC de la rata recibe inervación del nervio esplácnico y nervio vago (Baljet y Drukker, 1979; Berthoud y Powley, 1996). Del GC emergen el NOS y el NPO que inervan a los ovarios. Estudios anatómicos han mostrado que el NPO se conecta con el GC, sin embargo,

observaciones recientes en nuestro laboratorio permiten afirmar que dicho nervio está ligado directamente al GMS (Pastelin et al., 2017). En las últimas décadas se han utilizado diversos modelos experimentales para estudiar el papel de la inervación en las funciones del ovario; tales como la sección quirúrgica del nervio vago (Chávez et al., 1987) y el nervio ovárico superior (Morán, 2008).

Inyección de las gónadas con trazadores neuronales para determinar sus vías nerviosas

La inyección del ovario derecho o izquierdo con Peroxidasa de Rábano (Por sus siglas en inglés HRP) en ratas adultas de la cepa Sprague Dawley, se localizaron neuronas sensoriales marcadas ipsilateral en los segmentos toracolumbares (T10-L2) de los ganglios de la raíz dorsal (GRD; Figura 12). El soma de los GRD varían en tamaño con un rango de 9 a 65 micrómetros (μm) de diámetro. Y se observaron somas más intensamente con HRP aquellas de mayor diámetro (25 a 50 μm). El soma de los ganglios nodosos tiene un rango de 13 a 38 μm de diámetro (Figura 11). El 96 % somas en los ganglios nodosos son 16 a 36 μm de diámetro (Burden et al., 1983).

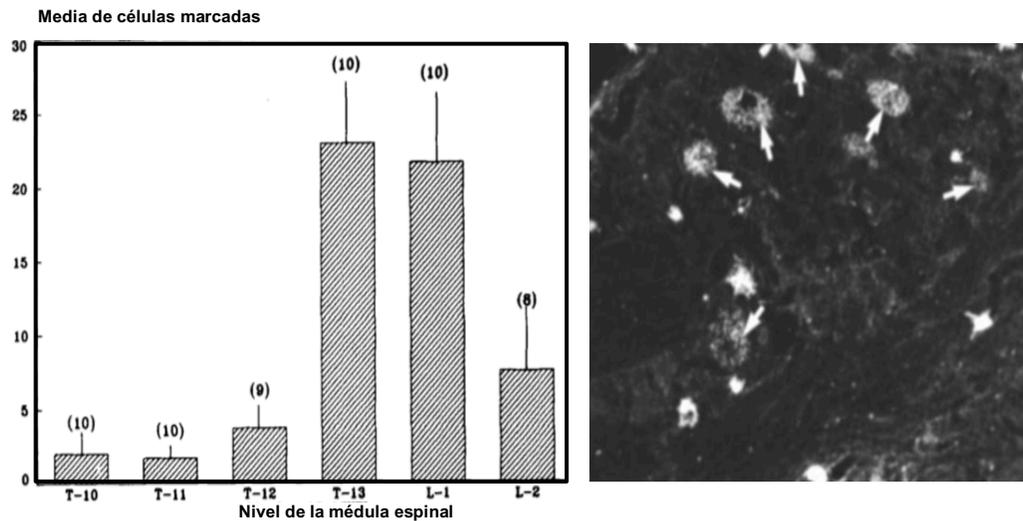


Fig. 12. En la gráfica se muestran la frecuencia de distribución de somas marcados en los ganglios de la raíz dorsal T10-L2. Media \pm SE. El número entre paréntesis es el número de ganglios. En la microfotografía del lado derecho se observa somas marcados del ganglio nodoso.

Klein y Burde (1988) examinaron la anatomía de la inervación sensorial y simpática posganglionar del ovario en ratas nuliparas Sprague Dawley, utilizando un trazador neuroanatómico como el TB. El TB lo aplicaron directamente en el extremo central del NOS y del NPO. Las células marcadas en el NOS fueron identificadas ipsilateral en los GRD a nivel de los segmentos T7 a L2. El número total de células marcadas a TB en el GRD oscila entre 155 a 584 (359 ± 87). En el NOS izquierdo (NOSI) el número total de células marcadas a TB vario de 217 a 416 (340 ± 43). El soma en el GRD varían en tamaño de 21 a 84 μm de diámetro ($38\pm 0.4 \mu\text{m}$, $n= 477$ células). También, se observaron neuronas marcadas ipsilateralmente en los ganglios paravertebrales (GPV) a nivel de los segmentos T11 a L3. El número total de células marcadas a TB en los GPV, cuando se aplicó TB en el NOS derecho (NOSD) vario de 59 a 226 (136 ± 32). Con respecto NOSI, el número de células marcadas vario de 79 a 335 (153 ± 47). El soma de los GPV variaron en tamaño de 18 a 60 μm de diámetro ($344\pm 0.6 \mu\text{m}$, $n= 141$ somas). El número promedio de células marcadas a TB en el complejo ganglionar celiaco mesentérico superior (GCMS, ganglio prevertebral) fue de 437 ± 154 . De lado izquierdo NOS fue de 269 ± 89 . El tamaño del soma en el GCMS varia de 15 a 45 μm de diámetro (27 ± 0.5 , $n= 192$ somas).

Estudios realizados en ratas de la cepa CII-V a las que se les inyectó un trazador retrógrados TB en la bursa derecha o izquierda y en diferentes etapas del ciclo estral se encontro que las ratas que recibieron una inyección en la bursa izquierda en el P presentan un mayor número de somas marcados a TB en el GCMS con respecto al lado derecho (65 ± 3.1 vs 38 ± 4.9). En el día del E no hubo diferencias significativas (63 ± 6.3 vs 50 ± 5.7 ; Figura 13; Morán et al., 2005).

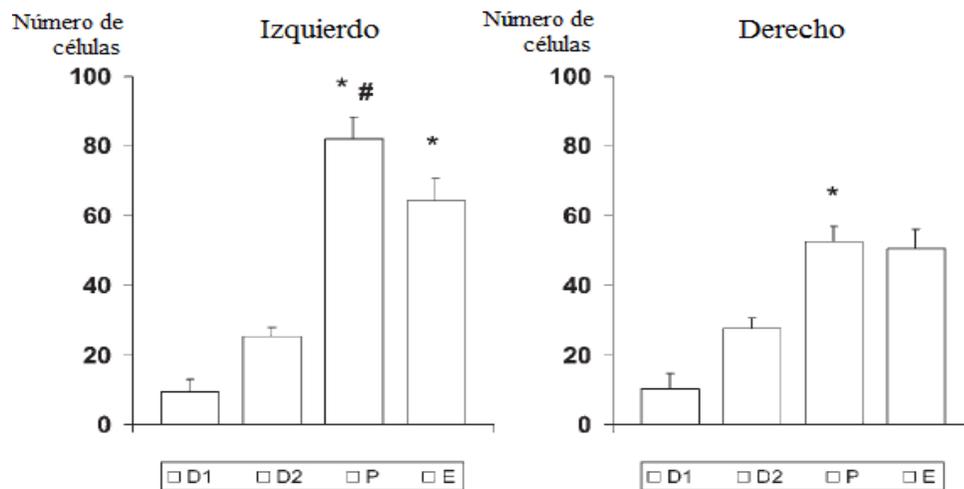


Fig. 13. Promedio±SE número de células marcadas con TB en el complejo ganglio celiaco-mesentérico de ratas en diferentes etapas del ciclo estral. *p < 0.05 vs días de diestro # p< 0.05 contra el lado derecho en el mismo día.

También se, evaluó la relación de los ovarios con los ganglios paravertebrales y prevertebrales en las diferentes etapas del ciclo estral. En los ganglios prevertebrales de las ratas que fueron inyectadas en la bursa ovárica derecha durante la etapa del E, se observó mayor número de neuronas positivas a TB en el GC izquierdo (43 ± 10) y los GRD (T12 36 ± 8 ; L1 31 ± 6 y L2 37 ± 4). Por su parte, en las ratas inyectadas en la bursa ovárica izquierda el mayor número de neuronas positivas a TB se presentó durante la etapa del P, en el GC derecho (58 ± 2). El mayor número de neuronas marcadas en los GRD varió con las etapas del ciclo estral (T2 47 ± 7 D; T13 45 ± 4 P; L2 59 ± 5 P; Cruz, 2015). En un trabajo más reciente, cuando es inyectado el TB en el ovario derecho se observan neuronas posganglionares marcadas en el GMS (30 ± 8 neuronas, Figura 14 A), pero no se observan neuronas contralaterales. Con respecto a la morfología microscópica del GMS presenta una forma de huso, con un área de $3824 \mu\text{m}^2$ y aproximadamente 177 ± 26 neuronas posganglionares (Figura 14 B). En este ganglio se observan predominantemente neuronas de forma oval con un diámetro de $84 \pm 4 \mu\text{m}^2$ (Pastelin et al., 2017).

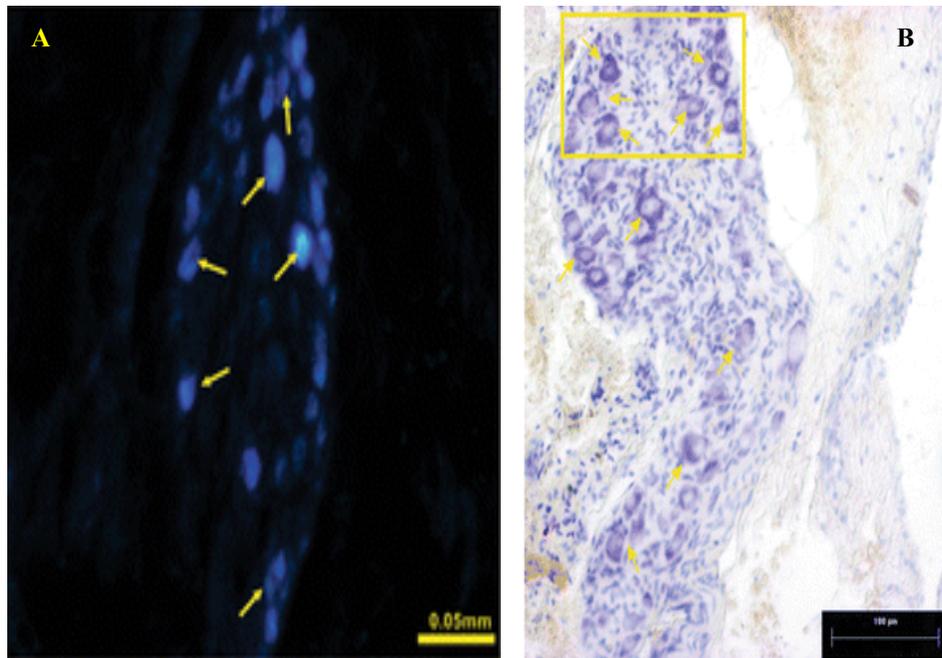


Fig. 14. A. Fotomicroscopía de neuronas posganglionares marcadas con TB en el ovario. B. Sección longitudinal del GMS de la rata teñido con Nissl. Note en el recuadro la población de somas neuronales con núcleo y citoplasma bien definido.

JUSTIFICACIÓN

La presencia de asimetría morfológica (diferencias en el tamaño y forma de los órganos o partes de nuestro cuerpo situadas a la izquierda o a la derecha del cuerpo) y funcional (relacionado con las funciones de los órganos “dominantes, frecuentemente el izquierdo”) en el sistema nervioso periférico en la rata y en otras especies de mamíferos ha sido de notables controversias como se ha demostrado en los trabajos reportados previamente. Por citar algunos estudios: Se ha descrito que el NOS inerva al ovario y que su participación es diferencial a través de los diferentes días del ciclo estral, donde el P del ciclo estral presenta mayor actividad. Sin embargo, esta no es la única vía de comunicación; ya que estudios donde realizan denervaciones unilaterales y bilaterales en el NOS siguen observando actividad gonadal. Esto sugiere que el NOP participa en la regulación de algunas funciones ováricas. Por otra parte, se ha observado que al realizar una denervación

unilateralmente en el NOS y al mismo tiempo en el NOP persiste la actividad gonadal. Ante estos fenómenos se realizaron estudios donde se inyectó unilateralmente al ovario con un trazador neuronal retrogrado, observándose neuronas marcadas ipsilateral y contralateral. Lo que conlleva indicar que un ovario puede recibir información de vías nerviosas opuestas, o de la misma, o de ambas. También se, ha observado que el número y tipo de fibras nerviosas pueden varían entre los ovarios y entre sus centros reguladores (ganglios autónomos). Asimismo, los ganglios autónomos existen diferencias en el número de células y en su morfología.

Estudios morfométricos reportan que los ganglios prevertebrales son una masa o conglomerado; otros los describen como unidades independientes y otros indican que no todos los ganglios son pareados. Tomando como base los estudios anatómicos de Burden., et al (1983) donde demuestran la asimetría en el origen, morfología y morfometría de los ganglios de la raíz dorsal y en la cadena simpática prevertebral, así como la variación en el número somas de cada ganglio. Ante estas diferencias y las descritas anteriormente en el sistema nervioso periférico en cuanto a su origen, conexión, forma, tamaño, y número de neuronas por ganglios; en este trabajo nos propusimos estudiar la morfología y la morfometría microscópica de los ganglios prevertebrales relacionados con los ovarios en el P del ciclo estral. En la rata como modelo de estudio.

HIPÓTESIS

La conexión neural entre ovario derecho y los ganglios prevertebrales es lateral y contralateral; así como, la intensidad y el número de neuronas activas se percibe con mayor predominancia en el ganglio celiaco derecho en el proestro del ciclo estral de la rata.

OBJETIVO

Describir con precisión la organización morfológica y morfométrica microscópica de los ganglios prevertebrales relacionados con los ovarios, determinando si la comunicación neural con el ovario derecho es lateral y/o contralateral durante el proestro del ciclo estral de la rata.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Cuantificar el número de neuronas teñidas con hematoxilina-eosina en los ganglios prevertebrales para analizar la asimetría entre los ovarios.
- Determinar el área y longitud de los ganglios prevertebrales además del somas para analizar la asimetría entre los ovarios.
- Cuantificar las neuronas posganglionares positivas a TB en los ganglios prevertebrales (ganglio mesentérico superior, ganglio celiaco derecho e izquierdo, ganglio suprarenal derecho e izquierdo) marcadas retrógradamente desde el ovario derecho durante las etapas del proestro del ciclo estral.
- Comparar el número de neuronas positivas a TB en los ganglios prevertebrales para analizar la asimetría entre las ratas inyectadas en el ovario derecho durante el proestro del ciclo estral.
- Comparar el número de neuronas positivas a TB con el número de neuronas teñidas hematoxilina-eosina en los ganglios prevertebrales para determinar el porcentaje de neuronas positivas que participan en la regulación del ovario durante la etapa de proestro.

METODOLOGÍA

Se utilizaron 4 ratas hembras adultas de la cepa CII-ZV de tres a cuatro meses de edad (250 a 300g). Los animales fueron mantenidos en condiciones estándar de bioterio a una temperatura de 24 ± 2 °C, con ciclos controlados de luz-oscuridad 12:12 horas. Los animales fueron colocados en cajas de acrílico colectivas 47 x 33 x 20 cm, con camas de aserrín; durante ese periodo se les proporcionó agua y alimento (Nutricubos Purina) *ad libitum*. El protocolo experimental fue aprobado por el comité de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla para el manejo de los animales de laboratorio, según las reglas del Consejo Mexicano sobre el cuidado y uso de los animales experimentales (NOM-062-ZOO 1999) y los parámetros del CICUAL- BUAP vigentes.

Procedimiento de marcaje neuronal

Cuatro ratas hembras fueron inyectadas con un trazador neuronal en la bursa ovárica derecha. Con ayuda de un microscopio estereoscópico, se localizaron los ganglios prevertebrales. Se analizó el ciclo estral mediante la toma de frotis vaginal a diario, entre las 10:00 y 11:00 h, para determinar la fase del ciclo estral en el que se encuentren.

Todas las cirugías se realizaron entre 10:00 y 12:00 h. Las ratas fueron anestesiadas con ketamina (90 mg/kg) y xilacina (15 mg/kg) vía intraperitoneal (IP) y colocadas en posición decúbito lateral. Se rasuró una superficie amplia de la región lateral para hacer un pequeño corte de piel y músculo facilitando sacar el ovario e inyectar en la bursa ovárica derecha, se administró de 3-5 micrólitros (μ l) de TB, la aguja permaneció en su lugar por 1-2 minutos después de la administración del marcador, fue retirado lentamente y fue aplicado un sellador biológico para evitar que el trazador salga por el orificio que causó la inyección, posteriormente el ovario fue reintroducido a la cavidad con sumo cuidado, el músculo y piel fueron suturados. Después, de 48-72 h, las ratas inyectadas con TB fueron sometidas a un proceso de perfusión transcárdial. Los ganglios prevertebrales fueron almacenado por 24-48 h

en solución sacarosa a 4 °C. Los ganglios prevertebrales fueron embebidos en un medio de Tissue-Tek para congelar los ganglios (Sakura Finetek USA) y usando un criostato a -25 °C. Las secciones cortadas a 20 μ fueron montadas en portaobjetos con Poly-L-Lysina y secados a temperatura ambiente de 6-24 h. Los cortes fueron observados con un microscopio de fluorescencia Olympus BX41, equipado con un iluminador vertical y un filtro de excitación de 340-380 nm para visualizar las neuronas positivas al trazador TB.

Descripción de los procesos:

Perfusión intracardíaca

Las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (65 mg/kg, IP) e inmediatamente fueron perfundidas intracardial con 400 ml de solución salina heparinizada (0.09%), seguida, por 400 ml de fijador a temperatura ambiente (paraformaldehído 1% y glutaraldehído 1.25% en 0.1 M amortiguador fosfato, pH 7.4) y concluyendo con 400 ml de sacarosa al 10% para su crioprotección en 0.1 M amortiguador fosfato, pH 7.4, mantenido a 4°C. Fue disecado el tejido ganglionar. Los ganglios fueron almacenados por 24-48 h en solución sacarosa a 4°C.

Análisis estadístico

El número de neuronas marcadas, fueron analizadas con estadística descriptiva. Todos los resultados serán expresados como la media ± error estándar de la media (SE).

Procedimiento histológico

Colecta del tejido

Para este procedimiento se utilizaron el mismo tejido nerviosos del anterior procedimiento. Debido a que ya habían sido expuesto al microscopio de epifluorescencia. Las secciones ganglionares fueron hidratadas en concentraciones graduales de alcohol (50%, 60, 70%, 80%, 96% y alcohol absoluto), teñidas con hematoxilia-eosina, deshidratadas con alcohol (96%, 96%, 100%, 100%, etanol: xilol) y dos cambios de xilol. Posteriormente, se procede al montaje donde se le coloca

una resina sintética (Entellan), seguido de poner un cubre objeto. Finalmente, los cortes fueron observados con un microscopio trilocular de campo claro (Leica DM750), equipado con un cámara subra (Jenoptik) y un software (Gryphax) para visualizar y analizar los componentes morfológicos de los ganglios prevertebrales y sus componentes que lo conforman. Con las fotografías obtenidas se analizaron la forma y contorno de los ganglios preganglionares. Para el pericarion se determinó la población celular (número absoluto) por ganglio, su forma; cabe resaltar para el conteo se seleccionaron aquellos que presentaron un núcleo y nucléolo bien definido.

RESULTADOS

Caracterización morfométrica de los ganglios prevertebrales

En los ganglios prevertebrales (GP) se observan somas posganglionares, células satélites, células pequeñas intensamente fluorescentes (SIF) y axones (Figura 15). En cuanto a los somas posganglionares presentan diferentes tamaños: somas chicos con un rango de área $534 \mu\text{m}^2$ a $762 \mu\text{m}^2$, siendo estos los de mayor predominio con el 44%; seguido de, somas medianos con el 34% y con un rango de área $805 \mu\text{m}^2$ a $999 \mu\text{m}^2$; y en menor porcentaje, somas grandes con el 22% y con un rango de área de $1030 \mu\text{m}^2$ a $2089 \mu\text{m}^2$. De acuerdo, a la forma se observaron somas ovalados, somas circulares y somas piriformes cuyos diámetros presenta un intervalo de $26 \mu\text{m}$ a $51 \mu\text{m}$.

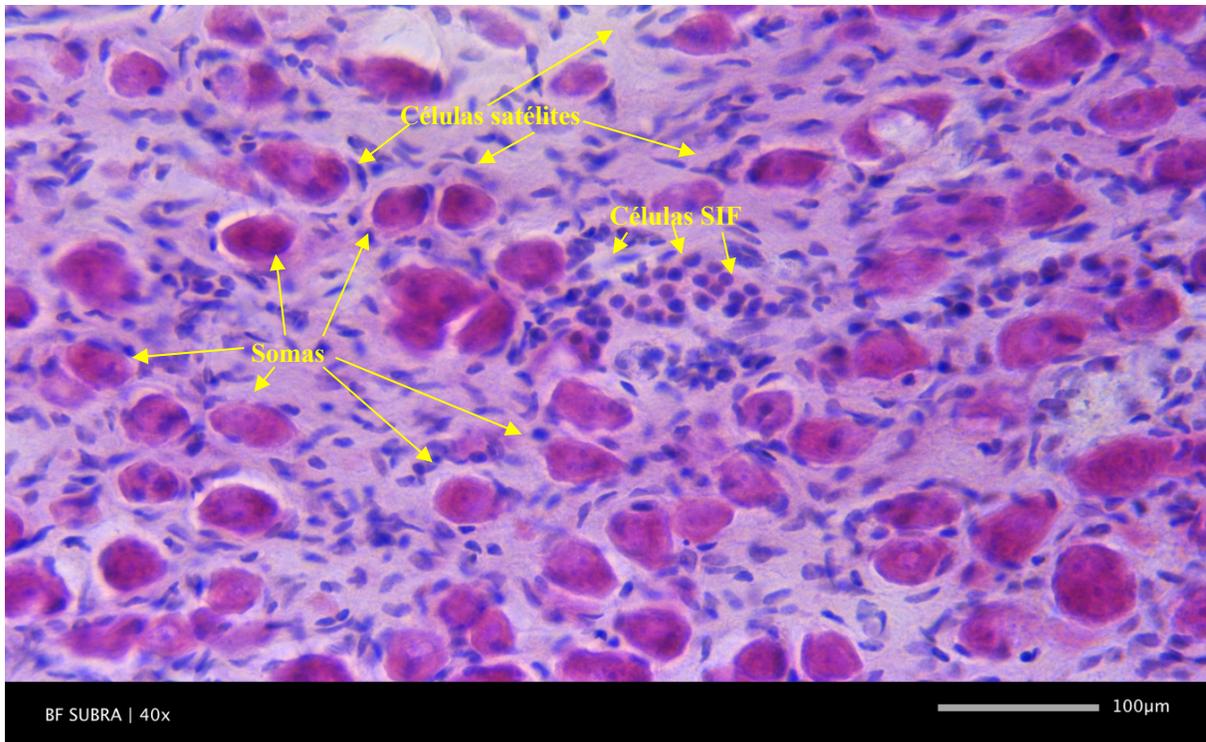


Fig. 15. Microfotografía que muestra los componente nervioso de los ganglios preganglionares vinculados con las gónadas femeninas de la rata. SIF, por sus siglas en inglés: Células pequeñas intensamente fluorescentes.

Ganglio mesentérico superior (GMS)

El GMS tiene forma cilíndrica con un área 0.11098 mm^2 y una longitud $929.28 \mu\text{m}$ (Figura 16). De acuerdo a su área se observó un promedio 119.2 ± 38 somas posganglionares. Respecto al tamaño de somas, se observó con mayor hegemonía somas chicos con el 36%, seguido de somas medianos con el 43%, y con solo el 21% somas grandes.

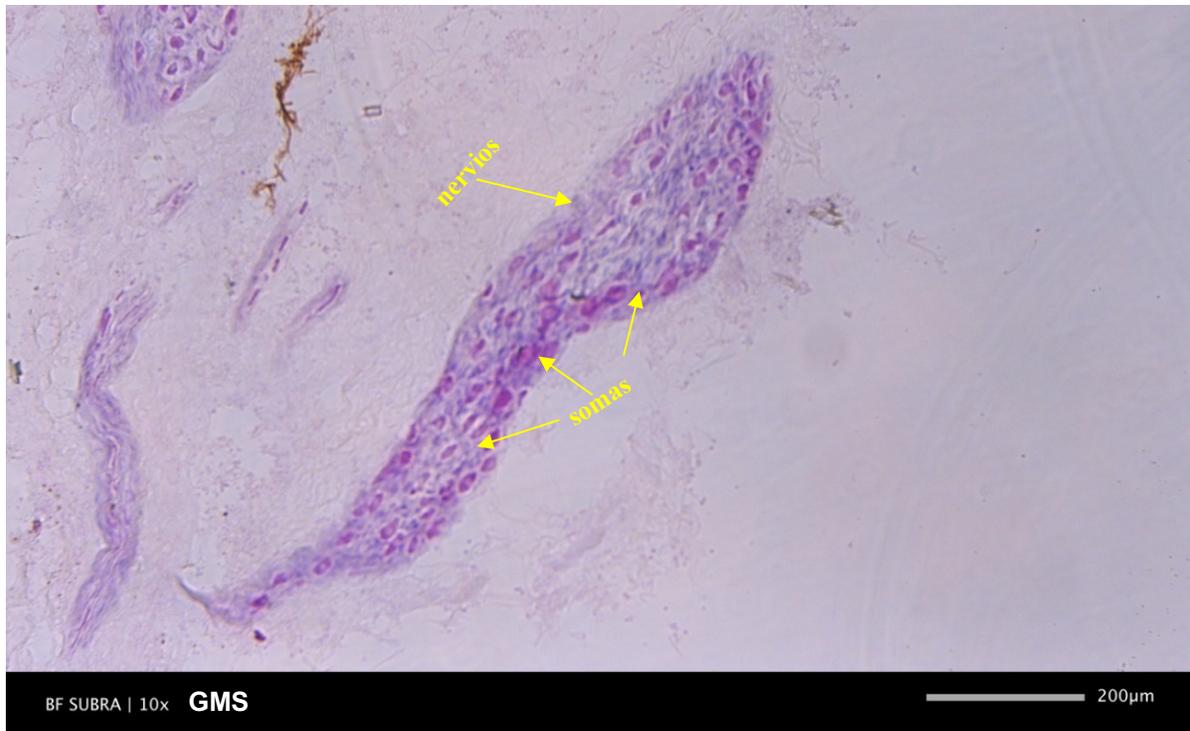


Fig. 16. Microfotografía del GMS en la rata hembra. Donde se observa la población de células neuronales y nervios que lo conforman (flechas amarillas).

Ganglio celiaco derecho (GCD)

El GCD se observan dos tipo de formas. La forma cónica o piriforme con el 67% en los animales analizados. Y la forma fusiforme con solo 33% en los biomodelos. La forma cónica o piriforme cuenta con un área 0.66182 mm^2 y una longitud $2.188 \text{ }\mu\text{m}$. La forma fusiforme tiene un área 0.43047 mm^2 y una longitud $1.555 \text{ }\mu\text{m}$ (Figura 17 y 18). Se observa un promedio 662.2 ± 165 somas posganglionares en sus áreas. Con respecto, al tamaño de somas observamos mayor hegemonía en somas chicos con el 36%, seguido de somas medianos con el 43% y con solo el 21% somas grandes.



Fig. 17. Microfotografía del GCD con forma cónica o piriforme en la rata hembra. Donde se observa la población de células neuronales y nervios que lo conforman (flechas amarillas).



Fig. 18. Microfotografía de la forma fusiforme del GCD en la rata hembra. Donde se observa la población de células neuronales y nervios que lo constituyen (flechas amarillas).

Ganglio celiaco izquierdo (GCI)

El GCI con forma falciforme es el ganglio preganglionar con mayor área (2.8718 mm^2) y longitud ($6.55 \text{ }\mu\text{m}$) (Figura 19). Así mismo, es el ganglio con la mayor población de somas posganglionares (1485 ± 125) como se muestra en la tabla 1. Con respecto, al tamaño de somas observamos mayor preponderancia en somas chicos con el 36%, seguido de somas medianos con el 43%, y con solo 21% somas grandes.

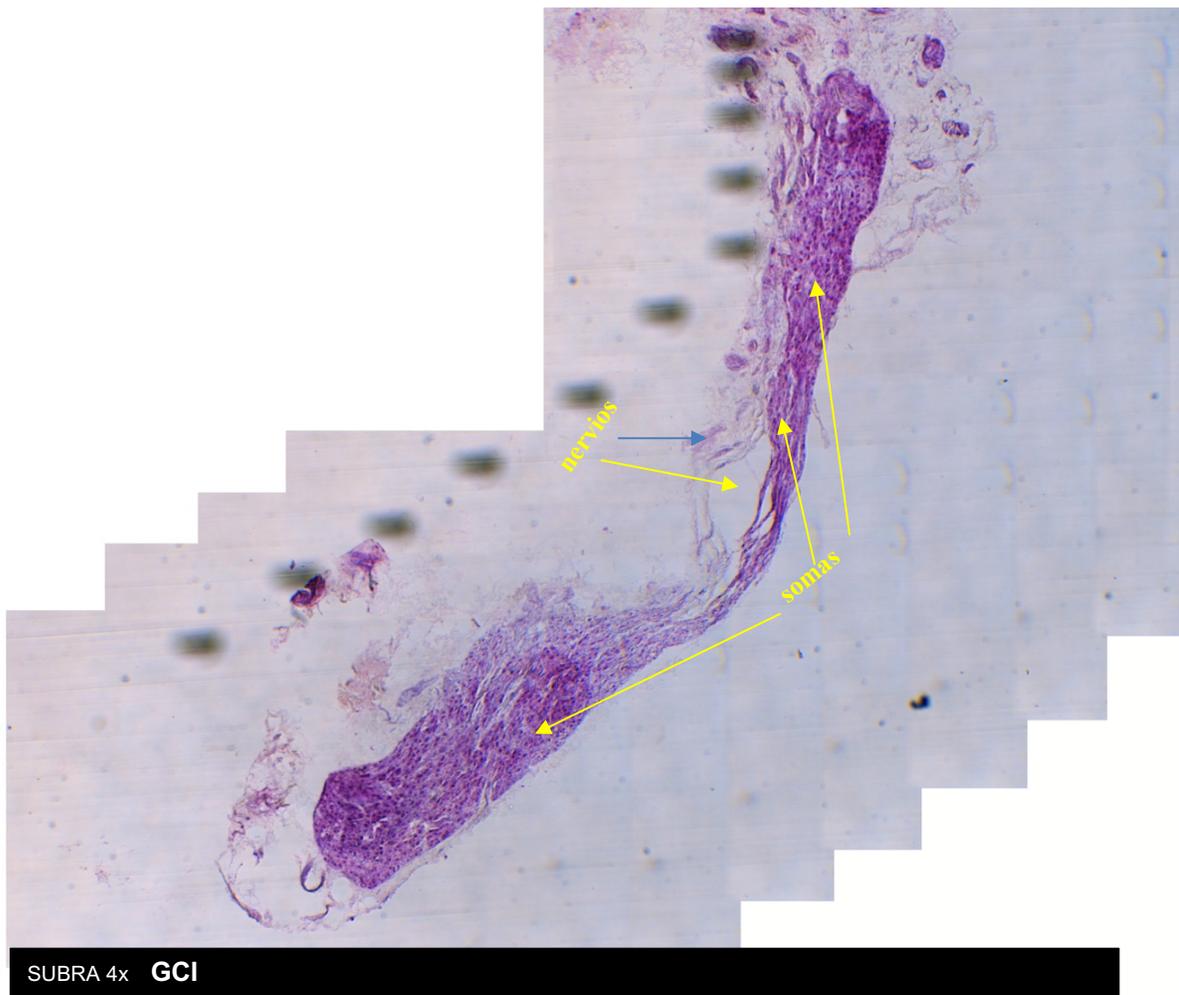


Fig. 19. Microfotografía panorámica del GCI con forma falciforme en la rata hembra. Donde se observa la población de células neuronales y nervios que lo integran (flechas amarillas).

Ganglio suprarrenal (GS)

Los ganglios suprarrenales derecho (GSD) e izquierdo (GSI) tienen formas semilunares. El GSD cuenta con un área de 0.57807 mm^2 y una longitud $2.197 \text{ }\mu\text{m}$ (Figura 20). Por otra parte, el GCI tiene un área de 0.71505 mm^2 y una longitud $1.456 \text{ }\mu\text{m}$. Respecto, al promedio de somas posganglionares se observó que el GSD es de 816 ± 228 y 832 ± 219 para el GSI (tabla 1). De acuerdo, a sus somas posganglionares se observan variaciones en el tamaño y en el porcentaje. En el GSD se observó mayor predominio de somas chicos con el 64%, seguido de somas medianos con el 21% y con el 15% somas grandes. En el GSI se observó mayor hegemonía en somas chicos con el 50%, seguido de somas medianos con el 21%, y con el 29% somas grandes.

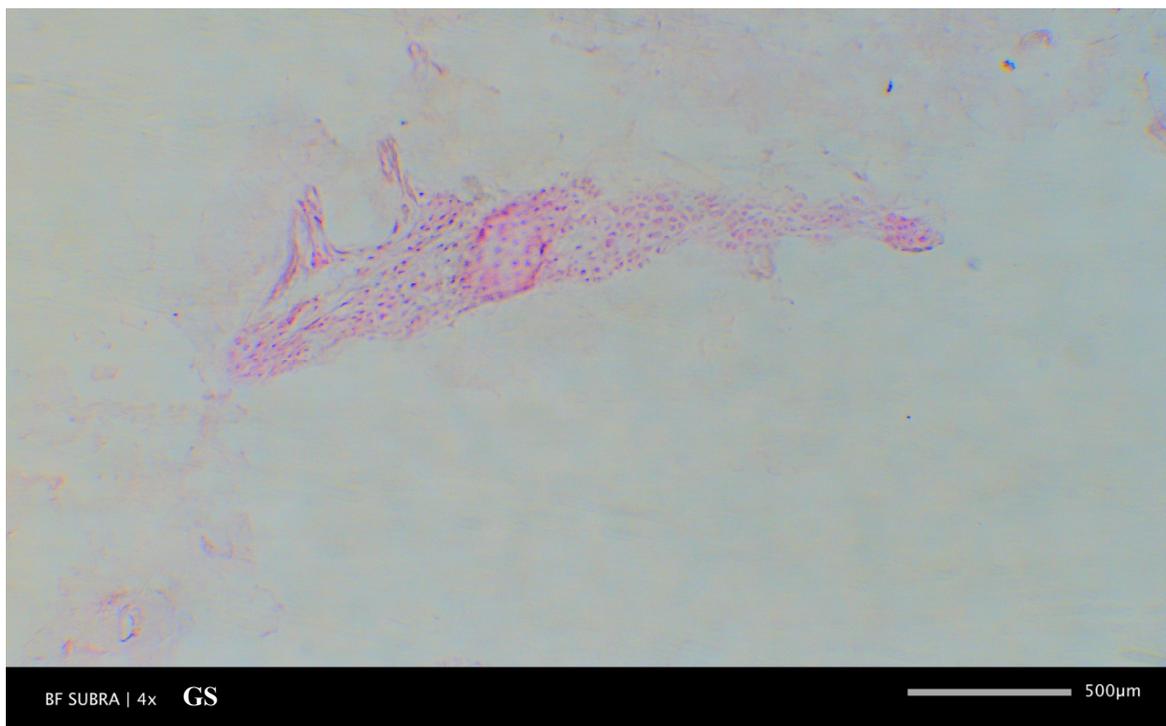


Fig. 20. Microfotografía del GS con forma semilunar en la rata hembra. Donde se observa la población de células neuronales y nervios que lo conforman (flechas amarillas). La forma del GSD y GSI son similares con algunas pequeñas variaciones en su área y longitud.

A continuación, se ilustra en la figura 21 la población de somas posganglionares por área en los ganglios prevertebrales vinculados con los ovarios en la rata.

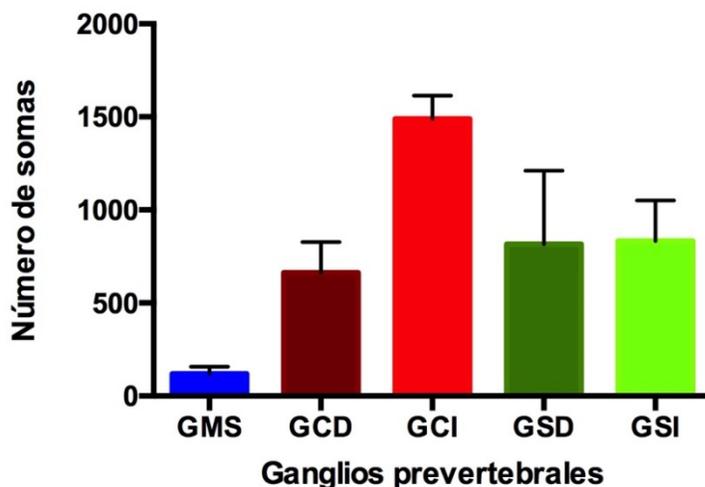


Fig. 21. Promedio±SE del número de somas posganglionares en los ganglios prevertebrales relacionados con los ovarios en el proestro del ciclo estral. Teñidos con Hematoxila-Eosina.

Inyección del trazador True Blue (TB) en la bursa ovárica derecha.

La inyección del trazador neuronal en la bursa ovárica derecha se observaron neuronas posganglionares positivas a TB en los ganglios GP derechos relacionados con los ovarios. Cabe resaltar, que en el lado contralateral a la inyección también se observaron neuronas posganglionares positivas a TB (Figura 22 y Tabla 1).

En el GMS presenta un promedio de 10 ± 1.2 neuronas posganglionares positivas a TB en el proestro del ciclo estral, este ganglio es impar, por ello, no se tiene un conteo contralateral. Con respecto, a los ganglios celiacos se observó que el GCD obtuvo el mayor número de neuronas marcadas con un promedio de 50 ± 2.8 de neuronas posganglionares positivas a TB en el P. En el GCI presenta un promedio de 25 ± 2.8 neuronas posganglionares positivas a TB en el P. En el GSD presenta un promedio de 15 ± 2.8 de somas posganglionares positivas a TB en el P y en el GSI presenta un promedio de 15 ± 1.7 de somas posganglionares positivas a TB en el P (Figura 22 y Tabla 1).

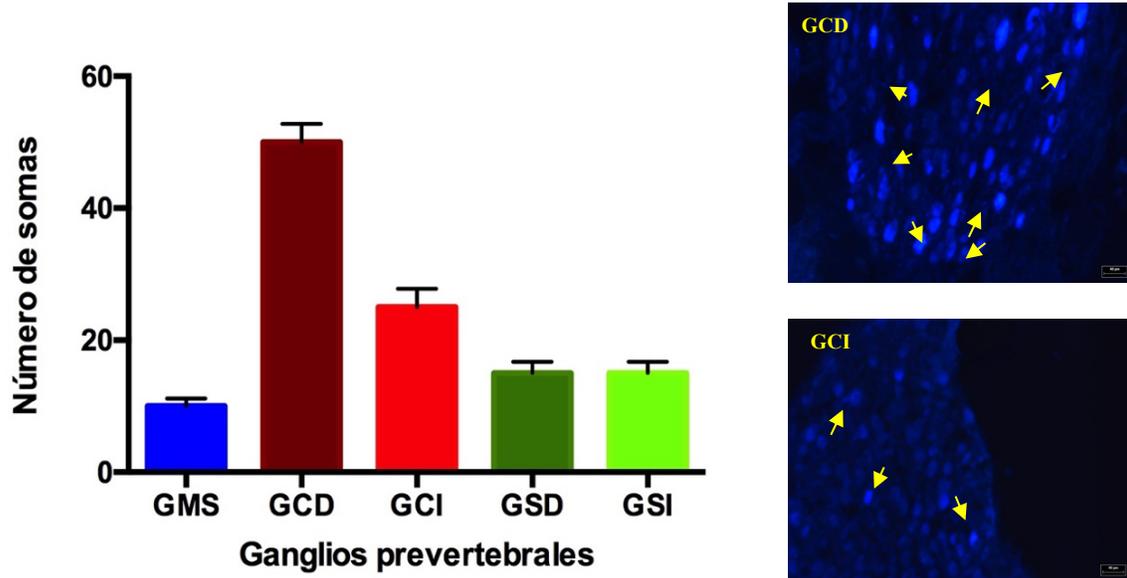


Fig. 22. A. Distribución de neuronas posganglionares marcadas con TB en los ganglios prevertebrales seguido de la inyección en la bursa ovárica. Se puede notar que las neuronas de los ganglios prevertebrales inervan al ovario. Por otra parte, las neuronas del ganglio celiaco derecho son las que principalmente inerva a la gónada en la rata hembra. Cada barra refiere a la media±error estándar en cuatro ratas. B. Se observa neuronas positivas a TB (flechas amarillas) en el ganglio celiaco derecho e izquierdo.

Tabla 1. Número de somas teñidos con H-E y número de neuronas posganglionares positivas a TB en los ganglios prevertebrales relacionados con los ovarios en el proestro del ciclo estral, en las ratas inyectadas en la bursa ovárica derecha.

POBLACIÓN DE NEURONAS POSGANGLIONARES				
Ganglios prevertebrales	Somas teñidos con H-E		Somas positivos a TB	
	Lado Derecho	Lado izquierdo	Lado Derecho	Lado izquierdo
	Proestro del ciclo estral		Proestro del ciclo estral	
GMS	119.2±38		10±1.2	
GC	662±165	1485±126	50±2.8	25±2.8
GS	816±228	832±219	15±2.8	15±1.7

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio muestran que los ganglios celiacos, los suprarrenales y el ganglio mesentérico superior están constituidos por neuronas posganglionares rodeadas por células satélite. Esta vaina glial es continua sobre el soma neuronal, además se observan pequeñas células intensamente fluorescente que se distribuyen en pequeños grupos, su fluorescencia se debe a la inducción del formaldehído utilizado como fijador en las muestras nerviosas; también, se pueden observar la incursión de las fibras posganglionares en los ganglios. Esta descripción complementa los estudios de Gabella (2004), donde describe las características morfométricas de las células posganglionares del ganglio pélvico y del ganglio cervical superior; ganglios paravertebra que forman parte de la cadena simpática. Con ello podemos, añadir que los ganglios paravertebrales y prevertebrales tiene la misma conformación morfológica y morfométrica neuronal y glial.

Con respecto al diámetro del pericarion de los GP se han reportado variaciones. Por ejemplo, somas de los ganglios nodosos tienen un diámetro de 13 a 38 μm (Burden et al.,1983). Más tarde, Klein y Burden, (1988) reportan que somas del GCMS tienen un diámetro entre 15 a 45 μm . Estudios recientes, reportan que somas del GC tiene un diámetro de 25 a 50 μm (Gabella, 2004). En nuestro laboratorio se reporto que el GMS tiene somas con un diámetro que oscila entre 13 a 25 μm (Pastelin et al., 2017). Por otra parte, se han reportado que somas de los ganglios paravertebrales oscilan entre 18 a 60 μm de diámetro y somas sensoriales del GRD tienen un diámetro de 9 a 65 μm (Burden et al.,1983) y de 21 a 81 μm (Klein y Burden,1988). Los resultados respportados en este trabajo respecto al diámetro de los ganglios prevertebrales oscilan entre 26 a 51 μm . Apegándose a los estudios morfométricos anteriores, podemos añadir que el diámetro promedio de somas neuronales de los GP es 35 μm aproximadamente. Respecto a la área en los ganglios autonómicos solamente se ha reportado el diámetro de somas y su longitud; contrario a nuestro estudio donde reportamos el rango del área de los GP, siendo el GCI el de mayor área y el que contiene mayor número de células neuronales.

De acuerdo a, los estudios anatómicos macroscópicos se expone que los ganglios prevertebrales forman un complejo ganglionar que está constituido por el GC derecho e izquierdo, el GMS y los ganglios suprarrenales, conocido comúnmente como el complejo ganglionar celiaco-mesentérico-superior (Hamer y Santer, 1981; Klein y Burde, 1988; Berthoud and Powley,1996; Gabella, 2004; Morán et al., 2005). Estudios más recientes, contradicen lo anterior y los describen como unidades independientes con una interconexión nerviosa entre los ganglios prevertebrales (Baljet y Drukker, 1979; Pastelin et al., 2017). Nuestro estudio corrobora que los ganglios prevertebrales son unidades independientes y reafirma la impugnación de Pastelin et al., (2017), donde observó que el GMS no es parte del GCI. Por otra parte, nuestro estudio valida la localización del GMS adosado a la vena cava inferior y que se conecta con el ganglio intermesentérico y posteriormente al ganglio mesentérico inferior (Pastelin et al., 2017). Con respecto, a la forma del GMS se ratifica que tiene forma elongada o cilíndrica (Pastelín et al., 2017). Por otro lado, al GCD le han asignado forma triangular (Baljet y Drukker,1979; Berthoud y Powley,1996), pera (Hamer y Santer,1981), acorde con nuestra descripción en forma cónica o piriforme, la cual, coincide con el área y su longitud. Cabe hacer mención, que los estudios anteriores no describen una segunda variante, el cual nuestro estudio si lo realiza y determina que tiene forma falciforme, de las dos formas descrita para el GCD, la falciforme es la menos común. En cuanto, al GCI se ha descrito y se sigue describiendo que su parte caudal corresponden al GMS (Baljet y Drekker, 1979), lo cual es, absolutamente inexacto como ya se mecionó anteriormente. Otros autores describen que el GCI es la fusión de varios ganglios pequeño (Berthoud y Powley, 1996). Nuestro resultados describen que el GCI es una sola masa ganglionar y tiene forma semilunar (Baljet y Drekker, 1979; Berthoud y Powley, 1996), elongada (Hamer y Santer, 1981) o forma falciforme y es de los ganglios prevertebrales con la mayor longitud y área, así como el de mayor número de somas neuronales. Por último, los ganglios suprarrenales se ha descrito que tiene forma elongada y que tiene conexión directa con los ganglios celiacos. Por su parte Berthoud y Powley (1997), lo describen con forma y tamaño variable y conformado

por varios lóbulos. Nuestro estudio no concuerda con la descripción del anterior estudio, pero sí con los otros estudios, ya que tiene forma semilunar con una área y longitud similar tanto del lado derecho como del lado izquierdo.

Como consecuencia, de las descripciones anatómicas microscópicas y macroscópicas de los ganglios prevertebrales resultan preponderante para establecer bases para posibles bloqueos o ablaciones mediante una intervención quirúrgica, o por medios físicos, o por medio de compuestos químicos, para afrontar algunas patologías o para conocer o restablecer algunas funciones de órganos a nivel de la región pélvica-abdominal en la rata o en otras especies de mamíferos. Por ejemplo, Hammand (2015), realizó gangliectomías del GC en ratas para determinar si hay una vía directa de comunicación del ganglio esplácnico al GC a través del nervio esplácnico, resultando, que aún sin el GC, se detectó presión arterial en la red vascular de la región mesentérica. Ante ello, podemos inferir que un grupo de somas posganglionares diferentes a los del GC siguen enviando información nerviosa para mantener el adecuado funcionamiento del órgano diana. De ahí la importancia de este estudio anatómico para conocer todos los componentes de las vías neuronales que estarían participando en las comunicaciones neuronales autonómicas.

Con respecto a las neuronas marcadas positivas a TB en los ganglios prevertebrales observamos asimetría. Esta asimetría en el sistema nervioso no solamente se observa a nivel central, sino también en el sistema nervioso periférico como lo describe Morán et al., (2005). En el GMS se observaron neuronas posganglionares positivas a TB en el proestro del ciclo estral, este ganglio es impar, por ello, no se tiene un conteo contralateral. Aunque se, han reportado del lado contralateral al GMS y cerca de la línea media de neuronas positivas a TB en ganglios pequeños (Morán et al., 2005), como el nodoso (Burden et al., 1983) o los intermesentéricos (Hamer y Santer, 1981; Baljet y Drekker, 1979) que no son parte integral del GMS.

De acuerdo al lado del órgano diana que recibió la inyección con el trazador neuronal; ese mismo lado se observa marcas positivas del trazador neuronal. En

nuestro estudio se inyectó la bursa derecha con TB, se analizó que el GCD presenta marca, pero también se observa marca en el GSD, en el GMS; asimismo, se observa marca en los ganglios homólogos contralaterales. Lo que nos indica que el ovario derecho no es exclusivamente regulado por el GCD vía el nervio ovárico superior y nervio del plexo ovárico; sino que, también tiene contribución funcional de los ganglios prevertebrales laterales y contralaterales. Este resultado es soportado por Klein y Burden (1988), cuando inyecta el NOS o sumerge el NPO con HRP de lado derecho y observa una población considerable de células marcadas positivamente a HRP en el lado de la aplicación del trazador; pero también, se observa marca del lado contralateral. Esto reafirma nuestras observaciones que del lado donde es inyectada la gónada tiene mayor injerencia que sobre su lado contralateral, pero no deja de ser importante el lado contralateral, ya que algunas de sus células neuronales podrían estar regulando alguna función específica en la gónada. Ante este escenario, es importante remarcar si una gónada llegara a fallar o faltar, la gónada funcional con sus vías neuronales integras estarían tomando el control total de la fisiología ovárica como la: foliculogénesis, esteroidogénesis y la ovulación.

CONCLUSIÓN

La asimetría de los ganglios prevertebrales es muy notable en tamaño, forma, longitud; de igual forma al número, tamaño y formas de los cuerpos neuronales. Estos parámetros morfológicos y morfométricos pueden estar correlacionado con el número de contactos sinápticos que existen entre somas y los axones, así como el contacto de neuronas a través de las dendritas o de los mismos axones. Asimismo, el contacto sináptico puede estar relacionados con el área de la superficie neuronal. Por otra parte, el principal centro regulador de las funciones ováricas es el ganglio celiaco que recibe o envía señales neuroquímicas a través de los nervios ováricos. En definitiva, se podría decir que la interconexión nerviosa entre los ganglios prevertebrales derechos e izquierdo es lateral y contralateral, pero hasta el momento se desconoce el complejo sistema de comunicación neural que regula las funciones para cada ovario.

BIBLIOGRAFÍA

Aguado, L.I. 2002. **Role of the central y peripheral nervous system in the ovarian function.** Microsc. Rest Tech. 59: 462-473.

Baljet, B. and Drukker, J. 1979. **The extrinsic innervation of abdominal organs in the female rat.** Acta Anat. 104: 243-267.

Bentivoglio, M. Bentivoglio, M. Kuypers, H. Catsman, C. Loewe, H. and Dann, O. 1980. **Two new fluorescents retrograde neuronal tracers which are transported over long distances.** Neurosci. Lett .18: 25-30.

Bentivoglio, M. Kuypers, H. Catsman, C. and Dann, O. 1979. **Fluorescent retrograde neuronal labeling in rat by means of substances binding specifically to adenine-thymine rich DNA.** Neurosci. Lett. 12: 235-240.

Black, M.M. and Lasek, R.J. 1980. **Slow components of axonal transport: two cytoskeletal networks.** J. Cell Biol. 86: 616-23.

Bleier, W.J. and Ehteshami, M. 1981. **Ovulation following unilateral ovariectomy in the California leaf-nosed (*Macrotus Californicus*).** J. Reprod Fertil. 63: 181-3.

Brady, S.T. Lasek, R.J. and Allen, R.D. 1985. **Video microscopy of fast axonal transport in isolated axoplasm: A new model for study of molecular mechanisms.** Cell Motil. 5: 81-10.

Brady, S.T. Pfister, K.K. and Leopold, P.L. 1990. **Fast axonal transport in isolated axoplasm.** Cell Motil. Cytoskeleton. 2: 22.

Brady, S.T. 1991. **Molecular motors in the nervous system.** Neuron. 7: 521-533.

Brady, S. 1993. **Axonal dynamics and regeneration.** Neuroregeneration. Raven. Press. 7-36.

Brady, S.T. Tytell, M. Heriot, K. and Lasek, R.J. 1981. **Axonal transport of calmodulin: a physiologic approach to identification of long-term associations between proteins.** J. Cell Biol. 89: 607-14.

Berhoud, R. and Powley, T. 1996. **Interaction between parasympathetic and sympathetic nerves in prevertebral ganglia: Morphological evidence for vagal efferent innervation of ganglion cells in rat.** Microscopy research and technique. 35: 80-86.

Boneit, J. 1923. **Transformation experimentale du sexe par ovariectomie precoce chez la Poule domestique.** C. R. Acad. Sci. 177: 1074-1077.

Burden, H.W. Lawrence, I.E.Jr. Louis, T.M. and Hodson, C.A. 1981. **Effect of abdominal vagotomy on the estrus cycle of the rat and the induction of pseudopregnancy.** Neuroendocrinology. 33: 218-222.

Burden, H.W. Leonard, M. Smith, C.P. and Lawrence, I.E.Jr. 1983. **The sensory innervations of the ovary; a horseradish peroxidase study in the rat.** Anat. Rec. 207: 623-627.

Chávez, R. Cruz, M.E. and Dominguez, R. 1987. **Difference in the ovulations rate of the right and left ovary in unilaterally ovariectomized rats: Effect of ipsi-and contralateral vagus nerve on the remaining.** Physiol Rev. 76: 1-29.

Cruz, P.A. 2015. **Relación anatómica entre los ovarios y los ganglios autonómicos y sensoriales durante el ciclo estral de la rata.** Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Tlaxcala. 1-50 p.

Domm, L.V. 1924. **Sex several following ovariectomy in the fowl.** Proc. Soc Exp. Biol. Med. 22: 28-35.

Evans, D. and Jindal, S.S. 1996. **Methods and compositions for binding endotoxins.** Pct. Int. Appl. 270 p.

Freeman, E.M. 1988. **The ovarian cycle of the rat. Physiology of Reproduction.**

Fox E.A. and Powley TL. 1985. **Longitudinal columnar organization within the dorsal motor nucleus represents separate branches of the abdominal vagus.** Brain Res. 26; 341(2): 269-82.

Gabella, G. 1995. **The rat autonomic nervous system.** London: Academic. Press. 77 p.

Gabella, G. 2004. **Autonomic nervous system, in: The rat Nervous system.** G. Paxinos. Academic Press (3a Edition) San Diego. 81-103 p.

Garret, W. 1991. **Fluoro-Gold's toxicity makes it inferior to True Blue for long-term studies of dorsal root ganglion neurons and motoneurons.** Neuroscience Letters. 128: 137-139.

Hamer, D.W. and Santer, R.M. 1981. **Anatomy and blood supply of celiac-superior mesenteric ganglion complex of the rat.** Anat. Embryol. 162: 353- 362.

Hammerschlag, R. Stone, G.C. and Bolen, F.A. 1982. **Evidence that all newly synthesized proteins destined for fast axonal transport pass through the Golgi apparatus.** J. Cell. Biol. 93: 568-575.

Hoffman, P.N. and Lasek R.L. 1975. **The slow component of axonal transport. Identification of major structural polypeptides of the axon and their generality among mammalian neurons.** J. Cell Biol. 66: 351-366.

Houdeau, E. and Rosseau, A. 1998. **Sympathetic innervation of the upper and lower regions of the uterus and cervix in the rat have different origins and routes.** J. Comp. Neurol. 399: 403-12.

Kilen, S.M. and Schwartz, N.B. 1999. **Estrous cycle. In Encyclopedia of the Reproduction.** Knobil, E y and Neil, J.D. Raven. Press. 2: 127-135 p.

Klein, C. and Burden, H. 1988. **Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary.** *Neuroscience Letters*. 85: 217-222.

Klein, C.M. Ray, R.H. and Burden, H.W. 1989. **Direct electrical stimulation of the superior ovarian nerve in rats causes an increase in neuronal activity in the ipsilateral ovarian plexus nerve.** *Brain. Res.* 6: 194-200.

Krinke, G.J. 2000. **The laboratory rat.** Academic Press. Londres. 756 p.

Kristensson, K. 1987. **Retrograde transport of macromolecules in axons.** *Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.* 18: 97–110.

Lawrence, I.E.Jr. and Burden, H.W. 1980. **The origin of the extrinsic adrenergic innervations of the rat ovary.** *Anat Rec.* 196: 51-59.

Lennart, H. and Robards, I.I and Martine, J. 1981. **Neuroanatomical tract-tracing methods.** Plenum Press. New York.

Merchant-Larios and Centeno, B. 1981. **Morphogenesis of the ovary from the sterile W/W^v mouse.** *Pro Clinic Biol. Res.* 59B: 383-392.

Morán, D. 2008. **Estudios de la participación del nervio ovárico superior en las conexiones entre el ovario y el ganglio celiaco-mesentérico superior en los diferentes días del ciclo estral de la rata.** Tesis de Licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 1-15 p.

Morán, C. Franco, A. Morán, J.L. Handal, A. Morales, L. Domínguez, R. 2005. **Neural activity between ovaries and the prevertebral celiac-superior mesenteric ganglia varies during the estrous cycle of the rat.** *Endocrine.* 26(2): 147-152.

Pastelin, C.F. Rosas, N.H. Morales-Ledesma, L. Linares, R. Domínguez, R. and Morán, C. 2017. **Anatomical organization and neural pathways of the ovarian plexus nerve in rats.** *Journal of ovarian research.* 10(1): 1-8.

Reyss-Brion, M. and Scheib. 1980. **Development of the steroid-producing cells during the transformation the right gonad into a testis in ovariectomized chicks.** Gen. Comp. Endocrinol. 40: 69-77.

Rosales, R.D. Méndez-Hernández, L. Cuadros, M. Gil-Santos, L. and Dorta-Fernández, A. 2015. **Surgical treatment of the complex regional pain syndrome type II and utility of intraoperative neurophysiological monitoring.** Revista Iberoamericana de la cirugía de la mano. 43 (1): 57-69.

Rothman, J.E. Wieland, F.T. 1996. **Protein sorting by transport vesicles.** Science. 272: 227-234.

Roy, S. 2014. **Seeing the unseen: The hidden world of slow axonal transport.** The neuroscientist. 20: 71-81.

Smith, R.S. 1980. **The short-term accumulation of axonally transported organelles in the region of localized lesions of single myelinated axons.** J. Neurocytol. 9:3 9-65.

Tsukita, S. and Ishikawa, H. 1980. **The movement of membranous organelles in axons. Electron microscopic identification of anterogradely and retrogradely transported organelles.** J. Cell Biol. 84: 513-530.

Tytell, M. Black, M. Garner, J. and Lasek, R.1981. **Axonal transport: Each of the major rate components consist of distinct macromolecular complexes.** Science 214: 179-181.

Varon, S.S. Conner, J.M. and Kuang, R.Z. 1995. **Neurotrophic factors: Repair and regeneration in the central nervous system.** Rest. Neurol. Neurosci. 8: 85-94.

Van Wagemen, G. and Simpsons, M.E.1965. **Embryology of the ovary and testis: Homo sapiens and Macaca Mulatta.** Yale University Press.