



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Posgrado en Ciencias Biológicas

Relación anatómica entre los ovarios y los ganglios
autonómicos y sensoriales durante el ciclo estral de la rata

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Cruz Martínez Pablo Armando

Codirectoras de tesis:

Dra. Carolina Morán Raya

Dra. Yolanda Cruz Gómez

Tlaxcala, Tlax.

Diciembre, 2015



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Posgrado en Ciencias Biológicas

Relación anatómica entre los ovarios y los ganglios
autonómicos y sensoriales durante el ciclo estral de la rata

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Cruz Martínez Pablo Armando

Comité tutorial:

Dra. Carolina Morán Raya

Dra. Yolanda Cruz Gómez

Dr. César Feliciano Pastelín Rojas

Dra. Margarita Juárez Romero

Tlaxcala, Tlax.

Diciembre, 2015

ÍNDICE

1	Introducción	1
1.1	Ovario: Estructura y función	2
1.1.1	Ciclo estral	3
1.1.2	Ciclo menstrual	6
1.2	Inervación ovárica	9
1.2.1	Plexos abdominales	9
1.2.1.1	Plexo celiaco	
1.2.1.1.1	Ganglio celíaco	
1.2.1.1.2	Ganglio suprarrenal	
1.2.1.2	Plexo intermesentérico	
1.2.2	Cadena ganglionar simpática	
1.2.3	Ganglios de la raíz dorsal	
1.3	Nervios que inervan al ovario	13
1.3.1	Nervio ovárico superior	
1.3.2	Nervio del plexo ovárico	
1.4	Asimetría en la inervación del ovario	15
1.5	Métodos de trazado de vías neuronales	16
1.5.1	True Blue	
2	Antecedentes	18
3	Justificación	21
4	Hipótesis	22
5	Objetivo general	22
5.1	Objetivos específicos	
6	Metodología	23
7	Resultados	26
8	Discusión	37
9	Conclusiones	40
10	Referencias	41
11	Apéndice	48

Esta tesis fue realizada bajo la codirección de la Dra. Carolina Morán Raya y la Dra. Yolanda Cruz Gómez en el departamento de Histología y Toxicología de la Reproducción, que pertenece al Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Para el desarrollo de este proyecto se contó con el financiamiento de CONACyT (No. CVU 554957), de la VIEP (MORC-NAT 64) y de PRODEP (103.5/13/9492).

La Maestría en Ciencias Biológicas está registrada en el Programa para el Fortalecimiento del Posgrado Nacional.



Universidad Autónoma de Tlaxcala
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado

Maestría en Ciencias Biológicas



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

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Proyecto de tesis que **Pablo Armando Cruz Martínez** realiza para la obtención del grado de Maestro en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **“Relación anatómica entre los ovarios y los ganglios autonómicos y sensoriales durante el ciclo estral de la rata”**.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., SEPTIEMBRE 11 DE 2015

DRA. YOLANDA CRUZ GÓMEZ

DRA. CAROLINA MORÁN RAYA

DRA. MARGARITA JUÁREZ ROMERO

DR. CESAR FELICIANO PASTELÍN ROJAS

DRA. ROSA ANGÉLICA LUCIO LUCIO



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado Bajo la Norma:
ISO 9001:2000-NMX-CC-9001-IMNC-2000



Km. 1.5 Carretera Tlaxcala-Puebla CP 90070 Tel/Fax: 01(246)462-15-57 e-mail: posgradocbtucat@gmail.com
Tlaxcala, Tlax.

Agradecimientos

Al posgrado del CTBC, UAT. Por brindar las instalaciones y las herramientas necesarias para llevar a cabo los estudios del programa y la realización de este proyecto. Por abrir sus puertas a personas con deseos de pertenecer a su cuerpo estudiantil para conocer de cerca el área de la investigación en las ciencias biológicas.

A los apoyos recibidos de la beca CONACyT (No. CVU 554957), de la VIEP (MORC-NAT 64) y de PRODEP (103.5/13/9492). Por asignar el apoyo económico necesario para el cumplimiento de este proyecto.

A los miembros del comité tutorial. Dra. Carolina Morán Raya, Dra. Yolanda Cruz Gómez, Dr. Cesar Feliciano Pastelín Rojas, Dra. Margarita Juárez Romero, Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio. Por su importante colaboración en el diseño, desarrollo y culminación de este proyecto. Gracias por compartir su experiencia y dedicación.

Agradecimientos a título personal

Quiero comenzar por agradecer a las personas que me brindaron la oportunidad de estudiar un posgrado a la Dra. Carolina Morán Raya, Dr. Cesar Pastelín Rojas y Dra. Yolanda Cruz Gómez.

Dra. Carolina, gracias por trabajar conmigo durante este periodo de dos años y medio, por tener confianza en mí, por ser un ejemplo de superación y de amor al trabajo, por enseñarme que se debe ser más constante cuando se quiere lograr una meta y por darle un nuevo significado a la palabra paciencia.

Dr. Cesar, gracias por ayudarme en el trabajo de laboratorio, en las largas jornadas de anatomía y por enseñarme las cosas que fueron base para que este trabajo se culminara.

Dra. Yolanda, gracias doctora por darme un espacio en su laboratorio cuando fue necesario, por ayudarme a trabajar en mis deficiencias, por ser un ejemplo del éxito y reconocimiento que se logra cuando tienes pasión por tu trabajo y por permitirme ser parte de su alumnado.

Dra. Margarita, gracias doctora por ayudarme con el arduo trabajo que le dedico a mi proyecto, siempre con una actitud muy amable, aunque estuviera saturada de trabajo, le agradezco demasiado su ayuda que no correspondió a un integrante de un comité tutorial, sino que fue más allá.

Dra. Rosa Angélica, gracias doctora por compartir sus conocimientos y experiencia conmigo sus aportaciones y comentarios fueron de muchísima ayuda para mí y el proyecto. Gracias por hacer trabajo que no le correspondía, pero que fue vital en la culminación de esta tesis. A todos ustedes muchísimas gracias por ser mis mentores.

A mis padres, el Sr. Armando Cruz Arenas y la Sra. Silvia Martínez García, gracias por ser mi ejemplo más grande, por apoyarme en todo momento, por estar siempre presentes en mi vida, y aquí “le paro” porque iniciaría otra tesis. Los amo profundamente.

A mis hermanas. Patricia Cruz Martínez y Laura Cruz Martínez, por ser siempre un empuje de energía, un apoyo moral, por tanta diversión que hemos pasado juntos. Ustedes me caen bien.

A mi compañera y motivación, mi novia Cibela Estrada Barrón (Cibelita), gracias por apoyarme de todas las maneras posibles, por ser ahora un ejemplo a alcanzar, gracias amor por estar conmigo.

A mi amigo y colega Juan Manuel Bravo Benítez, porque a veces la ayuda viene de donde menos lo esperas, gracias por ayudarme en el proyecto y en todo lo que podías, lo valoro mucho.

A mis amigos Mauricio Segura Cid y Marlon Sánchez León por ser buenos amigos y siempre ser buena compañía y tener un buen consejo para mí.

A mi amiga Marlen Espíndola Lozano por darme aventón a la escuela en su Ferrari, nunca me había subido a uno y no creo volverme a subir.

A mis amigos y colegas Ángel, Beto, Gaby, Rosa, Luis, Sandra por ser tan divertidos y hacer más ameno el programa de maestría. Siempre tendré un recuerdo grato de ustedes.

Dedicatoria

A mi familia que es todo para mí, a mis padres, Armando Cruz, Silvia Martínez, a mis hermanas Patricia Cruz, Laura Cruz y mi cuñado Gabriel Hernández, a mi novia Cibel Estrada, a la pequeña Alyhaa Xitzenamy, y al rayito de luz que ilumina nuestro hogar con su sonrisa Elena Hernández Cruz.

RESUMEN

El sistema nervioso tiene un papel importante en la regulación de las funciones ováricas. La innervación llega al ovario por dos vías: el nervio del plexo ovárico y el nervio ovárico superior, que comunica al ovario con los ganglios prevertebrales tales como los ganglios celíacos (GC), ganglios suprarrenales (GS), ganglio mesentérico superior (GMS) y los ganglios de la raíz dorsal (GRD), desde torácico 12 hasta lumbar 2 (T12-L2). Trabajos previos de nuestro laboratorio mostraron que la relación de las neuronas localizadas en los ganglios prevertebrales con los ovarios derecho e izquierdo presenta variaciones a lo largo del ciclo estral. En el presente estudio evaluamos la relación de los ovarios con los ganglios prevertebrales (GC, GS, GMS), izquierdos y derechos, los ganglios de la raíz dorsal (T12-L2) y los ganglios de la cadena simpática paravertebral (T8-T10) en las diferentes etapas del ciclo estral. Para ello utilizamos el trazador retrógrado true blue (TB), el cual fue inyectado en la bursa ovárica izquierda o derecha de 32 ratas adultas vírgenes de la cepa CII-ZV. Las ratas fueron perfundidas cuatro días después de la administración del trazador y los ganglios prevertebrales (GC, GS, GMS), los ganglios de la cadena simpática T8-T10 y los GRD de T12 a L2 fueron recolectados y preparados para identificar a las neuronas positivas al trazador TB. En los ganglios prevertebrales de las ratas que fueron inyectadas en la bursa ovárica derecha durante la etapa del estro el mayor número de neuronas positivas a TB lo presentaron el GC ipsilateral (43 ± 10) y los GRD (T12 36 ± 8 , L1 31 ± 6 y L2 37 ± 4). En las ratas inyectadas en la bursa ovárica izquierda el mayor número de neuronas positivas al trazador se presentó durante la etapa de proestro, en el GC ipsilateral (50 ± 2). El mayor número de neuronas marcadas en los ganglios de la raíz dorsal varió con las etapas del ciclo estral; T12= 47 ± 7 en diestro, T13= 45 ± 4 en proestro y L1 = 59 ± 5 en proestro. El GMS no presentó marcaje en las ratas inyectadas en la bursa izquierda.

Concluimos que las neuronas postganglionares que controlan las funciones ováricas están localizadas en diversos ganglios, pero la mayoría se encuentran en el GC. La asimetría en el marcaje de las neuronas de los ganglios autonómicos y sensoriales cuando se inyecta el ovario izquierdo o derecho puede atribuirse a que las diferentes vías nerviosas de comunicación entre estas estructuras que se activan diferencialmente en las diferentes

etapas de del ciclo estral, probablemente en respuesta a las diferentes concentraciones de las hormonas ováricas.

1. INTRODUCCIÓN

La reproducción es el proceso biológico por el cual un organismo vivo produce descendencia, asegurando de esta manera la sobrevivencia de la especie.

En los mamíferos la reproducción es sexual, lo que implica la unión de gametos sexuales femeninos y masculinos, los cuales se producen en las gónadas, los espermatozoides en los testículos y el ovocito en los ovarios.

El ovario es un órgano sexual cuyas funciones son la ovogénesis y la esteroidogénesis. Estas funciones son reguladas por las hormonas del eje hipotálamo-hipófisis y por el sistema nervioso autónomo (Burden y cols. 1981, Baljet y Drukker 1979, Aguado 2002, Lawrence y Burden 1980, Morales y cols. 1998). El control hormonal a través del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas comienza con la liberación de la hormona GnRH en el hipotálamo, la cual es liberada al sistema porta hipofisario. En la adenohipófisis se lleva a cabo la síntesis de las hormonas gonadotrópicas LH y FSH, las cuales viajan por los vasos sanguíneos para actuar en el ovario, a donde se lleva a cabo el ciclo ovárico.

El sistema nervioso ejerce su función en el ovario por medio de las vías sensoriales y autonómicas, esta última incluye a los componentes simpáticos y parasimpáticos.

Los ganglios son cúmulos de cuerpos neuronales con células de la neuroglia, células vasculares, mastocitos y fibroblastos (Gabella 1995), pueden ser sensoriales o autonómicos.

En la rata, los ganglios autonómicos simpáticos se encuentran localizados a lo largo de la cadena simpática (paravertebral) y en la cadena prevertebral, la mayoría son bilaterales. Los ganglios parasimpáticos que se encuentran adyacentes a la pared de los órganos blanco se llaman paraviscerales. Los ganglios intramurales se encuentran dentro de la pared de los órganos. Dichos ganglios regulan e inervan a las glándulas, a la musculatura lisa de las vísceras (corazón, intestinos, las vías respiratorias, el tracto urinario, y los órganos genitales) y de los vasos sanguíneos (Gabella 2004).

La inervación autonómica del ovario proviene de las neuronas postganglionares presentes en las estructuras ganglionares del plexo celíaco tales como el ganglio mesentérico superior (GMS) los ganglios celíacos (GC), los ganglios suprarrenales (GS) y los ganglios de la cadena paravertebral. La inervación sensorial emerge de los ganglios de la raíz dorsal. Las fibras de las

neuronas sensoriales y autonómicas llegan a la vasculatura y tejido endocrino del ovario por dos vías: el nervio ovárico superior (NOS) y el nervio del plexo ovárico (NPO).

1.1 Ovario: Estructura y función

El ovario es un órgano que presenta 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 ventro-medial del mesonefro 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 al lugar que migrarán las células germinales primordiales (CGP). Éstas son las precursoras embrionarias 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, los ovarios son órganos bilaterales de forma oval que se encuentran localizados caudalmente a los riñones. Cada ovario está rodeado por la bursa ovárica que es una cubierta de tejido escamoso simple y 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 (Fig. 1).

En la corteza se encuentran grupos celulares distintos al estroma ovárico, las células intersticiales. Estas células están muy 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.

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.

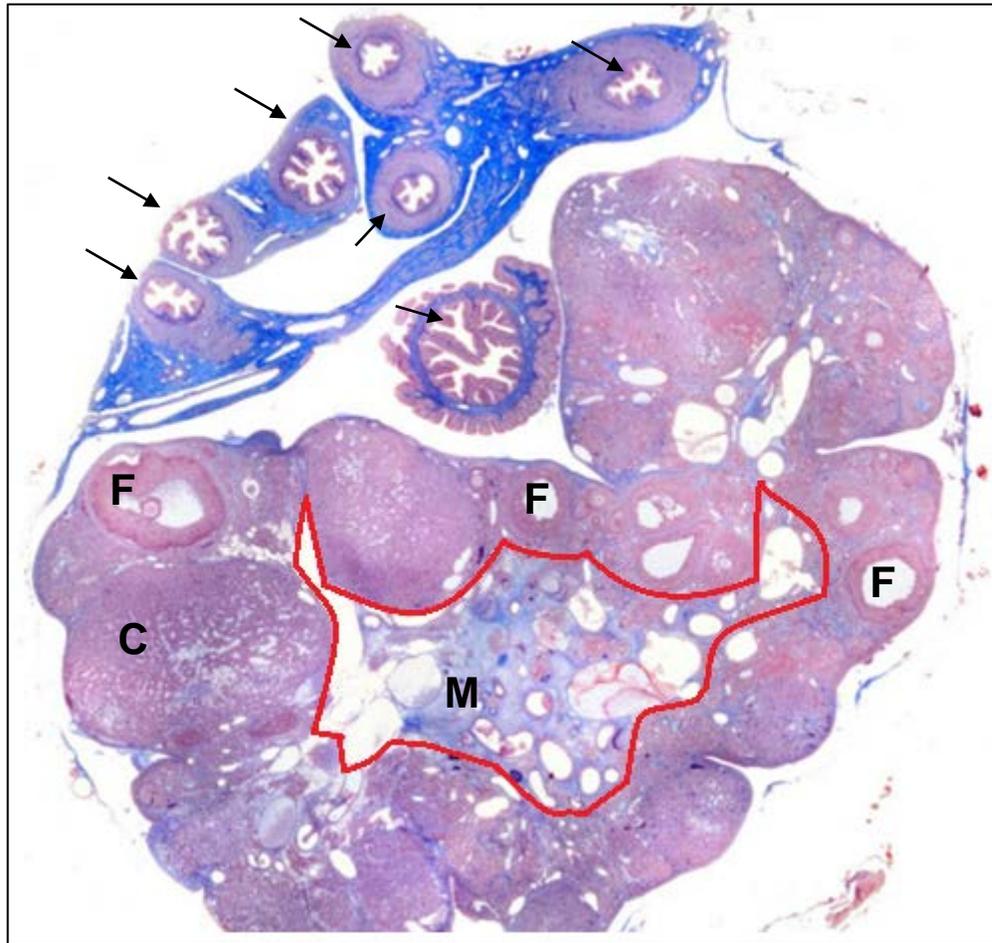


Fig.1 La imagen muestra una sección transversal de ovario de rata teñida con la técnica de tricrómica de Masson. En el ovario son visibles la capa externa (corteza) y la zona central (médula). La corteza (**C**) está ocupada por una gran cantidad de folículos en diferentes etapas de desarrollo. La médula (**M**, delimitada por una línea roja) está formada por tejido conectivo denso que es altamente vascular. En la parte superior 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 (imagen tomada de www.wesapiens.org).

1.1.1 El Ciclo Estral

En los mamíferos hembra la producción y maduración de los folículos es cíclica e implica cambios en las células foliculares y en el epitelio uterino y cambios en la concentración de las hormonas sexuales. Es un patrón recurrente que controla el ciclo menstrual o el estral. El primero

lo presentan los primates y el segundo las hembras no primates, como la rata (Curtis y cols. 2011).

En la rata, las etapas del ciclo estral están también controladas por el fotoperiodo. Así, la periodicidad de la luz juega un papel dominante en la aparición y duración del diestro 1, diestro 2, proestro y estro.

La rata de laboratorio es un mamífero no estacional y ovulador espontáneo. La etapa fértil de la vida de las hembras se caracteriza por cambios periódicos en la secreción de hormonas, dichas hormonas son 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 preovulatoria. En las ratas hembras el ciclo estral tiene una duración de 4 a 5 días y es regulado principalmente por factores endógenos (Fig. 2) que interaccionan con el eje hipotálamo-hipófisis-ovario, el cual, a su vez recibe influencia de factores exógenos (Freeman 1988, Kilen y Schwartz 1999). Para su estudio al ciclo se le divide en cuatro fases: Metaestro o Diestro-1 (D1), Diestro 2 (D2), Proestro (P), Estro (E).

Diestro-1 o Metaestro (D1): Este periodo tiene una duración de 6 a 8 horas. Durante este tiempo la concentración plasmática de LH, FSH, estrógenos y progesterona son basales. La secreción de progesterona por el cuerpo lúteo y la del estradiol por los folículos inhiben la secreción de gonadotropinas. La vascularización y la 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 termina desapareciendo. En esta etapa los cuerpos lúteos de formación reciente son la principal fuente de progesterona. Durante este día comienza la regresión funcional del cuerpo lúteo, siempre y cuando no se lleve a cabo una cópula que podría estimular la producción de prolactina. La secreción de estradiol por los folículos sigue aumentando (Freeman 1988, Kilen y Schwartz 1999).

Diestro 2 (D2): Esta fase dura de 55 a 57 horas. Como en la etapa de diestro 1 la producción de esteroides en el ovario inhibe la secreción basal de gonadotropinas, que a su vez mantienen el crecimiento folicular. La concentración plasmática de estradiol comienza a aumentar 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 ovularán en ese ciclo. El cuerpo lúteo, continúa en proceso de regresión. El útero se encuentra de tamaño pequeño y es acontractil. El frotis vaginal en esta fase muestra abundantes leucocitos y muy escasas células epiteliales de la capa basal (Freeman 1988, Kilen y Schwartz 1999).

Proestro (P): Tiene una duración de 12 a 14 horas. Los folículos han adquirido el estadio de folículos preovulatorios y secretan grandes cantidades de estradiol. El estradiol ejerce un efecto estimulante de retroalimentación positiva sobre la secreción de gonadotropinas. Por la mañana de ese día la concentración plasmática del estradiol se incrementa 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 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 post ovulatorio. Por acción del estradiol, el útero se hace muy contractil y en la vagina aparecen células epiteliales nucleadas. 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. El frotis vaginal en esta fase muestra casi exclusivamente células nucleadas (Freeman 1988, Kilen y Schwartz 1999).

Estro (E): Esta fase coincide con el máximo aumento de actividad estrogénica. La concentración plasmática de estradiol es de 7.53 ± 0.62 pg/ml. Tiene una duración de 25 a 72 horas. En la madrugada de este día ocurre la ovulación y los óvulos llegan al oviducto. El folículo post ovulatorio comienza a estructurarse en el cuerpo lúteo. En 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. La hembra acepta la cópula en el proestro tardío, con el comienzo de las horas de oscuridad y en el estro. También se presenta el reflejo de lordosis.

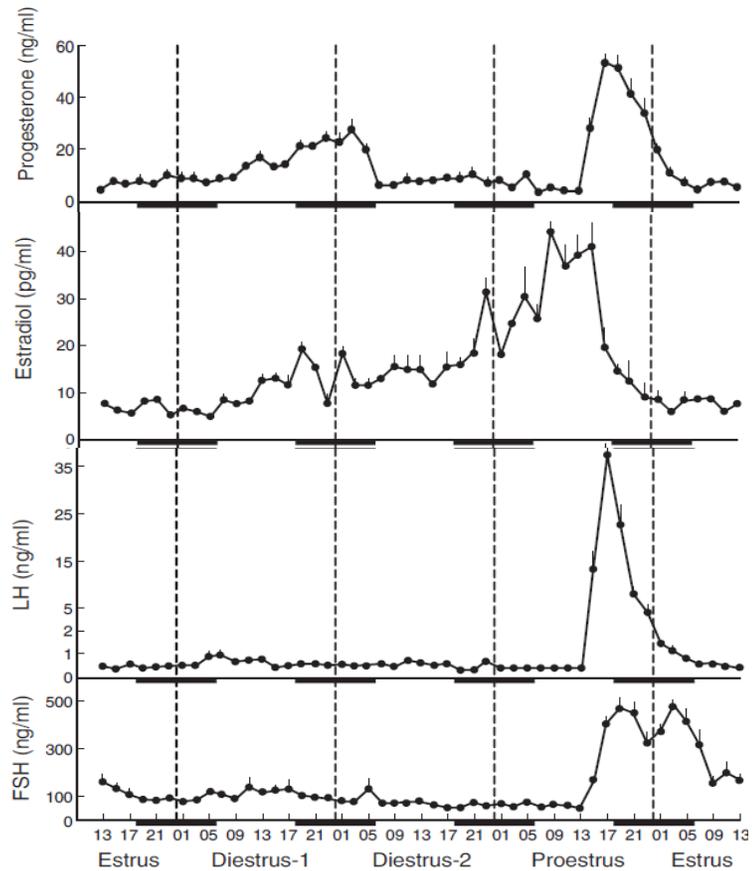


Fig. 2 Concentraciones de progesterona, estradiol, LH y FSH en plasma periférico, obtenido en intervalo de 2 horas a lo largo de los cuatro días del ciclo estral de la rata. Cada punto representa la media de la concentración de la hormona (\pm SE). Las barras oscuras representan el intervalo de oscuridad en el bioterio y los números las horas del día (Pupkin 1966).

1.1.2 Ciclo menstrual

El ciclo menstrual se divide en 2 etapas: La fase folicular y la fase lútea. La figura 3 ilustra las concentraciones de FSH, LH (panel superior) estradiol (panel central) y progesterona.

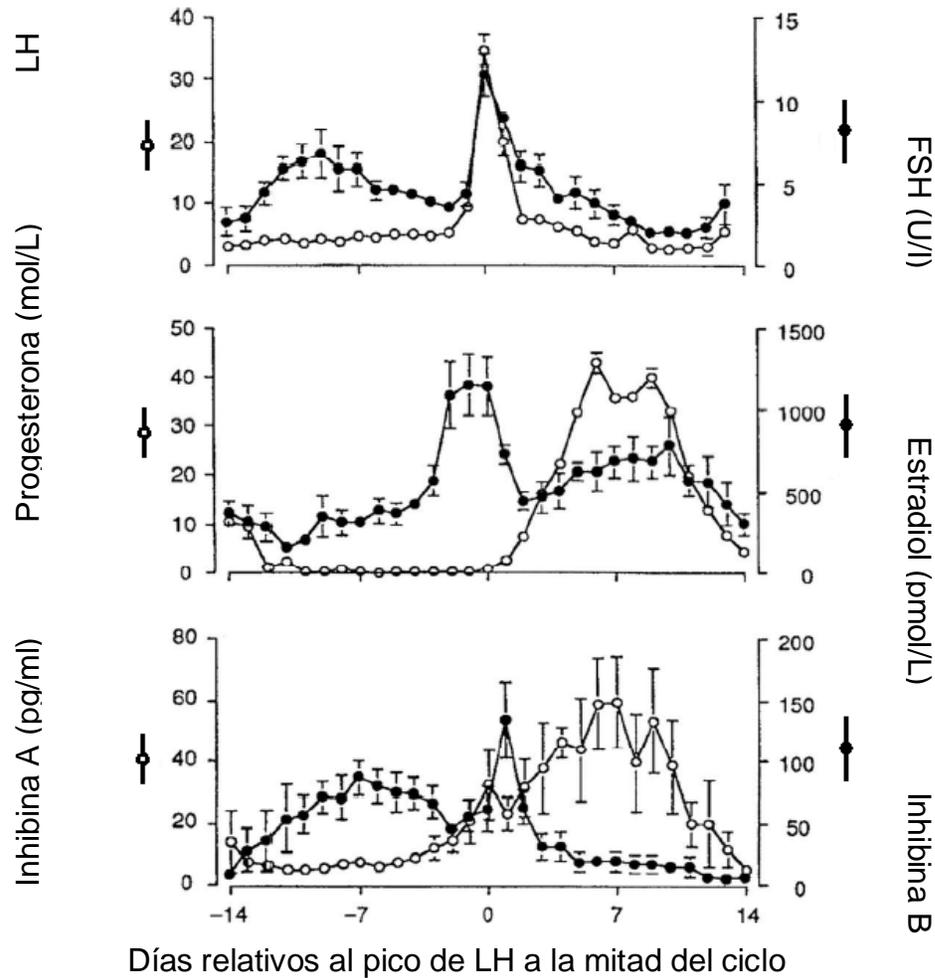


Fig.3 Perfiles de la concentración de la hormona folículo estimulante (FSH), la hormona luteinizante (LH), estradiol, progesterona, e inhibina a lo largo del ciclo menstrual del humano (Groome y cols. 1996).

La fase folicular comienza con el sangrado menstrual y dura hasta el pico de LH. La etapa temprana de la fase folicular se caracteriza por concentraciones altas de FSH y bajas de LH. Las concentraciones de estradiol, progesterona e inhibina A también son bajas, mientras que la de inhibina B comienza a aumentar. Aproximadamente de 7 a 10 días antes del pico de gonadotropinas a mitad del ciclo, el nivel de estradiol sérico y la inhibina A comienzan a aumentar. Posteriormente, hay una disminución en la concentración de FSH, mientras que la concentración de LH se mantiene o comienza a elevarse progresivamente. El aumento en la

producción de estradiol e inhibina A durante la mitad de la fase folicular refleja el surgimiento del folículo destinado a ovular. Se ha mostrado una evidente secreción asimétrica de estradiol por parte de los ovarios izquierdo y derecho, evaluada por muestra tomada en la vena ovárica. En las siguientes dos semanas ocurre una destrucción de los folículos visibles más largos y se presenta la ovulación, que ocurre mientras que ocurre la maduración de un nuevo folículo preovulatorio. (Baird 1975, Goodman y Hodgen 1983). La fase folicular, además de producir un ovocito el cual será capaz de ser fertilizado, es también un periodo durante el cual el endometrio uterino es estimulado para que sus células proliferen bajo la influencia del estradiol producido por el folículo en desarrollo.

La fase folicular termina con el incremento súbito de los niveles de LH sérico que causa la ruptura del folículo y la liberación de su ovocito maduro (ovulación). Posteriormente existe una marcada disminución en la producción de inhibina B y estradiol en el folículo. Los niveles de la progesterona en sangre comienzan a incrementarse, lo que anuncia la transformación del folículo a cuerpo lúteo y el inicio de la fase lútea del ciclo menstrual. La concentración de inhibina A continúa su incremento tardío en la fase folicular y después disminuye en paralelo a la concentración de progesterona. El cuerpo lúteo del primate también secreta estradiol, así, que los niveles de esta hormona incrementan junto con la concentración de progesterona durante la fase lútea. La progesterona que es sintetizada en el cuerpo lúteo transforma el epitelio proliferativo a secretor en anticipación de la implantación de un ovocito fertilizado. En la ausencia de preñez, el cuerpo lúteo tiene de 14 a 16 días de vida antes de que la producción de progesterona cese, comience la menstruación y otro ciclo menstrual inicie. En el caso de que ocurra la fertilización y la implantación, la vida del cuerpo lúteo se prolonga como resultado del efecto de la progesterona hasta que la placenta desarrolle la capacidad de producir suficiente progesterona para mantener la preñez.

Además del control endocrino, las funciones ováricas también dependen del sistema nervioso.

1.2 Inervación ovárica

1.2.1 Los plexos abdominales prevertebrales

En la cavidad abdominal se describen dos principales estructuras ganglionares que son referidas como plexos nerviosos. El Plexo Celíaco (PC) y el Plexo Intermesentérico (PI).

1.2.1.1 El Plexo Celíaco

El PC contribuye a la inervación de las vísceras abdominales. Está constituido por un complejo ganglionar formado por los ganglios: suprarrenal, mesentérico superior y el celíaco. El PC está localizado alrededor y entre la arteria celíaca y la arteria mesentérica superior y se extiende debajo las dos glándulas suprarrenales, dorsal al estómago, entre los dos riñones y la vena cava inferior. Rodea a la arteria aorta ventral.

Las fibras nerviosas de este plexo provienen del nervio esplácnico mayor y menor. En dicho plexo se combinan las fibras nerviosas del sistema nervioso simpático y del parasimpático (Baljet y Drukker 1979, Berthoud y cols. 1996, Gabella 2004).

1.2.1.2 El Plexo Intermesentérico

El PI se sitúa en la cara ventral y ventro-lateral a la aorta entre las raíces de las arterias mesentéricas, conecta al plexo celíaco con el plexo mesentérico inferior. El plexo intermesentérico está formado por dos troncos intermesentéricos cuyo origen principal es el ganglio celíaco izquierdo. El tronco intermesentérico derecho contiene ganglios alargados cerca de las arterias ováricas, pero también se han encontrado en su parte caudal cerca del plexo mesentérico. A los troncos intermesentéricos llegan ramas de los nervios esplácnico-lumbares (Baljet y Drukker 1979).

1.2.1.1.1 El Ganglio Celíaco

El ganglio celíaco está situado alrededor de la arteria celíaca y la arteria mesentérica superior. A su vez, estas arterias separan al ganglio de su porción izquierda y derecha; se extiende dorsalmente entre la glándula adrenal y la mitad craneal de los riñones. El ganglio celíaco izquierdo es de forma de media luna y el ganglio celíaco derecho es triangular y más pequeño que el izquierdo, está situado sobre el lado opuesto de las arterias mencionadas, dorsal a la vena cava inferior. Ambos ganglios (izquierdo y derecho) se extienden caudalmente hasta el ganglio mesentérico superior (Fig. 5). Se encuentran presentes ramas nerviosas que emergen del ganglio celíaco y que continúan caudalmente hacia el plexo intermesentérico y el plexo mesentérico inferior (Berthoud y Powley 1996, Hamer y Santer 1981, Gabella 2004).

1.2.1.1.2 El Ganglio Suprarrenal

Se localiza cerca de las glándulas suprarrenales y los riñones. El tamaño y la forma son variables pero generalmente son elongados con bastantes lóbulos. De él emergen fibras nerviosas que van hacia las glándulas suprarrenales, al nervio celíaco y al tronco nervioso que va hacia el ganglio celíaco. Se denomina como nervios celíacos a los troncos nerviosos que emergen del ganglio suprarrenal izquierdo y derecho y que corren en dirección de la arteria celíaca, cada ganglio suprarrenal está conectado con su respectivo ganglio celíaco (Baljet y Drukker 1979, Berthoud y Powley 1996).

1.2.2 La cadena ganglionar simpática

La cadena simpática es una estructura bilateral simétrica que se extiende de la base del cráneo al sacro. En el cuello, la cadena simpática corre dorsal al vago y a la arteria carótida común y ventral a los procesos vertebrales y los músculos prevertebrales. En el tórax, la cadena simpática corre ventralmente a la cabeza de las costillas y dorsal a la pleura parietal. Cada cadena está formada de 10 ganglios (Fig. 4), cada ganglio se conecta a los segmentos espinales por medio de los nervios espinales. El ganglio estrellado está formado por los tres primeros ganglios torácicos de la cadena paravertebral, el ganglio más caudal de dicha cadena se localiza en el décimo espacio intercostal. En el abdomen la cadena simpática es retroperitoneal y esta embebida en el músculo psoas. Existen cinco o seis pares de ganglios con ramas comunicantes

hacia los nervios espinales, hacia los vasos sanguíneos y hacia el plexo abdominal (Baljet y Drukker 1979, De Lemos y Pick 1966).

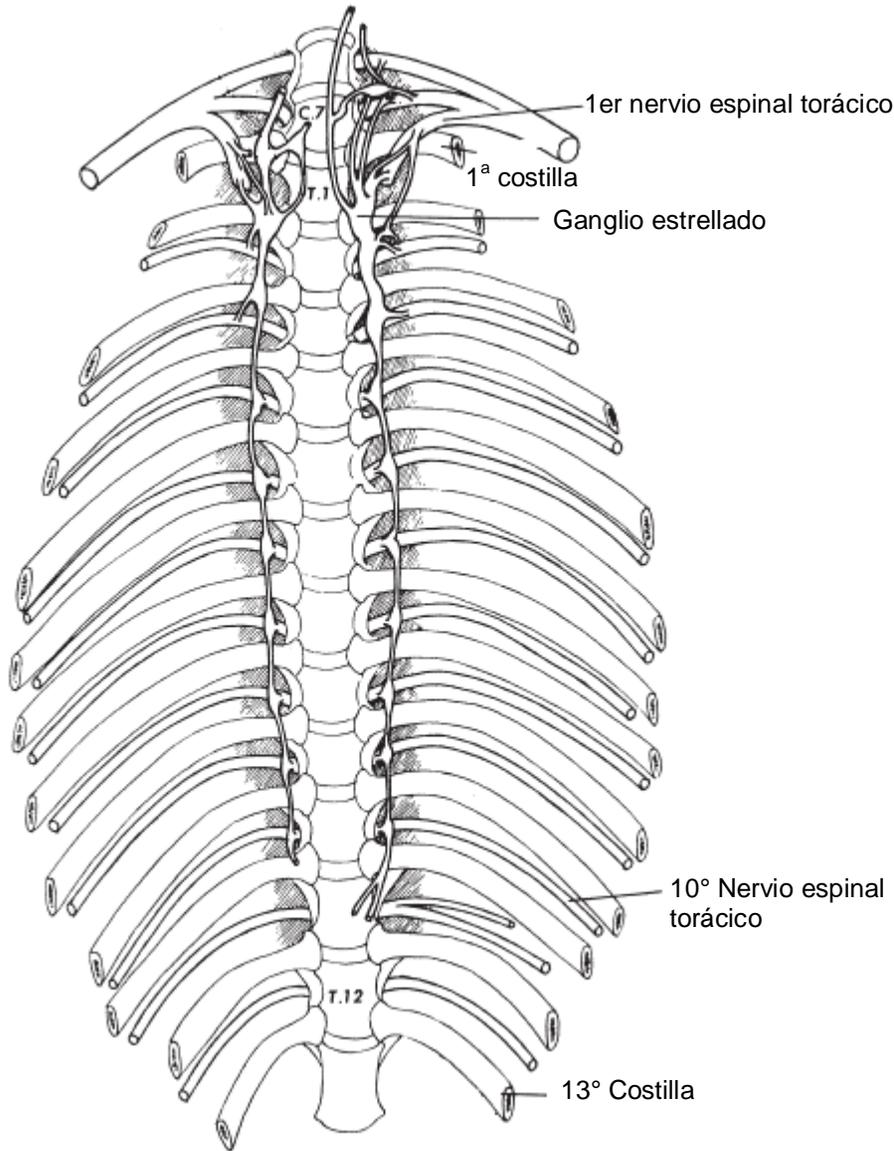


Fig. 4 Ganglios de la cadena ganglionar simpática (Modificado de De Lemmos y Pick 1966)

1.2.3 Los Ganglios Sensoriales

Los ganglios sensoriales se localizan entre los agujeros intervertebrales de la columna y se distribuyen en cervicales, torácicos, lumbares y sacros. Están formados por neuronas sensoriales que presentan morfología de tipo pseudounipolar, dichas neuronas sensoriales llevan

información de la periferia al sistema nervioso central. La fibra se divide en dos ramas divergentes, una central y otra periférica. La rama central forma la raíz dorsal, la cual penetra en la médula a través del surco lateral dorsal donde hace sinapsis con neuronas presentes en el asta dorsal. Histológicamente, las poblaciones celulares más comunes presentes en el ganglio son neuronas, fibroblastos, células satélites y células de Schwann. Los ganglios de la raíz dorsal carecen de una membrana capsular protectora, a diferencia del perineuro que protege los fascículos nerviosos periféricos (Abram y cols. 2006). Están provistos de tejido conectivo permeable que puede ser parcialmente explicada por la alta densidad de capilares sanguíneos en el tejido del ganglio (Jimenez-Andrade y cols. 2008).

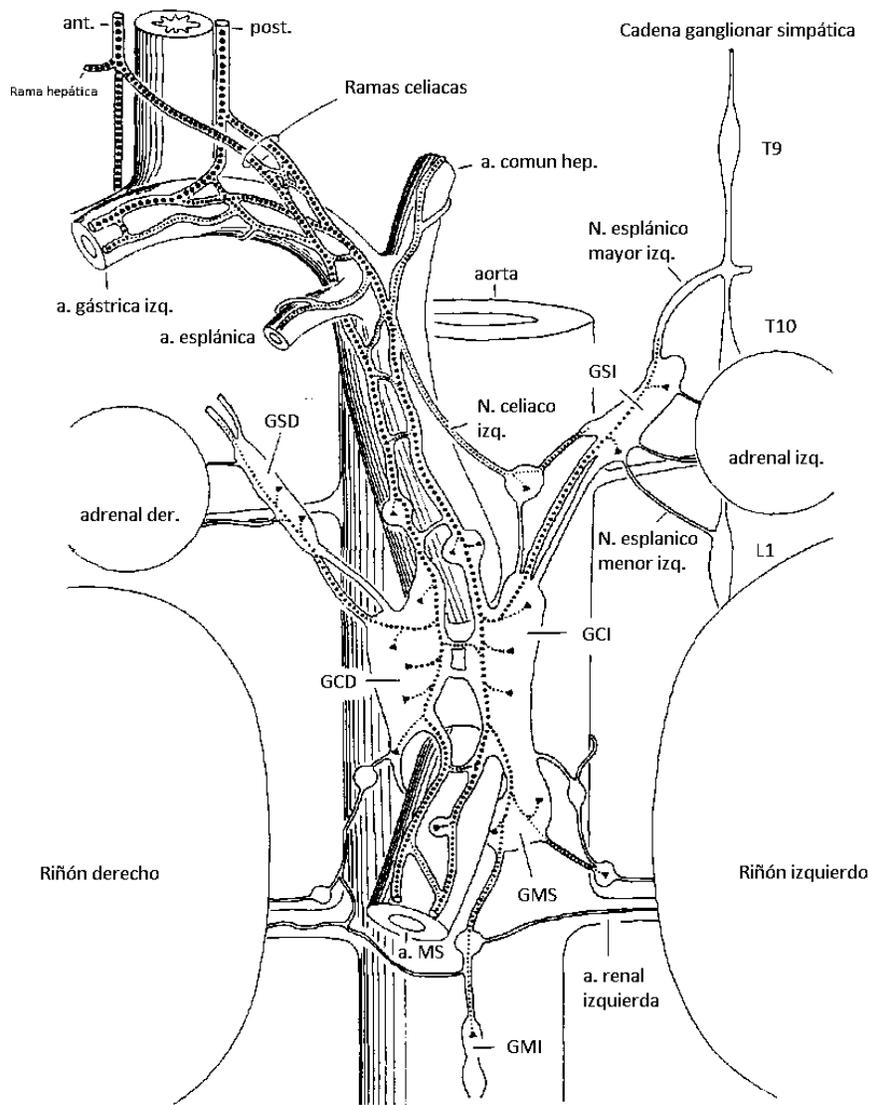


Fig. 5 Representación esquemática de la ubicación de los ganglios celíacos en la rata, cadena ganglionar simpática, los nervios esplánicos mayor y menor; a. MS, arteria mesentérica superior; GMS, ganglio mesentérico superior; GMI, ganglio mesentérico inferior; GSI, ganglio suprarrenal izquierdo; GSD, ganglio suprarrenal derecho; GCI, ganglio celíaco izquierdo; GCD, ganglio celíaco derecho (modificado de Berthoud y Powley 1996).

1.3 Nervios que inervan al ovario

En la rata la inervación del ovario incluye componentes somáticos y autonómicos que llegan a los ovarios por medio del nervio ovárico superior y el plexo ovárico (Fig. 6, Baljet y Drukker 1979, Aguado 2002,). Las fibras de estos nervios se consideran de tipo catecolaminérgico, aunque también poseen fibras inmunorreactivas a diversos péptidos.

1.3.1 El nervio ovárico superior (NOS)

En la rata el NOS es una rama del plexo celíaco. Sus cuerpos celulares preganglionares se encuentran en los segmentos T7 a 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 (Klein y Burden 1988, Lawrence y Burden 1980). El NOS inerva al ovario, al oviducto y caudalmente a la musculatura del útero. Además, se considera la principal vía relacionada con la esteroidogénesis ovárica (Aguado y Ojeda 1984, Burden y cols. 1981).

1.3.2 El nervio del plexo ovárico (NPO)

Es una rama del plexo aórtico y renal. Está formado por axones adrenérgicos, embebidos en una matriz de colágeno que reviste a la arteria y vena ovárica. Muchos de los paquetes de fibras nerviosas que se encuentran en este plexo derivan del plexo renal, cerca del origen de la arteria ovárica. El NPO inerva a los oviductos, al ligamento ancho y al ovario: en el ligamento ancho se comunica con fibras del plexo uterino y de esta forma inerva el útero.

Las fibras aferentes que inervan al ovario se originan del segmento torácico 10 (T10), mientras que los que inervan los oviductos corresponden a los segmentos torácicos 11-12 (T11-

12) y lumbar 1(L1) (Baljet y Drukker 1979, Lawrence y Burden1980, Klein y Burden 1988). Este nervio proyecta sus fibras principalmente a la vascularidad del ovario (Lawrence y Burden 1980, Klein y cols. 1989).

Estudios donde utilizan trazador retrógrados muestran que el soma de las neuronas cuyos nervios alcanzan al ovario provienen del nervio vago (Burden y cols. 1983).

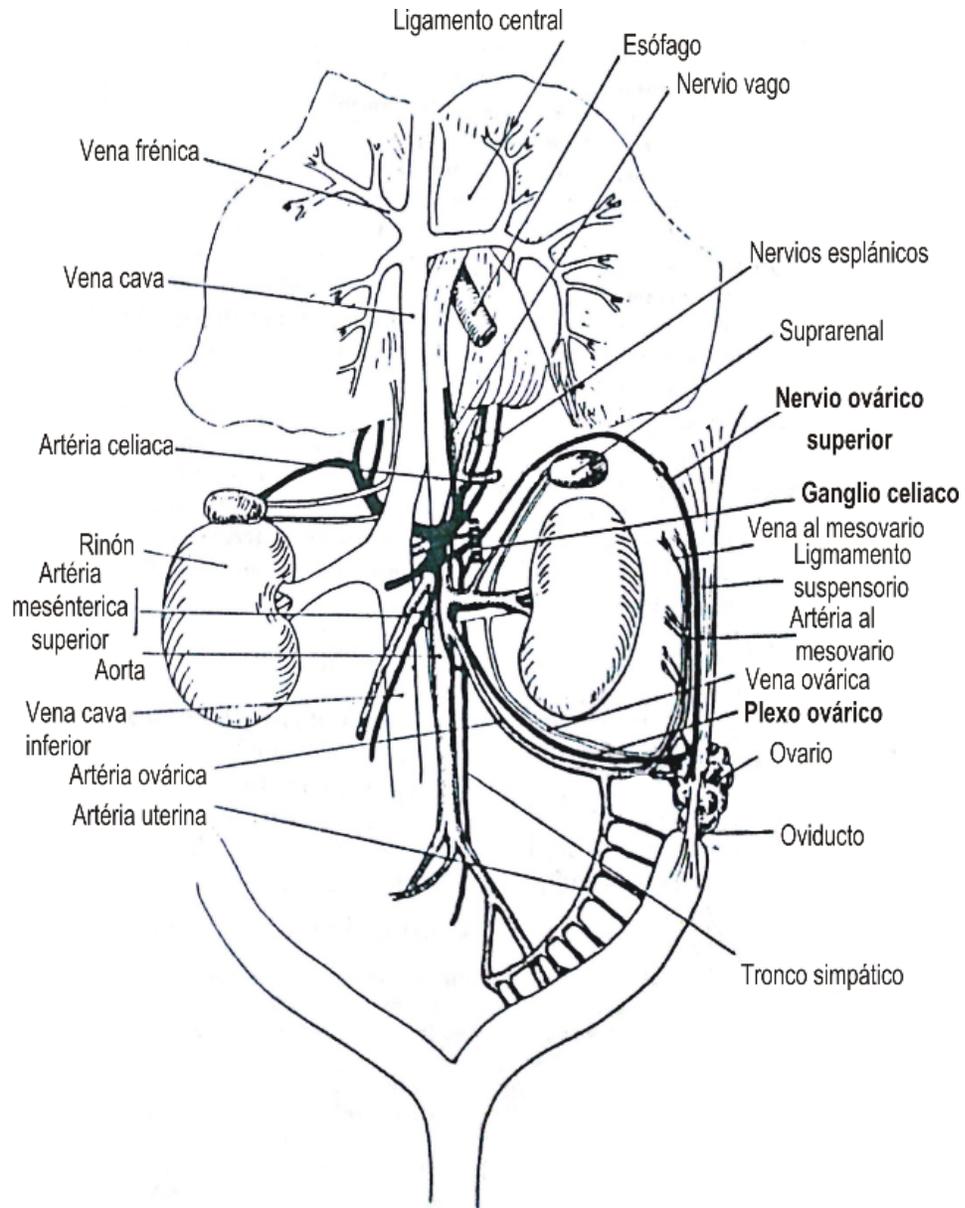


Fig. 6 Esquema anatómico de los ganglios y nervios abdominales en la rata. Se observa la disposición de los ganglios celíacos y la inervación de los órganos abdominales de la rata hembra. (Modificado de Lawrence y Burden 1980).

Dichos nervios contienen principalmente neuronas catecolaminérgicas y colinérgicas, aunque también se encuentran presentes fibras inmunorreactivas a neuropéptido SP y a VIP (Matthews y Cuello 1982). Esto concuerda con los estudios que reportan que la densidad de fibras que contienen noradrenalina y neuropéptido Y en los ovarios es elevada en comparación de las fibras que expresan acetilcolina, sustancia P, calcitonina, VIP (Traurig y Papka 1993). Se ha aportado evidencia de que la noradrenalina tiene un efecto vasoconstrictor en los vasos del ovario (Reynolds y Ford 1984) de humanos (Varga y cols. 1979) y de la rata (Sesltam y cols. 1985; Massa y Bruce 1994). Por el NPO viajan predominantemente fibras que contienen sustancia P (SP) y por el NOS fibras que contienen péptido intestinal vasoactivo (VIP) (Dees y cols. 1986), estas inervan la vasculatura del ovario y a la capa externa de células de la teca, se ha mostrado que el VIP induce producción de estrógenos en células de la granulosa in vitro (Ahmed y cols. 1986).

1.4 Asimetría en la inervación del ovario

Existe evidencia de la lateralización en la funcionalidad de las gónadas en distintas especies, por ejemplo, en las aves el tracto reproductivo está caracterizado por un desarrollo lateralizado ya que solo el ovario izquierdo es funcional, en el lado derecho la gónada es reducida a una hebra estrecha de células que yace contra la vena cava inferior. La ovariectomía de la gónada izquierda reactiva a la gónada derecha, la cual crece considerablemente. Se ha mostrado que en muchos casos se desarrolla en un tejido glandular tipo *testis* que en algunos casos contiene espermatozoides (Boneit 1923, Domm 1924, Reyss-Brion y Schiello 1980).

En el murciélago, la ovulación ocurre predominantemente en el ovario derecho, mientras que el izquierdo es capaz de funcionar, pero solo cuando el ovario derecho es removido (Bleier y Ehteshami 1981).

Se ha reportado que el ovario derecho de la rata tiene inervación de fibras aferentes simpáticas más abundante que el ovario izquierdo (Klein y Burden 1988).

En la rata se han realizado estudios de ablación del ovario (ovariectomía) y de neurectomías. La acción compensatoria de hipertrofia depende de qué ovario es removido y del tipo de vagotomía realizada, es decir, si es bilateral o ipsilateral. La vagotomía bilateral resulta en la reducción de la hipertrofia, sólo cuando es removido el ovario derecho. En las ratas ovariectomizadas del lado derecho la vagotomía ipsilateral incrementa la tasa de ovulación y la hipertrofia compensatoria del ovario. Mientras que en las ratas con ovariectomía del lado izquierdo, dicha intervención disminuye los parámetros mencionados (Chávez y cols. 1987). Estos datos permiten sugerir que el ovario izquierdo es más sensible a la manipulación del nervio vago que el derecho y que la información del vago que llega al ovario izquierdo y derecho es distinta.

1.5 Métodos de trazado de vías neuronales

Las técnicas más utilizadas para trazar las vías nerviosas se concentran en 4 principales grupos (Lennart y cols. 1981):

- A. La primera 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.
- B. La segunda incluye métodos que se enfocan en la degeneración y cambios en varias partes de la neurona a consecuencia de una lesión. Estos métodos usualmente permiten trazar conexiones 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 microscopía electrónica se pueden visualizar varios aspectos del proceso degenerativo. Ejemplos clásicos son la tinción de Nissl para demostrar la cromatólisis en el soma. Métodos con plata para la degeneración de axones o terminales neuronales.
- C. La tercera categoría incluye los métodos de trazado de vías nerviosas que se basan en la incorporación de una sustancia dentro de la neurona. Por ejemplo: True blue, Evans blue, diamidino yellow, peroxidasa de rábano (Bentivoglio y cols. 1979, 1980)
- D. La cuarta involucra a métodos histoquímicos, los cuales son usados para el mapeo de vías nerviosas, ejemplos de ellos son los métodos de monoamina histofluorescente, las

técnicas inmunofluorescentes para la identificación de sustancias relacionadas con neurotransmisores.

1.5.1 True Blue (TB)

El TB es un trazador retrógrado fluorescente usado para identificar vías nerviosas, es un colorante excitable con luz UV, catiónico divalente que tiñe el citoplasma de azul fluorescente, de fórmula molecular $C_{20}H_{16}N_4O_2 \cdot 2C_4H_7NO_3$ (Fig. 7). Es estable aun cuando se le somete a procedimientos de histoquímica con el fin de conocer aspectos neuroquímicos de las neuronas. Es menos neurotóxico que el fluorogold y no afecta la sobrevivencia de la neurona. Como marcador retrógrado es más eficiente que el amarillo diamidino (Garret y cols. 1991).

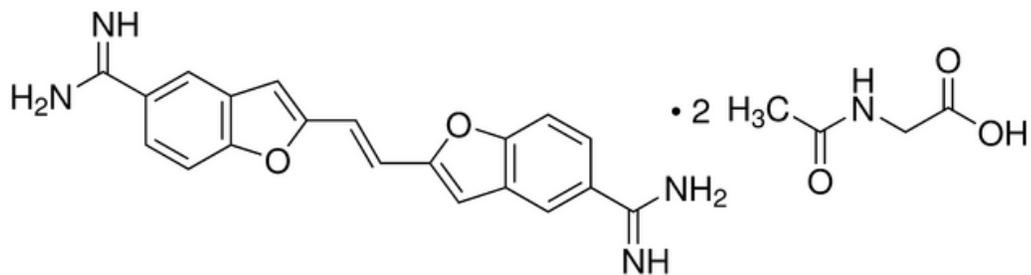


Fig. 7 Estructura en 2D del trazador TB (tomado de Sigma- Aldrich lab).

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 retrógrado. Por ejemplo, si se pretende marcar a una distancia de 3-4 cm, es necesario esperar por los menos dos días y medio. 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 horas, este tiempo se debe adicionar al tiempo requerido para el transporte total.

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 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 (Sterner y cols. 1985).

2. ANTECEDENTES

Los circuitos nerviosos que intervienen en la regulación del funcionamiento de los ovarios incluyen ganglios y nervios periféricos que se originan de los segmentos toraco-lumbares de la médula espinal. Existen dos vías de inervación (NOS y NPO) para la parte craneal del útero donde se ubican los ovarios (Houdeau y cols. 1998, Baljet y Drukker 1980, Fig. 8). El ganglio celíaco de la rata recibe inervación del nervio esplácnico y del nervio vago (Baljet y Drukker 1979). Del ganglio celíaco emergen el NOS y el NPO que inervan a los ovarios.

Estudios anatómicos han mostrado que el nervio del plexo ovárico se une al ganglio celíaco, sin embargo, observaciones recientes en nuestro laboratorio permiten afirmar que dicho nervio se relaciona directamente con el ganglio mesentérico superior (Pastelín y cols. 2013).

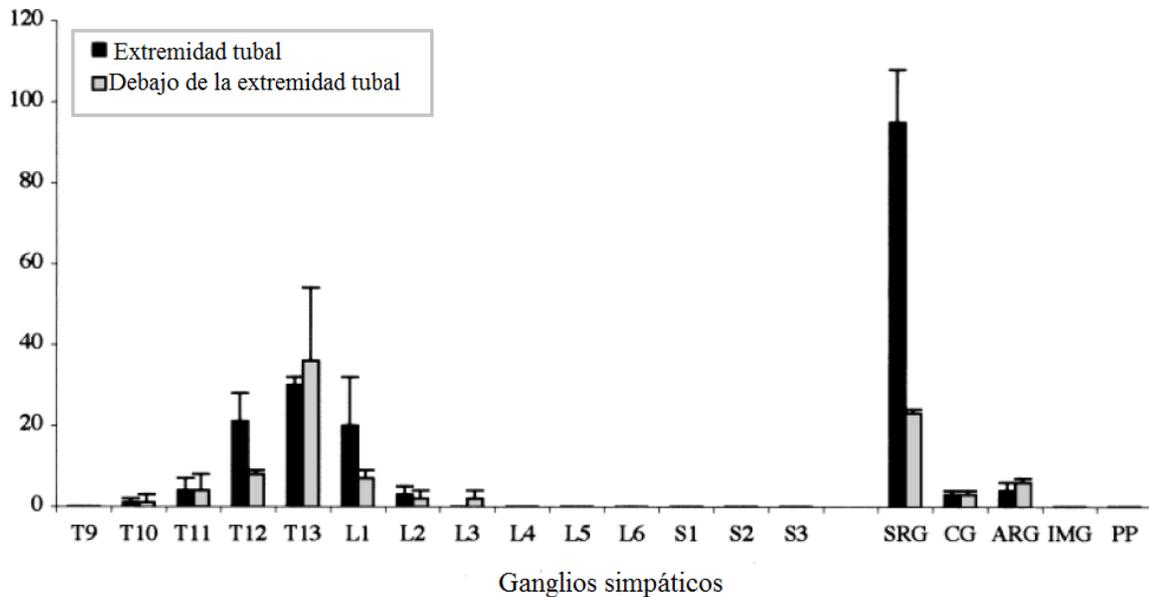


Fig. 8 Distribución de neuronas simpáticas postganglionares marcadas con Fluoro-Gold seguido de inyecciones en diferentes regiones de la parte alta del útero. Se puede notar que las neuronas del ganglio suprarrenal son las que principalmente inervan el área de la extremidad tubal que la parte debajo de ella. Por parte de la cadena paravertebral el ganglio T13 presenta el mayor número de células positivas al fluoro-Gold, ganglio suprarrenal; ganglio celíaco; GC, ganglio aórtico renal; ARG, ganglio mesentérico inferior; IMG, plexo pélvico; PP (Houdeau y cols. 1998).

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 y el nervio ovárico superior (Morán 2009).

El complejo ganglio celíaco-suprarrenal-mesentérico, es un grupo de ganglios formado por el ganglio celíaco, el ganglio suprarrenal y el ganglio mesentérico superior. Es bilateral, asimétrico y el número de neuronas positivas a True Blue inyectado desde los ovarios varía a lo largo del ciclo estral (Morán 2005).

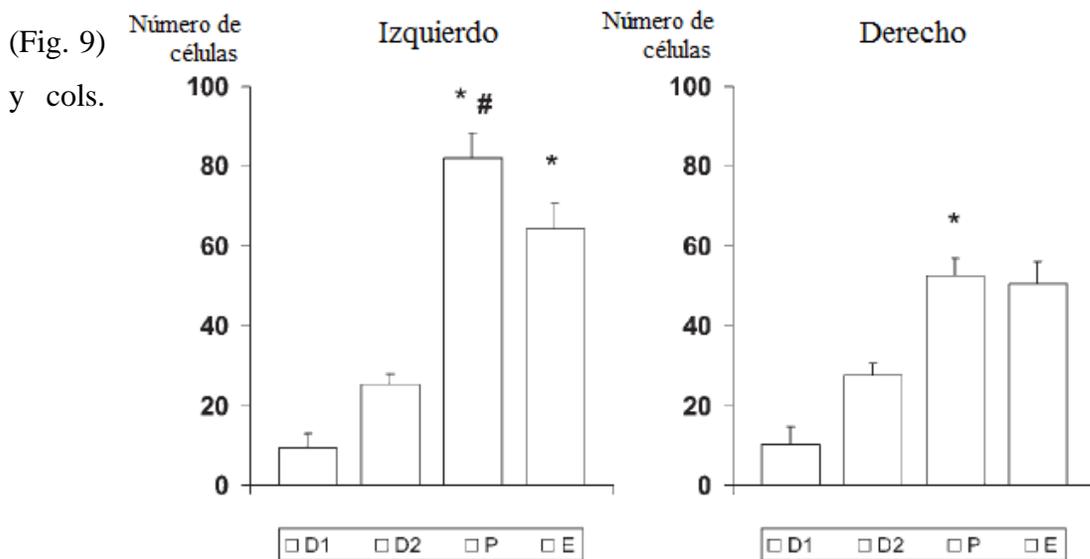


Fig. 9 Promedio \pm SE número de células marcadas con TB inyectado en la bursa ovárica izquierda o derecha en el complejo ganglio celíaco-suprarrenal-mesentérico de ratas en diferentes etapas del ciclo estral. * $p < 0.05$ vs días de diestro # $p < 0.05$ contra el lado derecho en el mismo día (Morán y cols. 2005).

Existe asimetría en la cantidad de GnRH en los lados izquierdo y derecho del hipotálamo: la mitad derecha del hipotálamo contiene significativamente más GnRH que la mitad izquierda (Gerendai y cols. 2005, Tóth y cols. 2007).

En estudios realizados en ratas prepúberes a las que se les seccionó quirúrgicamente el NOS, encontramos que la relación anatómica entre el ganglio celíaco mesentérico superior (GCMS) con los ovarios depende de la integridad de dicho nervio y que esa dependencia varía durante el ciclo estral (Morán 2009).

Pastelín y colaboradores (2015) realizaron una descripción detallada de la innervación ovárica y su relación con los ganglios prevertebrales (GMS, GC izquierdo y derecho, GS izquierdo y derecho, GMI y la cadena ganglionar lumbar (L1- L6) (Fig. 10).

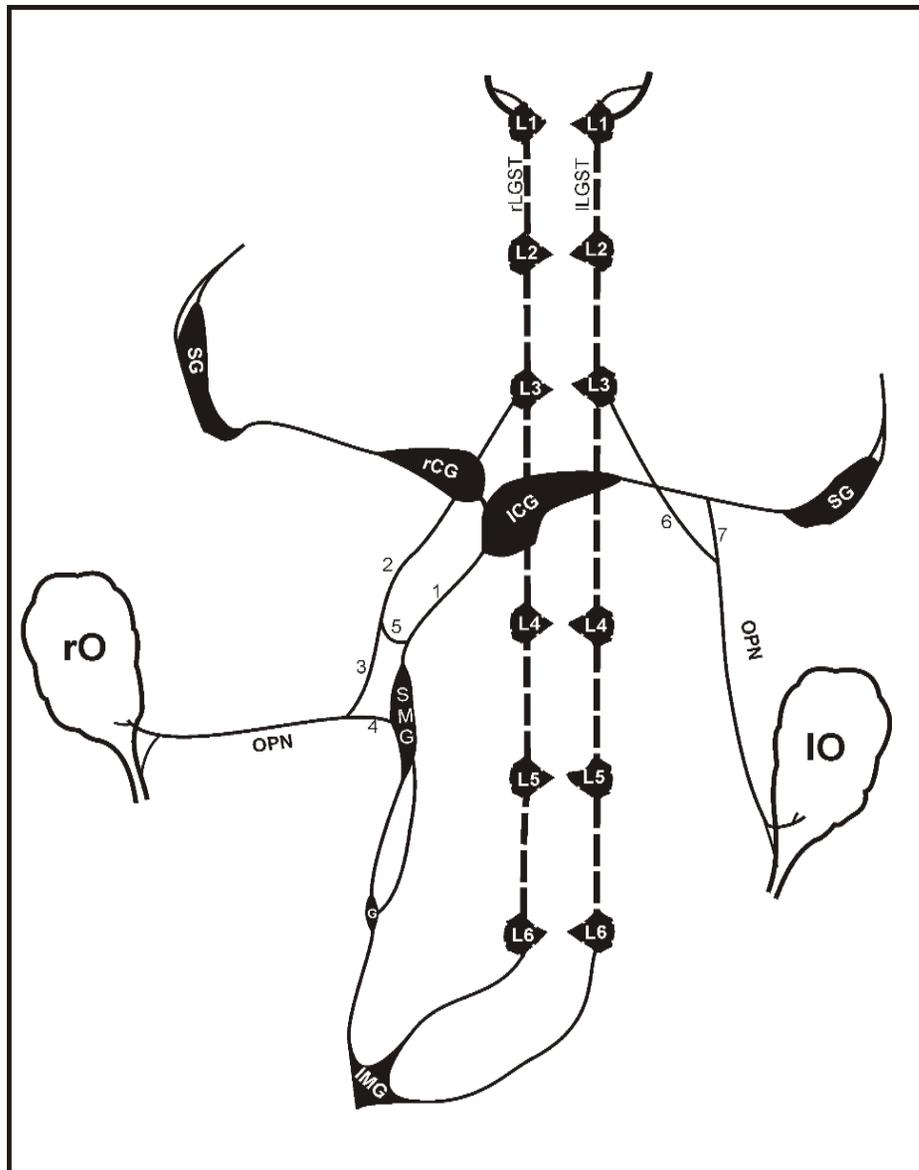


Fig. 10 Representación de los principales grupos de los ganglios simpáticos que regulan las funciones del ovario. Los números corresponden a la nomenclatura de las ramas. 1, rama celíaca; 2, rama lumbar derecha; 3, rama anastomótica; 4, Rama del GMS; 5, Plexo mesentérico; 6, rama anastomótica del ganglio lumbar; 7, rama anastomótica del nervio esplácnico; L (1, 2, 3, 4, 5,6) tronco simpático del ganglio lumbar.

3. JUSTIFICACIÓN

Se ha mostrado que del ganglio celíaco (GC) emergen fibras postganglionares que viajan por el NOS y el NPO, cuyas fibras inervan al ovario. Estos nervios son importantes para que se lleve a cabo la regulación y la secreción de hormonas ováricas durante el ciclo estral de la rata.

Estudios en nuestro laboratorio mostraron que el NOS lleva información del ovario con el

complejo ganglionar y que dicha comunicación varía en los diferentes días del ciclo estral (Morán y cols. 2005). En estudios más recientes reportamos que además de los ganglios mencionados, celíacos (izquierdo y derecho) y suprarrenales (izquierdo y derecho), se encuentra un ganglio unilateral que inerva sólo a la gónada derecha, el ganglio mesentérico superior. Por otra parte y tomando como base los estudios de Burden y cols. (1988) que muestran marcaje neuronal en las neuronas sensoriales de los GRD y en la cadena simpática paravertebral, proveniente de los nervios ováricos; en este trabajo nos propusimos estudiar la activación de las diferentes vías nerviosas aferentes y eferentes que participan en la regulación de las funciones ováricas a lo largo del ciclo estral de la rata, tanto de las neuronas eferentes como de las sensoriales relacionadas anatómicamente con los ovarios izquierdo y derecho.

4. HIPÓTESIS

La relación anatómica de los ovarios con los ganglios prevertebrales, paravertebrales y de la raíz dorsal es asimétrica y varía en función de la etapa del ciclo estral y del ovario analizado (izquierdo o derecho).

5. OBJETIVO GENERAL

Analizar la relación anatómica entre los ovarios y los ganglios autonómicos y sensoriales durante el ciclo estral de la rata para determinar si la comunicación es asimétrica y si varía en relación a la etapa del ciclo estral.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Cuantificar las neuronas postganglionares positivas a True Blue en los ganglios prevertebrales (GC, GS y GMS) y ganglios paravertebrales (T8, T9 y T10) marcadas retrógradamente desde el ovario durante las etapas del ciclo estral (D1, D2, P y E).
- Cuantificar las neuronas sensoriales positivas a True Blue en los ganglios de la raíz dorsal (T12, T13, L1 y L2) marcadas retrógradamente desde el ovario durante las etapas del ciclo estral.
- Comparar el número de neuronas positivas a True Blue en los ganglios prevertebrales (GC, GS y GMS), ganglios paravertebrales (T8, T9 y T10) y los ganglios de la raíz dorsal (T12, T13, L1 y L2) para analizar la asimetría entre las ratas inyectadas en el ovario izquierdo y en las inyectadas en el ovario derecho.

6. METODOLOGÍA

Se utilizaron 32 ratas hembras adultas de la cepa CII-ZV de tres a cuatro meses de edad (250 a 300g). Las ratas fueron mantenidas en condiciones estándar de bioterio a una temperatura de 24 ± 2 °C y 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 y 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.

Las hembras se distribuyeron en dos grupos, 16 ratas fueron inyectadas en el ovario derecho y 16 en el izquierdo (Fig. 11). Con ayuda de un microscopio estereoscópico, se localizaron los ganglios prevertebrales y ganglios de la raíz dorsal (GRD).

Las ratas tuvieron entre tres a cuatro meses de edad, se les tomó muestra de frotis vaginal entre las 9:00 y 11:00 horas, para determinar la fase del ciclo estral en el que se encontraban.

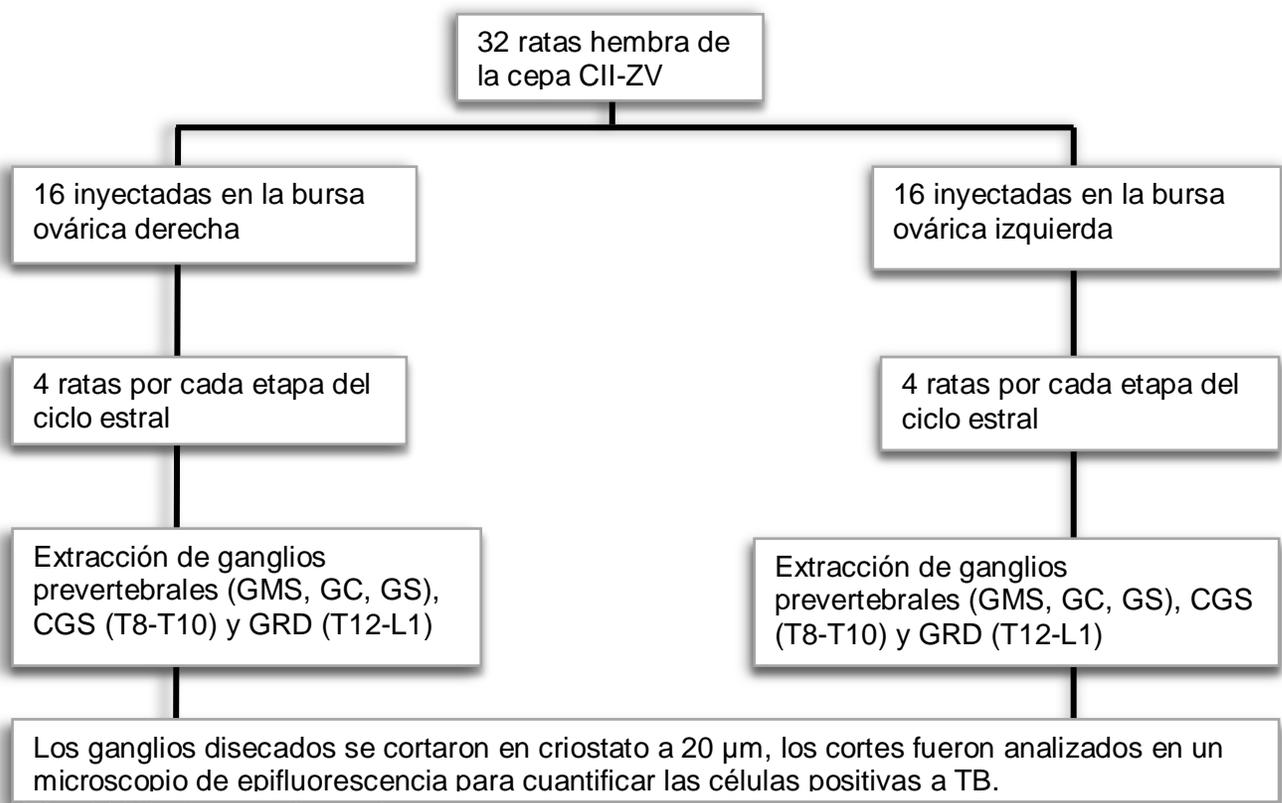


Fig. 11 Diseño experimental.

Procedimiento

Las cirugías se realizaron entre 10:00 y 12:00 horas. Las ratas fueron anestesiadas con ketamina (90 mg/kg) y xilazina (15 mg/kg) vía intraperitoneal (IP) y colocadas en posición de decúbito lateral. Se rasuró una superficie amplia de la región lateral para hacer un pequeño corte de piel y músculo para sacar el ovario e inyectar de 3-5 µl de TB en la bursa ovárica derecha o

izquierda según sea el caso, para esto, se empleó una jeringa de 50 unidades con una aguja de .255 mm de grosor y 8 mm de largo. La aguja permaneció en el sitio de inyección por 1-2 minutos para permitir que el trazador se distribuyera por la bursa ovárica y evitar que saliera por el orificio hecho por la inyección, después se retiró lentamente y se aplicó un sellador biológico. Posteriormente el ovario fue reintroducido a la cavidad con sumo cuidado y la piel fue suturada.

Después, de 48- 72 horas, las ratas inyectadas con TB fueron sometidas a un proceso de perfusión transcardiaca. Los ganglios fueron disecados iniciando por los prevertebrales, después los paravertebrales para terminar con los ganglios de la raíz dorsal. Los ganglios fueron almacenados por 24-48 horas en solución sacarosa a 4 °C y luego embebido en un medio de Tissue-Tek para congelarlo (Sakura Finetek USA) y usando un criostato a 25 °C (Leica CM1850). Las secciones cortadas a 20 μ fueron montadas en portaobjetos con Poly-L-Lysina y secados a temperatura ambiente de 6-24 horas.

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 transcardiaca

Las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (60 mg/kg, IP) e inmediatamente fueron perfundidas transcardialmente 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 fosfatos, 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 (Zhang y cols. 2007).

Se disecaron los ganglios prevertebrales bilaterales: los ganglios celíacos y los ganglios suprarrenales y el ganglio unilateral; el ganglio mesentérico superior, los ganglios T8, T9 y T10 de la cadena paravertebral y los ganglios de la raíz dorsal: T12, T13, L1 y L2. Los ganglios fueron almacenados de 24 a 48 horas en solución de sacarosa a 4 °C. Los ganglios de la cadena paravertebral T8, T9 y T10 fueron considerados como un conjunto que corresponde a dicha cadena.

Análisis estadístico

El número de neuronas marcadas, fueron analizadas por la prueba de análisis de varianza de dos vías, seguida por la prueba poshoc de Tukey para realizar comparaciones múltiples. Las comparaciones se realizaron entre cada ganglio ipsilateral de las ratas inyectadas en la bursa ovárica derecha contra las que se inyectaron en la bursa ovárica izquierda, por ejemplo: la comparación de la media del número de neuronas positivas a TB en el GC ipsilateral de 4 ratas inyectadas en la bursa ovárica derecha contra la media del número de neuronas positivas a TB en el GC ipsilateral de 4 ratas inyectadas en la bursa ovárica izquierda. También se realizó la comparación entre la media del número de neuronas positivas a TB en cada ganglio durante las etapas del ciclo estral de las ratas de un mismo grupo, es decir, de las ratas inyectadas en el ovario izquierdo o derecho, por ejemplo: la comparación de la media del número de neuronas positivas a TB en el GC ipsilateral durante la etapa de diestro 1 contra la media del número de neuronas positivas a TB en el GC ipsilateral durante la etapa de diestro 2, proestro y estro. En el caso del ganglio mesentérico superior al no ser bilateral se utilizó un análisis de varianza de una vía no paramétrico, para conocer sus variaciones a lo largo del ciclo estral. Todos los resultados serán expresados como la media \pm error estándar de la media (e.e.m.). En todos los casos se considerará como diferencias estadísticamente significativas aquellas cuya probabilidad sea igual o menor a 0.5.

7. RESULTADOS

Inyección del trazador True blue en la bursa izquierda o derecha

Las neuronas positivas a True Blue fueron localizadas en los CGS, GC, GS, GMS (Figs. 12, 13, 14, 15), así como, en los GRD de T12- L2, (Figs. 16, 17, 18, 19).

A continuación, se muestran las gráficas que ilustran las medias del número de células positivas a True Blue dependiendo de la etapa del ciclo estral y del ovario inyectado, derecho o izquierdo, en los ganglios paravertebrales, paravertebrales y ganglios de la raíz dorsal. Cabe mencionar que las medias representadas en las gráficas son de los ganglios ipsilaterales al sitio de inyección del trazador, debido a que, a excepción del ganglio celíaco, en los otros ganglios analizados (GS, DRD: T12, T13, L1, L2) las medias del marcaje contralateral eran menores en comparación a la media de los ganglios ipsilaterales (Cuadros 1, 2).

CADENA GANGLIONAR SIMPÁTICA

En la Figura 12 se muestra el número de neuronas positivas a True Blue durante el ciclo estral. Las medias en cada etapa del ciclo estral de las ratas inyectadas (n=4) en la bursa ovárica derecha fueron: en el diestro 1, 12 ± 6 ; en el diestro 2, 13 ± 3.9 ; en el proestro, 12 ± 1.1 ; en el estro, 11 ± 1.6 .

Los valores de las ratas inyectadas en la bursa ovárica izquierda fueron: en el diestro 1, 11.5 ± 5.5 ; en el diestro 2, 13 ± 3.9 ; en el proestro, 22.2 ± 5 ; en el estro, 24.75 ± 7.5 . No hubo diferencias estadísticamente significativas.

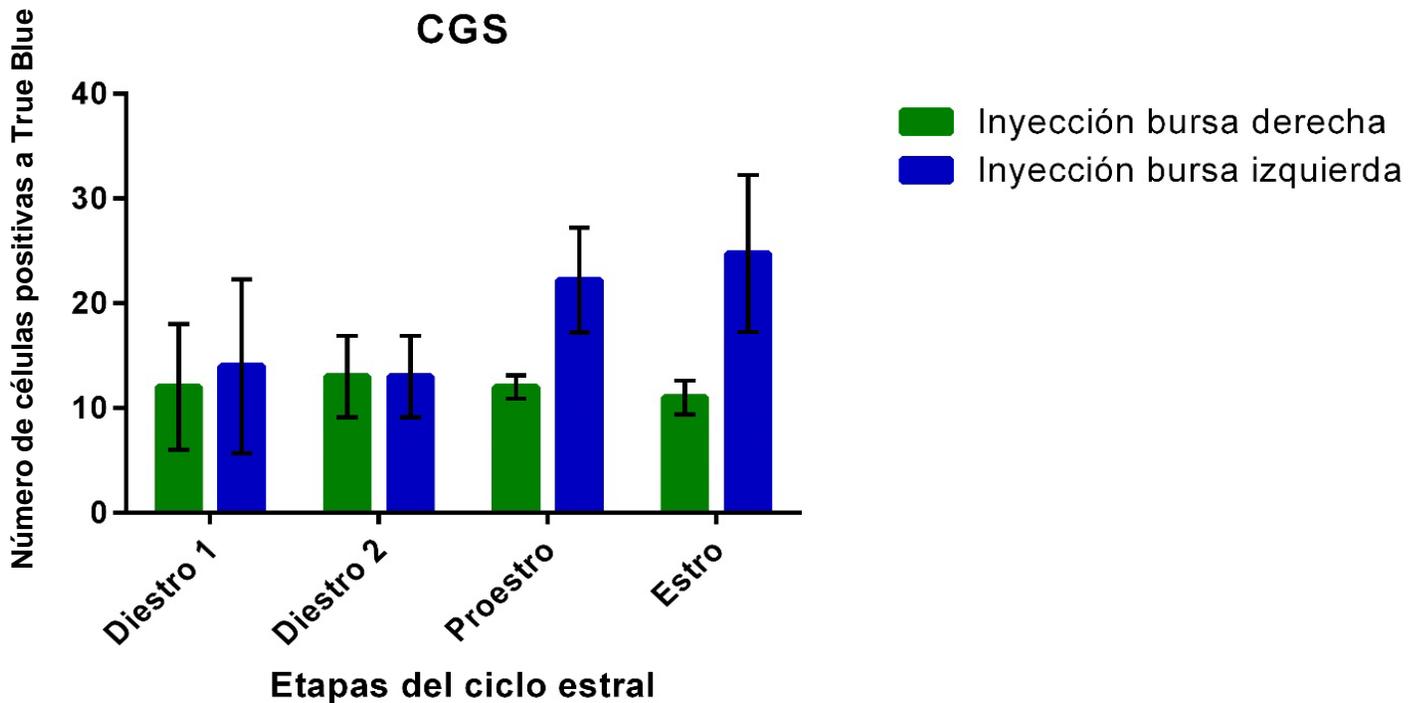


Fig. 12 Número de somas positivos a True Blue en la cadena ganglionar simpática. Cada barra refiere a la media \pm el error estándar de cuatro ratas (ANDEVA, dos vías, $p < 0.05$).

GANGLIO CELÍACO

El número de neuronas positivas a True Blue durante el ciclo estral se muestra en la Figura 13. Las medias en las etapas del ciclo estral de las ratas inyectadas (n=4) en la bursa ovárica derecha fueron: en el diestro 1, 29 ± 2.4 ; en el diestro 2, 15 ± 2.3 ; en el proestro, 50 ± 2.8 ; en el estro, 33 ± 3.5 .

De los animales inyectados en la bursa ovárica izquierda los valores obtenidos fueron: en el diestro 1, 7.5 ± 2.1 ; en el diestro 2, 9.7 ± 2.7 ; en el proestro, 18.2 ± 5.3 ; en el estro, 43.25 ± 13 .

Se presentó el mayor número de células durante el proestro, en las ratas inyectadas en la bursa ovárica derecha y durante el estro con en las ratas inyectadas en la bursa izquierda.

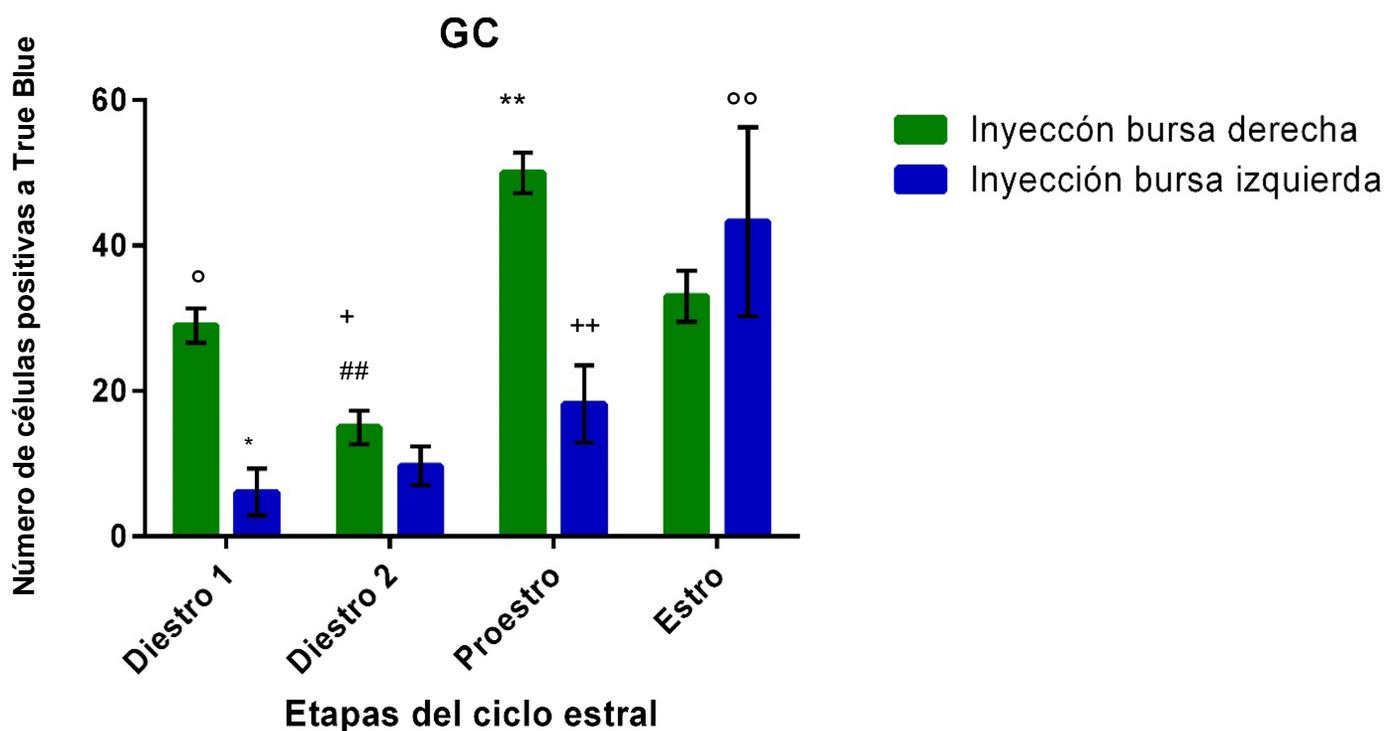


Fig. 13 Número de somas positivos a True Blue en el ganglio celíaco. Cada barra refiere a la media \pm error estándar de cuatro ratas. Hubo diferencias estadísticas entre las ratas inyectadas en la bursa ovárica derecha y las ratas inyectadas en la bursa ovárica izquierda en las etapas de: diestro 1 ($p < 0.05$) y proestro ($p < 0.01$). Hubo diferencias estadísticas entre las etapas del ciclo estral en los animales inyectados en la bursa ovárica derecha en: diestro 1 y proestro ($p < 0.05$), en diestro 2 y proestro ($p < 0.01$), diestro 2 y estro ($p < 0.05$). Hubo diferencias estadísticas entre las etapas del ciclo estral en los animales inyectados en la bursa ovárica izquierda en: el diestro 1 y el estro ($p < 0.01$), diestro 2 y estro ($p < 0.01$) (ANDEVA, dos vías seguida de poshoc Tukey $p < 0.05$).

GANGLIO SUPRARRENAL

En las ratas inyectadas en la bursa ovárica derecha el mayor número de células positivas a True Blue se presentó durante la etapa de diestro 2, con 38 ± 4.4 , y en las ratas inyectadas en la bursa ovárica izquierda fue en la etapa del proestro con 21.2 ± 3.3 (Fig. 14). Las medias en cada etapa del ciclo estral de las ratas inyectadas ($n=4$) en la bursa ovárica derecha fueron: en el diestro 1, 11 ± 4.9 ; en el diestro 2, 38 ± 4.4 ; en el proestro, 15 ± 2.8 ; en el estro, 25 ± 5 . De los animales inyectados en la bursa ovárica izquierda fueron: en el diestro 1, 13.5 ± 4.9 ; en el diestro 2, 10.5 ± 4.1 ; en el proestro, 21.2 ± 3.3 ; en el estro, 15.5 ± 5.8 .

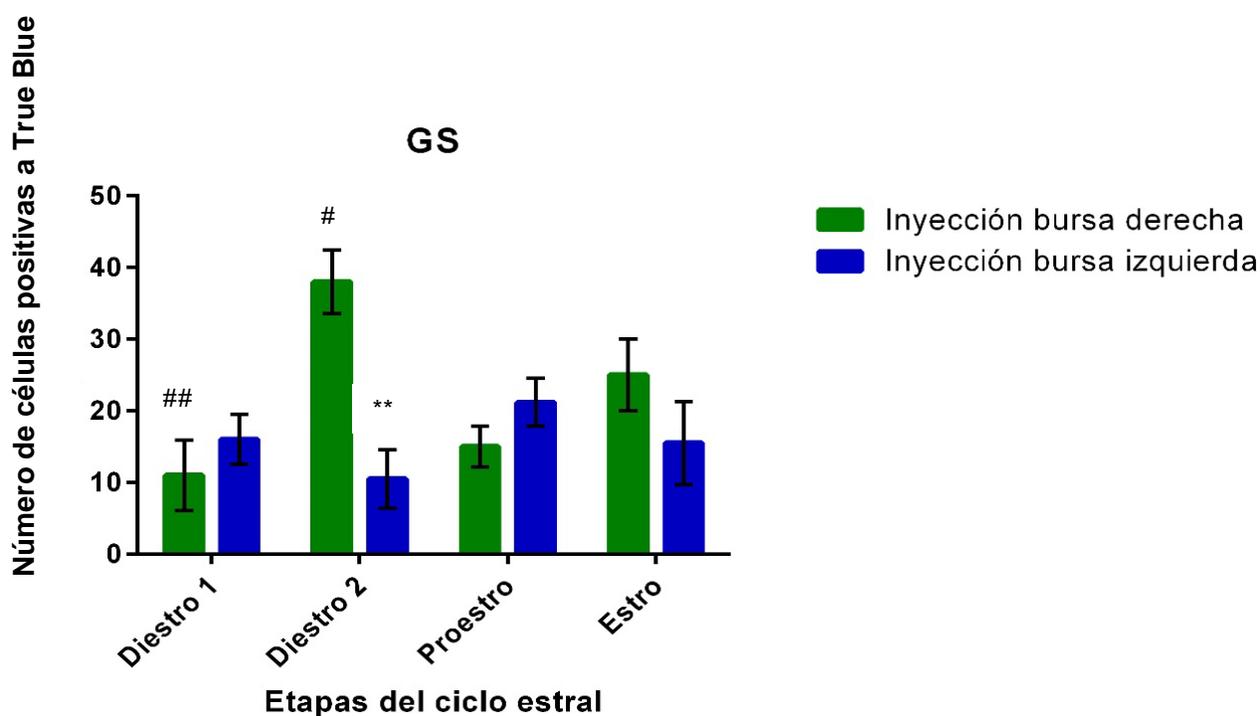


Fig. 14 Número de somas positivos a True Blue en el ganglio suprarrenal. Cada barra refiere a la media \pm error estándar de cuatro ratas. Hubo diferencias estadísticas entre las ratas inyectadas en la bursa ovárica derecha y las ratas inyectadas en la bursa ovárica izquierda en la etapa de: diestro 2 ($p < 0.01$). Hubo diferencias estadísticas entre las etapas del ciclo estral en los animales inyectados en la bursa ovárica derecha en: diestro 1 y diestro 2 ($p < 0.01$), diestro 2 y proestro ($p < 0.05$). No hubo diferencias estadísticas entre las etapas del ciclo estral en los animales inyectados en la bursa ovárica izquierda (ANDEVA, dos vías, seguida de poshoc Tukey $p < 0.05$).

GANGLIO MESENTÉRICO SUPERIOR

El número de neuronas positivas a True Blue durante el ciclo estral se graficó en la Figura 15. Note que en cada etapa del ciclo estral de las ratas inyectadas (n=4) en la bursa ovárica derecha fueron se encontraron: en el diestro 1, 1 ± 0.6 ; en el diestro 2, 2 ± 1.6 ; en el proestro, 10 ± 1.2 ; en el estro, 10 ± 2.3 neuronas. No hubo marcaje en las ratas inyectadas en la bursa izquierda. Este ganglio obtuvo el máximo número de neuronas marcadas durante proestro y estro con 10 ± 2 y 10 ± 2.3 respectivamente. No hubo diferencias significativas en las ratas inyectadas en la bursa ovárica derecha, entre las etapas del ciclo estral.

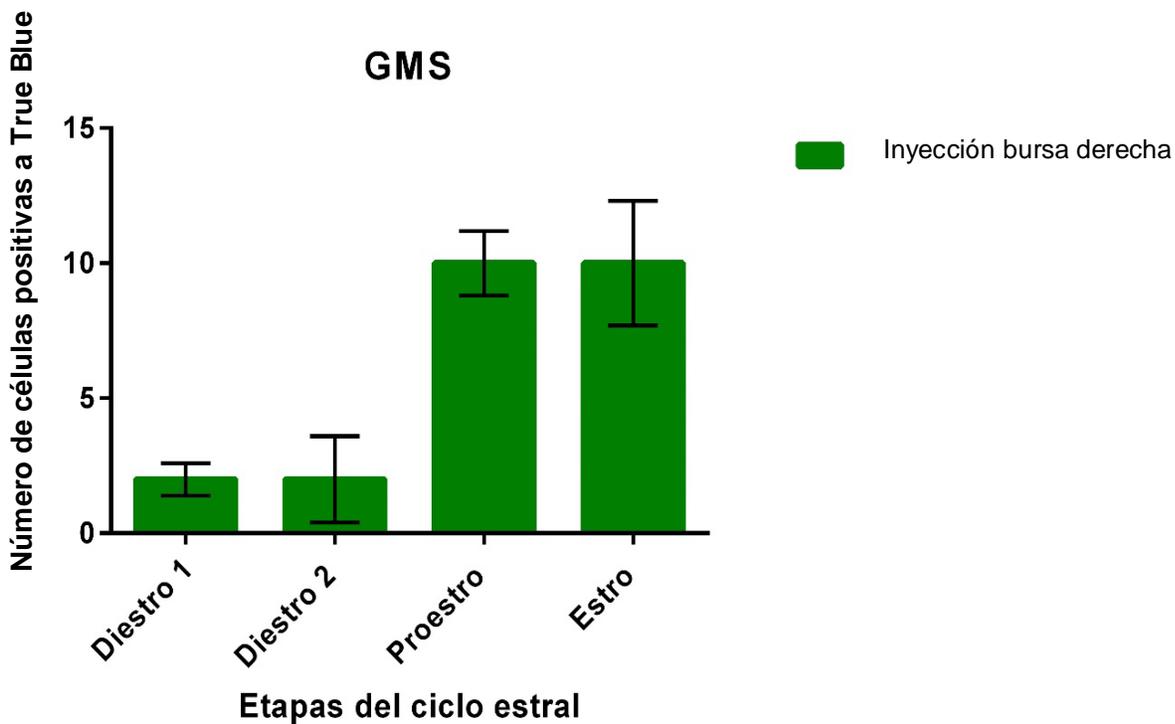


Fig. 15 Número de somas positivos a True Blue en el ganglio mesentérico superior. Cada barra refiere a la media \pm error estándar de cuatro ratas (ANDEVA, no paramétrico de una vía).

GANGLIO T12 DE LA RAÍZ DORSAL

Las medias del número de neuronas positivas a True Blue durante en el ganglio de la raíz dorsal T12 se muestran en la Figura 16. Cuando se inyectó en la bursa ovárica derecha se encontraron: en el diestro 1, 47 ± 7 ; en el diestro 2, 44 ± 9.1 ; en el proestro, 33 ± 3.7 ; en el estro, 28 ± 5.9 neuronas. De los animales inyectados en la bursa ovárica izquierda se encontraron: en el diestro 1, 5.5 ± 2.1 , en el diestro 2, 10.75 ± 4 ; en el proestro, 15 ± 8.7 ; en el estro, 35 ± 8.3 . El mayor número de neuronas marcadas con True Blue fue durante la etapa de diestro 1 con 47 ± 7 para las ratas inyectadas en la bursa derecha y durante la etapa del estro con 35 ± 8.3 para las ratas inyectadas en la bursa izquierda.

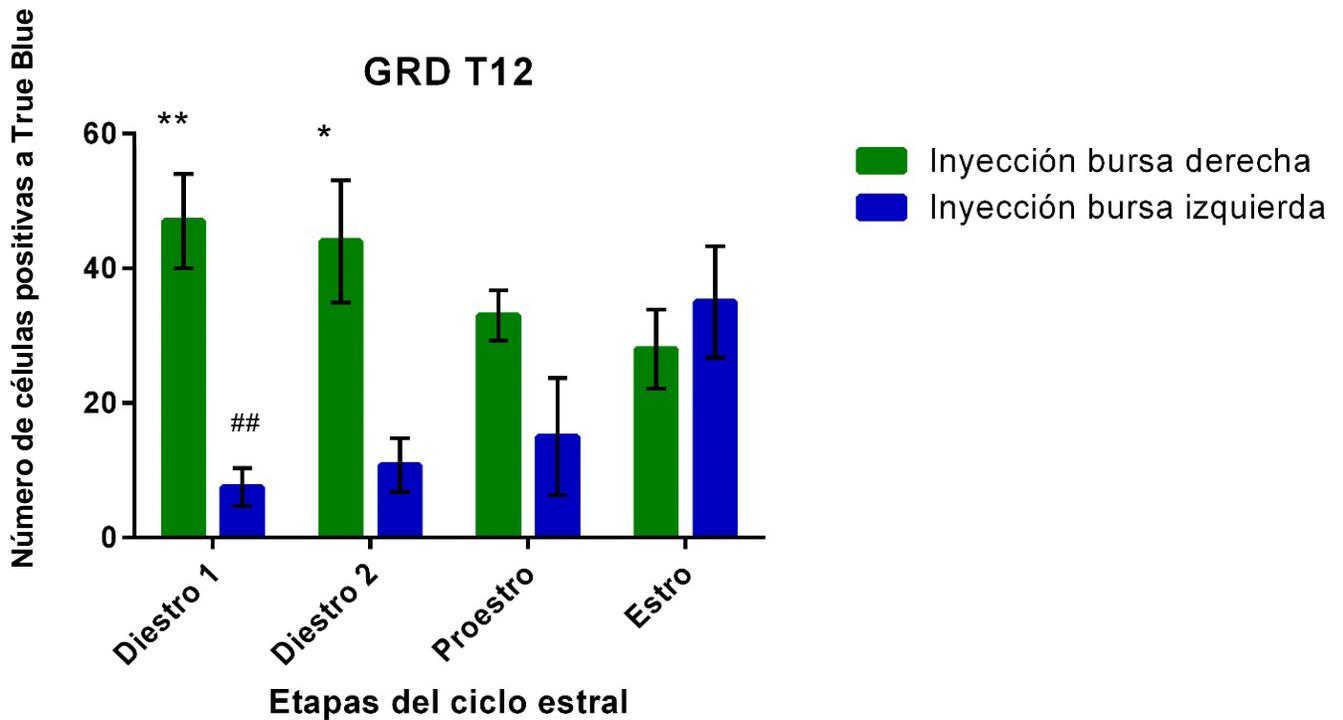


Fig. 16 Número de neuronas marcadas en el ganglio de la raíz dorsal T12. Cada barra refiere a la media \pm error estándar de cuatro ratas. Hubo diferencias estadísticas entre las ratas inyectadas en la bursa ovárica derecha y las ratas inyectadas en la bursa ovárica izquierda en las etapas de: diestro 1 ($p < 0.01$), diestro 2 ($p < 0.05$). Hubo diferencias estadísticas entre las etapas del ciclo estral en los animales inyectados en la bursa ovárica izquierda en: diestro 1 y estro ($p < 0.01$). No hubo diferencias estadísticas entre las etapas del ciclo estral en los animales inyectados en la bursa ovárica derecha (ANDEVA, dos vías, seguida de poshoc Tukey $p < 0.05$).

GANGLIO DE LA RAÍZ DORSAL T13

El mayor número de neuronas positivas a True Blue se encuentra en la etapa de proestro con 45 ± 4.04 en las ratas inyectadas en la bursa derecha y en el estro con 18.25 ± 5.1 en las ratas inyectadas en la bursa izquierda (Fig. 17). Las medias en cada etapa del ciclo estral de las ratas inyectadas ($n=4$) en la bursa ovárica derecha fueron: en el diestro 1, 20 ± 0.5 ; en el diestro 2, 15 ± 5.3 ; en el proestro, 45 ± 4.04 ; en el estro, 5 ± 2 . De los animales inyectados en la bursa ovárica izquierda fueron: en el diestro 1, 11 ± 2.8 ; en el diestro 2, 5.5 ± 2.6 ; en el proestro, 16.7 ± 4.6 ; en el estro, 18.25 ± 5.1 .

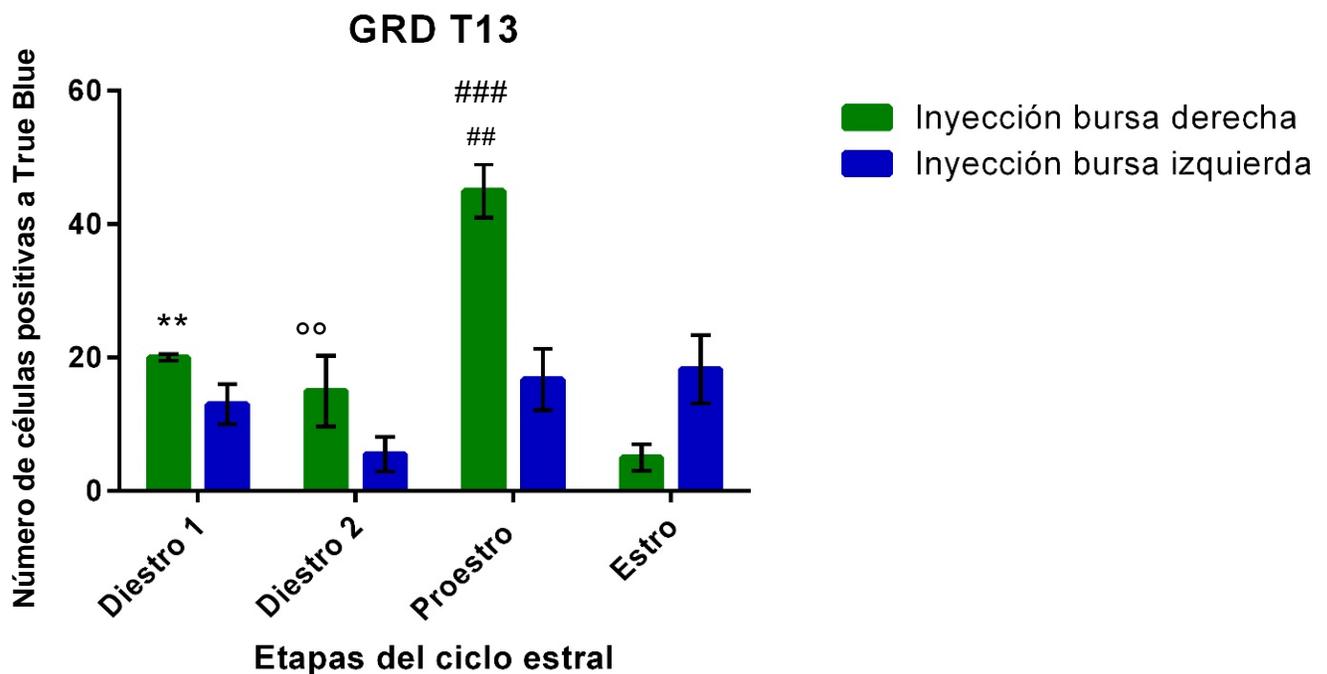


Fig. 17 Número de neuronas marcadas en el ganglio de la raíz dorsal T13. Cada barra refiere a la media \pm error estándar de cuatro ratas. Hubo diferencias estadísticas entre las ratas inyectadas en la bursa ovárica derecha y las ratas inyectadas en la bursa ovárica izquierda en la etapa de: proestro ($p < 0.01$). Hubo diferencias estadísticas entre las etapas del ciclo estral en los animales inyectados en la bursa ovárica derecha en: diestro 1 y proestro ($p < 0.01$), diestro 2 y proestro ($p < 0.01$), proestro y estro ($p < 0.001$). No hubo diferencias estadísticas entre las etapas del ciclo estral en los animales inyectados en la bursa ovárica izquierda (ANDEVA, dos vías, seguida de poshoc Tukey $p < 0.05$).

GANGLIO DE LA RAÍZ DORSAL L1

En este ganglio durante las etapas de diestro 1 y diestro 2, el número de neuronas positivas es estadísticamente menor que en las etapas de proestro y estro en los dos grupos (Fig. 18). Las medias en cada etapa del ciclo estral de las ratas inyectadas (n=4) en la bursa ovárica derecha fueron: 11 ± 3.9 en el diestro 1; 13 ± 4.7 en el diestro 2; 59 ± 1.5 en el proestro y 37 ± 5 en el estro.

De los animales inyectados en la bursa ovárica izquierda fueron: en el diestro 1, 9.5 ± 4.9 ; en el diestro 2, 12.5 ± 4.4 ; en el proestro, 25.5 ± 4.6 ; en el estro, 31.25 ± 5.9 .

El mayor número de somas positivos a True Blue es durante la etapa del proestro con 59 ± 1.5 en los animales inyectados en la bursa derecha y durante el estro en los animales inyectados en la bursa izquierda con 31.25 ± 5.9 .

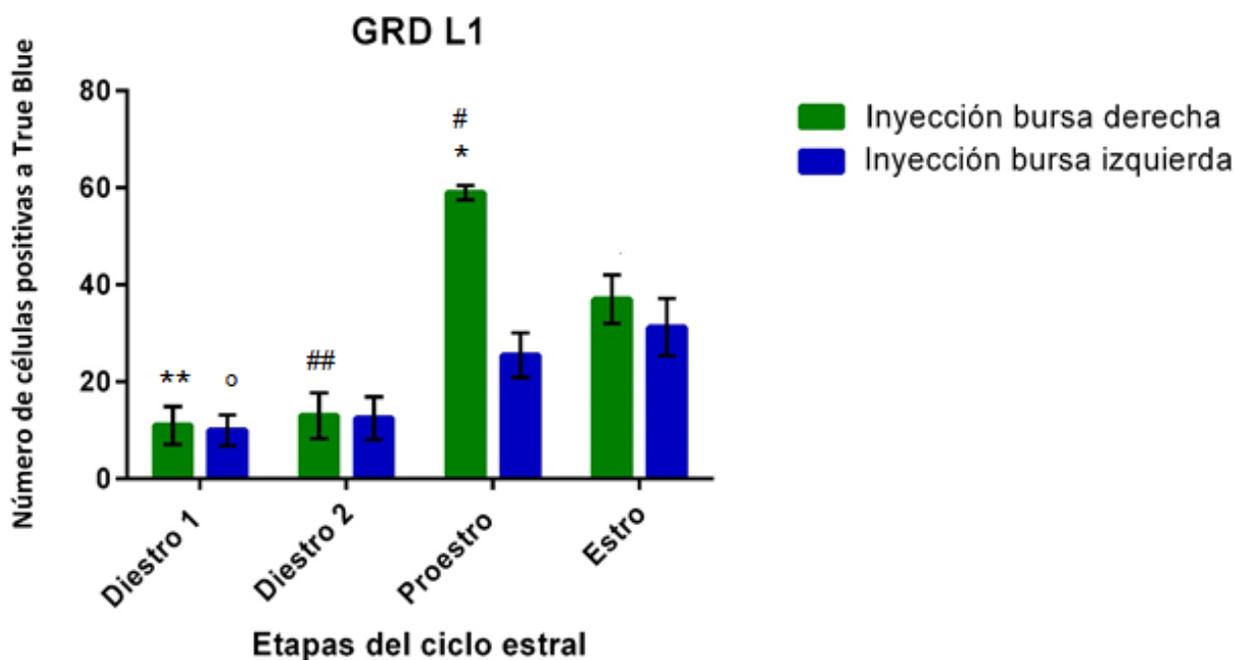


Fig. 18 Número de neuronas marcadas en el ganglio de la raíz dorsal L1. Cada barra refiere a la media \pm error estándar de cuatro ratas. Hubo diferencias estadísticas entre las ratas inyectadas en la bursa ovárica derecha y las ratas inyectadas en la bursa ovárica izquierda en la etapa de: proestro ($p < 0.05$). Hubo diferencias estadísticas entre las etapas del ciclo estral en los animales inyectados en la bursa ovárica derecha en: diestro 1 y proestro ($p < 0.01$), diestro 2 y proestro ($p < 0.01$), proestro y estro ($p < 0.05$). Hubo diferencias estadísticas entre las etapas del ciclo estral en los animales inyectados en la bursa ovárica izquierda en: diestro 1 y estro ($p < 0.05$) (ANDEVA, dos vías, seguida de poshoc Tukey $p < 0.05$).

GANGLIO DE LA RAÍZ DORSAL L2

El mayor número de neuronas positivas se encontraron en la etapa del proestro, con 40 ± 1.7 en las ratas inyectadas en la bursa derecha y 37.5 ± 4.2 en las inyectadas en la bursa izquierda durante el estro (Fig. 19). Las medias en cada etapa del ciclo estral de las ratas inyectadas ($n=4$) en la bursa ovárica derecha fue de: en el diestro 1, 5 ± 1.7 ; en el diestro 2, 35 ± 8.6 , en el proestro, 40 ± 1.7 ; en el estro, 13 ± 3.4 . De los animales inyectados en la bursa ovárica izquierda fueron: en el diestro 1, 4 ± 5.6 ; en el diestro 2, 6.5 ± 2.5 ; en el proestro, 30.75 ± 6.6 ; en el estro, 37.5 ± 4.2 .

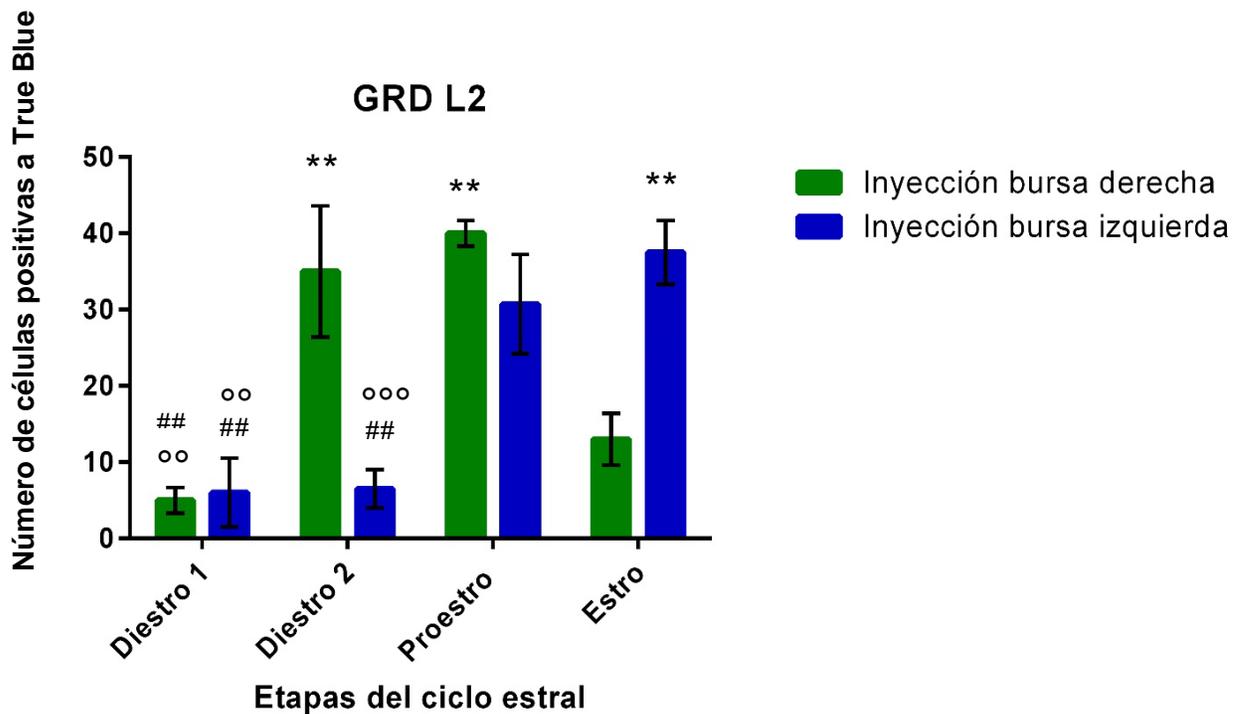


Fig. 19 Número de neuronas marcadas en el ganglio de la raíz dorsal L2. Cada barra refiere a la media \pm error estándar de cuatro ratas. Hubo diferencias estadísticas entre las ratas inyectadas en la bursa ovárica derecha y las ratas inyectadas en la bursa ovárica izquierda en la etapa de: diestro 2 ($p < 0.01$), estro ($p < 0.01$). Hubo diferencias estadísticas entre las etapas del ciclo estral en los animales inyectados en la bursa ovárica derecha en: diestro 1 y diestro 2 ($p < 0.01$), diestro 1 y proestro ($p < 0.01$), proestro y estro ($p < 0.01$). Hubo diferencias estadísticas entre las etapas del ciclo estral en los animales inyectados en la bursa ovárica izquierda en: diestro 1 y proestro ($p < 0.01$), diestro 1 y estro ($p < 0.01$), diestro 2 y proestro ($p < 0.01$), diestro 2 y estro ($p < 0.001$) (ANDEVA, dos vías, seguida de poshoc Tukey $p < 0.05$).

Cuadro 1. Número de neuronas positivas a True Blue a lo largo del ciclo estral, en las ratas inyectadas en la bursa ovárica derecha.

NEURONAS POSTGANGLIONARES								
Lado izquierdo					Lado derecho			
	Diestro 1	Diestro 2	Proestro	Estro	Diestro 1	Diestro 2	Proestro	Estro
GMS					1± 06	2± 1.6	10± 1.2	10± 2.3
GC	3± 1	13±1.6	25±2.8	23± 2.8	29± 2.4	15± 2.3	50± 2.8	33± 3.5
GS	1± 0.3	2± 0.3	15± 1.7	16± 3.2	11± 4.9	38± 4.4	15± 2.8	25± 5.0
CGS	4± .3	0	9± 2.1	4± 1.4	12± 6.0	13± 3.9	12 ± 1.1	11± 1.6
NEURONAS AFERENTES								
Lado izquierdo					Lado derecho			
	Diestro 1	Diestro 2	Proestro	Estro	Diestro 1	Diestro 2	Proestro	Estro
T12	1± 0.3	3± 1.4	1± 0.5	5± 2.3	47± 7	44± 9.1	33±3.7	28± 5.9
T13	1± 0.5	3± 1.5	2± 2	2± 2	20± 0.5	15± 5.3	45± 4.04	5± 2.0
L1	1± 0.5	2±.1.6	5± 0.3	10± 3.2	11± 3.9	13± 4.7	59± 1.5	37± 5.0
L2	0	2± 1.6	0	1± 0.5	5± 1.7	35± 8.6	40± 1.7	13± 3.4

Cuadro 2. Número de neuronas positivas a True Blue a lo largo del ciclo estral, en las ratas inyectadas en la bursa ovárica izquierda.

NEURONAS POSTGANGLIONARES								
Lado izquierdo					Lado derecho			
	Diestro 1 (n=3)	Diestro 2	Proestro	Estro	Diestro 1	Diestro 2	Proestro	Estro
CGS	14.8±3.3	13 ±3.9	22.2 ± 5	24.75 ±7.5			1.7 ± 2.3	3 ± 2.1
Gc	6.2 ± 3.2	9.7 ±2.7	18.2 ± 5.3	43.25 ± 9	2 ±1.4	3.25 ±1.8	8.7 ± 5.7	8 ± 1.4
Gs	16 ± 3.5	10.5 ± 4.1	21.2 ±3.3	15.5 ± 5.8		2 ± 2.1	4.25 ± 2.9	18 ± 2.1
NEURONAS AFERENTES								
Lado izquierdo					Lado derecho			
	Diestro 1	Diestro 2	Proestro	Estro	Diestro 1	Diestro 2	Proestro	Estro
T12	7.5± 2.8	10.75 ± 4	15 ± 8.7	35± 8.3				
T13	13 ± 3	5.5± 2.6	16.7 ± 4.6	18.25 ± 5.1				
L1	10 ± 3.2	12.5 ± 4.4	25.5 ± 4.6	31.25 ± 5.9				
L2	6 ± 4.5	6.5±2.5	30.75 ± 6.6	37.5 ± 4.2				

8. DISCUSIÓN

El presente estudio muestra las asimetrías y variaciones en el número de neuronas positivas a TB entre los ganglios prevertebrales (GMS, GS, GC) de la cadena simpática paravertebral (T8-T10) y de los ganglios de la raíz dorsal (T12-L2) con los ovarios de la rata en las diferentes fases del ciclo estral.

La idea de que las hormonas esteroides pudieran modificar la actividad neuronal y el transporte del TB durante las etapas del ciclo estral en las neuronas postganglionares del ganglio celíaco y mesentérico superior fue sugerido en trabajos previos (Skagerberg y cols. 1985, Morán y cols. 2005). Se ha reportado que la sección unilateral o bilateral del NOS en la rata adulta disminuye la tasa ovulatoria, por lo que los autores sugieren que la ovulación depende de la información simpática que transcurre por el NOS. Los mismos autores mostraron que la secreción de P4, T, E2 y FSH son moduladas por la inervación que llega por el NOS, la cual varía en función de la hora y del día del ciclo estral en que se realiza la denervación, y del tiempo transcurrido entre ésta y la autopsia (Morales y cols. 1998).

Baljet y Drukker (1979) describieron la inervación de los órganos abdominales de la rata, donde reportaron el origen de los nervios esplánicos mayores y menores, la localización del plexo celíaco y los ganglios que lo conforman, que el ganglio celíaco izquierdo es siempre más grande que el derecho y que el ganglio mesentérico superior está fusionado al ganglio celíaco izquierdo en la parte caudal. Resultados previos de nuestro laboratorio, confirman la descripción de los ganglios celíacos, pero difieren en la fusión del ganglio mesentérico superior con el ganglio celíaco izquierdo (Fig. 9. Pastelín y cols. 2015). Basados en esta última descripción donde el GMS está anatómicamente conectado al ovario derecho, en el presente trabajo describimos que cuando se administra el trazador en el ovario izquierdo no se encuentran neuronas positivas a TB en dicho ganglio lo que confirma la descripción anatómica (Cuadro 2). Berthoud y Powley (1996) describe la unión del GC izquierdo con el GMS en su parte rostral, en el presente trabajo consideramos que dicha descripción corresponde más bien a un lóbulo del GC izquierdo más que a un ganglio independiente.

El hecho de que el GMS este asociado exclusivamente al ovario derecho, además de confirmar que las vías de regulación neuronal entre los ovarios izquierdo y derecho son independientes; aporta evidencias de que la inervación que regula al ovario derecho es menos

directa que la del ovario izquierdo y que la relación del ovario derecho con los ganglios de la parte craneal (GS, GC, CGS) es diferente a la del ovario izquierdo, lo cual es evidente en las variaciones mostradas a lo largo del ciclo (Figs. 11, 12, 13, 18).

Klein y Burden (1988) reportaron que los ganglios de la raíz dorsal con mayor número de neuronas marcadas son de T11 a L1 y no encontraron asimetría significativa entre las neuronas postganglionares provenientes del NOS. Nance y col. (1988) reportan que los GRD que proyectan fibras hacia la vasculatura ovárica se encuentran en los ganglios T13-L1. Los resultados del presente trabajo presentan una visión diferente de la inervación ovárica que proviene de los GRD, ya que da evidencia de que dicha inervación proviene de los GRD T12- L2 y que el número de neuronas que transportan TB hacia los somas en los GRD varía en función de la etapa del ciclo estral y del ovario (izquierdo o derecho) en el que es inyectado el trazador.

El efecto de espejo que se muestra en el conteo de neuronas positivas al TB de los ganglios de la raíz dorsal T12 izquierdos y derechos puede ser debido a un fenómeno homeostático, que involucra el envío de señales al sistema nervioso central, para la regulación de las funciones ováricas, hipótesis que fue planteada por nuestro grupo de trabajo (Domínguez y cols. 1989, Domínguez 2003).

Los resultados de este estudio muestran que durante la etapa de proestro hay un mayor número de neuronas positivas en las neuronas sensoriales del ovario derecho, esto puede ser debido al efecto del estradiol en dichas neuronas, se ha reportado que los nervios vaginales y uterinos tienen menores umbrales de estimulación durante las etapas del proestro y el estro temprano cuando los niveles de estrógenos son elevados (Robbins y cols. 1992, Bradshaw y cols. 1999). Estudios morfológicos de la expresión de receptores a estradiol (Papka y cols. 1997, Papka y Storey-Workley 2002) en neuronas sensoriales de la rata, muestran que el estradiol tiene un papel importante en la regulación de las características funcionales y estructurales de los nervios que inervan al aparato urogenital. Se ha reportado que los receptores a estradiol y el RNA mensajero de los receptores a estradiol se encuentran en las terminales nerviosas de las neuronas localizadas en los ganglios de la raíz dorsal L6-S1 cuyas fibras están relacionadas a la inervación del útero (Papka y cols. 1997) y de la vejiga urinaria (Bennett y cols. 2003), esto permite sugerir que el estradiol afecta la actividad de estas neuronas y a sus terminales periféricas en los órganos viscerales y concuerda con nuestros resultados que muestran una

mayor cantidad de neuronas marcadas con True Blue durante la etapa de proestro, en la cual se presenta altos niveles de estradiol comparado con las otras etapas.

Este trabajo complementa la información de estudios previos donde establecen la asimetría de la inervación ovárica espinal y supraespinal (Gerendai y Halász 1978, Gerendai y cols. 2002). La asimetría que se muestra entre el ovario derecho e izquierdo y las variaciones de dicha asimetría durante el ciclo en los ganglios prevertebrales, paravertebrales y GRD podrían dar una explicación a las diferencias fisiológicas entre el ovario izquierdo y derecho, como en el número de ovocitos liberados por el ovario derecho que es mayor al izquierdo en la rata (Ramírez y McCann 1964). En otras especies de mamíferos también se presentan asimetrías, en las aves sólo se desarrolla el ovario y oviducto izquierdo, la ovariectomía reactiva el ovario derecho que aumenta de tamaño, aunque no su función (Boneit 1923). En los murciélagos se ha reportado que la ovulación se produce predominantemente en el ovario derecho (Bleier y Enteshami 1981) y en los cerdos existen diferencias bioquímicas entre los ovarios izquierdo y derecho (Rao y Edgerton 1984).

En el presente trabajo se presentó marcaje contralateral en los ganglios prevertebrales, estos resultados se apoyan en las descripciones anatómicas macroscópicas realizadas en nuestro laboratorio donde se describe la conexión anatómica del ovario con los ganglios simpáticos involucrados en la regulación de sus funciones (Pastelín y cols. 2015) también se ha reportado marcaje contralateral en segmentos espinales torácicos y lumbares, en el asta intermedio lateral, lo que indica la conexión interna de la inervación simpática dentro de la medula espinal (Gerendai y cols. 2002). El marcaje contralateral en las cuatro etapas del ciclo estral, difiere con lo descrito por Klein y Burden (1988) donde el marcaje era únicamente ipsilateral en función al nervio (NOS o NPO), diferencias que pudieran radicar en el método utilizado, y a que en dicho estudio no se consideran las variaciones en el ciclo estral.

Durante la etapa del estro aumenta el marcaje contralateral en los ganglios prevertebrales, posiblemente por la acción de los altos niveles plasmáticos de estradiol en el número de conexiones neurales y la actividad de estas neuronas. Este trabajo aporta nueva información acerca de la relación del ovario con sus principales vías neuronales, analizando ganglios adicionales (GMS, CG) y considerando de manera individual a los ganglios prevertebrales (GC, GS) a los estudios ya mencionados, reportando las variaciones en el número de conexiones

activas durante el ciclo estral de la rata donde el transporte del trazador TB es homólogo con la actividad neuronal (Skagerberg y cols. 1985).

Los ganglios prevertebrales son objeto de estudio por su importancia en el tratamiento y diagnóstico de distintas patologías: El ganglio celíaco ha sido estudiado no solo por su participación en la inervación ovárica, sino también en su papel como herramienta de diagnóstico en el cáncer de pulmón y para el tratamiento del dolor crónico en el cáncer de páncreas (Seyed y cols. 2014, Gil y cols. 2011).

9. CONCLUSIONES

Existe asimetría en la inervación simpática entre los ovarios izquierdo y derecho de la rata. El ovario derecho tiene más inervación simpática que el ovario izquierdo. La asimetría se acentúa en las etapas de proestro y estro, debido a que hay un mayor número de neuronas positivas a True Blue en los ganglios paravertebrales y prevertebrales, en comparación con las etapas de diestro 1 y diestro 2.

El ganglio mesentérico superior solo inerva al ovario derecho. Dicha inervación no varía a en las etapas del ciclo estral.

El ovario derecho tiene más inervación sensorial que el ovario izquierdo. Dicha asimetría se acentúa en las etapas de diestro 2, proestro y estro y depende del ganglio de la raíz dorsal analizado.

El ovario derecho tiene mayor relación con los ganglios simpáticos contralaterales que el ovario izquierdo. El ovario derecho tiene relación con los ganglios sensoriales contralaterales T12, T13, L1, L2, el ovario izquierdo no tiene relación con ganglios sensoriales contralaterales.

Estudios posteriores podrían analizar el papel que toma la asimetría de la inervación simpática y sensorial de los ovarios en la rata y el efecto sobre esta de los niveles de estradiol, para poder entender más claramente cómo influye en la fisiología de los ovarios.

10. REFERENCIAS

1. Abram SE, Yi J, Fuchs A y Hogan QH. 2006. Permeability of injured and intact peripheral nerves and dorsal root ganglia. *Anesthesiology*. 105: 146-153.
2. Aguado LI y Ojeda SR. 1984. Prepubertal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervation. *Endocrinology*. 114: 1845-53.
3. Aguado LI. 2002. Role of the central and peripheral nervous system in the ovarian function. *Microsc Res Techniq*. 59: 462-473.
4. Ahmed CE, Dees WL y Ojeda SR. 1986. The immature rat ovary is innervated by vasoactive intestinal peptide (VIP)-containing fibers and responds to VIP with steroid secretion. *Endocrinology*. 118: 1682-9.
5. Baird DT, McNatty KP, Bolton A, Chambers P, Corker CS y McLean H. 1975. Concentration of oestrogens and androgens in human ovarian venous plasma and follicular fluid throughout the menstrual cycle. *J Endocrinology*. 71: 77-85.
6. Baljet B y Drukker J. 1979. The extrinsic innervation of the abdominal organs in the female rat. *Acta Anat*. 104: 243-267.
7. Baljet B y Drukker J. 1980. The extrinsic innervation of the pelvic organs in the female rat. *Acta Anat*. 107: 241-67.
8. Bennett HL, Gustafsson J y Keast JR. 2003. Estrogen receptor expression in lumbosacral dorsal root ganglion cells innervating the female rat urinary bladder. *Autonom Neurosci*. 105: 90-100.
9. Bentivoglio M, Kuypers H, Catsman-Berrevoets CE y Dann O. 1979. Fluorescent retrograde neuronal labeling in rat by means of substances binding specifically to adenine-thymine rich DNA. *Neurosci Lett*. 12: 235-40.
10. Bentivoglio M, Kuypers HG, Catsman-Berrevoets CE, Loewe H y Dann O. 1980. Two new fluorescent retrograde neuronal tracers which are transported over long distances. *Neurosci Lett*. 18: 25-30.

11. Berhoud R y Powley T. 1996. Interaction between parasympathetic and sympathetic nerves in prevertebral ganglia: morphological evidence for vagal efferent innervation of ganglion cells in the rat. *Microsc Res Techniq.* 35: 80-86.
12. Black MM y Lasek RJ. 1980. Slow components of axonal transport: two cytoskeletal networks. *J Cell Biol.* 86: 616-23.
13. Bleier WJ y Enteshami M. 1981. Ovulation following unilateral ovariectomy in the California leaf-nosed bat (*Macrotus californicus*). *J Reprod Fertil.* 63: 181-3.
14. Boneit J. 1923. Transformation expérimentale du sexe par ovariectomie précoce chez la poule domestique. *Acad Sci Paris.* 177: 1074-1077.
15. Bradshaw HB, Temple JL, Wood E y Berkley KJ. 1999. Estrous variations in behavioral responses to vaginal and uterine distention in the rat. *Pain.* 84: 187-197.
16. Brady ST, Lasek RJ y Allen RD. 1985. Video microscopy of fast axonal transport in isolated axoplasm: A new model for study of molecular mechanisms. *Cell Motil.* 5: 81-101.
17. Brady ST, Pfister KK y Leopold PL. 1990. Fast axonal transport in isolated axoplasm. *Cell Motil. Cytoskel.* 2: 22.
18. Brady ST, Tytell M, Heriot K y Lasek RJ. 1981. Axonal transport of calmodulin: a physiologic approach to identification of long-term associations between proteins. *J Cell Biol.* 89: 607-14.
19. Brady ST. 1991. Molecular motors in the nervous system. *Neuron.* 7: 521-33.
20. Brown A, Wang L y Jung P. 2005. Stochastic simulation of neurofilament transport in axons: “the stop-and-go” hypothesis. *Mol Biol Cell.* 16: 4243-4255.
21. Brown A. 2003. Axonal transport of membranous and nonmembranous cargoes: a unified perspective. *J Cell Biol.* 160: 817-21.
22. Burden HW, Lawrence IE Jr, Louis TM y Hodson CA. 1981. Effect of abdominal vagotomy on the estrus cycle of the rat and the induction of pseudopregnancy. *Neuroendocrinology.* 33: 218-222.
23. Burden HW, Leonard M, Smith CP y Lawrence IE Jr. 1983. The sensory innervations of the ovary: a horseradish peroxidase study in the rat. *Anat Rec.* 207: 623-627.
24. Calakos N y Scheller RH. 1996. Synaptic vesicle biogenesis, docking, and fusion: a molecular description. *Physiol Rev.* 76: 1-29.

25. Chávez R, Cruz ME y Dominguez R. 1987. Differences in the ovulation rate of the right and left ovary in unilaterally ovariectomized rats: Effect of ipsi- and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. *J Endocrinol.* 113: 397-401.
26. Curtis H, Barnes Sn, Schnek A y Massarini A. 2011. *Biología de los Animales*. En: *Biología*. Editorial Medica Panamericana. ARG Buenos Aires. pp. 790.
27. De Lemos C y Pick J. 1966. The fine structure of thoracic sympathetic neurons in the adult rat. *Z Mikrosk Anat Forsc.* 71: 189-206.
28. Dees WL, Ahmed CE y Ojeda SR. 1986. Substance P- and vasoactive intestinal peptide-containing fibers reach the ovary by independent routes. *Endocrinology.* 119: 638-41.
29. Domm LV. 1924. Sex reversal following ovariectomy in the fowl. *P Soc Exp Biol Med.* 22: 28-35.
30. Freeman ME. 1988. The ovarian cycle of the rat. En: *Physiology of Reproduction*. Knobil E y Neil J. Raven Press Ltd. USA New York. pp. 1893-1928.
31. Gabella G. 2004. Autonomic nervous system. En: *The Rat Nervous System*. Paxinos G. El Sevier Academic Press. USA San Diego. pp. 81-103.
32. Garret W, McBride RL, Williams JK Jr y Feringa ER. 1991. Fluoro-Gold's toxicity makes it inferior to True Blue for long-term studies of dorsal root ganglion neurons and motoneurons. *Neurosci Lett.* 128: 137-9.
33. Gerendai I y Halász B. 1978. Neural participation in ovarian control. *Trends Neurosci.* 1: 87-88.
34. Gerendai I, Banczerowsky P y Halász B. 2005. Functional significance of the innervation of the gonads. *Endocrine.* 28: 309-318.
35. Gerendai I, Kocksis K y Halász B. 2002. Supraspinal connections of the ovary: structural and functional aspects. *Microsc Res Techniq.* 59: 474-83.
36. Gil A, Ribeiro A, Reis I, Rocha-Lima C, Sleeman D, Merchan J y Levi J. 2011. EUS visualization and direct celiac ganglia neurolysis predicts better pain relief in patients with pancreatic malign (with video). *Gastrointest Endosc.* 73: 267-274.
37. Goodman AL y Hodgen GD. 1983. The ovarian triad of the primate menstrual cycle. *Recent Prog Horm Res.* 39: 1-73.

38. Groome NP, Illingworth PJ y O'Brien M. 1996. Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab.* 8: 1401-5.
39. Hamer DW y Santer RM. 1981. Anatomy and blood supply of the coeliac-superior mesenteric ganglion complex of the rat. *Anat Embryol (Berl).* 162: 353-62.
40. Hammerschlag R, Stone GC, Bolen FA, Lindsey JD y Ellisman MH. 1982. Evidence that all newly synthesized proteins destined for fast axonal transport pass through the Golgi apparatus. *J Cell Biol.* 93: 68-75.
41. Houdeau E, Rosseau A, Meusnier C, Prud'Homme MJ y Rousseau JP. 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.
42. Jimenez-Andrade JM, Herrera MB, Ghilardi JR, Vardanyan M, Melemedjian OK y Mantyh PW. 2008. Vascularization of the dorsal root ganglia and peripheral nerve of the mouse: implications for chemical-induced peripheral sensory neuropathies. *Mol Pain.* 4: 10.
43. Kilen SM y Schwartz NB. 1999. *Encyclopedia of the Reproduction.* Academic press. USA New York. pp. 894-915.
44. Klein CM y Burden HW. 1988. Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary. *Neurosci Lett.* 85: 217-22.
45. Klein CM, Ray RH y Burden HW. 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.* 479: 194-200.
46. Krinke JG. 2000. *The laboratory rat.* Academic Press. Londres.
47. Kristensson K. 1987. Retrograde transport of macromolecules in axons. *Annu Rev Pharmacol.* 18: 97-110.
48. Lawrence IE y Burden HW. 1980. The origin of the extrinsic adrenergic innervation of the rat ovary. *Anat Rec.* 196: 51-59.
49. Lee RH y Mitchell CS. 2015. Axonal transport cargo motor count versus average transport velocity: is fast versus slow transport really single versus multiple motor transport? *J Theor Biol.* 370: 39-44.
50. Lennart H, Robards II y Martine J. 1981. *Neuroanatomical tract-tracing methods.* Plenum Press. New York.

51. Li Y, Jung P y Brown A. 2012. Axonal transport of neurofilaments: a single population of intermittently moving polymers. *J Neurosci.* 32: 746-758.
52. Matthews MR y Cuello AC. 1982. Substance P-immunoreactive peripheral branches of sensory neurons innervate guinea pig sympathetic neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 79: 1668-72
53. Merchant-Larios H y Centeno B. 1981. Morphogenesis of the ovary from the sterile W/W^v mouse. *Prog Clinic Biol Res.* 59B: 383-392.
54. Morales L, Chávez R, Ayala ME y Domínguez R. 1998. Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in prepubertal rats on the ovulatory response to gonadotrophin administration. *J Endocrinol.* 158: 213-9.
55. Morán C, Franco A, Morán JL, Handal A, Morales L y Domínguez R. 2005. Neural activity between ovaries and the prevertebral celiac-superior mesenteric ganglia varies during the estrous cycle of the rat. *Endocrine.* 26: 147- 52.
56. Morán D. 2009. Estudios de la participación del nervio ovárico superior en las conexiones entre el ovario y el ganglio celíaco-mesentérico superior en los diferentes días del ciclo estral de la rata. Tesis de Licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Pp. 1-15.
57. Oktem O y Oktay K. 2008. The ovary: anatomy and function throughout human life. *Ann NY Acad Sci.* 1127: 1-9.
58. Papka RE, Srinivasan B, Miller KE y Hayashi S. 1997. Localization of estrogen receptor protein and estrogen receptor messenger RNA in peripheral autonomic and sensory neurons. *Neurosci.* 79: 1153-63.
59. Ramirez VD y McCann SM. 1964. Fluctuations in plasma luteinizing hormone concentrations during the estrous cycle of the rat. *Endocrinology.* 74: 814-6.
60. Rao ChV y Edegeron LA. 1984. Dissimilarity of corpora lutea within the same ovaries or those from right and left ovaries of pigs during the oestrus cycle. *J Reprod Fertil.* 61-66.
61. Reyss-Brion M y Schiello D. 1980. Development of the steroid-producing cells during the transformation of the right gonad into a testis in ovariectomized chicks. *Gen Comp Endocrinology.* 40: 69-77.

62. Robbins A, Berkley K y Sato. 1992. Estrous cycle variation of afferent fibers supplying reproductive organs in the female rat. *Brain Res.* 596: 353-356.
63. Rothman JE y Wieland FT. 1996. Protein sorting by transport vesicles. *Science.* 272: 227-34.
64. Roy S. 2014. Seeing the unseen: The hidden world of slow axonal transport. *Neuroscientist.* 20: 71-81.
65. Seyed MA, Azadhe E, Sandeep SH, Yuen CH, Sarvenaz P, Sarabjeet S, Mannudeep K y Mukesh H. 2014. Depiction of celiac ganglia on positron emission tomography and computed tomography in patients with lung cancer. *Clinic Imag.* 38: 292-295.
66. Skagerberg G, Björklund A y Lindvall O. 1985. Further studies on the use of the fluorescent retrograde tracer True Blue in combination with monoamine histochemistry. *J Neurosci Methods.* 14: 25-40.
67. Smith RS. 1980. The short term accumulation of axonally transported organelles in the region of localized lesions of single myelinated axons. *J Neurocytol.* 9: 39-65.
68. Sterner MR, Fox EA y Powley TL. 1985. A retrograde tracer strategy using True Blue to label the preganglionic parasympathetic innervation of the abdominal viscera. *J Neurosci Methods.* 14: 273-80.
69. Sterner MR, Fox EA y Powley. 1985. A retrograde tracer strategy using True Blue to label the preganglionic parasympathetic innervation of abdominal viscera. *J Neurosci Methods.* 14: 273-80.
70. Tóth IE, Wiesel O, Boldogkoi Z, Bálint K, Tapasztai Z y Gerendai I. 2007. Predominance of supraespal innervation of the left ovary. *Microsc Res Tech.* 70: 710-8.
71. Tsukita S e Ishikawa H. 1980. The movement of membranous organelles in axons. Electron microscopic identification of anterogradely and retrogradely transported organelles. *J Cell Biol.* 84: 513-30.
72. Van Wagemen G y Simpsons ME. 1965. Embriology of the ovary and testis: *Homo sapiens* and *Macaca Mulatta*. Yale University Press.
73. Varon SS, Conner JM y Kuang RZ. 1995. Neurotrophic factors: Repair and regeneration in the central nervous system. *Restor Neurol Neurosci.* 8: 85-94.

74. Viores S, Viores M, Chiu C, Woerner T y Campochiaro P. 1997. Double labeling for keratin and class III β -tubulin within cultured retinal pigment epithelial cells. *J Histotechnol.* 20: 19-25.
75. Weidner C, Miceli D y Repérant J. 1983. Orthograde axonal and transcellular transport of different fluorescent tracers in the primary visual system of the rat. *Brain Res.* 272: 129-36.
76. Zhang S, Holmberg EG y Geddes JW. 2007. Artifactual dendritic beading in rat spinal cord induced by perfusion with cold saline and paraformaldehyde. *J Neuro Meth.* 163: 38-43.

11. APÉNDICE

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 es encargado de desplazar microtúbulos, neurofilamentos, proteínas de actina y proteínas relacionadas a actina, enzimas metabólicas, proteínas chaperonas, proteínas sinápticas involucradas en la endo/exocitosis, e incluso motores moleculares como la dineína y miosina. (Roy, 2014,) Los paquetes distribuidos a esta velocidad se mueven a una tasa de velocidad de aproximadamente de 0.2 a 1 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 (llamado “componente lento a” o por sus siglas en inglés 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 inglés SCb, slow component b) (Black y Lassek 1980, Brady y cols. 1981, Bray y cols. 1992). Los neurofilamentos se mueven rápidamente con velocidades espontáneas, de la misma forma que lo hacen las vesículas. Sin embargo, 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” (Brown 2003, Brown y cols. 2005, Li y cols. 2012). Sin embargo existe evidencia que contradice esta teoría y que propone con un modelo computacional, que la pausa de las moléculas motoras es una “obstrucción o enredamiento” seguida de un desprendimiento, y que el conteo de las moléculas motoras disponibles puede explicar el transporte lento y rápido (Lee RH y Mitchell CS 2015).

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, el axolema o un nódulo de Ranvier.

Hasta ahora lo confirmado por los estudios de video microscopía es que el transporte rápido es por medio de empaquetar el material en vesículas membranales (Calakos y Scheller 1996). 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 y cols 1981). Todas las proteínas destinadas al transporte rápido deben pasar por el aparato de Golgi para su procesamiento (Hammerschlag y cols. 1982) que incluye, glicosilación, sulfatación, así como, su clasificación después de ser procesadas en el aparato de Golgi, las vesículas salen transmembrana. Transportados 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, a tasas que van en los mamíferos entre 200 y 400 mm por día o del 2 al 5 m por segundo (Brady 1991). Estudios ultraestructurales 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 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 1985). La Microscopía de video ha permitido el estudio de los mecanismos moleculares a través de la observación directa de los movimientos de organelos.

En el transporte retrógrado son regresados al soma factores tróficos, material exógeno y componentes de desecho de la membrana. 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 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 1980, Brady 1990). El retorno de los materiales de dirección anterógrada a retrógrada se ve acompañado de un re-empaquetado de los componentes membranosos. Los mecanismos del re-empaquetado 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. Vesículas sinápticas fluorescentes normalmente se mueven en la dirección anterógrada, en suma, el tratamiento a vesículas fluorescentes sinápticas que normalmente viajan anterogradamente con el tratamiento previo de la proteasa estas vesículas resultan en su transporte en dirección retrógrada (Brady 1991).

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 y modulan la expresión génica neuronal. Los cambios en el retorno de sustancias tróficas desempeñan papeles críticos durante el desarrollo y la regeneración de neuritas (Varon 1995). El transporte retrógrado de sustancias exógenas también proporciona una vía para los agentes virales para entrar en el sistema nervioso central. 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 para la regulación de la expresión génica o para el re-empaquetado en el complejo de Golgi.