



**Universidad Autónoma de Tlaxcala**

---

**Posgrado en Ciencias Biológicas**

Efecto de la diabetes mellitus sobre las características  
morfométricas del ganglio pélvico mayor de ratas  
macho

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
**MAESTRO (A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Presenta

Aarón Pérez Gutiérrez

Director de Tesis

Directora: Dra. Yolanda Cruz Gómez

Tlaxcala, Tlaxcala

Noviembre 2022





**Universidad Autónoma de Tlaxcala**

---

**Posgrado en Ciencias Biológicas**

Efecto de la diabetes mellitus sobre las características  
morfométricas del ganglio pélvico mayor de ratas  
macho

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
**MAESTRO (A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Presenta

Aarón Pérez Gutiérrez

Comité Tutorial

Directora: Dra. Yolanda Cruz Gómez

Tutor: Dra. Margarita Juárez Romero

Tutor: Dr. Cesar Feliciano Pastelin Rojas

Tlaxcala, Tlaxcala

Noviembre 2022

La presente tesis se realizó en el laboratorio de Neurofisiología, en las instalaciones del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (Unidad Periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM), bajo la dirección de la Dra. Yolanda Cruz Gómez.

El financiamiento para la realización de este proyecto fue otorgado por parte de CONACyT (sistema de becas nacionales) a la Maestría en Ciencias Biológicas perteneciente al Padrón Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC), clave del becario:  
CVU- 1107974 (APG)



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

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Aarón Pérez Gutiérrez** 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 "Efecto de la diabetes mellitus sobre las características morfológicas del ganglio pélvico mayor de ratas macho".

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

**A T E N T A M E N T E**  
TLAXCALA, TLAX., A 24 DE NOVIEMBRE DEL 2022

  
\_\_\_\_\_  
DR. CÉSAR FELICIANO PASTELÍN ROJAS

  
\_\_\_\_\_  
DRA. YOLANDA CRUZ GÓMEZ

  
\_\_\_\_\_  
DRA. MARGARITA JUÁREZ ROMERO

  
\_\_\_\_\_  
DRA. ROSA ANGÉLICA LUCIO LUCIO

  
\_\_\_\_\_  
DR. JORGE ARELLANO HERNÁNDEZ

## COMITÉ ACADÉMICO POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Estimados Miembros del Comité Académico

Sirva este medio para describir el proceso de revisión de la Tesis de Maestría "Efecto de la diabetes mellitus sobre las características morfométricas del Ganglio Pélvico Mayor de ratas macho", realizada por el estudiante Lic. Aarón Pérez Gutiérrez para optar por su grado de Maestro en Ciencias Biológicas.

El documento de la Tesis fue revisado por mí como Directora de Tesis, antes de presentarse en cada examen semestral, y posterior a los exámenes tutorales los miembros de su Comité Tutorial emitieron sus observaciones. De esta forma, la Tesis pasó por un proceso de revisión por varios profesores expertos en el tema. En el mes de octubre de 2022, el documento fue procesado con el programa Turnitin, evidenciando 12% de similitud general. Examinando los detalles de la búsqueda se observó que las similitudes marcadas eran textos de la sección de introducción con palabras tales como neurona, diabetes, uretra, próstata, simpático, médula espinal, axones, etc. También hubo similitud en algunas secciones de métodos y discusión, pero los párrafos tenían la cita correspondiente, por lo que esta similitud no podría ser considerada como plagio. Por lo anterior, confirmo que el estudiante no incurrió en ninguna práctica no deseable en la escritura de la tesis.

Sin más por el momento, reciban atentos saludos.

Cordialmente

Tlaxcala, Tlax., a 15 de noviembre de 2022



Dra. Yolanda Cruz Gómez  
Directora de tesis

## **Agradecimientos**

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala y al Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta.

Se agradece Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo financiero que se recibió durante el periodo febrero 2021- julio 2022, clave del becario: CVU- 1107974 (APG)

Agradezco a los miembros del Comité Tutorial. A mi directora de tesis la Dra. Yolanda Cruz Gómez por darme la oportunidad de trabajar en su laboratorio, impulsarme a crecer tanto de forma profesional como personal, por demostrarme que las cosas con dedicación y esfuerzo se pueden lograr y por su apoyo y el tiempo invertido para la culminación de este trabajo.

A la Dra. Margarita Juárez Romero y al Dr. Cesar Feliciano Pastelín Rojas por su compromiso y dedicación para la revisión, corrección y/u opiniones de este trabajo.

Al comité de evaluación, el Dr. Cesar Feliciano Pastelín Rojas, la Dra. Yolanda Cruz Gómez, la Dra. Margarita Juárez Romero, la Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio y al Dr. Jorge Arellano Hernández.

Agradezco a la Dra. Margarita Juárez Romero por los consejos, las enseñanzas y el apoyo obtenido de su parte.

A mis compañeros del Laboratorio de Neurofisiología del CTBC, la Dra. Margarita Juárez Romero por los consejos, las enseñanzas y el apoyo obtenido de su parte, al Dr. José Luis Palacios Galicia, QC. Karla Zamora Sánchez, Ing. Ricardo Juárez Mirto, QC. Blanca Esthela Batana Reyes, QC. Eduardo Zamora y Lic. Ma. Isabel Pérez. Gracias a todos por el apoyo técnico, sus enseñanzas, sus consejos y comentarios sobre este trabajo, pero sobretodo agradezco su amistad.

## **Dedicatoria**

A mi familia: mi hijo Ismael Pérez Gutiérrez y mi esposa Efigenia Gutiérrez Morales por ser mi motor en la vida cada día, por su amor incondicional y por la gran felicidad que me han otorgado durante este tiempo.

A mis padres: Luis Pérez Pérez y Ma. Juana Gutiérrez De Casa por enseñarme a trabajar con esfuerzo, por los valores que me han inculcado, por su confianza y por el gran apoyo que han brindado a mí y a mi familia.

A mis hermanos: Omar C. y L. Arturo por creer en mí y por apoyarme en todo momento.



## Resumen

La Diabetes Mellitus (DM) es un trastorno fisiológico que se caracteriza por una condición de hiperglicemia crónica que afecta a diferentes funciones del organismo, incluyendo a las funciones pélvicas. Las complicaciones pélvicas causadas por la DM incluyen cistopatía y disfunción eréctil. El aumento en los volúmenes de orina y agrandamiento de la vejiga urinaria son cambios comunes. En contraste, las glándulas sexuales accesorias disminuyen de peso. Sin embargo, no se sabe si los cambios en tamaño que sufren los órganos urogenitales en la DM están relacionados con alteraciones en la inervación autonómica pélvica. En la rata, el Ganglio Pélvico Mayor (GPM) es el mayor hospedero de neuronas posganglionares de los órganos pélvicos. El GPM contiene cuerpos neuronales y células gliales tales como las Células Gliales Satélite (CGS) y Células Intensamente Fluorescentes (SIF). El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la DM sobre las neuronas y las células gliales del GPM. Se utilizaron 12 ratas macho adultas (300-350g de peso corporal) asignadas al grupo DM (n=6) o al grupo Sham (n=6). La inducción de diabetes se realizó mediante la administración de una sola dosis de estreptozotocina (STZ, 60 mg/kg de peso corporal). El grupo Sham sólo recibió la inyección del vehículo. 90 días post-inyección los animales fueron eutanizados y se colectó el GPM para ser procesado para histología, los cortes se tiñeron con hematoxilina-eosina. La caracterización morfométrica de neuronas y células gliales se llevó a cabo mediante el escaneo de microfotografías usando el software digital AxioVision. En las microfotografías se determinaron el número de células satélite asociadas a las neuronas y la densidad celular (número de neuronas y células gliales en áreas determinadas). Las STZ incrementó los niveles de glucosa ( $452.66 \pm 47.46$  EEM mg/dL). En el tejido nervioso de animales diabéticos se observaron alteraciones morfológicas tales como espacios perineuronales, conglomerados de células SIF, distribución desorganizada de las CGS, aumento en el número de vasos sanguíneos y disminución del tejido extracelular, probablemente por la disminución de fibras de colágeno. El área del soma de las neuronas postganglionares del GPM fueron significativamente mayor ( $P < 0.001$ ) en los animales diabéticos ( $472.06 \mu\text{m}^2 \pm 18.36 \mu\text{m}^2$  EEM) que en los animales del grupo sham ( $354.42 \mu\text{m}^2 \pm 10.04 \mu\text{m}^2$  EEM). El porcentaje del número de neuronas con dos o más nucléolos aumentó en animales con DM (Sham 32 % vs DM 51%) ( $P = < 0.05$ ). Sin embargo, la densidad de neuronas y células gliales fue significativamente menor en los animales de grupo DM ( $P < 0.05$ ). En conclusión,

la DM provoca efectos negativos en las neuronas y las células gliales del GPM. La hipertrofia neuronal y el aumento en el número de nucléolos sugieren una mayor actividad celular, posiblemente para regular procesos internos de las neuronas en respuesta al ambiente de estrés oxidativo crónico por la hiperglucemia. La disminución de la densidad neuronal y glial puede deberse a procesos apoptóticos o necróticos causados por los diferentes desordenes que provoca la DM (metabólicos, inflamatorios, neurodegenerativos y vasculares). Se requieren más estudios para determinar si los cambios observados son reversibles.

## Abreviaturas

### A

AP	arteria próstata	47
----	------------------	----

### B

BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro	19
------	--	----

### C

CGS	Células gliales satélite	21
-----	--------------------------	----

### D

DM	Diabetes mellitus	22
----	-------------------	----

### G

GA	Ganglios accesorios	30
GPM	Ganglio pélvico mayor	26

### N

N.Hg

Nervio hipogástrico	26	
<i>N.Pv</i>		
Nervio pélvico	26	
NA	Nervios accesorios	47
NC	Nervio cavernoso	47
ND	Neuropatía diabética	33
NGF	Factor de crecimiento neuronal	19

### P

PHI	Plexo hipogástrico inferior	23
-----	-----------------------------	----

### S

SIF	Células intensamente fluorescentes	28
SNA	Sistema Nervioso Autónomo	15
SNC	sistema nervioso central	19
SNP	sistema nervioso periférico	19
STZ	Estreptozotocina	35

## CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN .....	14
1.1 Sistema nervioso autónomo .....	14
1.2 Células gliales y sistema nervioso autónomo .....	18
2. ANTECEDENTES .....	22
2.1 Órganos pélvicos.....	22
2.2 Inervación autonómica pélvica de la rata.....	25
2.3 Distribución de las neuronas posganglionares .....	29
2.4 Diabetes mellitus.....	31
2.5 Modelos de diabetes mellitus en animales.....	33
2.5.1 Estreptozotocina .....	34
2.5.2 Efectos de la estreptozotocina .....	35
3. JUSTIFICACIÓN.....	39
4. HIPÓTESIS .....	40
5. OBJETIVOS.....	40
5.1 Objetivo general.....	40
5.2 Objetivos específicos .....	40
6. METODOLOGÍA .....	41
6.1 Animales .....	41
6.2 Diseño experimental .....	41
6.3 Procedimientos.....	43
6.3.1 Inducción de la diabetes mellitus .....	43
6.3.2 Obtención del tejido .....	44
6.3.3 Procesamiento para histología.....	44
6.4 Análisis de tejido .....	46
6.4.1 Caracterización morfométrica de las neuronas del ganglio pélvico mayor .....	46
6.4.2 Número de células gliales satélite asociadas a una neurona.....	47
6.4.3 Densidad celular.....	48
6.5 Análisis estadístico .....	49
7. RESULTADOS .....	50
7.1 Análisis cualitativo .....	51
7.2 Caracterización morfométrica de las neuronas del ganglio pélvico mayor .....	53
7.2.1 Área del soma.....	53
7.2.2 Número de nucléolos.....	55

7.3	Número de células gliales asociadas a una neurona .....	57
7.4	Densidad celular por zonas .....	60
7.4.1	Densidad neuronal.....	60
7.4.2	Densidad glial.....	62
8.	DISCUSIÓN.....	65
9.	CONCLUSIONES .....	68
10.	PERSPECTIVAS .....	69
11.	REFERENCIAS .....	70
12.	ANEXOS .....	74
12.1	Anexo 1.....	74
12.2	Anexo 2.....	75

# **1. INTRODUCCIÓN**

## **1.1 Sistema nervioso autónomo**

El sistema nervioso autónomo (SNA) está formado por redes neuronales que modulan la función de órganos periféricos a través del flujo continuo de información sensorial que transmiten las vísceras y los vasos sanguíneos a los centros de integración del sistema nervioso central. De esta forma se activan vías eferentes que dan respuesta a los estímulos manteniendo la homeostasis (Navarro, 2002; Darby, 2014; Gibbons, 2019).

El SNA se divide en sistema nervioso simpático, sistema nervioso parasimpático y sistema nervioso entérico. Este último inerva a órganos del tracto gastrointestinal, por lo que su función es anatómicamente limitada (Darby, 2014; Gibbons, 2019).

Tanto en el sistema nervioso simpático como en el parasimpático existen dos tipos de poblaciones neuronales, las neuronas preganglionares y las posganglionares. Las primeras se encuentran en las astas laterales de la médula espinal y se dirigen hacia un ganglio autónomo. Los somas de las neuronas posganglionares se agrupan en los ganglios autónomos. Sus axones son mayoritariamente amielínicos y proyectan hacia los órganos diana, Figura 1 (Navarro, 2002; Darby, 2014; Gibbons, 2019).

Los ganglios autónomos pueden ser simpáticos, paravertebrales o prevertebrales, o parasimpáticos. Los ganglios paravertebrales se encuentran de manera paralela formando una especie de cadena unida por fibras nerviosas que se dirigen hacia un sitio de relevo. Los ganglios prevertebrales, como los ganglios Celiacos y los mesentéricos, se encuentran mediales a las vértebras (Gibbons, 2019).

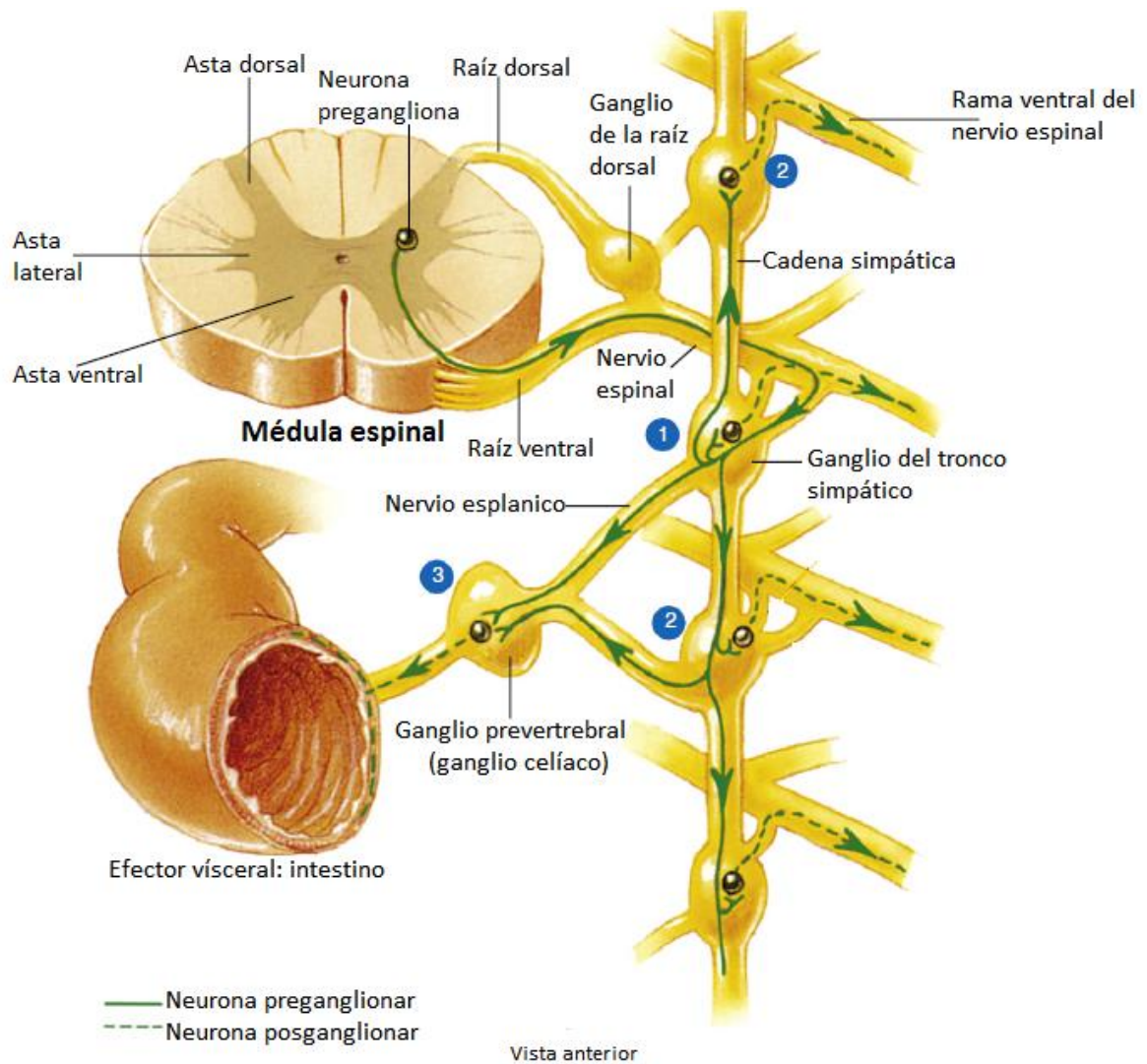


Figura 1. Inervación autonómica. Se muestra una neurona preganglionar y la sinapsis con las neuronas posganglionares. Note que la neurona presináptica se localiza en la región dorsolateral de la médula espinal y puede hacer sinapsis en un ganglio de la cadena simpática en el mismo nivel (1), o en algunas neuronas de diferente nivel (2), haciendo sinapsis en un ganglio ascendente o descendente. También puede pasar sin hacer sinapsis por los ganglios de la cadena simpática para llegar a un ganglio prevertebral donde realizan relevo con una neurona posganglionar (3). Modificado de Darby, 2014.

Los ganglios parasimpáticos están cerca a los órganos diana o en algunos casos dentro de las mismas vísceras (Gibbons, 2019). Las neuronas presinápticas de los ganglios paravertebrales y de los prevertebrales tienen su origen en los segmentos toracolumbares (de T1-L4) de la médula espinal (Darby, 2014; Gibbons, 2019).

Los ganglios paraviscerales o intramurales (se encuentran dentro de las vísceras) tienen comunicación con las neuronas preganglionares que provienen de una regiones craneales o sacras, Figura 2 (Darby, 2014; Gibbons, 2019).

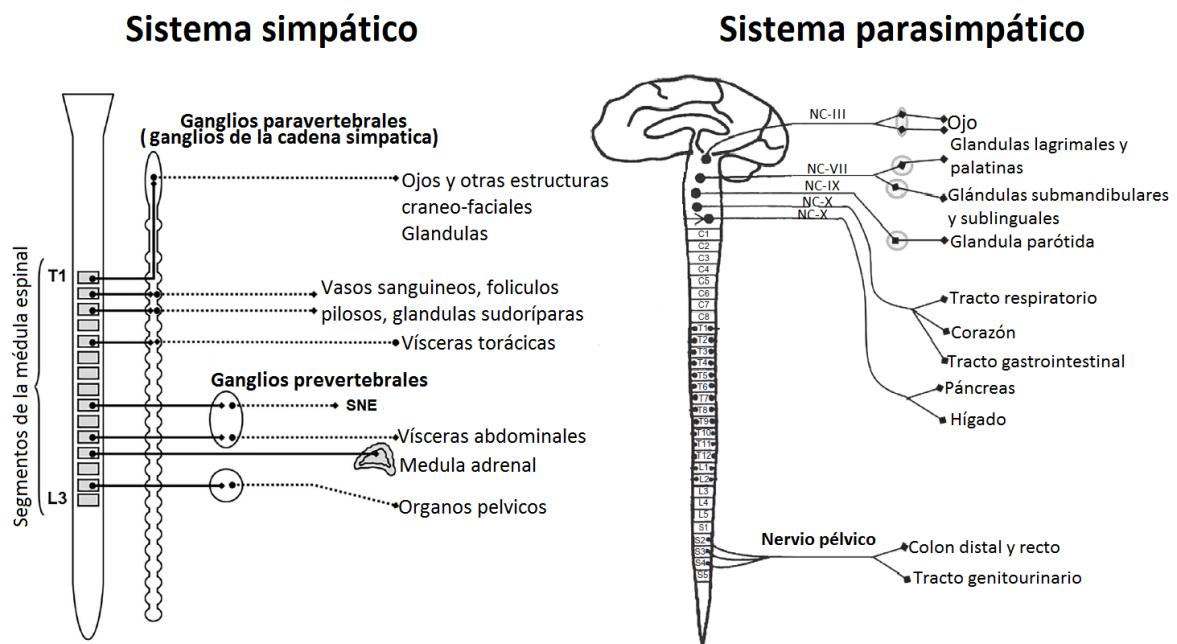


Figura 2. Sistema nervioso simpático y parasimpático. Se muestran los sitios de origen de las neuronas preganglionares y sitios relevo con las neuronas posganglionares (ganglios paravertebrales y prevertebrales para neuronas del sistema nervioso simpático y ganglios paraviscerales e intramurales para el sistema nervioso parasimpático), SNE (sistema nervioso entérico). Modificada de Gibbons, 2019.

Además de la diferente organización anatómica entre el sistema simpático y parasimpático, las neuronas de estos sistemas presentan características peculiares, por ejemplo, la longitud de los axones en las neuronas preganglionares parasimpáticas son mucho más largas en comparación con los axones de las neuronas preganglionares simpáticas. En contraste, los axones posganglionares simpáticos son de mayor longitud que la de los axones de neuronas posganglionares parasimpáticas (Navarro, 2002; Gibbons, 2019).

Otra diferencia entre neuronas simpáticas y parasimpáticas son sus propiedades bioquímicas. Mientras que las neuronas preganglionares de ambos tipos de inervación (simpática o parasimpática) producen acetilcolina como neurotransmisor, las neuronas posganglionares difieren en el tipo de neurotransmisor, siendo noradrenalina para las neuronas simpáticas y acetilcolina para neuronas parasimpática (Navarro, 2002).



En cuanto a los receptores en los que van a actuar los neurotransmisores, son muscarínicos para acetilcolina y  $\alpha$ -adrenérgicos o  $\beta$ -adrenérgicos para la noradrenalina, Figura 3 (Navarro, 2002; Gibbons, 2019).

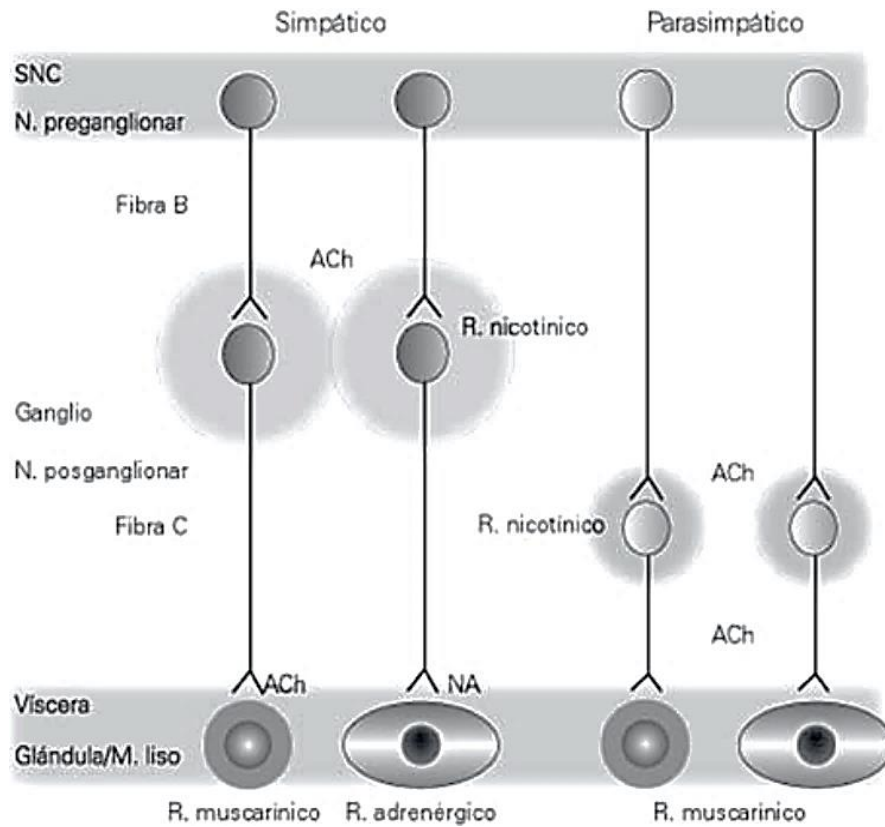


Figura 3. Neuronas simpáticas y parasimpáticas. Se muestran las diferencias entre las neuronas preganglionares y posganglionares tanto simpáticas como parasimpáticas. SNC (sistema nervioso central), ACh (Acetilcolina), NA (noradrenalina), Navarro, 2002.

## 1.2 Células gliales y sistema nervioso autónomo

El sistema nervioso presenta dos tipos de células, las neuronas y las células gliales. La función de las células gliales se consideraba limitada a soporte, protección y nutrición de las neuronas, sin embargo, en los últimos años se ha descrito una mayor participación en las funciones de comunicación, por ejemplo en la sinapsis tripartita (Talaverón, 2019). También se ha mostrado la capacidad de las células gliales en modular el microambiente y la transmisión sináptica (Hanani, 2010; Talaverón, 2019; Nazareth y col., 2021). Las células gliales pueden también facilitar la producción de factores neurotróficos que están involucrado en la regeneración neuronal, tales como el Factor de Crecimiento Neuronal (NGF), Factor Neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y Neurotrofinas (Hanani, 2010; Nazareth y col., 2021).

Hay dos tipos de células gliales, la microglía y la macroglía. Las primeras se encuentran en el Sistema Nervioso Central (SNC) y son células inmunitarias, macrófagos especializados en el reconocimiento y la fagocitosis de patógenos. Tienen un origen mesodérmico embrionario.

La macroglia está formada por células de soporte nutricional para las neuronas y procuran la homeostasis y brindan protección a través de mielina. Se agrupan en cuatro tipos celulares: astrocitos, células endoteliales, oligodendrocitos y células de Schwann y células satélite. Los tres primeros se encuentran en el SNC y los dos últimos en Sistema Nervioso Periférico (SNP), Figura 4 (Talaverón, 2019; Nazareth y col., 2021).

Los astrocitos son intermediarios en el paso de nutrientes del ambiente externo a las neuronas. También se les ha relacionado con la neurogénesis por su capacidad de fungir como célula madre para generar astrocitos u oligodendrocitos.

Las células endoteliales crean una barrera que funciona como un sistema de protección anatómico.

Los oligodendrocitos proveen la mielina a los axones de las neuronas, lo que favorece la conducción del potencial de acción y brinda protección (Talaverón, 2019; Nazareth y col., 2021).

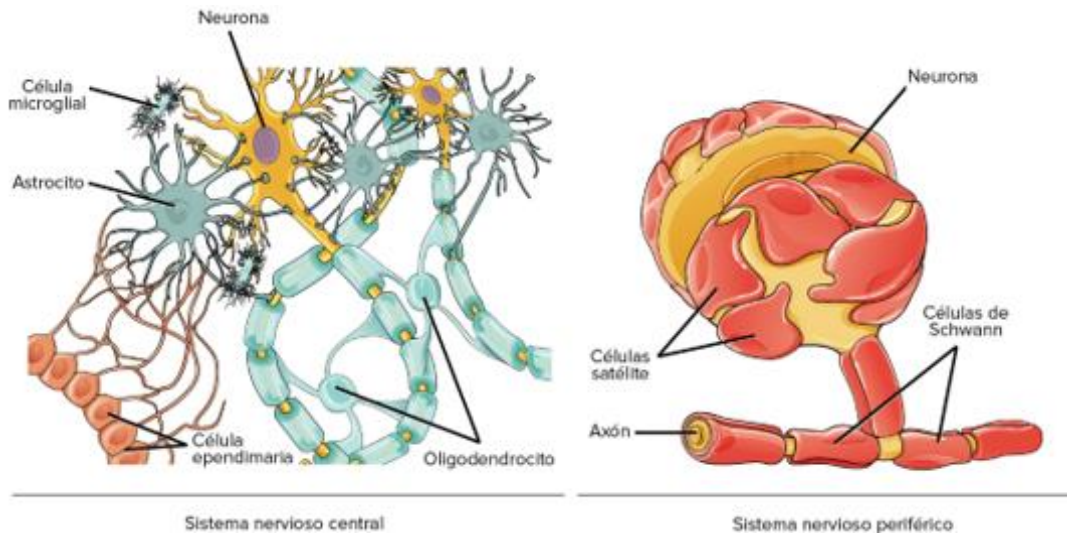


Figura 4. Células gliales. Se muestran los tipos de células gliales tanto del sistema nervioso central como del periférico. Imagen tomada del sitio <https://es.khanacademy.org/science/biology/human-biology/neuron-nervous-system/a/overview-of-neuron-structure-and-function>.

Las células de Schwann proveen mielina a los axones y promueven la regeneración celular mediante la liberación de factores neurotróficos. También contribuyen a la limpieza de zonas dañadas fagocitando a células muertas por procesos apoptóticos o necróticos, y promueven la llegada de macrófagos, Figura 5 (Nazareth y col., 2021).

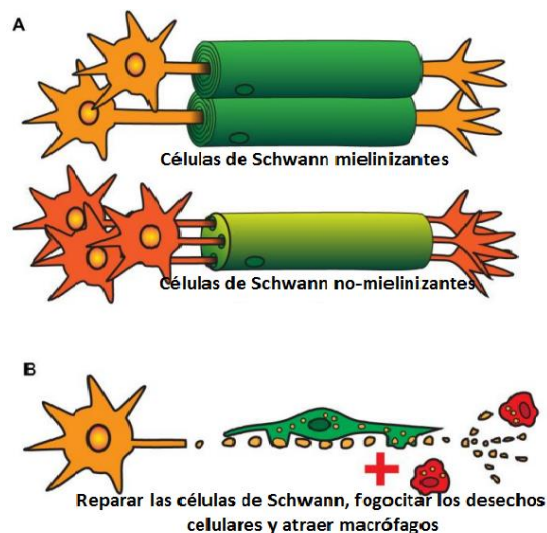


Figura 5. Función de las células de Schwann. A) Producción la mielina a los axones. B) Fagocitosis en una lesión nerviosa. Modificado de Nazareth y cols. 2021.

Las células gliales satélite (CGS) recubren a los somas de neuronas sensoriales y autonómicas. Su función es muy parecida a la de los astrocitos (Hanani, 2010). Sin embargo, a diferencia de éstos, las CGS no presentan ramificaciones dendríticas. Más bien son células planas que se encuentran muy cerca de la membrana neuronal (aproximadamente 20nm), Figura 6 (Hanani, 2010; Hanani y Spray, 2020), por lo que se considera que las CGS tienen la capacidad de modular la actividad de la neurona que recubren.

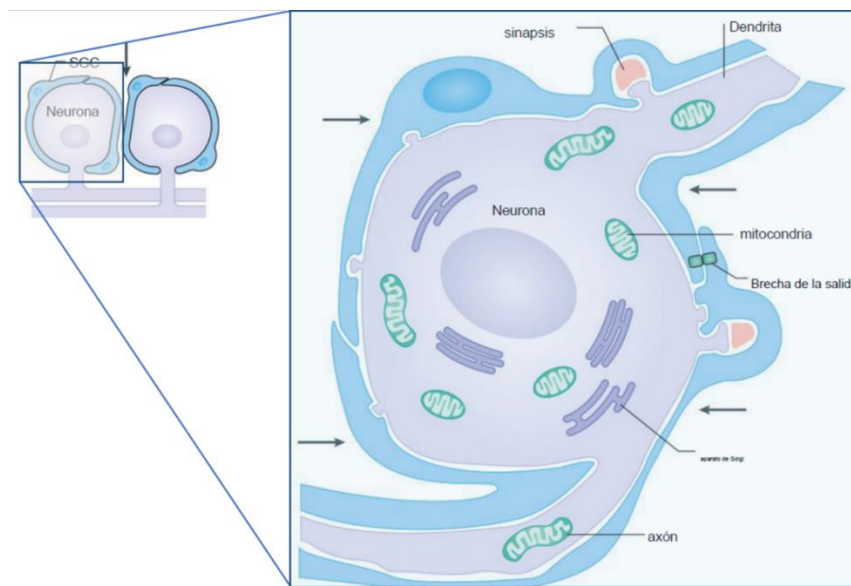


Figura 6. Células Gliales Satélite (CGS). Modificado de Hanani y Spray, 2020.

Las células satélite expresan canales de  $K^+$  y transportadores de glutamato, por lo cual en los ganglios autonómicos tienen la capacidad de modular la transmisión colinérgica de las neuronas, potenciando o disminuyendo la liberación de neurotransmisores (Enes y cols., 2020). También tienen funciones protectoras mediante la liberación de factores neurotróficos como el Factor de Crecimiento Neuronal (NGF) (Enes y cols., 2020; Hanani y Spray, 2020). Esto se ha descrito en neuronas sensoriales y simpáticas.

Sin embargo, hay poca información de las CGS en ganglios parasimpáticos como los pélvicos. Probablemente debido a que son ganglios que se encuentran en redes anatómicamente complejas, con estructura difusa en comparación a los ganglios simpáticos. Todo ello ha limitado su estudio, especialmente en especies con alta densidad nerviosa, como en el ser humano (Hanani, 2010).

En algunos animales, como los roedores, los ganglios parasimpáticos pélvicos son accesibles y menos complejos, por lo que es factible estudiarlos. Se pueden realizar estudios para determinar los cambios que pueden sufrir sus células en condiciones fisiológicas adversas como la DM, un trastorno endocrino-degenerativo altamente prevalente a nivel mundial que afecta las funciones pélvicas (Pop-Busui y cols. 2017; Velasco y cols. 2017; Bril y cols. 2018).

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 Órganos pélvicos**

Algunos de los órganos pélvicos masculinos son los siguientes: la próstata, las vesículas seminales, el pene y los testículos. En esta región corporal también se encuentra la vejiga urinaria y la uretra.

Los órganos pélvicos cumplen funciones excretoras, sexuales y reproductivas, y dependen del adecuado control del Sistema Endocrino (SE) y nervioso. El control endocrino es proveído principalmente por la hormona folículo estimulante (FSH), el estradiol (E2) y la testosterona. Estas hormonas se encargan de estimular a los órganos sexuales y participan en la gametogénesis.

El control nervioso se lleva a cabo a través de la activación de plexos nerviosos formados por nervios y ganglios. En el ser humano este plexo es conocido como hipogástrico inferior (PHI) (Darby, 2014; Rothlisberger y cols., 2018; Gibbons, 2019).

El PHI está compuesto por fibras simpáticas que se originan en regiones toracolumbares y fibras parasimpáticas provenientes de nervios con orígenes en regiones sacras. El PHI se comunica con el plexo hipogástrico superior y con el plexo sacro, Figura 7 (Fowler y cols., 2008; Rothlisberger y cols., 2018).

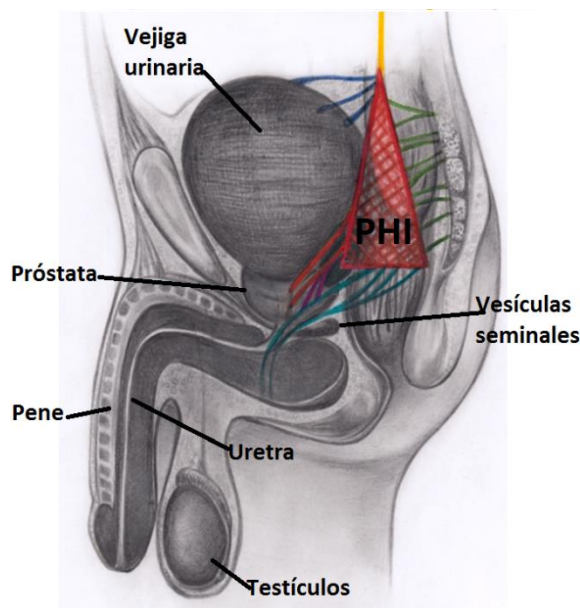


Figura 7. Plexo hipogástrico inferior (PHI). El PHI se representa como una estructura triangular de color rojo. En la parte superior el nervio hipogástrico se identifica en amarillo. Algunas fibras que descienden del nervio hipogástrico se dirigen a la vejiga urinaria (azul). Dorsal al PHI ingresan fibras nerviosas parasimpáticas, en color verde claro. De forma caudal emergen unas fibras nerviosas del PHI que se dirigen a los cuerpos cavernosos del pene, en verde oscuro. Modificado de Rothlisberger y cols. 2018.

Tanto el sistema nervioso simpático como el parasimpático interactúan con señales que provienen del sistema nervioso central (Darby, 2014; Rothlisberger y cols., 2018; Gibbons, 2019), y en algunas ocasiones el sistema nervioso somático también juega un papel importante en el control de las funciones autonómicas pélvicas, por ejemplo, en la micción (Fowler y cols., 2008; Gibbons, 2019).

La micción es un proceso fisiológico que requiere de control autónomo y somático. Este proceso se presenta en dos fases: la fase de almacenamiento (continencia urinaria) y la de expulsión de orina. La continencia urinaria está regulada por el sistema nervioso simpático cuyos axones neuronales viajan a través de los ganglios mesentéricos y el nervio hipogástrico, llegando a la base de la vejiga urinaria en donde activa a receptores adrenérgicos, acción que induce relajación del detrusor. También contrae el músculo liso de la uretra, evitando así la salida de orina (Fowler y cols., 2008; Darby, 2014).

La fase de expulsión es controlada por nervios parasimpáticos que hacen sinapsis con neuronas posganglionares del PHI, de donde emerge la inervación del músculo detrusor y que promueven su contracción a través de la activación de receptores muscarínicos.

La inervación somática es provista por las neuronas del núcleo de Ónuf (ubicado en médula espinal), cuyos axones descienden por los nervios pudendos y llegan a la musculatura estriada del esfínter externo de la uretra. La inervación somática controla la relajación o la contracción del músculo estriado uretral (esfínter externo de la uretra), Figura 8 (Fowler y cols., 2008; Darby, 2014).

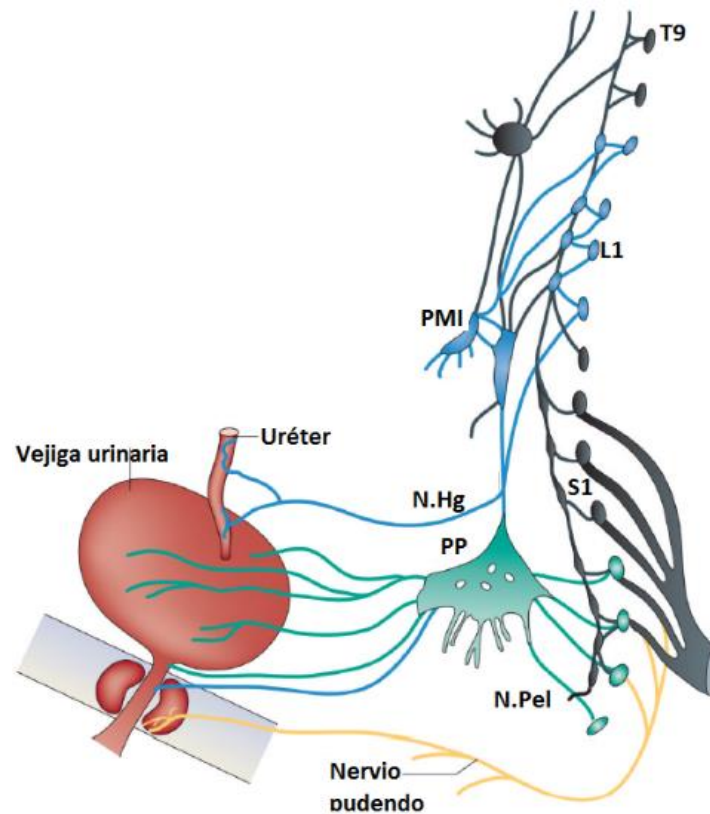


Figura 8: Inervación del tracto urinario inferior. Representa las principales estructuras y vías nerviosas del tracto urinario inferior. Las líneas azules indican fibras simpáticas, las verdes representan fibras parasimpáticas y las amarillas nervios motores somáticos. Plexo mesentérico inferior (IMP), nervio hipogástrico (N.HG), nervios pélvicos (N. PEL), plexo pélvico (PP) y T9, L1 y S1 indican segmentos de la médula espinal. Modificado de Fowler y cols., 2008.

La inervación de los órganos pélvicos ha sido estudiada en animales de laboratorio como la rata.



## 2.2 Inervación autonómica pélvica de la rata

La inervación autonómica de las vísceras pélvicas es provista por plexos pélvicos cuya organización varía entre las especies. En roedores como la rata, alrededor del 80 por ciento de las neuronas posganglionares que inervan a los órganos pélvicos se encuentran en un par de ganglios compactos denominados Ganglios Pélvicos Mayores (GPM), los cuales se encuentran ubicados de forma bilateral cada uno adosado al lóbulo lateral de la próstata, Figura 9 (Langworthi, 1965; Keast, 1989-a, 1989-b, 2006; Dail y cols., 1989; Kepper y Keast, 1995; Arellano y cols., 2019).

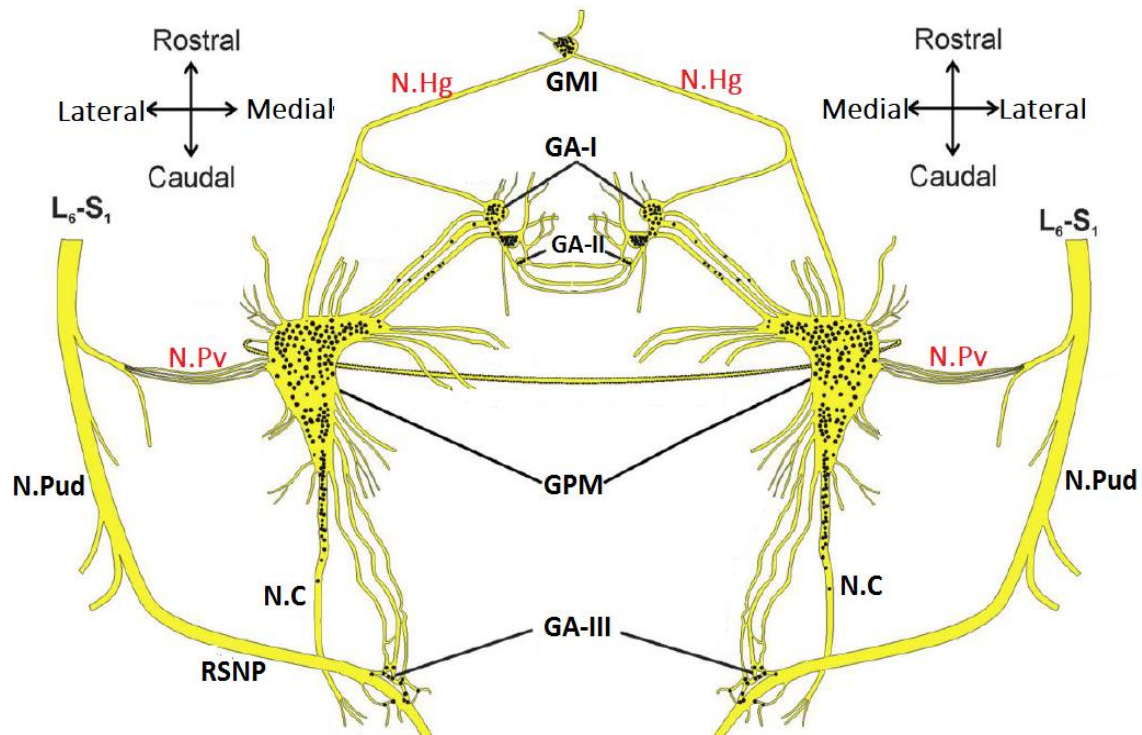


Figura 9. Plexo nervioso pélvico de la rata macho. Se muestran las estructuras principales tales como los Ganglios Pélvicos Mayores (GPM), los tres pares de ganglios accesorios (GAI, GAII y GAIII), el ganglio mesentérico inferior (GMI), el nervio hipogástrico (N.Hg), el pélvico (N.Pv), el pudendo (N.Pud), la rama sensorial del nervio pudendo (RSNP) y el nervio cavernoso (N.C). Los puntos representan a las neuronas posganglionares pélvicas. Modificado de Arellano y cols., 2019.

Las aferencias del GPM llegan a través de dos nervios principales, el hipogástrico y el pélvico (Langworthi, 1965; Purinton y cols., 1973; Keast, 1989-a; Kepper y Keast, 1995; Arellano y cols., 2019). También, existen conexiones nerviosas con otros ganglios de menor

tamaño denominados ganglios accesorios (GA), los cuales se encuentran junto a la base de los conductos deferentes (Keast, 1989-a; Kepper y Keast, 1995; Arellano y cols. 2019).

Los nervios pélvico e hipogástrico contienen axones sensoriales y motores, estos últimos de neuronas preganglionares cuyos somas se encuentran en la asta ventral de los segmentos lumbosacros de la médula espinal (Purinton y cols. 1973). El nervio pélvico se origina en los segmentos medulares lumbar 6 y sacro 1. Viaja junto a la arteria urogenital y entra al GPM en su región dorsolateral. El nervio hipogástrico se origina a partir del ganglio mesentérico inferior, viaja en el mesenterio del uréter y llega al borde craneal del GPM (Purinton y cols. 1973; Arellano y cols. 2019).

Un grupo de fibras nerviosas emergen de la parte dorso-caudal del GPM y forman al nervio cavernoso (N.C) que se dirige al pene y a la piel perineal (Langworthi, 1965; Dail y cols. 1989; Keast y cols. 1989).

Cada GPM es una estructura en forma de triángulo, en los machos posee una longitud aproximada de 3500  $\mu\text{m}$  en su eje mayor y 2200  $\mu\text{m}$  en el eje menor, se encuentra adosado al lóbulo lateral de la próstata. Del ganglio emergen aproximadamente 30 nervios que inervan al colon distal, a la uretra, al conducto deferente, a las glándulas sexuales accesorias, al pene y a la vejiga urinaria, Figura 10 (Langworthi, 1965; Keast, 1989-a, 1989-b, 2006; Dail y cols., 1989; Kepper y Keast, 1995; Arellano y cols., 2019).

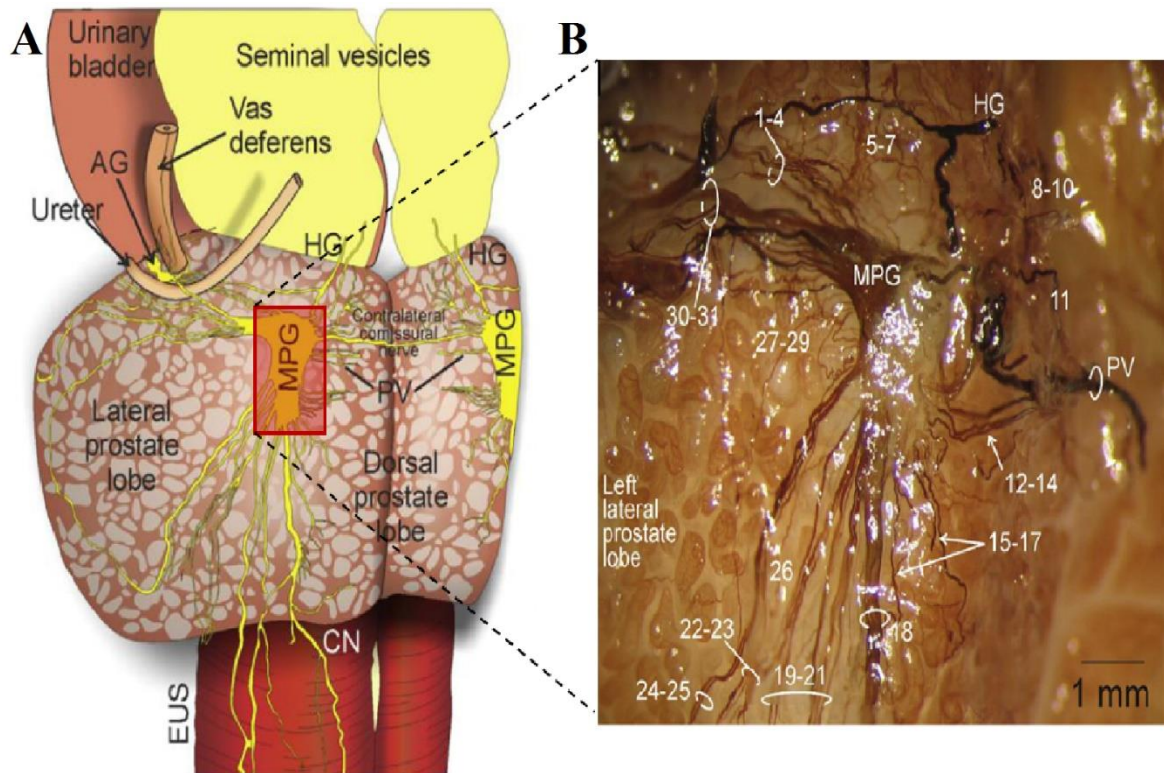


Figura 10. Ganglio Pélvico Mayor de la rata macho. En A) se muestra la ubicación del GPM en el lóbulo lateral de la próstata. Note la distribución de las fibras nerviosas. En B) se muestra un GPM tratado con la técnica de acetilcolinesterasa. Se aprecia cada fibra nerviosa que emerge del GPM. Modificado de Arellano y cols., 2019.

El GPM está conformado por cuerpos neuronales, fascículos nerviosos que llevan vías tanto aferentes como eferentes, vasos sanguíneos que transporta nutrientes y oxígeno a las células nerviosas, células intensamente fluorescentes (SIF) que funcionan como un tipo de interneuronas, células gliales satélite que forman parte de la glía neuronal y tejido conectivo, Figura 11 (Langworthi, 1965; Keast, 1989-a, 2006; Dail y cols., 1989; Kepper y Keast, 1995; Arellano y cols., 2019).

En el GPM existen aproximadamente 14 mil cuerpos neuronales que proyectan sus axones hacia los órganos del tracto urogenital (Arellano y cols., 2019). Estas neuronas son de tipo ovaladas, con un núcleo redondo (algunas células son binucleadas) y con 1 ó 2 nucléolos. El tamaño del soma de estas neuronas puede variar desde  $100 \mu\text{m}^2$  a  $1300 \mu\text{m}^2$ , la mayoría de las neuronas tiene un tamaño entre  $300\text{-}600 \mu\text{m}^2$ , Figura 11 (Arellano y cols. 2019).

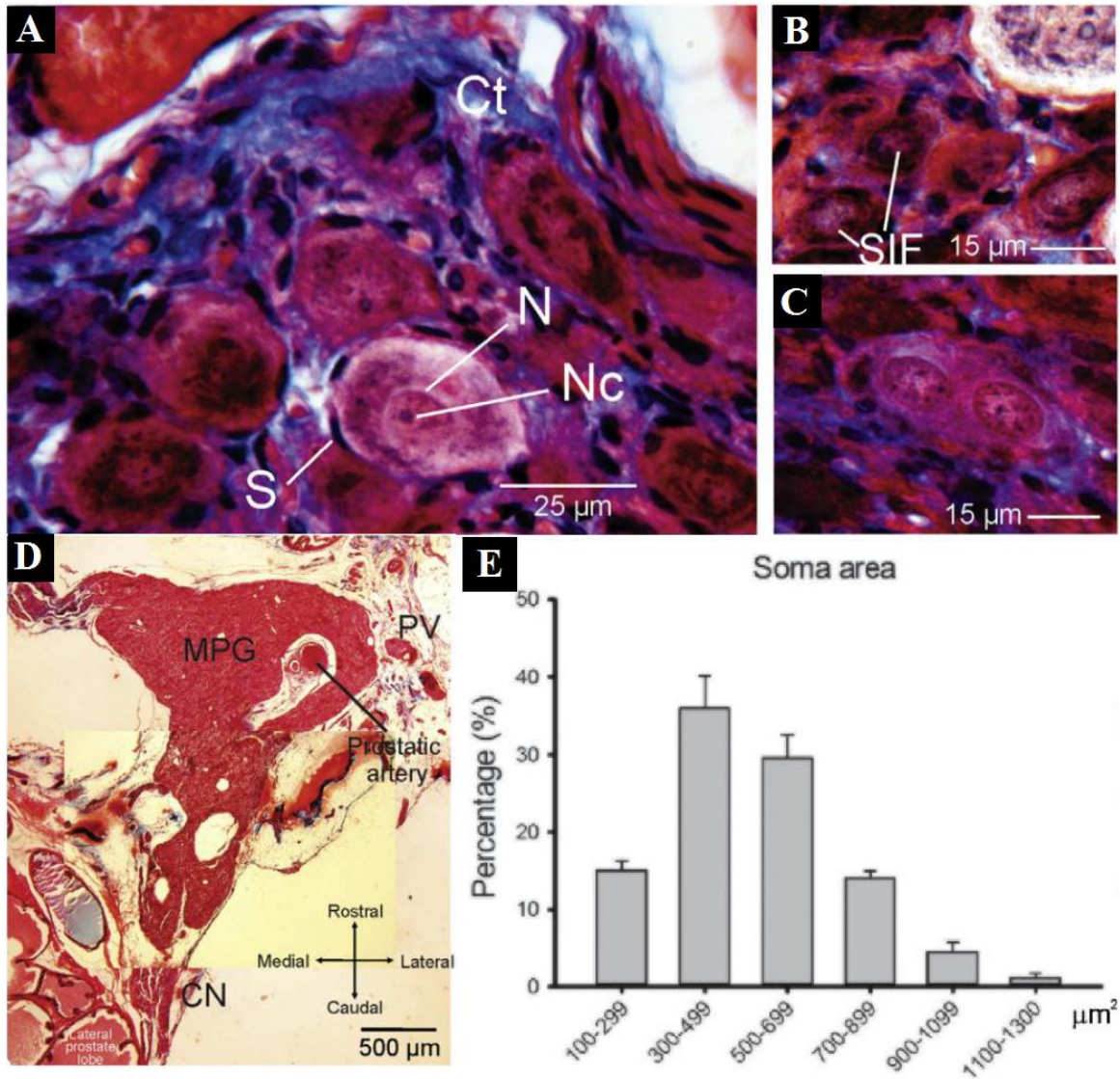


Figura 11. Neuronas posganglionares del GPM. A) Microfotografía de los componentes del GPM. Se notan neuronas posganglionares rodeadas de células satélite y tejido conectivo (Ct) en el cual pasan algunos fascículos nerviosos. B) Microfotografía del GPM. Se aprecian células intensamente fluorescentes (SIF). C) Muestra una célula posganglionar binucleada del GPM. D) corte trasversal del GPM. Algunas estructuras de referencia son la arteria prostática, el nervio pélvico y el cavernoso. En E) grafica de la distribución del porcentaje de neuronas del GPM de acuerdo con su tamaño. Modificado de Arellano y cols., 2019

La variación en el tamaño de las neuronas posganglionares del GPM se atribuye a las características bioquímicas que poseen. Las neuronas grandes son de tipo adrenérgico e inervan principalmente a órganos sexuales tales como las vesículas seminales y los conductos deferentes. Las neuronas de menor tamaño contienen el neurotransmisor acetilcolina e inervan a órganos excretores como la vejiga y el colon (Keast, 1989-b; Arellano y cols., 2019).



### 2.3 Distribución de las neuronas posganglionares

Se ha realizado un estudio sobre la ubicación de las neuronas del GPM y la relación con el órgano que inervan. Keast, et al. (1989-a) dividió al GPM en cuatro cuadrantes tomando como referencia la ubicación de los nervios pélvico, hipogástrico, el cavernoso y las fibras que se proyectan desde la parte rostral a los GA; Ver Figura 12. El primer cuadrante se ubica en la parte ventral, donde emergen fibras que se dirigen a la vejiga, y a las glándulas accesorias (la zona contraria al nervio cavernoso). La segunda zona se encuentra por la desembocadura del nervio hipogástrico, el tercer cuadrante en la parte rostral-dorsal, en la que se encuentra la vena principal (denominada arteria prostática) y en la que llega el nervio pélvico. El cuarto cuadrante abarca la zona por donde emerge el nervio cavernoso, Figura 12 (Keast, 1989-a; Kepper y Keast, 1995).

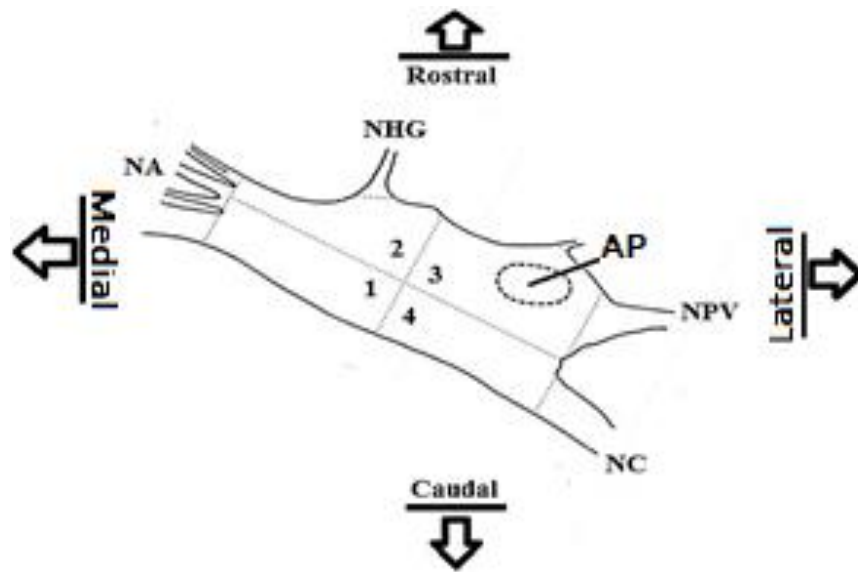


Figura 12. Ganglio Pélvico Mayor (GPM). Se representa un corte transversal del GPM el cual se ha dividido en 4 zonas. Note la ubicación de los nervios accesorios (NA), el nervio hipogástrico (NHG), el pélvico (NPV), el cavernoso (NC) y la arteria prostática (AP).

Las neuronas del GPM que inervan al pene se hallan cerca del nervio cavernoso o dentro de él (Dail y cols. 1989; Keast, 1989-a; Kepper y Keast, 1995). Las neuronas que se dirigen al recto se encuentran en una parte lateral del GPM, los órganos sexuales como la próstata y las glándulas sexuales accesorias son inervados por neuronas que se encuentran

en la parte medial del GPM. Así entonces las células nerviosas que inervan a los órganos pélvicos tienen una distribución topográfica en el GPM (Keast, 1989-a; Kepper y Keast, 1995), con excepción de las neuronas que inervan a la vejiga urinaria, pues se localizan en todo el GPM, Figura 13 (Keast, 1989-a; Kepper y Keast, 1995).

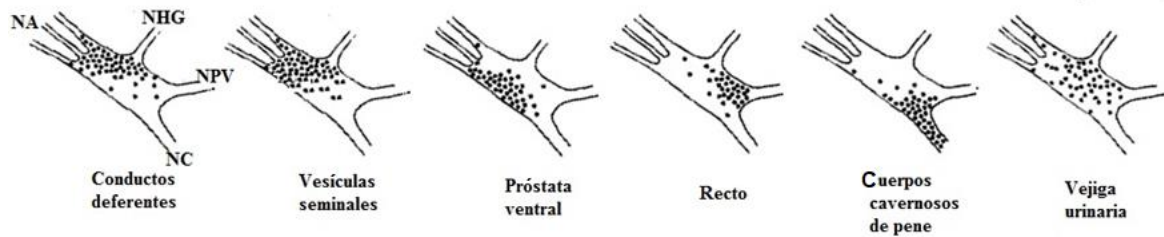


Figura 13. Distribución topográfica de las neuronas posganglionares del Ganglio Pélvico Mayor (GPM). Se muestra un esquema de la ubicación de las neuronas posganglionares del GPM que inervan a diferentes órganos pélvicos como los conductos deferentes, las glándulas sexuales, el recto y la vejiga urinaria. Los esquemas representan cortes transversales de un GPM izquierdo.

Las características de las neuronas posganglionares del GPM pueden verse afectadas con patologías que afectan al sistema nervioso, como la diabetes.

## 2.4 Diabetes mellitus

La Diabetes Mellitus (DM) es una condición de hiperglucemia crónica derivada de una deficiencia en la secreción de insulina o la inadecuada función de la hormona o ambas (International Diabetes Federation, 2021).

La insulina es una hormona producida en las células  $\beta$  del páncreas, su principal función es permitir la entrada de la glucosa circulante a las células del organismo. Una alteración en la función de esta hormona puede producir desordenes metabólicos no solo en los niveles de glucosa, sino que también aumenta el metabolismo de grasas y de las proteínas (Reyes y Plancarte, 2008; Petersmann y cols., 2019).

La DM incrementa los niveles plasmáticos de glucosa (glucosuria) y a largo plazo se convierte en un trastorno de tipo crónico (International Diabetes Federation, 2019; Petersmann y cols., 2019).

Los principales síntomas de la DM son: poliuria, polidipsia, polifagia y la pérdida de peso. La poliuria es el aumento en la frecuencia y volumen de micción durante un día. La polidipsia es la sensación de sed insaciable y la polifagia es la necesidad del consumo de alimento (Nascimento, 2016; Pop-Busui y cols., 2017).

La DM se clasifica en:

Diabetes tipo 1. Es denominada autoinmunitaria. Se produce por la destrucción de las células  $\beta$  del páncreas, lo que provoca la disminución o la nula secreción de la insulina.

Diabetes tipo 2. Es causada principalmente por la inadecuada acción de la insulina en la célula, lo que disminuye la apropiada captación de glucosa, esto se conoce como resistencia a la insulina.

Diabetes gestacional. Se define como intolerancia a la glucosa que inicia y se mantiene durante el embarazo, aunque en la mayoría de los casos es de tipo pasajero regresando a la normalidad después del parto.

Los altos niveles de glucosa a largo plazo pueden producir daños multiorgánicos tales como lesiones de vasos sanguíneos, que conllevan a problemas macrovasculares y microvasculares. Entre los primeros se encuentran cardiopatía isquémica, accidentes

cerebrales vasculares y enfermedades vasculares periféricas. Los problemas microvasculares pueden ser nefropatía, retinopatía y neuropatías (Nascimento, 2016; Pop-Busui y cols., 2017).

Las Neuropatías Diabéticas (ND) son trastornos clínicos que afectan a diferentes partes del sistema nervioso, ocasionando lesiones en las fibras sensitivas, motoras y autonómicas. Están presentes en más del 50% de pacientes con alrededor de 10 años de evolución de DM (Velasco y cols. 2017).

La ND autonómica afecta también las funciones pélvicas, produciendo signos y síntomas clínicos de disfunción neurovascular, gastroparesia, y problemas genitourinarios tales como disfunción sexual, vejiga hiperactiva o hipo activa (Pop-Busui y cols. 2017; Brill y cols. 2018).



## 2.5 Modelos de diabetes mellitus en animales

Los animales de laboratorio han sido de gran utilidad para el estudio y la caracterización de fisiopatologías crónicas como la DM, así como para la evaluación de nuevos procesos de terapia y tratamiento *in vivo* (Fulman, 2015; Al-Awar y cols., 2016; Jin y cols., 2021).

En roedores la DM puede ser inducida mediante la creación de cepas genéticamente modificadas para el desarrollo espontáneo de DM autoinmune (para simular DM1), o para desarrollar resistencia a la insulina (modelos de DM2), Figura 14 (Al-Awar y cols., 2016; Jin y cols., 2021).

Otra forma de inducir DM es mediante el uso de agentes químicos como la estreptozotocina (STZ), un antibiótico que lesiona células  $\beta$  de los islotes del Langerhans del páncreas (Furman, 2015; Al-Awar, y cols., 2016; Goyal y cols., 2016; Jin y cols., 2021).

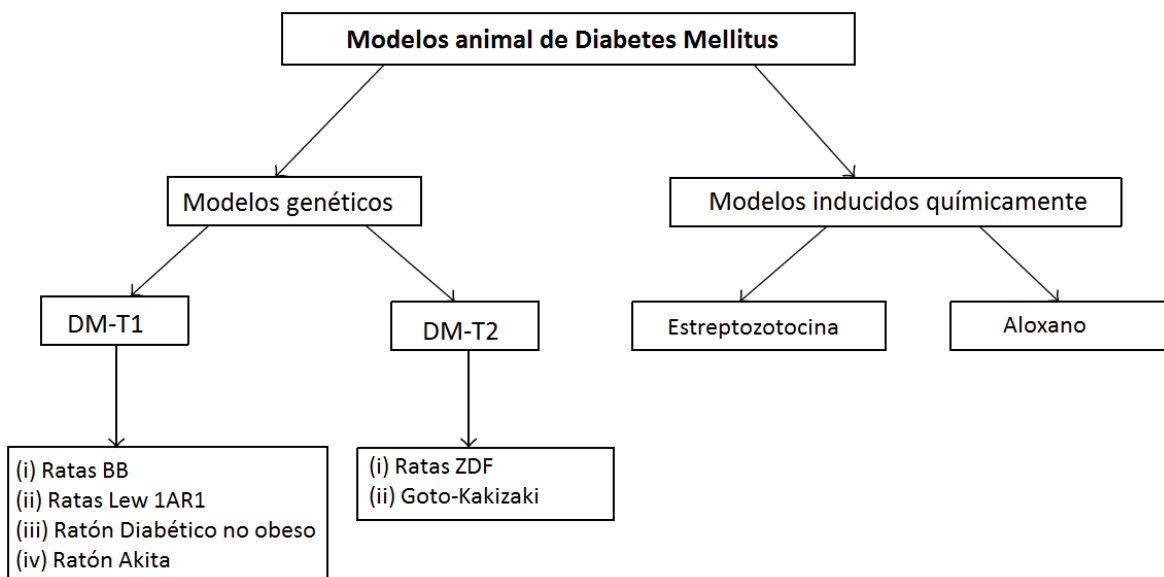


Figura 14. Modelos de Diabetes Mellitus en animales, Al-Awar, y cols. 2016.

### 2.5.1 Estreptozotocina

La STZ es un agente antibacterial de amplio espectro producido por *Streptomyces achromogenus* sub. *Streptototicus*. Anteriormente se usaba en la clínica como un agente antitumoral en el tratamiento de cáncer de páncreas, por su capacidad para producir la destrucción de las células del páncreas (Goyal y cols., 2016). La STZ es el agente químico más usado para la inducción de DM en modelos animales, debido a que las alteraciones estructurales, funcionales y bioquímicas producidas por la STZ se asemejan a las que se presentan en pacientes diabéticos (Furman, 2015; Al-Awar, y cols., 2016; Goyal y cols., 2016).

Químicamente la STZ es una glucosamina nitrosourea compuesta, que estructuralmente se asemeja a una 2-desoxiglucosa, pero con una sustitución en el carbono 2 por un grupo metilo. La STZ llega a las células  $\beta$  del páncreas a través del transportador de glucosa GLUT2, lo que facilita su entrada a estas células. En el interior de las células pancreáticas la STZ forma un agente alquilante que metila el DNA produciendo así su acción diabetogénica (Furman, 2015; Goyal y cols., 2016). Sin embargo, la metilación del DNA no es el único mecanismo por el cual la STZ produce DM, se han descrito otros mecanismos como el aumento en los niveles de NADPH por la autooxidación de la glucosa o la producción de dióxido ( $O^2$ ) debido a la generación de radicales libres, consecuencia de las alteraciones metabólicas, Figura 15 (Goyal, y cols. 2016).

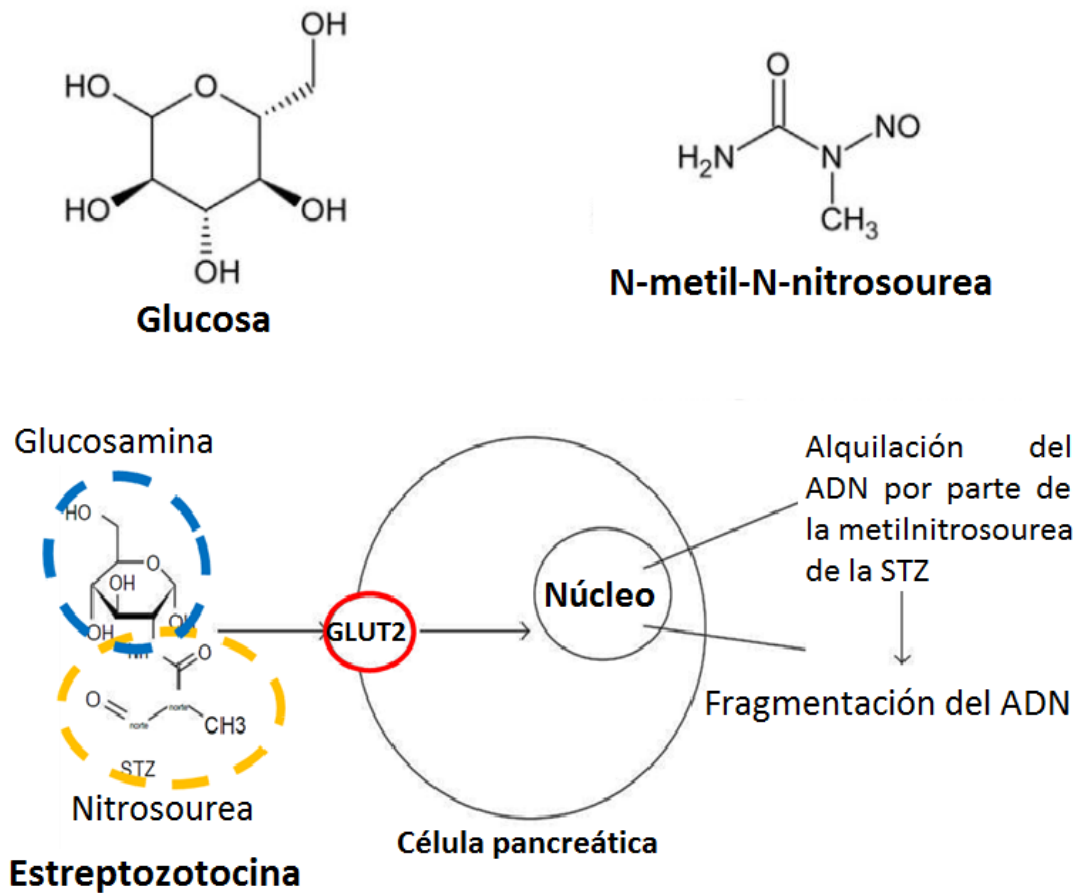


Figura 15. Estructura química y mecanismo de acción de la estreptozotocina. Modificado de Al-Awar, y cols., 2016.

## 2.5.2 Efectos de la estreptozotocina

En ratas, la administración de STZ produce cambios estructurales y funcionales del páncreas. También se ha reportado que la STZ altera las funciones cardiovasculares, modificando la contracción del miocardio, y de los pulmones, afectando la expresión de receptores  $\beta_1$ . En el riñón, la STZ produce daño glomerular asociado a hipertrofia (Al-Awar, y cols., 2016; Goyal y cols., 2016).

La administración de STZ y en consecuencia la DM también afecta la función de órganos pélvicos, afectando la micción y la fisiología sexual (Seethalakshmi y cols., 1987; Torimoto y cols., 2004; Liu y cols., 2010; Abidu-Figueiredo y cols., 2011; Goyal y cols., 2016; Zacapa, 2018). Así, a 9 semanas postratamiento de ratas diabéticas inducidas con STZ se presentan cambios anatómicos y funcionales de la vejiga urinaria y de la uretra, por

ejemplo, disminuye la contractilidad vesical y del músculo estriado de la uretra, lo que afecta la micción (Torimoto y cols., 2004; Liu y cols., 2010). Además, la vejiga urinaria presenta hipertrofia muscular, aumentando de dos o tres veces su tamaño, Figura 16 (Liu y cols., 2010).

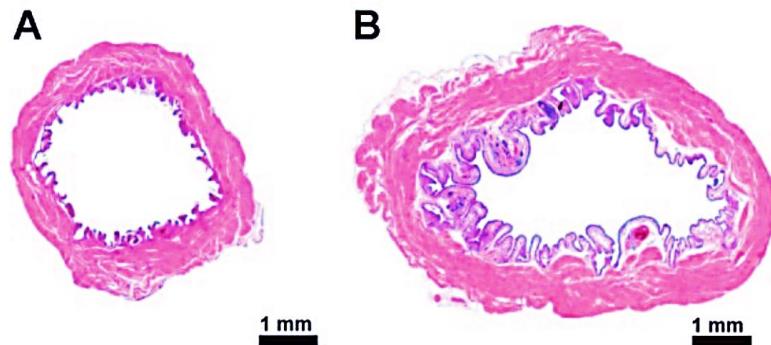


Figura 16. Microfotografía de la sección ecuatorial de la vejiga urinaria. A) Muestra el corte de la vejiga urinaria de una rata control y B) el corte de vejiga urinaria de una rata con DM inducida por STZ. Modificado de Liu y cols., 2010.

Así mismo, se ha reportado que 30 días después de la administración de STZ disminuye el volumen y peso corporal de órganos sexuales dependientes de hormonas gonadales como el testículo, las vesículas seminales y la próstata, Figura 17, en los que se ven afectados el musculo liso y la densidad del tejido conectivo del músculo (Seethalakshmi y cols., 1987; Abidu-Figueiredo y cols., 2011), Figura 17.

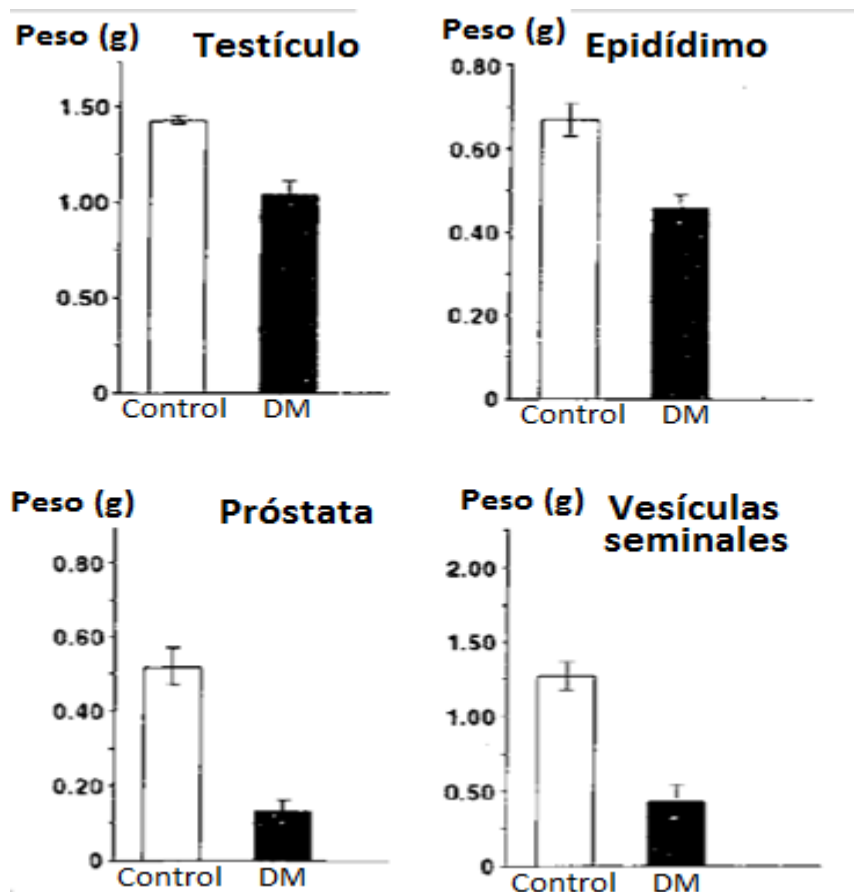


Figura 17. Efecto de la DM en el peso total de los órganos sexuales. Se muestra la diferencia del peso corporal en órganos sexuales (testículo, epidídimos, próstata y vesículas seminales de ratas diabéticas inducidas por la administración de STZ. Modificado de Seethalakshmi y cols., 1987.

Con respecto a la función, en sujetos diabéticos la frecuencia y el volumen de micción aumenta de manera significativa, esto asociado al incremento en la ingesta de agua y el volumen de orina en la vejiga urinaria (Liu y cols., 2010; Zacapa, 2018).

La disminución en la conducta copulatoria también se presenta en animales diabéticos inducidos con STZ, posiblemente por la disminución de hormonas gonadales que conllevan a un menor tamaño de órganos sexuales (Seethalakshmi y cols., 1987; Zacapa, 2018), Figura 18.

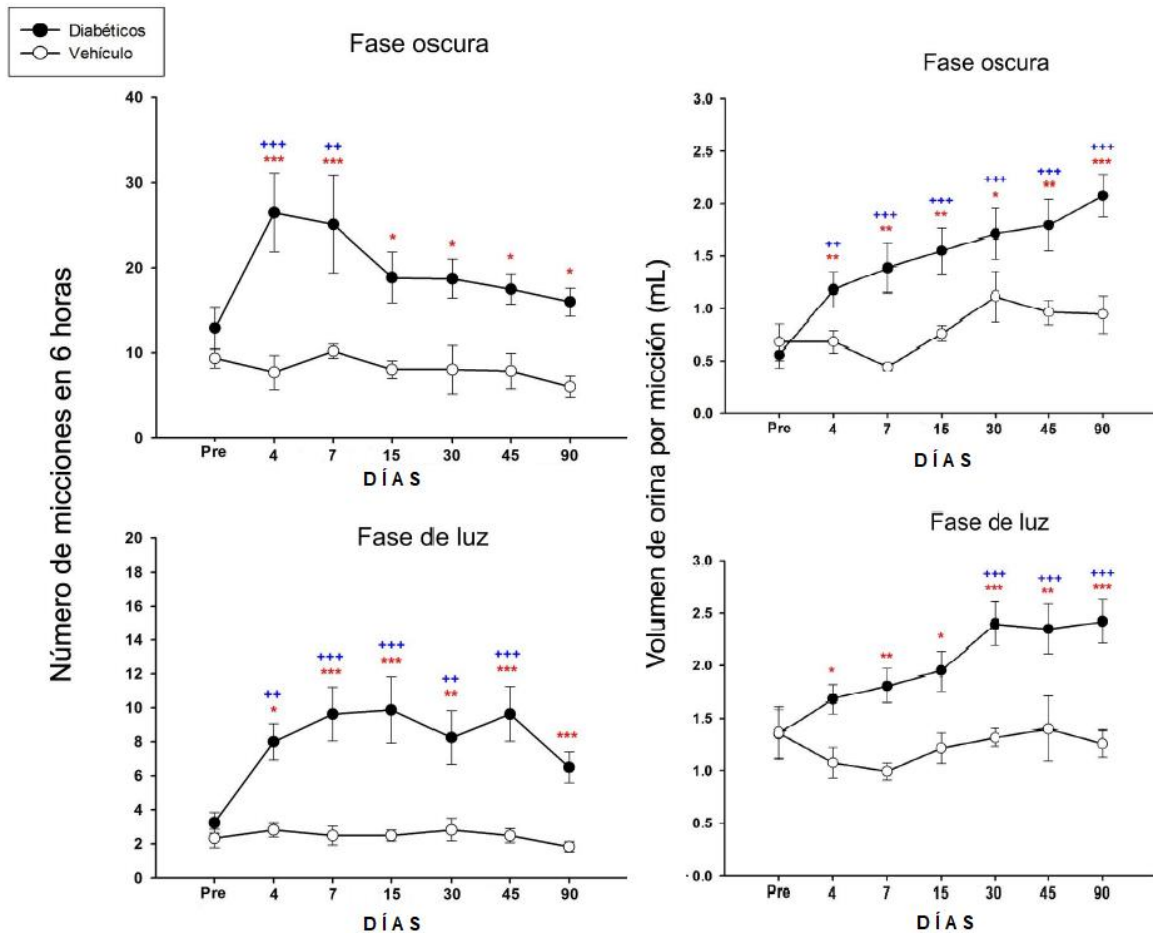


Figura 18. Número de micciones y volumen por micción en ratas control y ratas con diabetes inducidas por STZ, en fase de oscuridad y fase de luz. Modificado de Zacapa, 2018.

Las alteraciones en las funciones pélvicas no sólo son consecuencia de cambios en los órganos pélvicos, sino que también pueden ser resultado de un proceso de neuropatía diabética autonómica que conlleva a alteraciones en células nerviosas como las neuronas posganglionares que inervan a estas vísceras pélvicas. La hiperglicemia aumenta el volumen y la actividad celular de células nerviosas debido a un estrés celular crónico (Nascimento, 2016; Liu y cols., 2010).

Considerando que la DM crea un ambiente hiperglucémico crónico y aumenta el tamaño de la vejiga urinaria, pero disminuye el de los órganos sexuales, surgen las siguientes preguntas: ¿Cómo responden las neuronas postganglionares del GPM a un ambiente crónico de hiperglucemia y al cambio del área de los órganos pélvicos que inervan estas neuronas? ¿Qué papel juegan las células gliales del GPM ante estos cambios?

### **3. JUSTIFICACIÓN**

En el sistema nervioso periférico la neuropatía diabética se asocia con la disminución de factores neurotróficos como NGF, neurotrofina-3 (NT-3), factor neurotrófico ciliar (FNTC) y el factor de crecimiento semejante a la insulina (IGF). Por ello a largo plazo se puede presentar apoptosis de las células de Schwann (Feldman, 2003). Todo ello conlleva al aumento de radicales libres y disfunción celular progresiva.

Aunque se conoce muy bien la sintomatología de las neuropatías pélvicas asociadas a la DM, poco se sabe de las alteraciones que sufren las neuronas autonómicas parasimpáticas que inervan a órganos pélvicos y de las afecciones que pueden tener las células gliales. Considerando que en roedores el GPM inerva a varios órganos pélvicos, la rata es el modelo animal idóneo para el estudio de las neuronas posganglionares pélvicas en un ambiente de hiperglucemia y su relación con células gliales.

## **4. HIPÓTESIS**

La diabetes mellitus causa hipertrofia de las neuronas postganglionares e hiperplasia de las células gliales del ganglio pélvico mayor de ratas macho adultas.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo general**

- Determinar el efecto de la diabetes mellitus sobre las características morfométricas de las neuronas postganglionares y las células gliales del ganglio pélvico mayor en ratas macho.

### **5.2 Objetivos específicos**

En ratas sham y diabéticas mediante estudios histológicos:

- Realizar un análisis cualitativo del tejido del ganglio pélvico mayor.
- Caracterizar la morfometría de las neuronas postganglionares del ganglio pélvico mayor midiendo el área del soma y determinando el número de nucléolos de las células.
- Estimar el número de células gliales satélite asociadas a las neuronas del ganglio pélvico mayor.
- Cuantificar la densidad celular (número de neuronas y número de células gliales) en cada cuadrante del ganglio pélvico mayor.



## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 Animales

Se utilizaron 12 ratas macho adultas (300-350g de peso corporal) de la cepa Wistar, de tres meses de edad obtenidas del bioterio del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta (CTBC). Los animales permanecieron en el bioterio, en un ciclo de luz-obscuridad de 12-12 h, la luz se encendía a las 8:00 h y se apagaba a las 20:00 h con agua y alimento *ad libitum* y temperatura ambiente de 21-26 °C.

### 6.2 Diseño experimental

Las ratas fueron asignadas a los siguientes grupos: Sham y DM

- Grupo Sham (n=6): las ratas fueron inyectadas con un Buffer de citratos (0.1M a un pH de 4.5), después de 90 días post-inyección del buffer los animales fueron anestesiados (uretano i. p. 1.2g/Kg al 40%) y eutanizados (con una sobredosis intracardiaca de pentobarbital) para la obtención del GPM.
- Grupo DM (n=6): las ratas de este grupo fueron inyectadas con STZ disuelta en el Buffer de citratos (0.1M a pH de 4.5) para inducir la DM. A los 90 días post-inyección del fármaco los animales fueron anestesiados (con uretano i. p. 1.2g/Kg al 40%) y eutanizados (con una sobredosis intracardiaca de pentobarbital) para la obtención del GPM.

Se realizó una laparotomía para obtener el tejido, con ayuda de un estereoscopio. El GPM fue procesado para histología y se analizaron los parámetros mostrados en la Figura 19.

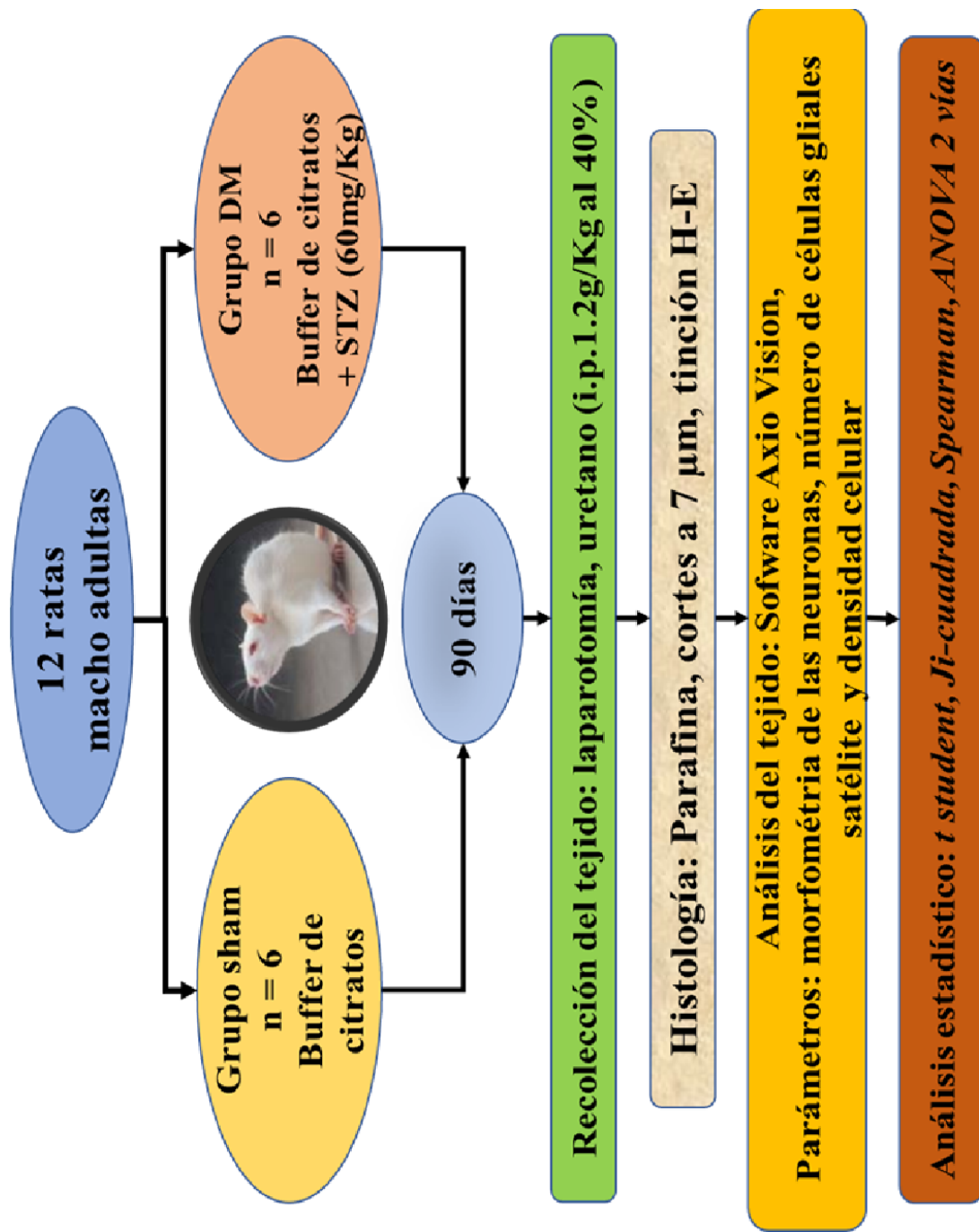


Figura 19. diseño experimental.

## 6.3 Procedimientos

### 6.3.1 Inducción de la diabetes mellitus

La STZ fue disuelta en una solución amortiguadora de buffer de citratos (0.1M a pH de 4.5, i. p.) en condiciones de oscuridad y administrada a una dosis de 60 mg/Kg de peso corporal. Previo a la inyección del fármaco los animales permanecieron en ayuno durante 6 h. A los animales testigo (Grupo Sham) sólo se les inyectó la solución amortiguadora de buffer de citratos (0.1M pH 4.5) (Furman, 2015; Al-Awar y cols., 2016; Goyal y cols., 2016).

Para evitar un cuadro hipoglucémico por la destrucción de las células  $\beta$ , durante las 12 h posteriores a la administración de STZ a los animales se les proporcionó una solución glucosada al 5%, seguido de una solución glucosada al 2.5% durante las 12 h siguientes a la solución de 5%, Figura 20 (Furman, 2015; Goyal y cols., 2016).

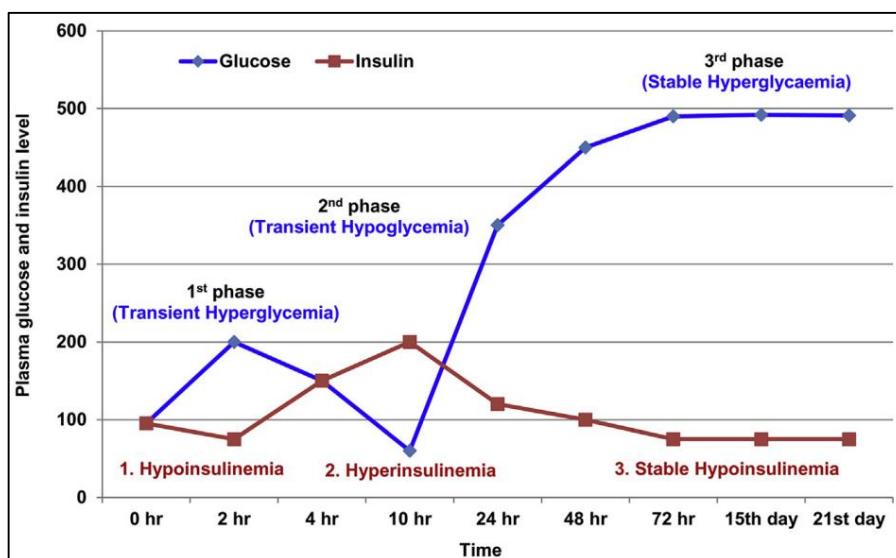


Figura 20. Trifase de los niveles de insulina y glucosa en sangre post-inyección de STZ. Goyal y cols., 2016.

Acorde con los criterios de diagnóstico de *la American Diabetes Association*, a 72 h de la administración de STZ se corroboró la hiperglucemia usando tiras reactivas y un glucómetro (Accu Chek active®, Diabetes Care™). Los animales del grupo Sham fueron sometidos a los mismos procedimientos que el grupo DM. Los niveles de glucosa sérica fueron también cuantificados al momento del sacrificio para corroborar su condición hiperglucémica

### **6.3.2 Obtención del tejido**

A los 90 días post-inyección, los animales de ambos grupos fueron anestesiados con uretano (i. p. 1.2g / Kg al 40%) y se realizó una laparotomía. Con ayuda de un estereoscopio (Leica M80) se expuso y se colectó el GPM, bilateralmente. Después los animales fueron eutanizados con una sobredosis intracardiaca de pentobarbital (pentobarbital sódico Cheminova de 100 ml). Los ganglios fueron fijados en formalina al 10% por al menos 48 h.

### **6.3.3 Procesamiento para histología**

Los GPM fueron deshidratados con alcohol étílico a diferentes concentraciones (OH 70%, OH 80%, OH 96% y OH 100%) y periodos (1 h, 2 h, 15 h). Se usó Xileno como agente aclarante en tres cambios simples (Xilol I, II, III) y se continuó con tres baños de parafina (paraplast) derretida por calor (paraplast).

En la inclusión en parafina se utilizó en paraplast (Paraplast embedding media Paraplast X-tra) ya derretido por calor. Se colocó el GPM (izquierdo en todos los casos) con una orientación vertical y se dejó solidificar por 24 h (Prophet y cols., 1992).

El tejido fue seccionado transversalmente con un microtomo (Leica RM2125RT) a 7 micras de espesor. Los cortes fueron colocados en portaobjetos esmerilados (de 25.4x76.2 mm) previamente gelatinizados y rotulados. Para la recolección cada 2 cortes se colocaron en tres portaobjetos diferentes de formas consecutiva (de cada GPM se obtuvo aproximadamente 36 laminillas, cada laminilla con 6 cortes), Figura 21.

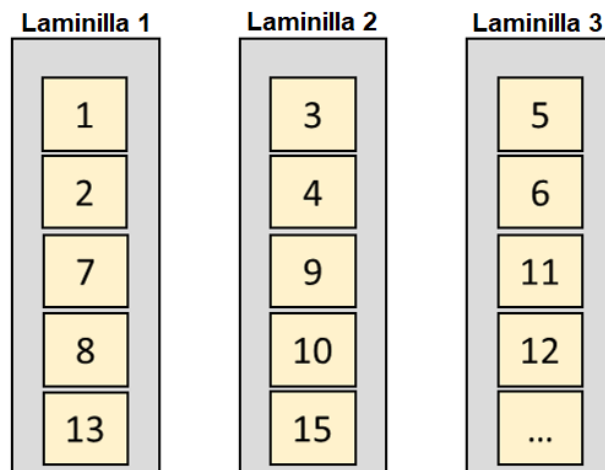


Figura 21. Distribución de los cortes del GPM. Se muestra el orden de la recolección de los cortes de los Ganglios.

Las laminillas se dejaron secar a temperatura ambiente por lo menos una semana, para una adecuada fijación y posterior tinción. Después los cortes fueron teñidos con Hematoxilina-Eosina. Esta técnica permite visualizar el núcleo y los nucléolos de las células ganglionares, además de dar contraste entre tipos de células (por ejemplo, las neuronas se tiñen de una tonalidad clara, mientras que las células gliales reciben una tonalidad azudófila (Prophet y cols., 1992).

## 6.4 Análisis de tejido

En ambos grupos el análisis del GPM fue mediante un estudio histológico que incluyó: 1) análisis cualitativo, 2) caracterización morfométrica de las neuronas posganglionares del ganglio pélvico mayor (área del soma y número de nucléolos), 3) conteo del número de células gliales satélite asociadas a cada neurona del ganglio pélvico mayor y 4) determinación de la densidad celular (densidad neuronal y de células gliales) del ganglio pélvico mayor.

### 6.4.1 Caracterización morfométrica de las neuronas del ganglio pélvico mayor

Se tomaron fotomicrografías de 2 cortes centrales del GPM de cada animal, con una cámara digital (Canon Power Shot S50) colocada en un microscopio óptico (Zeiss Axiostar modelo Plus) con aumento de 400X. En las fotomicrografías se determinaron las características cualitativas y se realizó la caracterización morfométrica de las neuronas postganglionares, esto último mediante el programa AxioVison 4.8. Con este programa se midió el área del soma de neuronas cuya membrana y núcleo fueran totalmente visibles y definidos. En esas neuronas se determinó también el número de nucléolos y de células satélite asociadas a ellas, Figura 22.

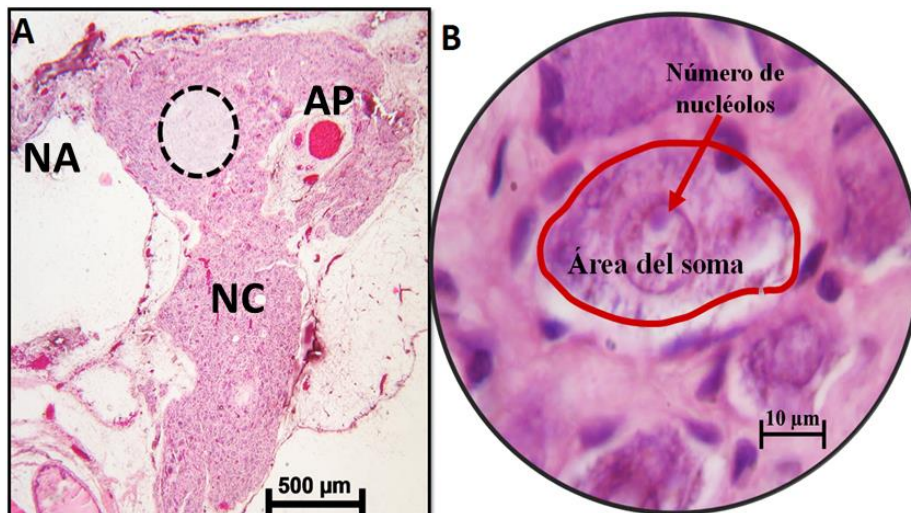


Figura 22. Fotomicrografías del GPM. En A) fotomicrografía donde se aprecia un corte del GPM y algunas estructuras de referencia como los nervios accesorios (NA), nervio cavernoso (NC), arteria prostática (AP), a un aumento a 50X. En B) fotomicrografía de una neurona posganglionar, mostrando los parámetros a medir en la caracterización morfométrica de las neuronas del GPM.

#### 6.4.2 Número de células gliales satélite asociadas a una neurona

El número de células gliales satélite asociadas a una neurona fue contabilizado en las fotomicrografías tomadas a 400X (las mismas fotomicrografías que se utilizaron para la caracterización morfométrica de las neuronas del GPM). En dirección a las manecillas del reloj se contó el número de células gliales satélite que se encontraron alrededor de una neurona posganglionar, Figura 23.

Solo se consideraron las células satélite que se encontraban a una distancia menor a 2 micrómetros de la membrana neuronal.



Figura 23. Células satélite asociadas a una neurona del GPM. Fotomicrografía de las células satélite asociadas a una neurona postganglionar del GPM, enumeradas conforme al sentido a las manecillas del reloj de la 1-6.

### 6.4.3 Densidad celular

#### 6.4.3.1 Densidad neuronal

Para la densidad neuronal se utilizaron dos cortes centrales del GPM de cada animal. Se tomaron fotomicrografías con un objetivo de 400X, asegurándose de abarcar todo el corte. En dichas microfotografías fueron contadas todas las neuronas que se visualizaran, sin importar que tuvieran o no una membrana bien definida.

#### 6.4.3.2 Densidad glial

Se determinó la densidad de células gliales de la siguiente forma. Se tomaron fotomicrografías a un aumento de 1000X, en tres zonas diferentes de cada cuadrante. En cada fotomicrografía (con un área total de  $35,080 \mu\text{m}^2 \pm 77.48 \mu\text{m}^2$ ), se contó el número total de células gliales (células satélite, células SIF y células de Schwann). El criterio de inclusión fue que las células estuvieran al menos un 75 % dentro de la zona determinada, sin importar que no se viera el núcleo o la membrana celular, Figura 24.

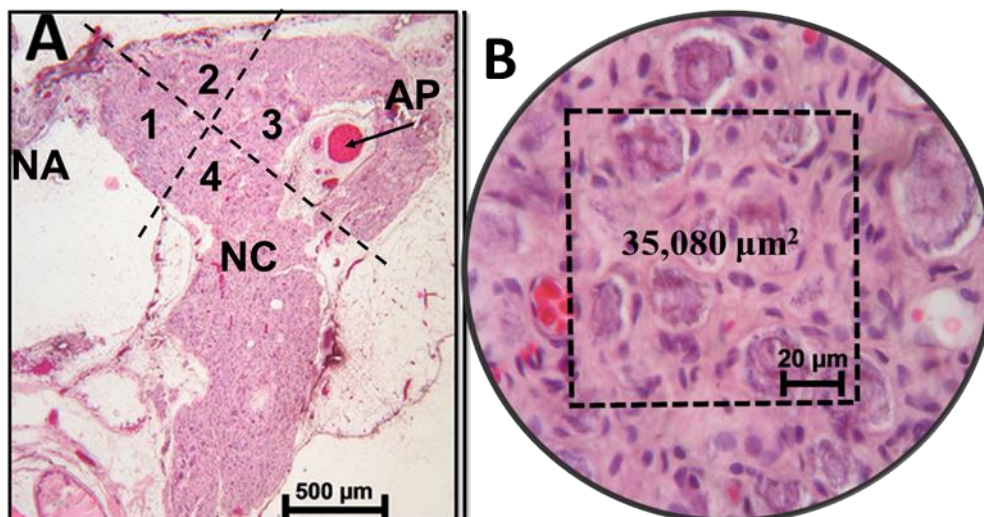


Figura 24. Fotomicrografías del GPM. En A) fotomicrografía del GPM donde se muestran los 4 cuadrantes analizados (1-4) y algunas estructuras de referencia como los nervios accesorios (NA), nervio cavernoso (NC), arteria prostática (AP) a un aumento a 50X. En B) muestra el área analizada de la densidad glial del GPM.



## 6.5 Análisis estadístico

Se utilizaron diferentes pruebas estadísticas, dependiendo del parámetro a medir, usando siempre un valor alfa de  $p < 0.05$  para determinar una diferencia significativa.

En el tamaño del soma de las neuronas posganglionares del GPM se utilizó una prueba de *t de student* para comparar los datos obtenidos entre condiciones (Sham vs DM). Se utilizó una de *ji cuadrada* para comparar el porcentaje de neuronas que poseen 2 o 3 nucléolos, y saber si existe una diferencia significativa entre los dos grupos.

Se empleó una correlación de *Spearman* para determinar si existe una relación entre el número de células gliales satélite y el tamaño de su neurona, esto se realizó en cada grupo.

De acuerdo al tamaño del soma neuronal se clasificaron en: chicas ( $100-399 \mu\text{m}^2$ ), medianas ( $400-799 \mu\text{m}^2$ ) y grandes ( $>800 \mu\text{m}^2$ ). Se cuantifico el número de células gliales satélites de acuerdo al tamaño del soma neuronal.

Se realizó una *ANOVA de 2 vías* para determinar si existe una diferencia entre las dos condiciones y los cuadrantes analizados en la densidad de neuronal y la densidad de células gliales.

## 7. RESULTADOS

Se analizaron los niveles séricos de glucosa de los animales del grupo Sham (n=6), y los animales con tratamiento (DM) (n=6). El promedio de los niveles séricos de glucosa fue de  $120.33 \pm 10.60$  EEM mg/dL para los animales de grupo control y  $452.66 \pm 47.46$  EEM mg/dL para el grupo diabético, Figura 25.

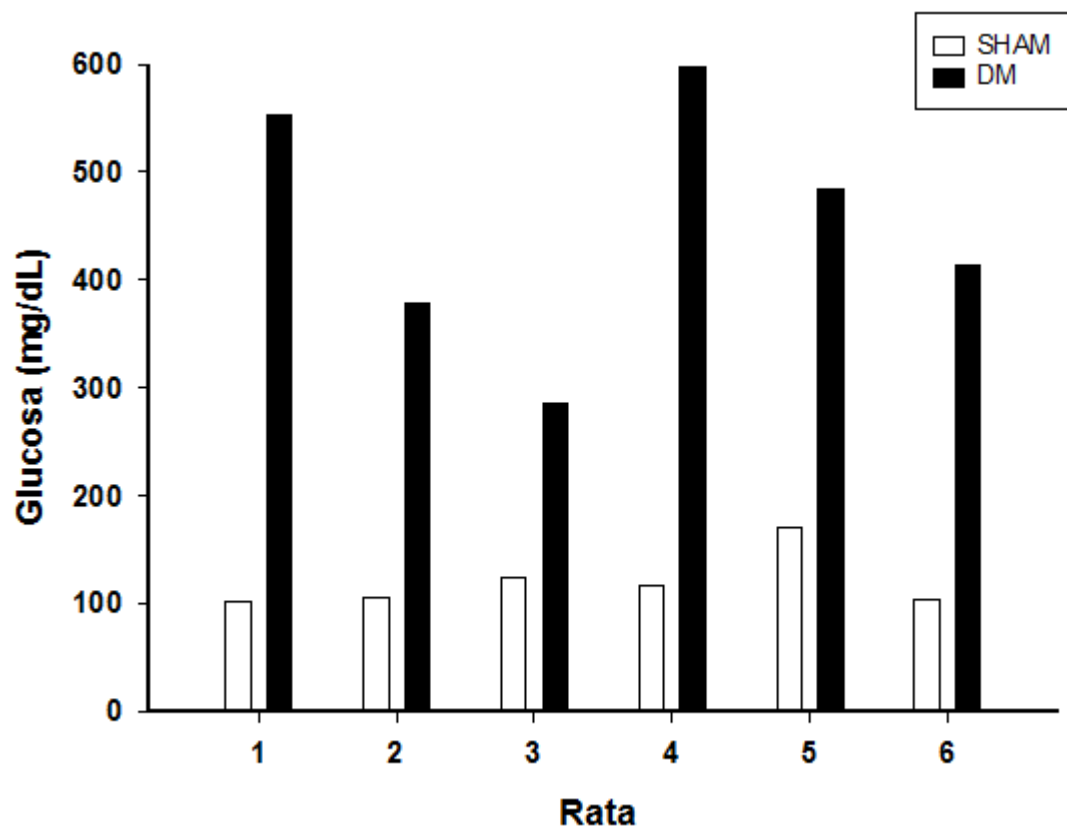


Figura 25. Niveles de glicemia. Muestra los niveles de glucosa sérica de cada animal al momento de la eutanasia, se nota la diferencia entre cada grupo siendo más altos los niveles de glucosa en los animales del grupo DM (barras sólidas) en comparación con los del grupo Sham (barras huecas).

## 7.1 Análisis cualitativo

Las características cualitativas de cortes del GPM de animales sham y diabéticos se observan en la Figura 26.

En las fotomicrografías del GPM de animales del grupo Sham se observaron neuronas con una estructura bien definida y las células gliales satélite que se encuentran asociadas a una neurona tiene una distribución clara (se encuentran distribuidas alrededor de su neurona).

Por otro lado, en las fotomicrografías del GPM pertenecientes a animales diabéticos las neuronas postganglionares se observan dismórficas (defectos en la apariencia) y constantemente se observan espacios vacíos en la capsula perineuronal de las neuronas del GPM (en algunos casos se encuentran dos neuronas en el mismo espacio perineuronal). Las células gliales satélite asociadas a una neurona se observan con una distribución menos organizada.

Se observó un aumento en la cantidad de vasos sanguíneos intraganglionares del GPM en los tejidos de animales diabéticos en comparación con los ganglios pélvicos de animales del grupo sham. También se observaron eritrocitos extravasculares en los tejidos de animales diabéticos, lo que sugiere la ruptura de vasos sanguíneos en estos animales.

En los ganglios de animales diabéticos se observó una disminución del tejido extracelular. Posiblemente se trata de una disminución de fibras de colágeno que rodean a los cuerpos neuronales y fibras nerviosas.

En algunas fotomicrografías se aprecian conglomerados de células SIF en las laminillas de ambos grupos, sin embargo, se presentan con mayor frecuencia en ganglios pertenecientes a animales del grupo diabético.

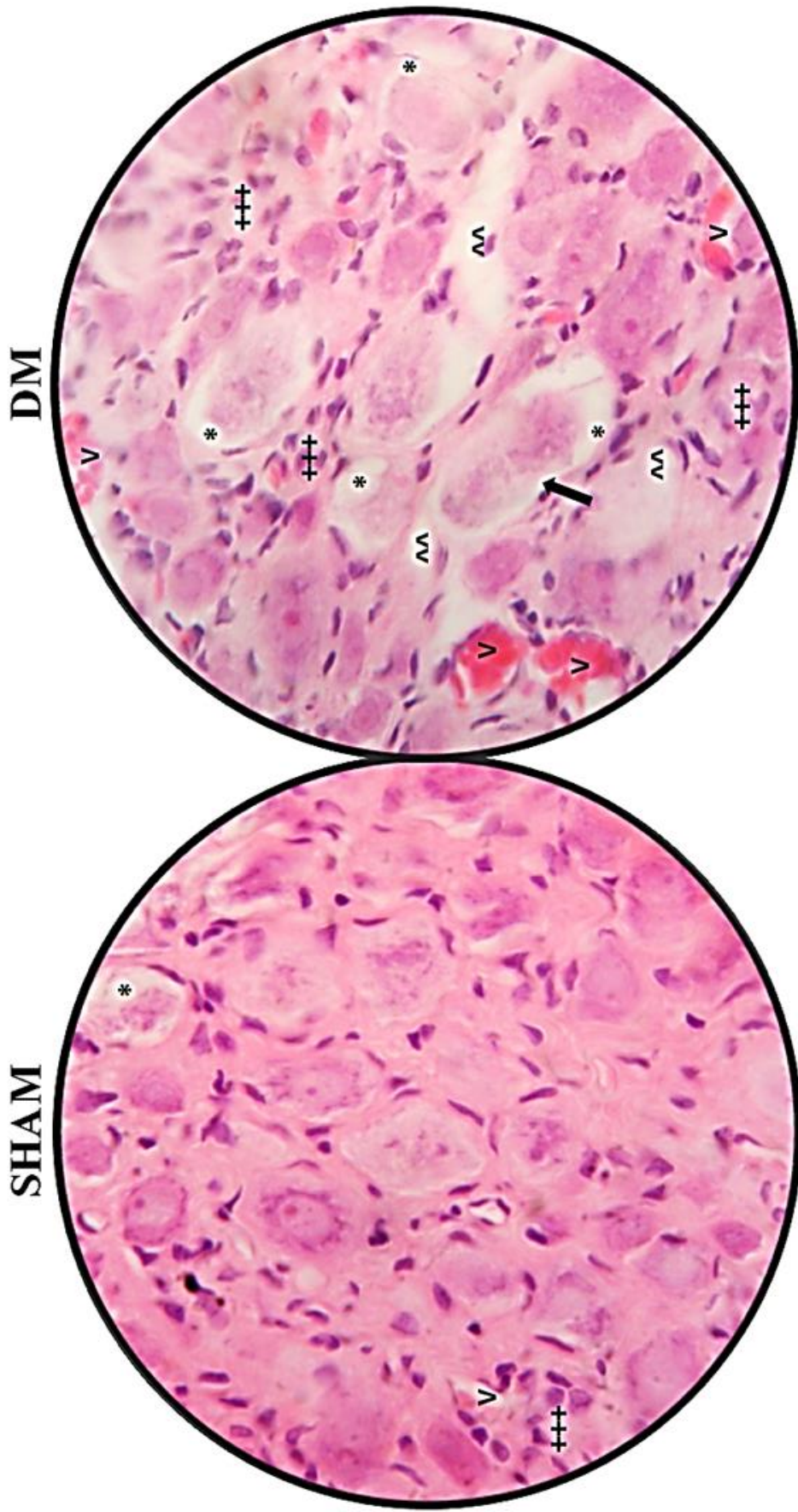


Figura 26. Características cualitativas. Microfotografías de un corte del GPM de una rata Sham a la izquierda y a la derecha un animal DM. (V) vaso sanguíneo, (++) conglomerados de células SIF, (\*) espacios perineuronales, (^^) disminución del tejido extracelular, la flecha negra representa la presencia de dos neuronas en el mismo espacio perineuronal.

## 7.2 Caracterización morfológica de las neuronas del ganglio pélvico mayor

### 7.2.1 Área del soma

Se analizaron 396 neuronas posganglionares del GPM del grupo Sham & 399 neuronas del grupo DM. El promedio del área del soma de las neuronas posganglionares del GPM de los animales diabéticos es significativamente mayor ( $p < 0.001$ ) ( $472.06 \mu\text{m}^2 \pm 18.36 \mu\text{m}^2$  EEM) en comparación con el promedio del área del soma de las neuronas del grupo sham ( $354.42 \mu\text{m}^2 \pm 10.04 \mu\text{m}^2$  EEM), Figura 27.

### Promedio del área del soma de las neuronas del GPM

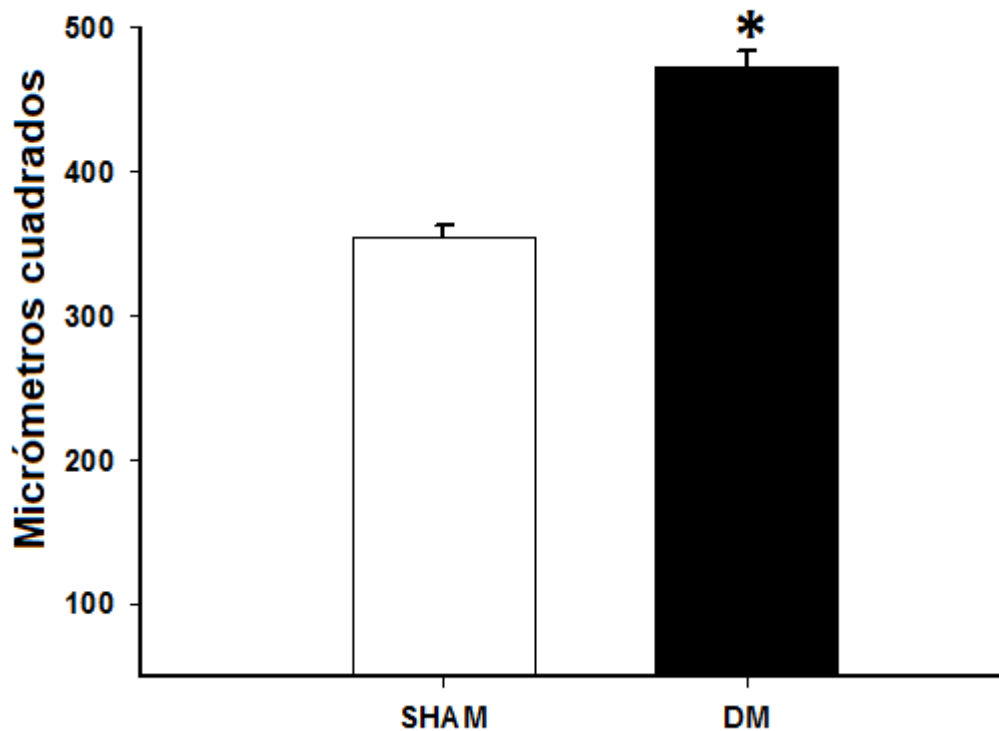


Figura 27. Promedio de área del soma de neuronas posganglionares del GPM de ratas macho del grupo sham y DM. Se muestran promedios  $\pm$  EEM.

Al analizar la distribución del tamaño de las neuronas posganglionares en rangos (Figura 28) se encontró que en el grupo Sham, cerca del 30% de las neuronas miden entre 200-299  $\mu\text{m}^2$ , mientras que en el grupo DM aproximadamente el 50% de las neuronas están entre 300-499  $\mu\text{m}^2$ ).

En animales diabéticos hubo un porcentaje de neuronas grandes, con tamaño mayor a 1,100  $\mu\text{m}^2$  hasta 1,399  $\mu\text{m}^2$ . En el grupo testigo el tamaño máximo del área del soma llegó a los 1099  $\mu\text{m}^2$ .

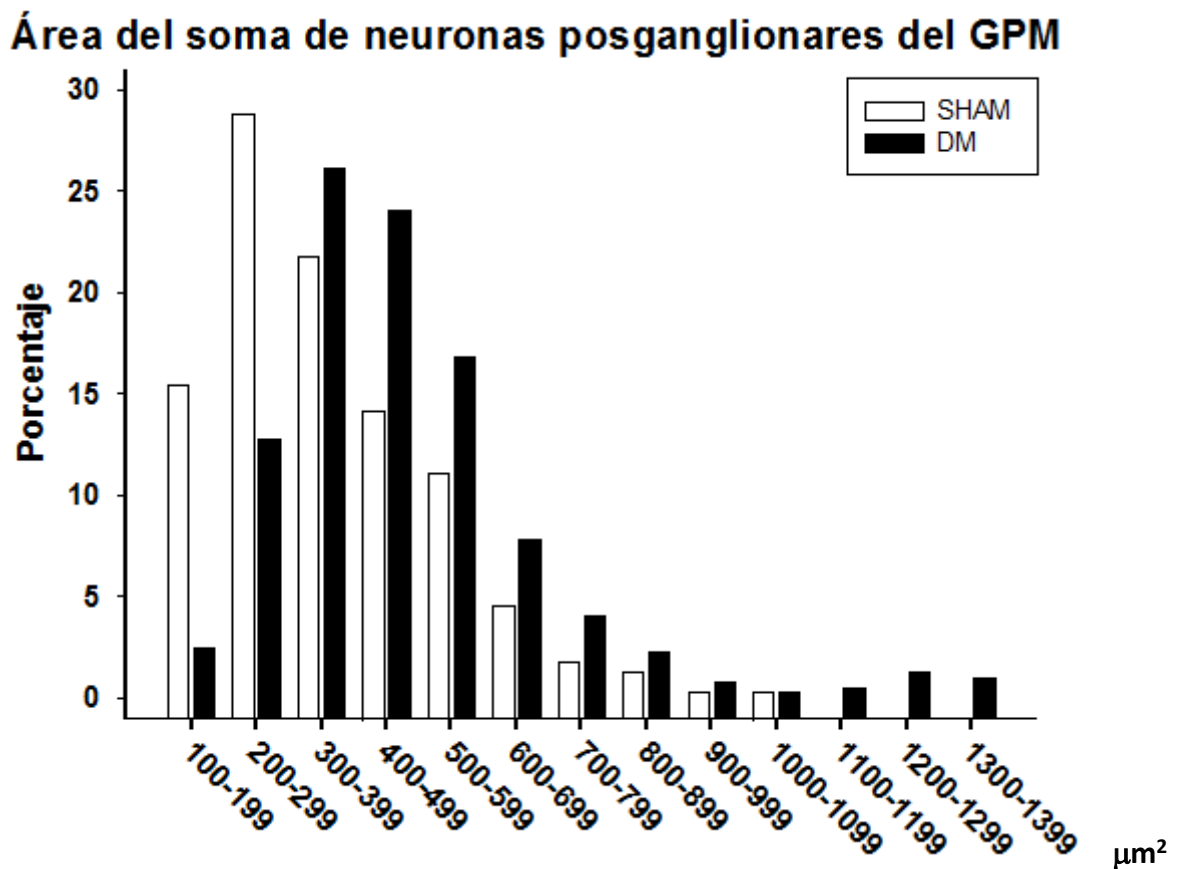


Figura 28. Distribución del tamaño del soma de neuronas del GPM. Se muestra la distribución del tamaño del soma de las neuronas posganglionares de ambos grupos, sham y DM.

### 7.2.2 Número de nucléolos

El porcentaje del número de nucléolos de las neuronas posganglionares (396 del grupo Sham vs 399 grupo DM) del GPM se presenta en la siguiente gráfica, Figura 29.

#### Porcentaje del número de nucléolos de las neuronas del GPM

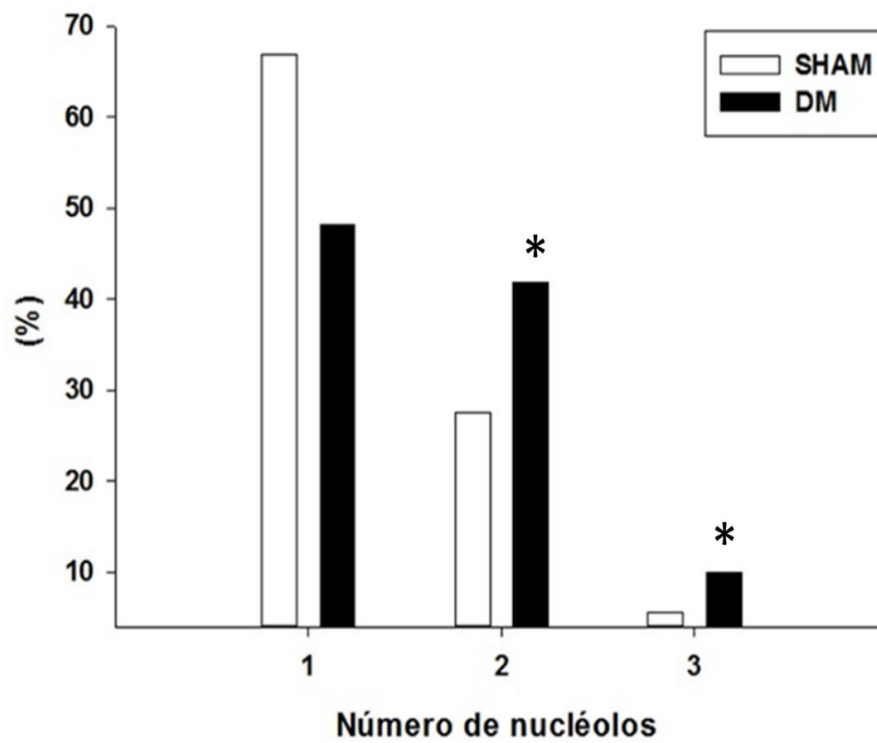


Figura 29. Número de nucléolos de las neuronas del GPM de animales Sham y diabéticos.

En comparación con animales del grupo sham, se aprecia un aumento en el número de neuronas con dos o más nucléolos en animales DM ( $p = < 0.05$ ).

El promedio del número de nucléolos por neuronas del grupo Sham fue menor ( $1.387 \pm 0.051$ ) que en el grupo DM ( $1.6190 \pm 0.066$ ), Figura 30 ( $p=0.001$ ).

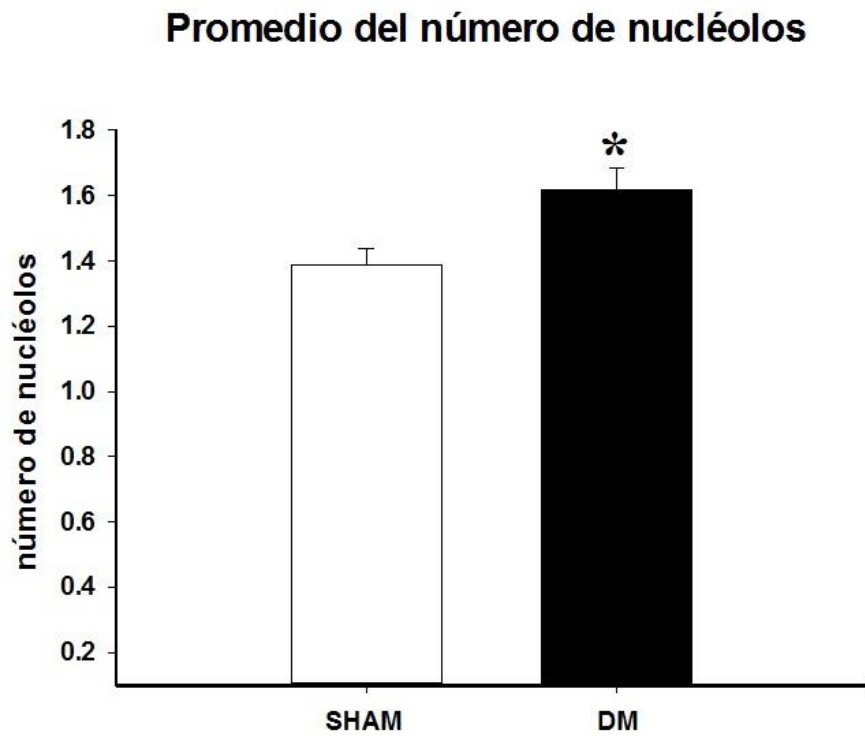


Figura 30. Número de nucléolos. Se muestra el promedio del número de nucléolos presentes en cada grupo  $\pm$  EEM.



### 7.3 Número de células gliales asociadas a una neurona

No hubo correlación entre el número de células gliales satélite asociadas a una neurona y el tamaño del soma de la neurona, en ninguno de los dos grupos ( $r_s=0.248$  para el grupo sham y  $r_s=0.264$  en el grupo diabético), Figura 31.

**Distribución del número de células satélite asociadas a neuronas**

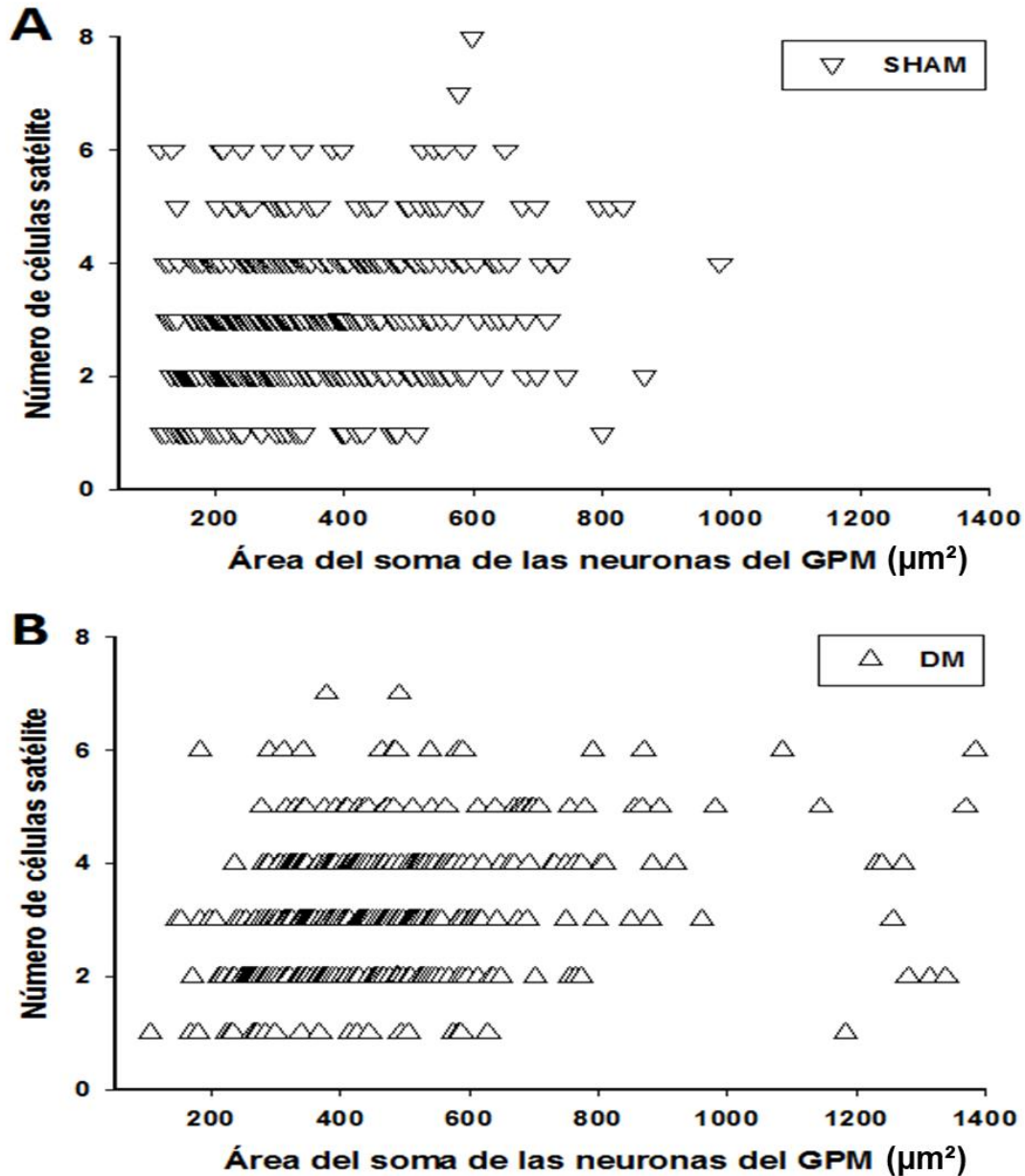


Figura 31. Relación entre el número de células satélite y el tamaño de la neurona. Se muestra la distribución de la relación de las células satélite por neurona para el grupo Sham (A) y para el grupo DM (B).

En los animales del grupo Sham el número máximo de células satélite en una neurona es de 8, en comparación con el grupo DM que es de 7 células satélite, Figura 32.

### Distribución del número de células satélite asociadas a neuronas

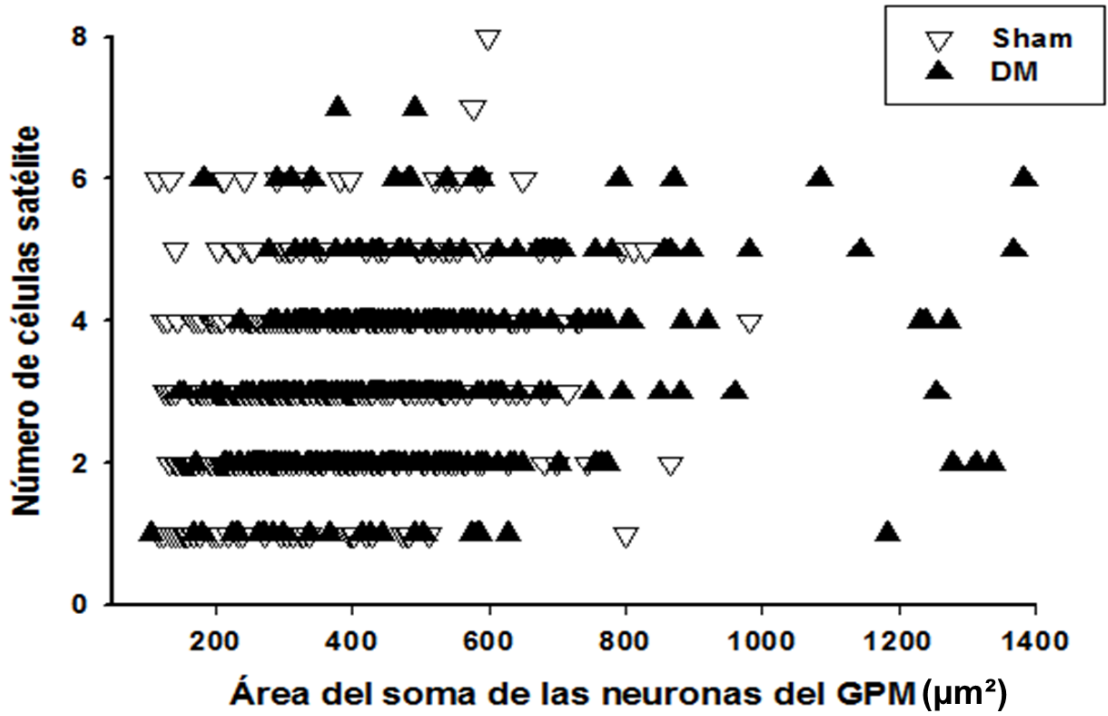


Figura 32. Relación entre el número de células satélite y el tamaño de la neurona. Se visualiza una diferencia entre condición en el número máximo de células satélite y el tamaño de las neuronas posganglionares.

El número promedio de células satélite asociadas a una neurona fueron agrupadas en chicas (100-399  $\mu\text{m}^2$ ), medianas (400-799  $\mu\text{m}^2$ ) y grandes ( $>800 \mu\text{m}^2$ ), la distribución se muestra en la Figura 33.

### Promedio de número de células satélite por tamaño de las neuronas

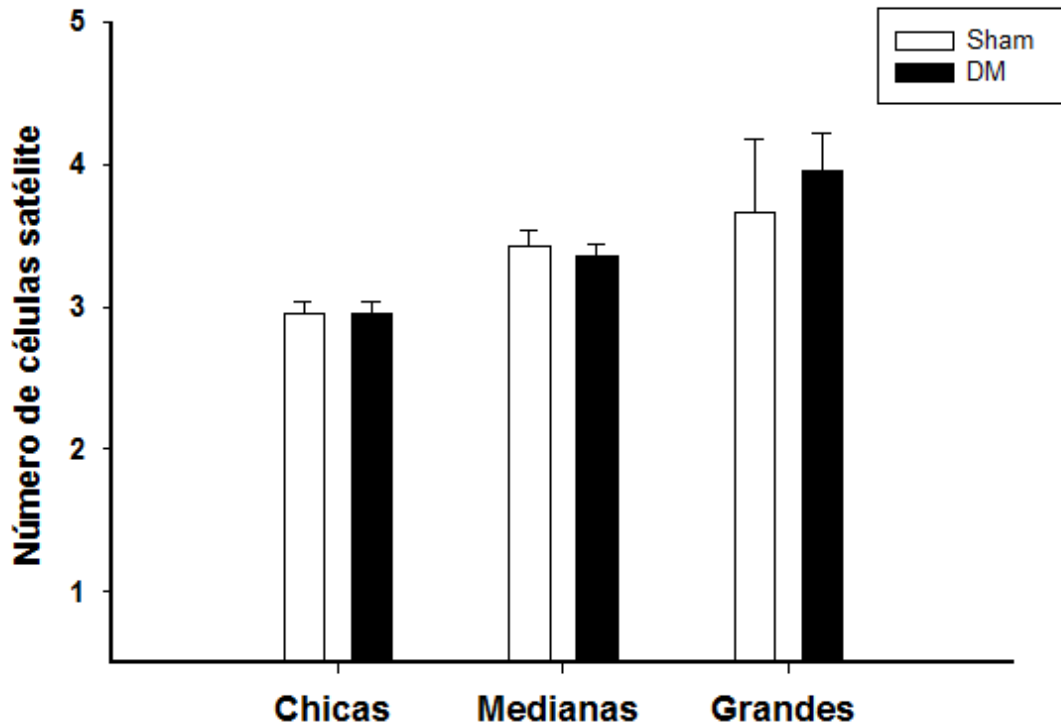


Figura 33. Número de células satélite de acuerdo con el tamaño de la neurona. Promedio  $\pm$  EEM.

No existe una diferencia entre el número promedio de células satélite asociadas a una neurona entre el grupo Sham (chicas  $2.9580 \pm 0.0750$ , medianas  $3.4220 \pm 0.1170$  y grandes  $3.6670 \pm 0.5040$ ) y el grupo DM (chicas  $2.9520 \pm 0.0904$ , medianas  $3.3540 \pm 0.0824$  y grandes  $3.9580 \pm 0.2680$ ).

## 7.4 Densidad celular por zonas

### 7.4.1 Densidad neuronal

El promedio del número de neuronas presentes en las zonas analizadas (dos cortes centrales) del GPM de ambos grupos se presenta en la siguiente, Figura 34.

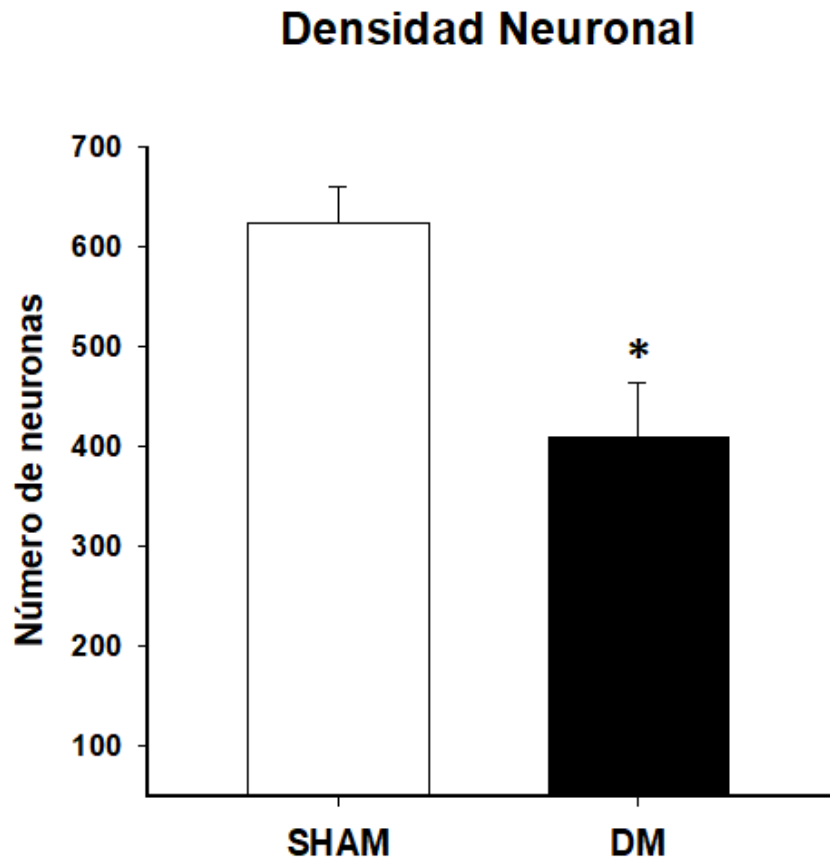


Figura 34. Densidad neuronal. Muestra el promedio  $\pm$  EEM del número de neuronas contabilizadas en cada grupo.

De acuerdo con el análisis realizado, el número de neuronas contadas en los dos cortes centrales del GPM fue menor en los animales del grupo DM ( $409.1 \pm 54.83$  EEM neuronas) en comparación con las neuronas contadas del grupo Sham, ( $622.2 \pm 37.124$  EEM neuronas)  $p = <0.001$

Se realizó un análisis de la densidad neuronal en cada cuadrante del GPM en ambos grupos. El resultado que se obtuvo fue una diferencia estadísticamente significativa en 3 de los 4 cuadrantes entre las dos condiciones, siendo menor la densidad neuronal en animales diabéticos ( $15.556 \pm 0.849$  neuronas, grupo Sham vs  $13.3890 \pm 0.7370$  neuronas del grupo DM), Figura 35.

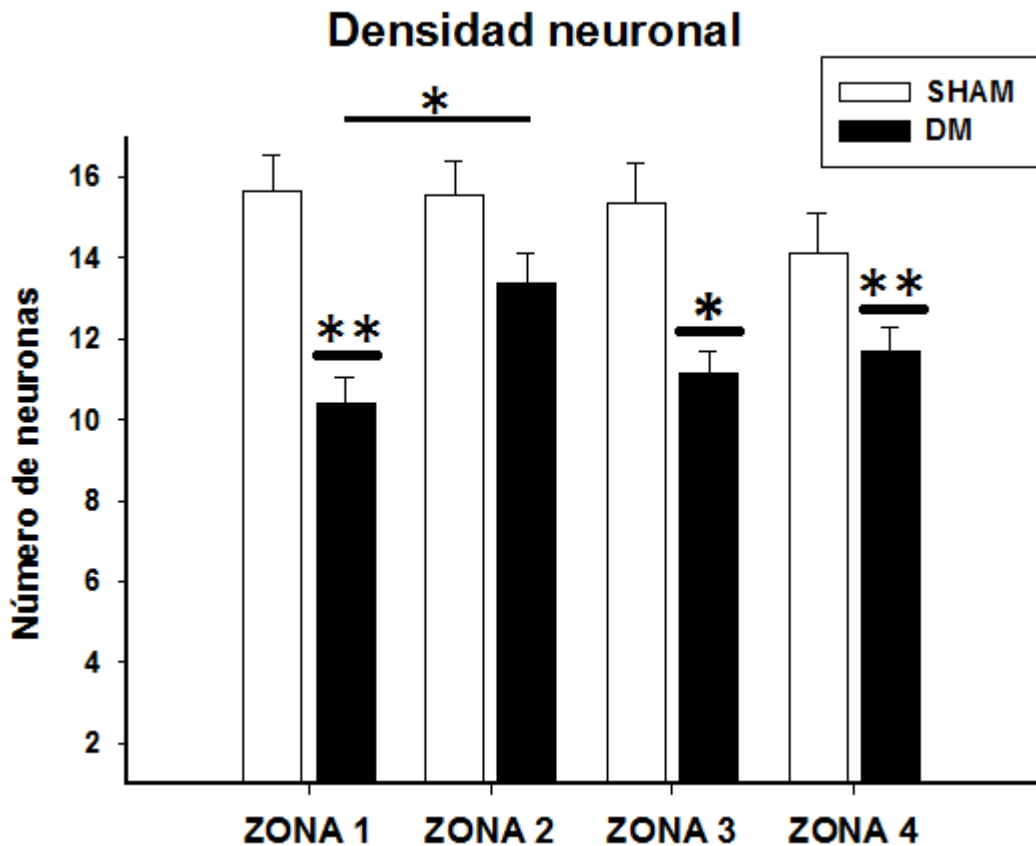


Figura 35. Densidad neuronal. Muestra el número de neuronas presentes en un área de  $10,000 \mu\text{m}^2$  de cada zona, las barras blancas representan el grupo Sham y las negras para el grupo diabético. ANOVA de 2 vías, promedio  $\pm$  EEM: Factor A) condición, Factor B) Zona. \* $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$ .

El análisis entre zonas del mismo grupo mostró solo una diferencia estadísticamente significativa entre la zona 1 y la zona 2 del grupo DM. En las demás zonas no hay diferencia estadísticamente significativa, ni en el grupo Sham ni en el grupo DM ( $10.389 \pm 0.677$  vs  $13.389 \pm 0.737$ ) ( $p < 0.05$ ).

### 7.4.2 Densidad glial

El número promedio de células gliales presentes en las áreas medida de cada grupo muestra una diferencia estadísticamente significativa, siendo menor la densidad glial en el grupo DM (Sham  $231.333 \pm 6.978$  EEM vs  $186.125 \pm 6.125$  EEM células gliales para el grupo DM,  $p < 0.001$ ), Figura 36.

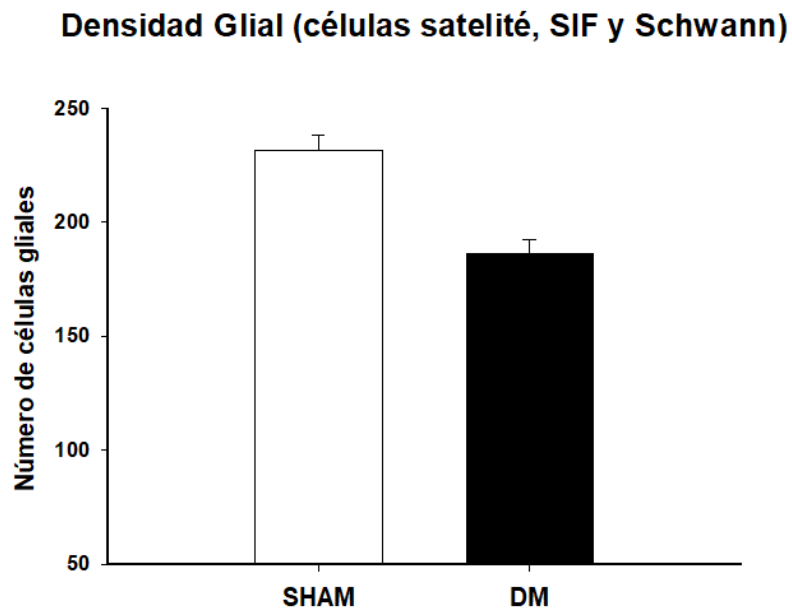


Figura 36. Se muestra el promedio de las células gliales (células Satélite, SIF y Schwann) contadas en cada grupo, Sham y DM.

El número de células gliales satélite, células SIF y células de Schwann se muestra por cada cuadrante ( $35,080 \mu\text{m}^2 \pm 77.48 \mu\text{m}^2$ , cada zona analizada) en la siguiente tabla, Tabla 1.

<i>Tabla 1. Densidad glial. Muestra el número de células gliales presentes en un área de 35080 <math>\mu\text{m}^2 \pm 77.48 \mu\text{m}^2</math> de cada zona para los dos grupos.</i>										
CÉLULAS	Cuadrante 1		Cuadrante 2		Cuadrante 3		Cuadrante 4		Total %	
	Sham	DM	Sham	DM	Sham	DM	Sham	DM	Sham	DM
Satélite	43.30%	43.39%	39.47%	17.83%	40.52%	37.89%	41.17%	38.80%	41.11%	34.47%
SIF	22.16%	23.08%	26.89%	34.28%	27.69%	26.15%	26.55%	23.06%	25.82%	26.64%
Schwann	34.52%	33.50%	33.35%	47.81%	31.77%	35.95%	32.26%	38.18%	32.97%	38.86%
Total de células	242.82	180.49	234.82	156.99	228.65	180.32	218.98	172.66	925.27	690.46

Con excepción de la zona 2, todas las zonas analizadas muestran una diferencia en la densidad glial entre condiciones, siendo menor en animales diabéticos.

En el caso del análisis por zonas de la misma condición solo existe una diferencia en la densidad de la zona 2 vs zona 4 para el grupo diabético, en todos los demás casos no hubo una diferencia estadísticamente significativa Figura 37.

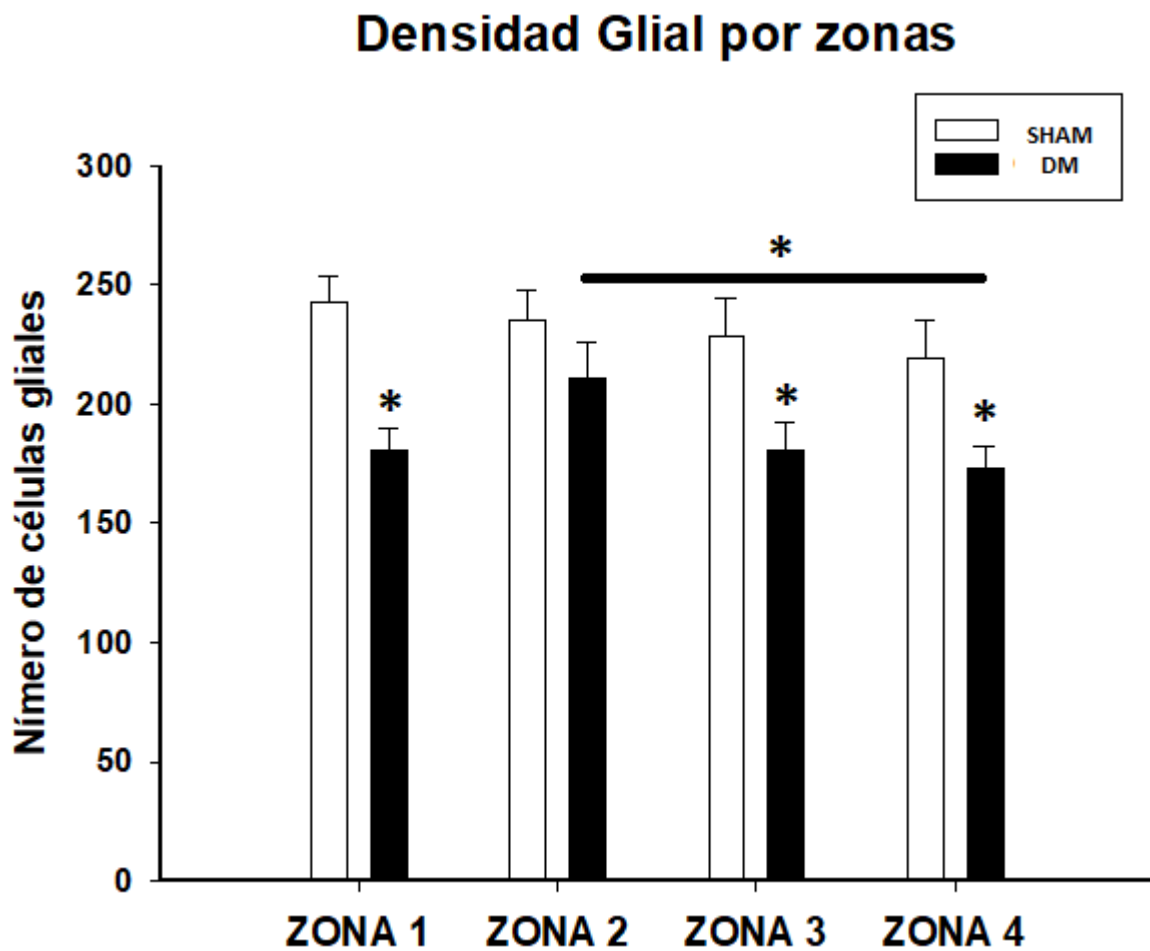


Figura 37. Densidad Glial. Número de células gliales presentes en las áreas determinadas de cada zona. El grupo sham está representado por las barras blancas y el grupo diabético con las barras negras. ANOVA de 2 vías promedio  $\pm$  EEM: Factor A) condición, Factor B) Zona.  $p < 0.05$ .



## 8. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se analizaron las características cualitativas de las células del GPM, los cambios morfométricos de las neuronas posganglionares del GPM, la relación del número de células satélite asociadas a una neurona y la densidad celular tanto del número de neuronas y del número de células gliales del GPM en ratas macho control y ratas diabéticas.

Nuestra hipótesis fue que la DM induce hipertrofia en las neuronas e hiperplasia en las células gliales del GPM. Los resultados obtenidos en nuestro estudio son positivos en cuanto al cambio morfométrico que presentan las neuronas, ya que se nota un proceso de hipertrofia por parte de las neuronas del GPM del grupo diabético. Sin embargo, con respecto a las células gliales los resultados no apoyan nuestra hipótesis pues en lugar de haber presentado un proceso de hiperplasia, parece haber una disminución en el número de estas células en el grupo diabético.

En nuestro estudio se utilizó la estreptozotocina para inducir un modelo de diabetes. Se observaron algunos cambios cualitativos en células del GPM de animales del grupo diabético, por ejemplo, las neuronas presentan una estructura poco definida (neuronas dismórficas) y se aprecia en la capsula perineuronal espacios vacíos en algunos casos. Estos cambios se reportaron de igual manera en los trabajos de Faizal y Khan en el 2017, donde observaron la presencia de neuronas dismórficas en ganglios simpáticos (ganglio celiaco) y parasimpáticos (ganglio esfenopalatino) de ratas diabéticas tratadas con STZ (Faizal y Khan, 2017). Estos cambios pueden deberse a una posible alteración de la función de componentes encargados de la regeneración de la membrana celular como la laminina y la fibronectina.

La laminina y la fibronectina son proteínas esenciales para la regeneración neuronal, sin embargo, se ha descrito que los productos finales de glicosilación avanzada (FAGP), presentes en la diabetes mellitus modifica estos componentes extracelulares inhibiendo así la regeneración celular, aumenta el estrés oxidativo, degradando así la matriz extra celular y promoviendo una señalización de apoptosis celular (Nascimento y cols., 2016). Los espacios en vacíos de la capsula neuronal se relacionan con el encogimiento de las neuronas posiblemente por una señalización de apoptosis celular dada por las diferentes vías patogénicas de la DM (Nascimento y cols., 2016; Faizal y Khan, 2017).

El aumento en la cantidad de vasos sanguíneos y la ruptura de estos puede ser ocasionado por el aumento en la resistencia vascular, lo que provoca una disminución en el flujo sanguíneo y la tensión del oxígeno, produciendo así daños microvasculares como nefropatía y neuropatías diabéticas (Nascimento, 2016; Pop-Busui y cols., 2017). Estos mismos hallazgos fueron encontrados en trabajos similares en ganglios autonómicos (simpáticos y parasimpáticos), en diferentes especies como la rata y el perro (Faizal y Khan, 2017; Guidi y cols., 2008).

La disminución del tejido extracelular puede ser ocasionada por una disminución en el número de fibras de colágeno que se encuentran cerca de las neuronas y fibras nerviosas. Faizal y Khan en el 2017 reportaron una disminución en el tejido extracelular, pero un aumento en el grosor de las fibras de colágeno ocasionado por un proceso de fibrosis. Este resultado puede explicar algunos resultados de nuestro trabajo, ya que la disminución del número de fibras de colágeno y el engrosamiento de las misma pueden ser una forma de compensación ante la disminución en la densidad del tejido extracelular (Faizal y Khan, 2017).

Se ha reportado que la vejiga urinaria de ratas con diabetes presenta un incremento de tamaño (Nadelhaft y cols., 1993; Liu y cols., 2010). Mientras que órganos sexuales masculinos que los son más susceptibles a sufrir procesos de atrofia en sujetos diabéticos (Seethalakshmi y col., 1987; Abidu-Figueiredo y cols., 2011). En su estudio, Nadelhaft, 1993, consideró que el proceso de hipertrofia que ocurría en las neuronas del GPM que inervan a la vejiga era ocasionado por el aumento en el área a inervar; pues, como ya se ha dicho, la vejiga urinaria se hipertrofia en animales diabéticos (Nadelhaft y cols., 1993). Sin embargo, en nuestros resultados hallamos que el proceso de hipertrofia también ocurre en neuronas del GPM que según su localización inervan a otros órganos incluyendo los sexuales. Si bien no utilizamos un marcaje retrogrado para saber la procedencia de cada neurona, podemos deducir el destino de las neuronas que inervan a las vísceras pélvicas acorde con los trabajos de Keast (1989) y Kepper (1995). quienes describieron la ubicación topográfica de algunas neuronas en el GPM según el órgano que inervan, dividiendo al GPM en cuatro cuadrantes (Keast, 1989-a; Kepper y Keast, 1995). Se ha descrito que el tamaño de las neuronas del GPM y su relación con sus propiedades bioquímicas, siendo las de menor tamaño las neuronas colinérgicas que inervan a órganos excretores como la vejiga y el recto.

Y las neuronas de mayor tamaño son de tipo adrenérgicas, que inervan a órganos sexuales como las glándulas sexuales accesorias (Keast y D'Groat, 1989; Arellano y cols., 2019).

Otros autores han reportado los mismos resultados de hipertrofia neuronal en neuronas de ganglios simpáticos y parasimpáticos como el pterigopalatino o el ganglio celíaco de ratas diabéticas (Faizal y Khan, 2017), o incluso en ganglios autonómicos de otras especies como el perro (Guidi y cols., 2008).

Dado que nuestro estudio revela un aumento de tamaño de las neuronas del GPM en los cuatro cuadrantes, es probable que la hipertrofia neuronal no sea respuesta de los cambios estructurales de su órgano diana, sino en respuesta a un medio ambiente estresante o desfavorable, como lo puede ser la hiperglucemia. Con esto se puede sustentar que la hipertrofia neuronal es ocasionada por la hiperglucemia y no depende de los cambios estructurales de su órgano.

El aumento en el número de nucléolos de las neuronas del GPM de animales diabéticos puede ser ocasionado por la condición de hiperglucemia crónica, que requiere una mayor actividad celular posiblemente para regular procesos internos de las neuronas, como la producción de proteínas como la laminina y fibronectina, involucradas en la regeneración de la membrana celular, o la regulación de la bomba Na/K que disminuye su actividad en un ambiente donde existe un exceso de glucosa extracelular (Nascimento y cols., 2016).

En neuronas sensoriales se ha reportado que existe una relación entre el tamaño del cuerpo neuronal y el número de células satélite que lo rodean (Ledda y cols., 2004). Sin embargo, no se había analizado esta relación en neuronas autonómicas parasimpáticas. Nuestros datos muestran que las células gliales satélite no tienen una relación directa con el tamaño del soma de las neuronas posganglionares. Esta diferencia puede quizá explicarse por la diferente función celular entre las neuronas sensoriales y neuronas autonómicas, sin embargo, es recomendable realizar un estudio más preciso sobre la relación entre el número de células satélite y el tamaño de su neurona en ganglios autonómicos.

## 9. CONCLUSIONES

- La diabetes mellitus provoca cambios tanto estructurales como fisiológicos en los componentes del GPM (neuronas, células gliales, vasos sanguíneos y matriz extracelular), siendo reflejados en estudios histomorfométricos.
- La hipertrofia neuronal es causada por el ambiente de estrés oxidativo que provoca la hiperglucemia crónica, y no es dependiente a los cambios estructurales que provoca la diabetes mellitus en los órganos que inerva estas neuronas.
- El aumento en el número de nucléolos de las neuronas posganglionares del GPM de animales diabéticos es consecuencia de la condición de hiperglucemia crónica, que requiere una mayor actividad celular posiblemente para regular procesos internos de las neuronas, que son modificados en un ambiente de estrés oxidativo crónico.
- Parece ser que en el GPM no existe con una relación entre el número de células gliales satélite y el tamaño de la neurona a la que están asociada, sin embargo, se sugiere realizar un estudio más preciso para descartar por completo esta relación.
- La disminución de la densidad neuronal y glial puede deberse a procesos apoptóticos o necróticos causados por el conjunto de los desórdenes (metabólicos, inflamatorios, neurodegenerativos y vasculares) que provoca la condición crónica de diabetes.
- Existen aún varias incógnitas sobre los cambios que produce la diabetes mellitus en ganglios autonómicos sobre todo en ganglios parasimpáticos, tal vez por la complejidad de los tipos de neuronas que se encuentran en estos ganglios o por su difícil acceso anatómico.

## 10. PERSPECTIVAS

Si bien los resultados del presente trabajo brindan información novedosa sobre los cambios que ocurren con las células que alojan los ganglios pélvicos en un ambiente de hiperglucemia y estrés oxidativo crónico, aún existen algunas interrogantes que no se han respondido ya que este trabajo solo abarcó un estudio histológico. Existen otras técnicas que se pueden utilizar para complementar este trabajo y tener una idea más clara sobre cómo la diabetes mellitus afecta a las células del GPM, por ejemplo;

- Realizar algún tipo de marcaje para determinar si los signos de muerte celular en sujetos diabéticos son debido a un proceso apoptótico por parte de las mismas células nerviosas o por necrosis celular causado por el daño que produce la diabetes mellitus.
- Corroborar si el aumento de la actividad celular es debido a la intensiva producción de proteínas con el fin de regular procesos internos de las neuronas, como lo propusimos.

Otras variables que pueden modificar los resultados obtenidos es el tiempo, es decir realizar un estudio de manera longitudinal para determinar el momento en el que se comienzan a presentar estos cambios. Y por último, revisar si con algún tipo de tratamiento (hipoglucemiantes, como la metformina que es el principal tratamiento en personas diabéticas) o terapia (ambiente enriquecido, que actualmente tiene relevancia por la capacidad de producir agentes que intervienen en la regeneración neuronal, como los factores neurotróficos), se puede revertir o retardar los cambios ocurridos en las células del GPM o hasta qué punto se puede tomar en consideración para reestablecer las funciones pélvicas.

## 11. REFERENCIAS

1. Abidu-Figueiredo, M., Ribeiro, I. C., Chagas, M. A., Cardoso, L. E., Costa, W. S., & Sampaio, F. J. (2011). The penis in diabetes: structural analysis of connective tissue and smooth muscle alterations in a rabbit model. *BJU international*, 108(3), 400-404.
2. Al-Awar, A., Kupai, K., Veszeka, M., Szűcs, G., Attieh, Z., Murlasits, Z., Török, S., Pósa, A., & Varga, C. (2016). Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models. *Journal of diabetes research*, 2016, 9051426. <https://doi.org/10.1155/2016/9051426>
3. American association of diabetes. (2013). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 36(Supplement 1), S67-S74.
4. Ansari, M. N., & Ganaie, M. A. (2014). Ameliorative effect of rocket leaves on fertility in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Research Journal of Biological Sciences*, 3, 89-97.
5. Arellano, J., Xelhuantzi, N., Mirto, N., Hernández, M. E., & Cruz, Y. (2019). Neural interrelationships of autonomic ganglia from the pelvic region of male rats. *Autonomic Neuroscience*, 217, 26-34.
6. Bacon, C. G., Hu, F. B., Giovannucci, E., Glasser, D. B., Mittleman, M. A., & Rimm, E. B. (2002). Association of type and duration of diabetes with erectile dysfunction in a large cohort of men. *Diabetes care*, 25(8), 1458-1463.
7. Boulton, A. J., Vinik, A. I., Arezzo, J. C., Bril, V., Feldman, E. L., Freeman, R., ... & Ziegler, D. (2005). Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes care*, 28(4), 956-962.
8. Bril, V., Breiner, A., Perkins, B. A., Zochodne, D., & Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines Expert Committee. (2018). Neuropathy. *Canadian journal of diabetes*, 42, S217-S221.
9. Dail, W. G., Trujillo, D., Rosa, D. D. L., & Walton, G. (1989). Autonomic innervation of reproductive organs: analysis of the neurons whose axons project in the main penile nerve in the pelvic plexus of the rat. *The Anatomical Record*, 224(1), 94-101.
10. Darby, S. A. (2014). Neuroanatomy of the autonomic nervous system. In *Clinical Anatomy of the Spine, Spinal Cord, and ANS* (pp. 413-507). Elsevier New York.
11. Enes, J., Haburčák, M., Sona, S., Gerard, N., Mitchell, A. C., Fu, W., & Birren, S. J. (2020). Satellite glial cells modulate cholinergic transmission between sympathetic neurons. *PLoS One*, 15(2), e0218643.
12. Faizal, M. y Khan, AA (2017). Efecto de la diabetes inducida por estreptozotocina en los ganglios autonómicos de ratas albinas. *Anatomía*, 11 (2), 51-60.
13. Feldman, E. L. (2003). Oxidative stress and diabetic neuropathy: a new understanding of an old problem. *The Journal of clinical investigation*, 111(4), 431-433.
14. Fowler, C. J., Griffiths, D., & De Groat, W. C. (2008). The neural control of micturition. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(6), 453-466.
15. Fröde, T. S., & Medeiros, Y. S. (2008). Animal models to test drugs with potential antidiabetic activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 115(2), 173-183.
16. Furman, B. L. (2015). Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current protocols in pharmacology*, 70(1), 5-47.
17. Gibbons, C. H. (2019). Basics of autonomic nervous system function. *Handbook of Clinical Neurology*, 407-418. doi:10.1016/b978-0-444-64032-1.00027-8
18. Goyal, S. N., Reddy, N. M., Patil, K. R., Nakhate, K. T., Ojha, S., Patil, C. R., & Agrawal, Y. O. (2016). Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes - A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics. *Chemico-biological interactions*, 244, 49-63. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.11.032>

19. Guidi, WL, Balieiro, JCC, De Souza, RR, Loesch, A. y Ribeiro, AACM (2008). Cambios morfocuantitativos relacionados con la diabetes mellitus en las neuronas del ganglio celíaco del perro. *The Veterinary Journal* , 177 (1), 54-62.
20. Hall, J. E. (2009). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology E-Book: with STUDENT CONSULT Online Access*. Tenth Health Sciences.
21. Hanani, M. (2010). Satellite glial cells in sympathetic and parasympathetic ganglia: in search of function. *Brain research reviews*, 64(2), 304-327.
22. Hanani, M., & Spray, D. C. (2020). Emerging importance of satellite glia in nervous system function and dysfunction. *Nature Reviews Neuroscience*, 21(9), 485-498.
23. Hanani, M., Blum, E., Liu, S., Peng, L., & Liang, S. (2014). Satellite glial cells in dorsal root ganglia are activated in streptozotocin-treated rodents. *Journal of cellular and molecular medicine*, 18(12), 2367-2371.
24. Herrera, A. A., Miguel Soca, P. E., Será, C. R., Mariño Soler, A. L., & Guerra, R. C. O. (2012). Actualización sobre diabetes mellitus. *Correo Científico Médico de Holguín*, 16(2).
25. International Diabetes Federation, (2021). *The IDF Diabetes Atlas 10th edition*.
26. Jin, H. Y., Moon, S. S., & Calcutt, N. A. (2021). Lost in Translation? Measuring Diabetic Neuropathy in Humans and Animals. *Diabetes & metabolism journal*, 45(1), 27–42. <https://doi.org/10.4093/dmj.2020.0216>
27. Keast, J. R., Booth, A. M., & De Groat, W. C. (1989-a). Distribution of neurons in the major pelvic ganglion of the rat which supply the bladder, colon or penis. *Cell and tissue research*, 256(1), 105-112.
28. Keast, J. R., & de Groat, W. (1989-b). Immunohistochemical characterization of pelvic neurons which project to the bladder, colon, or penis in rats. *Journal of Comparative Neurology*, 288(3), 387-400.
29. Keast, J. R. (2006). Plasticity of pelvic autonomic ganglia and urogenital innervation. *International review of cytology*, 248, 141-208.
30. Kepper, M., & Keast, J. (1995). Immunohistochemical properties and spinal connections of pelvic autonomic neurons that innervate the rat prostate gland. *Cell and tissue research*, 281(3), 533-542.
31. Kobayashi, M., & Zochodne, D. W. (2018). Diabetic neuropathy and the sensory neuron: new aspects of pathogenesis and their treatment implications. *Journal of Diabetes Investigation*, 9(6), 1239-1254.
32. Langworthy, O. R. (1965). Innervation of the pelvic organs of the rat. *Invest. Urol.*, 2, 491-511.
33. Liu, G., Li, M., VasANJI, A., & Daneshgari, F. (2010). Temporal diabetes and diuresis-induced alteration of nerves and vasculature of the urinary bladder in the rat. *BJU international*, 107(12), 1988-1993.
34. Martin, P. M., Roon, P., Van Ells, T. K., Ganapathy, V., & Smith, S. B. (2004). Death of retinal neurons in streptozotocin-induced diabetic mice. *Investigative ophthalmology & visual science*, 45(9), 3330-3336.
35. McVary, K. T., Rathnau, C. H., & McKenna, K. E. (1997). Sexual dysfunction in the diabetic BB/WOR rat: a role of central neuropathy. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 272(1), R259-R267.
36. Moss, H. E., Lincoln, J., & Burnstock, G. (1987). A study of bladder dysfunction during streptozotocin-induced diabetes in the rat using an in vitro whole bladder preparation. *The Journal of urology*, 138(5), 1279-1284.
37. Nadelhaft, I., Vera, P. L., & Steinbacher, B. (1993). Hypertrophic neurons innervating the urinary bladder and colon of the streptozotocin-diabetic rat. *Brain research*, 609(1-2), 277-283.

38. Nascimento, O. J. M. D., Pupe, C. C. B., & Cavalcanti, E. B. U. (2016). Diabetic neuropathy. *Revista Dor*, 17, 46-51.
39. Navarro - Casado, L., Juncos - Tobarra, MA, Chafer - Rudilla, M., De Onzono, L. Í., Blazquez - Cabrera, JA, y Miralles - García, JM (2010). Efecto de la diabetes experimental y STZ sobre la capacidad de fertilidad masculina. *Estudiar en ratas. Revista de Andrología*, 31 (6), 584-592.
40. Navarro X. (2002). Fisiología del sistema nervioso autónomo [Physiology of the autonomic nervous system]. *Revista de neurología*, 35(6), 553–562.
41. Nazareth, L., St John, J., Murtaza, M., & Ekberg, J. (2021). Phagocytosis by peripheral glia: importance for nervous system functions and implications in injury and disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9.
42. Paro, Maurizio & Prosdocimi, Marco & M.G, Fiori & A.A.F, Sima. (1991). Autonomic innervation of the bladder in two models of experimental diabetes in the rat: functional abnormalities, structural alterations and effects of ganglioside administration. *Urologica*. 161-163.
43. Petersmann, A., Müller-Wieland, D., Müller, U. A., Landgraf, R., Nauck, M., Freckmann, G., Heinemann, L., & Schleicher, E. (2019). Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes: official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 127(S 01), S1–S7. <https://doi.org/10.1055/a-1018-9078>.
44. Pontes, D. A., Fernandes, G. S., Piffer, R. C., Gerardin, D. C., Pereira, O. C., & Kempinas, W. G. (2011). Ejaculatory dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats: the role of testosterone. *Pharmacological reports*, 63(1), 130-138.
45. Pop-Busui, R., Boulton, A. J., Feldman, E. L., Bril, V., R., Malik, R. A., ... & Ziegler, D. (2017). Diabetic neuropathy: a position statement by the American Diabetes Association. *Diabetes care*, 40(1), 136-154.
46. Prophet, E. B., & Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de America (Washington). (1992). *Métodos histotecnológicos. Registro de Patología de los Estados Unidos de America*.
47. Purinton, P. T., Fletcher, T. F., & Bradley, W. E. (1973). Gross and light microscopic features of the pelvic plexus in the rat. *The Anatomical Record*, 175(4), 697-705.
48. Reyes, J. A. O., & Plancarte, A. A. (2008). Bases moleculares de las acciones de la insulina. *Revista de educación bioquímica*, 27(1), 9-18.
49. Röthlisberger, R., Aurore, V., Boemke, S., Bangerter, H., Bergmann, M., Thalmann, G. N., & Djonov, V. (2018). The anatomy of the male inferior hypogastric plexus: what should we know for nerve sparing surgery. *Clinical anatomy*, 31(6), 788-796.
50. Saito, T. R., Tatsuno, T., Takeda, A., HASHIMOTO, H., SUZUKI, M., TERADA, M., & NAGY, G. M. (2004). Effects of icv administration of Leptin on copulatory and ingestive behavior in STZ-induced diabetic male rats. *Experimental animals*, 53(5), 445-451.
51. Schaan, B. D., Dall'Ago, P., Maeda, C. Y., Ferlin, E., Fernandes, T. G., Schmid, H., & Irigoyen, M. C. (2004). Relationship between cardiovascular dysfunction and hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Brazilian journal of medical and biological research*, 37(12), 1895-1902.
52. Seethalakshmi, L., Menon, M., & Diamond, D. (1987). The effect of streptozotocin-induced diabetes on the neuroendocrine-male reproductive tract axis of the adult rat. *The Journal of urology*, 138(1), 190-194.
53. Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*, 50(6), 537-546.
54. Talaverón, R., & CJ, M. D. La glía, las otras células del sistema nervioso.



55. Tompkins, J. D., Vizzard, M. A., & Parsons, R. L. (2013). Synaptic transmission at parasympathetic neurons of the major pelvic ganglion from normal and diabetic male mice. *Journal of neurophysiology*, 109(4), 988–995. <https://doi.org/10.1152/jn.00354.2012>.
56. TORIMOTO, K., FRASER, M. O., HIRAO, Y., DE GROAT, W. C., CHANCELLOR, M. B., & YOSHIMURA, N. (2004). Urethral Dysfunction in Diabetic Rats. *The Journal of Urology*, 171(5), 1959–1964. doi:10.1097/01.ju.0000121283.92963.05
57. Velasco, M. B., Rodríguez, D. C., Montalbán, A. R., Jiménez, S. V., & de Valderrama Martínez, I. F. (2017). Actualización en el diagnóstico, tratamiento y prevención de la neuropatía diabética periférica. *Angiología*, 69(3), 174-181.
58. Vianna, R. M. J., Ongali, B., Regoli, D., Calixto, J. B., & Couture, R. (2003). Up-regulation of kinin B1 receptor in the lung of streptozotocin-diabetic rat: autoradiographic and functional evidence. *British journal of pharmacology*, 138(1), 13-22.
59. World Health Organization, (2020). En: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>. (acceso: 24 de diciembre de 2020).
60. Zacapa, D. A. (2018). Evolución de signos conductuales y neurofisiológicos de disfunciones urinarias y sexuales en ratas macho con diabetes mellitus tipo 2 inducido por estreptozotocina. Universidad Autónoma de Tlaxcala.

## 12. ANEXOS

### 12.1 Anexo 1

**Preparación de STZ:** la preparación de del fármaco se llevó a cabo minutos antes de la administración en condiciones de oscuridad (para evitar que este se volatilizara y perder su acción genotóxica), se calcularon las dosis correspondientes para cada animal (60mg/Kg de peso corporal) y se preparó en una dosis total. El fármaco fue disuelto en una solución de buffer de citratos (0.1 M a pH 4.5) a razón de 30mg de STZ/1 ml de buffer de citratos.

**Preparación de la solución de Buffer de citratos 0.1M pH 4.5:** para preparar 100 ml de buffer de citratos se mezclan 47 ml de solución A (ácido cítrico monohidratado 0.1 M) y 53 ml de solución B (citrato trisódico hidratado 0.1M) en un matraz, se ajustó el pH con un potenciómetro (Conductronic PH120<sup>TM</sup>) previamente calibrado con soluciones control de pH 4, pH7 y pH10.

- Solución A): para preparar 100 ml de ácido cítrico monohidratado 0.1 M, agregar 2.10g de ácido cítrico monohidratado ( $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ ) con peso molecular de 210.14 en un matraz aforado de 100ml y aforar con agua destilada.
- Solución B): para preparar 100 ml de citrato trisódico hidratado 0.1M ácido, agregar 2.94g de citrato trisódico hidratado ( $C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$ ) con peso molecular de 294.12 en un matraz aforado de 100ml y aforar con agua destilada.

## 12.2 Anexo 2

### Asistencia a cursos, talleres y presentación de trabajos

The Tlaxcala Autonomous University, The National Council for Science and Technology, and the Mexican Society for Physiological Sciences

**Certificate**

**Aaron Pérez Gutiérrez**

For your attendance to


**8th International Urogenital Science Meeting**


Held in Tlaxcala City, Tlaxcala, Mexico

September - October de 2020



Duration: 17 h

  
Dr. Yolanda Cruz  
Universidad Autónoma de Tlaxcala

  
Dr. Alvaro Muñoz  
Centro Universitario del Norte

  
Dr. José L. Quintanar  
Universidad Autónoma de Aguascalientes

**Organizers**



The Tlaxcala Autonomous University, The National Council for Science and  
Technology, and the Mexican Society for Physiological Sciences

Certificate

**Aaron Pérez Gutiérrez**

For your attendance to

**Workshops: Writing and publishing a scientific paper, Matlab's library for EEG  
and fMRI connectomic analysis and Microsurgical techniques in animal models**

**8th International Urogenital Science Meeting**

Held in Tlaxcala City, Tlaxcala, Mexico

September - October de 2020

10 hours of duration



Dr. Yolanda Cruz  
Universidad Autónoma de Tlaxcala



Dr. Alvaro Muñoz  
Centro Universitario del Norte



Dr. José L. Quintanar  
Universidad Autónoma de Aguascalientes

**Organizers**



**CONACYT**  
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología



Sociedad Mexicana de  
Ciencias Fisiológicas





**25 AÑOS**  
CURSO  
INTERNACIONAL  
BASES  
BIOLÓGICAS DE  
LA CONDUCTA



OTORGAN LA PRESENTE

**CONSTANCIA**

a:

**Aarón Pérez Gutiérrez**

POR SU ASISTENCIA

25° CURSO INTERNACIONAL BASES BIOLÓGICAS DE LA CONDUCTA  
REALIZADO EN TLAXCALA, TLAX. MEXICO, DEL 26 AL 30 DE  
OCTUBRE DE 2020 CON UNA DURACIÓN DE 40 HORAS.

DR. FRANCISCO COSTEÁN  
ORGANIZADOR

DRA. MARÍA ESTELA MARTÍNEZ JIMÉNEZ  
ORGANIZADORA

DR. JORGE RODRÍGUEZ ANTOLÍN  
ORGANIZADOR



## **La Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, A.C.**

Otorga la presente constancia a:

**Arón Pérez Gutiérrez**

Por su asistencia al Coloquio Virtual

***Bioética e Investigación en la Educación Superior***

el 25 de febrero de 2021 y con una duración de 3 horas.

Tlaxcala, Tlax., 25 de febrero de 2021

Dra. Margarita Martínez Gómez  
Presidenta  
Consejo Directivo 2019-2021



ACADEMIA DE INVESTIGACIÓN EN  
BIOLOGÍA DE REPRODUCCIÓN, A.C.

Otorga la presente

*Constancia a*

Aarón Pérez Gutiérrez

Por su participación en las actividades de la

**46 Reunión Anual**

Llevadas a cabo del 24 al 26 de mayo, en la  
plataforma ZOOM  
y con una duración de 18 h.

Boca del Río, Ver., 26 de mayo de 2021.

  
Dra. Margarita Macías Gómez  
Presidenta  
Consejo Directivo 2019-2021



ACADEMIA DE INVESTIGACIÓN EN  
BIOLOGÍA DE REPRODUCCIÓN, A.C.

Otorga la presente

## *Constancia a*

**Pérez Gutiérrez A, Xelhuantzi Arreguin N, Cruz Gómez Y.**

Por la presentación del trabajo

**Plasticidad neuronal pélvica en ratas gestantes a término.**

En las actividades de la

**46 Reunión Anual**

Boca del Río, Ver., 26 de mayo de 2021.

Dra. Margarita Martínez Gómez  
Presidenta  
Consejo Directivo 2019-2021





The Autonomous University of Tlaxcala and the Mexican Society for Urogenital Sciences

present this

# RECOGNITION

to **Aarón Pérez Gutiérrez**

As the **Third Place Winner** for the oral presentation of the work

“Diabetes mellitus affects both autonomic neurons and glial cells from the major pelvic ganglion in male rats”

by **Aarón Pérez Gutiérrez, Alvaro Muñoz Toscano, Margarita Juárez Romero, Yolanda**

**Cruz Gómez.**



Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas

during the 9<sup>th</sup> International Urogenital Science Meeting and the 1<sup>st</sup> National Urogenital Sciences Meeting

Tlaxcala, Tlax., Mexico

November 18<sup>th</sup> to 20<sup>th</sup>, 2021

**Dr. Yolanda Cruz**  
President, SMCU

**Dr. Alvaro Muñoz**  
Vicepresident, SMCU

**Dr. Maria Elena Hernández**  
Secretary, SMCU

**Dr. Cesar Pastelin**  
Treasurer, SMCU



The Autonomous University of Tlaxcala and  
the Mexican Society for Urogenital Sciences

Extends this certificate to:

Aarón Pérez Gutiérrez, Álvaro Muñoz Toscano,  
Margarita Juárez Romero & Yolanda Cruz Gómez



For presenting the work:

“Diabetes mellitus affects both autonomic neurons and glial cells from the major  
pelvic ganglion in male rats”



Sociedad Mexicana de  
Ciencias Fisiológicas

During the 9th International Urogenital Science Meeting and the 1st National  
Urogenital Sciences Meeting

Held in Tlaxcala City, Tlaxcala, Mexico

November 18th to 20th, 2021

Dr. Yolanda Cruz

President, Mexican Society for  
Urogenital Sciences

Dr. Alvaro Muñoz

Vicepresident, Mexican Society for Urogenital  
Sciences

Dr. Maria Elena Hernández

Secretary, Mexican Society for Urogenital  
Sciences

Dr. Cesar Pastelin

Treasurer, Mexican Society for Urogenital  
Sciences

The society for pelvic research, sixth annual meeting, december 10-12, 2021

S4A14

**Title:** Diabetes mellitus affects both autonomic neurons and glial cells from the major pelvic ganglion in male rats

**Authors:** Aarón Pérez-Gutierrez<sup>1\*</sup>, Alvaro Muñoz<sup>2</sup>, Margarita Juárez-Romero<sup>3</sup>, Yolanda Cruz<sup>3</sup>

**Affiliations:** <sup>1</sup>Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Tlaxcala, México. <sup>2</sup>Centro Universitario del Norte, Universidad de Guadalajara, Colotlán, Jalisco, México. <sup>3</sup>Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Tlaxcala, México.

**Introduction/Objectives:** Diabetes mellitus (DM) is a chronic hyperglycemic condition that importantly affects pelvic functions. Complications of DM includes cystopathy, frequency of micturition and erectile dysfunction. Increased micturition volumes and bladder enlargement is commonly observed in diabetic subjects. However, little is known about DM-induced changes in autonomic pelvic innervation. In rats, the major pelvic ganglion (MPG) is the main supplier of autonomic innervation for pelvic organs. The aim of the present study was to determine the effect of DM on neuronal and glial cells of the MPG.

**Methods:** Male Wistar rats (250-350 g) were used. DM was induced by a single dose of streptozotocin (60mg/kg, i.p.), sham animals received a vehicle injection. At 12 weeks after the induction of DM, animals were euthanized and the major pelvic ganglia dissected. The tissue was fixed by immersion in formalin 10% for at least 48 h, then embedded in paraffin, and sectioned at a thickness of 7  $\mu\text{m}$ . MPG sections were stained with hematoxylin-eosine and then examined with an optical microscope to determine morphometric characteristics of neurons and number of nucleolus in an area of 10,000  $\mu\text{m}^2$ . Measurements were made using AxioVision digital image processing software. The density of neurons and glial cells was determined. Statistical analysis was performed using Student's t test, alpha  $p < 0.05$ .

**Results:** Streptozotocin increased blood glucose levels above 300 mg/dL. In diabetic animals, the soma area of MPG postganglionic neurons ( $513 \pm 5 \mu\text{m}^2$ ) was significantly greater than soma area of sham rats ( $407 \pm 11 \mu\text{m}^2$ ;  $p < 0.001$ ). The number of MPG neurons with more than one nucleolus was also increased in 20% of the neurons of DM animals. However, the density of neurons and satellite glial cells were significantly decreased ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** Our results suggest that DM has deleterious effects on neurons and glial cells from the MPG. The hypertrophic effect on neuronal morphometry and higher number of nucleolus further suggest an increased cellular activity, probably triggered to try to innervate enlarged organs such as the urinary bladder.

**Funding Source(s):** CONACYT CVU 1107974 (APG)





## La Sociedad Mexicana de Ciencias Urogenitales, A. C.

Constituida para fomentar la vocación científica, la enseñanza y la comunicación de la investigación básica, clínica y tecnológica de las ciencias urogenitales

*Confirma la pertenencia a esta sociedad y agradece la participación del*

**Aarón Pérez Gutiérrez**

**Como Socio Estudiante y Miembro Activo**

*y destaca su compromiso para que la SMCU alcance su objetivo.*

Atentamente

**Dra. Yolanda Cruz Gómez**  
Presidenta

**Dr. Alvaro Muñoz Toscano**  
Vicepresidente

Número de socio CU-0010 desde el año 2021, habiendo renovado su membresía hasta el 31 de diciembre de 2022



**Cinvestav**

## Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional

**Universidad Autónoma de Tlaxcala**

**Centro de Investigación en Reproducción Animal Dr. Carlos Beyer Flores**

Laboratorio de neurociencia de la conducta

**Otorga la presente constancia a:**


**Aarón Pérez Gutiérrez**

**Por su asistencia al simposio en honor a la Dra. Patricia Aguilar Alonso "Nuevos conocimientos sobre el estrés oxidativo" el día 21 de Enero de 2022.**

**Valor curricular 5 Hrs**



POSGRADO EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS

  
Dr. Julio César Morales Medina  
Organizador

CENTRO DE INVESTIGACION  
EN REPRODUCCION ANIMAL  
CINVESTAV - U.A.T.  
Apdo. Postal No. 62  
TLAXCALA, 90000, TLAX.  
M E X I C O

Made for free with Certify'em



Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta  
División de Ciencias Biológicas  
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado



# CONSTANCIA

A **Aarón Pérez Gutiérrez**  
**Estudiante de Maestría en Ciencias Biológicas**

Por impartir el seminario  
**"Efecto de la diabetes mellitus sobre las características morfométricas del  
Ganglio Pélvico Mayor de ratas macho"**

"Por la Cultura a la Justicia Social"  
Tlaxcala, Tlax., a 31 de marzo de 2022



Dra. **Margarita Martínez Gómez** Posgrado  
Coord. Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado bajo la Norma: ISO 9001:2015- NMX-CC-9001-IMNC-2015



PCB/22-1/050-FSI

