



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ANÁLISIS DE LA PRESENCIA DE 17 β -ESTRADIOL EN
GANGLIOS PREVERTEBRALES ASOCIADOS A LOS
OVARIOS EN LA RATA ZUCKER OBESA Y DELGADA
A LO LARGO DEL CICLO ESTRAL

Tesis que para obtener el título de

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

MÓNICA NAZARETH CHÁVEZ RINCÓN

DIRECTORA: DRA. CAROLINA MORÁN RAYA

CODIRECTORA: DRA. MARÍA ESMERALDA RIVERA
CASTRO

SEPTIEMBRE 2025



AGRADECIMIENTOS

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, a la Facultad De Ciencias Biológicas de la BUAP y al Laboratorio De Aplicaciones Biotecnológicas del Instituto De Ciencias de la BUAP, por permitirme usar sus recursos e instalaciones para desempeñar no solo este trabajo sino todos mis estudios a lo largo de estos años.

A mi directora de tesis, Dra. Carolina Moran, y a mi co-directora, Dra. Esmeralda Rivera por su guía y su apoyo en todo este proceso. Al Dr. Juan Bravo, por todas sus enseñanzas. A mis sinodales, por sus valiosas observaciones y por toda la atención y seriedad con la que trataron mi trabajo.

A mis compañeros de laboratorio Idalia y Damián, que hicieron de las horas de trabajo momentos de complicidad y camaradería, y me hacían reír aún cuando los experimentos fallaban.

A todos mis maestros de la carrera, que más allá de enseñarnos mera teoría, inculcan en sus alumnos un profundo amor y respeto por todos los seres vivos, que cultivan la curiosidad y el deseo de ayudar sin distinciones. Su pasión por lo que hacen y lo que enseñan no pudo menos que inspirarme y motivarme, los veo a todos con la más grande admiración.

A mi familia:

Mi mamá, mi papá y mi hermana, porque han estado detrás de mí, apoyándome todo este tiempo y consolándome cuando los tiempos se volvían difíciles. A Karen y Adriana, con quienes desahogué mis frustraciones y se burlaban de mí, dándome ánimos y el coraje para no darme por vencida. A mis primos y mis tías, cuyo apoyo tácito siempre me recordó que todos mis esfuerzos empiezan y culminan en el amor a mi familia.

A mis Superbacterias:

Lupita, David, Alam, Linda, Andy y Sara. Sin ustedes no estaría aquí, fueron mi alma y corazón a lo largo de 7 años, durante clases, exámenes, proyectos, experimentos y noches de desvelo; y con quienes espero seguir compartiendo mi vida.

DEDICATORIA

*Para mi familia,
incluido mi Macedônio*

ÍNDICE

1. RESUMEN	6
2. INTRODUCCIÓN	7
2. 1. Sistema Nervioso	7
2. 1. 1. Simpático y Parasimpático	8
2. 1. 2. Ganglios prevertebrales y su conexión con los ovarios	10
2. 1. 2. 1. Ganglios celíacos	13
2. 1. 2. 2. Ganglios suprarrenales	13
2. 1. 2. 3. Ganglio mesentérico superior	14
2. 2. Ciclo Estral	16
2. 2. 1. Proestro.....	17
2. 2. 2. Estro	18
2. 2. 3. Diestro 1	18
2. 2. 4. Diestro 2	19
2. 3. Zucker Fatty. Un Modelo De Obesidad	20
2. 4. Antecedentes específicos	24
2. 4. 1. La hormona 17 β -Estradiol	25
2. 4. 2. El 17 β -Estradiol en los ganglios prevertebrales asociados a los ovarios en la rata	29
3. JUSTIFICACIÓN	32
4. HIPOTESIS	33
5. OBJETIVOS	34
6. MATERIALES Y MÉTODOS	35
6. 1. Modelo de estudio	35
6. 2. Seguimiento del ciclo estral	35
6. 3. Perfusión intracardiaca	36
6. 4. Extracción de tejidos	37
6. 5. Conservación de tejidos	37
6. 6. Corte de tejidos	38
6. 7. Inmunofluorescencia	38
6. 7. 1. Fase 1. Sembrado del anticuerpo primario	38
6. 7. 2. Fase 2. Sembrado del segundo anticuerpo	39

6. 7. 3. Fase 3. Montaje	39
6. 8. Análisis de imágenes y conteo neuronal	40
6. 9. Análisis estadístico	42
7. RESULTADOS	43
7. 1. Seguimiento del ciclo estral.....	43
7. 2. Parámetros Zoométricos	44
7. 3. Morfometría neuronal de cinco ganglios prevertebrales a lo largo del ciclo estral en ratas delgadas y obesas	44
7. 4. Presencia del 17β-estradiol (E2) en cinco ganglios prevertebrales a lo largo del ciclo estral en ratas delgadas.	47
7. 5. Asimetría de la expresión de 17β-estradiol en las neuronas de ganglios bilaterales durante el ciclo estral en ratas delgadas	51
7. 6. Presencia del 17β-estradiol (E2) en cinco ganglios prevertebrales en ratas delgadas y obesas en etapa de diestro	52
8. DISCUSIÓN	54
9. CONCLUSIONES	59
10. BIBLIOGRAFÍA	60

1. RESUMEN

El fenómeno de la obesidad en nuestro país ha tomado gran relevancia en los últimos años, especialmente como la causa de diversas comorbilidades que incrementan los riesgos cardiovasculares y endócrinos. En investigaciones recientes se ha estudiado la relación que existe entre el sistema nervioso central y esta condición clínica, sin embargo, se sabe que el sistema nervioso periférico también interviene en procesos metabólicos y puede regular la acumulación de tejido adiposo. Por su parte, los ovarios son glándulas esteroideogénicas capaces de modificar su producción hormonal cuando las señales nerviosas centrales y periféricas varían. Por ello, es importante estudiar la influencia de estas hormonas sobre los ganglios periféricos asociados, a lo largo del ciclo estral y utilizando como modelo a la rata Zucker obesa y delgada.

En el presente trabajo se analizó la presencia del 17β -estradiol en neuronas de cinco ganglios prevertebrales: ganglios celiacos, suprarrenales y mesentérico superior; asociados al funcionamiento ovárico. Se utilizaron ratas hembra adultas de tres meses de edad ($n=20$) mantenidas en condiciones controladas a las cuales se les dio seguimiento del ciclo estral. La presencia de la hormona en las células se cuantificó mediante técnicas de inmunohistoquímica de fluorescencia.

En los modelos con obesidad se presentó un ciclo estral irregular caracterizado por un diestro prolongado. En cambio, las ratas delgadas sí presentaron ciclos regulares. De las pruebas de inmunofluorescencia se observó la mayor cantidad de neuronas inmunopositivas a 17β -estradiol en los días de diestro 2 y proestro de ratas delgadas; además, se presentó asimetría en la inmunoreactividad entre los ganglios bilaterales suprarrenales y celiacos. El tamaño del soma neuronal presentó variaciones a lo largo del ciclo en ganglios específicos durante los días del diestro 2 y el proestro. Por su parte, el número de neuronas que presentó el diestro de ratas obesas no mostró diferencias significativas respecto al diestro de las ratas delgadas.

Así, la presencia de 17β -estradiol en las neuronas de cinco ganglios prevertebrales es asimétrica y varía durante el ciclo estral en animales delgados, mientras que la rata en condiciones de obesidad carece de ciclicidad y de las variaciones asociadas; lo que sugiere que la fluctuación de esta hormona en las neuronas a lo largo del ciclo estral puede influir sobre el tejido adiposo y sobre el desarrollo de padecimientos relacionados con el eje hipotálamo-hipófisis-ovarios como endometriosis, síndrome de ovario poliquístico e infertilidad.

2. INTRODUCCIÓN

2. 1. Sistema nervioso

Bazira (2021), define al sistema nervioso como un conjunto funcional de células, tejidos y órganos que se encarga de percibir, procesar y responder a los estímulos tanto del ambiente externo como del interno, así como de regular estas respuestas con el fin de mantener el equilibrio homeostático del organismo.

Éste puede dividirse en dos subsistemas principales:

El sistema nervioso central (SNC), formado por el encéfalo y la médula espinal. El primero, también conocido como *cerebro*, se compone de dos hemisferios (derecho e izquierdo divididos por la *fisura media*), un cerebelo y un bulbo raquídeo. Las estructuras del SNC están recubiertas por tres capas membranosas llamadas *meninges*, que lo protegen. En ratas, el extremo rostral del encéfalo presenta grandes bulbos olfatorios, órganos pareados, de los que se derivan los nervios olfatorios que los conectan con el tejido nasal interno (Crisler et al., 2020; Huilgol & Tole, 2016).

Por otro lado, el *sistema nervioso periférico (SNP)*, engloba al resto de sistema nervioso, incluye 34 pares de nervios espinales, los pares de nervios craneales III-XII (entre ellos el nervio vago), raíces nerviosas espinales, nervios motores y sensitivos, además de numerosos ganglios. Su principal función es la conducción de la información del SNC hacia los demás órganos de la periferia y de regreso el SNC (Crisler et al., 2020; Snyder et al., 2018). Este último también se divide en: *sistema nervioso autónomo (SNA)* y *sistema nervioso somático (SNS)*, cuya acción coordinada permite el funcionamiento adecuado de los órganos y el mantenimiento homeostático de los organismos (Figura. 1; Snyder et al., 2018).

De ellos, el SNA, como lo dice su nombre, es el encargado de modular las funciones autónomas, es decir, procesos involuntarios que varían dependiendo de las condiciones del ambiente externo e interno del organismo. Los nervios y los ganglios que lo conforman inervan las vísceras abdominales y pélvicas, además del sistema cardiovascular y de las glándulas exocrinas: lacrimales, salivales, gástricas, sudoríparas, prostática, el páncreas y las glándulas genitales, que incluyen a las gónadas. Su principal centro de control neuronal se encuentra en el hipotálamo, sin embargo, también se pueden encontrar otros núcleos en el tallo cerebral, médula espinal, formación reticular y corteza cerebral (Furness, 2015).

Por su parte, el SNS, también conocido como sensorimotor, transmite la información del ambiente externo hacia el SNC y controla los movimientos sometidos a control voluntario, por lo que comprende principalmente fibras sensitivas y motoneuronas (Snyder et al., 2018).

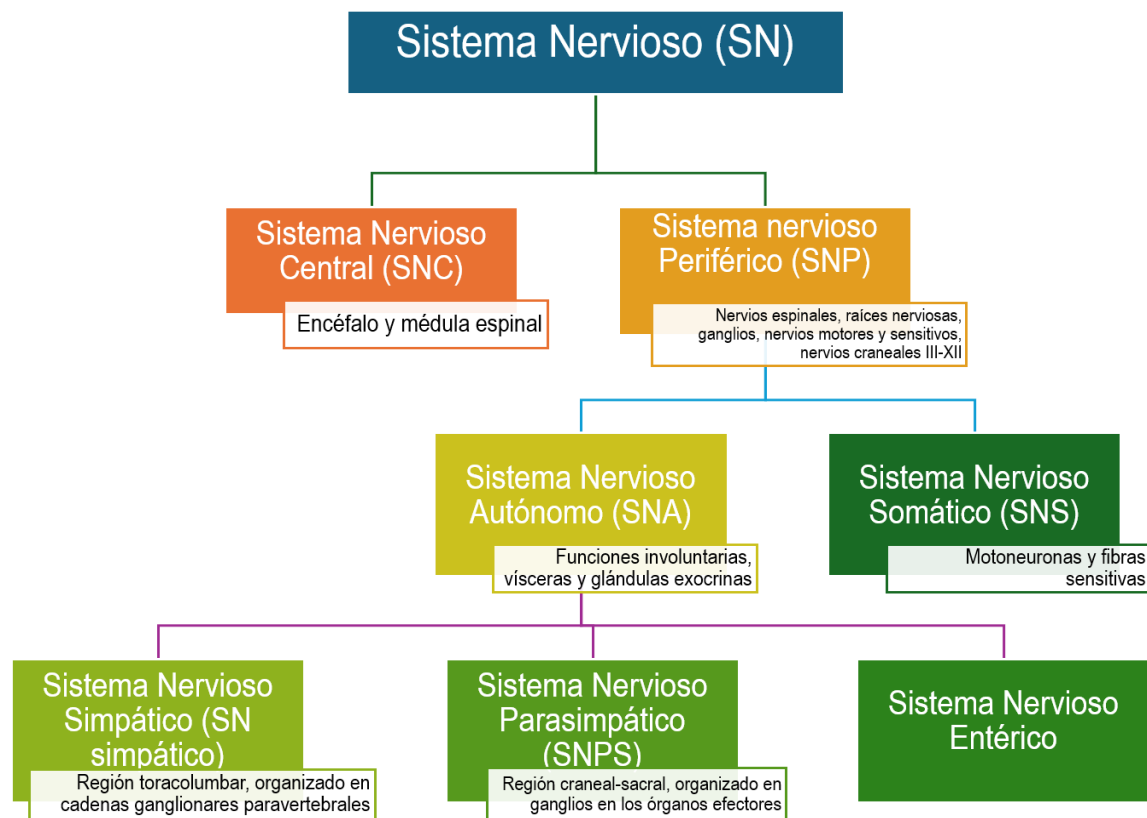


Figura 1. Principales divisiones y componentes del Sistema nervioso (Creación propia).

2. 1. 1. Sistema nervioso simpático y parasimpático

Dentro del mismo sistema nervioso autónomo se reconocen otras tres divisiones: *el sistema nervioso simpático (SN simpático), parasimpático (SNPS) y entérico* (Furness, 2015).

El SN simpático se origina en la región toracolumbar y se organiza en una serie de ganglios cercanos y paralelos a la columna (*ganglios paravertebrales*) que forman *cadenas simpáticas* que se extienden desde el ganglio cervical superior (GCS) hasta la región sacra, estos ganglios se caracterizan por presentar inervaciones escasas de mielina. Por su parte, el SNPS reside en las zonas sacral y craneal y se organiza en ganglios ubicados en el órgano efector, sin cruzar por ganglios intermedios (Figura 2. Amthor, 2020; Furness, 2015; Snyder et al., 2018).

La organización del SNA depende de si la información procede del cerebro o de la médula espinal. El control parasimpático, ejercido por el cerebro, lleva las señales hacia las glándulas y los músculos involuntarios de la cabeza mediante los nervios craneales III, VII y IX, por su parte, el par X inerva al corazón y los pulmones, mientras que las proyecciones medulares inervan el colon, el riñón, la vejiga y los órganos reproductores; en el caso del sistema simpático, algunas proyecciones torácicas de la médula controlan a las pupilas y a algunas glándulas (Amthor, 2020).

Los ganglios simpáticos liberan principalmente norepinefrina (NE), mientras que los parasimpáticos suelen ser colinérgicos (ACh) por lo que sus efectos tienden a ser opuestos; por ejemplo, la NE de las proyecciones simpáticas aumenta el ritmo cardíaco, mientras que la ACh de la división parasimpática lo disminuye (Amthor, 2020). No obstante, ello no significa que ambas divisiones sean antagónicas: el SNS envía proyecciones a todo el cuerpo, mientras que el SNPS inerva zonas específicas, además de que son muy pocos los tejidos que cuentan con inervaciones tanto simpáticas como parasimpáticas (Furness, 2015; Jänig, 2006).

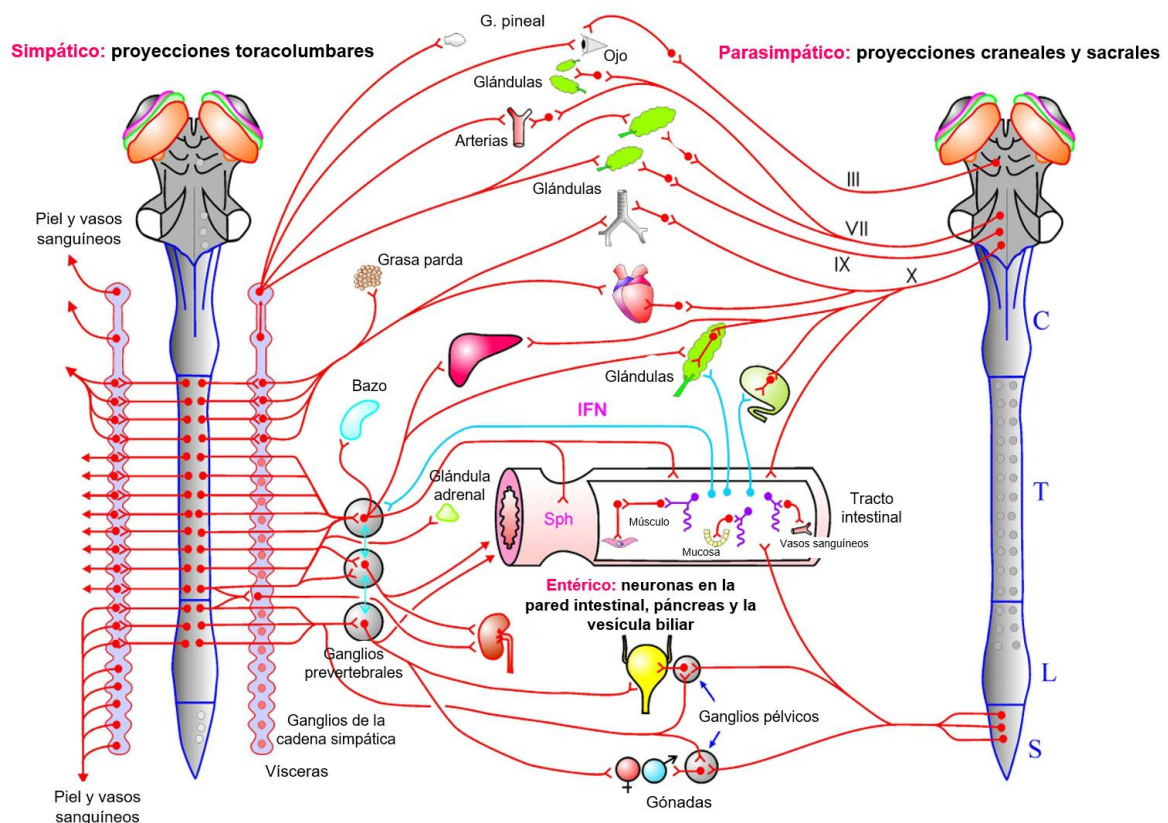


Figura 2. Organización anatómico-funcional del sistema nervioso simpático y parasimpático. Los ganglios simpáticos se organizan en cadenas paralelas a la columna, mientras que los ganglios parasimpáticos se ubican cercanos a los órganos efectores (Modificado de Furness, 2015).

Si bien el SN simpático y el SNPS son dos subsistemas distinguibles, existe entre ellos una estrecha relación, por lo que una desregulación en alguno de ellos podría tener consecuencias en el funcionamiento del otro, afectando el equilibrio homeostático de forma crónica (Amthor, 2020). Por ejemplo, en un estudio realizado en ratas hembras (Brito et al., 2008), se reportó que, al ser tratadas con una ingesta excesiva de fructosa, se presentó un desbalance autonómico que llevó al desarrollo de hipertensión y resistencia a la insulina, proveyendo evidencia que sugiere que la disfunción autonómica tiene un papel en la aparición de desórdenes metabólicos y cardiovasculares.

2. 1. 2. Ganglios prevertebrales y su conexión con los ovarios

Los segmentos proximales de los nervios periféricos que surgen de la foramina de la médula se ramifican en proyecciones que se entretajan con las proyecciones nerviosas de otros niveles espinales para formar una red llamada *plexo nervioso*; estos plexos a su vez se ramifican y proyectan para formar nervios más largos que envían fibras hacia todo el cuerpo (Thaisetthawatkul & Dyck, 2020).

De acuerdo con los estudios anatómicos realizados por Baljet & Drukker, (1979) y Pastelín et al., (2017), las fibras que inervan los ovarios surgen principalmente de cinco ganglios pertenecientes al plexo celíaco: los ganglios celíacos (izquierdo y derecho), los ganglios suprarrenales (izquierdo y derecho) y el ganglio mesentérico superior.

Para poder hacer una descripción anatómica de los ganglios que inervan a los ovarios es importante considerar que las estructuras nerviosas en el SNA suelen ubicarse y designarse en relación con los vasos sanguíneos junto a los que viajan, por ello es necesario mencionar brevemente los vasos sanguíneos, ramificaciones de la aorta abdominal, asociados a estos ganglios (Figura 3; Baljet & Drukker, 1979):

- a. Arteria celíaca: se deriva ventralmente de la aorta, se divide en izquierda gástrica, arterias hepáticas lineales y comunes.
- b. Arterias mesentérica superior e inferior: la primera se deriva ventralmente de la aorta, caudal a la arteria celiaca y más grande que ésta, se ramifica en la arteria cólica media; la segunda se ramifica en la arteria cólica izquierda al llegar al colon y en la arteria rectal superior al alcanzar el recto.
- c. Arterias renales: Derecha e izquierda, una se encuentra a la altura de la arteria mesentérica superior y cruza de manera dorsal la vena cava inferior; la otra se

encuentra caudal a la arteria mesentérica superior, ambas se ramifican antes de entrar a sus respectivos riñones, unas de estas ramificaciones son las arterias suprarrenales inferiores.

- d. Arterias ováricas: se derivan de la aorta a la altura de la región caudal de las arterias renales, atraviesan el útero de forma ventral y se ramifican cercanas al ovario para irrigarlo en conjunto con el oviducto, finalmente presentan anastomosis con las arterias uterinas.

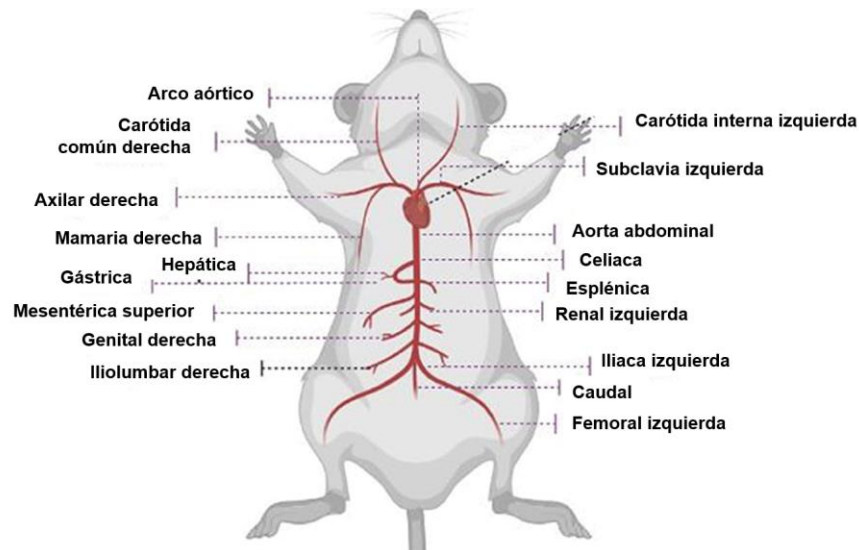


Figura 3. Sistema circulatorio arterial en ratas (Modificado de Farag et al., 2023).

Mientras el cerebro funciona, principalmente, como el centro de la conducta consciente, el SNP se encarga, en colaboración con el tallo cerebral y el hipotálamo, del control de procesos involuntarios como el metabolismo, el ritmo cardíaco o la digestión. Dado que modula mecanismos en todo el cuerpo y procesa una gran cantidad de señales, es necesario que disponga de varios centros de control, distribuidos en todo el organismo, que regulen y organicen la información que va tanto del exterior (somatosensitiva) hacia el SNC, como del cerebro hacia los diversos órganos; dichos centros son llamados *ganglios*, formados por numerosos conjuntos de somas neuronales (Amthor, 2020).

Se reconocen diversos grupos de ganglios autonómicos dependiendo de dónde se distribuyan. Los ganglios celíacos, mesentéricos superior e inferior y suprarrenales, pertenecen al grupo de los *ganglios prevertebrales*, quienes inervan los órganos viscerales en la zona abdominal, recibiendo información de los nervios esplácnicos y comunicándose con los ovarios mediante un circuito neural que incluye

una variedad de nervios como el nervio ovárico superior (NOS) y el nervio vago (Baljet & Drukker, 1979; Furness, 2015; Pastelín et al., 2017).

El NOS es una estructura nerviosa bilateral que surge del borde lateral del ganglio suprarrenal y recorre libremente el borde de la glándula suprarrenal, dirigiéndose hacia el ligamento suspensorio, en el que se introduce y el cual recorre embebido hasta inervar el ovario ipsilateral. Antes de llegar al ovario, el NOS se va conformando de los haces que surgen de varios ganglios: los ganglios celíacos, los suprarrenales y el mesentérico superior, tanto ipsi como contralaterales (Figura 4). Se compone de fibras aferentes y eferentes, por lo que la información autonómica y sensorial proveniente de los ovarios es transmitida principalmente por el NOS para ser procesada, inicialmente, por estos ganglios (Pastelín et al., 2023).

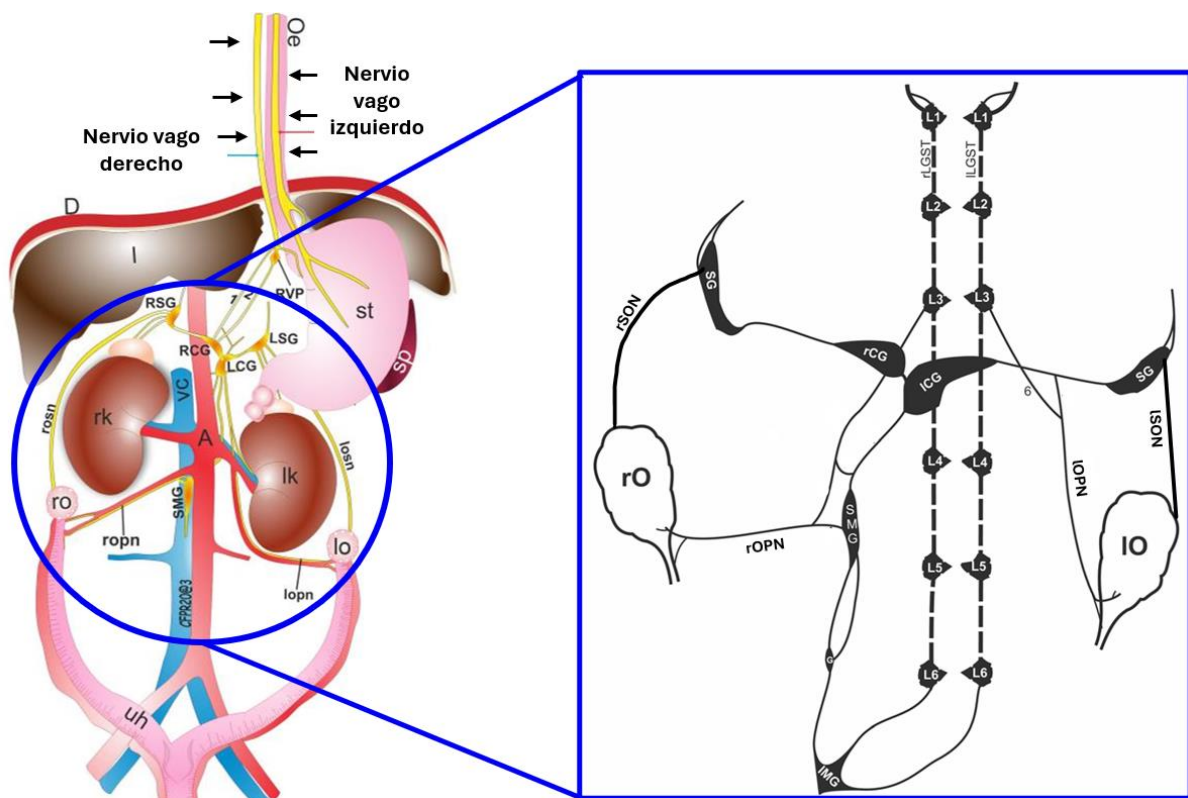


Figura 4. Esquema de la comunicación ovario-ganglionar mediada por el NOS en ratas. RSON, nervio ovárico superior derecho; LSON, nervio ovárico superior izquierdo; ROPN, nervio del plexo ovárico derecho; LOPN, nervio del plexo ovárico izquierdo; RSG, ganglio suprarrenal derecho; LSG, ganglio suprarrenal izquierdo; RCG, ganglio celíaco derecho; LCG, ganglio celíaco izquierdo; SMG, ganglio mesentérico superior, IMG, ganglio mesentérico inferior; rk, riñón derecho; lk, riñón izquierdo; rO, ovario derecho; lO, ovario izquierdo; A, aorta; VC, vena cava; RVP, plexo vago derecho; uh, cuernos uterinos; st, estómago; D, diafragma (Modificado de Pastelín et al., 2017; Rivera-Castro et al., 2023)

2. 1. 2. 1. Ganglios celíacos

Los ganglios celíacos (GC) son estructuras nerviosas pareadas (Pastelín et al., 2017), que consisten en dos lóbulos ubicados ventro-lateralmente a la aorta, caudal a la arteria celíaca (Furness, 2015). Estos ganglios siempre son asimétricos, siendo el izquierdo más grande que el derecho: el ganglio celíaco izquierdo (GCI) tiene forma de medialuna y se ubica a la izquierda de la arteria celíaca y de la arteria mesentérica superior; el ganglio celíaco derecho (GCD) tiene forma triangular y se ubica a la derecha de la arteria celíaca en la zona caudal, cercano a su origen en la aorta. Se comunican entre sí mediante varias fibras nerviosas, unas recorren dorsales a la aorta, entre las arterias celiacas y mesentérica superior; otras atraviesan ventralmente a las arterias renales y unen a los ganglios en sus regiones más distales (Baljet & Drukker, 1979).

Al seguir las fibras de los nervios espláncnicos, provenientes de la cadena sináptica, se observan los engrosamientos que conforman los ganglios espláncnicos, los cuales se ubican cercanos a los ganglios celíacos y a los que dirigen sus principales proyecciones (Furness, 2015; Hill et al., 1987). El nervio vago también tiene influencia sobre los ganglios celíacos, que fungen como punto de conexión entre el del nervio vago y el resto del plexo celíaco, información que eventualmente se dirige a los ovarios. Ambos GC se conectan además con el sistema entérico, varios órganos viscerales y abdominales, el estómago y el tejido adiposo (Linares et al., 2013; Rivera-Castro et al., 2023).

Finalmente, la mayoría de las fibras del nervio ovárico superior, embebido en el ligamento suspensorio, que se proyectan hacia el ovario, presentan sus somas en el ganglio celíaco, por lo que se considera a los ganglios celíacos como el principal centro del SNA en el que converge la información proveniente del ovario que pasa a través del nervio ovárico (Pastelín et al., 2023).

2. 1. 2. 2. Ganglios suprarrenales

Las glándulas suprarrenales se encuentran altamente inervadas por lo que Baljet & Drukker (1979), describen como el *plexo nervioso suprarrenal*, compuesto por haces de fibras nerviosas que recorren junto a la arteria suprarrenal inferior y por numerosos ganglios pequeños que, en su mayoría, derivan de los llamados ganglios suprarrenales (GS).

Bautizados con ese nombre debido a su particular ubicación, fueron descritos por primera vez en 1979 por Baljet y Drukker, como un par ganglios cercanos a las glándulas suprarrenales y a los riñones que presentaban una forma elongada que ocasionalmente se redondea en las regiones cercanas a las glándulas.

De ellos se derivan varios nervios con diversos destinos: Los nervios suprarrenales, que inervan las glándulas, se derivan de los ganglios suprarrenales y de las regiones de los nervios espláncnicos mayores que se encuentran distales a los mismos ganglios; el nervio celíaco, que se dirige hacia los ganglios celíacos, se compone de los haces que se originan en ambos ganglios suprarrenales y recorren en dirección de la arteria celíaca; los nervios derecho e izquierdo del plexo frénico, asociados a las arterias frénicas inferiores, surgen de la región caudal del ganglio suprarrenal derecho (GSD), y de la parte craneal del ganglio suprarrenal izquierdo (GSI), respectivamente; los nervios que descienden junto a la arteria suprarrenal inferior y la arteria renal para dirigirse al riñón se originan de la región caudal del ganglio suprarrenal; los ganglios suprarrenales también establecen conexiones con los nervios espláncnicos menores (Baljet & Drukker, 1979).

Estudios más recientes (Pastelín et al., 2023), confirman varias de las observaciones publicadas en el artículo de Baljet & Drukker, (1979), como el surgimiento de fibras nerviosas que recorren en la dirección el ligamento suspensorio del ovario a partir de los GS; y añaden nuevos descubrimientos sobre su anatomía. Las investigaciones realizadas con histoquímica de acetilcolinesterasa confirman que los ganglios suprarrenales son el origen del nervio ovárico superior (NOS).

2. 1. 2. 3. Ganglio mesentérico superior

Uno de los primeros registros que se tiene del ganglio mesentérico superior (GMS) proviene de los trabajos de Baljet & Drukker, (1979), quienes reportan la existencia de un ganglio cerca de la arteria mesentérica superior, de la que deriva su nombre. En un principio fue considerado parte del ganglio celíaco izquierdo, sin embargo, estudios más recientes (Pastelín et al., 2017) señalan que el GMS no es parte del GCI, sino que este último, más bien, se prolonga hasta después de la arteria mesentérica superior.

El GMS es, entonces, un ganglio único, fusiforme, conformado por neuronas ovals, cuyos núcleos se ubican mayormente en el centro del pericarion (soma). Se encuentra en el lado derecho, unido a la vena cava inferior, cercano a la región de la aorta de la que se origina la arteria mesentérica superior (Furness, 2015; Pastelín et al., 2017). De él se derivan varios haces nerviosos que recorren en la dirección de la arteria mesentérica superior y se dirigen al estómago, al bazo, al páncreas y, en mayor medida, hacia el intestino delgado y la región proximal del colon (Quinson et al., 2001). De su región caudal deriva el nervio intermesentérico que alcanza indirectamente, mediante las fibras de un ganglio pequeño cercano a la vena cava inferior, al ganglio interrenal y al ganglio mesentérico inferior (Furness, 2015; Quinson et al., 2001).

La influencia que ejerce el GMS en el funcionamiento ovárico y uterino se lleva a cabo mediante el Nervio del Plexo Ovárico (NPO; Figura 4; Pastelín et al., 2017).

Pastelín et al., 2017, propone que la inervación autonómica de los ovarios presenta una asimetría, particularmente respecto a las conexiones que forma con los ganglios prevertebrales, conformando vías multi sinápticas entre el ovario y el SNP. Dicha asimetría es mencionada igualmente en el trabajo de Morán et al., (2005), que señala que la información que va del ovario hacia los ganglios es, además, ipsilateral: las señales provenientes del ganglio celíaco-mesentérico superior izquierdo se dirigen al ovario izquierdo a través del NPO y el NOS, mientras que aquellas provenientes del ganglio celíaco-mesentérico superior derecho recorren exclusivamente el NPO para alcanzar el ovario derecho.

2. 2. Ciclo estral

La existencia de un ciclo estral es vital para la reproducción. Su principal propósito es la coordinación temporal de eventos como la presencia de conductas sexuales, la ovulación y la receptividad uterina para hacer posible el establecimiento de un embarazo (McArdle & Roberson, 2015).

Los ciclos pueden variar según la especie, ajustándose a su ambiente o a su estrategia reproductiva. En roedores, que tienen un promedio de vida bastante corto y cuyo tiempo para reproducirse es limitado, alcanzan la madurez sexual bastante jóvenes, los ciclos son poliestríticos, cortos, regulares y sucesivos, presentan ovulación espontánea y carecen de una fase lútea a menos que haya preñez (Paccola et al., 2013; Sato et al., 2016). La regularidad del ciclo estral se alcanza aproximadamente una semana después de la apertura vaginal (Maeda et al., 2000).

El ciclo estral también puede variar dependiendo de otros factores como la edad, la temperatura, la luz, o las estaciones, aunque este último no aplica para aquellos individuos criados en el laboratorio (Otto et al., 2015; Paccola et al., 2013). Incluso se puede ver afectado debido al estrés que sufren los individuos debido al manejo y procedimientos en el laboratorio a los que son sometidos (Maeda et al., 2000). La función ovárica está particularmente influenciada por los ciclos de luz y oscuridad, y se ha visto que irregularidades en ellos puede llevar a la formación de quistes, pubertad prematura e incluso atrofia ovárica (Fox & Laird, 1970).

Incluso la dieta puede ser un gran determinante del avance adecuado y la regulación del ciclo. Wang et al., (2014), realizó un estudio en ratas inicialmente delgadas a quienes se les administró una dieta alta en grasa, y las cuales desarrollaron obesidad. Sus resultados mostraron que las ratas obesas manifiestan alteraciones en la regularidad del ciclo estral, se vuelven irregulares y lo hacen con mayor frecuencia que las ratas delgadas. Además de que solo las ratas obesas presentan el cese completo del avance del ciclo, es decir, que las ratas obesas ya no ciclan después de un tiempo.

Un ciclo estral normal se caracteriza por cambios morfológicos en los ovarios, en el útero y en la vagina (Goldman et al., 2007). En ratas, ambos ovarios presentan al mismo tiempo los mismos cambios, incluyendo una ovulación bilateral (Sato et al., 2016). Estos cambios y su duración son muy particulares, por lo que se han clasificado diferentes fases que corresponden a cada uno de estos cambios. Aunque ésta puede

variar según el autor, la mayoría considera que el ciclo dura entre cuatro y cinco días e incluye cuatro fases: *proestro*, *estro*, *diestro 1* (o *metaestro*), y *diestro 2*, donde cada fase tiene una duración aproximada de un día; en el caso de los ciclos de cinco días el diestro se puede extender hasta tres días, considerándolos diestro 1, 2, y 3 (Lohmiller et al., 2020; Maeda et al., 2000; Otto et al., 2015).

Para poder regular el avance del ciclo y los cambios morfológicos y funcionales que sufre el ovario y el tracto a lo largo de éste, es necesaria la coordinación de los ciclos ováricos y uterinos. Esto es posible gracias a los diferentes niveles que adoptan diversas hormonas a lo largo de las fases del ciclo (McArdle & Roberson, 2015). De manera general, sucede lo siguiente (de la Iglesia & Schwartz, 2006; Lohmiller et al., 2020; Steegers-Theunissen et al., 2020):

Cuando se alcanza la pubertad y el eje hipotálamo-hipófisis-ovario ha llegado a la madurez, el hipotálamo empieza a secretar la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), la cual estimula a su vez, la secreción de gonadotropinas (FSH y LH), por parte de la adenohipófisis. El aumento en sus niveles provoca, en los folículos dentro del ovario, su desarrollo y la liberación de cantidades progresivamente mayores de estrógenos. Gracias a complejos sistemas de retroalimentación, el aumento de los niveles estrogénicos actúa sobre el hipotálamo; cuando éstos alcanzan su nivel máximo se produce una gran cantidad de GnRH, lo que estimula la producción de una oleada de LH, que desencadena la ovulación y la consecuente formación del cuerpo lúteo a partir del folículo roto, el cual, comienza con la secreción de progesterona, que inhibe la producción de FSH y evita, temporalmente, la maduración de otros folículos. Si no hay implantación del embrión, el cuerpo lúteo se desintegra, los niveles de progesterona descienden y nuevamente empieza a liberarse FSH, para madurar un nuevo folículo.

2. 2. 1. Proestro

Marca el inicio del ciclo, se considera que una rata ha alcanzado la pubertad cuando, además de la apertura vaginal, se presenta el primer proestro. Durante esta etapa se presenta el aumento en la secreción de GnRH por parte del hipotálamo, y de LH y FSH por parte de la hipófisis, estimulando un desarrollo folicular acelerado y la secreción de estrógenos por parte de los ovarios, entre ellos, el 17- β estradiol es de los más importantes; sus niveles aumentan gradualmente junto con los de las GnRH y las gonadotropinas. Cuando los estrógenos alcanzan su cima desencadenan

una oleada de gonadotropinas que estimulan a los folículos preovulatorios y promueven la ovulación (Figura 5.; Lohmiller et al., 2020; Sato et al., 2016).

Además de las gonadotropinas y de los estrógenos, durante el proestro se aprecia un aumento en los niveles de prolactina, secretada igualmente por la hipófisis (Gaytán et al., 2001).

La oleada de gonadotropinas provoca no solo la liberación del ovocito sino también el desarrollo de otros folículos pequeños (Peluso, 1992). Dado que la ovulación no ha tenido lugar pero está próxima a suceder, es posible observar en cortes histológicos del ovario, entre dos y cuatro folículos preovulatorios en un solo corte (Sato et al., 2016), además, el útero se encuentra inflamado (Otto et al., 2015).

2. 2. 2. Estro

La fase inicia con la ovulación, 10-12h tras la oleada de LH y FSH del proestro (Paccola et al., 2013). Tras ella, los niveles de estradiol descienden y la presencia de la LH provoca que las células del folículo roto comiencen su diferenciación en células lúteas para la formación del cuerpo lúteo, aumentando considerablemente los niveles de progesterona (Figura. 5), que estimulan al útero para que se mantenga en las condiciones óptimas para la implantación del embrión, incrementando el tono uterino (miometrio) y la producción de mucosa (endometrio; Lohmiller et al., 2020; Sato et al., 2016). El ovocito se mantiene viable de 10 a 12 horas tras su expulsión del ovario (Fox & Laird, 1970).

La vulva se inflama y las paredes vaginales lucen secas debido a la cornificación del epitelio vaginal. La progesterona y los estrógenos también actúan en el SN para inducir las conductas de apareamiento, las hembras manifiestan receptividad sexual (celo) durante los periodos de oscuridad del día del estro (Crisler et al., 2020; Freeman, 1988; Lohmiller et al., 2020). Al final de este mismo día es posible observar que los niveles de gonadotropinas retornan a niveles basales (Sato et al., 2016).

2. 2. 3. Diestro 1 (o metaestro)

Durante esta etapa los cuerpos lúteos comienzan su proceso de regresión (Sato et al., 2016). Éstos duran aproximadamente 12-14 días, por lo que en ciclos subsecuentes es posible seguir observando numerosos cuerpos lúteos (Yoshida et al., 2009). La vulva luce más humectada (Otto et al., 2015). Conductualmente, las

hembras ya no son receptivas del macho hasta el siguiente proestro (Hamid & Zakaria, 2013).

2. 2. 4. Diestro 2

Las oleadas de prolactina del proestro estimulan la luteolisis tras el metaestro; en caso de no haber implantación, los niveles de progesterona caen (Gaytán et al., 2001; Lohmiller et al., 2020; Sato et al., 2016).

En esta etapa, la última antes de recomenzar el ciclo, se observa nuevamente el aumento en los niveles de 17β -estradiol, cuyo máximo se alcanza en el proestro, asociado al desarrollo folicular. El ciclo termina cuando se alcanza nuevamente el máximo en los niveles estrogénicos (Figura 5; Freeman, 1988). Este mismo patrón de desarrollo folicular y regresión lútea se repite con cada ciclo (Sato et al., 2016).

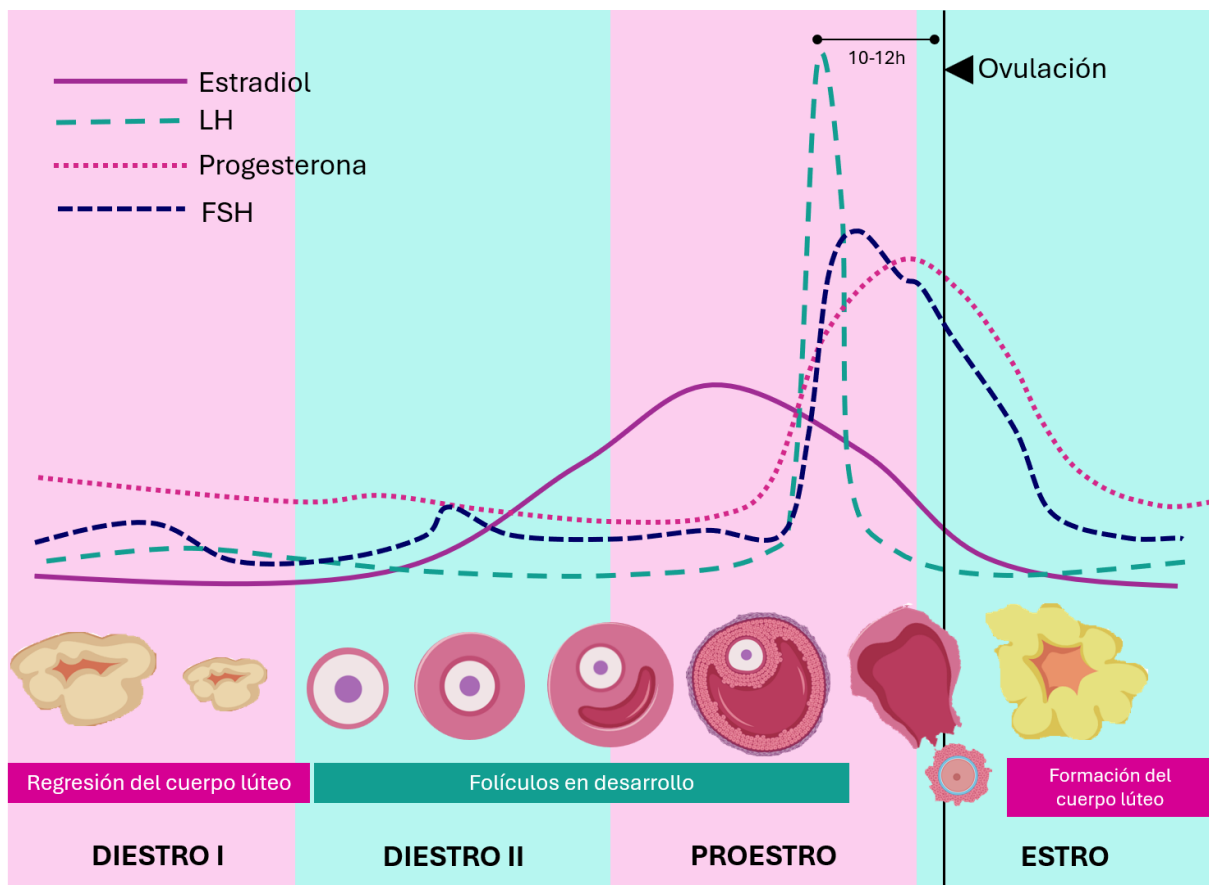


Figura. 5. Ciclo estral en ratas. Tiene una duración de 4 días y se conforma de 4 etapas: proestro, estro, diestro 1 (o metaestro) y diestro 2. Cada etapa se caracteriza por diferentes niveles de hormonas hipofisarias y ováricas que permiten el desarrollo folicular y finalmente la ovulación, tras la cual se diferencia el cuerpo lúteo cuya regresión y la recuperación de los niveles estrogénicos significan el reinicio de un nuevo ciclo. FSH, hormona folículo estimulante; LH, hormona luteinizante (Modificado de Goldman et al., 2007).

2. 3. Zucker Fatty, un modelo de obesidad

Recientemente se reconoció que tanto el síndrome metabólico como la obesidad son estados patofisiológicos que pueden presentarse de manera independiente. Asimismo, debido a que éstas son afecciones con múltiples etiologías (Lee et al., 2016; Shi et al., 2020), se han desarrollado múltiples cepas de modelos animales, como las ratas, que imiten la especificidad de cada uno de los factores que los influyen. Por ejemplo, para el estudio de la obesidad causada por el tipo de dieta se desarrolló la cepa *DIO prone rat* (Levin et al., 1997), criada especialmente para desarrollar obesidad y otros padecimientos metabólicos al administrársele una dieta alta en grasa, azúcar y calorías; también existe la cepa Goto-Kakizaki (Goto et al., 1988), utilizada como modelo para el estudio de la diabetes, que se distingue por ser delgada.

Dentro de esta diversidad, también son ampliamente usados los modelos de obesidad genética. En un artículo publicado por Zucker & Zucker (1961), se reporta por primera vez la aparición, de forma espontánea, de una nueva cepa mutada que se caracteriza por ser obesa, a la que designaron *Fatty* (Figura 6).

La rata Zucker Fatty (ZF), es multicolor, su pelaje puede ser predominantemente café, café con blanco, predominantemente negro o blanco con negro (Owens, 2006). A nivel genético, surge debido a un único gen recesivo: sólo los individuos homocigotos recesivos (*fafa*) manifiestan el fenotipo obeso, mientras que los heterocigotos (*Fafa*) muestran un crecimiento corporal similar al de los homocigotos delgados (*FaFa*) (Zucker & Zucker, 1961)

La leptina es una hormona peptídica producida principalmente por los adipocitos. Es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica y unirse a sus receptores en el SNC por lo que tiene un papel importante en la regulación de la conducta alimentaria y de la homeostasis energética (Tartaglia et al., 1995). En el SNC es el hipotálamo quien expresa la mayor cantidad de receptores de leptina, específicamente los núcleos involucrados en la regulación de la conducta alimentaria y del gasto energético (Simpson et al., 2009).

El alelo *fa* posee una única mutación puntual que provoca un cambio en la secuencia aminoacídica del receptor a leptina (*Lepr*). El gen que codifica una región del dominio extracelular del *Lepr* presenta una transversión en el nucleótido 880 en el que se reemplaza una adenina (*Fa*) con una citosina (*fa*), lo que provoca el cambio,

en el aminoácido 269, de una glutamina (wild type) por una prolina (*fafa*). Al sitio mutado en la secuencia nucleotídica se le dió el nombre de *Msp I*, mientras que a la mutación se le denominó *Gln269Pro*, que resulta en una reducción de hasta 10 veces en los niveles del receptor en la superficie celular (Chua et al., 1996).

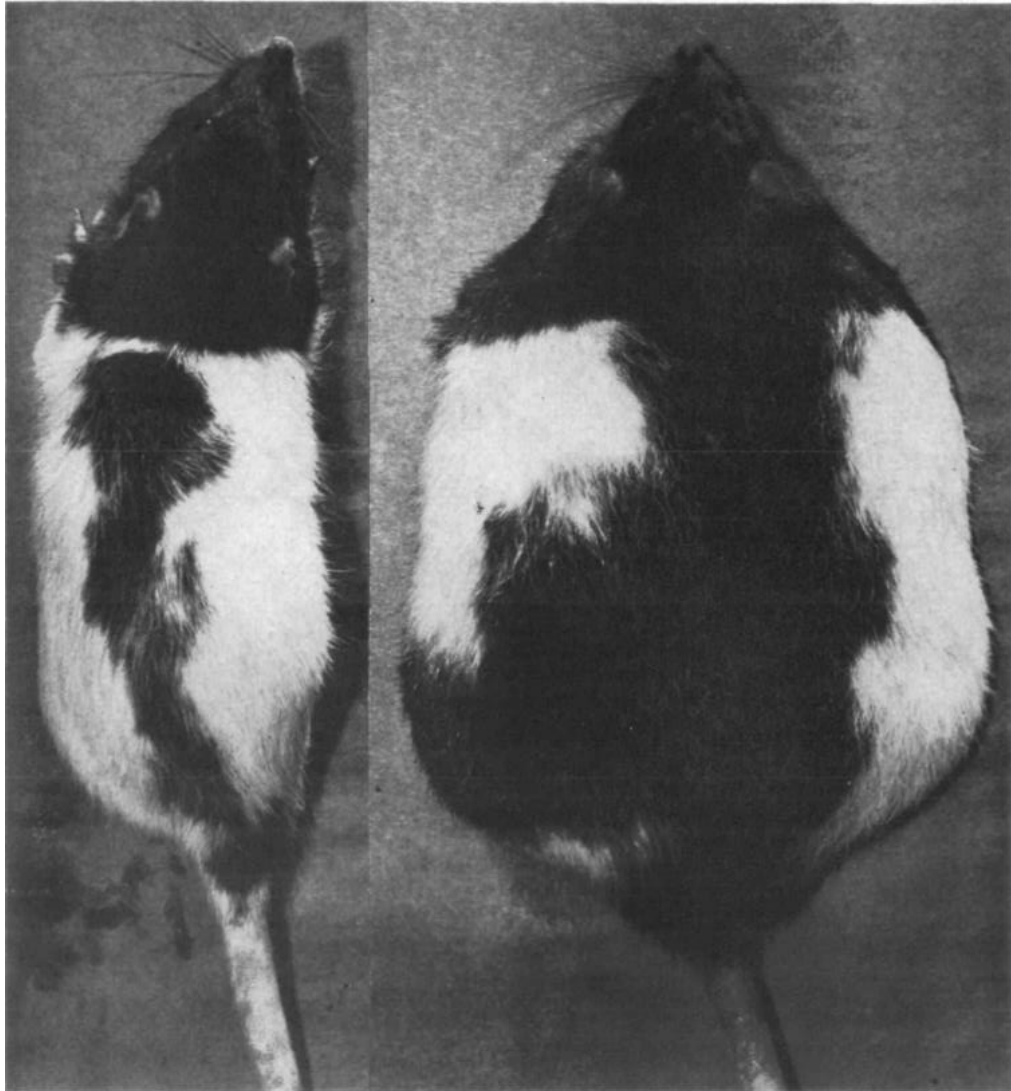


Figura 6. Comparación entre una Zucker delgada (izq.), y una obesa (der.). Ejemplares de 10 meses de edad (Tomado de Zucker & Zucker, 1961)

Las hembras homocigotas, a diferencia de los machos que se desarrollan con normalidad, exhiben órganos sexuales subdesarrollados y pueden manifestar esterilidad, por lo que es necesaria la cruce de heterocigotos fértiles (*Fafa*), para producir el fenotipo obeso (*fafa*), que se presenta con una constancia del 25% por camada, cruzando a los mismos padres (Zucker & Zucker, 1961)

La rata Zucker obesa (*fafa*), se distingue a simple vista, por el desarrollo temprano de obesidad, a partir de la 3-5 semana de edad, alcanzando su pico hacia las 14 semanas en las que su composición corporal es del 40% lipídica, con un suero sanguíneo de aspecto lechoso (Zucker & Antoniades, 1972; Zucker & Zucker, 1961).

Aunque los ejemplares obesos presentan hiperfagia (Johnson et al., 1978; Zucker & Zucker, 1961), no es posible atribuir a esto la causa de su crecimiento y sus anomalías metabólicas. Diversos estudios (Boulangé et al., 1979; Durham & Truett, 2006; Zucker & Zucker, 1961) reportan que, aún con dietas restringidas, o en edades en las que la hiperfagia aún no se presenta, las ratas *fafa* siguen manifestando una excesiva acumulación lipídica y resistencia a la insulina. Por lo que el síndrome sería provocado más que por un incremento en el apetito, por complejos problemas metabólicos.

Johnson et al., (1978), sugieren que la mutación del gen *fa* deriva en una disrupción de los procesos que controlan y regulan la proliferación de células adiposas. Su trabajo se basó en el estudio del desarrollo de adipocitos en ratas hembra Zucker obesas y delgadas de diferentes edades (5-52 semanas de vida).

Sus resultados señalan que, en las ratas obesas, los adipocitos manifiestan tanto hipertrofia como hiperplasia, es decir que, incrementan su peso corporal debido tanto a células adiposas más grandes como a un mayor número de células en sus depósitos de grasa. Respecto al tamaño, las células adiposas en ratas obesas son el doble de grandes que las células de las ratas delgadas; mientras que el número de adipocitos no solo es mayor en ratas obesas desde el nacimiento, sino que su proliferación no cesa hacia las 14 semanas de edad, como sucede con las delgadas, incluso se mantiene un incremento constante hasta por un año (Johnson et al., 1978).

En ratas delgadas, conforme su edad avanza, la acumulación de grasa se va reduciendo, sin embargo, lo contrario sucede en las ratas obesas, que entre las 34 y las 52 semanas de edad muestran un incremento en el almacenamiento lipídico, sugiriendo que la mutación *fa/fa* otorgaría la habilidad de mantener el poder proliferativo de los adipocitos hasta la adultez. Sin embargo, se desconoce si el aumento en el tejido adiposo es por la genuina estimulación de división mitótica o por la estimulación en el crecimiento del tamaño o de la diferenciación de células pequeñas preexistentes (Johnson et al., 1978).

En su aspecto metabólico, las ratas Zucker *fa/fa* se caracterizan por padecer hipertensión, hiperlipidemia e hipercolesterolemia, sus niveles de ácidos grasos son 10 veces más altos que los de sus conoespecíficos delgados, el colesterol y los fosfátidos son 4 veces mayores y los lípidos sanguíneos se mantienen en cantidades elevadas aun después de 18 horas de ayuno (Zucker & Zucker, 1961).

Por otro lado, no presentan hiperglucemia, ya que sus niveles de azúcar en sangre no superan los niveles normales sin importar que los individuos estén en ayuno o alimentados (Zucker & Zucker, 1961). Si bien suelen ser normoglicémicas, presentan hiperinsulinemia y resistencia periférica a la insulina (Durham & Truett, 2006; Johnson et al., 1978). A nivel de SNC se ha reportado una baja sensibilidad a la insulina, atribuyéndole a este fenómeno un papel en el desarrollo y permanencia de la hiperfagia y la obesidad (Ikeda et al., 1986).

Investigaciones más recientes sobre el perfil metabólico en ratas Zucker (Melnik & Hakkak, 2022; Pelantová et al., 2023), reportan que la concentración de metabolitos en suero presenta diferencias significativas entre los grupos obesos y delgados, diferencias que podrían estar relacionadas con la etiología de la obesidad. Por ejemplo, la concentración de metionina y cisteína sérica era significativamente más baja en ratas obesas, mientras que la de cistina (la forma oxidada e inactiva de la cisteína) era elevada, indicando un incremento en el estrés oxidativo en las ratas obesas. La existencia de estas diferencias entre ejemplares obesos y delgados se mantiene presente hasta las 40 semanas de edad, con algunas diferencias entre las 12 y las 21 semanas de vida (Pelantová et al., 2023).

En el aspecto reproductivo, otra de las características de las ratas hembra Zucker obesas es la presencia de un retardo en la apertura vaginal, un peso uterino bajo, ciclos extendidos e infertilidad (Saiduddin et al., 1973).

2. 4 Antecedentes específicos

El funcionamiento adecuado de las gónadas que hacen posible la reproducción está estrictamente controlado por el sistema nervioso central, dichas estructuras establecen una comunicación bilateral de retroalimentación mutua mediante el sistema neuroendocrino a través de patrones regulados de síntesis y de secreción de una gran diversidad de moléculas como neurotransmisores, hormonas peptídicas y hormonas esteroideas (Couse & Korach, 1999; Raisman, 1997).

Uno de los principales ejemplos de esta comunicación bilateral es el eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Figura 7). El hipotálamo funge como intermediario entre el SNC y el sistema endócrino (hipófisis), se encarga de traducir las señales neuronales del cerebro en factores que estimulan a la hipófisis para suscitar respuestas hormonales a las que responderán las gónadas y viceversa (Karsch, 1984).

La hipófisis es estimulada por la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) proveniente del hipotálamo (McArdle & Roberson, 2015), para la producción de gonadotropinas (FSH y LH). La LH estimula la producción de testosterona, la ovulación, así como la formación y el funcionamiento del cuerpo lúteo; mientras que la FSH estimula el desarrollo de los folículos ováricos y la secreción de estrógenos gonadales (Clifton & Steiner, 2009; McArdle & Roberson, 2015).

El SNC regula la secreción específica de las gonadotropinas y, por consiguiente, la de estrógenos gonadales, mediante un código de pulsos de GnRH (Yasin et al., 1995). A su vez, las hormonas gonadales como el 17β estradiol, la progesterona y la testosterona, fungen como señales de retroalimentación que pueden actuar sobre la liberación hipotalámica de GnRH o sobre la secreción de gonadotropinas en la hipófisis (Figura 7; Dalkin et al., 1992).

Las alteraciones en el funcionamiento hipotalámico podrían llevar a un cambio en las cantidades y en el patrón de los pulsos de secreción de GnRH, y a su vez, derivar en padecimientos como el ovario poliquístico (Carriere et al., 1988).

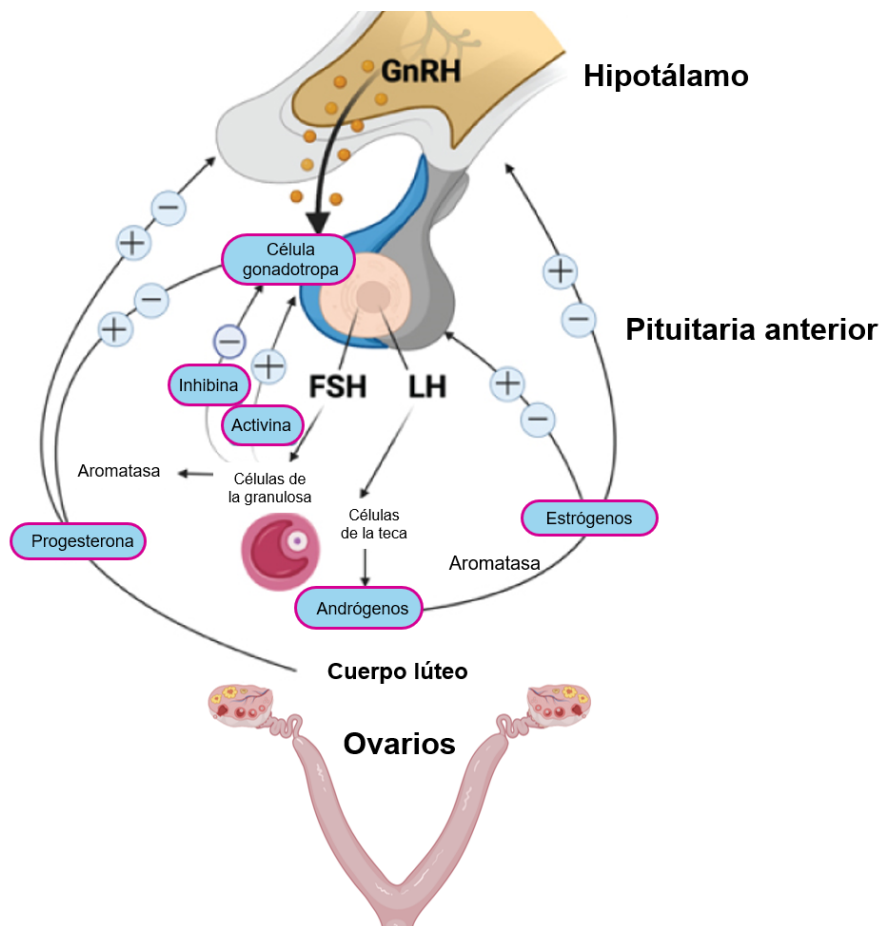


Figura 7. Eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Mecanismos de retroalimentación que regulan la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas (LH y FSH). GnRH: Hormona liberadora de gonadotropinas, LH: hormona luteinizante, FSH: hormona foliculoestimulante. (+) estimulación; (-) inhibición (Modificada de Tammasse, 2023).

2. 4. 1. La hormona 17β -estradiol

Las hormonas esteroideas son un grupo de compuestos derivados del colesterol (Hu et al., 2010), que se clasifican en dos categorías principales: los *esteroides adrenales* (glucocorticoides y mineralocorticoides), y los *esteroides sexuales o gonadales* (McKenna, 2015). Existen tres tipos principales de esteroides gonadales: los estrógenos, las progestinas y los andrógenos; con importantes efectos sobre la reproducción y el sistema nervioso, ya que estimulan las conductas sexuales y maternas, e intervienen en procesos neuroendocrinos (Hu et al., 2010; McKenna, 2015; Pfau et al., 2015).

Los estrógenos participan en el crecimiento, en el desarrollo y en el funcionamiento de numerosos órganos en diversos sistemas, como el reproductivo, el neuroendocrino, el esquelético y el cardiovascular (Hamilton et al., 2017).

De los estrógenos conocidos (estrona, E1; 17 β -estradiol, E2; y estriol, E3), el 17 β -estradiol es el principal esteroide secretado por los ovarios y el más activo biológicamente (Peluso, 1992). Se produce en las células de la granulosa de los folículos ováricos, estimuladas por la FSH y fue aislada por primera vez en 1936 en ovarios de cerda (MacCorquodale et al., 1936). Su fórmula molecular es $C_{18}H_{24}O_2$; su estructura química está conformada por 18 carbonos, con un anillo A fenólico y un grupo hidroxilo en el carbono 17 en la conformación beta (Figura 8; Sato et al., 2016).

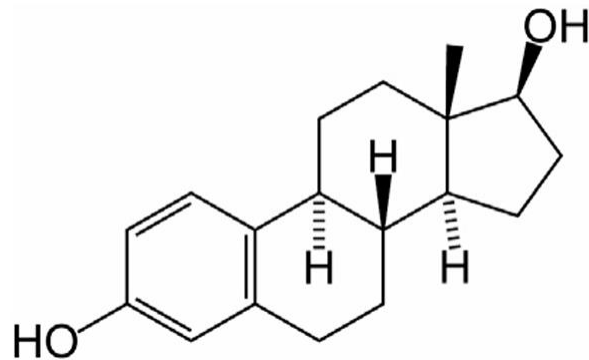


Figura 8. Estructura química del 17 β -estradiol (E2). Tomado de (Sato et al., 2016).

El 17 β -estradiol se produce en los ovarios a partir del colesterol, proveniente principalmente las gotas lipídicas en los adipocitos del tejido adiposo (Christie et al., 1979; Hu et al., 2010). A diferencia de los otros esteroides gonadales, la biosíntesis de estrógenos se lleva a cabo en dos etapas que tienen lugar en células distintas.

La teoría de las dos células y de las dos gonadotropinas, también llamada *Teoría de la doble célula*; señala que, en las células de la teca, estimuladas por la LH, la pregnenolona es convertida a progesterona, por la 3 β -HSD, luego en 17 α -hidroxiprogesterona y posteriormente en dehidroepiandrosterona y androstenediona, esta última es entonces convertida en testosterona por la 17 β -HSD3.

Posteriormente, estos andrógenos se difunden hacia las células de la granulosa atravesado la membrana basal, ahí son convertidos en estrógenos gracias a la actividad de la aromatasa (P45arom), codificada por el gen CYP19 y cuya actividad es estimulada por la señal de la FSH. Otra vía de síntesis incluye la conversión de estrona en estradiol, por la 17 β -HSD (Figura 9; Fukami & Ogata, 2022; Hu et al., 2010; Sato et al., 2016; Wang et al., 2014).

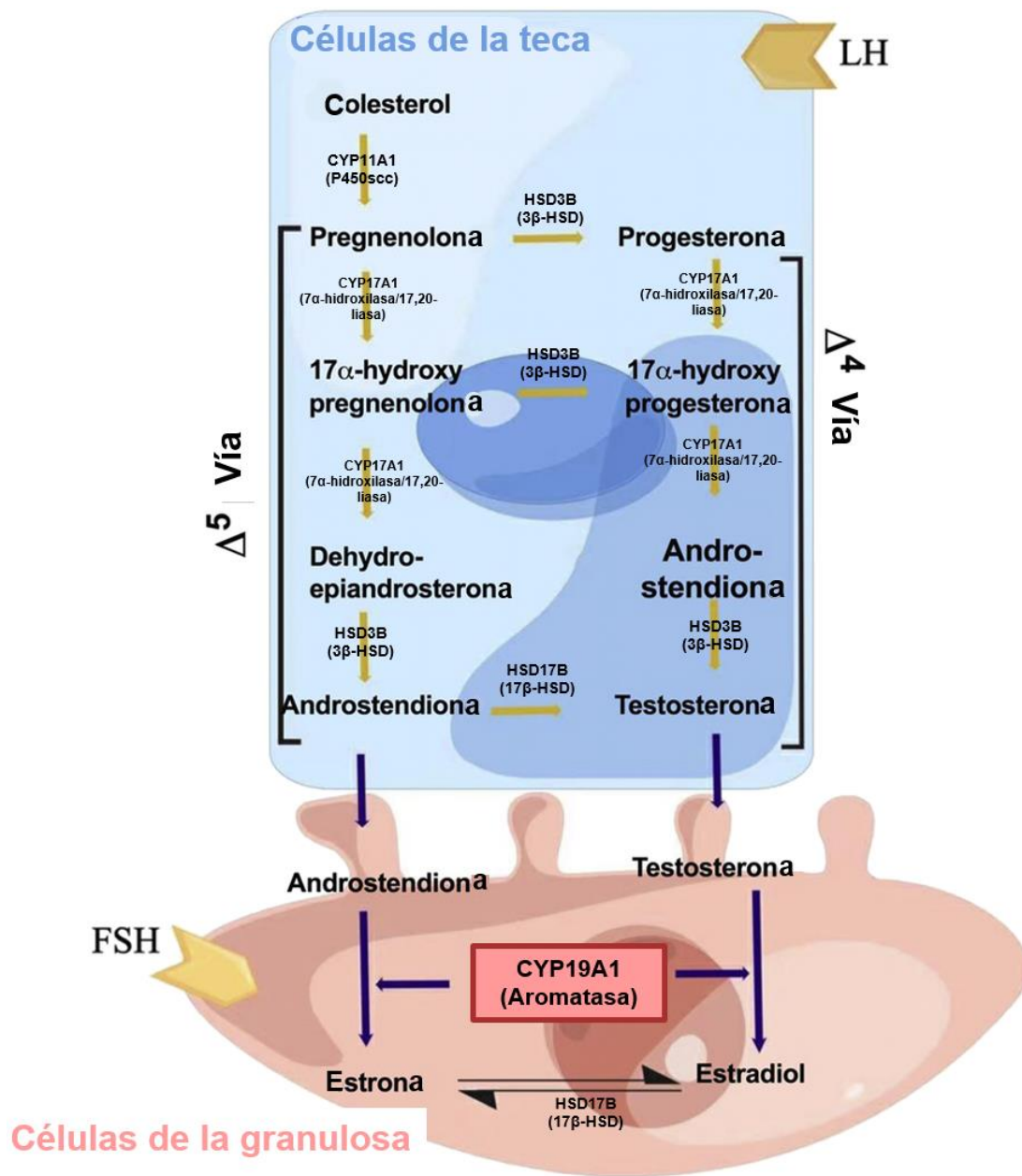


Figura 9. Teoría de las dos células y las dos gonadotropinas para la biosíntesis esteroidea. En las células de la teca, estimuladas por la LH, la pregnenolona es convertida a *progesterona*, luego en *17α*-hidroxiprogesterona y posteriormente en dehidroepiandrosterona y androstenediona, esta última es entonces convertida en *testosterona* por la *17β*-HSD3. Los andrógenos, se difunden hacia las células de la granulosa atravesado la membrana basal, ahí son convertidos a estrógenos por la enzima aromatasa cuya actividad es potenciada por la señal de la FSH. Entre paréntesis se escribieron los nombres de las enzimas y, sobre éstos, los de los genes que las codifican (Olson et al., 2007; Wang et al., 2022).

El *17β*-estradiol interviene en una amplia variedad de procesos como la ovulación, el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios, del útero, de los folículos y de los genitales externos, regula la estructura y la función del sistema reproductivo femenino, tiene un papel en la regulación de la fisiología cardiovascular,

en el crecimiento y en la integridad ósea, modula la composición lipídica, influye en la regulación de la respuesta inmune, y participa en procesos neuronales como la proliferación, la diferenciación, la actividad y la supervivencia de las células nerviosas (Kovats, 2015; Tsutsui, 2008; Zoubina & Smith, 2002).

Para cumplir con sus funciones, el estradiol debe unirse a sus receptores específicos en las células blanco. Los receptores a estrógenos (ERs) se clasifican en dos grupos principales: los receptores nucleares (nER), y los receptores membranales (mER) (Couse & Korach, 1999; Fuentes & Silveyra, 2019).

Los mERs son receptores acoplados a proteínas G responsables de suscitar una rápida respuesta gracias a que activan directamente cascadas de señalización mediante la activación de la adenilato ciclasa y múltiples quinasas que generan respuestas tanto transcripcionales como no transcripcionales (Levin et al., 1997).

Por su parte, los nERs son factores de transcripción activados por ligando que regulan la función celular mediante la alteración de la expresión de ciertos genes. Su mecanismo clásico de acción se basa en la entrada de la hormona a la célula por difusión, gracias a su naturaleza lipofílica, ahí se une a su receptor, lo que provoca un cambio conformacional en el que se disocian varias HSPs (*heat shock proteins* o *proteínas de choque térmico*), y el receptor se dimeriza, llevándolo a un estado activo; este complejo se transloca al núcleo donde se asocia a sitios específicos de unión en la cromatina conocidos como *elementos de respuesta a estrógenos (ERE)*, para estimular la síntesis de mRNAs (Figura 10; Gorski & Gannon, 1976; Jensen & Jacobson, 1960; Yamamoto, 1985).

Dentro de los receptores nucleares se han identificado dos principales subtipos: ER α (Jensen, 1958) esencial para la fertilidad, y ER β (Kuiper et al., 1996). Están conformados por seis dominios (A-F), cada uno con funciones específicas de unión a sus elementos de respuesta hormonal en el ADN, dimerización, traslocación nuclear y unión al ligando, que les confieren la especificidad de respuestas que los estrógenos son capaces de suscitar en las células (Enmark et al., 1997; Kuiper et al., 1997; Peters & Khan, 1999).

Aunque ambos receptores tienen características funcionales similares, presentan considerables diferencias, la principal de ellas, su distribución: ER α predomina en el útero, en las glándulas mamarias, en los testículos, en la hipófisis, en el hígado, en el riñón, en el corazón y en el músculo esquelético (Kuiper et al.,

1997); mientras que ER β tiene mayor presencia en el ovario, en la próstata y en el tejido cerebral (Russell et al., 2019). Incluso dentro del mismo tejido, la expresión puede diferir dependiendo del tipo celular. En el ovario, el ER β se expresa en las células de la granulosa, mientras que ER α se presenta en las células de la teca (Sar & Welsch, 1999).

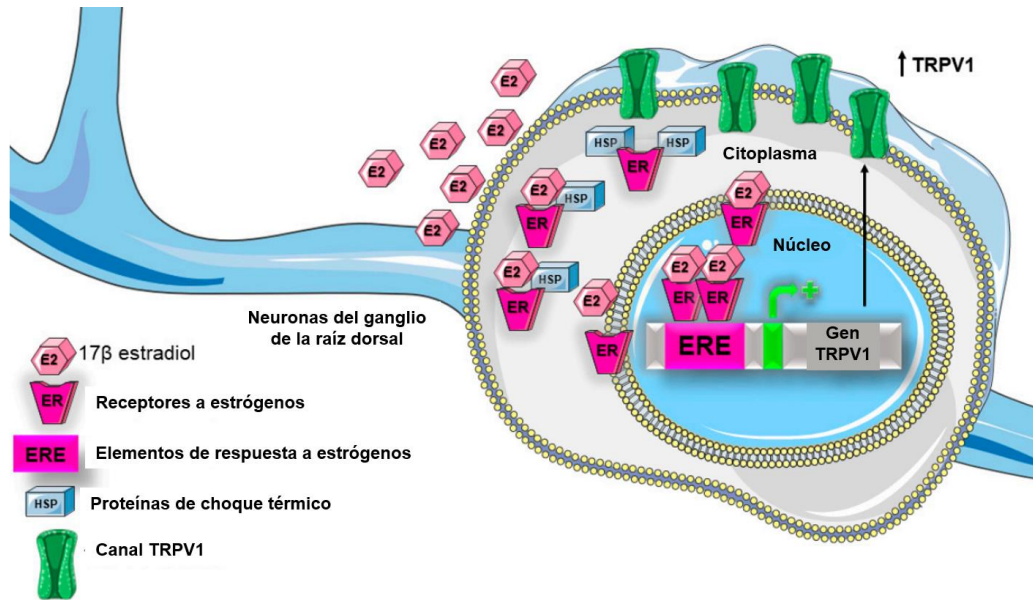


Figura 10. Esquema del mecanismo clásico de acción de los estrógenos, usando como ejemplo los efectos del estradiol sobre la expresión del canal TRPV1. La hormona entra en la célula, se une a su receptor y sufre un cambio conformacional que lleva a la disociación de varias HSPs; el receptor se activa y se dimeriza; el complejo se transloca al núcleo y se asocia a los elementos de respuesta a estrógenos en los genes para estimular la síntesis de mRNAs (Modificado de Méndez-Reséndiz et al., 2020).

Si bien el principal mediador de los efectos del estradiol es el ER α , se ha sugerido un papel compensatorio del ER β cuando la disponibilidad del primero se encuentra comprometida (Shughrue et al., 1997). Se propone que las funciones de ambos receptores son complementarias, actuando como heterodímeros (Paech et al., 1997; Weigt et al., 2015).

2. 4. 2. El 17 β -Estradiol en los ganglios prevertebrales asociados a los ovarios en la rata

La influencia del 17 β -estradiol se extiende sobre todo el sistema nervioso. Se han observado sus efectos en neuronas preganglionares de la médula espinal y en neuronas postganglionares parasimpáticas y sensoriales que inervan órganos urogenitales (Brauer & Smith, 2015a; Zoubina et al., 2001; Zoubina & Smith, 2002, 2003).

En SNC se ha observado la participación de 17β -estradiol para regular el tono del SNA, particularmente tiene un papel como modulador de las señales nerviosas que pasan por las neuronas preganglionares espinales ubicadas en la columna intermediolateral. De manera general, el estradiol estimula la actividad parasimpática, lo que amortigua los efectos del sistema simpático. En hembras, esto se ve reflejado en la presión arterial, ya que esta hormona es capaz de regular el diámetro vascular mediante la vasodilatación periférica, lo que protege al sistema cardiovascular de lesiones provocadas por una pronunciada señalización simpática (Saleh & Connell, 2000).

Por otro lado, se han tenido reportes de que los estrógenos, además de sus funciones directas sobre el funcionamiento de los órganos del sistema reproductivo, son capaces de regular y de modificar las estructuras nerviosas que los inervan (Brauer & Smith, 2015a). Sin embargo, los estudios en neuronas simpáticas y parasimpáticas, particularmente aquellas que tienen efectos sobre los ovarios y el tracto reproductivo, no han profundizado sobre la relación que puede existir entre ellas y el 17β -estradiol, sobre todo, dados los cambios que sus niveles experimentan a lo largo del ciclo estral.

De ellos solo se conocen los trabajos realizados por Zoubina & Smith, (2002, 2003), los cuales se enfocaron en el estudio de las neuronas que inervan la uretra y la región craneal de los cuernos uterinos. Los autores identificaron un grupo de ganglios prevertebrales y paravertebrales, cuyos haces se extienden desde la cadena simpática lateral, en los que se reconoció la presencia de ambos subtipos de receptores estrogénicos (α y β), ambos se encontraron tanto en núcleo como en citoplasma, con la predominancia del primero en citosol y del segundo en el núcleo celular. Con ello, se comprueba que la actividad estrogénica está presente en las neuronas, hasta entonces reconocida como puramente simpática, que se proyectan hacia el tracto reproductivo, sugiriendo que las neuronas que inervan estos órganos son las más sensibles a los efectos estrogénicos (Brauer & Smith, 2015a).

La presencia de estos receptores podría ser indicativo de la capacidad esteroideogénica no solo de influenciar la actividad neuronal, sino incluso, la posibilidad de alterar los patrones de inervación de los órganos. Esta suposición también se ve apoyada por varias investigaciones (Krizsan-Agbas & Smith, 2002; Zoubina et al., 2001), en las que se reporta que los estrógenos tienen efectos como la supresión de

la formación de neuritas o la degeneración axónica. De manera que sería el mismo órgano blanco el que regule la actividad de su propia inervación, mediante la estimulación o inhibición de la expresión y la actividad de los ERs en estas neuronas (Zoubina & Smith, 2002).

A pesar de ello, es importante reconocer que la actividad y los efectos del estradiol no son derivados exclusivamente de la activación de sus receptores por la llegada de la hormona. Estudios en neuronas dopaminérgicas en el cerebro (Curtis et al., 2002; Sbrini et al., 2024), reportan que la hormona también actúa como un modulador alostérico cuyo mecanismo es la unión a dominios específicos en las subunidades de algunos receptores nicotínicos, provocando en ellos, y en otras proteínas a las que también sean capaces de unirse, cambios conformacionales, estructurales o funcionales que modulan su actividad (Jasuja et al., 2021), y que promueven la protección y la remodelación neuronal.

Sin embargo, esto no significa que la actividad del estradiol este mediada únicamente por un mecanismo u otro, ni que éstos sean mutuamente excluyentes, sino que sus efectos serían el producto de una actividad conjunta. Un estudio realizado en neuronas hipocampales de ratas hembras recién nacidas (Hilton et al., 2004), propone una llamada *actividad neuroprotectora estrogénica mixta*, mediada tanto por la unión del estradiol a sus receptores, como por la presencia de mecanismos no genómicos que no involucran receptores.

3. JUSTIFICACIÓN

Los estudios anatómicos (Pastelín et al., 2017, 2023; Rivera-Castro et al., 2023), sugieren que la actividad del SNP tiene un papel importante en procesos metabólicos y reproductivos. Igualmente, se ha reportado la influencia de los estrógenos sobre las neuronas, en procesos de neuroprotección y neuroplasticidad (Brauer & Smith, 2015a; Hilton et al., 2004; Sbrini et al., 2024).

Sin embargo, la mayoría de las investigaciones analizan la influencia del 17 β -estradiol sobre las neuronas en cultivos de células (estudios *in vitro*), o bien se centran en el estudio del SNC. Por otro lado, los pocos estudios que se han realizado en estructuras neuronales periféricas que inervan los ovarios y su relación con esta hormona (Zoubina et al., 2001; Zoubina & Smith, 2002, 2003), tampoco consideran el papel que podrían tener las variaciones en los niveles de 17 β -estradiol asociadas al ciclo estral en estos procesos neuronales, ni bajo condiciones patológicas como la obesidad o el síndrome metabólico, en los que se sabe que los estrógenos tienen influencia (Barros et al., 2009; Johnson et al., 1978; Weigt et al., 2015)

Los trabajos en el SN de ratas Zucker obesas (*fafa*), apenas señalan una influencia de los estrógenos en la homeostasis de la glucosa y en la conducta alimentaria (Weigt et al., 2015). En el aspecto reproductivo solo se sabe que existen diferencias en la expresión de receptores estrogénicos en la hipófisis lo que se relaciona, parcialmente, con los problemas de infertilidad característicos de las Zucker obesas (Saiduddin et al., 1973).

Dado que los estrógenos intervienen en numerosos procesos fisiológicos, su desregulación podría tener un impacto en trastornos asociados a la reproducción, al metabolismo y, por sus efectos proliferativos, en padecimientos como el ovario poliquístico y el cáncer endometrial (Sherman, 2000).

No obstante, la información acerca de la distribución y función neuroanatómica del 17 β -estradiol fuera del SNC en hembras aún es escasa; por ello, estudios que profundicen en el entendimiento de las vías neuronales que forman parte del eje hipotálamo-hipófisis-ovario y de las alteraciones que experimentan a lo largo del ciclo estral en condiciones de obesidad, son necesarios para la búsqueda de soluciones terapéuticas para patologías asociadas a la reproducción.

4. HIPÓTESIS

La presencia del 17β -estradiol en los ganglios prevertebrales GCD, GCI, GSD, GSI y GMS, que inervan los ovarios, es asimétrica y varía a lo largo del ciclo estral, reflejando diferencias dependientes del fenotipo de la rata Zucker obesa y delgada.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

Analizar la presencia del 17β -estradiol a lo largo del ciclo estral en los ganglios prevertebrales GCD, GCI, GSD, GSI y GMS, que inervan a los ovarios en ratas Zucker delgadas y obesas.

5.2. Objetivos específicos

1. Identificar el ciclo estral de la rata Zucker obesa y delgada.
2. Comparar la morfometría de las neuronas de los ganglios prevertebrales de ratas obesas y delgadas a lo largo del ciclo estral.
3. Cuantificar el número de neuronas de los ganglios prevertebrales que expresan 17β -estradiol de ratas obesas y ratas delgadas a lo largo del ciclo estral.
4. Determinar la presencia de una asimetría en la expresión de 17β -estradiol en las neuronas de ganglios bilaterales durante el ciclo estral en ratas delgadas.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6. 1. Modelo de estudio

Como modelo de estudio se emplearon ejemplares de la especie *Rattus norvegicus*, de la cepa Zucker.

Se utilizaron un total de 20 ratas hembra de la cepa Zucker en etapa de adulto-joven, de tres meses de edad, divididas en dos grupos experimentales: las ratas delgadas y las ratas obesas.

Las ratas fueron criadas y mantenidas en las instalaciones del Bioterio "Claude Bernard" bajo las condiciones ambientales estándares señaladas en la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de laboratorio (Laboratorio & Studies, 2017), de acuerdo a los lineamientos y especificaciones de la Norma Oficial Mexicana **NOM-062-ZOO-1999** y la Legislación Mexicana vigente. Además, el proyecto de investigación fue aprobado por el Comité para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, con número **100310955-UALVIEP-22/3**.

6. 2. Seguimiento del ciclo estral

Para realizar el seguimiento del ciclo se realizó la recolección y la observación de muestras citológicas vaginales desde que los ejemplares cumplieron los 40 días de edad, edad aproximada en la que se presenta la apertura vaginal. Los frotis se realizaron diariamente en la mañana a la misma hora, entre las 8:00 y las 9:00 AM.

Las muestras se recolectaron con la ayuda de un asa bacteriológica esterilizada humedecida y se colocaron en un portaobjetos donde se les dejó secar por unos minutos. Posteriormente se realizó la tinción con hematoxilina-eosina. La laminilla fue observada con un microscopio óptico (Olympus BX 41, Olympus Corporation, Tokyo, Japón). Solo se consideraron a las ratas cíclicas que presentaron por lo menos 4 ciclos estrales regulares.

Para precisar cada etapa del ciclo estral en la rata, se analizó la proporción de tres diferentes tipos celulares presentes en el frotis: células epiteliales, células cornificadas y leucocitos (Lohmiller et al., 2020; Marcondes et al., 2002). Las muestras correspondientes al diestro 1 presentaron los tres citotipos con particular abundancia de leucocitos (Figura 11A); en diestro 2, las muestras presentaron únicamente una abundancia de leucocitos y células epiteliales (Figura 11B); durante

el proestro, las muestras presentaron mayormente células epiteliales con algunas células cornificadas (Figura 11C); y finalmente en estro las muestras presentaron exclusivamente células cornificadas (Figura 11D).

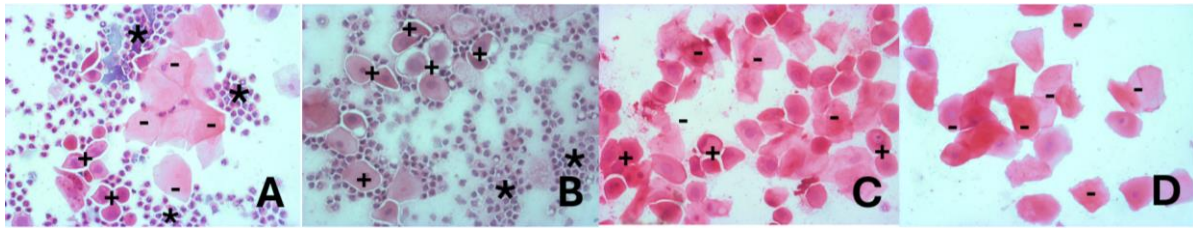


Figura 11. Micrografías de muestras vaginales teñidas con hematoxilina-eosina. A: Diestro 1; B: Diestro 2; C: Proestro; D: Estro. Los tres tipos celulares están señalados: (+) células epiteliales, (-) células cornificadas, (*) leucocitos.

El grupo de ratas delgadas fue dividido en cuatro subgrupos, de cuatro ejemplares cada uno, correspondientes a los cuatro días del ciclo estral considerados: diestro 1 (D1), diestro 2 (D2), proestro (P), y estro (E). Sin embargo, en el caso de las ratas Zucker obesas se observó que éstas no presentaban ciclos estrales regulares por lo que se determinó solo considerar un subgrupo correspondiente al día del diestro, de cuatro ejemplares.

6. 3. Perfusión intracardiaca

Previo al sacrificio, para todos los ejemplares, se evaluaron tres parámetros zoométricos: longitud hocico-cola, circunferencia de cintura y peso corporal.

Los animales fueron sacrificados a los tres meses de edad mediante una sobredosis de pentobarbital sódico 1.6 ml/Kg de peso (PiSA farmaceutica, México) administrada vía intraperitoneal.

Una vez verificado el estado de anestesia profunda mediante el pinchado de una de las patas traseras (ausencia de reacción contráctil), y estimulando el reflejo de sus vibrisas, se realizó una pequeña incisión en la zona pélvica, la cual fue elongada lateralmente hasta el pecho, cortando las costillas y el diafragma. El frente de la caja torácica fue levantado, junto con la piel y los músculos, dejando expuestas las vísceras hasta el corazón y pulmones (Figura 12).

Se realizó la perfusión intracardiaca de 350-400 ml de solución Hartman (PiSA farmacéutica, México) a través del ventrículo izquierdo del corazón y haciendo un corte en la vena cava que permitió la expulsión de la sangre del cuerpo y su recambio por la solución. El flujo de la solución fue retirado cuando se percibió visualmente que

los tejidos estaban libres de sangre, particularmente mediante la palidez del hígado y del útero.



Figura 12. El corte iniciado en la región pélvica se prolongó hasta el pecho dejando expuestos los órganos internos.

6. 4. Extracción de tejidos

Terminada la perfusión, se colocó al ejemplar sobre una plancha caliente bajo el microscopio estereoscópico (Leica M80, Alemania) y se procedió a la extracción de los tejidos de acuerdo con la metodología planteada por Pastelín et al., (2017, 2023).

Se extrajeron los cinco ganglios prevertebrales que inervan a los ovarios: el ganglio mesentérico superior (GMS), el ganglio celíaco derecho (GCD), el ganglio celíaco izquierdo (GCI), el ganglio suprarrenal derecho (GSD) y el ganglio suprarrenal izquierdo (GSI).

6. 5. Conservación de tejidos

Una vez obtenidos los tejidos, estos se colocaron en microtubos Eppendorf de 1. 5 ml llenos de fijador de Carnoy.

A los ganglios se les dejó reposar en el fijador durante 24 horas y luego fueron transferidos a soluciones secuenciales de sacarosa al 10%, 20% y 30%; los cambios de solución se realizaron cada 24 horas; en todo momento, las muestras fueron conservadas en refrigeración. Finalmente, los tejidos permanecieron en solución al 30% hasta su uso.

6. 6. Corte de tejidos

Los ganglios se retiraron de la solución de sacarosa y se montaron en un medio de inclusión para criostato (Thermo Scientific™ Shandon™ Cryochrome™ MA).

Posteriormente fueron cortados a un grosor de 10µm en criostato (Thermo Scientific, Waltham, MA. 77210163), a una temperatura de entre -27° C y -30°C.

Los cortes fueron colocados en portaobjetos tratados con Poly-L-lisina (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). En cada laminilla se dispusieron 12 cortes, distribuidos en dos hileras de seis cortes cada una. Con el fin de poder analizar el ganglio en su totalidad, en el portaobjetos se colocó uno de cada cinco de la serie de cortes obtenidos, como muestra la Figura 13.

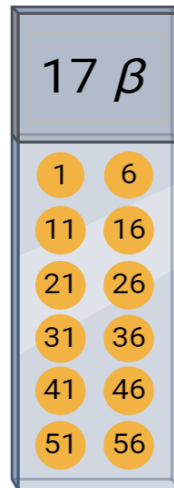


Figura 13. Distribución de los cortes en el portaobjetos. Se colocaron 12 cortes por laminillas, considerando uno de cada cinco cortes obtenidos.

Las laminillas fueron conservadas en cajas en refrigeración hasta que fueron procesadas.

6. 7. Inmunofluorescencia

Para el procesamiento del tejido ganglionar se consideró la metodología de (Bravo-Benitez et al., 2022). La técnica de inmunohistoquímica de fluorescencia consistió, de manera general, en tres fases (Figura 14).

6. 7. 1. Fase 1. Sembrado del anticuerpo primario.

En esta fase, el primer paso consistió en el destapado de epítomos, para lo cual se fijaron las laminillas con fijador citológico hidrosoluble (Spray Fix DISQUIM, México) durante un minuto; el rociado se realizó a una distancia de 15 a 20 cm. Las laminillas se dispusieron en una canastilla y se les dejó reposar durante tres minutos.

Posteriormente, en un vaso de precipitado con capacidad de 2 L se colocaron 500 ml de Buffer TE (Trizma Base T6066 Sigma Aldrich, USA/ EDTA 1610729 BIO-

RAD, USA, pH 8.0). El vaso se colocó sobre una parrilla de calentamiento (Cimarec+, Thermo Scientific, Waltham, MA) a 300 °C. Cuando la solución comenzó a ebullición, se colocó la canastilla sobre esta de manera que el buffer no tuviera contacto directo con las laminillas sino a través de los vapores que desprendía. Así se dejaron durante cinco minutos.

Transcurrido este tiempo se procedió a permear la membrana, para ello se retiraron las laminillas del vapor y de inmediato fueron colocadas en una solución de buffer TE y Tween 0.5% a 47 °C, donde permanecieron durante una hora.

A continuación, se realizó el bloqueo de proteínas inespecíficas, incubando los tejidos en una solución de Buffer TE, Tween 0.5% y suero fetal bovino 6% (Biowest, S1560, Chile), a 47 °C durante una hora.

Se preparó una dilución 1:250 con el anticuerpo primario (5E500, anticuerpo monoclonal de ratón anti-17 β Estradiol, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, USA) con solución de suero fetal bovino.

Tras el bloqueo de proteínas, las laminillas fueron sembradas con 100 μ l del anticuerpo diluido. Cada laminilla fue cubierta con un pedazo de parafilm y se les dejó incubar a 4 °C en un recipiente húmedo que impidiese la entrada de luz durante 72 h.

6. 7. 2. Fase 2. Sembrado del segundo anticuerpo

A partir de la fase 2, los procedimientos se realizaron en un cuarto oscuro.

Los tejidos fueron retirados del frío y lavados con Buffer TE. Tras esto, las laminillas fueron sembradas con 100 μ l de una dilución 1:200 del anticuerpo secundario anti-mouse Rodamina (Jackson Immuno Research Laboratories Inc. USA), con solución de Tween 0.5%.

Después del sembrado, los portaobjetos nuevamente fueron cubiertos con parafilm y se les dejó incubar a 4 °C durante 24 h en un recipiente húmedo que impidiese la entrada de luz.

6. 7. 3. Fase 3. Montaje

Las muestras fueron lavadas con buffer TE y contrateñidas con 40 μ l de Vectashield con DAPI (H- 1210 Vector Labs. CA, EE. UU.) para el marcaje de los núcleos. Una vez añadido el reactivo se procedió a realizar el montaje utilizando cubreobjetos que se sellaron con esmalte. Se las dejó secar durante 24 h en un

ambiente seco y oscuro para después ser conservadas a 4 °C igualmente en ausencia de luz, hasta que fueron utilizadas.

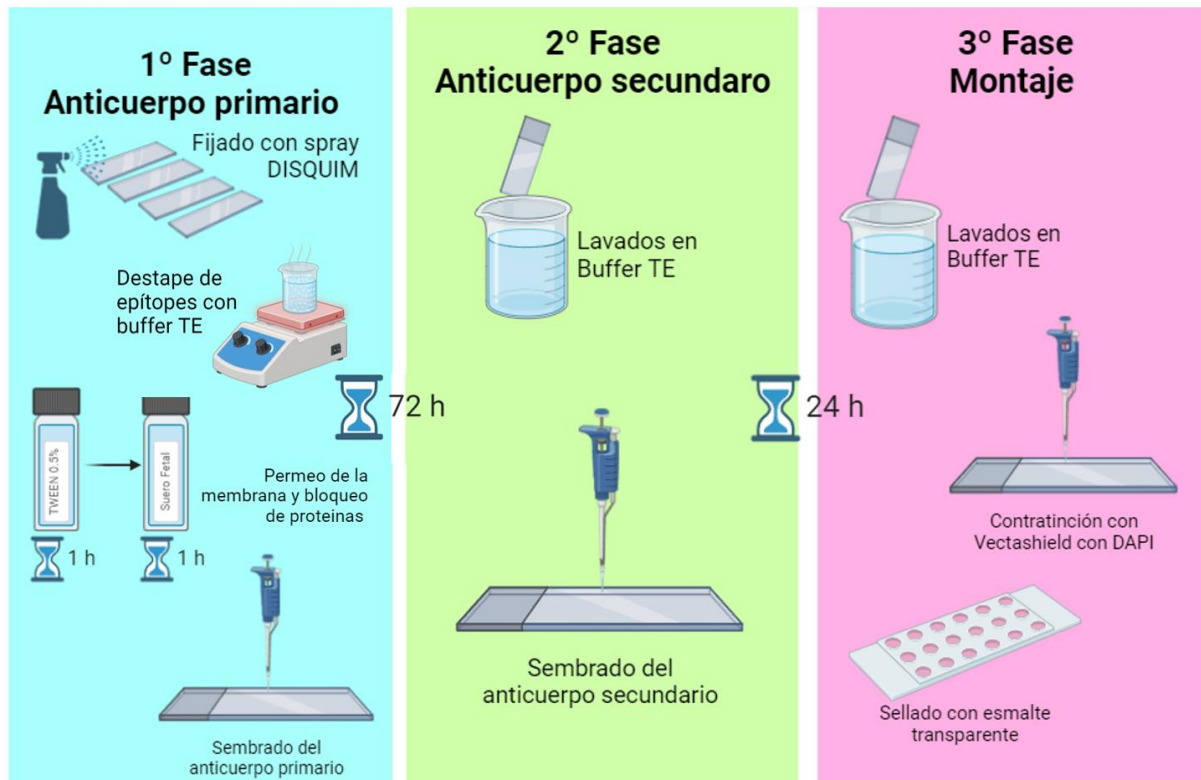


Figura 14. Procesamiento de las muestras con técnicas de inmunohistoquímica de fluorescencia.

6. 8. Análisis de imágenes y conteo neuronal

El análisis de las muestras se hizo mediante la toma de fotomicrografías con una cámara (Evolutions VF, Media Cybernetics, Toronto, Ontario Canadá) acoplada a un microscopio de fluorescencia (Olympus BX 41, Olympus Corporation, Tokyo, Japón). Las fotografías fueron tomadas con un aumento de 400x, con los filtros rojo y azul (Figura 15). Del mismo corte se tomaron varias fotos, de manera que se cubriera por completo su superficie.

El procesamiento de las imágenes se hizo con el software Image Pro9.3 (Media Cybernetics, Bethesda, Meryland USA). Para el conteo se consideraron sólo las neuronas que presentaron marcaje y un núcleo bien definido. Además, se tomaron medidas de área y diámetro para todas las neuronas en todas las secciones como se ejemplifica con las marcas en verde de las fotografías en la Figura 15.

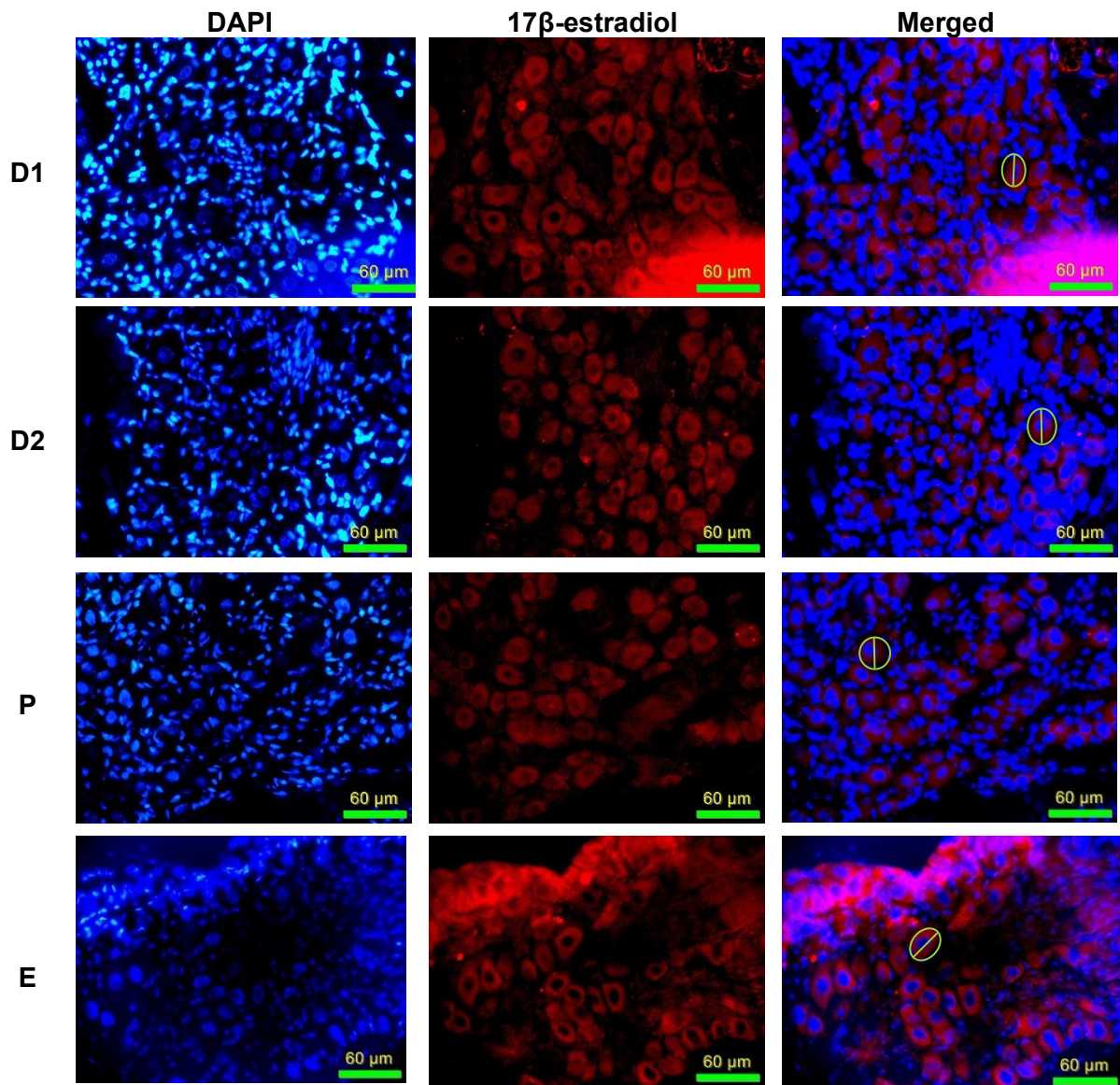


Figura 15. Panel de micrografías de fluorescencia de la expresión de 17 β -estradiol (E2), en cortes del ganglio suprarrenal izquierdo (GSI) en cada uno de los días del ciclo estral en ratas delgadas, con una amplificación de 400X. En la primera columna se muestran las micrografías con los núcleos neuronales teñidos con DAPI vistos con el filtro azul; la segunda columna muestra las micrografías con la marca de 17 β -estradiol en el citoplasma neuronal visto con el filtro rojo; la última columna contiene la micrografía en la que se superponen ambos filtros para identificar aquellas neuronas que tienen presencia de E2, solo se han considerado como positivas, aquellas que presentaron marca y un núcleo definido. Las marcas verdes ejemplifican la toma de medidas de diámetro y área para todas las neuronas. D1: diestro 1, D2: diestro 2, P: proestro, E: estro.

El cálculo del número de neuronas que expresaban marcaje positivo se realizó mediante la fórmula de Abercrombie para la estimación del número de núcleos o cualquier componente tisular discreto en secciones de micrótopo (Abercrombie, 1946). No obstante, debido a que ésta es utilizada para valorar únicamente el total de

núcleos en una sola sección, fue modificada para calcular el número de células en el total de secciones que abarca todo el ganglio:

$$P = \left(A \frac{M}{L + M} \right) * \left(\frac{S}{S_0} \right)$$

En la que:

- P es el promedio de neuronas en el ganglio
- A es el recuento bruto del número de neuronas observados en la sección
- M es el grosor (μ) del corte
- L es el diámetro promedio (μ) de las neuronas
- S es el número total de secciones en todo el ganglio
- S_0 es el número de secciones analizadas

6. 9. Análisis estadístico

Todos los datos fueron analizados con el paquete estadístico GraphPad Prism 8. Para los datos de número de neuronas inmunopositivas, del área y el diámetro celular, se determinó el promedio, los valores máximos y mínimos, la desviación estándar (DE) y el error estándar de la media (EEM).

Para determinar la normalidad de los datos se realizó la prueba de Shapiro-Wilk y de Kolmogorov-Smirnov. En el caso de los análisis comparativos se realizaron pruebas *t-student* para los datos de los parámetros zoométricos y de área y diámetro neuronal entre las ratas delgadas y obesas durante la etapa de diestro.

A los datos recabados sobre el número de neuronas se les aplicó un ANOVA para la búsqueda de diferencias significativas entre las diferentes etapas del ciclo estral (D2, P, E) con respecto al día del D1 en ratas delgadas. Para la búsqueda de diferencias significativas entre ratas delgadas y obesas, se aplicó un ANOVA a los datos registrados durante el día del diestro para ambos grupos. Para el estudio de la bilateralidad de las estructuras nerviosas se aplicó un ANOVA de dos vías entre los ganglios contralaterales celiacos y suprarrenales. Solo se consideró el número de neuronas inmunopositivas correspondiente a los cuatro días del ciclo estral del grupo de ratas delgadas y se omitió el grupo de las ratas obesas debido a la irregularidad en su ciclo.

7. Resultados

7. 1. Seguimiento del ciclo estral

En el seguimiento del ciclo estral encontramos diferencias entre las ratas delgadas y obesas. Se encontró que las ratas delgadas tienen un ciclo estral regular que se compone de las cuatro fases: D1, D2, P, E, cada una con una duración aproximada de un día. Algunos ejemplares presentaron un E ligeramente prolongado que se presentó ocasionalmente (Figura 16). Las ratas obesas presentaron un ciclo estral irregular, ya que no se observaron todas las fases que conforman el ciclo estral, en su lugar se presentó un diestro prolongado con la aparición ocasional de un P y un E que no siempre fue precedido por un P (Figura 17). Debido a esto, se tomó la decisión de incluir en el estudio al grupo en etapa de diestro, únicamente.

Ciclo estral en ratas Zucker *delgadas*

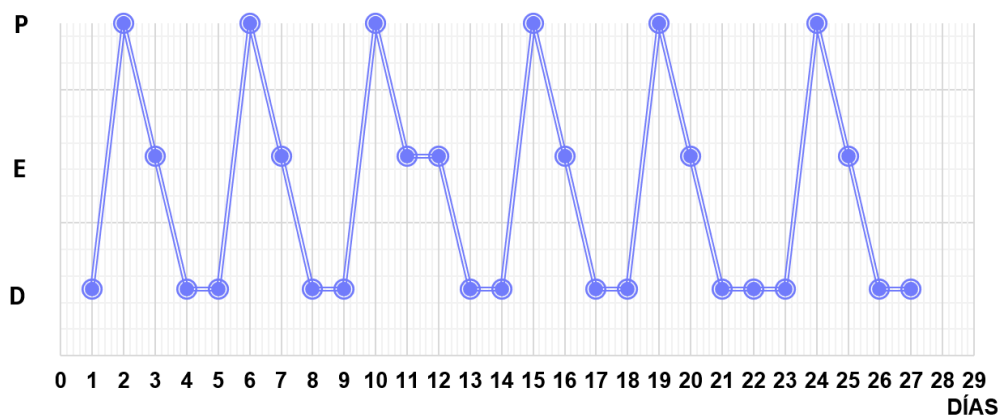


Figura 16. Frecuencia de los diferentes días del ciclo estral de ratas Zucker delgadas, durante 30 días. P: proestro; E: estro; D: diestro. D incluye D1 y D2.

Ciclo estral en ratas Zucker *obesas*

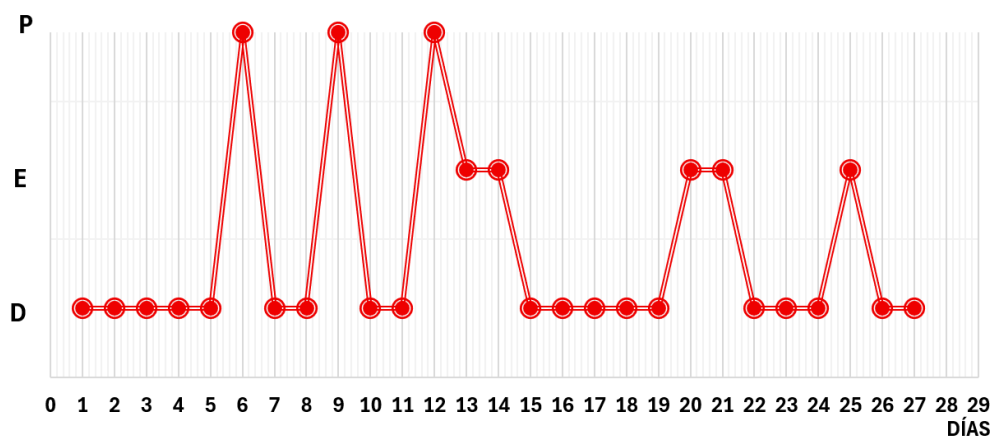


Figura 17. Frecuencia de los diferentes días del ciclo estral de ratas Zucker obesas, durante 30 días. P: proestro; E: estro; D: diestro. D incluye D1 y D2.

7. 2. Parámetros zoométricos

Se encontraron diferencias significativas en los tres parámetros analizados, peso $t(6) = 8.09$, longitud $t(6) = 6.827$, cintura $t(6) = 15.5$, mostrándose en las ratas obesas valores significativamente mayores al de los observados en las ratas delgadas (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros zoométricos de las ratas Zucker delgadas vs obesas, sacrificadas entre los 2 y 3 meses de edad.

	PESO	LONGITUD	CINTURA
DELGADAS (D)	185 ± 4.4	16.4 ± 0.4	13.1 ± 0.2
OBESAS (D)	276.9±8.2 *	21.8±0.3 **	22.5±0.6 ***

Nota: DELGADAS vs. OBESAS. Prueba de *t de Student* (* $p=0.0002$; ** $p=0.0005$; *** $p<0.0001$). Se muestran datos de la media + EEM.

7. 3. Morfometría neuronal de cinco ganglios prevertebrales a lo largo del ciclo estral en ratas delgadas y obesas

En las ratas delgadas, el área y el diámetro neuronal de los ganglios analizados (GCD, GCI, GSD, GSI, GMS), no presenta diferencias significativas entre los cuatro días del ciclo estral, con un promedio de 448 ± 10 y $25 \pm 0.3 \mu\text{m}$ respectivamente (Tabla 2). Las neuronas con el área más grande corresponden al GSD ($483.6 \pm 19.8 \mu\text{m}$), mientras que las neuronas más pequeñas las presentó el GCI con $408 \pm 20 \mu\text{m}$. Por otro lado, las neuronas con el mayor diámetro pertenecen al GSI, mientras que el más pequeño se presentó en las neuronas del GCI.

Asimismo, las neuronas de estos cinco ganglios mostraron una mayor área y un mayor diámetro cuando las ratas se encontraban en la etapa del P, mientras que las más pequeñas se presentaron durante la etapa de D1 y ocasionalmente en E.

En el caso de las ratas obesas, el área neuronal más grande corresponde al GCD ($479 \pm 32.2 \mu\text{m}$), mientras que el área más pequeña se presentó en el GSD, con un promedio de $389.5 \pm 22.8 \mu\text{m}$. El diámetro de las neuronas presentó un promedio de $26.4 \pm 0.4 \mu\text{m}$, con un máximo de $27 \pm 1 \mu\text{m}$ en el GMS y un mínimo de $25.7 \pm 0.7 \mu\text{m}$ en el GCI.

Tabla 2. Datos del área y del diámetro de las neuronas en cinco ganglios prevertebrales a lo largo del ciclo estral en ratas delgadas. Se muestra media + EEM.

GANGLIO	DÍA DEL CICLO	ÁREA	DIÁMETRO
GCD	D1	356.9 ± 19.1	22.6 ± 0.8
	D2	504.9 ± 81	26.1 ± 2.6
	P	509.6 ± 19	27.3 ± 0.7
	E	385.4 ± 39.6	23.4 ± 1.3
GCI	D1	359 ± 45.8	22.8 ± 1.3
	D2	437.5 ± 15.4	23.6 ± 0.5
	P	471.1 ± 61	26.1 ± 0.9
	E	365.8 ± 19.6	23.8 ± 0.7
GSD	D1	417.3 ± 14.1	24.7 ± 0.7
	D2	532.9 ± 16.9	27.7 ± 0.4
	P	567.3 ± 28.4	28 ± 0.6
	E	416.9 ± 25	24.2 ± 0.9
GSI	D1	415.9 ± 25.5	24.3 ± 0.8
	D2	509.5 ± 18.4	26.7 ± 0.9
	P	518.6 ± 46.2	27.2 ± 1.2
	E	506.1 ± 35.9	27.8 ± 1
GMS	D1	392.4 ± 12.2	25.3 ± 0.5
	D2	460.3 ± 13.2	24.4 ± 0.2
	P	498.9 ± 57.4	26.2 ± 1.6
	E	328.6 ± 31.8	22.8 ± 1.5

En las ratas obesas, se encontraron diferencias significativas (* $p < 0.05$), solo en dos ganglios: GSD y GCD tanto para área como para diámetro. Esta diferencia se observó al compararse la media obtenida en los días D1 y D2 de las ratas delgadas Vs. la media de las ratas obesas durante la etapa del diestro (Tabla 3).

El GSD mostró diferencias significativas en el área neuronal entre las ratas delgadas y obesas durante el día del D2. Los ejemplares delgados mostraron un área mayor al de las ratas obesas. Por su parte, solo el GCD presentó una diferencia significativa en el diámetro de las neuronas en el grupo de animales obesos en comparación con el grupo delgado durante el día del D1.

Tabla 3. Comparación del área y el diámetro de las neuronas entre animales obesos y delgados en cinco ganglios prevertebrales durante la etapa de diestro.

GANGLIO	GRUPO	ÁREA	DIÁMETRO
GCD	DELGADAS (D1)	356.9 ± 19.1	22.6 ± 0.8
	DELGADAS(D2)	504.9 ± 81	26.1 ± 2.6
	OBESAS (D)	478.8 ± 37.1	26.5 ± 0.8*
GCI	DELGADAS (D1)	359 ± 45.8	22.8 ± 1.3
	DELGADAS(D2)	437.5 ± 15.4	23.6 ± 0.5
	OBESAS (D)	399.8 ± 27.4	25.7 ± 0.8
GSD	DELGADAS (D1)	417.3 ± 14.1	24.7 ± 0.7
	DELGADAS(D2)	532.9 ± 16.9	27.7 ± 0.4
	OBESAS (D)	389.5 ± 26.4*	26.7 ± 2.2
GSI	DELGADAS (D1)	509.5 ± 18.4	26.7 ± 0.9
	DELGADAS(D2)	518.6 ± 46.2	27.2 ± 1.2
	OBESAS (D)	467.4 ± 32.4	26.2 ± 0.9
GMS	DELGADAS (D1)	460.3 ± 13.2	24.4 ± 0.2
	DELGADAS(D2)	498.9 ± 57.4	26.2 ± 1.6
	OBESAS (D)	429 ± 45.3	26.9 ± 1

*p<0.05 prueba de *t de Student* (Área: GSD, DELGADA-D2 vs. OBESA-D $t=8.079$. Diámetro: GCD, DELGADA-D1 vs OBESA-D $t=4.773$). Se muestra Media ± EEM.

7. 4. Presencia del 17 β -estradiol (E2) en cinco ganglios prevertebrales a lo largo del ciclo estral en ratas delgadas

En el GCD se observó un promedio de 4205 ± 250 neuronas inmunopositivas a E2 a lo largo de los cuatro días del ciclo estral de ratas delgadas de los cuales, el día del P manifestó el mayor número, con aproximadamente 9143 ± 715.4 mientras que fue el día del D1 en el que se observó la menor cantidad con solo 2234 ± 268.1 neuronas positivas en promedio. Solo el día del P mostró una diferencia significativa ($*P < 0.05$) respecto al día del D1 (Figura 18).

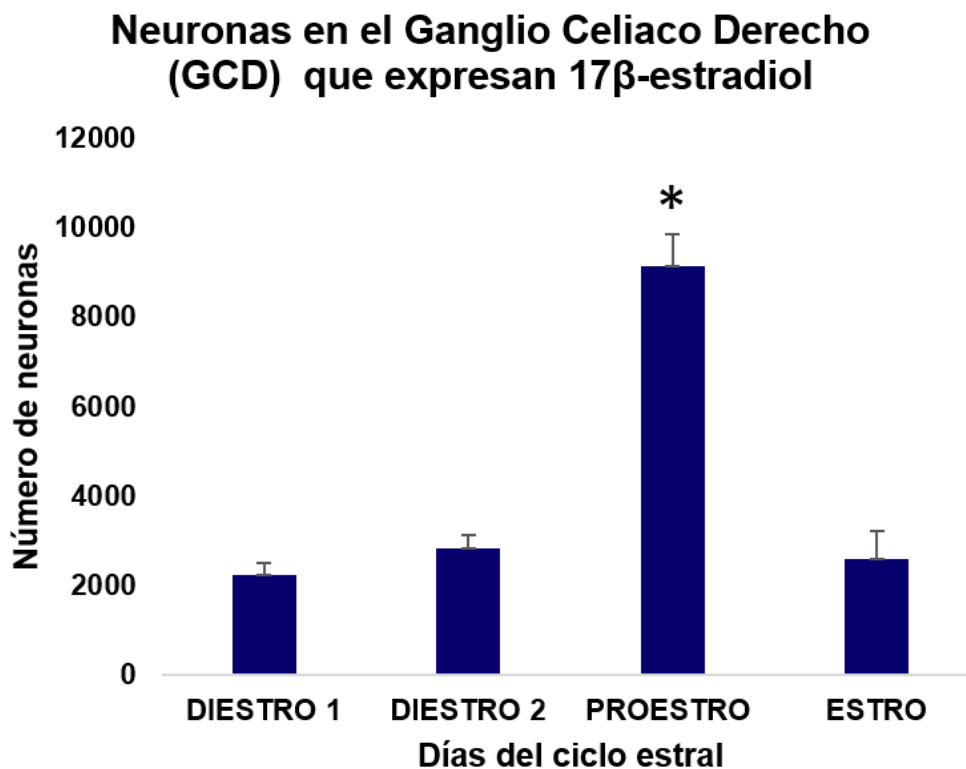


Figura 18. Número de neuronas que inmunopositivas a 17 β -estradiol en el ganglio celiaco derecho a lo largo del ciclo estral en ratas delgadas. El día del P mostró un incremento en la presencia de E2 con respecto al día del D1 ($*p < 0.05$, ANOVA seguida de Tukey). Se muestra la media \pm EEM.

En el caso del GCI, se obtuvo un promedio total de 4422 ± 729.3 neuronas positivas, un número ligeramente mayor que el ganglio celiaco derecho y, a diferencia de éste, fue el día del D2 el que mostró el mayor número de neuronas con un promedio de 7894 ± 1446.3 , mientras que, nuevamente, fue el grupo del D1 el que presentó el número más bajo con 1911 ± 348 neuronas en promedio. En este ganglio, tanto el día del D2 como el de P presentaron un número de neuronas inmunopositivas significativamente mayor al que se presentó en D1 (Figura 19).

Neuronas en el Ganglio Celiaco Izquierdo (GCI) que expresan 17β -estradiol

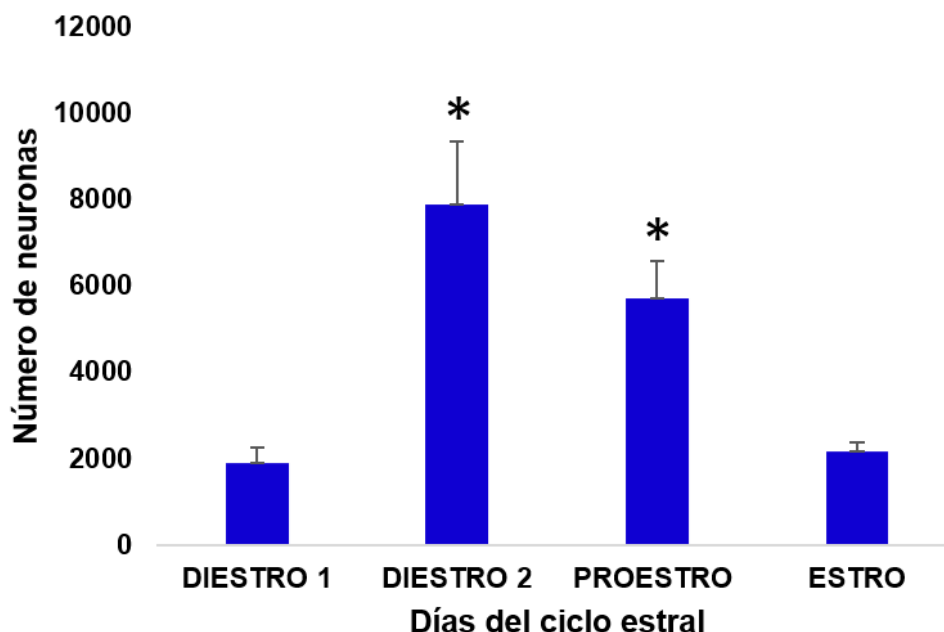


Figura 19. Número de neuronas que inmunopositivas a 17β -estradiol en el ganglio celiaco izquierdo a lo largo del ciclo estral en ratas delgadas. Los días del D2 y el P mostraron una presencia de E2 significativamente mayor a la del D1 (* $p < 0.05$, ANOVA seguida de Tukey). Se muestra media \pm EEM.

En el ganglio suprarrenal derecho se presentó un promedio de 5442 ± 765.8 neuronas inmunopositivas a lo largo del ciclo de las ratas delgadas, con el mayor número de ellas mostrándose nuevamente durante el día del D2 (7553 ± 2672.1 neuronas), y reportándose, al igual que los anteriores, el día del D1 como el de menor expresión, con 2795 ± 800 . Se mostraron diferencias significativas en los días del D2 y P con respecto al D1 (Figura 20).

Por su parte, el ganglio izquierdo presentó un promedio de 4822 ± 736.4 neuronas inmunopositivas, siendo el día de mayor expresión el P nuevamente con 8116 ± 2051.6 neuronas, mientras que el de menor expresión fue el D1 con 1656 ± 71 neuronas. Asimismo, el ganglio izquierdo mantiene diferencias significativas nuevamente entre los días D2 y P con respecto al D1 (Figura 21).

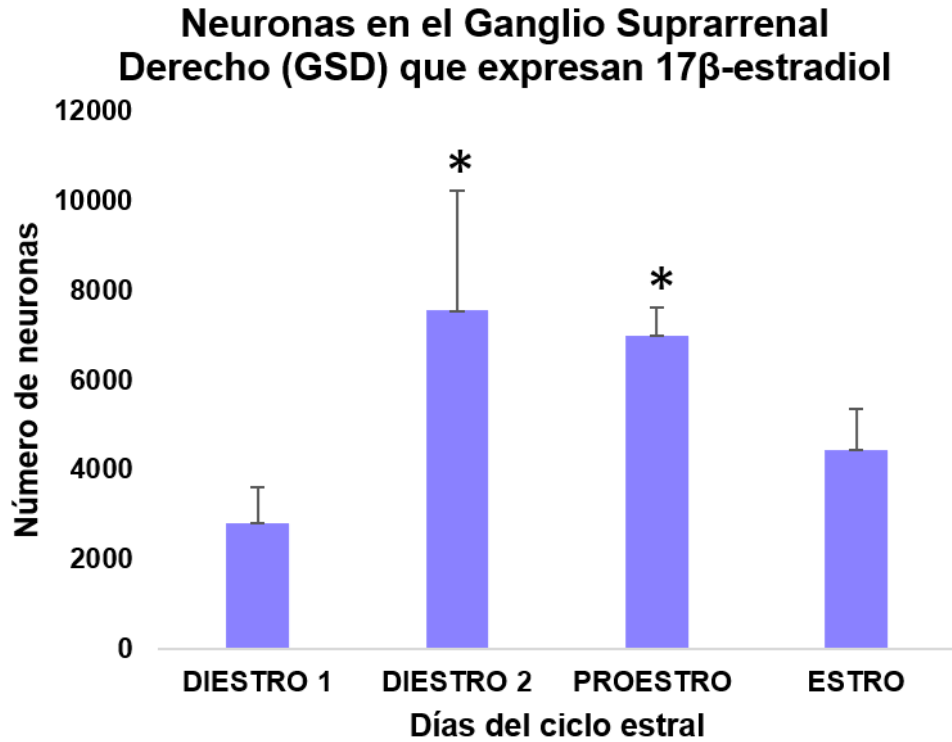


Figura 20. Número de neuronas que inmunopositivas a 17 β -estradiol en el ganglio suprarrenal derecho a lo largo del ciclo estral en ratas delgadas. Los días del D2 y el P mostraron una presencia de E2 significativamente mayor a la del D1 (* p <0.05, ANOVA seguida de Tukey). Se muestra media \pm EEM.

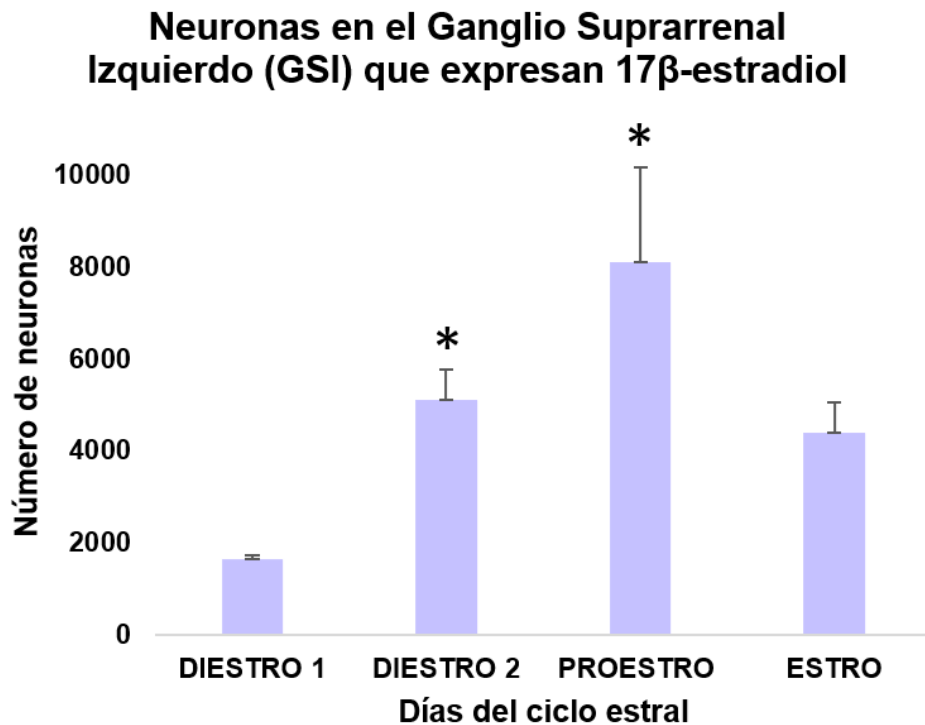


Figura 21. Número de neuronas que inmunopositivas a 17 β -estradiol en el ganglio suprarrenal izquierdo a lo largo del ciclo estral en ratas delgadas. Los días del D2 y el P mostraron una presencia de E2 significativamente mayor a la del D1 (* p <0.05, ANOVA seguida de Tukey). Se muestra media \pm EEM.

Finalmente, el GMS no presentó ninguna diferencia significativa entre los días del ciclo estral (Figura 22). Su promedio general de neuronas positivas fue de 935 ± 193.2 , con el mayor número de células inmunopositivas presente durante el día del P y con el menor en el D1 (367 ± 88.1 neuronas).

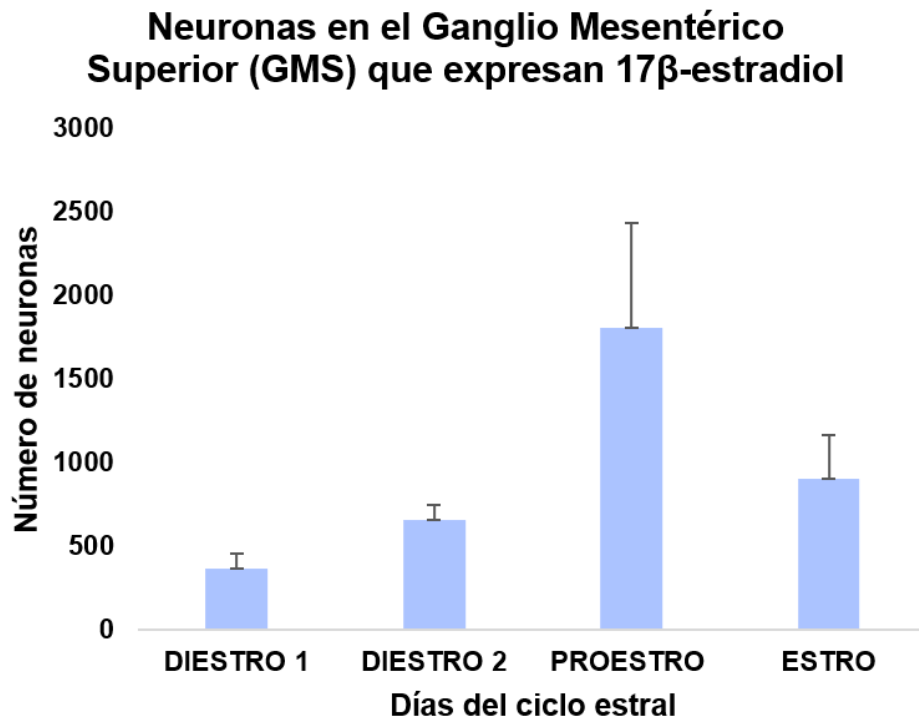


Figura 22. Número de neuronas que inmunopositivas a 17β -estradiol en el ganglio mesentérico superior a lo largo del ciclo estral en ratas delgadas. No se presentaron diferencias significativas en ninguno de los días del ciclo estral respecto al día del D1 (* $p < 0.05$, ANOVA seguida de Tukey). Se muestra media \pm EEM.

7. 5. Asimetría de la expresión de 17β-estradiol en las neuronas de ganglios bilaterales durante el ciclo estral en ratas delgadas

Para determinar si la bilateralidad de las estructuras nerviosas podría tener alguna influencia en los patrones de respuesta al estradiol se realizó una comparación de la presencia de 17β-estradiol entre ambos ganglios celiacos y suprarrenales.

En la Figura 23A se puede observar una diferencia significativa (* $p < 0.05$) en el número de neuronas que expresan 17β-estradiol entre los ganglios celiacos derecho e izquierdo, durante los días del D2 y el P. En el día del D2, el izquierdo presenta los niveles más altos de expresión, mientras que el derecho los mantiene significativamente bajos. Dicho comportamiento se invierte al día siguiente. Durante el P se aprecia una mayor expresión por parte de los ganglios derechos y una baja expresión en los izquierdos.

Respecto a los ganglios suprarrenales (Figura 23B), no se apreciaron diferencias significativas en los niveles de expresión de 17β-estradiol entre los ganglios derecho e izquierdo en ninguno de los días del ciclo estral.

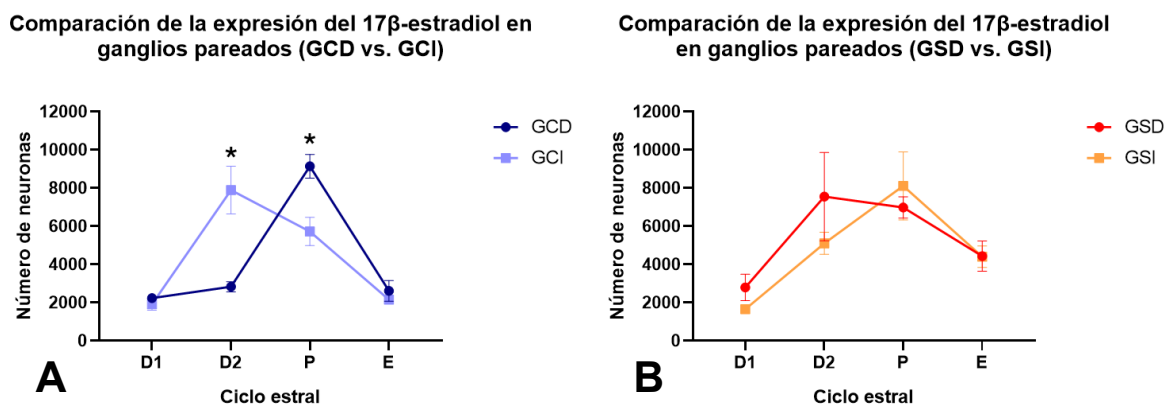


Figura 23. Número de neuronas inmunopositivas a 17β-estradiol en ganglios bilaterales en ratas delgadas a lo largo del ciclo estral. A. ganglios celiacos. B. ganglios suprarrenales. (* $p < 0.05$. ANOVA de dos vías, seguida de una prueba de comparaciones múltiples de Sidak). Se muestra media \pm EEM.

7. 6. Presencia del 17 β -estradiol (E2) en cinco ganglios prevertebrales en ratas delgadas y obesas en etapa de diestro

Para el grupo de las ratas obesas, el GCD presentó un promedio de 3430 \pm 494 neuronas positivas a E2, el GCI mostró aproximadamente 3959 \pm 435.6 neuronas positivas, el GSD contó con 2128 \pm 666.5 neuronas positivas en promedio, el GSI registró un promedio de 1815 \pm 171.3 neuronas inmunopositivas y, finalmente, en el GMS se mostró un promedio de 1116 \pm 364 neuronas positivas a estradiol.

No existen diferencias significativas en el número de neuronas que contienen 17 β -estradiol entre las ratas delgadas y obesas en ninguno de los cinco ganglios prevertebrales que inervan los ovarios (GCD, GCI, GSD, GSI y GMS; Figura 24).

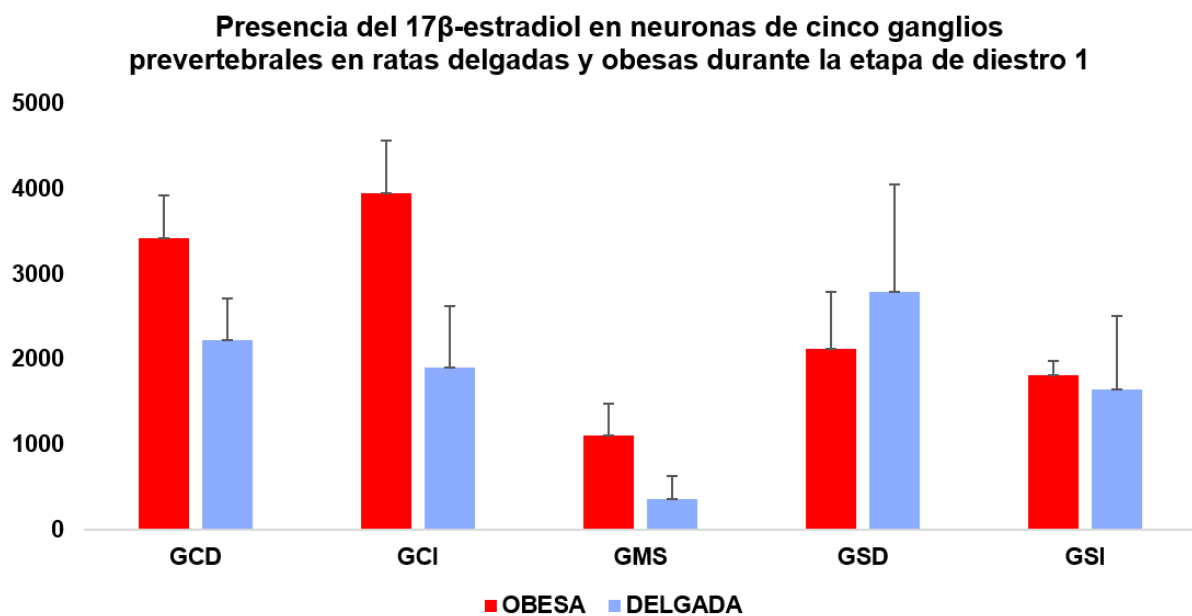


Figura 24. Número de neuronas inmunopositivas a 17 β -estradiol en cinco ganglios prevertebrales que inervan los ovarios de ratas delgadas en D1 y obesas en diestro. No se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos en ninguno de los ganglios estudiados. (* $p < 0.05$, ANOVA seguida de Tukey). Se muestra media \pm EEM.

Debido a la irregularidad del ciclo estral que se presentó en los ejemplares obesos, que se mantienen en una etapa de diestro prolongado, lo que dificulta la distinción entre los días de D1 y D2 en ratas obesas, se optó por comparar también los valores registrados para este grupo con el número neuronal que se obtuvo de ratas delgadas en D2.

De estas pruebas se encontró la existencia de diferencias significativas en el número de neuronas inmunopositivas a 17β -estradiol entre ratas Zucker obesas en diestro y ratas delgadas en D2 en tres de los cinco ganglios prevertebrales estudiados: GCI, GSD y GSI (Figura 25).

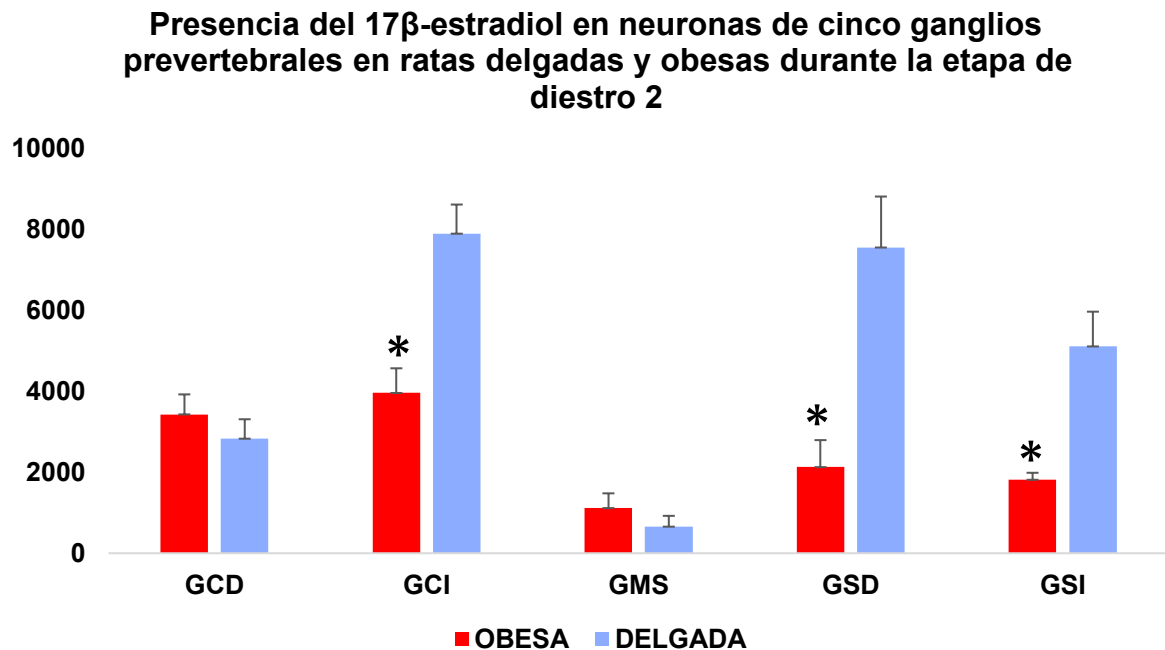


Figura 25. Número de neuronas inmunopositivas a 17β -estradiol en cinco ganglios prevertebrales que inervan los ovarios de ratas delgadas en D2 y obesas en diestro. Se encontraron diferencias significativas entre los grupos en el ganglio celiaco izquierdo y ambos ganglios suprarrenales. (* $p < 0.05$, ANOVA seguida de Tukey). Se muestra media \pm EEM.

8. Discusión

En el presente trabajo describimos que la presencia del 17β -estradiol en las neuronas de los ganglios prevertebrales GCD, GCI, GSD, GSI y GMS, que inervan los ovarios presentó variaciones durante el ciclo estral de las ratas Zucker delgadas las cuales se compararon con ratas obesas que presentan un ciclo estral irregular y una baja presencia de 17β -estradiol en los ganglios mencionados, lo que podría estar asociado a la infertilidad en conjunto con diversas comorbilidades (Saiduddin et al., 1973; Zucker & Antoniades, 1972).

En ratas delgadas, la fluctuación en la concentración de estradiol en sangre a lo largo del ciclo (Rosas et al., 2018) coincide con el número de neuronas inmunopositivas a 17β -estradiol que se observó en nuestro estudio. De acuerdo con la literatura (Freeman, 1988; Sato et al., 2016), dentro del ciclo estral la concentración del estradiol en sangre presenta un aumento inicial durante el día del D2 y un pico durante el P, previo a la ovulación, tras la cual los niveles de la hormona vuelven a descender durante el día del E, para alcanzar su valor más bajo durante el D1. De forma paralela en los ganglios estudiados, el mayor número de neuronas inmunorreactivas se presenta durante los días del D2 y P, y el menor durante D1. El GMS carece de estas variaciones, aún en ratas delgadas, por lo que es probable que su actividad este influenciada por otras moléculas como progestinas, andrógenos, neurotransmisores o neuropéptidos.

El tamaño neuronal también corresponde a las variaciones en la concentración de estradiol circulante, si consideramos que tanto el diámetro como el área son los más grandes durante el día del P, y los más pequeños durante el D1. Esto podrá deberse a la gran diversidad y especificidad de funciones que cumple el estradiol en las neuronas. Es sabido que los estrógenos participan en procesos de crecimiento, de diferenciación y de supervivencia neuronal (Kovats, 2015; Zoubina & Smith, 2002), modulan el tono y la actividad neuronal (Saleh & Connell, 2000), pueden alterar los patrones de inervación de los órganos, regulando la formación de neuritas o la degeneración axónica (Krizsan-Agbas & Smith, 2002; Zoubina et al., 2001); incluso pueden desencadenar respuestas no genómicas o mixtas mediadas por diversas proteínas incluyendo sus receptores, como complejos de receptores nicotínicos, involucrados en procesos de protección y de remodelación neuronal (Curtis et al., 2002; Hilton et al., 2004; Sbrini et al., 2024).

A nivel subcelular, los efectos sobre la plasticidad neuronal que ejercen los estrógenos son debido a que, promueven la expresión de moléculas como factores de crecimiento nervioso (NGF), factores neurotróficos derivados del cerebro (BDNF), semaforinas 3F (Sema 3F) y neurotriminas (Ntm), entre otras (Liang & Yao, 2016). No obstante, en algunas estructuras nerviosas periféricas los estrógenos también pueden tener un papel degenerativo; esto ha sido reportado en numerosas ocasiones, particularmente para la inervación simpática de los órganos abdominales y pélvicos, como los ovarios y el útero, sugiriendo que son los mismos órganos, a través de la secreción estrogénica, los que regulan su propia inervación (Brauer, 2008; Brauer & Smith, 2015b; Liang & Yao, 2016; Zoubina et al., 2001).

En el SNC, el 17β -estradiol ejerce una regulación negativa sobre su receptor nuclear β , que resulta en una respuesta disminuida por parte de las neuronas a la hormona (Pfaus et al., 2015; Suzuki & Handa, 2004); aunque se desconoce si este mismo efecto está presente en las neuronas ganglionares del SNP, sugerimos que la presencia incrementada de la hormona que persiste durante los días del D2 y P en los ganglios prevertebrales podría deberse a que la actividad del estradiol estuviera mediada por otras vías de señalización en las que participan sus receptores membranales o incluso mediada por la unión a receptores nicotínicos (Couse & Korach, 1999; Fuentes & Silveyra, 2019; Sbrini et al., 2024).

La presencia de 17β -estradiol en los ganglios prevertebrales GCD, GCI, GSD, GSI y GMS que se reportó en este estudio sugiere la existencia de una comunicación bidireccional entre los ovarios y los ganglios prevertebrales que los inervan, donde la secreción estrogénica por parte de los ovarios estaría profundamente influenciada por factores neuronales, al mismo tiempo que las neuronas responden a los cambios en la secreción de 17β -estradiol.

Este fenómeno ya ha sido propuesto con anterioridad por diversos autores. Los trabajos de Delgado et al., (2010) y Domínguez & Cruz-Morales, (2011), señalan que los principales neurotransmisores involucrados en la transmisión de información con los ovarios son la noradrenalina y la acetilcolina proveniente los ganglios celiacos, suprarrenales y mesentérico superior y cuya actividad estimula la secreción de estradiol. Por otro lado, los estudios de Brauer et al., (1995, 1995) y Zoubina & Smith, (2002, 2003), señalan la ocurrencia de una retracción en las terminales nerviosas de las neuronas provenientes de los ganglios prevertebrales que se dirigen a los órganos

urogenitales provocada por la señalización del estradiol, secretado por los ovarios y que se une a sus receptores específicos presentes en estas neuronas.

Por otro lado, la asimetría de los ganglios celiacos y su conexión con los ovarios ya ha sido documentada con anterioridad. Los trabajos de Morán et al., (2005, 2009) y de Pastelín et al., (2023), acerca de la lateralidad de las proyecciones que los ganglios celiacos-mesentérico envían a los ovarios a lo largo del ciclo estral, reportan que el número de neuronas en estos ganglios que se dirigen a los ovarios sí varían en función no solo del ciclo, sino del ovario que inervan, sea derecho o izquierdo. Por ejemplo, el ovario derecho presenta inervación proveniente de los ganglios ipsilaterales, mientras que el ovario izquierdo se encuentra inervado por proyecciones de ganglios tanto ipsi como contralaterales.

Sin embargo, la diferencia que se presenta en los patrones de esta lateralidad anatómica entre los resultados de Morán et al., (2005, 2009), que se manifiesta en una imagen espejo entre ganglios izquierdos y derechos, y los nuestros, que se muestra como una inversión en la presencia del estradiol entre ganglios contralaterales, podría ser debida a la actividad que realiza la neurona en cada estudio, ya que en la primera se analiza su capacidad para transportar un trazador retrógrado, mientras que en nuestro estudio se observa la presencia de 17β -estradiol.

Nuestros resultados, junto con los de otros estudios, apoyan la hipótesis de que la comunicación del SNA con los ovarios es asimétrica, enviando información diferencial a los órganos a través de los ganglios pareados, y que esta asimetría también varía según la etapa del ciclo estral, particularmente los días del D2 y el P; sin embargo, aún se requiere de más investigación para determinar los patrones específicos de comunicación.

El ciclo estral es el reflejo de la actividad esteroideogénica ovárica; por lo que la ausencia de fluctuaciones en la concentración de estradiol, fundamentales para el cambio de fases en el ciclo estral, resulta en animales que no ciclan como en ratas en etapa de menopausia o en condiciones patológicas (Wu et al., 2005; Xie et al., 2021). La ausencia de ciclos reproductivos regulares en la rata Zucker obesa ya ha sido reportado previamente (Puga y Colmenares León et al., 2025; Zucker & Zucker, 1961). Al igual que ellos, los ejemplares de nuestro estudio presentaron un diestro prolongado y un estro ocasional no precedido por un P. La falta de fluctuaciones en la concentración de estradiol circulante asociada a un ciclo estral irregular también se

manifiesta en los ganglios prevertebrales que inervan los ovarios en ratas obesas, que presentan un diestro prolongado y en cuyas neuronas no se observan cambios en la presencia de estradiol.

Debido a que las ratas obesas carecen de ciclicidad, y se reportan con un diestro prolongado, no podemos descartar que algunos animales del grupo de ratas Zucker obesas se encontraran en D2 durante el estudio. La presencia de estradiol de ratas obesas fue similar a la mostrada durante el D1 de ratas delgadas mientras que existe una diferencia cuando se compara con el D2 de las ratas delgadas lo que podría ser indicativo de una tendencia en los ganglios prevertebrales de las ratas obesas por mantener una actividad similar a la que se presenta durante el día del D1 en delgadas (Puga y Colmenares León et al., 2025).

En hembras, los principales productores de 17β -estradiol, son las células de la granulosa en los folículos ováricos (Peluso, 1992). En las ratas Zucker obesas, los ovarios se caracterizan por un número reducido de cuerpos lúteos, al igual que su población folicular, pocos folículos sanos y por la presencia de quistes y pre-quistes (Puga y Colmenares León et al., 2025), por lo que la concentración de estradiol sistémica suele ser baja; este hecho también se puede ver reflejado en las neuronas ganglionares de las ratas obesas, ya que no se aprecian diferencias entre el número de neuronas positivas a estradiol entre el D1 de ratas delgadas, cuyo conteo neuronal y concentración de estradiol circulante son los más bajos del ciclo (Rosas et al., 2018), y el diestro de ratas obesas.

La rata Zucker obesa expresa una mutación en el receptor a leptina que resulta en una insensibilidad a la leptina (Owens, 2006), esto provoca que la leptina circulante no sea capaz de ejercer sus efectos sobre sus células blanco. En ratas, los receptores se encuentran ampliamente distribuidos en todo el organismo, en el SNC, se le ha encontrado en diversos núcleos hipotalámicos y en la hipófisis anterior (González-García et al., 2023; Yin et al., 2017). En la periferia, los receptores a leptina pueden hallarse en el tejido adiposo, en el intestino, en las glándulas suprarrenales, en los riñones y en las células beta del páncreas (Kieffer et al., 1997; Lostao et al., 1998; Muoio & Lynis Dohm, 2002). En el SNA se ha observado su presencia en los ganglios de la raíz dorsal (Chen et al., 2006) y en los ganglios prevertebrales (celiacos y mesentérico superior; Miller et al., 1999).

La estrecha relación e influencia del 17β -estradiol sobre el funcionamiento del receptor a leptina en diversos tejidos neuronales también ha sido previamente reportado. En el SNC, el E2 no solo estimula la expresión de los receptores a leptina (Yin et al., 2017), sino que también es capaz de intervenir en su vía de señalización intracelular mediante el factor Cited1 (González-García et al., 2023). En el SNP, los análisis de Chen et al., (2006), en neuronas del ganglio de la raíz dorsal, señalan una co-localización del 100% de los receptores a estradiol y de leptina, sin embargo, en ganglios prevertebrales la relación entre el receptor a leptina y el estradiol no ha sido descrita.

Por otro lado, Silveira et al., (2013), señalan brevemente que la leptina también puede provocar una reducción en la expresión de receptores a gonadotropinas en células foliculares del ovario. Esta reducción en la comunicación de las hormonas gonadotrópicas con sus receptores alteraría la síntesis de las enzimas involucradas en la síntesis de andrógenos y estrógenos por las células foliculares de las ratas obesas, lo que podría llevar a una alteración en la concentración de estradiol circulante y, de acuerdo con lo observado en este estudio, podría influir en la presencia del 17β -estradiol en las neuronas de ganglios periféricos.

9. Conclusiones

La presencia de 17β -estradiol en las neuronas de los cinco ganglios prevertebrales GCD, GCI, GSD, GSI y GMS, que inervan los ovarios, varía a lo largo del ciclo estral en ratas delgadas.

La presencia de 17β -estradiol en las neuronas de los ganglios celiacos (estructuras nerviosas bilaterales), de ratas delgadas, mostró una asimetría.

El mayor número de neuronas positivas a 17β -estradiol se presentó durante los días del D2 y el P, mientras que los más bajos se observaron durante el día del D1 en ratas delgadas.

La rata Zucker obesa presentó un ciclo estral irregular y durante el diestro no hubo variación en la presencia de 17β -estradiol en los ganglios GCD, GCI, GSD, GSI y GMS.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Abercrombie, M. (1946). Estimation of nuclear population from microtome sections. *The Anatomical Record*, 94(2), 239–247. <https://doi.org/10.1002/ar.1090940210>
- Amthor, F. R. (2020). Autonomic Nervous System: Sympathetic, Parasympathetic, & Enteric. En F. R. Amthor, A. B. Theibert, D. G. Standaert, & E. D. Roberson (Eds.), *Essentials of Modern Neuroscience*. McGraw Hill.
accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1174243577
- Baljet, B., & Drukker, J. (1979). The extrinsic innervation of the abdominal organs in the female rat. *Acta Anatomica*, 104(3), 243–267. <https://doi.org/10.1159/000145073>
- Barros, R. P. A., Gabbi, C., Morani, A., Warner, M., & Gustafsson, J.-Å. (2009). Participation of ER α and ER β in glucose homeostasis in skeletal muscle and white adipose tissue. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 297(1), E124–E133. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00189.2009>
- Bazira, P. J. (2021). An overview of the nervous system. *Surgery (Oxford)*, 39(8), 451–462. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2021.06.012>
- Boulangé, A., Planche, E., & de Gasquet, P. (1979). Onset of genetic obesity in the absence of hyperphagia during the first week of life in the Zucker rat (fa/fa). *Journal of Lipid Research*, 20(7), 857–864.
- Brauer, M. M. (2008). Cellular and molecular mechanisms underlying plasticity in uterine sympathetic nerves. *Autonomic Neuroscience*, 140(1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2008.02.002>
- Brauer, M. M., Corbacho, A. M., & Burnstock, G. (1995). Effects of chronic and acute oestrogen treatment on the developing noradrenaline-containing nerves of the rat uterus. *International Journal of Developmental Neuroscience: The Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, 13(8), 791–798. [https://doi.org/10.1016/0736-5748\(95\)00079-8](https://doi.org/10.1016/0736-5748(95)00079-8)

- Brauer, M. M., & Smith, P. G. (2015a). Estrogen and female reproductive tract innervation: Cellular and molecular mechanisms of autonomic neuroplasticity. *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical*, 187, 1–17.
<https://doi.org/10.1016/j.autneu.2014.11.009>
- Brauer, M. M., & Smith, P. G. (2015b). Estrogen and female reproductive tract innervation: Cellular and molecular mechanisms of autonomic neuroplasticity. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*, 187, 1–17.
<https://doi.org/10.1016/j.autneu.2014.11.009>
- Bravo-Benitez, J. M., Cruz, Y., Lucio, R. A., Venegas, B., Díaz, A., Morales-Ledesma, L., Domínguez, R., & Morán, C. (2022). Intrinsic innervation of the ovary and its variations in the rat senescence process. *Journal of Molecular Histology*, 53(2), 347–356. <https://doi.org/10.1007/s10735-022-10069-7>
- Brito, J. O., Ponciano, K., Figueroa, D., Bernardes, N., Sanches, I. C., Irigoyen, M. C., & De Angelis, K. (2008). Parasympathetic dysfunction is associated with insulin resistance in fructose-fed female rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas*, 41(9), 804–808.
<https://doi.org/10.1590/s0100-879x2008005000030>
- Carriere, P. D., Brawer, J. R., & Farookhi, R. (1988). Pituitary gonadotropin-releasing hormone receptor content in rats with polycystic ovaries. *Biology of Reproduction*, 38(3), 562–567. <https://doi.org/10.1095/biolreprod38.3.562>
- Chen, H. P., Fan, J., & Cui, S. (2006). Detection and estrogen regulation of leptin receptor expression in rat dorsal root ganglion. *Histochemistry and Cell Biology*, 126(3), 363–369. <https://doi.org/10.1007/s00418-006-0170-9>
- Christie, M. H., Strauss, J. F., & Flickinger, G. L. (1979). Effect of reduced blood cholesterol on sterol and steroid metabolism by rat luteal tissue. *Endocrinology*, 105(1), 92–98.
<https://doi.org/10.1210/endo-105-1-92>
- Chua, S. C., White, D. W., Wu-Peng, X. S., Liu, S. M., Okada, N., Kershaw, E. E., Chung, W. K., Power-Kehoe, L., Chua, M., Tartaglia, L. A., & Leibel, R. L. (1996). Phenotype

- of fatty due to Gln269Pro mutation in the leptin receptor (Lepr). *Diabetes*, 45(8), 1141–1143. <https://doi.org/10.2337/diab.45.8.1141>
- Clifton, D. K., & Steiner, R. A. (2009). CHAPTER 1—Neuroendocrinology of Reproduction. En J. F. Strauss & R. L. Barbieri (Eds.), *Yen & Jaffe's Reproductive Endocrinology (Sixth Edition)* (pp. 3–33). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-4907-4.00001-2>
- Couse, J. F., & Korach, K. S. (1999). Estrogen receptor null mice: What have we learned and where will they lead us? *Endocrine Reviews*, 20(3), 358–417. <https://doi.org/10.1210/edrv.20.3.0370>
- Crisler, R., Johnston, N. A., Sivula, C., & Budelsky, C. L. (2020). Chapter 4—Functional Anatomy and Physiology. En M. A. Suckow, F. C. Hankenson, R. P. Wilson, & P. L. Foley (Eds.), *The Laboratory Rat (Third Edition)* (pp. 91–132). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814338-4.00004-0>
- Curtis, L., Buisson, B., Bertrand, S., & Bertrand, D. (2002). Potentiation of human alpha4beta2 neuronal nicotinic acetylcholine receptor by estradiol. *Molecular Pharmacology*, 61(1), 127–135. <https://doi.org/10.1124/mol.61.1.127>
- Dalkin, A. C., Paul, S. J., Haisenleder, D. J., Ortolano, G. A., Yasin, M., & Marshall, J. C. (1992). Gonadal steroids effect similar regulation of gonadotrophin subunit mRNA expression in both male and female rats. *The Journal of Endocrinology*, 132(1), 39–45. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1320039>
- de la Iglesia, H. O., & Schwartz, W. J. (2006). Minireview: Timely Ovulation: Circadian Regulation of the Female Hypothalamo-Pituitary-Gonadal Axis. *Endocrinology*, 147(3), 1148–1153. <https://doi.org/10.1210/en.2005-1311>
- Delgado, S. M., Escudero, C. G., Casais, M., Gordillo, M., Anzulovich, A. C., Sosa, Z., & Rastrilla, A. M. (2010). Ovaric physiology in the first oestral cycle: Influence of noradrenergic and cholinergic neural stimuli from coeliac ganglion. *Steroids*, 75(10), 685–694. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2010.04.005>

- Domínguez, R., & Cruz-Morales, S. E. (2011). The Ovarian Innervation Participates in the Regulation of Ovarian Functions. *Endocrinology & Metabolic Syndrome*, 0(0), 1–10.
<https://doi.org/10.4172/2161-1017.S4-001>
- Durham, H. A., & Truett, G. E. (2006). Development of insulin resistance and hyperphagia in Zucker fatty rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 290(3), R652–R658.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00428.2004>
- Enmark, E., Pelto-Huikko, M., Grandien, K., Lagercrantz, S., Lagercrantz, J., Fried, G., Nordenskjöld, M., & Gustafsson, J. A. (1997). Human estrogen receptor beta-gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 82(12), 4258–4265.
<https://doi.org/10.1210/jcem.82.12.4470>
- Farag, A., Mandour, A. S., Hendawy, H., Elhaieg, A., Elfadadny, A., & Tanaka, R. (2023). A review on experimental surgical models and anesthetic protocols of heart failure in rats. *Frontiers in Veterinary Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1103229>
- Fox, R. R., & Laird, C. W. (1970). *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals* (E. S. E. Hafez, Ed.). Lea & Febiger.
- Freeman, M. E. (1988). The ovarian cycle in the rat. En E. Knobil & J. D. Neill (Eds.), *The Physiology of Reproduction* (p. 1983). Raven Press.
- Fuentes, N., & Silveyra, P. (2019). Estrogen receptor signaling mechanisms. *Advances in protein chemistry and structural biology*, 116, 135–170.
<https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.01.001>
- Fukami, M., & Ogata, T. (2022). Congenital disorders of estrogen biosynthesis and action. *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism*, 36(1), 101580.
<https://doi.org/10.1016/j.beem.2021.101580>
- Furness, J. B. (2015). Chapter 4—Peripheral Autonomic Nervous System. En G. Paxinos (Ed.), *The Rat Nervous System (Fourth Edition)* (pp. 61–76). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374245-2.00004-8>

- Gaytán, F., Bellido, C., Morales, C., & Sánchez-Criado, J. E. (2001). Luteolytic Effect of Prolactin Is Dependent on the Degree of Differentiation of Luteal Cells in the Rat1. *Biology of Reproduction*, *65*(2), 433–441. <https://doi.org/10.1095/biolreprod65.2.433>
- Goldman, J. M., Murr, A. S., & Cooper, R. L. (2007). The rodent estrous cycle: Characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Research. Part B, Developmental and Reproductive Toxicology*, *80*(2), 84–97. <https://doi.org/10.1002/bdrb.20106>
- González-García, I., García-Clavé, E., Cebrian-Serrano, A., Thuc, O. L., Contreras, R. E., Xu, Y., Gruber, T., Schriever, S. C., Legutko, B., Lintelmann, J., Adamski, J., Wurst, W., Müller, T. D., Woods, S. C., Pfluger, P. T., Tschöp, M. H., Fissette, A., & García-Cáceres, C. (2023). Estradiol regulates leptin sensitivity to control feeding via hypothalamic Cited1. *Cell Metabolism*, *35*(3), 438–455.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2023.02.004>
- Gorski, J., & Gannon, F. (1976). Current Models of Steroid Hormone Action: A Critique. *Annual Review of Physiology*, *38*(Volume 38, 1976), 425–450. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.38.030176.002233>
- Goto, Y., Suzuki, K., Ono, T., Sasaki, M., & Toyota, T. (1988). Development of diabetes in the non-obese NIDDM rat (GK rat). *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *246*, 29–31. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5616-5_4
- Hamid, H. Y., & Zakaria, M. Z. A. B. (2013). Reproductive characteristics of the female laboratory rat. *African Journal of Biotechnology*, *12*(19), 2510–2514. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2046>
- Hamilton, K. J., Hewitt, S. C., Arao, Y., & Korach, K. S. (2017). Estrogen Hormone Biology. *Current Topics in Developmental Biology*, *125*, 109–146. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2016.12.005>
- Hill, C. E., Hendry, I. A., & Sheppard, A. (1987). Use of the fluorescent dye, Fast blue, to label sympathetic postganglionic neurones supplying mesenteric arteries and enteric

- neurones of the rat. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 18(1), 73–82.
[https://doi.org/10.1016/0165-1838\(87\)90136-6](https://doi.org/10.1016/0165-1838(87)90136-6)
- Hilton, G. D., Ndubuizu, A. N., & McCarthy, M. M. (2004). Neuroprotective effects of estradiol in newborn female rat hippocampus. *Developmental Brain Research*, 150(2), 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.devbrainres.2004.03.006>
- Hu, J., Zhang, Z., Shen, W.-J., & Azhar, S. (2010). Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones. *Nutrition & Metabolism*, 7, 47. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-7-47>
- Huilgol, D., & Tole, S. (2016). Cell migration in the developing rodent olfactory system. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 73(13), 2467–2490.
<https://doi.org/10.1007/s00018-016-2172-7>
- Ikeda, H., West, D. B., Pustek, J. J., Figlewicz, D. P., Greenwood, M. R., Porte, D., & Woods, S. C. (1986). Intraventricular insulin reduces food intake and body weight of lean but not obese Zucker rats. *Appetite*, 7(4), 381–386.
[https://doi.org/10.1016/s0195-6663\(86\)80006-x](https://doi.org/10.1016/s0195-6663(86)80006-x)
- Jänig, W. (2006). *Integrative Action of the Autonomic Nervous System: Neurobiology of Homeostasis*. Cambridge University Press.
<https://doi.org/10.1017/CBO9780511541667>
- Jasuja, R., Spencer, D., Jayaraj, A., Peng, L., Krishna, M., Lawney, B., Patel, P., Jayaram, B., Thayer, K. M., Beveridge, D. L., & Bhasin, S. (2021). Estradiol induces allosteric coupling and partitioning of sex-hormone-binding globulin monomers among conformational states. *iScience*, 24(6). <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102414>
- Jensen, E. V., & Jacobson, H. I. (1960). Fate of Steroid Estrogens in Target Tissues¹. In G. Pincus & E. P. Vollmer (Eds.), *Biological Activities of Steroids in Relation to Cancer* (pp. 161–178). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4832-2866-2.50015-5>
- Johnson, P. R., Stern, J. S., Greenwood, M. R., & Hirsch, J. (1978). Adipose tissue hyperplasia and hyperinsulinemia on Zucker obese female rats: A developmental

- study. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 27(12 Suppl 2), 1941–1954.
[https://doi.org/10.1016/s0026-0495\(78\)80011-0](https://doi.org/10.1016/s0026-0495(78)80011-0)
- Karsch, F. J. (1984). The hypothalamus and anterior pituitary gland. En C. R. Austin & R. V. Short (Eds.), *Reproduction in Mammals: Volume 3: Hormonal Control of Reproduction* (2a ed., Vol. 3, pp. 1–20). Cambridge University Press.
<https://doi.org/10.1017/CBO9781139167727.004>
- Kieffer, T. J., Heller, R. S., Leech, C. A., Holz, G. G., & Habener, J. F. (1997). Leptin suppression of insulin secretion by the activation of ATP-sensitive K⁺ channels in pancreatic beta-cells. *Diabetes*, 46(6), 1087–1093.
<https://doi.org/10.2337/diab.46.6.1087>
- Kovats, S. (2015). Estrogen receptors regulate innate immune cells and signaling pathways. *Cellular Immunology*, 294(2), 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2015.01.018>
- Krizsan-Agbas, D., & Smith, P. G. (2002). Estrogen modulates myometrium-induced sympathetic neurite formation through actions on target and ganglion. *Neuroscience*, 114(2), 339–347. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(02\)00262-2](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(02)00262-2)
- Kuiper, Carlsson, B., Grandien, K., Enmark, E., Häggblad, J., Nilsson, S., & Gustafsson, J.-Å. (1997). Comparison of the Ligand Binding Specificity and Transcript Tissue Distribution of Estrogen Receptors α and β . *Endocrinology*, 138(3), 863–870.
<https://doi.org/10.1210/endo.138.3.4979>
- Kuiper, Enmark, E., Peltö-Huikko, M., Nilsson, S., & Gustafsson, J. A. (1996). Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(12), 5925–5930.
- Laboratorio, C. para la A. de la G. para el C. y U. de A. de, & Studies, I. for L. A. R. D. on E. and L. (2017). *Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio: Octava Edición* (1a ed.). Ediciones UC. <https://doi.org/10.2307/j.ctt20fw832>
- Lee, S. C., Hairi, N. N., & Moy, F. M. (2016). Metabolic syndrome among non-obese adults in the teaching profession in Melaka, Malaysia. *Journal of Epidemiology*, 27(3), 130–134. <https://doi.org/10.1016/j.je.2016.10.006>

- Levin, B., Dunn-Meynell, A. A., Balkan, B., & Keeseey, R. E. (1997). Selective breeding for diet-induced obesity and resistance in Sprague-Dawley rats. *The American Journal of Physiology*, 273(2 Pt 2), R725-730.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.1997.273.2.R725>
- Liang, Y., & Yao, S. (2016). Potential role of estrogen in maintaining the imbalanced sympathetic and sensory innervation in endometriosis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 424, 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.01.012>
- Linares, R., Hernández, D., Morán, C., Chavira, R., Cárdenas, M., Domínguez, R., & Morales-Ledesma, L. (2013). Unilateral or bilateral vagotomy induces ovulation in both ovaries of rats with polycystic ovarian syndrome. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 11(1), 68. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-11-68>
- Lohmiller, J. J., Swing, S. P., & Hanson, M. M. (2020). Chapter 6—Reproduction and Breeding. En M. A. Suckow, F. C. Hankenson, R. P. Wilson, & P. L. Foley (Eds.), *The Laboratory Rat (Third Edition)* (pp. 157–179). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814338-4.00006-4>
- Lostao, M. P., Urdaneta, E., Martínez-Ansó, E., Barber, A., & Martínez, J. A. (1998). Presence of leptin receptors in rat small intestine and leptin effect on sugar absorption. *FEBS Letters*, 423(3), 302–306. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)00110-0](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)00110-0)
- MacCorquodale, D. W., Thayer, S. A., & Doisy, E. A. (1936). THE ISOLATION OF THE PRINCIPAL ESTROGENIC SUBSTANCE OF LIQUOR FOLLICULI. *Journal of Biological Chemistry*, 115(2), 435–448. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)74725-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)74725-X)
- Maeda, K., Ohkura, S., & Tsukamura, H. (2000). Physiology of reproduction. En G. J. Krinke (Ed.), *The Laboratory Rat* (1st ed., pp. 145–176). Academic Press.
- Marcondes, F. K., Bianchi, F. J., & Tanno, A. P. (2002). Determination of the estrous cycle phases of rats: Some helpful considerations. *Brazilian Journal of Biology*, 62, 609–614. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842002000400008>

- McArdle, C. A., & Roberson, M. S. (2015). Chapter 10—Gonadotropes and Gonadotropin-Releasing Hormone Signaling. En T. M. Plant & A. J. Zeleznik (Eds.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Fourth Edition)* (pp. 335–397). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397175-3.00010-7>
- McKenna, N. J. (2015). Chapter 9—Gonadal Steroid Action. En T. M. Plant & A. J. Zeleznik (Eds.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Fourth Edition)* (pp. 313–333). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397175-3.00009-0>
- Melnyk, S., & Hakkak, R. (2022). Metabolic Status of Lean and Obese Zucker Rats Based on Untargeted and Targeted Metabolomics Analysis of Serum. *Biomedicines*, *10*(1), 153. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10010153>
- Méndez-Reséndiz, K. A., Enciso-Pablo, Ó., González-Ramírez, R., Juárez-Contreras, R., Rosenbaum, T., & Morales-Lázaro, S. L. (2020). Steroids and TRP Channels: A Close Relationship. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(11), 3819. <https://doi.org/10.3390/ijms21113819>
- Miller, S. M., Schmalz, P. F., Benarroch, E. E., & Szurszewski, J. H. (1999). Leptin receptor immunoreactivity in sympathetic prevertebral ganglion neurons of mouse and rat. *Neuroscience Letters*, *265*(2), 75–78. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(99\)00215-3](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(99)00215-3)
- Morán, C., Franco, A., Morán, J. L., Handal, A., Morales, L., & Domínguez, R. (2005). Neural activity between ovaries and the prevertebral celiac-superior mesenteric ganglia varies during the estrous cycle of the rat. *Endocrine*, *26*(2), 147–152. <https://doi.org/10.1385/ENDO:26:2:147>
- Morán, C., Zarate, F., Morán, J. L., Handal, A., & Domínguez, R. (2009). Lateralization of the connections of the ovary to the celiac ganglia in juvenile rats. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *7*(1), 50. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-7-50>
- Muoio, D. M., & Lynis Dohm, G. (2002). Peripheral metabolic actions of leptin. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, *16*(4), 653–666. <https://doi.org/10.1053/beem.2002.0223>

- Olson, S. H., Bandera, E. V., & Orlow, I. (2007). Variants in estrogen biosynthesis genes, sex steroid hormone levels, and endometrial cancer: A HuGE review. *American Journal of Epidemiology*, *165*(3), 235–245. <https://doi.org/10.1093/aje/kwk015>
- Otto, G. M., Franklin, C. L., & Clifford, C. B. (2015). Chapter 4—Biology and Diseases of Rats. En J. G. Fox, L. C. Anderson, G. M. Otto, K. R. Pritchett-Corning, & M. T. Whary (Eds.), *Laboratory Animal Medicine (Third Edition)* (pp. 151–207). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409527-4.00004-3>
- Owens, D. R. (2006). Chapter 23—Spontaneous, Surgically and Chemically Induced Models of Disease. En M. A. Suckow, S. H. Weisbroth, & C. L. Franklin (Eds.), *The Laboratory Rat (Second Edition)* (pp. 711–732). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-074903-4/50026-1>
- Paccola, C. C., Resende, G. C., Stumpp, T., Miraglia, S. M., & Cipriano, I. (2013). The rat estrous cycle revisited: A quantitative and qualitative analysis. *Animal Reproduction*, *10*(4), Article 4.
- Paech, K., Webb, P., Kuiper, G. G., Nilsson, S., Gustafsson, J., Kushner, P. J., & Scanlan, T. S. (1997). Differential ligand activation of estrogen receptors ERalpha and ERbeta at AP1 sites. *Science (New York, N.Y.)*, *277*(5331), 1508–1510. <https://doi.org/10.1126/science.277.5331.1508>
- Pastelín, C. F., Rivera-Castro, M. E., Mirto-Aguilar, N., & Moran, C. (2023). Structural organization of the neuronal pathways of the superior ovarian nerve in the rat. *Journal of Ovarian Research*, *16*(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s13048-023-01109-1>
- Pastelín, C. F., Rosas, N. H., Morales-Ledesma, L., Linares, R., Domínguez, R., & Morán, C. (2017). Anatomical organization and neural pathways of the ovarian plexus nerve in rats. *Journal of Ovarian Research*, *10*(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s13048-017-0311-x>
- Pelantová, H., Tomášová, P., Šedivá, B., Neprašová, B., Mráziková, L., Kuneš, J., Železná, B., Maletínská, L., & Kuzma, M. (2023). Metabolomic Study of Aging in fa/fa Rats:

- Multiplatform Urine and Serum Analysis. *Metabolites*, 13(4), 552.
<https://doi.org/10.3390/metabo13040552>
- Peluso, J. J. (1992). Morphologic and physiologic features of the ovary. En U. Mohr, D. L. Dungworth, & C. C. Capen (Eds.), *Pathobiology of the Aging Rat* (pp. 337–349). ILSI Press.
- Peters, G. A., & Khan, S. A. (1999). Estrogen Receptor Domains E and F: Role in Dimerization and Interaction with Coactivator RIP-140. *Molecular Endocrinology*, 13(2), 286–296. <https://doi.org/10.1210/mend.13.2.0244>
- Pfaus, J. G., Jones, S. L., Flanagan-Cato, L. M., & Blaustein, J. D. (2015). Chapter 50—Female Sexual Behavior. En T. M. Plant & A. J. Zeleznik (Eds.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Fourth Edition)* (pp. 2287–2370). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397175-3.00050-8>
- Puga y Colmenares León, M. C., Trujillo-Hernández, A., Castelán, F., & Xochitemol-Nava, M. (2025). Obesity, ovarian GLUT4 expression, and reproductive dysfunction: Insights from Zucker fatty rat. *Reproductive Biology*, 25(2), 101025.
<https://doi.org/10.1016/j.repbio.2025.101025>
- Quinson, N., Robbins, H. L., Clark, M. J., & Furness, J. B. (2001). Locations and Innervation of Cell Bodies of Sympathetic Neurons Projecting to the Gastrointestinal Tract in the Rat. *Archives of Histology and Cytology*, 64(3), 281–294.
<https://doi.org/10.1679/aohc.64.281>
- Raisman, G. (1997). An urge to explain the incomprehensible: Geoffrey Harris and the discovery of the neural control of the pituitary gland. *Annual Review of Neuroscience*, 20, 533–566. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.20.1.533>
- Rivera-Castro, M. E., Pastelín, C. F., Bravo-Benítez, J., & Morán, C. (2023). Organization of the Subdiaphragmatic Vagus Nerve and Its Connection with the Celiac Plexus and the Ovaries in the Female Rat. *Brain Sciences*, 13(7), 1032.
<https://doi.org/10.3390/brainsci13071032>

- Rosas, G., Linares, R., Ramírez, D. A., Vieyra, E., Trujillo, A., Domínguez, R., & Morales-Ledesma, L. (2018). The Neural Signals of the Superior Ovarian Nerve Modulate in an Asymmetric Way the Ovarian Steroidogenic Response to the Vasoactive Intestinal Peptide. *Frontiers in Physiology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01142>
- Russell, J. K., Jones, C. K., & Newhouse, P. A. (2019). The Role of Estrogen in Brain and Cognitive Aging. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental Neurotherapeutics*, *16*(3), 649–665. <https://doi.org/10.1007/s13311-019-00766-9>
- Saiduddin, S., Bray, G. A., York, D. A., & Swerdloff, R. S. (1973). Reproductive function in the genetically obese “fatty” rat. *Endocrinology*, *93*(6), 1251–1256. <https://doi.org/10.1210/endo-93-6-1251>
- Saleh, T. M., & Connell, B. J. (2000). 17beta-estradiol modulates baroreflex sensitivity and autonomic tone of female rats. *Journal of the Autonomic Nervous System*, *80*(3), 148–161. [https://doi.org/10.1016/s0165-1838\(00\)00087-4](https://doi.org/10.1016/s0165-1838(00)00087-4)
- Sar, M., & Welsch, F. (1999). Differential expression of estrogen receptor-beta and estrogen receptor-alpha in the rat ovary. *Endocrinology*, *140*(2), 963–971. <https://doi.org/10.1210/endo.140.2.6533>
- Sato, J., Nasu, M., & Tsuchitani, M. (2016). Comparative histopathology of the estrous or menstrual cycle in laboratory animals. *Journal of Toxicologic Pathology*, *29*(3), 155–162. <https://doi.org/10.1293/tox.2016-0021>
- Sato, T., Miyagawa, S., & Iguchi, T. (2016). Subchapter 94G - Estradiol-17β. En Y. Takei, H. Ando, & K. Tsutsui (Eds.), *Handbook of Hormones* (pp. 520-e94G-4). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801028-0.00226-9>
- Sbrini, G., Mutti, V., Bono, F., Tomasoni, Z., Fadel, D., Missale, C., & Fiorentini, C. (2024). 17-β-estradiol potentiates the neurotrophic and neuroprotective effects mediated by the dopamine D3/acetylcholine nicotinic receptor heteromer in dopaminergic neurons. *European Journal of Pharmacology*, *976*, 176678. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2024.176678>

- Sherman, M. E. (2000). Theories of endometrial carcinogenesis: A multidisciplinary approach. *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 13(3), 295–308.
<https://doi.org/10.1038/modpathol.3880051>
- Shi, T. H., Wang, B., & Natarajan, S. (2020). The Influence of Metabolic Syndrome in Predicting Mortality Risk Among US Adults: Importance of Metabolic Syndrome Even in Adults With Normal Weight. *Preventing Chronic Disease*, 17, E36.
<https://doi.org/10.5888/pcd17.200020>
- Shughrue, P. J., Lubahn, D. B., Negro-Vilar, A., Korach, K. S., & Merchenthaler, I. (1997). Responses in the brain of estrogen receptor α -disrupted mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(20), 11008–11012.
- Silveira, F., Aiceles, V., & Fonte Ramos, C. da. (2013). Leptin regulates gonadotropins and steroid receptors in the rats ovary. *Nutrición Hospitalaria*, 28(1), 164–168.
<https://doi.org/10.3305/nh.2013.28.1.6072>
- Simpson, K. A., Martin, N. M., & Bloom, S. R. (2009). Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications. *Arquivos Brasileiros De Endocrinologia E Metabologia*, 53(2), 120–128. <https://doi.org/10.1590/s0004-27302009000200002>
- Snyder, J. M., Hagan, C. E., Bolon, B., & Keene, C. D. (2018). 20—Nervous System. En P. M. Treuting, S. M. Dintzis, & K. S. Montine (Eds.), *Comparative Anatomy and Histology (Second Edition)* (pp. 403–444). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802900-8.00020-8>
- Stegers-Theunissen, R. P. M., Wiegel, R. E., Jansen, P. W., Laven, J. S. E., & Sinclair, K. D. (2020). Polycystic Ovary Syndrome: A Brain Disorder Characterized by Eating Problems Originating during Puberty and Adolescence. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21), 8211. <https://doi.org/10.3390/ijms21218211>

- Suzuki, S., & Handa, R. J. (2004). Regulation of estrogen receptor-beta expression in the female rat hypothalamus: Differential effects of dexamethasone and estradiol. *Endocrinology*, *145*(8), 3658–3670. <https://doi.org/10.1210/en.2003-1688>
- Tammasse, I. F. U. (2023). Different of Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in Male and Female. *Reproductive Medicine International*, *6*(1), 23. <https://doi.org/10.23937/2643-4555/1710023>
- Tartaglia, L. A., Dembski, M., Weng, X., Deng, N., Culpepper, J., Devos, R., Richards, G. J., Campfield, L. A., Clark, F. T., Deeds, J., Muir, C., Sanker, S., Moriarty, A., Moore, K. J., Smutko, J. S., Mays, G. G., Wool, E. A., Monroe, C. A., & Tepper, R. I. (1995). Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell*, *83*(7), 1263–1271. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90151-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90151-5)
- Thaisetthawatkul, P., & Dyck, P. J. B. (2020). Chapter 9—Cervical and lumbosacral radiculoplexus neuropathies. En Y. A. Rajabally (Ed.), *Dysimmune Neuropathies* (pp. 199–223). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814572-2.00009-1>
- Tsutsui, K. (2008). Progesterone biosynthesis and action in the developing neuron. *Endocrinology*, *149*(6), 2757–2761. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1592>
- Wang, N., Luo, L.-L., Xu, J.-J., Xu, M.-Y., Zhang, X.-M., Zhou, X.-L., Liu, W.-J., & Fu, Y.-C. (2014). Obesity accelerates ovarian follicle development and follicle loss in rats. *Metabolism*, *63*(1), 94–103. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2013.09.001>
- Wang, Z.-P., Hua, M., Jiu, T., Ge, R.-L., & Bai, Z. (2022). Biofunctional roles of estrogen in coronavirus disease 2019: Beyond a steroid hormone. *Frontiers in Pharmacology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1003469>
- Weigt, C., Hertrampf, T., Flenker, U., Hülsemann, F., Kurnaz, P., Fritzeimer, K. H., & Diel, P. (2015). Effects of estradiol, estrogen receptor subtype-selective agonists and genistein on glucose metabolism in leptin resistant female Zucker diabetic fatty (ZDF) rats. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, *154*, 12–22. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.06.002>

- Wu, J. M., Zelinski, M. B., Ingram, D. K., & Ottinger, M. A. (2005). Ovarian aging and menopause: Current theories, hypotheses, and research models. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 230(11), 818–828.
<https://doi.org/10.1177/153537020523001106>
- Xie, Y., Xiao, L., & Li, S. (2021). Effects of Metformin on Reproductive, Endocrine, and Metabolic Characteristics of Female Offspring in a Rat Model of Letrozole-Induced Polycystic Ovarian Syndrome With Insulin Resistance. *Frontiers in Endocrinology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.701590>
- Yamamoto, K. R. (1985). STEROID RECEPTOR REGULATED TRANSCRIPTION OF SPECIFIC GENES AND GENE NETWORKS. *Annual Review of Genetics*, 19(Volume 19, 1985), 209–252.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ge.19.120185.001233>
- Yasin, M., Dalkin, A. C., Haisenleder, D. J., Kerrigan, J. R., & Marshall, J. C. (1995). Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) pulse pattern regulates GnRH receptor gene expression: Augmentation by estradiol. *Endocrinology*, 136(4), 1559–1564.
<https://doi.org/10.1210/endo.136.4.7895666>
- Yin, C., Kang, L., Lai, C., Zhou, J., Shi, B., Zhang, L., & Chen, H. (2017). Effects of 17 β -estradiol on leptin signaling in anterior pituitary of ovariectomized rats. *Experimental Animals*, 66(2), 159–166. <https://doi.org/10.1538/expanim.16-0087>
- Yoshida, M., Sanbuissyo, A., Hisada, S., Takahashi, M., Ohno, Y., & Nishikawa, A. (2009). Morphological characterization of the ovary under normal cycling in rats and its viewpoints of ovarian toxicity detection. *The Journal of Toxicological Sciences*, 34(Special), SP189–SP197. <https://doi.org/10.2131/jts.34.S189>
- Zoubina, E. V., Mize, A. L., Alper, R. H., & Smith, P. G. (2001). Acute and chronic estrogen supplementation decreases uterine sympathetic innervation in ovariectomized adult virgin rats. *Histology and Histopathology*, 16(4), 989–996.
<https://doi.org/10.14670/HH-16.989>

- Zoubina, E. V., & Smith, P. G. (2002). Distributions of estrogen receptors alpha and beta in sympathetic neurons of female rats: Enriched expression by uterine innervation. *Journal of Neurobiology*, 52(1), 14–23. <https://doi.org/10.1002/neu.10064>
- Zoubina, E. V., & Smith, P. G. (2003). Expression of estrogen receptors alpha and beta by sympathetic ganglion neurons projecting to the proximal urethra of female rats. *The Journal of Urology*, 169(1), 382–385. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(05\)64132-8](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(05)64132-8)
- Zucker, L. M., & Antoniades, H. N. (1972). Insulin and obesity in the Zucker genetically obese rat “fatty”. *Endocrinology*, 90(5), 1320–1330. <https://doi.org/10.1210/endo-90-5-1320>
- Zucker, L. M., & Zucker, T. F. (1961). Fatty, a new mutation in the rat. *Journal of Heredity*, 52(6), 275–278. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a107093>