

00343
17



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**ESTRUCTURA HISTOLÓGICA Y
MORFOGÉNESIS DE LA PLACENTA EN EL
MURCIÉLAGO *Corynorhinus mexicanus*
(CHIROPTERA: VESPERTILIONIDAE)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE ACADÉMICO DE

MAESTRA EN CIENCIAS (Biología Animal)

P R E S E N T A

MARÍA GUADALUPE SÁNCHEZ HERNÁNDEZ

DIRECTORA DE TESIS: DRA. MARIA DEL CARMEN URIBE ARANZÁBAL



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
II.1 Características de la placenta de mamíferos	4
II.1.a. Por el tipo de anexo embrionario que se une al tejido materno.	5
II.1.b. Por la distribución de las vellosidades coriónicas	6
II.1.c. Por la relación del córion con el tejido materno	6
II.2. Generalidades de la placenta en quirópteros	8
II.3. Características generales de la placenta en murciélagos de la Familia Vespertilionidae	10
II.3.a. Placentación durante la implantación	11
II.3.b. Placentación durante la gastrulación y neurulación	12
II.3.c. Placentación durante la embriogénesis	12
III. ANTECEDENTES	13
III.1. Características reproductivas de la Familia Vespertilionidae	13
III.2. Clasificación de <i>Corynorhinus mexicanus</i>	13
III.3. Diagnósis de <i>Corynorhinus mexicanus</i>	14
III.4. Distribución de <i>Corynorhinus mexicanu</i>	14
III.5. Ontogenia y reproducción de <i>Corynorhinus mexicanus</i>	14
III.6. Area de estudio	15

IV. OBJETIVOS	17
IV.1. Objetivo general	17
IV.2. Objetivos particulares	17
V. METODOLOGÍA	18
VI. RESULTADOS	22
VI.1. Características histológicas del útero no gestante	22
VI.2. Características histológicas de la placenta durante la etapa temprana de gestación	23
VI.2.a. Etapa de gastrulación.	23
VI.2.b. Etapa de néurulación	24
VI.2.c. Etapa de primordio de extremidades anteriores	25
VI.3. Características histológicas de la placenta durante la etapa avanzada de gestación	26
VI.4. Características histológicas de la zona paraplacentaria.	27
VII. DISCUSIÓN	41
VII.1. Etapa de disco embrionario	42
VII.2. Etapa de néurula	45
VII.3. Etapa de primordios de extremidades anteriores	46
VII.4. Etapa avanzada de desarrollo embrionario	47
VII.5. Zona paraplacentaria	48
VIII. CONCLUSIONES	49
IX. LITERATURA CITADA	52

I. RESUMEN

La placentación ha sido ampliamente estudiada en algunas especies de murciélagos. Sin embargo, el estudio del desarrollo placentario en especies endémicas de México es escaso. En particular no se ha realizado ningún estudio sobre placentación en *Corynorhinus mexicanus*.

C. mexicanus es una especie que habita en las partes altas y húmedas de la Sierra Madre Oriental, el Eje Volcánico Transverso y la Sierra Madre Occidental. El periodo de cópula es de octubre a enero, la ovulación es retardada presentándose después del periodo de torpor, la gestación tiene una duración de dos meses, febrero y marzo.

El objetivo de este trabajo es analizar la estructura histológica y la morfogénesis de la placenta en *C. mexicanus*. Se colectaron 15 hembras, 9 gestantes y 6 no gestantes; en la localidad conocida como "El Túnel" en Tlaxco, Tlaxcala, México, durante el periodo comprendido entre febrero de 1997 a marzo de 1999. Se disecaron los cuernos uterinos y procesaron con técnicas histológicas, para teñirse con: Hematoxilina-Eosina, PAS (Reacción ácido peryódico-Schiff), tricrómica de Masson y azul de toluidina.

Durante el estadio de disco embrionario se desarrolla la placenta coriovitelina, en el polo no embrionario; y se establece la relación endoteliochorial, se forma la substancia intersticial que se localiza entre el trofoblasto y el endotelio de los vasos sanguíneos maternos.

Durante el estadio de neúrcula el endotelio de los vasos sanguíneos maternos se pierde estableciéndose la placenta hemocorial de tipo hemodichorial debido a que el trofoblasto está formado por láminas continuas de citotrofoblasto y sinciotrofoblasto. Se mantiene la relación coriovitelina en el polo no embrionario.

Durante el estadio de primordio de extremidades anteriores, se observan vasos sanguíneos fetales con eritrocitos nucleados, inmersos en abundante tejido conjuntivo fetal y lagunas de sangre materna rodeados por

trofoblasto de dos tipos: una lámina continua de sinciotrofoblasto y una discontinua de citotrofoblasto.

Durante el estadio de embrión a término aumenta el número de vasos sanguíneos fetales y de lagunas sanguíneas maternas y el adelgazamiento de los componentes de la barrera placentaria en relación con la etapa anterior, el trofoblasto se reduce, perdiéndose en algunos lugares el citotrofoblasto.

Se concluye que la placenta es discoidal por la disposición de las vellosidades coriónicas; coriovitelina y corioalantoidea por las membranas fetales que la componen, hemodicorial de acuerdo con el número de capas que componen el trofoblasto y laberintiforme por la posición paralela de las vellosidades corionicas y el tejido materno. La relación materno fetal se establece por el desarrollo de: a) la placenta coriovitelina durante el estado de disco embrionario; b) la placenta corioalantoidea endotelicorial, en el polo embrionario y placenta coriovitelina en el polo no embrionario durante el estado de neúcula y c) la placenta corioalantoidea hemodicorial con el adelgazamiento de los componentes trofoblásticos al final de la gestación.

II. INTRODUCCIÓN

A finales del Paleozoico, los reptiles se adaptan a la vida terrestre por lo que su reproducción muestra cambios, se desarrollan las membranas o anexos embrionarios, involucrados en la reproducción ovípara, esenciales durante el desarrollo de la cría al interior del huevo, ya que comunican los tejidos embrionarios con el exterior.

Los anexos embrionarios son:

- a) el saco vitelino que es una extensión del intestino, contiene vitelo en todos los grupos de vertebrados a excepción de los mamíferos eutherios y pende de la cara ventral del embrión;
- b) el amnios presenta forma de saco que envuelve al embrión, y se encuentra lleno de líquido;
- c) el alantoides es una extensión del intestino posterior en forma de saco que contiene los desechos del metabolismo;
- d) el córion es la capa epitelial periférica del embrión.

El córion, anexo embrionario que se relaciona con el saco vitelino y el alantoides, se une al tejido materno durante la placentación.

En el caso de los reptiles ovíparos el depósito de vitelo permite la circulación de las reservas nutritivas hacia el embrión, por medio de la vesícula vitelina; el alantoides permite la excreción y el intercambio gaseoso a través del cascarón (Guillette, 1987).

Un aspecto de especial significado es la adaptación de los anexos embrionarios a la condición vivípara. La placentación surge cuando el embrión en desarrollo es retenido en el útero, estrechando su relación con el tejido materno, lo que le permite cubrir todas sus necesidades de intercambio metabólico.

Con los reptiles vivíparos se desarrolla la relación feto-materna, a partir de los anexos embrionarios ya presentes en los ovíparos, ya que aunque los mayores requerimientos de nutrientes están en el vitelo se

requiere realizar la filtración de diversos elementos que provienen de la madre, especialmente el intercambio gaseoso y la excreción además de algunos elementos de nutrición entre la madre y la cría, constituyéndose la placenta (Uribe, 1994). En los mamíferos, las reservas vitelinas disminuyen casi en su totalidad, lo que determina el incremento de los intercambios feto-maternos, transformándose ampliamente la placenta.

A partir de la placentación en los mamíferos, se desarrollan formas estructuralmente más complejas, esto implica que los nutrientes necesarios para el embrión, durante toda la gestación, se van a obtener de la sangre materna a través de la placenta.

II.1. CARACTERÍSTICAS DE LA PLACENTA DE MAMÍFEROS.

La placenta se forma a partir de la interacción de los anexos embrionarios con el tejido materno, por lo cual su continuo desarrollo durante la gestación implica constantes transformaciones. Conforme se desarrolla el embrión dentro de la madre sus requerimientos de nutrición, excreción y respiración, también varían, por lo tanto, la placenta es un órgano que cambia en su morfología y fisiología de acuerdo con la etapa de gestación. En consecuencia, la placenta es el resultado de varios grados de interacción entre los tejidos fetales y maternos en el interior del útero, a lo largo de la gestación. En este sentido, el conocimiento de la morfología placentaria, tanto macroscópica como microscópica, es un aspecto básico en la interpretación de procesos fisiológicos, bioquímicos, endocrinológicos e inmunológicos que están determinados por el desarrollo embrionario y fetal (Uribe, 1994).

La placenta está situada en la región exterior del cuerpo del embrión, al cual está conectada por el cordón umbilical, este último contiene los vasos sanguíneos arteriales y venosos que conducen sangre en ambas direcciones: del feto a la madre y de la madre al feto. Amoroso (1961), describe la presencia de 6 capas de tejido entre la sangre fetal y la materna,

dependiendo del tipo de placenta: endotelio de los capilares fetales, tejido conectivo o mesénquima fetal, epitelio coriónico fetal, epitelio uterino, tejido conectivo materno y endotelio de los vasos sanguíneos maternos. El conjunto de estas capas tisulares forma la barrera placentaria o interhemal.

La placenta actúa como una barrera permeable e inmunológica entre la madre y el feto, no es un filtro pasivo, es una estructura activa muy compleja en el paso de las diversas sustancias.

La función primordial de la barrera placentaria es separar las sangres materna y fetal, de manera que se realice el intercambio fisiológico entre ambos fluidos. Para que este intercambio fisiológico sea más eficiente los componentes tisulares de la misma se ven eliminados o adelgazados y esto es más evidente conforme avanza la gestación. Los componentes celulares de la barrera placentaria poseen especializaciones en la superficie que aumentan o expanden el área disponible de adsorción y transporte transepitelial y que facilitan la difusión de diversas sustancias.

La literatura referente a estudios de la placenta de diferentes especies de mamíferos ha sido ampliamente revisada por diversos autores: Grosser (1909), Amoroso (1961) y Steven (1975), definiendo la composición general de la placenta como un órgano muy variado en forma, estructura y función, y coincidiendo en su clasificación. Steven (1975), integra esta clasificación de acuerdo a sus diversos aspectos, estos son:

II.1.a. POR EL TIPO DE ANEXO EMBRIONARIO QUE SE UNE AL TEJIDO MATERNO.

Los tipos placentarios son:

PLACENTA CORIOVITELINA. Se establece por la unión de la vesícula vitelina y el corion al tejido materno, formándose una capa doble entre los tejidos materno y fetal. Este tipo de placenta es transitorio en la mayoría de los mamíferos, observándose sólo durante el inicio de la gestación, pero puede mantenerse hasta el final de la gestación en lagomorfos, marsupiales

y quirópteros (Enders, 1965; Enders y Wimsatt 1968 y Gopalakrishna, 1987).

PLACENTA CORIOALANTOIDEA. Se forma por la unión de la vesícula alantoidea y el corion al tejido materno, formándose una capa doble. Se forma después de la coriovitelina. La presentan la mayoría de los mamíferos, como los equinos, rumiantes, carnívoros, roedores, primates y quirópteros.

II.1.b. POR LA DISTRIBUCIÓN DE LAS VELLOSIDADES CORIÓNICAS (Steven, 1975).

Los tipos placentarios son:

DIFUSA. Las vellosidades se distribuyen por toda la superficie coriónica. Los equinos y artiodáctilos presentan este tipo de placenta.

COTILEDONARIA. Las vellosidades se localizan formando pequeños grupos o cotiledones que se distribuyen en toda la superficie coriónica. Es el caso de los rumiantes.

ZONARIA. Las vellosidades ocupan una o dos áreas anulares formando uno o dos cinturones sobre la superficie coriónica. Ejemplo los carnívoros.

DISCOIDAL. Las vellosidades se localizan en una o dos regiones en forma de disco en la superficie coriónica. Son ejemplos los primates, quirópteros y roedores.

II.1.c. POR LA RELACIÓN DEL CORION CON EL TEJIDO MATERNO.

Los tipos placentarios pueden mostrar solamente un acercamiento de ambos tejidos o bien, la erosión de tejido materno por el tejido fetal, ocurriendo diversos grados de disminución en el número de capas del tejido materno (endometrio), por lo que el tejido fetal se acerca en distinto grado a la sangre materna.

En consecuencia la capacidad erosiva del tejido embrionario disminuye la barrera placentaria de manera diversa en las especies de mamíferos, formando diversos tipos placentarios, estos son:

PLACENTA EPITELIOCORIAL. Es considerada la más superficial. Se relacionan tres capas tisulares y tres fetales. En este tipo de placenta se da la aposición del epitelio uterino y coriónico, sin que se erosione el tejido materno. Se encuentra en equinos.

PLACENTA SINDESMOCORIAL. Ocurre cierto grado de erosión del tejido materno. Se pierde el epitelio uterino, quedando el tejido conjuntivo en contacto con el corion. Se encuentra en los rumiantes.

PLACENTA ENDOTELIOCORIAL. Se pierde el epitelio uterino y el tejido conectivo materno. El endotelio de los vasos sanguíneos maternos está en contacto con el corion. La relación que se establece entre el corion y el endotelio materno produce una reacción entre ambos, por lo cual se secreta una sustancia conocida como sustancia intersticial inerte, que forma una capa que puede quedar reducida a 3 μm de grosor; la membrana o sustancia intersticial toma la forma de una lámina basal engrosada, que se localiza entre el endotelio materno y el trofoblasto. La presentan los carnívoros y algunos quirópteros.

PLACENTA HEMOCORIAL. El corion erosiona todos los tejidos maternos: epitelio uterino, tejido conectivo y endotelio de los vasos sanguíneos, por lo que la sangre materna queda en contacto directo con el corion. El trofoblasto puede presentar variaciones en su estructura, formando dos capas, una externa (sinciotrofoblasto), y una interna (citotrofoblasto), así puede observarse la presencia de una lámina continua de sinciotrofoblasto en la barrera placentaria. Se considera que esto podría regular y controlar que las grandes moléculas atraviesen el sinciotrofoblasto, ya que actúa selectivamente sobre ellas. Este tipo de placenta está presente en quirópteros, sciuridos y roedores.

La placenta hemocorial a su vez se clasifica (Enders, 1965) de acuerdo con las características de las capas que forman el trofoblasto en:

a) HEMOTRICORIAL. Formada por tres capas trofoblásticas: una externa sincicial, una media sincicial (sinciciotrofoblasto) y una interna celular (citotrofoblasto). Ejemplo los roedores.

b) HEMODICORIAL. Formada por dos capas trofoblásticas: una externa sincicial (sinciciotrofoblasto) y una interna celular (citotrofoblasto). Ambas capas permanecen durante toda la gestación. Ejemplo lagomorfos y quirópteros.

c) HEMOMONOCORIAL. Formada por una capa trofoblástica durante la gestación avanzada. Al inicio de la gestación presenta dos capas trofoblásticas: una interna celular (citotrofoblasto), que es discontinua y puede desaparecer y una capa externa sincicial. Ejemplo: los primates.

II.2. GENERALIDADES DE LA PLACENTA EN QUIROPTEROS

La placentación en quirópteros contempla diferentes adaptaciones aún en miembros de una misma familia (Bradshaw, 1962; Bodley, 1974; Rasweiler, 1974 y Bleier, 1975). Por el anexo embrionario que se une al tejido materno, la placenta de los murciélagos es coriovitelina y corioalantoidea, por la disposición de las vellosidades coriónicas es discoidal, por la relación que se establece entre los distintos componentes de la barrera placentaria, es hemocorial o endotelicorial (Rasweiler, 1993; Rasweiler y Badwaik, 1999).

La placenta coriovitelina es la primera en establecerse (aunque es generalmente transitoria, como en *Molossus ater* (Molossidae) (Rasweiler y Badwaik, 1999) o puede permanecer durante toda la gestación como en *Scotophilus wroughtoni* (Gopalakrishna, 1949), posteriormente, se establece la placenta corioalantoidea que es en un principio endotelicorial se convierte en hemocorial (Steven, 1975; Rasweiler y Badwaik, 1999).

El trofoblasto está formado por dos capas: el citotrofoblasto y el sinciciotrofoblasto, pueden estar presentes ambas o solo una de ellas (hemomonocorial o hemodicorial respectivamente) (Rasweiler y Badwaik, 1999).

Conforme avanza la gestación los componentes de la barrera placentaria se reducen en grosor; es decir los componentes fetales citotrofoblasto, sinciotrofoblasto y el tejido conectivo fetal se adelgazan por lo que existe un mayor acercamiento a las lagunas de sangre materna, por ejemplo *Carollia perspicillata* presenta una placenta endoteliochorial, la lámina citotrofoblástica está enormemente adelgazada en algunos sitios y, al final de la gestación, esta capa se pierde y el epitelio coriónico está formado solamente por sinciotrofoblasto. (Wimsatt, 1958; Rasweiler, 1979).

La placenta hemocorial presenta especializaciones, principalmente en la superficie del trofoblasto sincicial, que muestra abundantes prolongaciones citoplásmicas o microvellosidades, aumentando de esta manera la superficie de intercambio (Steven, 1975; Wimsatt y Enders, 1980; Rasweiler y Badwaik, 1999).

M. ater desarrolla un disco placentario corioalantoideo en el cuerno uterino derecho durante el último tercio de gestación, el trofoblasto, que rodea todo el saco coriónico durante su desarrollo es de tipo hemodichorial, posteriormente se reduce a hemomonocorial. La barrera placentaria está compuesta por: a) citotrofoblasto que reviste el laberinto placentario; b) una lámina basal y c) endotelio fetal. Un hecho único en esta especie es la presencia de un "manejo" de vasos sanguíneos que se forman en el endometrio al inicio de la gestación.

El estudio de las membranas fetales y la placentación en *M. ater* ha permitido determinar la posible función de algunos de los componentes de la barrera placentaria, por ejemplo, se observó que el endotelio de los vasos sanguíneos maternos secretan factores que juegan un importante papel en el control del crecimiento trofoblástico temprano, celular o sincicial (Rasweiler y Badwaik, 1999).

Las especies filostómidas *Macrotus californicus*, *Glossophaga soricina*, *Carollia perspicillata* (Rasweiler, 1993) y *Desmodus rotundus* (Wimsatt,

1954), presentan una placenta discoidal, laberintiforme, hemocorial, (hemomonocorial o hemodicorial) y con lámina intrasincicial.

II.3. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA PLACENTA EN MURCIÉLAGOS DE LA FAMILIA VESPERTILIONIDAE.

Sobre el desarrollo de las membranas fetales y el desarrollo placentario en murciélagos de la Familia Vespertilionidae, Gopalakrishna (1949), hace una recopilación del grado de conocimiento en algunas especies, estudiadas: *Vespertilio murinus* (Branca, 1927); *Miniopterus schreibersii* (Kempermann, 1929); *Vesperugo leisleri* (Ramaswami, 1933) y *Myotis lucifugus lucifugus* (Wimsatt, 1945). Sin embargo son escasos los estudios sobre placentación en especies mexicanas de esta familia; Torres-Villaseñor (1996), realiza el primer estudio sobre placentación en las especies mexicanas *Micronycteris megalotis* (Phyllostomatidae) y *Natalus stramineus* (Natalidae). Durante el desarrollo placentario, se establecen de manera gradual tres diferentes tipos de placenta; la relación coriovitelina se establece al inicio de la gestación; posteriormente se establece la placenta corioalantoidea la cual es en un principio endotelicorial y posteriormente se convierte en hemocorial (Gopalakrishna y Karim, 1979; Rasweiler, 1993).

Wimsatt (1945), es pionero en el estudio de las membranas fetales y la placentación del murciélago café *Myotis lucifugus*, describiéndose por vez primera la placenta definitiva en este murciélago como laberíntica y hemodicorial. Posteriormente Enders y Wimsatt (1968, 1971) y Gopalakrishna y Karim (1979), se ocupan nuevamente del desarrollo placentario de esta especie; Cukierski (1987), describe brevemente la barrera placentaria que la constituye: a) el trofoblasto sincicial en contacto con la sangre materna; b) delineando al sinciotrofoblasto está la lámina intrasincicial, que fue inicialmente la membrana basal del endotelio materno; c) una lámina continua de citotrofoblasto que descansa sobre una membrana

basal, d) tejido conectivo fetal y e) endotelio capilar fetal y su membrana basal.

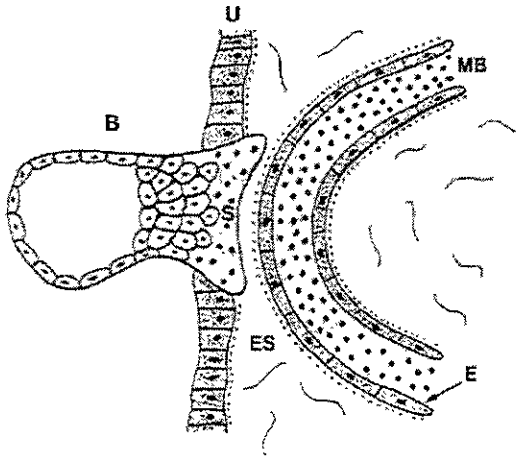
Así mismo en *Miniopterus schreibersii fuliginosus*, especie estudiada por Da Costa (1920), Branca (1927) y Chari y Gopalakrishna (1981,1984), definen una placenta definitiva corioalantoidea, endoteliocorial formada por un disco placentario principal y dos discos accesorios localizados sobre el disco principal, en los cuales el endotelio de los vasos sanguíneos maternos, son rodeados por dos láminas de trofoblasto una externa de sinciotrofoblasto y una interna de citotrofoblasto.

II.3.a. PLACENTACION DURANTE LA IMPLANTACION

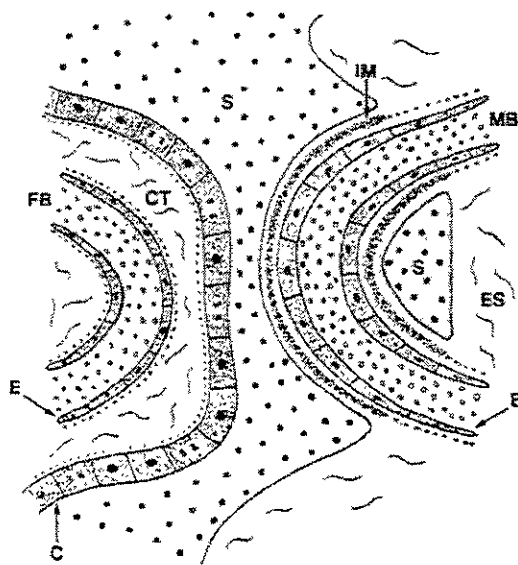
La implantación se da en el cuerno uterino derecho, después de que el embrión, en estado de mórula es transportado al útero, esto se conoce en *Myotis lucifugus* y *Miniopterus schreibersii* (Gopalakrishna y Karim, 1979; Chari y Gopalakrishna, 1984).

Una vez que el blastocisto se ha implantado, se desarrolla el disco embrionario trilaminar, el disco se relaciona con el amnios y el saco vitelino, estructuras extraembrionarias, que están en contacto con el trofoblasto. En este momento el embrión es ventral al amnios por un lado, y es dorsal al saco vitelino por el otro.

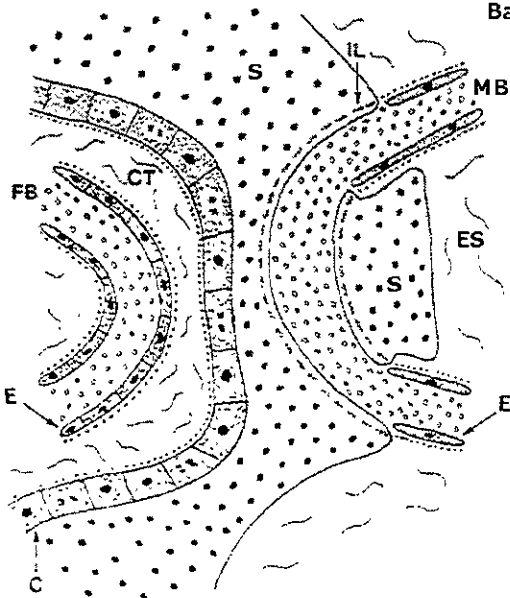
Al inicio de la gestación, durante la implantación, el trofoblasto se divide mitóticamente, penetra el endometrio uterino, forma el trofoblasto (citotrofoblasto); estas células se fusionan y dan lugar al sinciotrofoblasto. Una vez que penetra el trofoblasto rodea el endotelio de los vasos sanguíneos maternos lo que desencadena la reacción del endotelio materno ante la entrada del trofoblasto y da como resultado, la formación de la lámina intersticial entre el endotelio y las células trofoblásticas, y la hipertrofia de las células endoteliales de los vasos sanguíneos maternos; posteriormente la pérdida gradual de las células endoteliales maternas dan inicio al establecimiento de la condición hemocorial (Lámina 1).



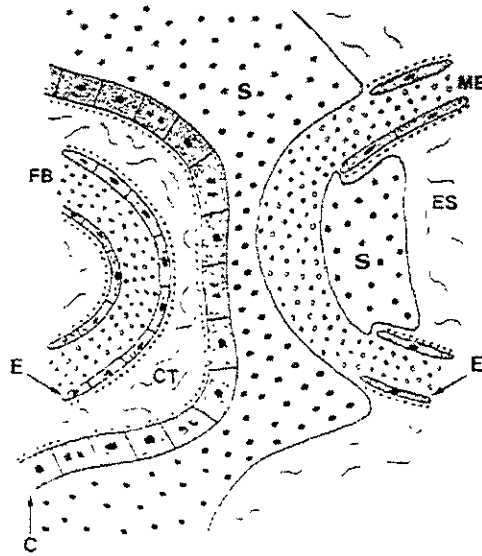
Implantación del blastocisto



Barrera endoteliorial con membrana intersticial



Barrera hemocorial con lámina intrasincicial



Barrera hemocorial

Lámina.1 Representación esquemática del desarrollo placentario en los quirópteros. Tomado de Rasweiler y Badwaik (1999)

A) IMPLANTACIÓN DEL BLASTOCISTO

Se presenta la relación anatómica que se establece entre el blastocisto y el endometrio uterino. El trofoblasto empieza a dividirse mitóticamente una vez que entra en contacto con el epitelio uterino y se forma el sinciotrofoblasto. El trofoblasto rodea el endotelio de los vasos sanguíneos maternos.

B) BARRERA ENDOTELIOCORIAL CON MEMBRANA INTERSTICIAL

Se forma cuando el trofoblasto erosiona el epitelio uterino y el tejido conjuntivo se pone en contacto con el endotelio de los vasos sanguíneos. El acercamiento entre el trofoblasto y el endotelio materno induce a la formación de la *membrana intersticial*; se cree que ambos componentes son los responsables de la formación de la membrana intersticial.

C) BARRERA HEMOCORIAL CON LAMINA INTRASINCICIAL

Se forma cuando se pierde el endotelio de los vasos sanguíneos maternos y el trofoblasto sincicial entra en contacto con la sangre materna. La lámina basal del endotelio materno no se pierde completamente pudiéndose observar como una lámina fragmentada rodeada por sinciotrofoblasto.

D) BARRERA HEMOCORIAL

Se forma cuando se pierde el endotelio de los vasos sanguíneos maternos y el trofoblasto entra en contacto con la sangre materna. El trofoblasto puede estar formado por dos láminas, una interna de citotrofoblasto y una externa de sinciotrofoblasto, o por una de ellas.

MB, sangre materna; **S**, sinciotrofoblasto; **ES**, Estroma; **E**, endotelio; **U**, endometrio uterino; **B**, blastocisto; **IL**, lamina intrasincicial; **CT**, tejido conectivo fetal; **C**, citotrofoblasto; **FB**, sangre fetal; **IM**, membrana intersticial.

II.3.b. PLACENTACIÓN DURANTE LA GASTRULACION Y NEURULACION

La siguiente etapa del desarrollo embrionario corresponde a la formación de las tres capas embrionarias y la formación del tubo neural. Primero el mesodermo forma mesénquima que se extiende lateralmente, rodea las estructuras extraembrionarias: amnios, saco vitelino y trofoblasto. El trofoblasto es recubierto internamente, lo que da lugar a una doble capa formada por mesénquima extraembrionario y trofoblasto. Durante esta etapa el mesénquima se vasculariza. El trofoblasto ha invadido el endometrio y rodea los vasos sanguíneos maternos. El mesénquima se extiende también por las paredes laterales del saco vitelino, en consecuencia, el saco vitelino queda formado por una capa bilaminar de endodermo y mesodermo extraembrionario. La placenta coriovitelina se vasculariza (Chari y Gopalakrishna, 1984; Wimsatt y Enders, 1980). En esta etapa los eritrocitos fetales son nucleados.

II.3.c. PLACENTACION DURANTE LA EMBRIOGENESIS

Una vez que el tubo neural cerró, se inicia el desarrollo alantoideo, este se observa apenas como una masa de células que se origina en el intestino posterior del embrión. Con el crecimiento del alantoides se extiende el exoceloma causando a su vez la obliteración de la placenta coriovitelina.

Cuando se establece la placenta corioalantoidea definitiva en los murciélagos vespertiliónidos, el trofoblasto forma una complicada red de columnas laberínticas que encierra lagunas con sangre materna y entre éstas columnas se encuentran mesénquima alantoideo y vasos sanguíneos fetales. En Este momento los eritrocitos de la sangre fetal son anucleados.

La barrera placentaria corioalantoidea que separa la sangre fetal y la materna está formada únicamente por componentes de origen fetal, ya que no hay remanentes del tejido materno entre el tejido fetal y la sangre

materna por: a) una capa delgada de sinciotrofoblasto, b) citotrofoblasto, c) mesénquima alantoideo y d) endotelio fetal (Chari y Gopalakrishna, 1984).

III. ANTECEDENTES

III.1. CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS DE LA FAMILIA VESPERTILIONIDAE.

Las especies estudiadas de la familia Vespertilionidae que corresponden al género *Myotis* habitan en ambientes templados son monoéstricas y estacionales. Principalmente se alimentan de insectos pero, cuando la disponibilidad de estos disminuye, durante los meses fríos del año, el ciclo reproductor se interrumpe y los murciélagos entran en un estado de torpor o hibernación (Rowlands y Weir, 1984).

El ciclo reproductor se inicia con el estro, al inicio del otoño y se detiene por una baja en el proceso metabólico necesario para la inducción del torpor; la ovulación se retarda hasta que termina el periodo de hibernación o torpor, el cual dura cerca de 5 meses; los espermatozoides que han sobrevivido dentro del lumen uterino a lo largo de la hibernación fertilizan el óvulo recientemente liberado y continua la gestación por cerca de dos meses; naciendo una cría al final de la primavera o principio del verano. (Ver Anexo 1)

III.2. CLASIFICACION DE *Corynorhinus mexicanus*

- ORDEN Chiroptera
- FAMILIA Vespertilionidae
- SUBFAMILIA Vespertilioninae
- GRUPO Plecotini
- GENERO ***Corynorhinus***
- ESPECIE ***C. mexicanus***

III.3. DIAGNOSIS DE *C. mexicanus*

Se le conoce como murciélago de orejas grandes, es de color pardo o castaño en la base del pelo y las puntas son de color canela pálido. El tragus es menor de 15 mm, el cráneo tiene una longitud mayor de 15.9 mm, la bula auditiva es mayor de 4.0 mm, la profundidad de la caja craneana es menor de 5.4 mm, la línea dentaria maxilar, relativamente corta, es mayor de 5.0 mm, el rostro corto tiene una longitud palatal es mayor de 5.2 mm.

III.4. DISTRIBUCIÓN DE *C. mexicanus*

C. mexicanus es una especie endémica de México, habita en zonas elevadas y húmedas de la Sierra Madre Occidental, la Sierra Madre Oriental y el Eje Volcánico Transverso. Este murciélago se localiza en cuevas, grietas y construcciones abandonadas (Handley, 1959; Watkins et al. 1972 y López-Wilchis, 1989), a elevaciones que van de 1460 a 3200 msnm (Handley, 1959).

La especie ha sido registrada para diversos estados de la República Mexicana: Tamaulipas (Mollhagen, 1971); Querétaro (Baumgardner et al. 1977), Coahuila (Wilson, et al. 1985); Tlaxcala (Morales-Malacara y López-Wilchis, 1990); Colima, Hidalgo y Sinaloa (Tumlison, 1991); Cozumel y Yucatán (Koopman, 1974).

III.5. ONTOGENIA Y REPRODUCCIÓN DE *C. mexicanus*

Tumlison (1992), hace la recopilación de datos reproductivos, sobre la especie. Hasta 1992 solo se conocían datos sobre colecta de especímenes, número de hembras gestantes, presencia de embriones y su condición reproductora y lactancia. Investigadores mexicanos reportan datos relacionados con la reproducción de esta especie (López-Wilchis, 1989 y León-Galván y López-Wilchis, 1999). El aparato reproductor femenino de *C. mexicanus*, se caracteriza por un útero bicorne y ovarios relativamente

grandes y encapsulados, presentan asimetría morfológica y funcional, con predominio dextral. Observaciones de López-Wilchis (1989), indican que el cuerno uterino derecho así como el ovario derecho es mayor que el izquierdo; ambos ovarios son funcionales. La implantación, sin embargo, se observó en un 100% dentro del cuerno uterino derecho. El ciclo ovárico se inicia en septiembre, en octubre se observan los folículos en maduración, sin embargo, la ovulación es retardada y se presenta a finales del periodo de hibernación, a finales de diciembre (López-Wilchis, 1989). El tiempo de gestación se estima de dos meses (60 días), y los partos ocurren de mediados de febrero a mediados de mayo, con una cría por parto (López-Wilchis, 1989).

III.6. AREA DE ESTUDIO

Las colectas se realizaron en el estado de Tlaxcala en la localidad conocida como "El Tunel" (Figura I). El sitio se localiza a una altura de 3200 msnm a 39°37'14" latitud N y 98°02'02" longitud W. La localidad se encuentra entre los estados de Puebla y Tlaxcala; a 10 Km este de Tlaxco, Tlaxcala, México.

"El túnel" es una construcción de principio del siglo XX, en línea recta mide 700 m de largo aproximadamente. Presenta un derrumbe en su parte media obstruyéndose el paso de un lado al otro. El túnel esta formado por dos partes: la llamada parte "inundada" y la parte "seca"; en la primera se localiza la colonia de maternidad durante el periodo de gestación y partos; y en la segunda se localizan los murciélagos hibernando.

La población estudiada está presente en diferentes localidades dependiendo de la época del año, de la condición reproductiva y de la disponibilidad de alimento, por citar algunos ejemplos; la cantidad de individuos varía de unos pocos durante el verano a más de 500 a finales del invierno (Morales-Malacara y López-Wilchis, 1990).

La vegetación en los alrededores de "el túnel" esta formada por bosque de pino-encino, presenta estrato arbustivo y estrato herbáceo.

Sin embargo, el área de estudio ha sido fuertemente afectada por la tala inmoderada de árboles y el incremento constante de áreas de cultivo.

IV. OBJETIVOS

IV.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar la estructura, desarrollo y tipo de placenta del murciélago *Corynorhinus mexicanus*.

IV.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Analizar la estructura histológica del útero gestante y compararla con el útero no gestante durante el periodo de estro.
- Describir los componentes histológicos maternos y fetales de la placenta en *C. mexicanus*.
- Definir la presencia de la placenta coriovitelina y su estructura microscópica.
- Definir la presencia de la placenta corioalantoidea y su estructura microscópica.
- Comparar los cambios histológicos de la placenta durante la etapa temprana y avanzada de gestación.

V. METODOLOGIA

Se obtuvieron 15 hembras adultas de la especie *C. mexicanus* durante el periodo comprendido entre febrero de 1997 a marzo de 1999 en el sitio de colecta. Se procedió a realizar las mediciones externas, la condición reproductiva y la etapa del desarrollo placentario de cada ejemplar, las que se presentan en el cuadro 1.

Fecha de colecta	Long. Total	Long. Cola vertebral	Long. Oreja derecha	Long. Pata derecha	peso	Long antebrazo	Cond. Reproductiva	Cond. Embrionaria
23 01 98	106	46	34	6	7.9	43.3	No gestante	-
17 02 97	90	48	30	10	9.9	43.4	Gestación temprana	Primordios de extrem.
17 02 97	94	47	29	10	9.1	42.5	Gestación temprana	Primordios de extrem.
28 02 98	109	51	34	11	8.8	44.0	Gestación temprana	Disco
28 02 98	108	50	37	11	8.7	42.0	Gest. temprana	Neurula
27 02 99	111	53	31	11	--	45.7	Gest. avanzada	Termino
21 03 98	96	43	32	9	9.3	43.5	No gestante	
21 03 98	92	47	27	10	7.3	39.9	Gest. Temprana	Primordios de extrem.
14 03 99	103	46	33.5	10	11.7	43.7	Gest. Avanzada	Termino
14 03 99	103	51	30	12	11.0	43.6	Gest. Avanzada	Termino
27 08 98	101	48	33	10	8.5	43.4	No gestante	-
27 08 98	104	49	32	11	8.2	44.0	No gestante	-
25 10 97	95	28	33	12	9.3	43.3	No gestante	-
29 11 97	108	46	34	10	10.3	44.6	No gestante	-
21 12 97	106	46	29	12	8.9	42.4	No gestante	-

Cuadro N. 1 Características morfométricas de los ejemplares colectados de *C. mexicanus*, su condición reproductiva (no gestante, gestante temprana y gestante avanzada) y la etapa del desarrollo embrionario (disco, néurula, primordio de extremidades anteriores y a termino).

DISECCIÓN

Los ejemplares fueron sacrificados en el sitio de colecta y se disecó el aparato reproductor de cada espécimen: vagina, cuernos uterinos, tubas y ovarios. Los cuernos uterino obtenidos se procesaron para la obtención de preparaciones histológicas aplicando técnicas convencionales (Aguilar, et al. 1996). El procedimiento comprendió las siguientes fases:

FIJACIÓN

El aparato reproductor se fijó inmediatamente en Bouin (Anexo 2). El fijador fue preparado durante cada colecta al momento de hacer la disección.

El tiempo de fijación varió de 8 a 12 horas. Posteriormente los órganos se lavaron en agua corriente (3 lavados muy lentamente), y se procedió a su deshidratación.

DESHIDRATACIÓN Y ACLARACIÓN

Se utilizaron alcoholes graduales (50%, 70%, 80%, 90%, 96%, 100%, Alcohol/ Xilol 1:1) realizando cambios cada 30 min. Posteriormente se aclaró con Xilol por 12hrs o hasta que el órgano tomaba el color caramelo característico.

INCLUSIÓN EN PARAPLAST

La inclusión se hizo con paraplast. Se realizaron los siguientes cambios: xilol/parafina 1:1, Parafina "1" y Parafina "2" cada cambio de 30 min. Y por último la inclusión en paraplast.

De la inclusión se obtienen pequeños cubos que posteriormente se cortan, con un microtomo de rotación, en cortes de 7-9 micras de grosor.

TINCIÓN

Después de obtener los cortes y montarlos en los portaobjetos se procedió a teñirlos con técnicas histológicas convencionales (Aguilar, et al. 1996):

- hematoxilina-eosina (anexo 4)
- tricrómica de Masson (anexo 5)
- PAS (reacción ácido peryódico-schiff) (anexo 6)

INCLUSIÓN EN EPON (Anexo 3)

El siguiente procedimiento se realizó a una porción del disco placentario de una hembra en etapa avanzada de gestación; con el fin de obtener cortes semi-finos. Una vez disectado el aparato reproductor de una hembra en etapa avanzada de gestación, se separó al embrión de la placenta, y se procedió a fijar.

FIJACIÓN

1. El disco placentario se fijó con Karnouski (1965), por una 1 hr.
2. Se lavó con Buffer de cacodilato de sodio (Buffer 0.1 M), por 1hr.
3. Se colocó en tetroxido de osmio 1% por 1 hr.
4. Se lavó tres veces con agua destilada

El disco placentario se seccionó por la mitad; una parte siguió el procedimiento para inclusión en parafina y la otra siguió el procedimiento para inclusión en epon.

DESHIDRATACIÓN

Para realizar la deshidratación del tejido placentario se utilizaron alcoholes graduales llevando el siguiente procedimiento:

5. Dos cambios con alcohol 70%, 80%, 90% y 95%.

6. Dos cambios con alcohol al 100% durante 20' cada uno.
7. Dos cambios con óxido de propileno durante 20' cada uno.

INCLUSION

- | | | |
|----------------------------------|-----|-------|
| 13. EPON-óxido de propileno | 1:1 | 1hr |
| 14. " " " " | 2:1 | 1hr |
| 15. EPON puro (T' según muestra) | | 24 hr |

TINCION

Después de obtener los cortes semi-finos (1.5-3.0 micras), se procedió a teñirlos con azul de toluidina y montarlos en portaobjetos con resina entellan.

VI. RESULTADOS

Corynorhinus mexicanus presenta sólo en el cuerno uterino derecho un embrión durante la gestación. *C. Mexicanus*, un ciclo monoéstrico y estacional que ocurre cuando se observan espermatozoides en la vagina de octubre a finales de enero, el periodo de gestación dura aproximadamente dos meses (febrero y marzo). El aparato reproductor sufre cambios morfológicos e histológicos a lo largo del año dependiendo del momento reproductivo en el que se encuentre.

Se analizó la estructura histológica del cuerno uterino derecho no gestante y gestante, el embrión y la placenta en las etapas temprana y avanzada de gestación del murciélago *C. mexicanus*

VI.1. Características histológicas del útero no gestante.

Se obtuvieron hembras no gestantes, colectadas durante octubre a enero. El endometrio está recubierto hacia la luz por el epitelio uterino formado de células cilíndricas simples; presenta abundantes glándulas exocrinas dentro del tejido conjuntivo ampliamente vascularizado, que desembocan en la luz del útero (Fig. 2.A).

Durante este periodo abundantes espermatozoides, son depositados inmersos en secreciones, formando un paquete que ocupa la luz de la vagina (Fig. 2.B). En la luz del cuerno uterino los espermatozoides, no son tan abundantes como en la vagina, aun se encuentran inmersos en secreciones formando un paquete de menor dimensión. También se observan espermatozoides dentro de las glándulas uterinas con la cabeza orientada hacia el epitelio glandular.

En la periferia se localizan el miometrio y la serosa. El miometrio esta formado de músculo liso que constituye haces gruesos arreglados en sentido circular y longitudinal. La serosa está formada por escaso tejido conjuntivo y epitelio plano simple. Estas dos últimas capas sufren ligeras modificaciones a lo largo de la gestación.

VI.2. Características histológicas durante la etapa temprana de gestación

Los úteros de esta etapa fueron obtenidos durante el mes de febrero.

En la etapa temprana de gestación se observaron embriones en 3 etapas de desarrollo, durante la gastrulación, con la formación del disco embrionario, en neurulación y en etapa temprana del desarrollo de las extremidades anteriores.

VI.2.a. Etapa de gastrulación

Útero. El tejido uterino sufre cambios con respecto al útero no gestante; estos cambios se presentan tanto en el polo embrionario como en el polo no embrionario. Se engruesa la pared del cuerno uterino, por aumento del tejido conjuntivo, también las glándulas aumentaron en el polo no embrionario (Fig. 3.A).

Embrión. En corte transversal del cuerno uterino derecho se observa la luz de forma ovalada, ocupada por el embrión, durante la gastrulación se observa el disco embrionario formado por dos capas de células: el endoblasto y el ectoblasto ambas con gran actividad mitótica (Fig.3.B,C; 5.A). En la región dorsal del embrión se forma el amnios hacia la pared uterina y en la región ventral la vesícula vitelina (Fig. 3.B).

Placenta: La placenta coriovitelina es el primer tipo que se desarrolla en *C. mexicanus*. En el polo no embrionario se da la aposición del saco vitelino con el corion y el tejido endometrial (Fig.3.B). La placenta corioalantoidea se forma en el polo embrionario y hacia los lados de este, es decir, que se forma en casi toda la periferia del lumen del cuerno uterino a excepción del polo no embrionario. El grosor del tejido placentario corioalantoideo, es delgado, aún no se observa la forma de disco que será evidente en etapas más avanzadas. Aunque

esta región es muy delgada, ya se observa al trofoblasto rodeando los vasos sanguíneos maternos inmediatos al epitelio uterino (Fig.4.A).

El trofoblasto muestra proliferación celular formando invaginaciones hacia el tejido uterino (Fig. 3.A), primero penetra la pared uterina en el lado embrionario y continúa hacia los lados, sin rodear completamente la luz del cuerno uterino.

El tejido materno reacciona ante la entrada del trofoblasto secretando la sustancia intersticial de aspecto homogéneo con característica homogénea y acidófila lo que indica su contenido en mucopolisacáridos, se observa como una lámina situada entre el trofoblasto y el endotelio los vasos sanguíneos maternos en los cuales aún se observa el endotelio (Figs.4.A,B,C).

VI.2.b. Etapa de neurulación

Utero. Hacia la luz del útero se proyectan el tejido trofoblástico y los vasos sanguíneos maternos con un arreglo uniforme lo cual da una apariencia de pequeñas ondas sobre la superficie del tejido uterino (Figs.5.B,C). En el polo no embrionario estas pequeñas ondulaciones no se forman, por lo que se conserva una apariencia uniforme (Fig.5.B).

La siguiente capa está formada por una zona donde confluyen los tejidos materno y fetal. En el centro de esta capa, en corte transversal, están presentes grandes vasos sanguíneos maternos, algunas porciones de éstos presentan endotelio y en otras ya está ausente, por lo que en esta etapa se puede identificar la presencia de niveles de placenta endoteliocorial y hemocorial (Fig.5.B).

La siguiente capa la forma la zona glandular en la que se observan grandes espacios que le dan una apariencia parecida a una red. Esta red es más evidente en el polo no embrionario (Fig.5.B). La siguiente capa es el miometrio y por último se observa la serosa .

Embrión. Muestra un estado temprano de neurulación con la formación del surco neural. El embrión ha pasado de ser un disco embrionario en gastrulación, al desarrollo de las tres capas embrionarias fundamentales y del tubo neural (Figs.5.B,C).

El ectodermo presenta varias capas de células densamente teñidas y con mayor afinidad a los colorantes basófilos. El mesodermo embrionario constituye mesénquima, está formado por células irregulares de forma estrellada o fusiforme y escasa substancia intercelular. Por último, se encuentra la tercera lámina embrionaria, el endodermo, mas delgado que el ectodermo (Fig.5.C).

Hacia los lados del embrión se observa el exoceloma y subyacente al endodermo se encuentra el saco vitelino, distribuido ampliamente.

Placenta. Al establecerse la relación materno fetal la placenta en desarrollo presenta cambios que difieren en regiones del útero gestante por lo que mientras que el polo no embrionario aun se mantiene la relación coriovitelina con la aposición entre el corion y la vesícula vitelina al tejido materno; en el polo embrionario ya se observa una relación corioalantoidea endoteliochorial, al establecerse contacto entre el endotelio de los vasos sanguíneos maternos y el trofoblasto (Figs. 6)

Durante esta etapa del desarrollo placentario, la capa más evidente es la zona donde el trofoblasto avanza dentro del endometrio, es decir, la zona de transición en la cual el trofoblasto rodea las lagunas de sangre materna.

VI.2.c. Etapa de primordio de extremidades anteriores.

Embrión. El embrión muestra un amplio desarrollo del encéfalo, órganos de los sentidos, corazón, somitas y el primordio de las extremidades anteriores (Figs. 7.A,B; 8.A,B)

Placenta. El saco vitelino se retrae cada vez más de manera que el alantoides se establezca dando lugar a la placenta corioalantoidea con

mayor superficie de contacto con el tejido materno. La placenta tiene la forma característica de disco. El área que ocupa el disco está restringida al polo embrionario y continúa hacia los lados, el sitio más grueso está en el centro del disco y conforme se aleja de este punto se adelgaza gradualmente dando lugar a la zona paraplacentaria (Figs.7.A; 8.A).

Hacia la luz del útero, el disco es un intrincado laberinto de gruesas paredes trofoblásticas (Figs. 8.A,B; 9.A,B.), dentro del que se distinguen vasos sanguíneos fetales, en donde los eritrocitos son nucleados, (Fig.10.A,B,C), los cuales se diferencian de los vasos sanguíneos maternos que poseen eritrocitos anucleados, estos vasos de menor tamaño y están rodeados por el trofoblasto (Fig.9,10). El trofoblasto que limita las lagunas de sangre materna está formado por el sinciotrofoblasto de grandes espacios citoplásmicos, aplanados subyacente al sinciotrofoblasto se observa el citotrofoblasto de células cúbicas con citoplasma vacuolado (Fig.9.D; 10.B)

Los vasos de sangre fetal entonces están rodeados por tejido conjuntivo laxo que incluye fibroblastos mayoritariamente (Fig.9.D). En esta etapa, la barrera placentaria está formada por sinciotrofoblasto, lámina intrasincicial, citotrofoblasto y endotelio de los vasos sanguíneos fetales (Figs.9.B; 10.A,B,C).

VI.3. Características histológicas de la placenta durante la etapa avanzada de gestación

Embrión. Debido al gran tamaño del embrión en esta etapa se extrajo para el procesamiento histológico del útero.

Útero. Muestra un ligero aumento en el grosor de las glándulas en el endometrio, del miometrio y la serosa (Fig.11.A).

Placenta. La zona laberíntica del disco embrionario se ha desarrollado ampliamente, observándose una gran ramificación de las lamelas placentarias y un adelgazamiento de sus componentes en relación con la

etapa anterior (Figs. 11, 12, 13). Se muestra un importante aumento en el número de vasos sanguíneos tanto fetales como de lagunas sanguíneas maternas. Adyacente a la zona laberíntica se observa tejido conjuntivo materno en el cual quedan incluidas células con aparente actividad secretora, aislados o formando pequeños grupos (Fig. 12.A).

VI.4. Características histológicas de la zona paraplacentaria

En la zona paraplacentaria se da una relación de acercamiento entre el tejido uterino y el tejido fetal estableciéndose una condición epiteliocorial (Fig.14.A,B).

Durante la etapa de primordios de extremidades anteriores se identifica la zona paraplacentaria en las porciones laterales de la región discoidal (Fig. 14.A), en donde es posible observar grandes vasos sanguíneos alantoideos (Fig.14.D). El tejido materno tiene apariencia secretora o glandular y el tejido fetal está formado por tejido conjuntivo y vasos sanguíneos (Fig.14.D).

Durante la etapa avanzada de gestación el tejido de la zona paraplacentaria aumenta en grosor y complejidad, debido al plegamiento de la superficie epitelial y materna, quedando espacios entre ambos epitelios; al polimorfismo de las células epiteliales y a la descamación de algunas de ellas (Figs. 14.C,D). El tejido materno muestra las mismas características de un tejido secretor y de apariencia vacuolada. Entre ambos tejidos, también es posible, observar sangre extravasada (Fig.14.C).

FIGURA 2

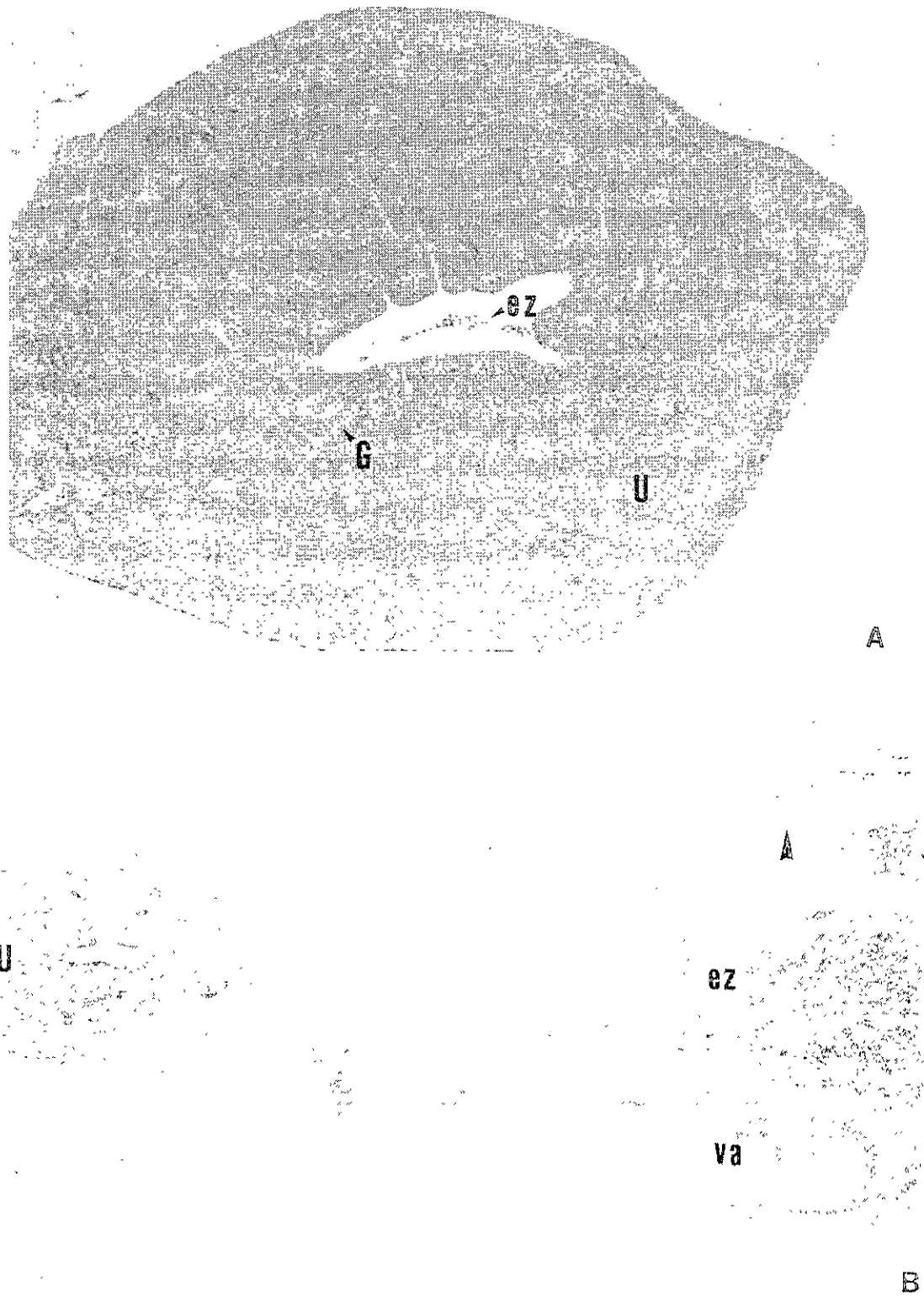


FIGURA 3

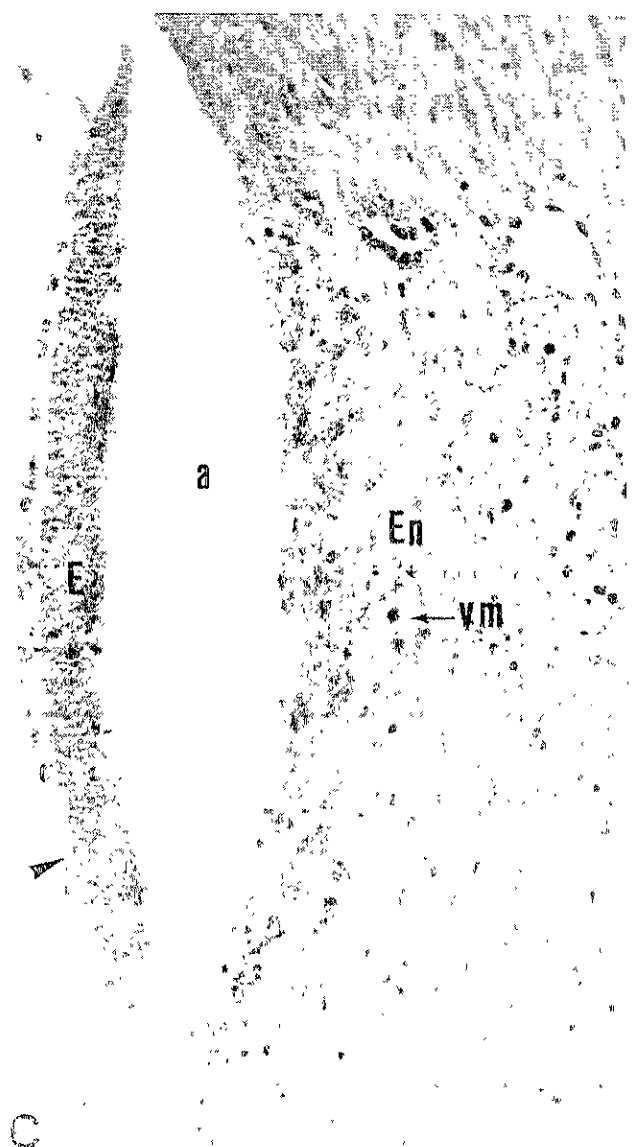
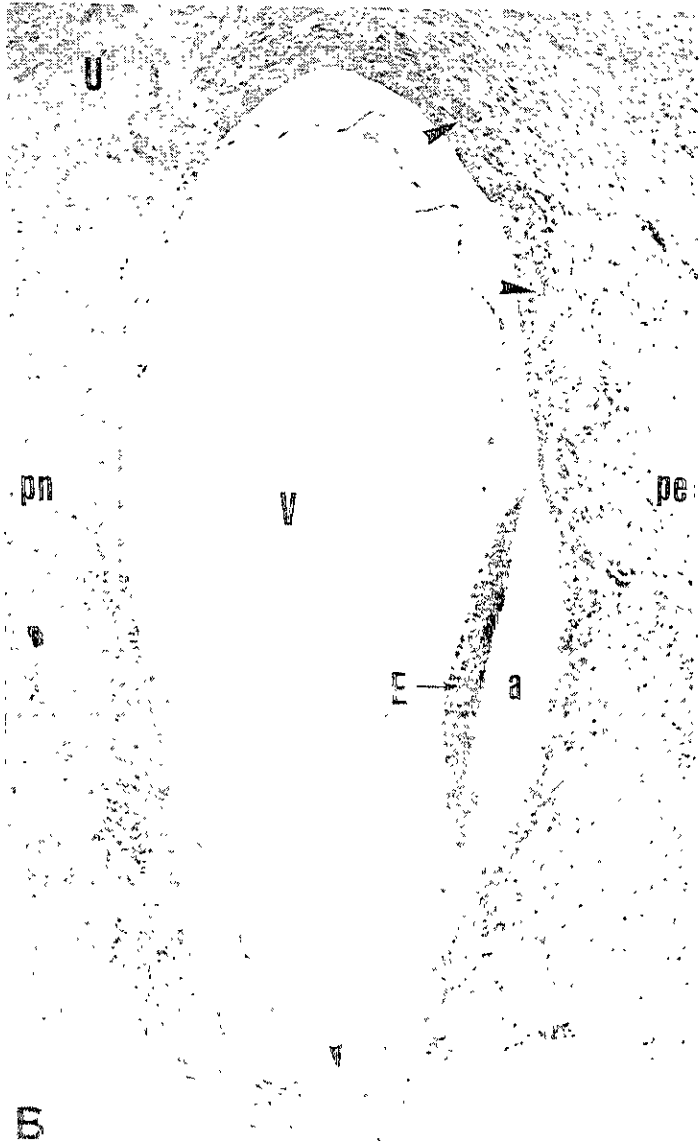
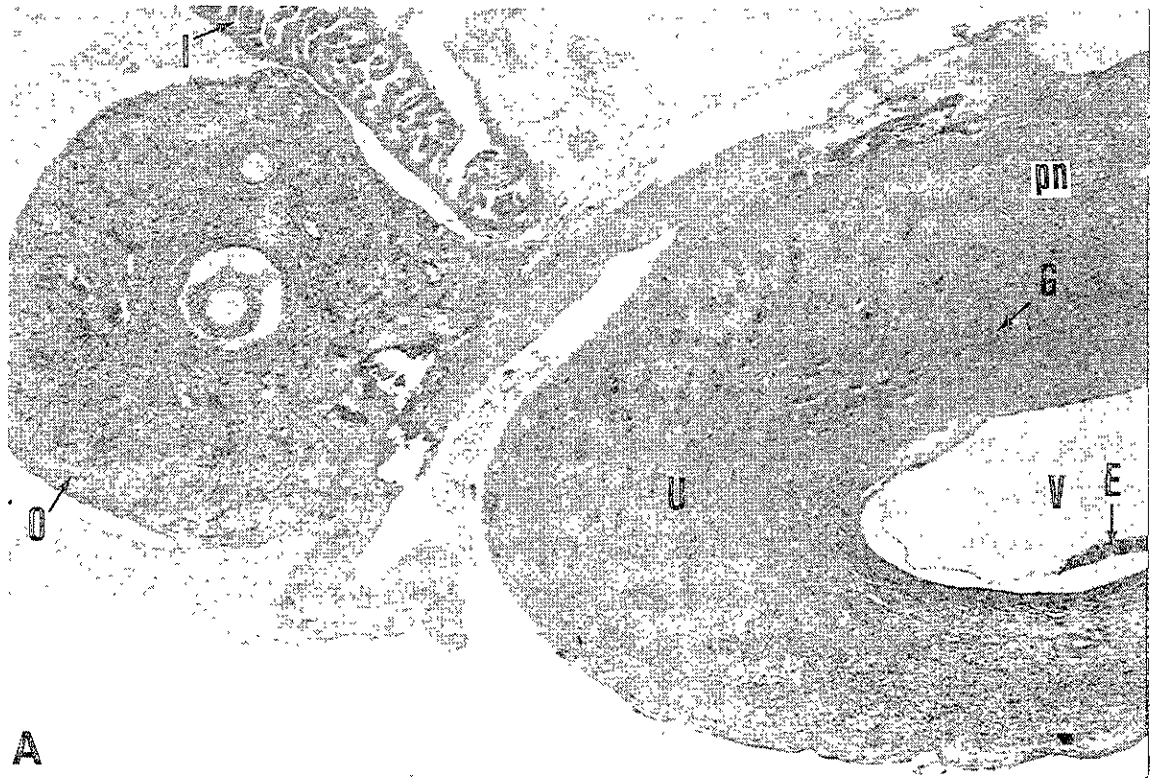


FIGURA 4

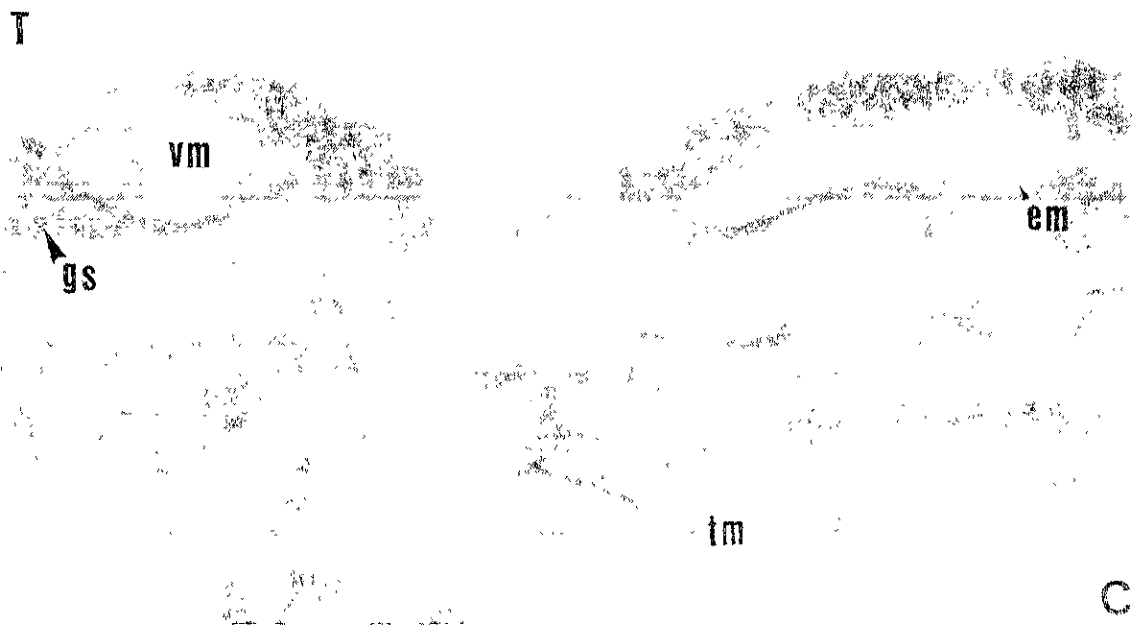
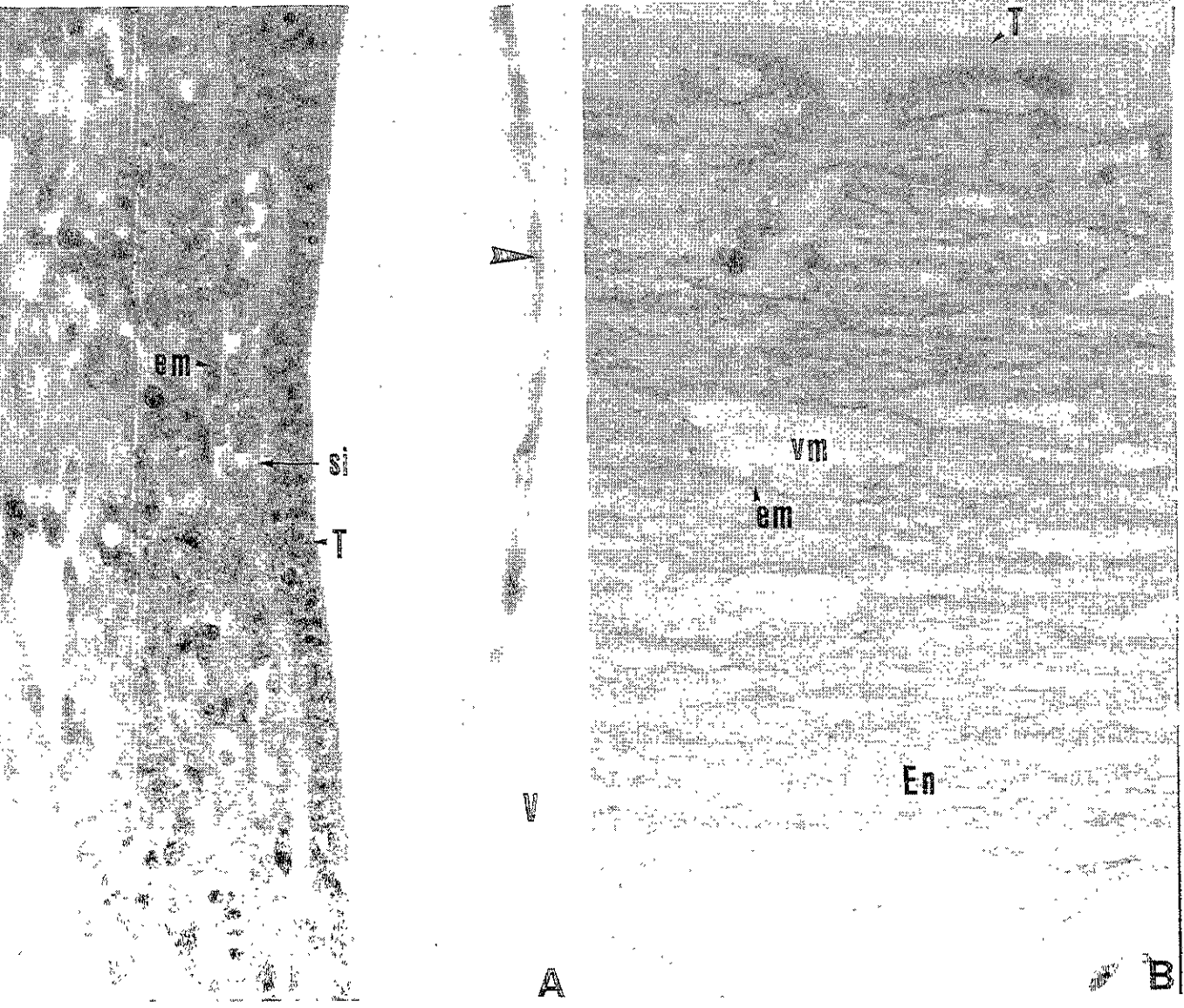
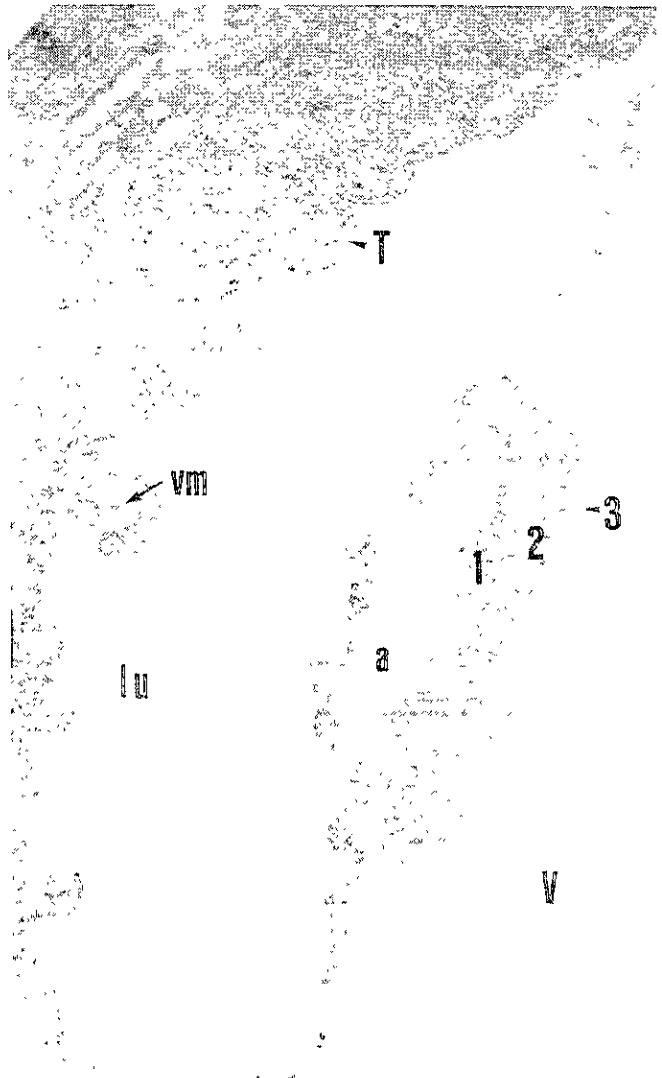
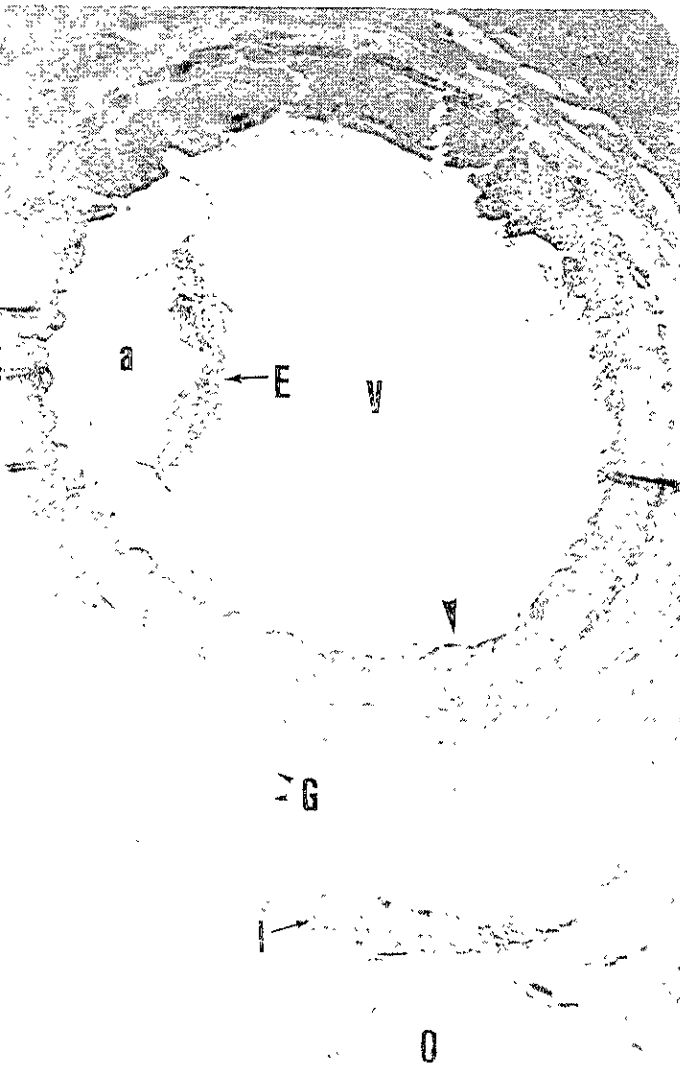
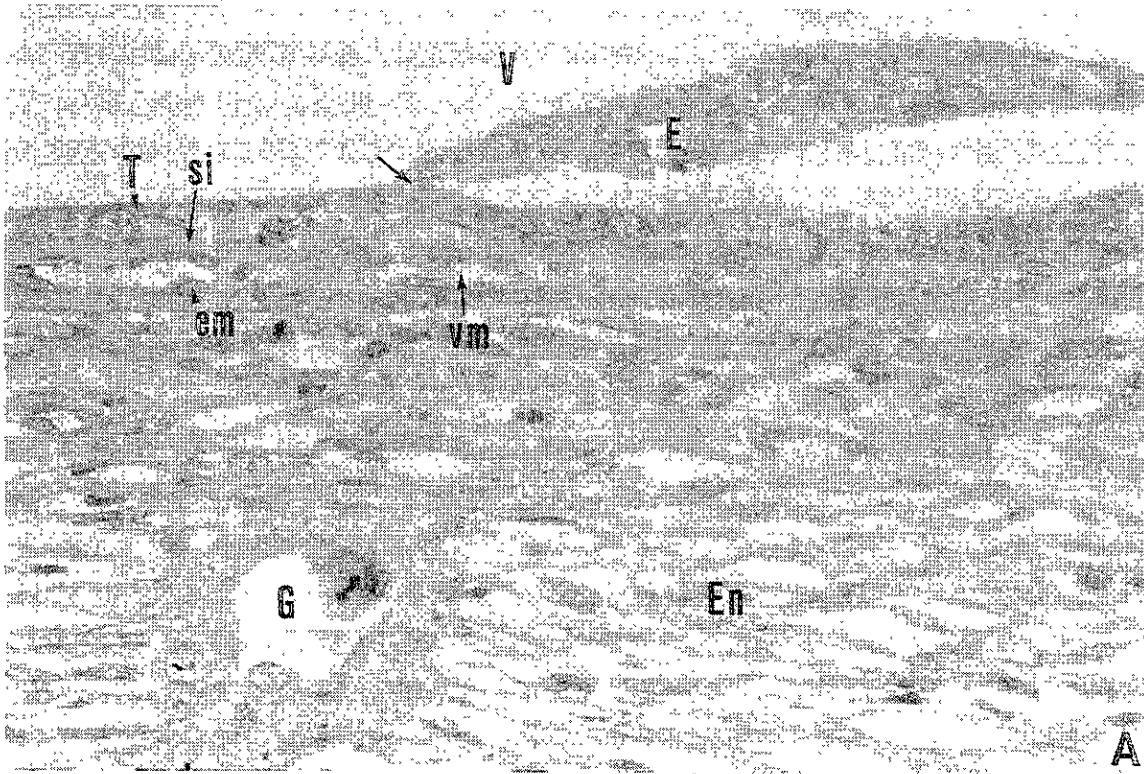


FIGURA 5



B

C

FIGURA 6

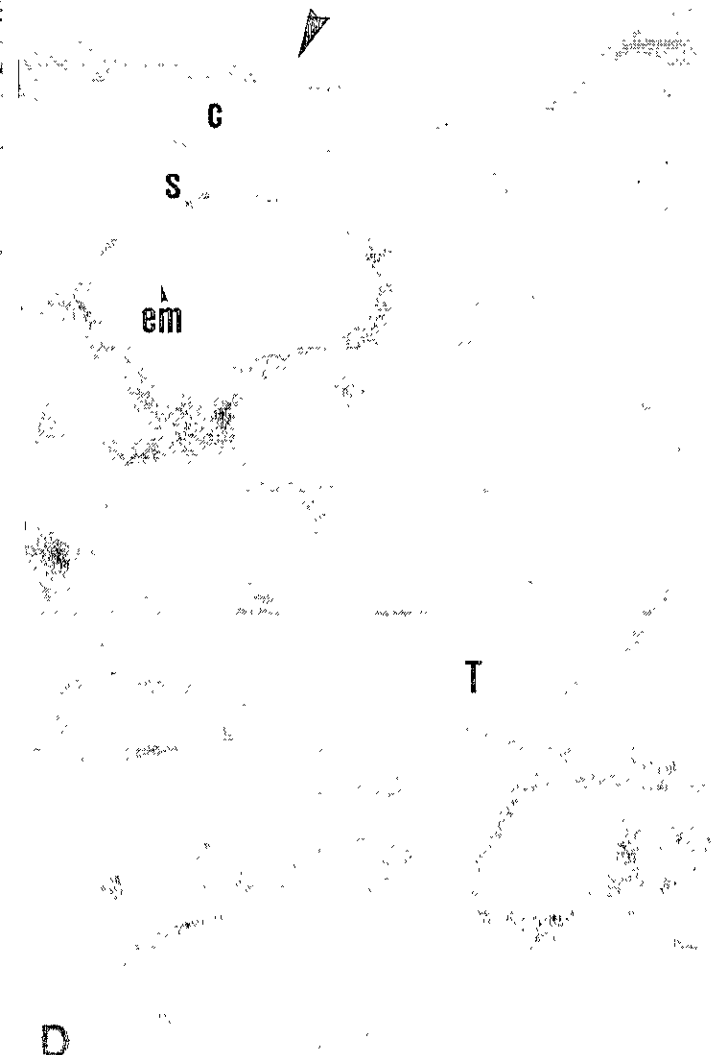
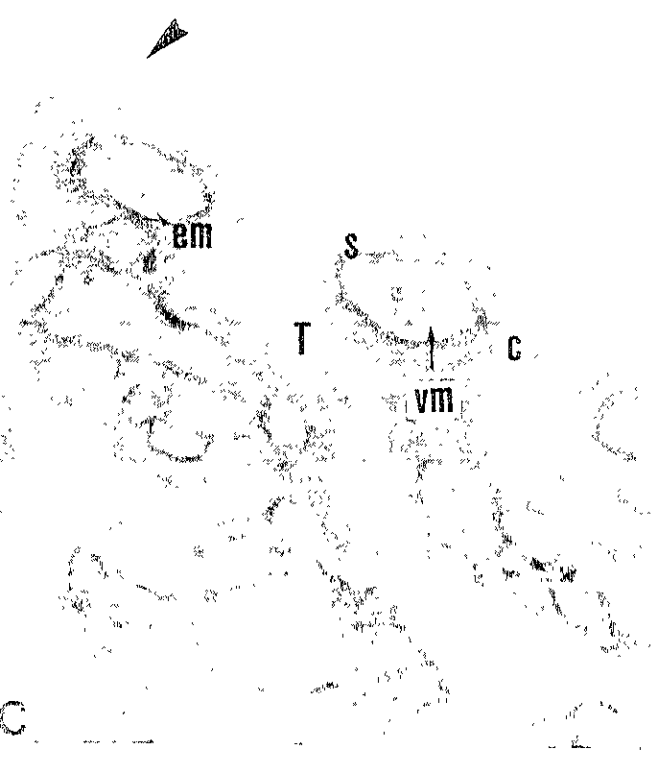
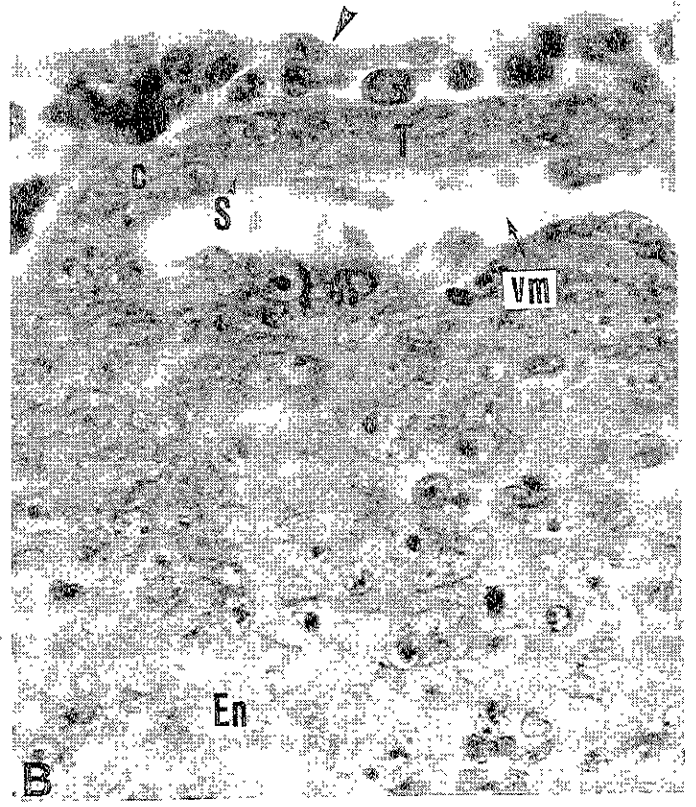


FIGURA 7

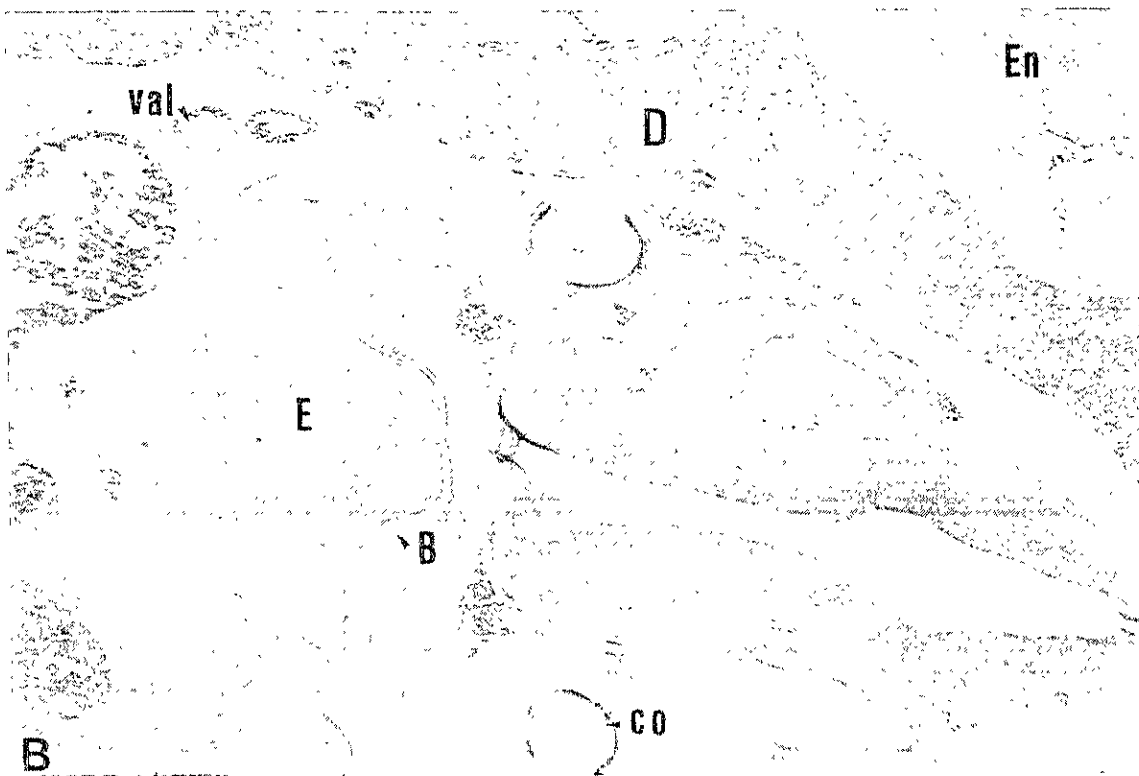
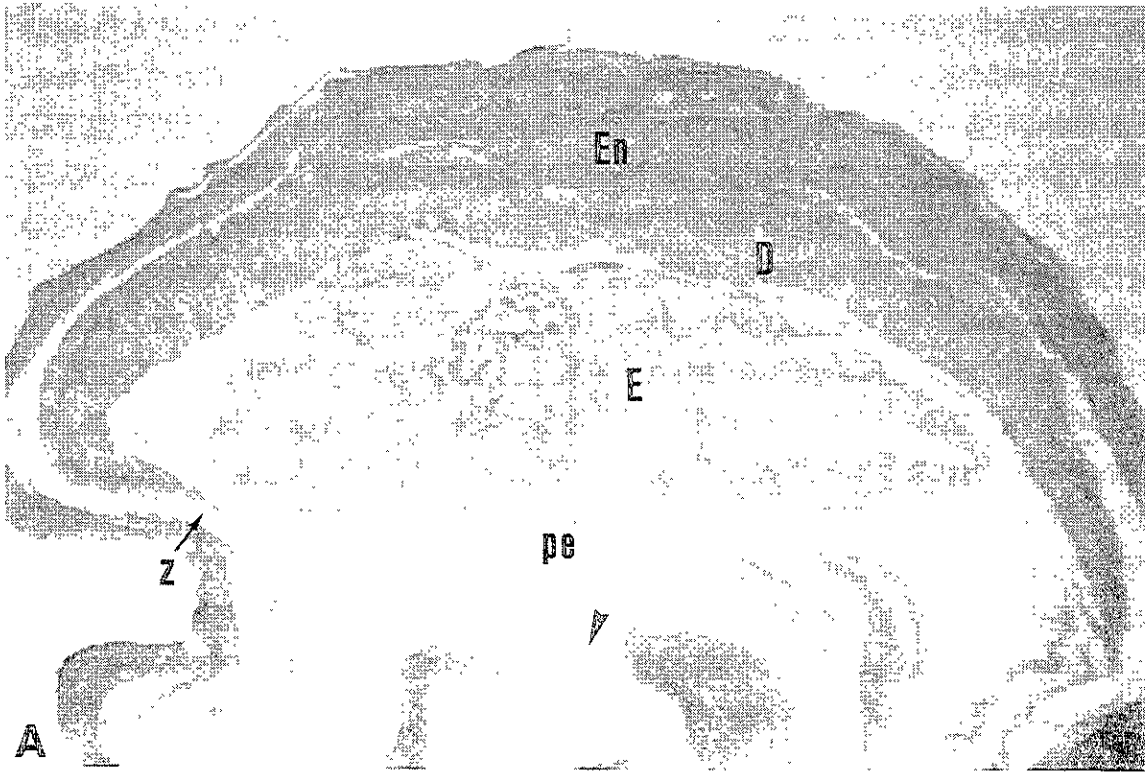


FIGURA 8

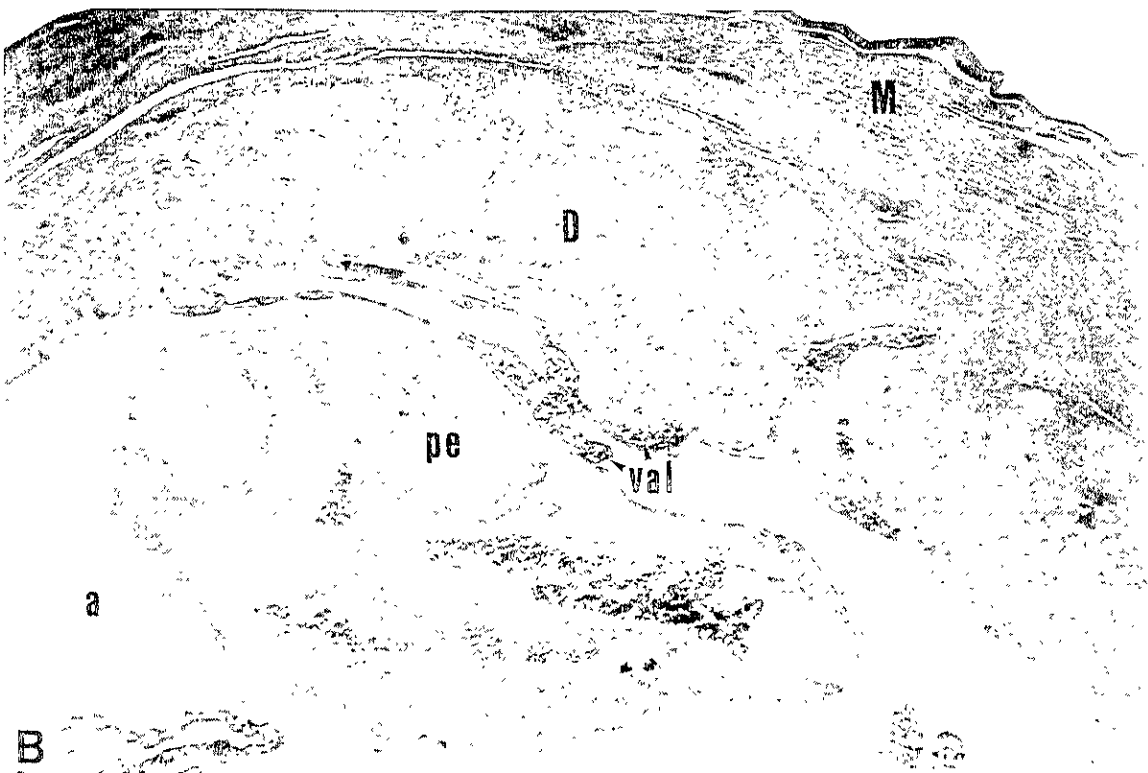
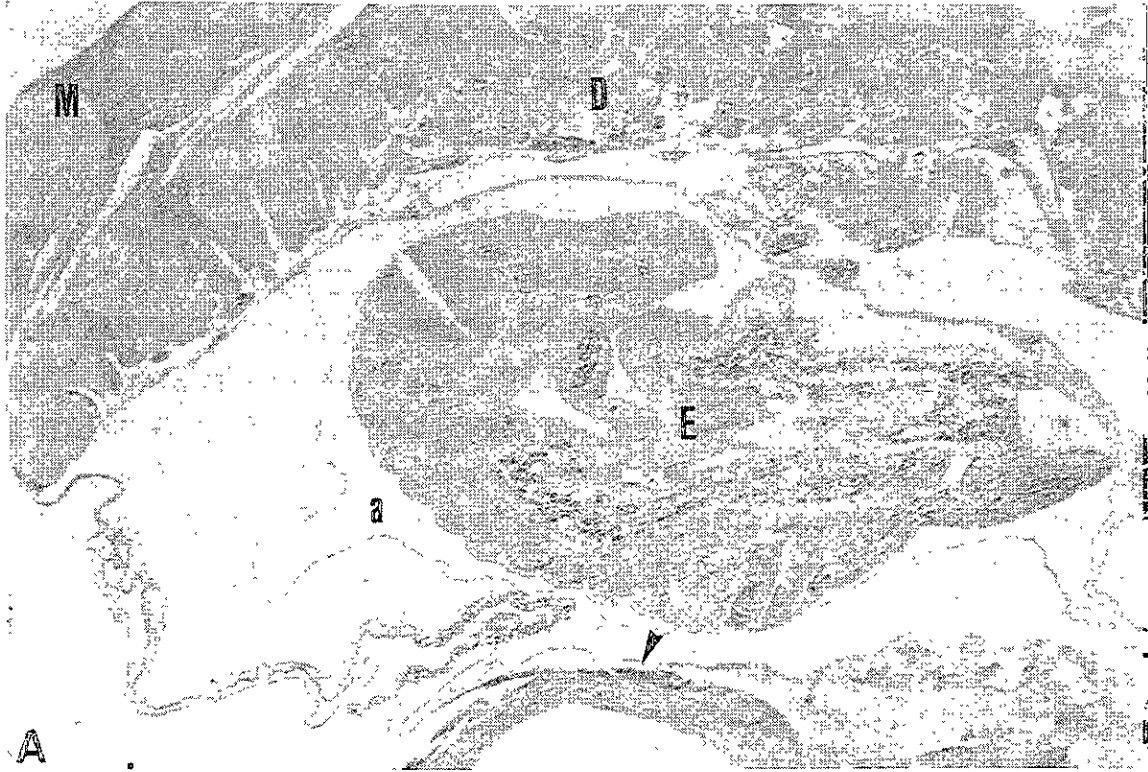


FIGURA 9



FIGURA 10

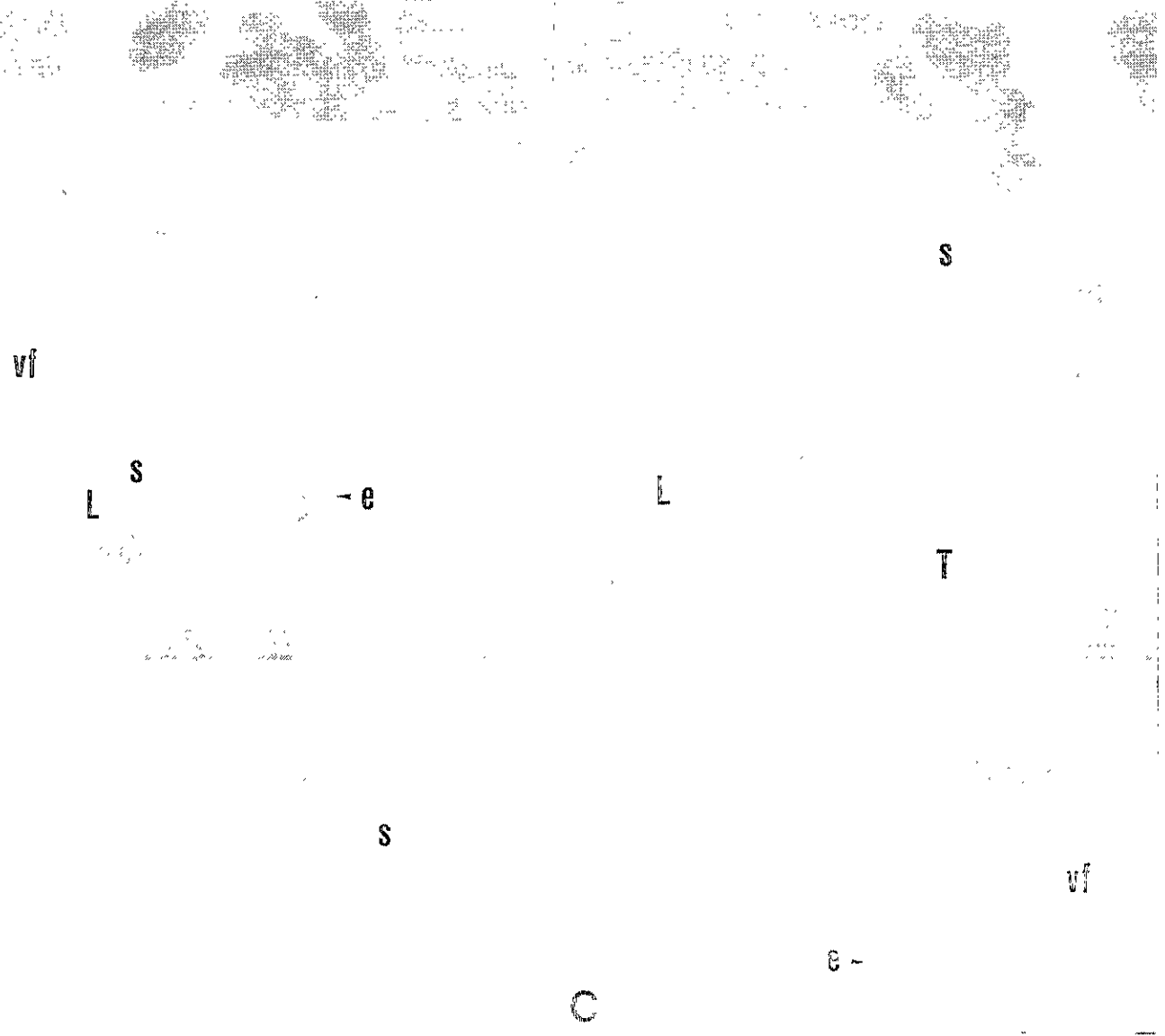
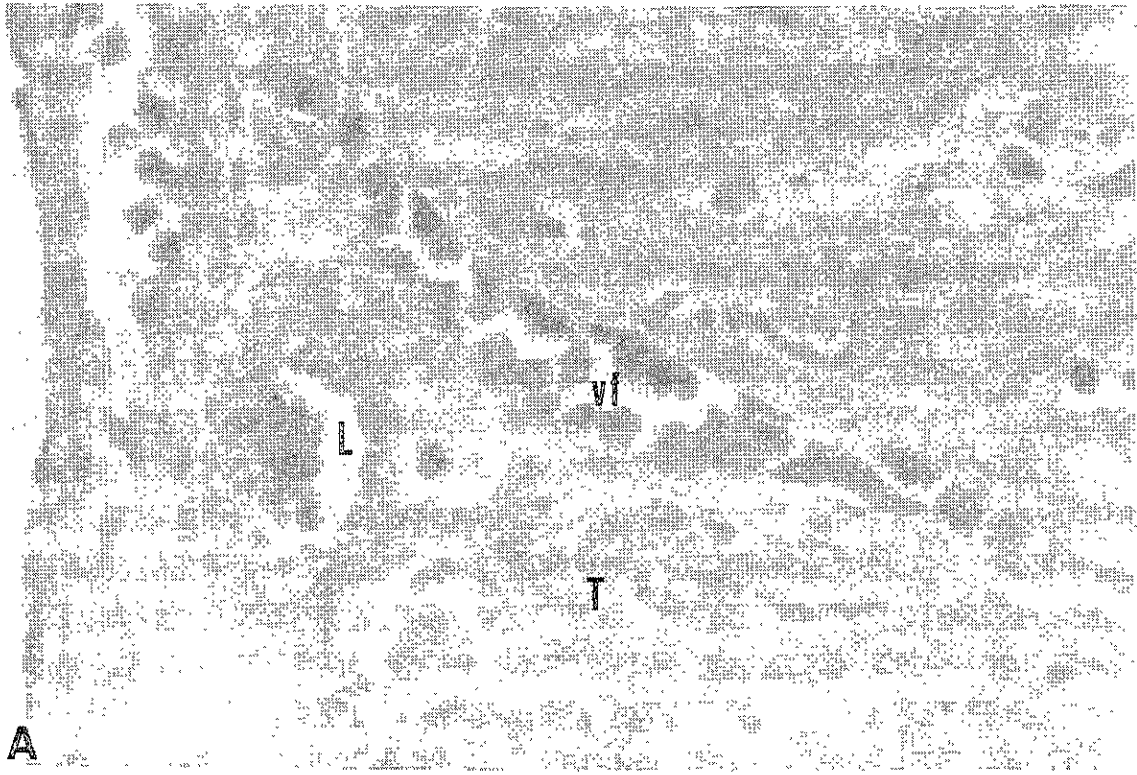


FIGURA 11

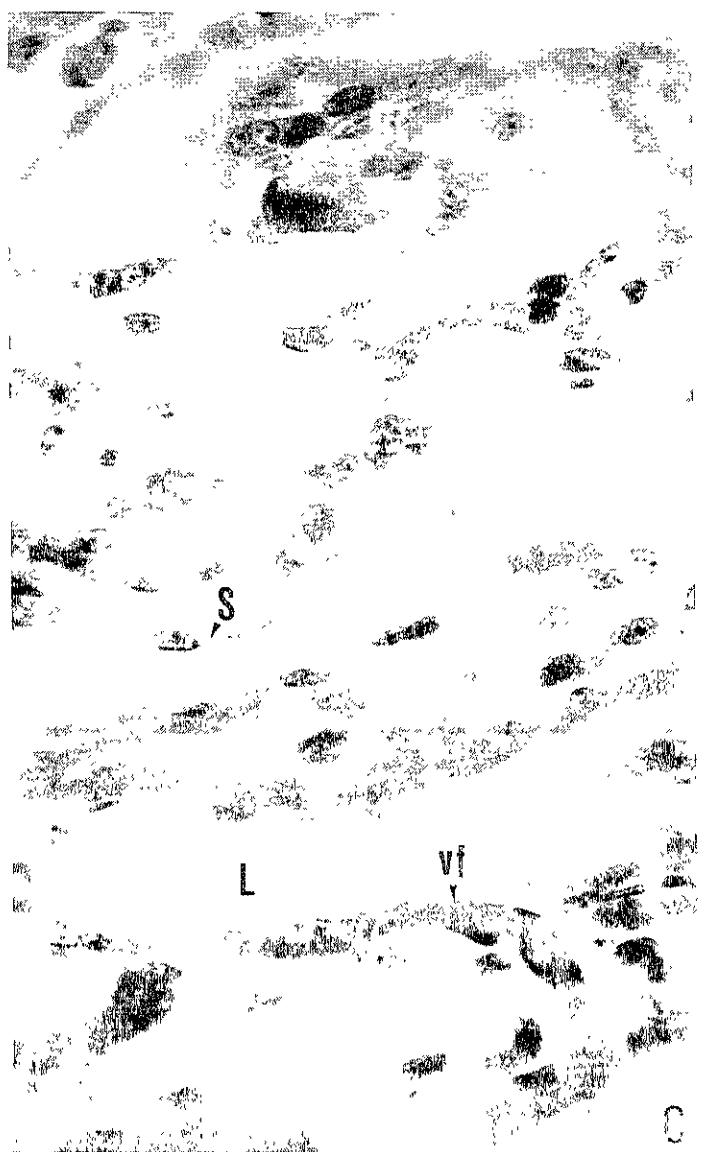
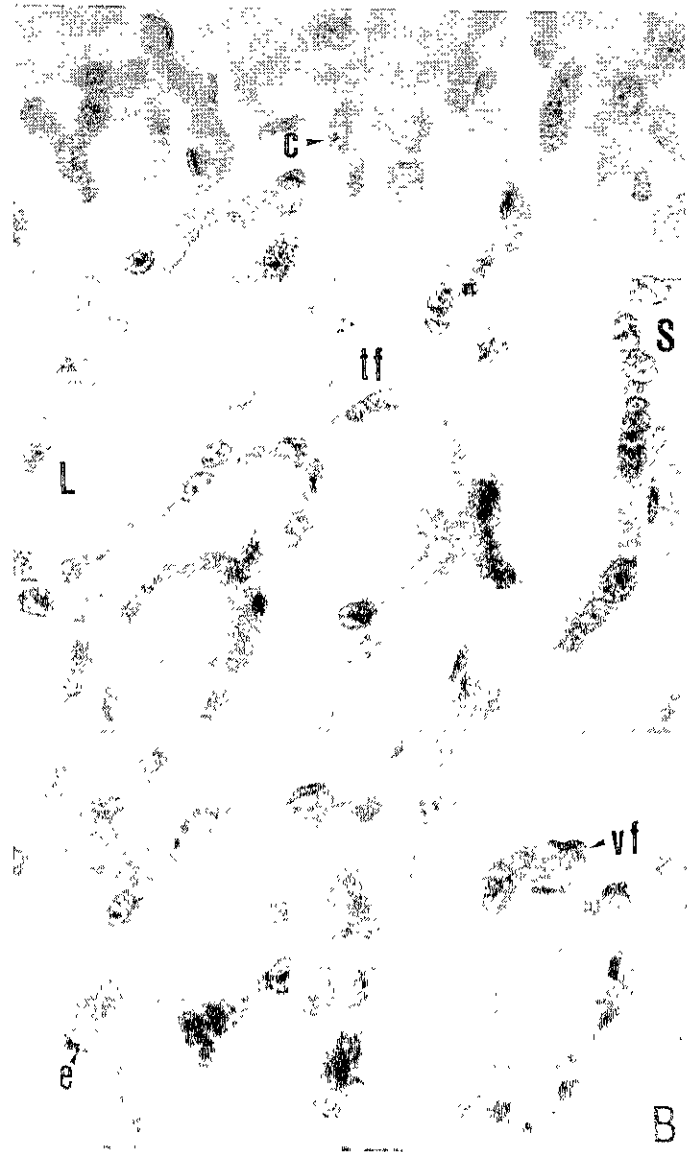
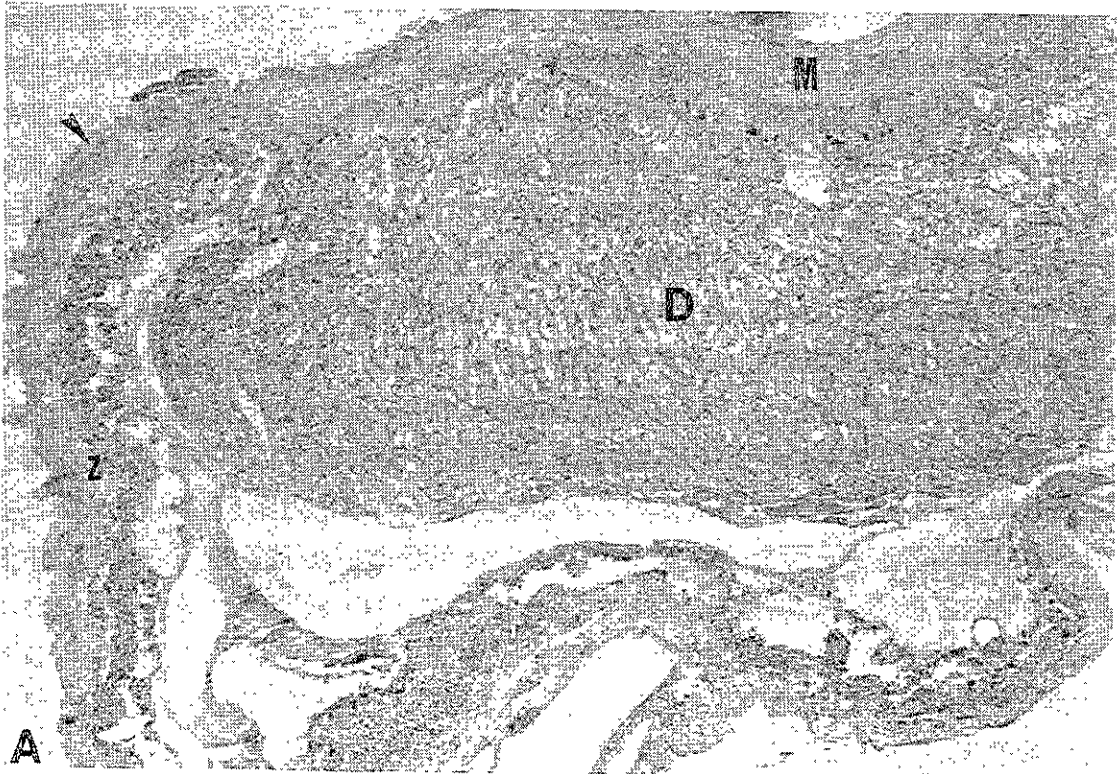


Figura 12

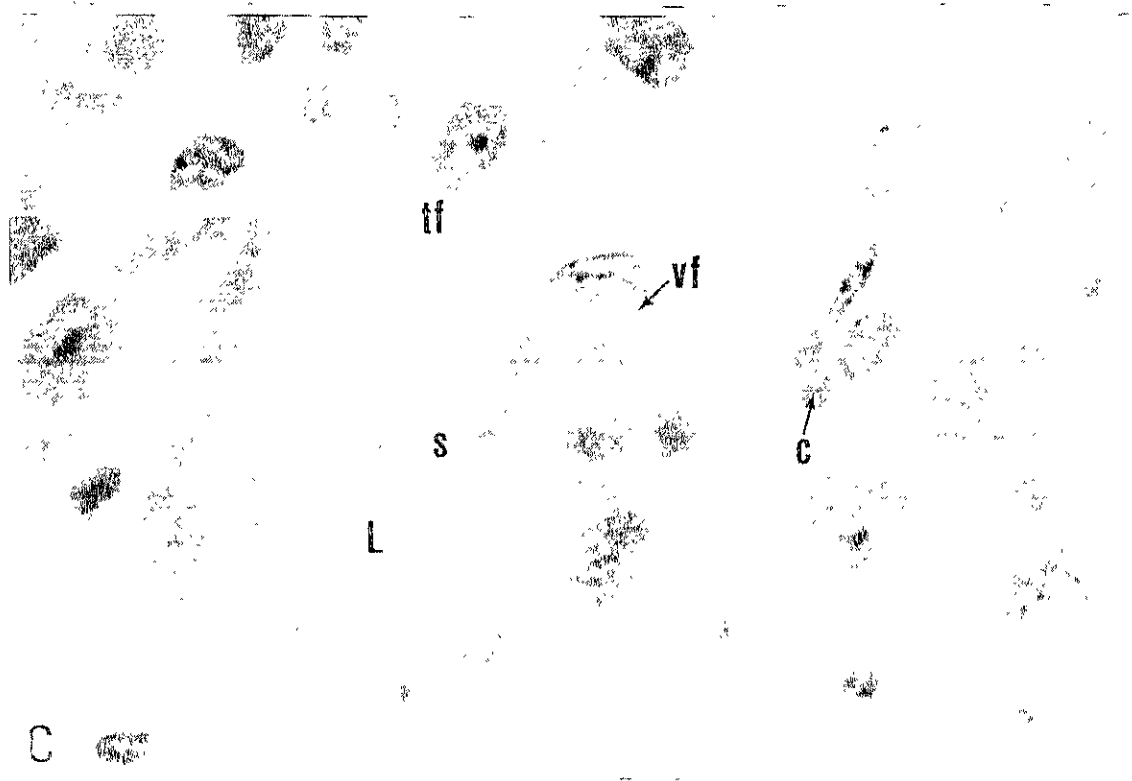
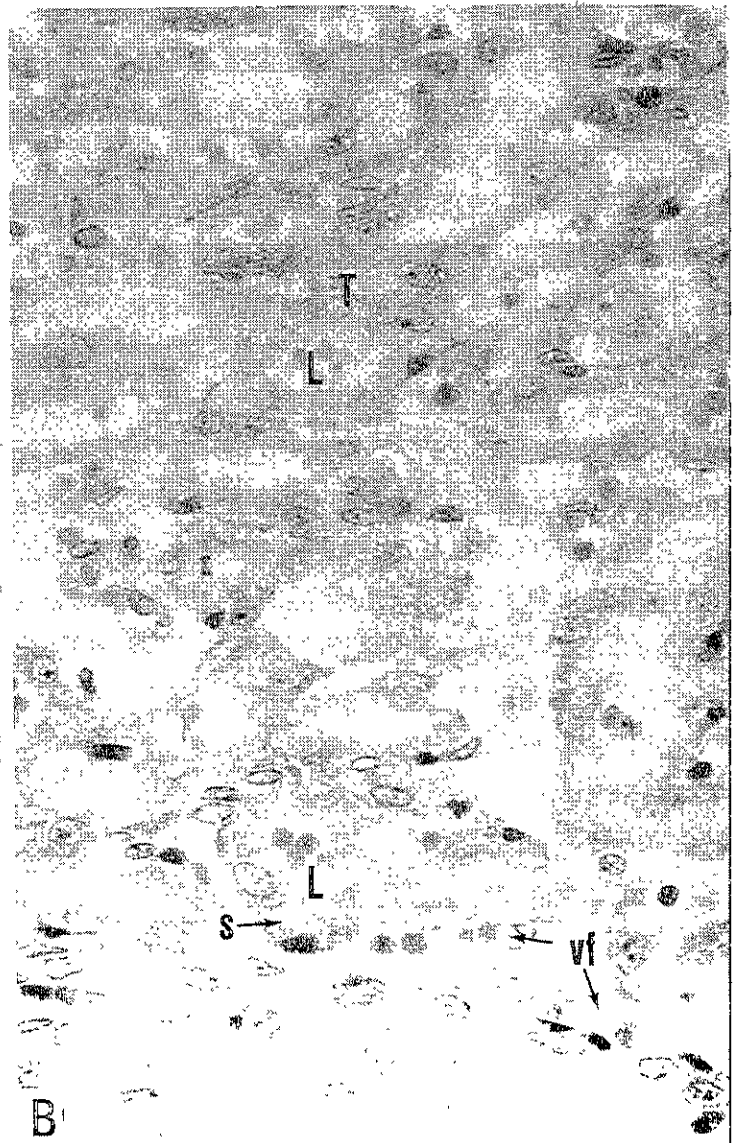


FIGURA 13

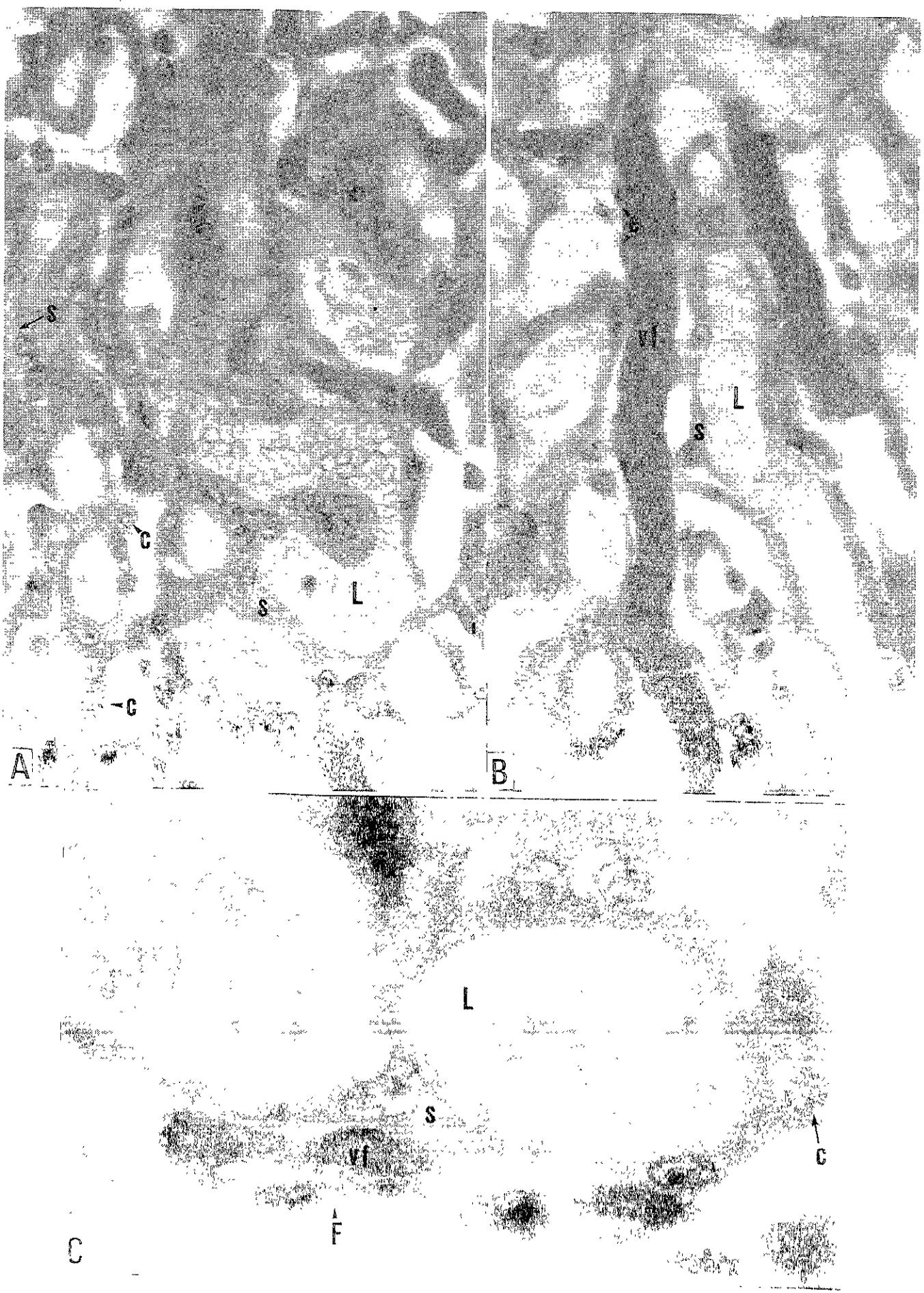
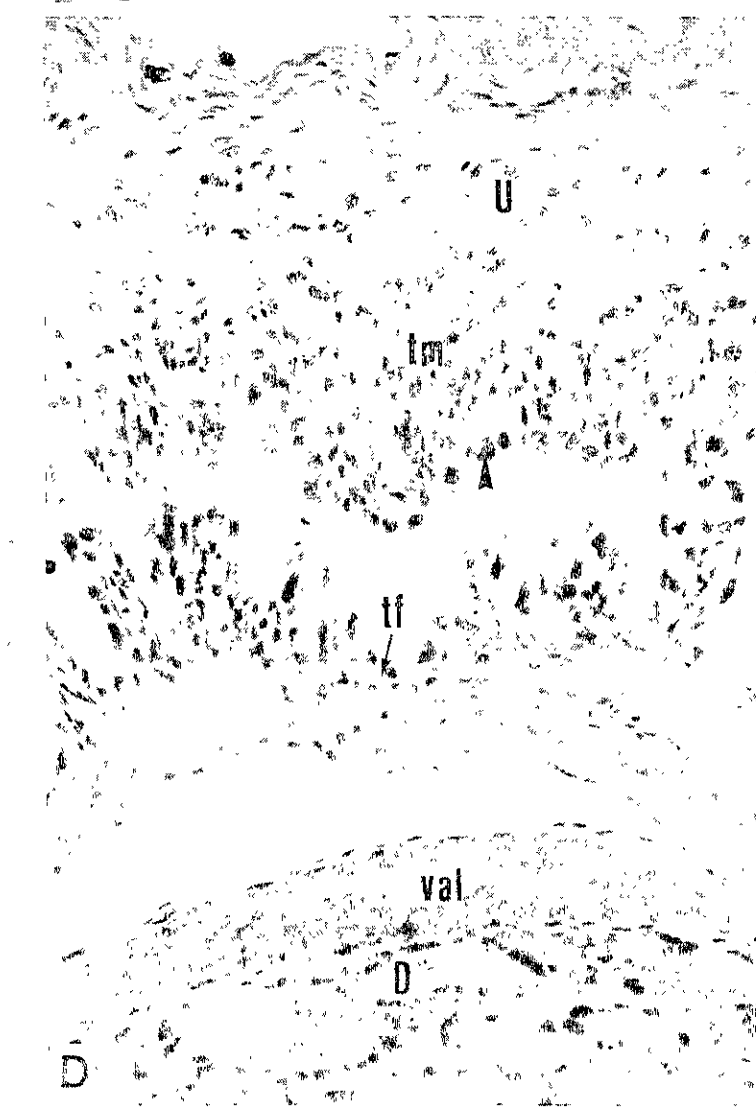
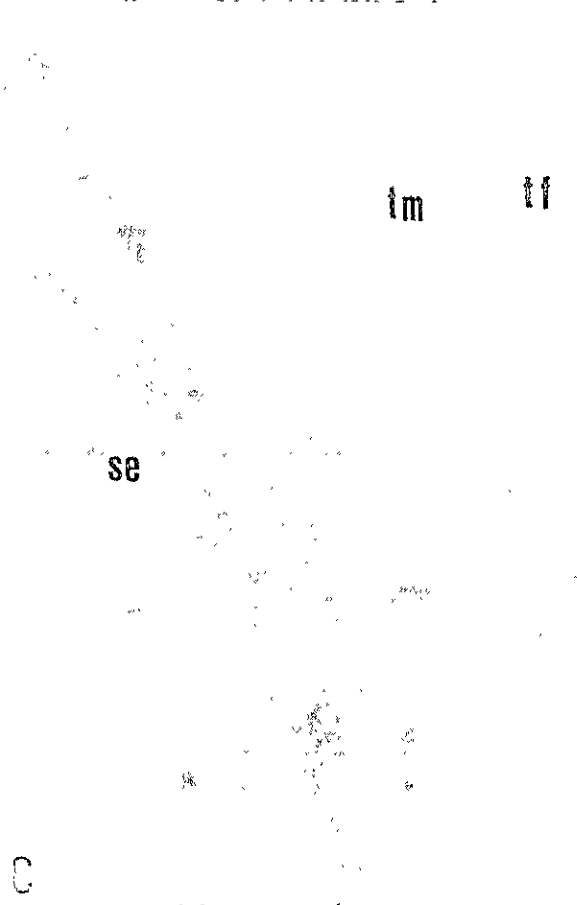
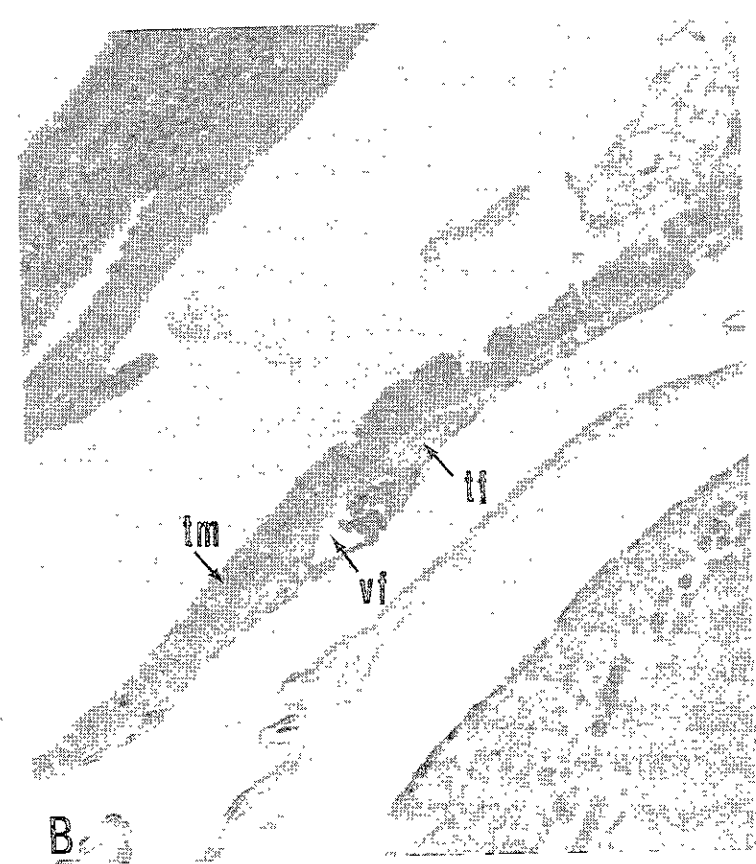
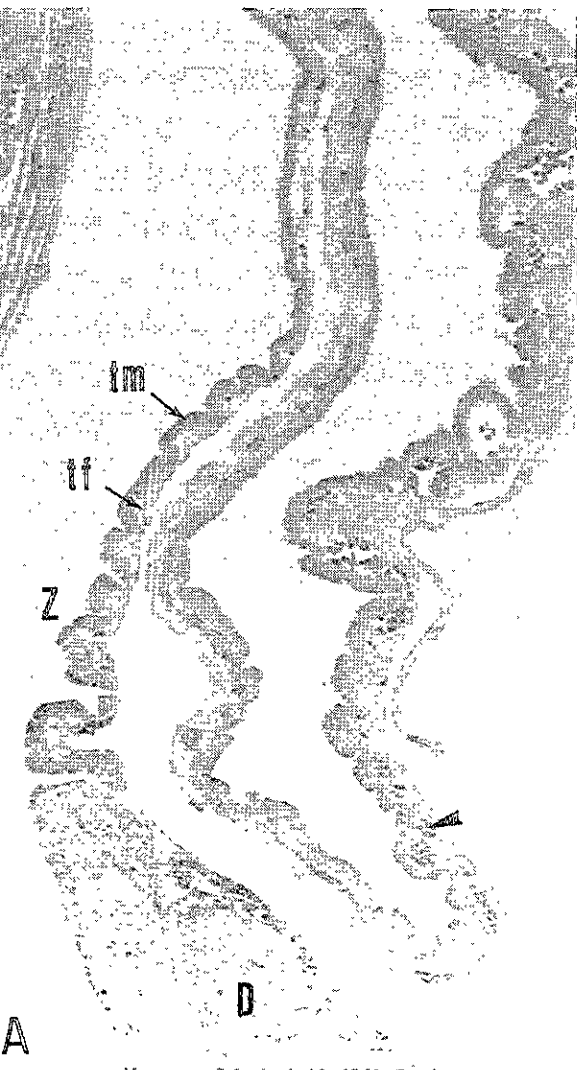


Figura 14

FIGURA 14



VII. DISCUSIÓN

De manera similar a lo descrito por López-Wilchis (1989), se observó que el aparato reproductor de *C. mexicanus* presenta asimetría funcional y morfológica, puesto de manifiesto en la dominancia unilateral de los ovarios y los cuernos uterinos. Esta característica ha sido mencionada para los murciélagos de la familia Vespertilionidae (Wimsatt, 1954, 1977), en tanto que, *Desmodus rotundus*, miembro de la familia Phyllostomatidae, presenta cuernos uterinos simétricos; por lo que la gestación se presenta en cualquiera de los dos (Wimsatt, 1954).

Los especímenes colectados de *C. mexicanus* para este estudio muestran reproducción estacional (octubre a marzo) y monoéstrica, lo cual es común en miembros de la familia Vespertilionidae, como en *Myotis lucifugus* (Cukierski, 1987; López-Wilchis, 1989). A partir de octubre y hasta enero, ocurre la cópula, evidente por la presencia de grandes cantidades de espermatozoides, que forman un gran paquete dentro de la vagina. Durante esta época el útero se prepara para la gestación ocurriendo cambios morfológicos evidentes, principalmente en el endometrio, las glándulas proliferan en número y sus células epiteliales presentan hipertrofia lo que causa un engrosamiento gradual de la pared del útero, estos cambios se traducen en un aumento de la actividad secretora, observaciones similares son mencionadas por Wimsatt (1954), en el murciélago *Desmodus rotundus*.

López-Wilchis (1989) determinó, para la población de *C. mexicanus* del sitio de colecta que el periodo de gestación dura aproximadamente 2 meses, de acuerdo con los datos obtenidos, la gestación se observó durante los meses de febrero y marzo lo que confirma lo mencionado en este estudio. Los úteros gestantes obtenidos en el mes de febrero presentaron embriones durante la

primera mitad de la gestación (disco embrionario, neúrcula y embriones durante la etapa inicial del desarrollo de las extremidades anteriores); y durante la segunda mitad de la gestación con embriones cercanos a término. El desarrollo placentario observado en las edades embrionarias mencionadas, permitió determinar el desarrollo de sus características histológicas.

La placentación en *C. mexicanus* muestra características similares en su desarrollo a lo observado en los murciélagos vespertilionidos *Miniopterus schreibersii fuliginosus* (Chari y Gopalakrishna, 1984), *Myotis lucifugus* (Cukierski, 1987), el murciélago *Desmodus rotundus* (familia Phyllostomatidae) (Wimsatt, 1954) y el murciélago *Natalus stramineus* (Torres-Villaseñor, 1996), los cuales presentan, en general, placentación coriovitelina y corioalantoidea, discoidal, endoteliochorial o hemochorial y laberintiforme.

VII.1. Etapa de disco embrionario

Durante esta etapa el embrión de *C. mexicanus* es una estructura bilaminar, formada por el endoblasto y el ectoblasto; los extremos del embrión se continúan con el amnios en la región dorsal del embrión y con la vesícula vitelina en la región ventral, ambas estructuras extraembrionarias se unen con el trofoblasto formando una capa de células que proliferan dentro del tejido del endometrio. El desarrollo temprano es similar al descrito para otros murciélagos *Miniopterus schreibersii fuliginosus*, (Chari y Gopalakrishna, 1984), *Myotis lucifugus* (Cukierski, 1987) y el murciélago *Desmodus rotundus* (Wimsatt, 1954).

Al establecerse la relación coriovitelina la lámina que forma el saco vitelino se une con el corion al tejido materno. En *C. mexicanus* esta relación se observó en todas las etapas analizadas lo que sugiere,

que su actividad se mantiene a lo largo de toda la gestación, de manera similar a lo mencionado para el murciélago vespertilionido *Scotophilus wroughtoni* (Gopalakrishna, 1949), en el que la relación coriovitelina está presente durante toda la gestación. Mientras que en murciélago vespertilionido *Miniopterus schreibersii fuliginosus* (Chari y Gopalakrishna, 1984; Bjorkman y Wimsatt, 1968), la relación coriovitelina se pierde durante la gestación temprana. En el molósidido *Molossus ater* (Rasweiler, 1991), la relación coriovitelina también es transitoria, y se pierde durante el estado avanzado de primordios de extremidades. Rasweiler (1993) y Wimsatt y Enders (1980), determinaron que la persistencia de la placenta coriovitelina lo que puede implicar una importante función de absorción de secreciones a lo largo de la gestación. En el lagomorfo *Sylvilagus floridanus* (conejo silvestre), Uribe (1994), comenta respecto a la persistencia de la vesícula vitelina, la cual se relaciona con el corion a lo largo de toda la gestación, permitiendo que las inmunoglobulinas maternas pasen a través de la circulación vitelina y se establezca la inmunidad pasiva, que en otros mamíferos se adquiere después del nacimiento mediante la lactancia; también se comenta que esta relación placentaria es poco conocida.

En *C. mexicanus* las células endoteliales de los vasos sanguíneos maternos del endometrio sufren hipertrofia, Rasweiler, (1991), observa en *Molossus ater*, de manera similar, hipertrofia en células endoteliales de vasos y arteriolas desde una etapa en la que aún no se concluye la implantación; el autor asocia la hipertrófia de las células endoteliales con el incremento en la cantidad de glucoproteínas dentro de la lámina basal de los vasos sanguíneos maternos.

A la par de estos cambios, en *C. mexicanus* se observó que el tejido materno forma, por el engrosamiento de la lámina basal del endotelio, lámina intersticial que se desarrolla entre el trofoblasto y el

endotelio de los vasos sanguíneos maternos aspecto común en otros vespertilionidos. La lámina intersticial en *C. mexicanus* está presente durante la etapa temprana de gestación (disco embrionario, néurula y embrión en estado de primordio de extremidades).

Cukierski (1987) comenta que la presencia de la lámina intersticial es común en murciélagos con placenta hemocorial, la cual ha sido observada en miembros de las familias: Phyllostomatidae, Thyropteridae, Molossidae y Vespertilionidae.

La lámina intersticial es hialina, su grosor puede variar, presenta vacuolas y puede presentar prolongaciones que se introducen en el trofoblasto. También se observaron en *C. mexicanus* gránulos de secreciones PAS positivos dentro de esta sustancia intersticial, de los cuales no se tienen referencias previas en la literatura consultada. Los gránulos de secreción podrían estar relacionados con la presencia de glucógeno en el interior de las células trofoblásticas en una etapa posterior. Diversos autores comentan que el glucógeno es un elemento que se encuentra en diversas células, principalmente en las trofoblásticas por su gran actividad de síntesis. *Molossus ater* almacena glucógeno en el citotrofoblasto a lo largo de toda la gestación (Rasweiler, 1991). Rasweiler y Badwaik (1999), y Uribe (1994), hablan de la presencia de grandes cantidades de glucógeno almacenadas en el trofoblasto.

Enders y Wimsatt (1968), describen la lámina intersticial a nivel ultraestructural y comentan que podría derivarse del endotelio materno.

Cukierski (1987), estudió el desarrollo y función de la lámina intersticial en *Myotis lucifugus* especie de la familia Vespertilionidae; y encuentra que persiste a lo largo de la gestación como un remanente dentro del trofoblasto sincicial.

VII.2. Etapa de néurula

El trofoblasto así como los vasos sanguíneos del endometrio a los que rodea, se proyectan hacia la luz uterina, formando pliegues alrededor de casi toda la superficie del cuerno uterino, a excepción del polo no embrionario son similares a las arterias uterinas superficiales, observadas en *Scotophilus wroughtoni* murciélago vespertilionido (Gopalakrishna, 1949), también de manera similar Chari y Gopalakrishna (1989), describen en *Miniopterus schreibersii fuliginosus* (Vespertilionidae), la presencia de grandes capilares sanguíneos maternos localizados cerca del borde fetal, rodeados por trofoblasto sincicial durante la etapa de néurula temprana.

El alantoides se desarrolla tempranamente a partir de una extensión del intestino posterior del embrión y al relacionarse con el corion se establece la placentación corioalantoidea. En *C. mexicanus* la placenta endoteliocorial, característica de la etapa temprana de gestación da lugar posteriormente a la placenta hemocorial, este tipo de placenta se ha observado en todas las especies de vespertilionidos conocidas (Gopalakrishna y Karim, 1979; Cukierski, 1987; Rasweiler y Badwaik, 1999).

En los murciélagos se ha descrito la placenta de acuerdo con el número de capas trofoblásticas correspondiendo a hemomonocorial y hemodicorial. La placenta a término de *C. mexicanus* es hemodicorial, ya que las capas que constituyen el trofoblasto son una interna de citotrofoblasto y una externa de sinciotrofoblasto. *Miniopterus schreibersii fuliginosus* (Vespertilionido) presenta una placenta hemomonocorial, con una capa de sinciotrofoblasto, *Molossus ater* (Molosido), presenta una placenta hemomonocorial con una capa de citotrofoblasto (Rasweiler, 1991) y *Natalus stramineus* desarrolla una placenta hemomonocorial con una capa de citotrofoblasto (Torres-Villaseñor, 1996). Diversos autores (Ferriani et al., 1994; Muhlhauser

et al., 1996; Ziche et al., 1997; Rasweiler y Badwaik, 1999), opinan que el citotrofoblasto tiene la función de dividirse mitóticamente, fusionarse y aumentar la cantidad de sinciotrofoblasto. El sinciotrofoblasto ha sido considerado por Steven (1983) y Pijnenborg (1985) como un tejido invasivo por su gran capacidad enzimática y de absorción. Uribe (1994) comenta que el sinciotrofoblasto es una capa cuya superficie continua es indispensable para el paso selectivo de sustancias. Steven (1983) le atribuye a esta capa la capacidad de alta permeabilidad. Por otro lado, las células del citotrofoblasto, presentan una apariencia vacuolada, por lo que se les atribuye una importante actividad de intercambio metabólico.

Al trofoblasto se le atribuyen funciones endocrinas como la elaboración y secreción de hormonas gonadotróficas, lactógeno placentar, estrógenos y progesterona (Allen, 1975; Porter et al., 1982; Wango et al., 1991, 1992; Enders y Lin, 1991; Marcinkiewicz y Bahr, 1993). La presencia de estrógenos y progesterona impiden la regresión del cuerpo luteo por la acción luteolítica de la prostaglandina $F2 \alpha$, condición necesaria para mantener la gestación.

VII.3. Etapa de primordios de extremidades anteriores

Durante esta etapa el embrión de *C. mexicanus* se caracteriza por el desarrollo de las extremidades anteriores.

En *C. mexicanus* la relación coriovitelina se mantiene presente en el polo no embrionario como la aposición del saco vitelino y el corion al tejido materno, mientras que la relación corioalantoidea está presente en el polo embrionario.

En esta etapa se observan eritrocitos nucleados en el interior de los vasos sanguíneos fetales, característica similar a lo observado en otros mamíferos durante la primera mitad de la gestación (Uribe,

1994), debido a que las zonas hematopoyéticas aún están en formación.

El disco placentario es característico de la mayoría de los murciélagos, lo presentan *Myotis lucifugus* (Cukierski 1987); *Molossus ater* (Rasweiler, 1991); *Miniopterus schreibersii* (Chari y Gopalakrishna, 1984), *Micronycteris megalotis* (Phyllostomatidae) y *Natalus stramineus* (Natalidae) (Torres-Villaseñor, 1996). En algunas especies puede presentarse más de un disco placentario como en el caso de *Miniopterus schreibersii* (Chari y Gopalakrishna, 1984) y *Natalus stramineus* (Torres-Villaseñor, 1996) que muestran dos. No se ha definido el significado fisiológico que tiene la presencia de dos discos placentarios en relación con uno.

El trofoblasto está formado por: sinciotrofoblasto, el cual forma una capa alrededor de las lagunas de sangre materna y presenta abundantes prolongaciones apicales citoplásmicas hacia la luz de la laguna materna, que permiten expandir el área disponible para la absorción entre el tejido materno y fetal, permitiendo el transporte transepitelial facilitando la difusión de sustancias a través de la barrera placentaria (Rasweiler y Badwaik, 1999). El citotrofoblasto está constituido por una capa de células de las que es posible observar claramente los núcleos, mientras que el citoplasma se adelgaza, en particular en algunas zonas. El tejido conjuntivo fetal es la siguiente capa de la barrera interhemal; la última capa la constituye el endotelio fetal. El acercamiento del tejido fetal a la sangre materna permite el incremento en el intercambio de sustancias.

VII.4. Etapa avanzada de desarrollo embrionario.

En *C. mexicanus* el tejido uterino sufre modificaciones en relación con la etapa anterior, se incrementa el número de vellosidades placentarias en el interior del disco placentario debido al aumento en el

número de vasos sanguíneos fetales y lagunas sanguíneas maternas y disminuyen en grosor los elementos que constituyen la barrera placentaria en esta etapa tanto en las capas de trofoblasto, como en el tejido conjuntivo fetal, por lo que el acercamiento entre el tejido materno y fetal favorece el intercambio entre ambos tejidos. El citotrofoblasto ya no forma una lámina continua y el tejido conjuntivo fetal sufre gran adelgazamiento en esta lámina de manera similar a lo descrito para *Carollia perspicillata* (Rasweiler y Badwaik, 1999). En otras capas uterinas como el miometrio y la serosa no se observan cambios durante esta etapa de gestación.

Al respecto, los autores comentan que el adelgazamiento de los elementos placentarios permite una reducción de la distancia de difusión entre ambas circulaciones. Por otro lado, la aparente pérdida irregular de algunas células de la capa citotrofoblástica en *C. mexicanus*, podría ser únicamente al adelgazamiento irregular en algunos sitios de esta capa; esto se ha observado en estudios hechos a nivel ultramicroscópico en algunas especies como *Carollia perspicillata* (Rasweiler, et al. 1999). En *Myotis lucifugus* Enders y Wimsatt (1968), observan que la capa que forma la capa expuesta a la sangre materna, el sinciotrofoblasto, está atenuada e irregular al final de la gestación, y el citotrofoblasto no se pierde aunque se adelgaza enormemente.

VII.5. Zona paraplacentaria

La zona paraplacentaria constituye un elemento placentario poco estudiado, a excepción del realizado para las especies mexicanas *Natalus stramineus* y *Micronycteris megalotis* (Torres-Villaseñor, 1996). La zona paraplacentaria se localiza en los límites laterales del disco placentario. En esta zona se observa una estrecha relación entre el tejido materno y fetal, en donde se define una aposición de ambos tejidos, por lo que es posible atribuirle una función de intercambio muy

activa. Este elemento se constituye, al final de la etapa temprana de gestación, a partir de la etapa de primordio de extremidades anteriores. La zona paraplacentaria se define, cuando se establece el arreglo de vellosidades placentarias en forma de un disco, hacia los lados de este y sufre modificaciones hasta el final de la gestación. En la zona paraplacentaria la relación que se establece entre el tejido materno y fetal muestra un tejido complejo debido a la formación de gran cantidad de pliegues y a la presencia de estructuras celulares como la presencia de gran cantidad de glándulas, de vasos sanguíneos, y grandes espacios con sangre materna extravasada. Torres-Villaseñor (1996), comenta que en *Natalus stramineus* y *Micronycteris megalotis* se establece una relación epiteliocorial entre el tejido materno formado por epitelio uterino y el tejido fetal formado por trofoblasto. Las características morfológicas de la zona paraplacentaria de *C. mexicanus* coinciden con lo descrito por Uribe (1994), en la región paraplacentar del gato *Felis domesticus*, en la cual el tejido materno y el fetal se relacionan de manera que no forman vellosidades coriónicas entre ambos tejidos, sino que se forman pliegues en los que los epitelios se acercan. Entre ambos tejidos hay gran cantidad de células sanguíneas extravasadas que después se observan dentro del tejido fetal por lo que se considera puede ocurrir la fagocitosis de células sanguíneas maternas extravasadas.

VIII. CONCLUSIONES

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

1. *Corynorhinus mexicanus* muestra un patrón monoéstrico y estacional, el periodo de cópula es relativamente largo, inicia en octubre y continúa hasta enero; presenta ovulación retardada al final del periodo de torpor y almacenamiento prolongado de espermatozoides en el tracto reproductor de las hembras; la

gestación dura aproximadamente dos meses y nace una cría a finales de marzo o principio de abril.

2. La placentación coriovitelina se mantiene a lo largo de toda la gestación
3. La placentación corioalantoidea se establece durante la etapa de néurula temprana.
4. La placenta de *C. mexicanus* es de tipo discoidal de acuerdo con la organización macroscópica de las vellosidades coriónicas observada desde el estadio de primordios de extremidades anteriores.
5. La placenta endoteliocorial se inicia durante la etapa de disco embrionario y al término de la neurulación se constituye como hemodicorial.
6. Durante el estadio de disco embrionario el trofoblasto está formado por citotrofoblasto; durante el estadio de néurula está formado por dos capas citotrofoblasto y sinciotrofoblasto; durante el estadio de embrión a término la capa de sinciotrofoblasto es continua mientras que el citotrofoblasto es una capa discontinua.
7. La lámina intersticial es visible durante la etapa de disco embrionario, presentando gránulos de secreción evidentes durante esta etapa.

8. Conforme avanza la gestación y de manera gradual, el grosor del citotrofoblasto, sinciotrofoblasto y del tejido conjuntivo fetal disminuyen, reduciéndose el grosor de la barrera placentaria.

9. La zona paraplacentaria está presente con evidencias morfológicas de intercambio metabólico feto-materno.

IX. LITERATURA CITADA

1. Aguilar, M. M., Coutiño, B.B. y Salinas, R. P. 1996. Manual general de técnicas histológicas y citoquímicas. Primera edición. Facultad de Ciencias. UNAM. pag. 130.
2. Allen, W. R. 1975. Endocrine functions of the placenta. In: *Comparative placentation, essays in structure and function*. Ed. D.H. Steven. Ac. Press, London.
3. Amoroso, G. C., 1961. Histology of the placenta. *Brit. Med. Bull.* 17:81-90.
4. Anderson, S. 1972. Mammals of Chihuahua taxonomy and distribution. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.*, 148:149-410
5. Anderson, W. R. and W. A. Wimsatt. 1953. The fetal membranes and placentation of the tropical American noctilionid bat, *Dirias albiventer minor*. *Anat. Rec.* 117: 573-574.
6. Baumgardner, G. D., K. T. Wilkins, and D. J. Schmidly. 1977. Noteworthy additions to the bat fauna of the Mexican states of Tamaulipas (San Carlos Mountains) and Querétaro. *Mammalia*, 41:237-238.
7. Björkman, N. H. and W. A. Wimsatt. 1968. The allantoic placenta of the vampire bat (*Desmodus rotundus murinus*): A reinterpretation of its structure based on electron microscopic observations. *Anat. Rec.* 162:83-98.
8. Bleier, W. J. 1975. Early embryology and implantation in the California leaf-nosed bat *Macrotus californicus*, *Anat. Rec.* 182:237-253.
9. Bodley, H. D. 1974. Ultrastructural development of the chorioallantoic placental barrier in the bat *Macrotus waterhousii*. *Anat. Rec.* 180:351-368.
10. Bradshaw, G. V. R. 1962. Reproductive cycle of the California leaf-nosed bat, *Macrotus californicus*. *Science* 136:645-646.
11. Branca, A. 1927. Recherches sur la placentation des cheiropteres. *Arc. Zool. Exp.* 66: 291-450.

12. Chari, G. C., and Gopalakrishna, A. 1981. Transuterine migration of the embryo and implantation in the vespertilionid bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus* (Hodgson). Proc. First Eur. Symp. On bat Research 3-7.
13. Chari, G. C., and Gopalakrishna, A. 1984. Morphogenesis of the foetal membranes and placentation in the bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus* (Hodgson). *Proc. Indian Acad. Sci.* (Anim. Sci.) 5:463-483.
14. Cukierski, M. A. 1987. Synthesis and transport studies of the intrasyncytial lamina: An unusual placental basement membrane in the little brown bat, *Myotis lucifugus*. *Am. J. Anat.* 178:387-409.
15. Da Costa, A. C. 1920. Sur la formation de l'Amnios chez les cheiropteres (*Miniopterus schreibersii*) et en general chez les mammifères; *Mem. Soc. Port., Sci. Nat. Biol. Ser.* 3:1-51.
16. Enders, A. C. and I. K. M. Liu. 1991. Trophoblast-uterine interactions during equine chorionic girdle cell maturation, migration and transformation. *Am. J. Anat.* 192:366-381.
17. Enders, A. C. and W. A. Wimsatt. 1968. Formation and structure of the hemodichorial, chorio-allantoic placenta of the bat (*Myotis lucifugus lucifugus*). *Am. J. Anat.* 122:453-490.
18. Enders, A. C. and W. A. Wimsatt. 1971. Transport and barrier function in the chorioallantoic placenta of the bat, *Myotis lucifugus*. *Anat. Rec.* 170:381-400.
19. Ferriani, R. A., Ahmed, A., Sharkey, A., and Smith, S. K. 1994. Colocalization of acidic and basic fibroblast growth factor (FCF) in human placenta and the cellular effects of bFGF in trophoblast cell line JEG-3. *Growth Factors.* 10:259-268.
20. Gopalakrishna, A. 1949. Studies on the embryology of microchiroptera. Part V. Placentation in the Vespertilionid bat-*Scotophilus wroughtoni* (Thomas). *Proc. Ind. Acad. Sci.* 235-251.
21. Gopalakrishna, A. and Karim K. B. 1979. Fetal membranes and placentation in Chiroptera. *J. Reprod. Fert.* 56:417-429.

22. Grosser, O. 1909. *Verleichende anatomic und entwicklungsgeschichte der eihaut und der placenta*. W. Braumulla. Vienna and Leipzig. p. 180.
23. Guillette, L. J. Jr. 1987. The evolution of viviparity in fishes, amphibians and reptiles: An endocrine approach. In: *Hormones and reproduction in fishes, amphibians and reptiles*. Eds. D.D. Norris and R.E. Jones Plenum Press. New York and London.
24. Handley, C. O., Jr. 1959. A revision of American bats of the genera *Euderma* and *Plecotus*. *Proceedings of the United States National Museum*, 110:95-246.
25. Karnovsky, M. J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 27:137A.
26. Kempermann, C. T. 1929. Die placenta del fledermaus *Miniopterus schreibersii* und ihre functionelle bedeutung. *Z. Anat. Entwicklungsgesch.* 91:292-303.
27. Koopman, K. F. 1974. Eastern limits of *Plecotus* in México. *J. Mamm.* 58:872-873.
28. León-Galvan, M. A., Fonseca, T., López-Wilchis, R., and Rosado, A. 1999. Prolonged storage of spermatozoa in the genital tract of female mexican big-eared bats (*Corynorhinus mexicanus*): the role of lipid peroxidation. *Can. J. Zool.* 77:7-12.
29. López-Wilchis, R. 1989. Biología de *Plecotus mexicanus* (Chiroptera: Vespertilionidae) en el estado de Tlaxcala, México. *Tesis Doctoral*. (Sin publicar). *Universidad Nacional Autónoma de México*. 224 pp.
30. Marcinkiewicz, J. L. and J. M. Bahr. 1993. Identification and preliminary characterization of luteotropic activity in the rabbit placenta. *Biol. Of Reprod.* 48:403-408.
31. Moll, W. 1985. Physiological aspects of placental ontogeny and phylogeny. *Placenta.* 6:141-154.
32. Mollhagen, T. 1971. Checklist of bats in caves in the regions of the Sierra de Guatemala and Sierra de el Abra, Northeastern México. *Bulletin of the Association for Mexican Cave Studies*, 4:19-22.

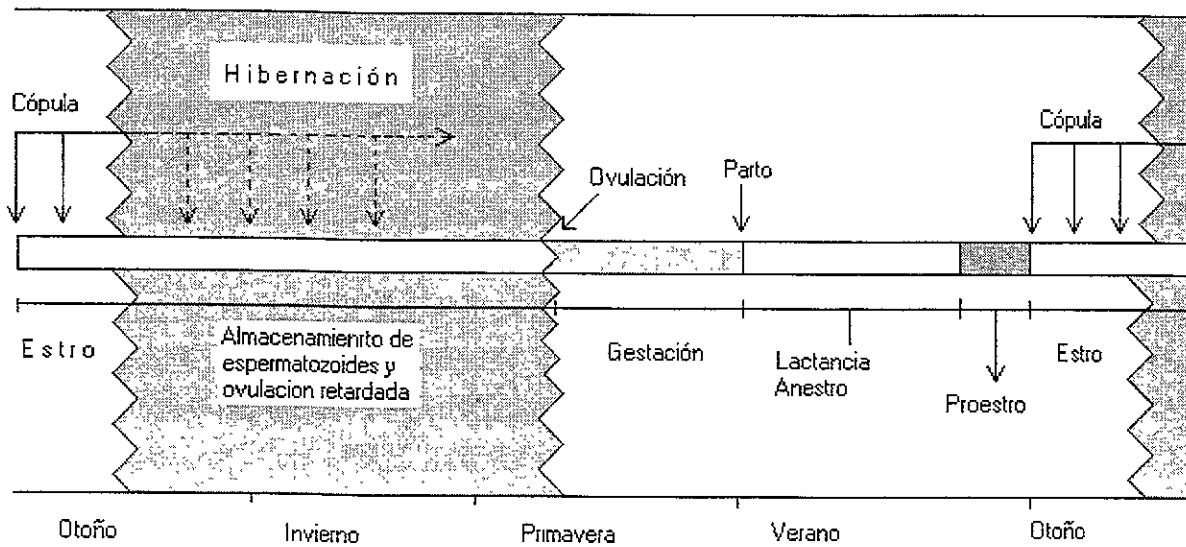
33. Morales-Malacara, J. B., and R. López-Wilchis, R. 1990. Epizoid fauna of *Plecotus mexicanus* (Chiroptera: Vespertilionidae) in Tlaxcala, México. *Journal of medical Entomology*, 27:440-445.
34. Mossman, W. 1937. Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accessory uterine structures. *Contrib. Embryol. Carneg. Inst.* 26:129-246.
35. Muhlhauser, J., Marzioni, D., Morroni, M., Vuckovic, M., Crescimanno, C., and Castellucci, M. 1996. Codistribution of basic fibroblast growth factor and heparin sulfate proteoglycan in the growth zones of the human placenta. *Cell Tissue Res.* 285:101-107.
36. Oxberry, B. A. 1979. Female reproductive patterns in hibernating bats. *J. Reprod. Fert.* 56:359-367.
37. Pijnenborg, R., W. B. Robertson and I. Brosens. 1985. Morphological aspects of placental ontogeny and phylogeny. *Placenta.* 6:155-162.
38. Porter, D. G., R. B. Heap and A. P. F. Flint. 1982. Endocrinology of the placenta and the evolution of viviparity. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 31:113-139.
39. Ramaswami, L. S. 1933. Some stages of the placentation in *Vesperugo leisleri* (Kuhl); *J. Mysore Univ.* 7:1-41.
40. Rasweiler IV, J. J. 1974. Reproduction in the long-tongued bat *Glossophaga soricina*. II. Implantation and early embryonic development. *Am. J. Anat.*, 139:1-35.
41. Rasweiler IV, J. J. 1979. Early embryonic development and implantation in bats. *J. Reprod. Fert.* 56:403-416.
42. Rasweiler IV, J. J. 1991. Development of the discoidal hemochorial placenta in the black mastiff bat, *Molossus ater*: Evidence for a role of maternal endothelial cells in the control of trophoblastic growth. *Am. J. Anat.* 191:185-207.
43. Rasweiler IV, J. J. 1993. Pregnancy in Chiroptera. *J. Exp. Zool.* 266:495-513.

44. Rasweiler IV, J. J., and Badwaik, N. K. 1999. Discoidal placenta. In: *Encyclopedia of Reproduction*, Vol. 1. E. Knobil and J.D. Neill, eds. Academic Press, San Diego, California. Pp. 890-902.
45. Rowlands, I. W., and B. J. Weir. 1984. Mammals: non-primate eutherians. In: *Marshall's Physiology of Reproduction*. (ed.) Lamming, G.E. Churchill Livingstone., pp,486-491.
46. Stephens, R. J. 1969. The development and fine structure of the allantoic placental barrier in the bat *Tadarida brasiliensis cynocephala*. *J. Ultrastruct. Res.* 28:371-398.
47. Stephens, R. J., and L. J. Babral. 1972. The diffuse labyrinthine endotheliodichorial placenta of the free-tail bat: A light and electron microscopic study. *Anat. Rec.*, 172:221-252.
48. Steven, D. H. 1975. Comparative placentation. Essays in structure and function. Ed. D.H. Steven. *Acad. Press. London. N.Y. San. Fco.*
49. Steven, D. H. 1983. Interspecies differences in the structure and function of trophoblast. In: *Biology of trophoblast*. Eds. Loke and Whyte. Elsevier Science Publishers. B.V.
50. Torres-Villaseñor, C. K. 1996. Descripción de las estructuras histológicas de la placenta de *Micronycteris megalotis* (Phyllostomidae) y *Natalus stramineus* (Natalidae). Tesis de maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. 45 pp.
51. Tumilson, R. 1991. Bats of the genus *Plecotus* in México: discrimination and distribution. Occasional Papers, The Museum, Texas Tech University, 140:1-19.
52. Tumilson, R. 1992. *Plecotus mexicanus*. *Mamm. species*. 401:1-3.
53. Uribe, A. M. C. 1994. "Estudio histológico comparado de la placenta de cinco especies de mamíferos". *Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias. UNAM.*
54. Van der Merwe, M. 1982. Histological study of implantation in the Natal clinging bat (*Miniopterus schreibersii natalensis*). *J. Reprod. Fert.* 65:319-323.

55. Wango, E. O.; R. B. Heap and F. B. P. Wooding. 1991. Progesterone and 5beta-pregnenediol production by isolated fetal placental binucleate cells from sheep and goats. *J. Endocr.* 129:283-289.
56. Wango, E. O.; R. B. Heap and F. B. P. Wooding. 1992. Regulation of steroid synthesis and metabolism in isolated binucleate cells of the placenta in sheep and goats. *J. Reprod. Fert.* 94:203-211.
57. Watkins, L. C., J. K. Jones, Jr., and H. H. Genoways. 1972. Bats of Jalisco, México. Special Publications, *The Museum, Texas Tech University*, 1:1-44.
58. Wilson, D. E., R. A. Medellin, D.V. Lanning, y H. T. Arita. 1985. Los murciélagos del noreste de México, con una lista de especies. *Acta Zoológica Mexicana nueva serie*, 8:1-26.
59. Wimsatt, W. A. 1945. Notes on breeding behavior, pregnancy and parturition in some vespertilionid bats of the eastern United States. *J. Mammal.* 26:23-33.
60. Wimsatt, W. A. 1954. The fetal membranes and placentation of the tropical American vampire bat. *Desmodus rotundus murinus*. *Acta Anat.* 21: 285-341.
61. Wimsatt, W. A. 1958. The allantioc placental barrier in Chiroptera: a new concept of its organization and histochemistry. *Acta Anat.* 32: 141-186.
62. Wimsatt, W. A. 1962. Some aspects of the comparative anatomy of the mammalian placenta. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 84:1568-1594.
63. Wimsatt, W. A. 1979. Reproductive asymmetry and unilateral pregnancy in chiroptera. *J. Reprod. Fert.* 56:345-357.
64. Wimsatt, W. A., and A.C. Enders. 1980. Structure and morphogenesis of the uterus, placenta and paraplacental organs of the non-tropical disk-winged bat *Thyroptera tricolor* Spix (Microchiroptera: Fam. Thyropteridae). *Am. J. Anat.*, 159:209-243.

65. Ziche, M., Maglione, D., Ribatti, D., Morbidelli, L., Lago, C. T., Battisti, M., Paoletti, O., Barra, A., Tucci, M., Parise, G., Vincenti, V., Granger, H. J., Viglietto, G., and Persico, M.G. 1997. *Placenta growth factor-I is chemotactic, motogenic, and angiogenic*. Lab. Invest. 76:517-531.

ANEXO 1



Características reproductivas estacionales de la Familia Vespertilionidae (Tomado de Rowlands, 1984) Después del periodo de hibernación se presenta la ovulación, por lo que se dice que ésta última se retarda.

ANEXO 2.

PREPARACION DEL FIJADOR BOUIN

- BOUIN
- Para preparar 100 ml.
 1. Formol 10% 25 ml
 2. Acido pícrico saturado 75 ml
 3. Acido acético glaciado 10 gotas

ANEXO 3.

PREPARACIÓN DEL MEDIO DE INCLUSIÓN EPON (según PELCO)

(CAT. 18009)

Mezcla "A"		Mezcla "B"	
MEDCAST	50 ml	MEDCAST	50 ml
DDSA	81 ml	NMA	44 ml

- Se toman 7.0 ml de la mezcla "A" y se le agregan 3.0 ml de la mezcla "B".
- DMP -30 (catalizador) 0.15 ml.

NOTA. El EPON se prepara y se usa a temperatura ambiente cerca de una lampara. Las mezclas deben guardarse en refrigeración.

ANEXO 4.

PROCEDIMIENTO DE TINCION CON HEMATOXILINA-EOSINA

Desparafinar

1. Xilol 10 min
2. Xilol "
3. Xilol, alcohol 1:1 100% 5 min
4. Alcohol 100% "

5.	"	96%	"
6.	"	90%	"
7.	"	70%	"
8.	"	50%	"
9.	Agua destilada		"
10.	Hematoxilina de Harris		1 min.
11.	Lavar con agua de la llave hasta que vire el colorante		
12.	Lavar con solución alcohólica		
1.	Lavar con carbonato hasta que cambie de color		
2.	Agua destilada		
3.	Alcohol 70% entrada por salida		
4.	Eosina alcohólica		1 min.
5.	Alcohol 96%		5 min
6.	"	96%	"
7.	"	100%	"
8.	Alcohol 100% xilol 1:1		"
9.	xilol		10 min
10.	xilol		"
11.	Montar		

ANEXO 5.

PROCEDIMIENTO DE TINCION CON TRICROMICA DE MASSON

1. Desparafinar e hidratar
2. Solución de Bouin en la estufa durante 1 hr. A 56°C o durante 24 hr. A temperatura ambiente. (Se puede saltar este paso si el órgano se fija en Bouin)
3. Lavar en agua corriente hasta que el color desaparezca
4. Lavar en agua destilada
5. Hematoxilina férrica 30 seg- 1min.
6. Lavara en agua corriente de 10-15 min

7. Lavar en agua destilada 1 min
8. Solución escarlata de Briebrich 2 min
9. Lavar en agua destilada hasta que desaparezca el color rosa.
10. Solución ácido fosfotungstico -fosfomolibdico 8 min
11. Solución de anilina 1-2 min
12. Lavar en agua destilada
13. Solución de agua acética al 1% 3 min
14. Deshidratar al alcoholes a partir del 70%, 96% y 100%
15. Xilol-alcohol 100% 1:1 10 min
16. Dos cambios de xilol durante 10 min cada uno.
17. Montar

Esta técnica permite Observar:

- Núcleos celulares en negro
- Fibras intercelulares en rojo
- Citoplasma celular en rosa

ANEXO 6.

PROCEDIMIENTO DE TINCION CON PAS (REACCION ACIDO PERYODICO-SCHIFF)

1. Desparafinar e hidratar hasta agua destilada
2. Acido peryódico 5% 5 min
3. Lavar en agua destilada 3 veces
4. Reactivo de Schiff 30 min- hasta 1 hr
5. Lavados de Mezcla sulfurosa
6. Lavar en agua corriente hasta que tome un color rosa
7. Hematoxilina de Harris 1 min o con Picro Indigo Carmin 1-2 min
8. Lavar en agua corriente
9. Lavar con agua destilada
10. Diferenciar en Alcohol ácido (entrada por salida varias veces)

11.Lavar en agua corriente o agua destilada

12.Deshidratar, aclarar y Montar.

Con esta técnica es posible observar:

- El glucógeno, membrana basal, mucina y colágena en rosa
- Núcleos celulares en azul

PREPARACION DE LAS SOLUCIONES:

MEZCLA SULFUROSA

- Agua destilada 180 ml
- Metabisulfito de Na al 10% o bisulfito de Na al 10% 10 ml
- Acido clorhídrico 1N 10 ml

ACIDO CLORHIDRICO 1N

- HCL 2.7 ml
- Agua destilada 90 ml

ACIDO PERYODICO 0.5 %

- Acido peryódico 0.5 gr
- Agua destilada 100 ml