

47
2ij



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Estudio Morfométrico e Histológico del
Oviducto de Pollo Recién Nacido, tratado
en Etapa Prenatal con Hormonas
Gonadotropicas

T E S I S

Que para obtener el título de

B I O L O G O

P r e s e n t a

Andreu Paloma Dondé Espinal

FALLA DE ORIGEN



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 está 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

Resumen.....	1
Antecedentes	
I. Hipotalamo	
A) Anatomía.....	2
II. Hipofisis	
A) Anatomía.....	2
B) Embriología.....	3
C) Irrigación sanguínea.....	4
D) Inervación.....	5
III. Eje hipotálamo-hipofisis.....	5
IV. Control hormonal.....	6
A) Hormonas gonadotrópicas.....	7
B) Mecanismos de acción.....	12
C) Efectos sobre el oviducto.....	14
V. Oviducto	
A) Desarrollo embriológico.....	18
B) Anatomía.....	24
C) Infundíbulo.....	27
D) Magnum	
a) Anatomía.....	28
b) Histología.....	28
E) Isthmo.....	30
F) Utero.....	30
G) Vagina.....	31
Hipótesis.....	32
Objetivo de trabajo.....	33
Materiales y Métodos.....	34
Resultados.....	37
Discusión.....	41
Conclusiones.....	46
Bibliografía.....	47

RESUMEN

El ovario es capaz de sintetizar sus propias hormonas esteroides. debido a la accion de las hormonas gonadotropicas (Luteinizante y Foliculo estimulante), estas hormonas esteroides a su vez actuan sobre varios organos, entre los que se encuentra el oviducto.

El oviducto en las aves, se subdivide internamente en 5 zonas: infundibulo, magnum, istmo, útero y vagina. El magnum es la porcion más larga, siendo este el encargado de sintetizar aproximadamente el 40% del total del albumen del huevo.

En el presente trabajo se determinaron los cambios morfometricos e histologicos en el oviducto de pollos recién nacidos al ser tratados "in vivo" con Pergonal (LH y FSH), con 2 dosis 1 μ g y 25 μ g en los dias 13, 15 y 17 de incubacion. 24 horas despues del nacimiento los pollitos se sacrificaron, disecandose el oviducto izquierdo tomando la porcion cefálica del magnum, para ser procesada por la tecnica histológica de Hematoxilina-Eosina. Se realizaron observaciones histológicas, así como un estudio morfometrico con un sistema de procesamiento digital de imágenes (BIOCOM 2000).

Para la dosis de 1 μ g de Pergonal la morfometria reveló que se induce a una mayor division celular en la mucosa del magnum, así como un ligero aumento en el area total debido principalmente al aumento en el área de la pared y área de la luz

la dosis de 25 μ g de pergonal provoco un considerable aumento en el area total, debido a un incremento notable en el área de la luz, así como un estroma edematoso.

Con base en estos resultados se concluye que: Los oviductos de embriones de pollo responden a cambios de las hormonas esteroides producidas por el tejido ovarico en respuesta a las hormonas gonadotropicas con un aumento en el area de la luz y un incremento en la densidad celular de la mucosa del magnum, siendo una respuesta estrogenica.

ANTECEDENTES

I. HIPOTALAMO.

A) ANATOMIA. El hipotálamo es la parte del diencefalo situada en el piso del tercer ventriculo, detras del quiasma optico y por delante del borde posterior de los tuberculos mamilares. Presentando en la parte inferior una conexión hacia la hipofisis posterior, a través del tallo hipofisiario (Malacara, 1990).

Huber y Crosby (1929) reconocieron distintos grupos de células ganglionares alargadas en el hipotálamo anterior. Estas observaciones fueron confirmadas en 1935 por Kurotsu, identificandose a estos grupos de células como los núcleos paraventricular y supraoptico (Bell y Freeman, 1971).

Fueron observados en aves dos importantes tractos nerviosos eferentes hipotalámicos, el tracto supraopticohipofisial y el tracto tuberohipofisial. Consisten en axones que se proyectan desde el núcleo supraóptico y el núcleo paraventricular. Las fibras de este tracto pasan por un lado del lobulo neural y en parte por la eminencia media. El tracto tuberohipofisial esta formado por fibras que provienen desde el núcleo infundibular y posiblemente por fibras que surgen del núcleo ventromedial (Bell y Freeman, 1971).

II. HIPOFISIS.

A) ANATOMIA. La hipofisis es también conocida como Glándula Pituitaria, situada en una depresión en forma de silla de montar del hueso esfenoides (silla turca), posterior al quiasma óptico y al piso del diencefalo. Comprende un lobulo anterior -adenohipofisis que es la parte glandular y un lobulo posterior -neurohipófisis- o parte

nerviosa, no presentando en las aves lobulo intermedio como en los mamíferos, están separados ambos lobulos por una pared de tejido conjuntivo. El infundibulo y el tallo hipofisiario se comunican con el tercer ventriculo del cerebro.

B) EMBRIOLOGIA.

La adenohipófisis deriva del epitelio oral que sufre una invaginacion ascendente, que da origen a la llamada bolsa de Rathke; mientras que la neurohipófisis se origina por una evaginacion descendente de la base del diencéfalo (Fig. 1).

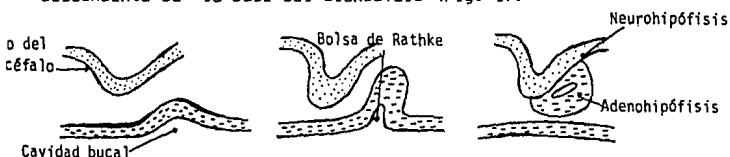


Fig. 1. Embriología de la pituitaria
(Bell y Freeman, 1971).

La adenohipófisis ha sido estudiada por numerosos investigadores, que concuerdan con la existencia de 2 áreas citológicamente diferentes llamadas áreas caudal y cefálica respectivamente. La adenohipófisis presenta por lo menos 3 tipos celulares: cromóforas, acidófilas y basófilas de acuerdo con su morfología y reacción en la tinción. Las células basófilas son de forma alargada, elipsoidales o esféricas, con un núcleo generalmente central (Tixier-Vidal, 1968). A su vez este mismo investigador divide a estas células en 2 tipos: tipo I y tipo II, las de tipo I son altamente PAS positivas; mientras que las del tipo II permanecen rosas con el colorante de azul de alciano, tiñéndose de color verde-pardo con la fucsina aldehído verde; las células de tipo I son las responsables de la secreción de la hormona

Foliculo estimulante (FSH) las de tipo II secretan tirotrófina (TSH), cuyo sitio de acción es la tiroide. Las llamadas células de tipo III, presentan afinidad por ambos tipos de tinciones básicas y ácidas, son células pequeñas ligeramente elongadas o cuboidales, con un núcleo largo y poco citoplasma, secretan Hormona luteinizante (LH). Se identifican a su vez 2 tipos de células acidófilas: Del tipo IV, o cromófilas, son pequeñas, esféricas con un núcleo central, siendo luteotrópicas (secretoras de prolactina, también llamada Lactogena o LTH), que en los mamíferos se activa en el periodo de lactancia actuando directamente en las mamas, en las gallinas posiblemente están asociadas con el termino del empollamiento. Las células del tipo V son largas, esféricas o elipsoidales, con un núcleo central, con gran cantidad de granulos, se restringen casi exclusivamente al área caudal, son células somatotróficas (secretoras de la hormona del crecimiento o GH), cuyo sitio de acción son los discos epifisarios del tejido esquelético.

Las células cromóforas se tiñen débilmente, son pequeñas, redondas o poligonales con poco citoplasma, los límites celulares no se advierten fácilmente, el citoplasma carece de granulos específicos, en aves son las células de reserva de las células básicas y las ácidas.

C) IRRIGACION SANGUINEA. Green en 1951 describe la circulación sanguínea en aves, indicando que las arterias hipofisarias superiores irrigan a la red primaria de capilares de la eminencia media. Los vasos sanguíneos portales colectan la sangre desde este plexo y pasan de manera descendente al lóbulo anterior. Extendiéndose más tarde a manera de abanico en todas direcciones (redes secundarias capilares) y drenan el interior de las venas sinusoides, alrededor de la glándula.

D) INERVACION. El abastecimiento nervioso de la hipófisis de las aves, fue estudiado por Drager (1945), quien trabajó con pollos. Él utilizó piridina en sus preparaciones, observando un paquete conspicuo de fibras nerviosas descendentes en la parte inferior de cada pared lateral del tercer ventrículo. Las fibras de cada uno de los lados convergen en el piso del tercer ventrículo pasando posteriormente al tallo hipofisial.

III. EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS.

La estructura y fisiología de este complejo ha creado gran interés, debido a los aspectos de su funcionamiento. Las partes que integran a este sistema, son células neurosecretoras del hipotálamo (núcleo supraóptico, núcleo paraventricular y núcleo infundibular) y los axones de dichas células que forman tractos fibrosos (hipofisial supraóptico, hipofisial paraventricular y el tracto tubero-hipofisial). Estos 3 tractos también poseen ramificaciones en el interior de la eminencia media (Benoit, 1962).

Los núcleos supraópticos y paraventriculares varían considerablemente en sus características morfológicas en las diferentes especies de aves (Farner y Oksche, 1962).

En embriones jóvenes la producción de esteroides es estimulada por la hipófisis, estableciéndose el eje hipotálamo-ovario, aproximadamente en la mitad del tiempo de incubación (Benoit, 1962).

En 1956 por medio de experimentos de hipofisectomía se demostró la presencia de las células gonadotróficas en la hipófisis, aproximadamente desde los 14 días de incubación, y la aparición de los primeros granulos neurosecretores gonadotrópicos, se presenta a partir de los 12 a los 14 días de incubación.

Las células neurosecretoras producen su secreción que se conduce por axones que migran hacia abajo extendiéndose directamente en el lóbulo posterior (Dräger, 1945; Benoit, 1962). Las evidencias del material neurosecretorio hipotalámico en las aves, alcanza al lóbulo anterior, y lo estimula para liberar hormonas como en los mamíferos. No es muy claro el aspecto de la circulación sanguínea vesicular del eje hipotálamo-hipofisis. En las aves muchos de los tractos fibrosos proveen de vasos sanguíneos a los plexos capilares primarios de la eminencia libre (Okamoto e Ihara, 1960) Estas vesículas transportan la secreción hacia el lóbulo anterior (Green, 1951).

El material neurosecretor presenta especial afinidad por ciertos colorantes, como la hematoxilina-floccina o la fucsina aldehídica (Técnica de Gomori). Okamoto e Ihara (1960) dicen que el material neurosecretorio se extiende por la adenohipófisis desde el lóbulo neural vía directa.

IV. CONTROL HORMONAL. Las hormonas son unas sustancias producidas por distintas glándulas, que en cantidades minúsculas actúan como mensajeros químicos al ser transportadas por la sangre hasta los "órganos blanco" (Lehninger, 1987).

La regulación de algunos procesos biológicos vitales, como son: mecanismos de crecimiento, desarrollo y reproducción; están a cargo de las hormonas (Lemus y Pérez-Palacios, 1990).

Cuando el hipotálamo recibe mensajes nerviosos específicos, secreta minúsculas cantidades de hormonas denominadas factores liberadores, los cuales por medio de fibras nerviosas llegan a la adenohipofisis, donde "disparan" la liberación de una hormona específica; también secreta otras sustancias parecidas a las hormonas, llamadas factores

inhibidores, las que inhiben la liberación de las hormonas de la hipófisis (Lehninger, 1987). Las hormonas liberadas de la adenohipófisis pasan por la sangre hasta las glándulas específicas (Malacara, 1982). Las gonadas son estimuladas por las llamadas hormonas gonadotropicas, para producir sus hormonas características que a su vez actúan finalmente sobre varios tejidos que son sus blancos (Lehninger, 1987). (Fig. 2).

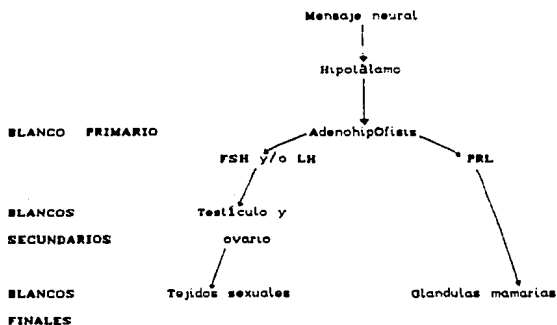


Fig. 2. Organización jerárquica de la regulación endocrina bajo control del hipotálamo.

A) HORMONAS GONADOTROPICAS. Son denominadas hormonas gonadotropicas (trope = cambio). El nombre alude a la orientación de la secreción hipofisiaria hacia las gonadas, que a su vez producen sus hormonas características, que actúan finalmente sobre varios tejidos, que son los órganos blanco finales (Fig. 2). (Jolmes, 1984); constituye una alternativa el nombre de hormonas gonadotróficas o gonadotrofinas (trophe = nutrición). (Barrington, 1970).

Las hormonas gonadotropicas son 3: .FSH, recibe este nombre debido a que favorece el desarrollo de los folículos ováricos (Barrington,

1970), y activa el epitelio seminifero del testiculo para producir espermatozoides en el macho, en la hembra con la LH provoca la maduración final del folículo (Junqueira y Carnero, 1983); LH, conocida tambien como hormona estimulante de las celulas intersticiales (ICSH), si bien se utilizo mas el primer nombre. Esta hormona no produce efectos gonadotropicos en hembras inmaduras (Barrington, 1970); en hembras maduras completa el ciclo reproductor, provocando la ovulación y luteinización de los folículos que han alcanzado la etapa apropiada (Ham y Cormak, 1983). Favorece en ambos sexos el desarrollo del tejido intersticial de las gonadas (Junqueira y Carnero, 1983). Produce un crecimiento de los organos accesorios del macho, pero no afecta a los de la hembra, ya que el estrógeno lo segregan los folículos y no las celulas intersticiales (Barrington, 1970).

La FSH y la LH son Glucoproteínas con un peso molecular de 25,000 - 30,000 y con un 15 - 18% de carbohidratos (Barrington, 1970; Murton y Westwood, 1977). Hasta hoy la composición química de las gonadotropinas en las aves no es conocida por completo, sin embargo, la comparación con las gonadotropinas de los mamíferos es valida (Epple y Stetson, 1980).

Se reporta para mamíferos (Flores y Peña, 1990):

HORMONA	Tabla 1 PESO MOLECULAR	AMINOACIDOS
Glucoproteínas LH α β	29,000	204
FSH α β	29,000	204
PRL α β	29,000	201

Las 3 gonadotropinas están formadas por 2 subunidades, la subunidad α y la subunidad β , cuando están separadas las 2 subunidades son inactivas (Barrington, 1970). La subunidad β es la que les confiere especificidad biológica (Flores, 1990).

Los primeros trabajos para separar a las gonadotropinas en las aves (LH y FSH), a partir de fracciones de la hipófisis en los pollos se hicieron utilizando extractos de gonadotropinas de mamíferos; las hipófisis fueron tratadas con acetona seca, pulverizandolas después con 6% de acetato de amonio (pH 5.1) y 40% de etanol; separando las fracciones de glucoproteínas por cromatografía utilizando una columna de CM-celulosa con un gradiente de acetato amoniacal; otra técnica empleada es purificando ambas glucoproteínas hipofisarias con cromatografía de DEAE-celulosa; de acuerdo a estos trabajos tanto las gonadotropinas de las aves, como las de los mamíferos, presentan básicamente las mismas propiedades químicas; sin embargo, se desconoce si sus efectos biológicos también lo sean (Murton y Westwood, 1977).

Barrington (1970), reporta que las hormonas FSH y LH son menos potentes que las presentes en los mamíferos. La FSH y la LH

purificadas son menos activas que los extractos crudos de gonadotropinas (Hartree y Cunningham, 1971); así el problema para esclarecer la homología entre las gonadotropinas de las aves y las de los mamíferos, esta aún poco clara (Sturkie, 1965a). Tanto la FSH, como la LH obtenidas a partir de fracciones de la hipófisis de pollos, estimulan el crecimiento gonadal en pollos jóvenes (Murton y Westwood, 1977).

En 1970 Cunningham, trató de medir las gonadotropinas en el plasma de las aves por medio de sistemas de radioinmunoensayos, utilizando antígeno marcado con 125 en preparaciones purificadas de pollo.

Se ha tratado de explicar el por que de las diferencias en la composición química de la respuesta de la hipófisis de las aves, con las gonadotropinas de los mamíferos, sugiriendo que la LH de las aves presenta características químicas diferentes a la de la LH de los mamíferos, o bien que la hipófisis de las aves secreta 2 tipos de LH con diferentes funciones. Otra explicación es que las diferencias se deben a otros factores, como sería una inactivación inmunológica, ya que es muy probable que una inyección prolongada de gonadotropinas de mamífero puedan inducir la formación de anticuerpos en las aves que inhiban la actividad de las hormonas de los mamíferos (Barrington, 1970).

La inyección de FSH purificada de hipófisis de pollo, en la hipófisis de la lagartija hembra, produce el desarrollo de los folículos ováricos, ovulación y extensión del oviducto (Hartree y Cunningham, 1971).

La administración de anovulatorios (barbitúricos) en aves, provoca que

no se desarrollen las crestas en los gallos, y que los ovarios y oviductos de las gallinas sufran regresión (Sturkie, 1965a). El mantener el desarrollo de las crestas y los oviductos, implica una continua secreción de andrógenos y estrógenos desde el testículo y el ovario respectivamente, secreciones que a su vez dependen del suministro de gonadotropinas (LH y FSH) por parte de la hipófisis (Barrington, 1970).

Se asume que la inhibición de la neurosecreción del magnum provoca que no sea liberada suficiente cantidad de hormona inductora de la ovulación; sin embargo, esto ha sido descartado, ya que se descubrió que la ovulación continúa normalmente, aún en ausencia del oviducto (Epple y Stetson, 1980).

Lesiones ocasionadas por estímulos eléctricos, esencialmente en la región dorsocaudal del hipotálamo provocan la inhibición de la ovulación y la regresión de los ovarios y oviductos (Hartree y Cunningham, 1971).

Existen 3 técnicas generales para determinar la presencia y acción de las hormonas de la hipófisis en aves: 1) administración de hormonas en animales intactos; 2) hipofisectomía; 3) terapias de reemplazo (Farner, 1973). Cuando la hipófisis es removida quirúrgicamente, se observan efectos en otros órganos; así como alteraciones en el comportamiento fisiológico (Sturkie, 1965a). La hipofisectomía tanto en aves inmaduras, como en maduras produce atrofia en las gonadas, regresión de los órganos accesorios reproductivos y cambios característicos en el plumaje (Barrington, 1970). Similares efectos son observados cuando las conexiones entre el lóbulo anterior de la hipófisis y la eminencia media son separados; o bien cuando la

adenohipofisis es transplantada a la capsula del riñon (Hartree y Cunningham, 1971). Los efectos de la hipofisectomia pueden ser invertidos inyectando a los individuos hipofisectomizados diariamente extractos de adenohipofisis de pollo (Sturkie, 1965a).

La liberación de la LH desde la adenohipofisis de pollo ocurre a las 6 u 8 horas antes de la ovulación (Sturkie, 1965a).

La FSH y la LH estan presentes en la adenohipofisis en embriones de pollo desde el día 18 de su desarrollo (Farner, 1973).

Todos los trabajos que emplean ratas y pollos en sus metodos, para sus estudios, reportan diferencias en hembras y machos en la potencia de la FSH y la LH de la hipofisis, con una mayor potencia en los adultos machos (Hartree y Cunningham, 1971).

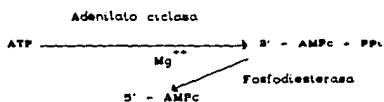
Es bien conocido que estímulos luminosos de la hipófisis provocan la liberación de las hormonas gonadotropicas (Sturkie, 1965a).

Un incremento en los niveles de la circulación de hormonas esteroides producidas por los organos blanco de las gonadotropinas, provoca que exista un descenso en la producción de los factores hipotalamicos liberadores; que a su vez causa un descenso en la producción de hormonas gonadotropicas (Farner, 1973).

La tercera hormona gonadotropica es la prolactina, lactógena o PRL, esta hormona causa la secreción de leche en los mamíferos y la secreción de la misma en el buche de las palomas "Leche de pichon", en los pollos provoca el empollamiento (Sturkie, 1965b).

B) MECANISMOS DE ACCION. Las gonadotropinas por ser hidrosolubles no pueden difundir fácilmente a través de la barrera lipidica que ofrece la membrana plasmatica de sus células efectoras, por lo que requieren interaccionar directamente con receptores localizados en la

superficie celular externa (Lemus y Pérez-Palacios, 1990). Una vez que la gonadotropina se une al receptor específico, provoca un estímulo para que el ATP sea convertido a nivel intracelular en ácido 3', 5'-ciclo-adenilico-monofosfato (AMPC) (Korenman y Krall, 1983). El ATP se convierte en AMPC con pérdida de pirofosfato inorgánico, a través de la acción del adenilato ciclasa que requiere Mg^{++} como cofactor:



El AMPC puede ser inactivado rápidamente por la acción de enzimas específicas, la fosfodiesterasa, que hidroliza el enlace éster de la posición 3', formando monofosfato 5' de adenosina (5'-AMP) (Lemus y Pérez-Palacios, 1990).

El adenilato ciclasa está unido a la membrana plasmática de las células blanco de las hormonas gonadotrópicas (Korenman y Krall, 1983).

La interacción de la hormona con su receptor resulta por la activación del adenilato ciclasa (Barrington, 1970). Este proceso es regulado por macromoléculas peptídicas presentes en la membrana, denominadas proteínas G, por su capacidad de unión al trifosfato de guanosina (GTP) (Lemus y Pérez-Palacios, 1990).

El AMPC regula una diversidad de procesos metabólicos celulares (Lehninger, 1983).

En el caso de la FSH y la LH éstas se unen a receptores en las células del ovario, y sus efectos están mediados por mecanismos que abarcan

nucleótidos cíclicos (AMPC) (Catt, 1977).

En el ovario las células blanco para la FSH son las células foliculares, cuyo crecimiento y maduración resultan favorecidos. La LH estimula la producción de progesterona por el cuerpo lúteo al incrementar la conversión del colesterol a pregnenolona, que se requiere también para el proceso de la ovulación (Feling, 1983).

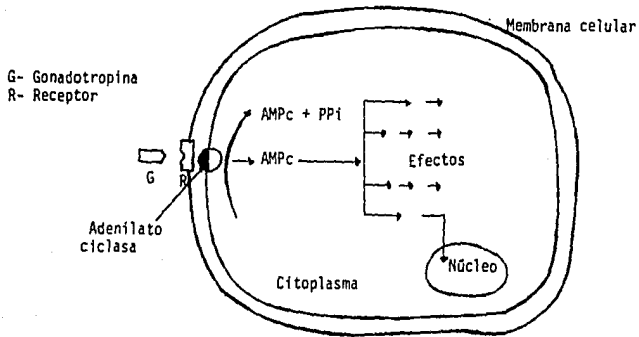


Fig.3. Modelo general del mecanismo de acción de las gonadotropinas (Lehninger, 1987).

C)EFECTOS SOBRE EL OVIDUCTO. Como ya se mencionó anteriormente las gónadas poseen receptores para la captación de las hormonas gonadotrópicas a nivel de su membrana plasmática, que a su vez las estimulan para producir sus hormonas características (Fig.2). El sistema enzimático del ovario le permite sintetizar a partir del

colestero! hormonas esteroides (andr6genos, progesterona y estr6genos), todo ello bajo la acci6n de 2 de las hormonas gonadotropicas (LH y FSH) (Zarate y Rull, 1981).

La LH de las c6lulas tecales del ovario, promueve la sntesis de andr6genos, que posteriormente son convertidos a estr6genos en la granulosa (proceso de aromatizaci6n) bajo la acci6n de la FSH, que en conjunto con el estradiol, activa a las enzimas responsables de la producci6n de progesterona (Cabeza de Flores, 1990).

Las hormonas FSH y/o la LH, parecen jugar un papel muy importante en el control del metabolismo en el ovario. La administraci6n de hormonas gonadotropicas de mamiferos a gallinas j6venes incrementa el peso de la medula ov6rica y la secreci6n del estr6geno (Nalbandov y Card, 1946).

Los estr6genos estimulan el desarrollo del sistema del conducto de Muller, adem6s se sabe que la liberaci6n de hormonas gonadotropicas a partir de la hip6fisis, y la acci6n combinada del estr6geno y la progesterona (y probablemente tambi6n del andr6geno) son un estimulo para la secreci6n de alb6mina por el oviducto (Barrington, 1970).

Los efectos de las hormonas esteroides en la reproducci6n son muy extensas. Todo ello bajo control de la funci6n ov6rica, principalmente a trav6s de la v6a hip6talamo-hip6fisis-ovario. El crecimiento del oviducto y otros aspectos en su funci6n son afectados por estas hormonas. As6 el estr6geno y la progesterona, estan involucrados en la sntesis de alb6mina (Gilbert y Lake, 1963).

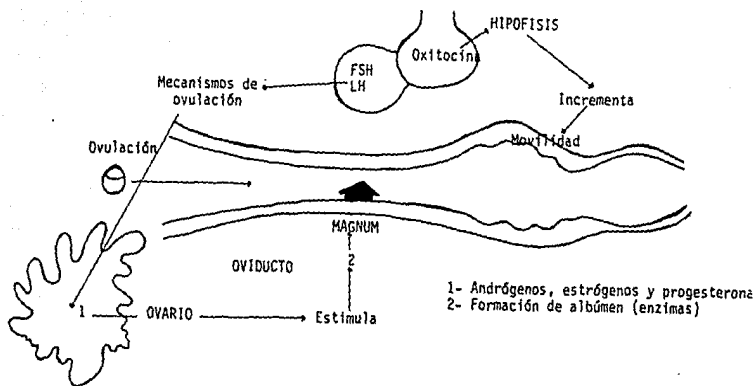


Fig. 4. Hormonas relacionadas con la función del oviducto (Gilbert, 1971).

Las hormonas esteroides penetran a sus células blanco, (entre las que se encuentran las células del magnum del oviducto) por difusión, y se acoplan a receptores proteicos citoplasmáticos, formándose un complejo hormona-receptor, que sufre translocación termodependiente al núcleo donde existen sitios aceptores cromatínicos (Zarate y Rull, 1981). En el conducto de Muller el receptor citoplasmático del estrógeno es un dímero 8S que consta de 2 subunidades 4S. Cuando la hormona se une al receptor citoplasmático pasa a la forma 5S que se transloca al

núcleo. (Feling, 1983).

En estas células se detecta la presencia de receptores citoplasmáticos y nucleares a estradiol desde el día 8 de incubación, mientras que la translocación ocurre a partir del día 10 de incubación, obteniéndose la máxima a los 15 días (Teng, 1980).

Las propiedades de los receptores para progesterona se han estudiado extensamente en oviductos de pollo inmaduro; en esta estructura, el estrógeno promueve la diferenciación de las células de las glándulas tubulares que secretan las proteínas principales de la clara de huevo en el magnum (ovoalbúmina, conalbúmina y lisozima) y estimula la formación de receptores para progesterona. Al suprimirse el estrógeno, cesa la síntesis de ovoalbúmina, pero se inicia de nuevo con el tratamiento con estrógeno o con progesterona (Feling, 1983).

En el desarrollo del oviducto, el estrógeno regula especialmente la transcripción del gen de la ovoalbúmina, siendo muchos de sus efectos mediados por el receptor de la progesterona (PR), así es conocido que el estrógeno induce la síntesis de PR en el oviducto (Hara, "et al" 1986).

Joensu (1990) concluye: a) El efecto del estrógeno es requisito para la expresión del PR en las células de la mucosa del magnum, pero no de otro tipo celular. Una vez en la mucosa el PR juega un papel muy importante en la diferenciación epitelial y, b) La interacción del estrógeno y la progesterona en la expresión del PR, se reduce únicamente al efecto del estrógeno.

Los andrógenos originados en el ovario, están involucrados en la maduración del oviducto (Gilbert, 1969).

En el magnum de las hembras y los machos intersexuales, tratados con

testosterona y posteriormente con estradiol (0.1 μ g) en las etapas embrionarias y postnatal inmediata, se observan glándulas secretoras de albumen con granulos diferentes a los de los animales maduros. lo que podría indicar la presencia de ciclos secretorios activos (Rahil y Narbaitz, 1972).

Las glándulas tubulares en respuesta al estrógeno, se desarrollan antes del día 10 de incubación en el conducto de Muller (Teng, 1980).

La diferenciación de las glándulas tubulares en el oviducto, se observa después de la administración de estrógeno y progesterona (Palmiter y Wrenn, 1971).

La diferenciación del oviducto es precedida de una marcada vascularización de la capa submucosa, seguida de una invasión del PR en las células del músculo liso y de sus arterias, esto sugiere que la vascularización es estimulada por el estrógeno. Muchos efectos de las hormonas esteroides en la diferenciación y regulación de la síntesis proteica, pueden estar mediados vía células del músculo liso y de la pared arterial (Joensu, 1990).

Se considera muy probable que el oviducto puede sintetizar estrona, 17β - estradiol y dehydroepiandrosterona (Raud y Hobkirk, 1968).

V.OVIDUCTO.

A)DESARROLLO EMBRIOLOGICO. Algunas estructuras sexuales son un instrumento en el transporte de las células germinales formadas por las gónadas. Una de las primeras diferencias detectables entre hembras y machos en los embriones de las aves, es la asimetría de sus gonadas. En los pollos esta asimetría sexo-dependiente es perceptible desde los 7 días de edad embrionaria, cuando las diferencias en las tallas entre los ovarios en los embriones es muy grande, es tambien en este

momento que las diferencias histológicas entre las gonadas de las hembras y los machos, puede ser claramente reconocible (Sthal y Carlon, 1973).

Lo más común es que el crecimiento gonadal sea estimado por medidas en el incremento en el peso (Romanoff, 1967). Estos resultados no son muy confiables para embriones jóvenes, cuando las gonadas son muy pequeñas. Teng y Teng (1977) reportan proteínas, ARN y ADN determinadas en ovarios de embriones de pollo. La falta de información sobre las gonadas y los estados de desarrollo (días de incubación 8-18), provoca el desconocimiento de la diferenciación sexual de las gonadas en momentos críticos (Gasc, 1978).

Las cantidades de proteínas de ADN en las gonadas de los embriones de pollo se incrementa progresivamente entre los días 6 y 11 de incubación (Gasc, 1978).

Mittwoch y Cole (1971) muestran que a los 5 días de incubación, el volumen de las gonadas izquierdas es mayor que el de las derechas, en ambos sexos.

El conducto de Wolffman en los machos y el de Muller en las hembras, están ambos presentes en los 2 sexos en estados tempranos de desarrollo. Antes del nacimiento los conductos de Wolffman degeneran en las hembras, ocurriendo lo mismo con el conducto de Muller en los machos. El tubérculo genital así mismo está presente en ambos sexos y durante la embriogénesis sufre una regresión en las hembras y se desarrolla en los machos de manera posterior como pene u órgano copulador (Wolff y Ostertag, 1950).

El conducto de Muller es derivado del cordón urogenital, en los machos permanece como estructura rudimentaria y desaparece; en las hembras en

el lado izquierdo se transforma en un oviducto completamente bien desarrollado; mientras que el conducto del lado derecho degenera. En los pollos el cordón urogenital o zona del peritoneo que es la precursora del conducto, primero aparece en el extremo anterior del mesonefros al cuarto día de incubación. Primeramente el conducto es una invaginación de la cubierta epitelial del cordón urogenital. La parte anterior de dicha invaginación permanece abierta a nivel del ostium, el cual comunica con la cavidad celómica. El resto de la invaginación permanece cerrada hasta el quinto día de incubación, siendo al onceavo día cuando el conducto se extiende en la cloaca (Gasc, 1978).

El desarrollo del conducto de Muller en los embriones macho de pollo, cesa en el onceavo día de incubación, siguiendose una inmediata regresión, que se completa al duodécimo día de desarrollo (Wolff y Wolff, 1951). Wolff (1953) fundamenta que las hormonas masculinas secretadas, determinan directamente la necrosis del conducto de Muller, desapareciendo completamente por la acción de enzimas proteolíticas, cuya presencia fue detectada "in vitro" por métodos ultra-microquímicos y citoquímicos.

En las hembras de los pollos el desarrollo del conducto de Muller cesa alrededor del octavo día en el lado derecho, siguiendose de una degeneración. La luz se pierde y el conducto se reduce y desaparece desde el extremo anterior, quedando residuos de dicha estructura en la región de la cloaca. Stoll (1944) afirma que ambos conductos en el crecimiento de pollo permanecen hasta el onceavo día, y que el conducto derecho inicia su regresión después del duodécimo día. La regresión del conducto derecho tiene lugar entre el noveno y el

decimosexto día de incubación en los pollos y patos (*Anas platyrhynchos*) (Lutz-Ostertag, 1954). La siguiente tabla muestra los datos del desarrollo del conducto de Muller en los embriones hembras de pollos (Romanoff, 1960).

Tabla 2

Periodo de incubación	Longitud del oviducto izquierdo (mm)	Longitud del oviducto derecho (mm)
9	7.7	7.7
11	9.3	9.2
12	11.6	8.8
14	16.0	6.4
16	16.7	6.4
18	24.9	6.7
21	30.9	9.8
Nacimiento	35.5	9.3

La baja síntesis proteica y de ADN en el ovario y oviducto derecho, produce la regresión de estos despues del día 11 de incubación (Gasc, 1978).

En el día sexto de incubación en los pollos, el ovario izquierdo presenta baja síntesis de ADN esto es paradójico, ya que en lossiguientes días de desarrollo embrionario el ovario izquierdo empieza a crecer más que el derecho, así la síntesis decrece de golpe en las gónadas, excepto en el ovario izquierdo (Gasc, 1978).

Los diferentes modelos de crecimiento muestran que en el desarrollo temprano, los mecanismos de crecimiento estan controlados por el sexo genético. Entre estos mecanismos el más importante es la síntesis de ADN (Gasc, 1978).

La influencia de las hormonas esteroides en la diferenciación de los conductos de Muller es tema de numerosas investigaciones. Cuando los esteroides cristalinos son inyectados en huevos fértiles, producen modificaciones en los conductos de Muller. Wolff y Giglinger (1935),

muestran que al inyectar estrogenos y androgenos a los embriones provocan retención anormal de ambos conductos de Muller en hembras. Stroll (1951) y Wolff (1953), fundamentan que los androgenos provocan una morfología atípica del conducto de Muller izquierdo. Burns (1949) discute extensamente las implicaciones embriológicas y endócrinas sobre el tema.

Los esteroides o compuestos de naturaleza similar provocan un papel semejante en los procesos de diferenciación embriológica de los conductos de Muller (Hamilton, 1961).

Hamilton concluye 1) El estradiol suministrado de manera exógena, no produce efectos en los embriones hembras, pero si causa retención de ambos conductos de Muller, en los embriones macho, 2) La androsterona inhibe la diferenciación del conducto izquierdo en los embriones hembra, 3) La testosterona causa parcial degeneración del conducto izquierdo en los embriones hembra, pero no influye en la involución normal de los conductos de los machos. Las dosis mínimas de los 3 esteroides, que son requeridas para producir efectos en el desarrollo del conducto de Muller son el estradiol 10 μg , la androsterona 250 μg y la testosterona de 125 a 250 μg . Las grandes dosis requeridas para modificar la normal diferenciación de los conductos de Muller, sugieren que las hormonas exógenas actúan de manera muy diferente a las de naturaleza endógena, que son liberadas por las gonadas embrionarias.

La diferenciación urogenital en los embriones de pollo es un estado que ocurre de los 5 a los 6 días de incubación, correspondiendo con el tiempo de iniciación de la diferenciación de las gonadas. Sin embargo, los 2 conductos de Muller en los machos y el derecho en las hembras,

normalmente no sufren involucion hasta el 8.5 a 9 días de incubacion (Fig. 5). Es evidente que existen de 2 a 3 días en la diferenciacion de las gónadas y la involucion morfológica del conducto de Muller. Es durante este periodo que las sustancias de las gónadas afectan a los conductos e inician su respectiva quimiodiferenciación. Moore (1944), opina que ya sea que se inyecten los esteroides naturales o artificiales, la retención de los conductos de Muller es el resultado de la quimiodiferenciación.

Hamilton en 1961 respecto al tema llegó a 2 conclusiones: 1) Durante la embriogenesis los conductos de Muller pierden durante el día 7 la competencia fisiológica de responder a las hormonas exógenas (y quizás también a las endógenas), y 2) la posibilidad de que el cambio de competencia fisiológica, este mediada a través de canales geneticos.

Wolff y Wolff (1977), fundamentan que los rayos-x producen destruccion de las gónadas, causando retención de ambos conductos de Muller, tanto en hembras, como en machos.

El ostium es la parte glandular del tubo y la zona caudal (glandula de la cáscara), aparecen por el día 20 hasta el día 30 (Stoll, 1944). La parte inferior se expande desde la glándula de la cáscara, abriéndose hacia el interior de la cloaca hasta después del nacimiento.

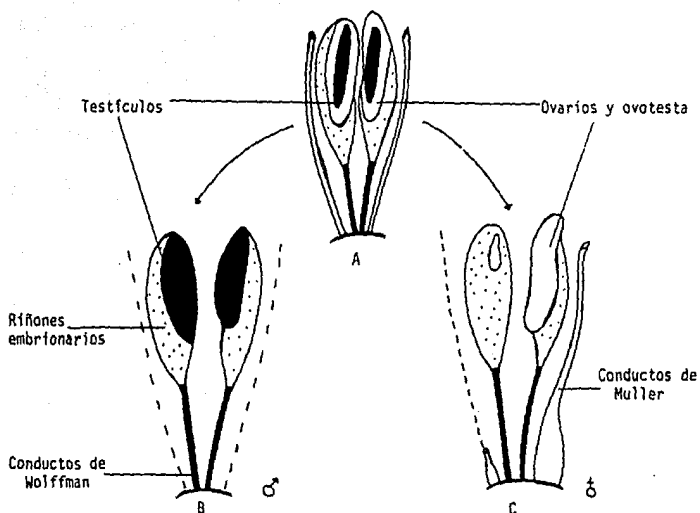
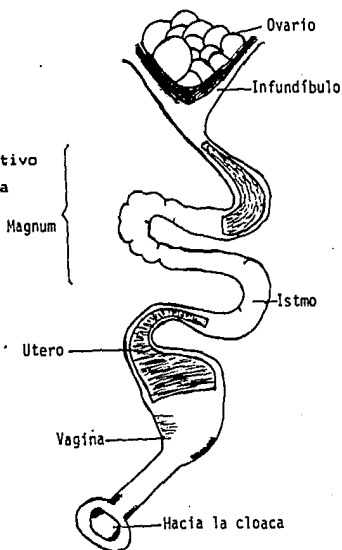


Fig. 5. Modelo esquemático mostrando la diferenciación del sistema urogenital de los embriones de pollo de manera ventral. (A) 9 días de incubación, (B y C) a los 18 días. (Wolff y Wolff, 1977).

B) ANATOMIA. El oviducto es un conducto circunvolucionado de aproximadamente 80 cms. de longitud en hembras adultas activas sexualmente (Bradley, 1960). En hembras inactivas es un tubo inconspicuo y estrecho de aproximadamente 14 a 19 cms. de longitud, posee una alta capacidad para dilatarse, se extiende desde el único

ovario (izquierdo) hasta la cloaca (Sturkie, 1965a). Presenta una diferenciación en los niveles internos, lo que permite una subdivisión en 5 partes o zonas, que en sucesión desde el ostium abdominal a la cloaca son: infundíbulo, magnum o sección secretora del albumen, istmo, útero o glándula de secreción de la cáscara y vagina.

Fig. 6. Tracto reproductivo de una gallina madura (Sturkie, 1965a).



El oviducto sintetiza las cubiertas y partes de la membrana previtelina que rodea al óvulo, el magnum por su parte forma el albumen, el istmo las membranas queratinizadas de la cáscara, el útero la cáscara calcárea, pigmento y cutícula. La chalaza es atribuida al

infundíbulo, aunque este hecho es dudoso (Aitken, 1971).

El tiempo promedio requerido por el huevo para transitar a través de las diferentes zonas del oviducto son: infundíbulo de 0.25 a 0.5 horas; magnum 2.0 a 3.0 horas; istmo 1.25 horas y el útero de 18.0 a 20.0 horas. El grado de paso puede ser uniforme; sin embargo Burmester (1940) explica que el huevo pasa más lentamente a través del magnum que a través de las otras 4 zonas y Bradley (1960) reporta que el huevo tiene una pausa en el istmo. El promedio de transición a través del magnum es de 2.3 mm/min (Bell y Freeman, 1971) y en el istmo es de 1.0 mm/min (Burmester, 1940). Así cada segmento posee su propio control de paso, y puede reflejar la uniformidad de la inervación en las diferentes regiones (Gilbert y Lake, 1963).

El oviducto está suspendido por el ligamento dorsal que se continua desde el ligamento ventral, ambos contienen músculo liso y fibras (Aitken, 1971).

Todas las zonas del oviducto se organizan histológicamente como sigue (a excepción del infundíbulo, vagina e inicio del istmo): 1. Capas serosas del epitelio externo; 2. Arreglo espiral y longitudinal de músculo liso; 3. Una zona escasa de tejido conjuntivo, conteniendo vesículas; 4. Una capa interna circular de músculo liso; 5. Escasa submucosa y 6. La membrana de la mucosa (Bradley, 1960).

La musculatura del oviducto consiste en más niveles de músculo circular interno y capas externas longitudinales; pero ambos tipos de músculo son delgados. Caudalmente el músculo incrementa su grosor y es especialmente abundante en la unión útero-vaginal, pero se engrosa a lo largo de la vagina, y a una considerable distancia se constituye en esfínter. Considerables cantidades de tejido conjuntivo existen entre

los paquetes musculares, excepto en la parte posterior cuando el tejido conjuntivo muscular es más compacto (Aitken, 1971).

La sangre es abastecida al útero por 3 arterias, todas originadas desde el costado izquierdo del cuerpo. La arteria hipogastrica es una rama de la arteria ciática izquierda, acarreando sangre desde la porción anterior del útero. La arteria hipogastrica se bifurca dentro y anterior del útero y de la arteria superior uterina (Sturkie, 1965a). Bradley (1960), reporta que la parte superior del infundibulo recibe sangre desde la arteria renal izquierda, el magnum y el istmo por una rama de la arteria ciática izquierda; mientras que el utero y vagina desde la arteria hipogastrica izquierda.

La inervación del oviducto se lleva a cabo por fibras provenientes desde ambas divisiones del sistema autonomo. La inervacion simpática es derivada desde varios plexos (renal, aortico, ciático, mesenterio posterior y pélvico, con una pequeña contribución desde el ovario). Pequeños ganglios parasimpáticos son localizados estrictamente rumbo al final caudal del útero y alrededor de la union útero-vaginal; otras células nerviosas son localizadas intrinsecamente en asociacion con el largo del nervio (tronco) y en la parte terminal de las redes, presentándose en pequeños grupos de 2 a 3 células (Gilbert y Lake, 1963).

C) INFUNDIBULO. El infundibulo en hembras adultas presenta forma de embudo, es la porción anterior del oviducto con aproximadamente 9 cms. de longitud. Atrapa al óvulo, al ser este expulsado dentro de la cavidad del cuerpo desde el ovario. Su actividad es condicionada o iniciada por el ovulo (en su liberacion). Externamente esta situado en la cavidad abdominal.

D) MAGNUM.

a) ANATOMIA. Posee aproximadamente 40 cms. de longitud en remoras adultas. Esta zona constituye más de la mitad de la longitud total del oviducto. Secreta aproximadamente el 40% del albumen del huevo (Bradley, 1960). Presenta un color blanco opaco, con un diametro externo grande y una pared marcadamente delgada. El ultimo rasgo es el resultado de un masivo incremento en el tejido glandular propio, en consecuencia los pliegues son más voluminosos que las 4 zonas restantes; las glandulas secretoras son cerradas (Aitken, 1971). En los pocos centimetros terminales del magnum el diametro es gradualmente reducido, a diferencia del istmo que es continuo (Solomon, 1983).

Las uniones son representadas por una linea delgada fina y translucida de aproximadamente 1 mm de diametro. En la parte terminal del magnum las glandulas tubulares propias son marcadamente reducidas en volumen y en pliegues de la mucosa, el epitelio es alto (25 micrometros), las celulas individuales secretoras contienen cantidades apreciables de mucus y forman una alta proporción de celulas epiteliales. esta region terminal puede ser llamada region de la mucosa (Sturkie, 1965a).

b) HISTOLOGIA. Su epitelio consiste en celulas ciliadas y secretoras; en variaciones altas acorde con el grado de distencion de las glandulas de secreción; siendo un epitelio cuboidal simple (Hodges, 1974).

Despues del paso del huevo, el epitelio incrementa su altura, siendo concomitante con la acumulacion de secrecion. su nucleo exhibe la distribucion de otros niveles del oviducto; así las celulas ciliadas forman una capa superficial formada por celulas apicales y

celulas mucosas celulas basales) (Aitken, 1971).

El mucus secretado por este epitelio es un mucopolisacárido ácido, tiñiéndose positivamente con la técnica de PAS, azul de alcian, fucsina aldehídica, metacromática con azul de metileno y posee un pH de 2.5. Aunque no está bien establecido se sugiere que el mucus puede ser secretado para formar una cubierta externa capaz de retener y formar una membrana dialítica, permitiendo la retención del agua (Hodges, 1974). El mucus en el magnum ayuda a la formación de la chalaza según Kohler, "et al" (1968). El citoplasma es vacuolado, generalmente con una cubierta en la superficie apical del núcleo, aunque, ocasionalmente es basal, siendo esto característico de las células secretoras (Hodges, 1974).

Las glándulas son externamente túbulos que abren en la superficie del lumen y no están confinados en apartamentos de los pliegues. Están alineadas por células piramidales altas, que secretan el volumen de las proteínas del huevo. Las glándulas contienen granulos eosinófilos, las proteínas son hidratadas después de la descarga. El material proteínico se acumula a través del periodo de intersección y todas las proteínas son necesarias para la formación del albumen para cuando el huevo pasa a través del magnum en el momento de la ovulación. Inmediatamente antes de la ovulación las células se llenan completamente con material secretorio, en el microscopio de luz aparecen extendidos y aparentemente en posición cerrada en la superficie basal. Después de la descarga las células glandulares reducen su altura, su luz y su tejido conjuntivo interglandular (Solomon, 1983).

Las células glandulares poseen gran cantidad de retículo endoplasmático

rugoso, el aparato de Golgi es prominente y con pocos granulos de secrecion en la fase de "agotamiento" (descarga) que es corta, existe una asociacion ribosomal con las membranas de los granulos de secrecion. los nucleos aparecen comprimidos, la superficie de la luz contiene numerosos paquetes de microvellosidades (Aitken, 1971).

E) ISTMO. Los movimientos peristalticos del magnum empujan al ovulo dentro del istmo. En las hembras adultas esta region mide aproximadamente 10 cms. de longitud, presentando una linea de demarcacion entre el y el magnum (Sturkie, 1965a).

Los pliegues de las glandulas en el istmo no son largos y numerosos como en el magnum (Aitken, 1971). Las membranas interna y externa de la cascara son formadas en el istmo, anteriormente se creia que algo de albumen es adicionado aqui, aunque por trabajos mas recientes, se pudo constatar que no existe albumen, unicamente se incorporan al nuevo insignificantes cantidades de agua (Solomon, 1983).

U) UTERO. Es la porcion del oviducto con forma de bolsa, mide en hembras adultas aproximadamente 10 a 12 cms. de longitud. Su pared es delgada y muscular. Contiene glandulas tubulares y unicelulares (Hodges, 1974).

Se presume que el fluido presenta pequenas cantidades de albumen, que se concentra a traves de la membrana de la cascara en pequenas glandulas secretoras: la relacion de estas glandulas con la formacion de la cascara es aun desconocida (Sturkie, 1965b).

El pigmento de la cascara tambien se integra en esta zona, gdurante 5 horas antes de la oviposicion (Solomon, 1983). El pigmento cafe porfirico es sintetizado por el utero a partir del β -aminoacido levulinico.

G) VAGINA. Presenta forma de "S", es una zona corta en hembras adultas mide aproximadamente 12 cms. de longitud (Hodges, 1974). Esta involucrada en la expulsión del huevo por el esfínter -situado en el borde útero-vaginal- (Sturkie, 1965a).

Su pared es muscular, su mucosa posee pocos plegamientos. La capa muscular interna esta bien desarrollada y es mas gruesa que en cualquier otra parte del oviducto (Bradley, 1960).

La vagina termina en la cloaca (Sturkie, 1965a).

HIPOTESIS

Si las gonadotropinas provenientes de la adenohipofisis actúan directamente sobre el ovario, provocando que este produzca hormonas esteroideas, y conociendo que el oviducto es un efector secundario de las hormonas esteroideas; entonces al aplicar gonadotropinas a embriones de pollo durante los días que el eje hipotálamo-hipófisis-ovario-oviducto es ya funcional (días 13, 15 y 17 de incubación, se podrán apreciar modificaciones histológicas y morfométricas en el oviducto por los cambios en la secreción de hormonas esteroideas provocada por el tratamiento de gonadotropinas.

OBJETIVO DE TRABAJO

Se analizaron los cambios morfométricos e histológicos en oviductos de pollos recién nacidos, al ser tratados con hormonas gonadotrópicas (LH y FSH) "in vivo", durante los días 13, 15 y 17 de incubación.

Obtener información del efecto de las hormonas gonadotrópicas sobre la síntesis de las hormonas ováricas, por los cambios producidos en el oviducto.

MATERIALES Y METODOS

.Se utilizaron huevos fertiles de gallinas de la raza White Leghorn, se incubaron a 37.8° C, con un 65% de humedad en una incubadora de aire forzado.

.En el día 13 de incubación los huevos viables, se limpiaron con alcohol de 70° , se realizó un orificio con una aguja de disección en la cámara de aire, del mismo lado con la ayuda de una segueta en el último tercio, se hizo una ventana de forma triangular, desprendiendo con cuidado la cáscara sin dañar la membrana; sobre esta se colocó una gota de suero fisiológico, a través del orificio en la cámara de aire se succionó con un bulbo hasta que la membrana corioalantoidea descendió, con la ayuda de unas pinzas de disección de punta aguda, se desprendió la membrana externa que cubría la ventana, tanto en esta, como en el orificio se colocó cinta adhesiva. Se prepararon las dosis de hormona ($1\mu\text{g}$ y $25\mu\text{g}$) de Pergonal (75 UI FSH y 75 UI LH) Serono de Mexico, S.A. de C.V., diluidas en Dulbecco (MEM), suministrando $100\ \mu\text{l}$ de hormona por huevo, a los 13, 15 y 17 días de incubación. A los huevos control se les suministraron $100\ \mu\text{l}$ de Dulbecco estéril.

.24 horas después del nacimiento se sacrificaron los pollos disecándose el oviducto izquierdo, fijandolos inmediatamente, fraccionando la región del magnum (porción cefálica).

.Se procesó el material de la siguiente manera:

1. Se fijó en Bouin por 2 horas.
2. Se lavó el material en agua corriente por 15 minutos.

3. Se pasó por alcoholes graduales 70° (24 horas), 80°, 96° y 100° (15 minutos).
4. Xilol por 15 minutos.
5. En la estufa a una temperatura de 58-60° C en parafina pura, se realizaron 2 cambios de 20 minutos cada uno.
6. Se incluyeron los oviductos en parafina fundida dentro de cajitas de papel con la orientación deseada para obtener cortes transversales.
7. Se sacaron las burbujas con una aguja de disección caliente y se dejó solidificar la parafina.
8. Cada bloque se cortó en forma de pirámide truncada, y se colocaron en la platina del micrótopo rotatorio Leitz modelo 1512.
9. Se calibró el micrótopo en 5 micrómetros, y se procedió a realizar cortes seriados (20 cortes de la zona cefálica del magnum).
10. Los cortes se colocaron en el baño de flotación, que contenía 2 g. de grenetina disuelta, y se pegaron a los portaobjetos limpios, donde se dejaron secar por espacio de 24 horas para que se adhirieran bien.
11. Se tificaron con Hematoxilina-Eosina (hematoxilina de Harris-eosina alcohólica) para elaborar preparaciones fijas.

HEMATOXILINA-EOSINA

- | | |
|------------------------------|------------|
| 1. Xilol..... | 20 minutos |
| 2. Alcohol absoluto..... | 15 " |
| 3. " 96°..... | 10 " |
| 4. " 70°..... | 10 " |
| 5. " 50°..... | 10 " |
| 6. Agua destilada..... | 5 " |
| 7. Hematoxilina..... | 3 segundos |
| 8. Virar con agua corriente. | |

9. Lavar con agua destilada para detener el viraje,
10. Alcohol 50°.....3 minutos
11. " 70°.....3 "
12. Eosina alcohólica.....rapidamente
13. 2 cambios de alcohol de 96° de 5 minutos cada uno.
14. Alcohol absoluto.....5 minutos
15. Xilol.....5 "
16. Montar en balsamo de Canadá.

.Las observaciones se realizaron con un microscopio optico, realizando el estudio histológico y morfométrico de los cortes.

.Para el estudio morfométrico se utilizo un sistema de procesamiento digital de imagenes BIOCROM 2000, conectado al microscopio con una cámara de television, y una tarjeta de adquisicion de imagenes, calculando diferentes zonas del corte, que comprenden: Area total, área de la pared del magnum, area de la luz, area del epitelio y área del estroma; obteniendo tambien la densidad celular del epitelio y estroma de la mucosa del magnum de los animales controles y tratados.

.Los resultados obtenidos fueron sometidos a una prueba de "T" de Student.

RESULTADOS

ANALISIS HISTOLOGICO. Se describen las características histológicas del grupo control, para posteriormente ser comparadas con los grupos experimentales (1 μ g y 25 μ g de Pergonal respectivamente).

GRUPO CONTROL.

De manera general los cortes presentan una forma elíptica. En lo referente a la pared del magnum se observan claramente tres capas: a) la serosa, que es una capa constituida por células alargadas, con núcleos planos, dispuestas en una sola fila; b) la muscular, que es una capa circular gruesa y laxa con núcleos alargados y; c) el estroma, que es denso y grueso, sus núcleos presentan forma variable, observandose fibras en su interior. En lo referente al epitelio, este es columnar, con núcleos ovales, grandes y arreglados en una capa, presenta pliegues poco evidentes, siendo bajo.

1 μ g DE PERGONAL.

Su forma es semejante al grupo control (elíptica), su luz es un poco mayor en relación con el grupo control. La capa serosa del magnum no muestra variación. La muscular mas compacta, gruesa y evidente. El estroma es mas denso, con mayor cantidad de fibras, sus núcleos son ovales o redondos y mas pequeños. Su epitelio es pseudoestratificado, sus nucleos son mas alargados, presentandose a diferentes niveles; sus pliegues son evidentes y numerosos, involucran al estroma y muestran criptas profundas, permaneciendo bajo.

25 μ g DE PERGONAL.

Su forma es casi circular, aumentando su luz casi 6 veces con respecto al grupo control. La capa serosa no muestra variación. La muscular es más laxa y menos evidente. El estroma es edematoso con pocas fibras, sus núcleos son pequeños y ovales. Su epitelio es columnar, presentando diferentes tamaños celulares y nucleares, hay formación de pequeños pliegues que no involucran al estroma; permaneciendo bajo.

ANÁLISIS MORFOMÉTRICO. Al analizar el CUADRO 1 correspondiente a la morfometría del nivel 1 del magnum, se observa: a) Por los valores de la media, el grupo tratado con 25 μ g de Pergonal incrementa de manera considerable el área total, así como el área de la luz con respecto al grupo control; en lo referente al área de la pared, área epitelial y área estromática, este incremento es mínimo.

b) Según la prueba de "T" de Student tales observaciones son reafirmadas, obteniéndose así que tanto para el área total, como para el área de la luz, el nivel de significancia es muy alto ($p < 0.001$) con respecto al control; mientras para el área de la pared y del estroma, el nivel de significancia es de $p < 0.05$; para la pared epitelial no es significativa.

c) En el grupo tratado con 1 μ g de Pergonal las medias revelan un incremento en el área total, área de la pared y área estromática; mientras los valores para el área de la luz y área epitelial son muy semejantes a los obtenidos para el grupo control. En cuanto a la prueba de "T" de Student, existe una significancia alta ($p < 0.001$) para el área total, área de la pared y área estromática; mientras que el área de la luz su nivel de significancia es de $p < 0.05$.

El área epitelial al igual que en el grupo tratado con 25 μ g de Pergonal, no es significativa.

Como puede verse en la GRAFICA 1, que representa la densidad celular tanto del epitelio, como del estroma de los 3 grupos (control, 1 μ g de Pergonal y 25 μ g de Pergonal), para el caso del epitelio, este posee un nivel de significancia alto ($p < 0.001$) para el grupo de 1 μ g de Pergonal, el grupo de 25 μ g de Pergonal su significancia es $p < 0.05$, esto es con respecto al grupo control. En el estroma nuevamente el grupo que posee un nivel de significancia alto es el tratado con 1 μ g de Pergonal, ya que el grupo correspondiente a 25 μ g de Pergonal no muestra significancia.

CUADRO 1

Morfometría en el nivel I del magnum de oviductos de pollo recién nacidos, en respuesta a la administración de hormonas gonadotrópicas (LH y FSH) en etapa prenatal. Áreas x $10^4 \mu\text{m}^2$.

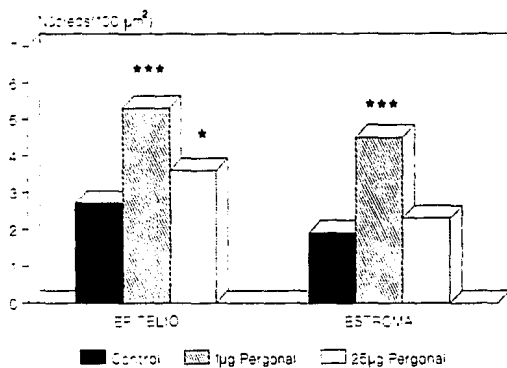
<i>Tratamiento</i>	<i>n</i>	<i>Area total</i>	<i>Area de la Pared</i>	<i>Area de la Luz</i>	<i>Area epitelial</i>	<i>Area estromática</i>
Control	6	5.5 ± 0.1	4.2 ± 0.04	1.3 ± 0.08	1.2 ± 0.1	2.9 ± 0.08
1 µg	7	7.3 ± 0.3***	5.7 ± 0.2***	1.6 ± 0.08*	1.4 ± 0.2	4.3 ± 0.2***
25 µg	6	12 ± 0.3***	4.8 ± 0.3*	7.2 ± 0.3***	1.3 ± 0.08	3.5 ± 0.3*

Valores expresados como la media ± error estándar

Nivel de significancia * = $p < 0.05$, *** = $p < 0.001$

GRAFICA 1

DENSIDAD CELULAR



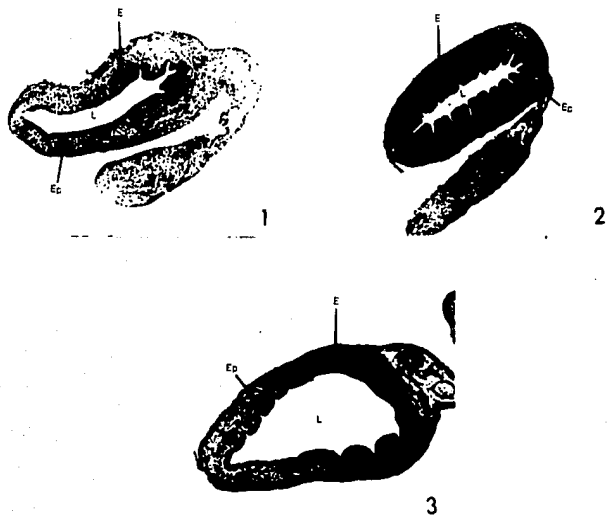


Fig. 7. Cortes transversales de las zona cefalica del magnum del oviducto de pollos recién nacidos, tratados con hormonas gonadotropicas los días 13, 15 y 17 de incubación. (150 X). Control (1); 1µg de Pergonal (2); 25µg de Pergonal (3). Luz (L); epitelio (Ep); estroma (E).

DISCUSION

Los organos reproductores, tales como el oviducto de pollo, constituyen un modelo optimo para el estudio de la diferenciacion celular, ocurrida durante el periodo embrionario, ya que puede ser estimulada por hormonas exogenas (Joensu, 1990); como es el caso de las hormonas gonadotropicas LH y FSH. Además de que el oviducto es un instrumento en el transporte de las células sexuales femeninas formadas por las gónadas, de ahí su importancia en ser estudiados.

El trabajar con embriones de pollo además de ser un modelo biológico fácil y práctico para trabajar, evita que otros factores tales como la influencia materna y la placenta (en el caso de los mamíferos) intervengan, así podemos estar casi 100% seguros que los resultados obtenidos son debidos únicamente a las hormonas administradas.

Los estudios hasta hoy reportados sobre el desarrollo y maduración del oviducto en aves de animales tratados "in vivo" durante la etapa prenatal, se han concretado a trabajar con estrógenos, con progesterona, o bien con ambos (Feling, 1983; Palmiter y Wrenn, 1971). Sin embargo, no se ha considerado que las hormonas gonadotropicas, tales como la LH y la FSH, provenientes via hipótalamo-hipófisis, son una herramienta básica para entender y ampliar los conocimientos de la vía hipotalámico-hipófisis-ovario-oviducto (Woods y Thommes, 1984). Además de permitirnos analizar los cambios tanto morfométricos, como histológicos en oviductos de pollo al ser tratados en etapa prenatal con LH y FSH simultaneamente (Pergonal). En base a estos resultados, nos propusimos estudiar en el presente

trabajo los efectos de dichas hormonas sobre las hormonas ováricas, y estas a su vez sobre el oviducto de pollo.

Se administraron 2 concentraciones de Pergonal cada una con 3 dosis, ya que por ensayos anteriores realizados en el mismo laboratorio, con el mismo tipo de animales y circunstancias; fueron las que reportaron los mayores cambios en las subpoblaciones celulares del ovario.

Se reporta una diferenciación en IV niveles en el magnum del oviducto de pollos recién nacidos (Ballinas, "et al", 1987), sin embargo, para este estudio únicamente se trabajó con el nivel I, al que se le denominó cefálico por su ubicación; ya que lo que se comparó fue el efecto de las 2 dosis con un grupo control, y no se consideró necesario trabajar con todo el magnum, además de que es la zona que mejor respondió a las hormonas.

Según Tanabe "et al" (1986) el crecimiento del oviducto y su función están directamente afectados por las hormonas esteroideas (estrogénos, progesterona y andrógenos), que a su vez dependen del suministro de hormonas gonadotrópicas al ovario por parte de la hipófisis (Fig. 4). Las dosis elegidas se aplicaron durante los días 13, 15 y 17 de incubación, debido a que este tiempo coincide con lo reportado para el control de la hipófisis en la esteroidogénesis, que de acuerdo con Bell y Freeman (1971), ocurre desde el día 14 de incubación. Además se sabe que la síntesis de estradiol por el ovario se incrementa en los días 13.5 a 18.5 de desarrollo embrionario, siendo el ovario más sensible a la hormona luteinizante (LH) (Weniger y Chouraqui, 1988). Teng y Teng (1977), reportan que durante este periodo se presenta la fase del crecimiento del oviducto, así como los receptores citoplasmáticos y nucleares se mantienen en un valor máximo constante.

Encontramos que en el analisis morfometrico, la administracion de 1 μ g de Pergonal induce la division celular de manera significativa, esto lo podemos observar tanto en el CUADRO 1 como en la GRAFICA 1. En el CUADRO 1 existe un nivel de significancia alto para el area total, esto es debido principalmente al área de la pared, coincidiendo con lo registrado para la densidad celular (GRAFICA 1). Histológicamente se observa que para esta dosis tanto el estroma, como el epitelio son más densos que el grupo control, sin embargo, para el epitelio no existio un aumento en su area, aunque su densidad celular en relacion a los otros 2 grupos (control y 25 μ g de Pergonal), si se incrementó, esto quiere decir que existió una mínima captación de agua y de otros iones, que Kohler y Cole (1968), reportan ocurre solamente en animales adultos que son tratados con estrógenos. Los núcleos del estroma son ovals o redondos y más pequeños que los observados en el control, existiendo una clara evidencia de su separación con el epitelio. También se observa que para esta dosis existe una diferenciación glandular, esto se puede apreciar por la gran cantidad de pliegues presentes en el epitelio que involucran al estroma, siendo estos considerados primordios de glándulas tubulares, que de acuerdo con lo reportado por Teng (1980), se desarrollan antes del día 10 de incubación como respuesta a los estrógenos administrados exógenamente. Su epitelio es pseudoestratificado, a diferencia de los controles que presentan un epitelio columnar, lo que indica el inicio de una diferenciación. La citodiferenciación típica del estado adulto se caracteriza por: epitelio pseudoestratificado con alternancia de células columnares ciliadas y caliciformes como lo reportan Aitken

(1971) y Hodges (1974).

Con este tipo de estudio no es posible determinar si las mitosis se inician en el epitelio o en el estroma, se ha indicado que para el caso de animales inmaduros, tanto en el desarrollo natural del magnum (Kohler y Cole, 1968), como en el inducido estrogénicamente como lo indican Gonzalez, "et al" (1987), la proliferación celular ocurre primeramente en el epitelio.

Para embriones Teng (1980) reporta que son las células epiteliales las que adquieren competencia estrogénica más temprano que las estromáticas, lo contrario reporta Courion-Guichardaz (1990).

El efecto de administrar 1µg de Pergonal se puede resumir en pocas palabras como sigue: inducción en la multiplicación celular de la mucosa del magnum e inicio de la citodiferenciación (pseudoestratificación celular en el epitelio, así como presencia de primordios glandulares), lo que demuestra ser una dosis fisiológica.

Para el caso del grupo tratado con 25 µg de Pergonal tanto histológicamente, como morfométricamente (CUADRO 1); el área de la luz es incrementada de manera considerable, produciendo que el área total al ser analizada con la prueba "T" de Student muestre un nivel de significancia muy alto ($p < 0.001$), otro aspecto relevante para este caso, es el hecho de que su estroma presenta espacios anucleares (edematoso), característica de una dosis hiperfisiológica. Al observar la GRAFICA 1, se ve que existe un valor de densidad mayor con respecto al grupo control, este aumento es mínimo, presentando únicamente para el epitelio un nivel de significancia de $p < 0.05$, estos 2 aspectos coinciden con lo reportado por Laugier, "et al" (1983) y Boisvieux-Ulrich, "et al" (1982), quienes mencionan que para aves

ponedoras y no ponedoras, tratadas con estrógeno se produce un aumento de la luz del oviducto por retención de agua, sodio y cloro dentro de la luz (Cecil, "et al" 1970). Es por esta razón que la forma de los oviductos tratados con esta dosis, se hace casi circular, y no es la forma elíptica característica (control). El hecho de que su epitelio presente diferentes tamaños celulares y nucleares, podría indicar el inicio de una citodiferenciación.

Para este caso no se observan primordios glandulares, únicamente pequeños pliegues que no involucran al estroma.

Lo anterior queda resumido como sigue: efecto estrogénico (aumento de la luz; así como estroma edematoso) y posible inicio de citodiferenciación a nivel epitelial.

Para los 3 grupos analizados en este trabajo la serosa y las capas musculares típicas del oviducto adulto (Aitken, 1971; Hodges, 1974; Solomon, 1983) están aún indiferenciadas, pero se presentan límites visibles; en consecuencia, es en la etapa postnatal cuando se concluye el desarrollo y diferenciación de la pared del magnum.

CONCLUSIONES

Con base en estos resultados podemos concluir que las hormonas gonadotropicas producen cambios en la sintesis de hormonas esteroides, produciendo una respuesta similar a la estrogenica en el magnum de oviductos de pollo, provocando una mayor división celular en la mucosa del magnum y una pseudoestratificación epitelial, así como la presencia de primordios glandulares para el grupo tratado con 1 μ g de Pergonal.

BIBLIOGRAFIA

- Aitken, R.N.C. (1971). The oviduct. In: Physiology and biochemistry of the domestic fowl. (Bell, D.J. and B.M., Freeman). London-New York. 1237-1287.
- Ballinas, S.O.; Gonzalez-Morán, G. (1987). Diferenciación morfológica por niveles en el magnum del oviducto de pollos recién nacidos. Congreso nacional de ciencias morfológicas. Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, Pue.
- Barrington, E.J. (1970). Hormonas y reproducción. En: Endocrinología general y comparada. (Barrington, E.J.). H. Blume. Madrid. 119-151.
- Bell, D.J. and B.M., Freeman. (1971). Physiology and biochemistry of the domestic fowl. Vol. 1. London-New York. 601 pp.
- Benoit, J. (1962). Hypotálamo-hipofyseal control of the sexual activity in birds. Gen. Comp. Endocrinol. Sopp. 1:254.
- Boiureux-Ulrich, E; Laugier, C. and Sandoz, D. (1982). Steroid biosynthesis by gonads of 7 and 10 day old chick embryos. Biol. Cell. 46:175.
- Bradley, Ch.O. (1960). The structure of the fowl. Oliver and Boyd. Ltd. London 143 pp.
- Burmester, B.R. (1940). The structure and development of the avian pituitary. J. Exp. Zool. 84:445-500.
- Burn, R.K. (1949). Hormones and the differentiation of sex. In: Survey of biological progress, G.S. Avery ed., Vol. I. Academic Press, Inc. New York, pp. 233-266.
- Cabeza de Flores, A. (1990). Ovario. En: Endocrinología. (Flores, L.F.). Editor Mendez Cervantes. Mexico. 359-381.

- Catt, K.J. (1977). *Endocrinologia fundamental*. Toray, S.A. Barcelona. 170 pp.
- Cecil, M.C.; Bitman, J. and Shaffner, G.S. (1970). Steroid hormones and the development of the reproductive system in the pullet. *Poult. Sci.* 49:467.
- Courion-Guichardaz, C.; Fanidi, A., Pageaux, J. and Ch, Laugier. (1990). Modulation of quail oviduct adenylate cyclase activity by estradiol and progesterone. *J. Steroid. Biochem.* 35:441-447.
- Drager, G.A. (1945). The innervation of the avian hypophysis. *Endocrinol.* 36:124-129.
- Epple, A. and H.M., Stetson. (1980). *Avian endocrinology*. Academic. Press. USA. 577 pp.
- Farner, K. (1973). *Avian biology*. Academic. Press. New York. 573 pp.
- Farner, D.S. and A., Oksche. (1962). Neurosecretion in birds. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2:113.
- Feling, M.D. (1983). *Endocrinologia y metabolismo*. McGraw Hill. México. 1467 pp.
- Flores, L.F. y P., Peña. (1990). *Hipofisis*. En: *Endocrinologia*. (Flores, L.F.). Editor Mendez Cervantes. Mexico. 55-60.
- Gasc, J.M. (1978). Growth and sexual differentiation in the gonads of chick and duck embryos. *J. Embryol. Exp. Morph.* 44:1-13.
- Gilbert, A.B. (1969). Appearance of LH immunoreactive cells in the Rathke's pouch of the chicken embryo. *Differentiation*. 20:77-80.

- Gilbert, A.B. (1971). The female reproductive effort. In: Physiology and biochemistry of the domestic fowl. (Bell, D.J. and B.M., Freeman). Academic. Press. London. 3:1153-1161.
- Gilbert, A.B. and P.E., Lake. (1963). Physiology of the domestic fowl. Oliver and Boyd. Edimburgo. 869 pp.
- González, C.B.; Charreau, E.H.; Aragonés., Lantos, C.P., and Follet, B.K. (1987). The ontogenesis of reproductive hormones in the female embryo of the domestic fowl. Gen. Comp. Endocrinol. 68:369-374.
- Green, J.D. (1951). The comparative anatomy of the hypophysis with special reference to its blood supply and innervation. Am. J. Anat. 88:225.
- Gruenwald, P. (1952). Development du complexe hypothalamo hypophysaire chez l'embryon de poulet societe d'expressions typographiques. Ann. N.Y. Acad. Sci. 55:142-146.
- Ham, W.A. y H.D., Cormack. (1983). Tratado de histología. Interamericana. Mexico. 1080 pp.
- Hamilton, T.H. (1961). Studies on the physiology of urogenital differentiation in the chick embryo. I. Hormonal control of sexual differentiation of mullerian ducts. J. Exp. Zool. 146:265-274.
- Hartree, A.S. and F.J., Cunningham. (1971) The pituitary gland. In: Physiology and biochemistry of the domestic fowl. (Bell, D.J. and B.M., Freeman). London-New York. 1:427-44.
- Hodges, R.R. (1974). The histology of the fowl. Academic Press. London. 1149 pp.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- Hora, J.; B., Gosse; K., Rasmussen and T., Spelsberg. (1986). Estrogen regulation of the biological activity of the avian oviduct progesterone receptor and its ability to induce avidin. *Endocrinology*. 119:1118-1125.
- Joensuu, T.K. (1990). Chick oviduct differentiation. The effect of estrogen and progesterone on the expression of progesterone receptor. *Cell. Diff. Develop.* 30:207-218.
- Jolmes, S. (1984). *Henderson diccionario de terminos biológicos*. Alhambra. Barcelona. p. 402.
- Junqueira, L.C. y J., Carneiro. (1983). *Histología básica*. Salvat. México. 506 pp.
- Kohler, P.O.; Grimley, P.M.; O'Malley, B.W. (1968). Estrogen induced cytodifferentiation of ovalbumin secreting glands of the chick oviduct. *J. Cell. Biol.* 40:8-27.
- Korenman, S.G. and J.F., Kroll. (1983). *Mechanisms of hormone action*. In: *endocrinology*. (Harold, S.). I. John Wiley and Sons. New York. 1-18.
- Laugier, E.; Pegeaux, J.F.; Soto, A.M. and Sonneschein, C. (1983). Mechanisms of estrogen action. Indirect effect of estradiol - 17 β on proliferation of quail oviduct cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 80:1621.
- Lehninger, A.L. (1987). *Bioquímica*. Omega, S.A. Barcelona. 1117 pp.
- Lemus, A. y G., Perez-Palacios. (1990). Mecanismos de acción hormonal. En: *Endocrinología*. (Flores, L.F.). Editor Méndez Cervantes. México. 1-32.

-Lutz-Ostertag, Y. (1954). Sur les differences des sensibilite des recepteurs tissulaires envers la folliculine a divers stades embryonnaires. Bull. Biol. France. et Belg. 88:33-412.

-Malacara, J.M. Hipotalamo. (1990). Hipotalamo. En:Endocrinologia. (Flores, L.F.). Editor Mendez Cervantes. Mexico. 33-42.

-Malacara, J.M. (1982) Generalidades de endocrinologia. En: Fundamentos de endocrinologia. (Malacara, J.M.). La Prensa Medica Mexicana. Mexico. 1-7.

-Mittwoch, U.; Laksmi Narayan, T.; Delhanty, J.D. A. and Smith, C.A.B. (1971). Gonadal grown in chick embryos. Nature. (New-Biol). 231:197-200.

-Moore, C.R. (1944). Gonad hormones and sex differentiation. Amer. Nat. 78:97-130.

-Murton, R.K. and N.J., Westwood, (1977). Avian breeding cycles. Clarendon Press. Oxford. 594 pp.

-Nalbandov, A.V. and Card., L.E. (1946). Steroid hormones:effects on adenylate cyclase activity and adenosine 3' , 5'-monophosphate in target tissues. Science. 168:253-254.

-Okamoto, S. and Ihara, Y. (1960). Neural and neurovascular connections between the hypothalamic neurosecretory center and the adenohypophysis. Anat. Rec. 137:485-499.

-Palmiter, R.D. and J.T., Wrenn. (1971). Interaction of estrogen and progesterone in chick oviduct development. III. Tubular gland cell cytodifferentiation. J. Cell. Biol. 50:589-615.

- Rahil, K.S.; Narbasitz, R. (1972). Differentiation on male chick oviducts under hormonal stimulation. *Gen. Com. Endocrinol.* 18:315-318.
- Rahn, H. and B.T., Painter. (1941). The comparative hystology of the bird pituitary. *Anat. Rec.* 79:297.
- Raud, H.R. and Hobkirk, R. (1968). Endocrine gland weights of chick embryos growth. *Can. J. Biochem.* 46:749-759.
- Romanoff, A.L. (1960). The avian embryo. Structural and functional development. The Macmillan Company. U.S.A. 1305pp.
- Romanoff, A.L. (1967). Biochemistry of the avian embryo. New York:John Wiley and Sons. 1150 pp.
- Solomon, S.E. (1983). Oviduct. In: Physiology and biochemistry of the domestic fowl. (Freeman, B.M.). Cap. 20. Academic. Press. London. 4:378-449.
- Stahl, A. and Carlon, N. (1973). Morphogénese des cordons sexuels et signification de la zona medullaire de la gonade chez l'embryon de poulet. *Acta Anatomica.* 85:248-271.
- Stoll, R. (1944). The morphogenesis of the indifferent gonad of the chicken embryos. *Compt. Rend. Soc. Biol.* 138:7-8.
- Stroll, R. (1951). Sur la differentation sexuelle de l'embryon de poulet. In: Differentiation sexuelle chez les Vertebres (colloque). Masson et Cie, Editeur, Paris, pp. 233-243.
- Sturkie, D.P. (1965a). Hyphophysis. In: Avian physiology. (Sturkie, D.P.). Cornell University Press. USA. 434-561.
- Sturkie, D.P. (1965b). Reproduction in the female. In: Avian physiology. (Sturkie, D.P.). Cornell University Press. USA. 440-492.

- Tanabe, Y.; Saito, N. and Kakumura, I. (1986). Ontogenetic steroidogenesis by testes, ovary, and adrenals of embryonic and postembryonic chickens. (*Gallus domesticus*). Gen. Comp. Endocrinol. 63:456-463.
- Teng, C.S. (1980). Ontogeny of the receptor and responsiveness to estrogen in the genital tract of the chick embryo. In: Advances in the biosciences. The development of responsiveness to steroid hormones. (Kaye, A.M. and M., Kaye). Pergamon Press. 25:77-94.
- Teng, C.T. and Teng, C.S. (1977). Studies on sex organ development. The hormonal regulation of steroidogenesis and adenosine 3': 5' cyclic monophosphate in embryonic chick ovary. Biochem. J. 162:123-134.
- Tixier-Vidal, A., Follet, B.K. and Farner, D.A. (1968). 17β -Estradiol secretion in normal and hypophysectomized chick embryos. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 92:610-635.
- Weniger, J.F. and Chouraqui, J. (1988). Action de LH sur la sécrétion d'oestradiol par l'ovaire embryonnaire de poulet en culture "in vitro". Reprod. Nutr. Dev. 28:1473-1477.
- Wolff, Et. (1953). Le déterminisme de l'atrophie de un organe rudimentaire: la canal de Muller des embryos males d'oiseaux. 9:121-133.
- Wolff, Et. and Wolff, Em. (1977). The effects of castration on bird embryos. J. Exp. Zool. 116:59-98.
- Wolff, Et. and A., Glinglinger. (1935). Sur la transformation des poulets males en intersexues par injection d'hormone femelle (folliculine) aux embryos. Arch. Anat. Hist. Embryo. 20:219-278.
- Wolff, Et. and Ostertag, Y. (1950). Plasma 17β -oestradiol levels in the chick embryo. Compt. Rend. Acad. Sci. 230: 2120-2122.

-Woods, J.E. and Thommes, R.C. (1984). Ontogeny of hypothalamo adenohypophyseal-gonadal (HAG) interrelationships in the chick embryo. J. Exp. Zool. 232: 435-441.

-Zarate, A. y J., Rull. (1981). Introduccion a la endocrinologia. Fco. Mendez Cervantes. Mexico. 357 pp.