

11261

3
20



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

CAMBIOS MORFOLOGICOS EN LA LAMINA
TECAL DURANTE LA MADURACION DE LOS
FOLICULOS PREOVULATORIOS EN EL OVARIO
DE LA GALLINA DOMESTICA. (Gallus domesticus)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOMEDICAS
(M O R F O L O G I A)
P R E S E N T A
M. V. Z. ARACELI HERNANDEZ VERTIZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. ENRIQUE PEDERNERA ASTEGIANO

MEXICO, D. F.

1964

TESIS CON
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.

El presente trabajo fue realizado en el Departamento de Embriología de la Facultad de Medicina, UNAM, bajo la dirección del Dr. Enrique Pedernera Astegiano. El proyecto fue financiado parcialmente por la DGAPA, UNAM (IN 306491).

AGRADECIMIENTOS

A los miembros que forman parte de mi jurado:

Dr. Horacio Merchant Larios
Dr. Guillermo Tellez Isafas
Dr. Enrique Pedernera Astegiano
Dr. Pedro Nicolás Velázquez
Dr. Armando Pérez Torres

por el tiempo destinado en la revisión del escrito y sus valiosos comentarios.

A la Dra. Amelia Sámano Bishop y a la Dra. Ma. Elena Castillo Romero, por su apoyo en la realización de este proyecto.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, en especial al Dr. Carlos I. Soto Zarate por el apoyo económico brindado.

Al Dr. José Manuel Pérez Cervantes, por su ayuda en la elaboración del programa C.A.D. (Diseño Asistido por Computadora), para el estudio morfométrico.

Al Dr. Raúl Ulloa Arvizu, por sus útiles sugerencias en el análisis estadístico.

Al Sr. Tomás Cruz Méndez por el trabajo fotográfico.

RECONOCIMIENTO

AL DR. ENRIQUE PEDERNERA ASTEGIANO por su tutoría en la realización de esta tesis, sus atinadas aportaciones y por intervenir en mi formación profesional. Pero, sobre todo, por la gran calidad humana que muestra día con día para con su equipo de trabajo.

D E D I C A T O R I A

**A MI QUERIDO ESPOSO PABLO Y
A MIS ADORABLES HIJOS PAULINA Y PABLITO**

Con profundo amor por este logro de los cuatro, ya que constituyen la fuente de inspiración en mi vida, y por su apoyo incondicional de siempre. Gracias

A MIS PADRES

Con infinito amor y gratitud por su apoyo inquebrantable y constituir un ejemplo a seguir para sus hijos. Una mención especial **A MI MADRE**, porque sin ella no hubiera sido posible la culminación de este proyecto.

**A MIS HERMANOS
GUILLERMINA, MARISELA, IRMA,
ENRIQUE, MARTHA, MA. CARMEN,
FRANCISCO, RAUL, ALEJANDRA,
Y RICARDO.**

Con gran cariño por su comprensión y ayuda, y por todos esos momentos de alegría y nostalgia que hemos compartido.

A MIS AMIGOS

Por brindarme parte de ellos.

**A todos ustedes mi más profunda gratitud para siempre,
por formar parte de mí.**

RESUMEN

La lámina tecal del folículo preovulatorio del ovario de la gallina produce en forma primaria andrógenos y estrógenos. Sin embargo, hasta el momento no se han descrito las características estructurales específicas, que se presentan en la lámina tecal, durante la maduración secuencial de los folículos preovulatorios.

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue 1) evaluar los cambios en el tejido esteroideogénico, los vasos sanguíneos y los islotes de células indiferenciadas en la lámina tecal de folículos preovulatorios en el ovario de la gallina, y 2) correlacionar las modificaciones estructurales observadas, a través del desarrollo folicular, con la actividad esteroideogénica, ya reportada.

Muestras de folículos preovulatorios de F5 a F1 clasificados en orden creciente de tamaño, así como de folículos amarillos pequeños (SYF), fueron obtenidos de gallinas White Leghorn para estudios de microscopía de luz y su análisis morfométrico.

Células esteroideogénicas típicas con abundantes vesículas lipídicas fueron identificadas al lado de vasos sanguíneos en la teca interna. Islotes de células indiferenciadas se observaron en la teca externa. El tejido esteroideogénico de la teca interna fue evidente en los folículos amarillos pequeños. Y considerando el crecimiento del folículo en desarrollo, el volumen total de células esteroideogénicas se incrementó del SYF al folículo F1.

Los vasos sanguíneos alcanzaron el máximo desarrollo en el folículo más grande F1. Por otro lado, los islotes de células indiferenciadas estuvieron notablemente reducidos en el folículo F1.

Los cambios estructurales aquí descritos, pueden estar correlacionados con las modificaciones en la secreción de andrógenos y estrógenos, durante la maduración del folículo ovárico.

INDICE

1. RESUMEN	
2. INTRODUCCION.....	1
Estructura del ovario en aves.....	1
El ovario derecho.....	1
El ovario izquierdo.....	3
Posición, irrigación sanguínea e inervación...	3
El ovario izquierdo inmaduro.....	5
El ovario izquierdo maduro.....	7
Proliferación de ovogonias.....	12
Foliculogénesis.....	13
Estructura de la corteza.....	15
Ultraestructura del folículo ovárico.....	20
Folículos atrésicos y postovulatorios.....	35
Maduración y morfología de la pared folicular en mamíferos.....	38
Principales diferencias estructurales entre el folículo de ave y mamífero.....	52
Esteroidogénesis en mamíferos y aves.....	53
Mamíferos.....	54
Aves.....	60
Principales diferencias en el lugar de biosíntesis de esteroides foliculares en mamíferos y aves.....	70
3. JUSTIFICACION.....	71
4. OBJETIVOS.....	72
5. MATERIAL Y METODO.....	73
6. RESULTADOS.....	77
7. DISCUSION.....	90
8. CONCLUSIONES.....	98
9. BIBLIOGRAFIA.....	99

**CAMBIOS MORFOLOGICOS EN LA LAMINA TECAL DURANTE LA MADURACION DE
LOS FOLICULOS PREOVULATORIOS EN EL OVARIO DE LA GALLINA DOMESTICA.**

(Gallus domesticus)

INTRODUCCION

En la gallina, aunque no en todas las aves, solamente el ovario y oviducto izquierdos son funcionales. Durante el desarrollo embrionario se forman una gónada y un oviducto derechos, pero usualmente degeneran y solamente persisten unos rudimentos cuando nace el polluelo; sin embargo, algunas especies silvestres tienen dos ovarios, pero generalmente sólo un oviducto funcional. En la gallina, paloma y pata se han reportado un ovario y oviducto derechos persistentes, y en raras ocasiones ambos son completamente funcionales (Sturkie, 1965 y Gilbert, 1971a).

ESTRUCTURA DEL OVARIO

A. EL OVARIO DERECHO

El más notable aspecto de las aves es el establecimiento de una asimetría gonadal en la hembra. Aproximadamente, después de los 3½ días de incubación, varias células germinales primordiales han alcanzado el epitelio genital, esta zona genital es claramente aislada por vasos sanguíneos y células mesenquimatosas del área mesonéfrica. El epitelio genital tiene una lámina basal bien definida, la cual frecuentemente es rota y

atravesada por las células somáticas y las células germinales primordiales. Por el 4o. día de incubación, del epitelio celómico surgen los cordones epiteliales internos, los cuales ahora pueden ser llamados cordones medulares primarios, cubiertos por el epitelio superficial, este último prolifera por mitosis e incorporación de células mesenquimatosas adyacentes (Merchant-Larios, 1978).

Este modelo inicial de desarrollo pronto lleva a una nueva dirección, la cual es dependiente del sexo genético. En hembras las gónadas indiferenciadas de aves son formadas por los cordones medulares primarios, cubiertos con un epitelio superficial, el cual genera cordones secundarios en la gónada izquierda, que dará origen a la corteza ovárica fértil; tal proliferación no ocurre en la gónada derecha, por lo que la diferenciación sexual morfológica es asimétrica en hembras (Scheib, 1983).

La gónada derecha, cuyo epitelio superficial era similar a la izquierda en los primeros estadios, sus células cúbicas se transforman en planas. Mientras que la gónada izquierda experimenta un crecimiento, así como una proliferación del tejido del estroma y de la vascularización, hasta transformarse en un ovario con dos regiones topográficas bien definidas: la corteza y la médula (Merchant-Larios, 1978).

El ovario derecho empieza a involucionar a partir del 9o. día de desarrollo embrionario, siendo más evidente el día 15, en este momento se detecta una intensa actividad enzimática positiva a fosfatasa ácida. Cuando se presenta la eclosión, el ovario tan sólo se aprecia como un vestigio rudimentario (Avila et al., 1991).

B. EL OVARIO IZQUIERDO

1. Posición, Irrigación Sanguínea e Inervación

La reproducción en aves, a diferencia de otros grupos de vertebrados, es exclusivamente ovípara. El ovario izquierdo, el cual es el único órgano sexual primario funcional en la mayoría de especies de aves (Lofts y Murton, 1973), es de forma irregular y de color rosado, situado sobre el lado izquierdo de la cavidad abdominal cerca de la línea media. Se encuentra a un lado de las glándulas adrenales y tiene una cápsula de tejido conectivo fibroso que lo envuelve, al igual que a la glándula adrenal izquierda. Esta adherido a la pared corporal por un pequeño ligamento mesovárico y a la vena cava por un tallo ovárico o hilio, compuesto de tejido conectivo, vasos sanguíneos, nervios y músculo liso (Hodges, 1974).

La irrigación arterial en el ovario es variable: generalmente se origina de la arteria gonadorrenal izquierda vía su rama ovario-oviductal, y de ésta surge la arteria ovárica (Fig. 1), la que finalmente se disemina en todo el ovario.

Dos venas drenan la sangre del ovario (Fig. 1), la vena ovárica-craneal se une con la vena suprarrenal izquierda la cual se vacía en el lado izquierdo de la vena cava; la vena ovárica-caudal desemboca directamente en la parte ventral de la vena cava cerca de las venas ilíacas externas (King, 1982).

Con respecto a la inervación, el ovario recibe ramas de una extensa red de ganglios, células nerviosas y nervios adyacentes dentro del tallo ovárico. Se localizan nervios colinérgicos y

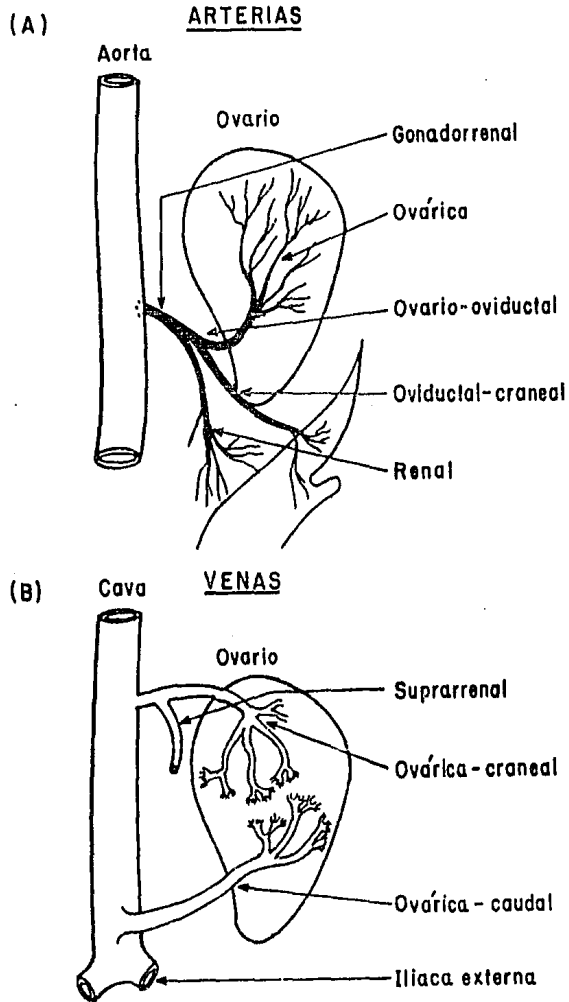


Fig. 1 Diagrama que muestra la irrigación sanguínea del ovario: (A) las arterias, (B) las venas.

adrenérgicos, lo cual indica que componentes simpáticos y parasimpáticos están presentes. La red simpática tiene varios

plexos en esta región y presenta nervios que se originan del 5o., 6o., 7o., y ocasionalmente 4o. torácico; y del 1o. y 2o. lumbar de la cadena ganglionar simpática. Muchos de los nervios están asociados con los vasos sanguíneos y músculo liso de la médula y la corteza del ovario, pero otros corren directamente a los folículos en desarrollo y maduros, cuyas funciones permanecen desconocidas (Gilbert, 1971a).

2. El Ovario Izquierdo Inmaduro

En términos generales, el desarrollo ovárico se inicia el 3½ día de desarrollo embrionario, cuando las células germinales primordiales son incorporadas. Durante el 6o y 7o. día los cordones medulares primarios formados dan origen a la médula y a las células intersticiales medulares, las cuales a partir de este momento tienen las características ultraestructurales de células productoras de esteroides, y presentan actividad 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, Δ 5-4 isomerasa (3 β -HSD), actividad que se ha detectado a partir de los 6½ días en el ovario de embriones de pollitas; a los 5½ en codorniz y a los 9 días en el de paloma (Weniger y Zeis, 1971; Scheib, 1983; Avila et al., 1991).

Durante el 8o. y 11o. día se forma la corteza. Posteriormente, las ovogonias aparecen y se multiplican rápidamente alcanzando su número máximo el 17o. día, a partir de este momento tienden a disminuir hasta que ocurre la eclosión (Hughes, 1963). En el 6o. día se origina la diferenciación morfológica del ovario; el día 14o. aparecen las células

gonadotrópicas en la hipófisis iniciando su función, y a partir de este momento, esta glándula controla la esteroidogénesis. Ya que antes de este día (Gilbert, 1971b), la esteroidogénesis era autónoma.

Como puede observarse la gónada es capaz de producir hormonas sexuales antes que la diferenciación morfológica ocurra (Gilbert, 1971b). Actualmente es aceptado que la secreción estrogénica temprana, juega un papel importante en el control del desarrollo ovárico, así como en la diferenciación de órganos y tejidos dependientes de estrógenos (Avila et al., 1991; Méndez-Herrera et al., 1993).

A través del desarrollo embrionario, el ovario izquierdo es el más grande de las dos gónadas, ya que desde los 3½ días se establece una asimetría en la distribución de las células germinales primordiales. Desde la eclosión hasta la madurez sexual, su tamaño se incrementa entre 10 y 15 mm de longitud por 10 mm de ancho. Durante este período el peso permanece relativamente constante entre 0.3 y 0.5 g (Gilbert, 1971a).

Esencialmente, el ovario consiste de médula y corteza, separada por una densa lámina de tejido conectivo, la túnica albugínea. La médula esta formada de cordones medulares primarios, y contiene tejido conectivo, nervios y músculo liso; es probablemente la parte más vascular del ovario. La corteza contiene las ovogonias y ovocitos, y rodea a la médula casi completamente excepto a nivel del hilio; su superficie externa está cubierta por un epitelio cúbico (Gilbert, 1971a). Fig. 2

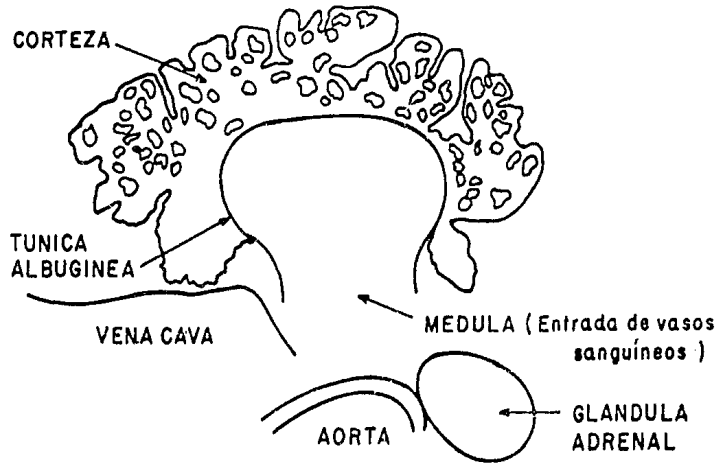


Fig. 2 Sección transversal que muestra la estructura del ovario y su relación con la aorta, adrenales y vena cava.

3. El Ovario Maduro

Aproximadamente de las 18 a las 20 semanas de edad la gallina alcanza su etapa reproductiva, se presenta un aumento en el peso ovárico de 0.4 g a 2.0 g. En la madurez hay un rápido incremento al peso maduro entre 40 y 60 g, esto se debe sobre todo al desarrollo de cuatro a seis folículos, los cuales crecen hasta alcanzar un diámetro de aproximadamente 35-40 mm antes de la ovulación; son de color amarillo y con un visible plexo en su lámina superficial. Los ovocitos están contenidos dentro de folículos adheridos por tallos a la masa principal del ovario (Fig. 3). Además numerosos y diminutos ovocitos menores de 1 mm diámetro, se localizan incluidos por debajo del epitelio

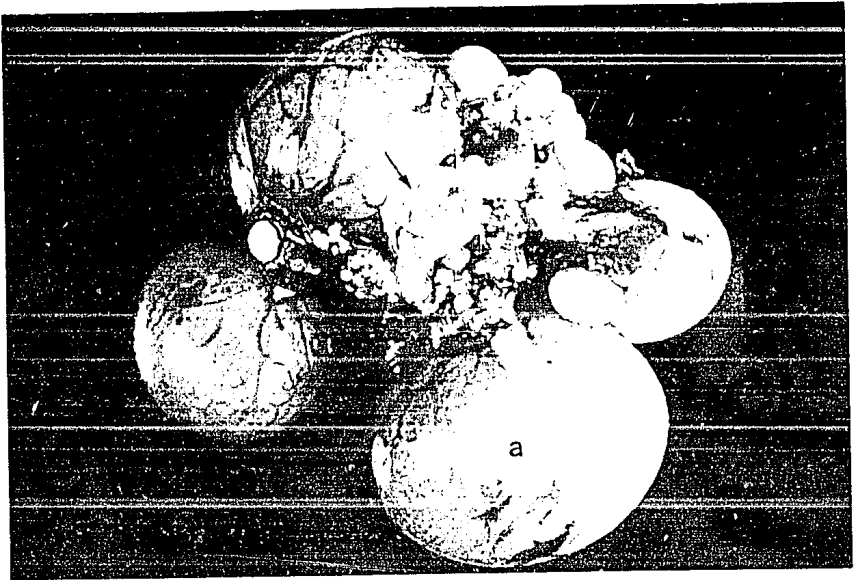


Fig. 3 Ovario de una gallina en período de puesta. El ovario se asemeja a un racimo de uvas, con cuatro o seis grandes folículos maduros (a) y miles de folículos más pequeños e inmaduros (b). El color amarillo de los folículos se debe a la presencia de vitelo. Inmediatamente después de la ovulación el folículo se transforma en un saco de paredes finas, el folículo postovulatorio (flecha).

superficial. La corteza y médula juntas pesan cerca de 6.0 g, casi el peso del ovario adulto en reposo, este incremento tarda en promedio de 9 a 14 días (Gilbert, 1971a; Hodges, 1974).

El ovario de gallinas maduras generalmente contiene de cuatro a seis folículos preovulatorios, de 10-35 mm de diámetro. Estos folículos amarillos grandes que contienen vitelo, constituyen la mayor parte de la masa del ovario, se encuentran organizados en una jerarquía folicular y pueden ser clasificados con relación a su tamaño y a la secuencia ovulatoria diaria.

En orden decreciente de tamaño el folículo más grande se denomina F1, le sigue el folículo F2, y así sucesivamente hasta llegar al folículo F5 que es el más pequeño (Fig. 4). El folículo F1 es el siguiente para ovular, posteriormente el folículo F2 se transforma en F1, y la pared folicular remanente que queda después de la ovulación origina al folículo postovulatorio (Wells y Gilbert, 1984). Fig. 3 (flecha)

Los folículos que entran en la jerarquía son reclutados de un vasto "almacen" de folículos más pequeños. Existen varios estadios de folículos pequeños que no han entrado a la jerarquía, y son clasificados (Nitta et al., 1991a) de acuerdo a su tamaño: folículos corticales (menores de 1 mm de diámetro) incluidos en el estroma ovárico, folículos pequeños blancos (aproximadamente de 1 mm de diámetro), folículos grandes blancos (2-4 mm de diámetro), y folículos pequeños amarillos (5-10 mm de diámetro) los cuales protruyen de la superficie del ovario. Existen en el ovario izquierdo en promedio 1000 folículos pequeños blancos, 10 folículos grandes blancos y 5 folículos amarillos pequeños (Robinson y Etches, 1986). Los folículos pequeños menores de 10 mm y el estroma ovárico, reciben en promedio el 50% del flujo sanguíneo del ovario, y la otra mitad corresponde a los folículos preovulatorios F5 a F1 (Scanen et al., 1932). Los folículos pequeños pueden entrar a la jerarquía folicular y ovular o bien transformarse en atrésicos.

El ovario consta de una corteza externa, también llamada zona parenquimatosa, y una médula interna o zona vasculosa. La primera está constituida por folículos en diversos grados de

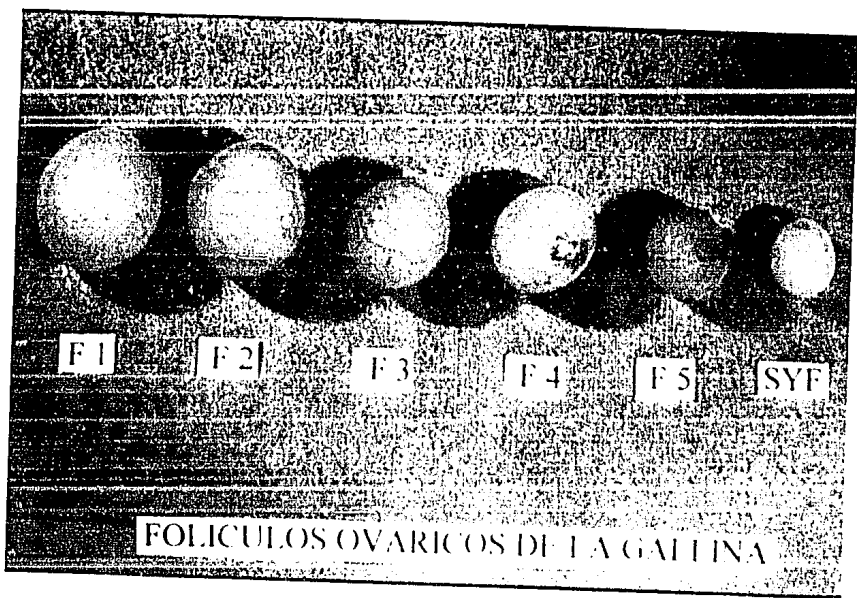


Fig. 4 Jerarquía Folicular. Clasificación de los folículos preovulatorios de la gallina, el folículo más grande es el F1 y el más pequeño es el F5, también se observa un folículo pequeño amarillo (SYF).

maduración, así como por folículos atrésicos y postovulatorios en proceso de regresión. En la médula corren vasos sanguíneos, linfáticos y nervios, que irrigan e inervan a las estructuras corticales (Lofts y Murton, 1973). En el ovario cerca de 2,500 ovocitos son visibles a simple vista y, aproximadamente, 12,000 son de tamaño microscópico. Otros han estimado que el número de ovocitos en la gallina puede ser del orden de millones. Sin embargo, solamente unos pocos de éstos alcanzan la madurez y son ovulados (Sturkie, 1967; Gilbert, 1971a). Fig. 3

Además del ovario, el aparato reproductor de la gallina en

período de puesta, está constituido por el oviducto, el cual puede alcanzar un tamaño aproximado de 65 cm. El oviducto está constituido por varias partes: infundíbulo, magnum, istmo, útero y vagina (Fig. 5); en esta fotografía se observa un huevo en el útero. En el infundíbulo se produce la fecundación y la segunda división de maduración, que da lugar al óvulo. Las glándulas de la pared del oviducto son las responsables de la formación de la albúmina y de la cáscara del huevo. El huevo permanece en el infundíbulo 15 minutos, en el magnum 3 h, en el istmo 75 min, en el útero 20 h y en la vagina pocos segundos, lo que da un total de 24 h aproximadamente. Cuando la gallina entra en un período de reposo, la longitud del oviducto se reduce dramáticamente hasta alcanzar aproximadamente los 15 cm (Sturkie, 1967).

4. Proliferación de Ovogonias

El mayor número de células germinales primordiales se observan entre 50 a 55 h del desarrollo embrionario, en áreas extraembrionarias del blastodermo, y por vía sanguínea (Merchant-Larios et al., 1989) y tal vez también a través de movimientos ameboideos y mecanismos quimiotácticos llegan al epitelio genital, en donde se dividen por mitosis, aumentando su número rápidamente. En embriones de pollitas a partir del 9o. día de incubación se observan ovogonias en la corteza del ovario izquierdo, organizadas en pequeños grupos o nidos. Entre el 9o. y 17o. día las ovogonias aumentan aproximadamente 25 veces y las mitosis se suceden por regiones; sin embargo, el primer día post-eclosión, degeneran cerca del 30% de las ovogonias en etapa de mitosis o interfase (Tokarz, 1978).



Fig. 5 Oviducto de una gallina en período de puesta. Con sus diferentes partes: (a) infundíbulo, (b) magnum, (c) istmo, (d) útero, y (e) vagina. En el útero se aprecia un huevo.

Cuando las ovogonias inician la primera división meiótica, reciben el nombre de Ovocitos, y el proceso se denomina Ovogénesis. La ovogénesis en aves se lleva a cabo durante el desarrollo embrionario y posiblemente con muy pocas excepciones, concluye en el momento de la eclosión. Se inicia el 13o. y 14o.

día de incubación, y finaliza el día 20; los ovocitos en el embrión de pollo se observan inicialmente en la zona cortical central, y la mayoría de ellos se encuentran en el estadio de diploteno de la primera división meiótica, el cual es de larga duración en las aves (Tokarz, 1978). Respecto al control hormonal, en la proliferación de ovogonias y la ovogénesis, se presume que en las aves es independiente de esteroides gonadales y gonadotropinas (Tokarz, 1978).

5. Foliculogénesis

Cuando el ovocito primario ha llegado a la etapa de diploteno de la profase meiótica, es rodeado por algunas células foliculares planas y encerrado por una membrana basal, (Guraya, 1978), de esta manera se forma una unidad independiente del medio ambiente circundante, y a este proceso se le denomina foliculogénesis (Peters, 1978).

La foliculogénesis en las pollitas se inicia después de la eclosión, aproximadamente entre el 4o. y 5o. día (Tokarz, 1978). Respecto al origen de las células foliculares en mamíferos, se postula que provienen de las células somáticas de los cordones sexuales (Merchant, 1975). Mientras que en aves, se plantea que derivan de las células indiferenciadas del estroma circundante (Guraya, 1978).

Los primeros folículos aparecen en el interior y parte central de la corteza, progresando hacia la zona externa, hasta que todos los ovocitos se encuentren formando parte de los folículos. Se desconocen las causas que inducen la

foliculogénesis; sin embargo, un prerrequisito para la formación de folículos es la presencia de ovocitos en la gónada, sugiriendo que estos son necesarios para la inducción de la organización folicular, aunque desde luego, pueden existir otros mecanismos moduladores (Peters, 1978).

En el primer mes post-eclosión el ovario de pollitas es sumamente activo en la formación, crecimiento y desarrollo folicular. A los 15 días de la eclosión se observan ovocitos pequeños rodeados por una capa única de células foliculares planas, en el día 22 sus células se transforman en cúbicas; a partir de este momento y hasta el día 29 las células forman un tejido epitelial pseudoestratificado cilíndrico, y el ovocito crece a un tamaño intermedio debido a la intensa acumulación de vitelo; este tipo de ovocito constituye la población más estable del ovario. Finalmente, se aprecian del día 29 al 36 ovocitos grandes con un tejido epitelial simple cúbico, en un porcentaje mucho menor (Méndez-Herrera, 1989).

Del día 17 al 36 post-eclosión, el número de células germinales se reduce un 98% de forma similar que en mamíferos. En relación con la atresia folicular, entre el día 15 y 36 se elimina más de la mitad de la población folicular, aunque, folículos atrésicos se observan en todas las edades (Méndez-Herrera, 1989).

6. Estructura de la Corteza

a. Epitelio Superficial. La superficie del ovario está cubierta por el epitelio superficial, el cual consiste de una

sola lámina de células cuya forma varía considerablemente dependiendo de la posición que ocupa sobre la superficie del ovario. Normalmente son células cúbicas, con un grosor aproximado de 5 μm y un núcleo redondo. Sin embargo, en áreas donde el epitelio está bajo tensión como los sitios que rodean a los ovocitos en rápido crecimiento, las células epiteliales se transforman en planas y su núcleo es fusiforme. Sobre los más grandes folículos las células se observan siempre escamosas. Debajo del epitelio superficial se encuentra una delicada capa de tejido conectivo denso, la túnica albugínea, que surge aproximadamente el 14o. día de desarrollo embrionario (Hodges, 1974).

b. El Estroma. Se localiza por debajo de la túnica albugínea, está formada por tejido conectivo laxo, el cual consiste de un gran número de fibras de colágena de grosor fino y medio, en cuya estructura se localizan gran cantidad de pequeños vasos sanguíneos, con diferentes tipos celulares dispersos, donde el fibroblasto es la célula predominante (Hodges, 1974).

c. Otros Tipos Celulares

Eosinófilos. Se localizan de manera aislada o en grupos, en la parte externa de la corteza, particularmente en ovarios maduros.

Células Intersticiales. En el ovario maduro estas células se pueden organizar en grupos o nidos y localizarse en la médula, en el estroma cortical o en la teca folicular. Respecto a su origen se ha sugerido que todas son derivadas de un sólo tipo

celular, el cual se origina en la médula del embrión y migra a su localización definitiva durante el desarrollo del ovario. Las células intersticiales son redondas o poligonales, con un núcleo redondo u ovoide. Su citoplasma es claro, tal vez debido a la presencia de un gran número de vesículas lipídicas. En el ovario maduro casi no se observan, presumiblemente porque se han incorporado a la teca folicular (Hodges, 1974).

Células Vacuolares. Se aprecian particularmente en la corteza de ovarios viejos. El citoplasma de estas células contiene numerosas vacuolas de grasa, su núcleo es pequeño y con apariencia de estar en proceso de degeneración. Tienen similitud con las células granulosas en degeneración de folículos postovulatorios (Hodges, 1974).

d. Ovocito.

En la corteza ovárica, todos los ovocitos son del tipo primario hasta poco antes de la ovulación. La maduración se inicia en el folículo totalmente desarrollado y es concluida en el oviducto. Comprende dos divisiones sucesivas y diferentes, la primera división origina un ovocito secundario y el primer cuerpo polar, ocurre aproximadamente 2 h antes de la ovulación, y puede estar bajo control de la hormona luteinizante (LH) (Gilbert, 1971a).

La segunda división de maduración ocurre en el oviducto, subsecuente a la ovulación (donde, tal vez la penetración del espermatozoide es esencial para que esta división pueda ocurrir). Se presenta la reconstitución de la cromatina dentro de una

definitiva membrana nuclear y se forma el pronúcleo femenino. En las aves la hembra es el sexo heterogamético (ZW), y el macho el homogamético (ZZ), (Merchant-Larios, 1978); por tanto, el sexo del futuro embrión es determinado antes de la ovulación por la hembra y no en el momento de la fertilización como en mamíferos (Gilbert, 1971a).

Los ovocitos en desarrollo miden en promedio de 30 a 400 μm de diámetro. Cada ovocito consiste de un núcleo o vesícula germinal en posición central, con uno o dos nucleólos y cromatina difusa. En todos los ovocitos mayores a 200 μm de diámetro, se encuentra a un lado del núcleo una masa granular, el cuerpo de Balbiani, el cual consiste de esferas de vitelo, mitocondrias y el complejo de Golgi (Hodges, 1974)

El depósito de vitelo durante el desarrollo post-embrionario del ovocito, puede ser dividido en 3 fases: (1) Un período de lento crecimiento por el almacenamiento de vitelo, que consiste principalmente de grasa neutra, perdurable por meses o incluso años, (2) una fase intermedia, cuando algo de proteína de vitelo es adicionada, la cual dura cerca de 60 días, y (3) el período final, de 7 a 11 días, momento en el que la mayor parte de vitelo se agrega y el ovocito incrementa su peso de 0.5 g a 19 g. En esta etapa el ovocito puede culminar con la ovulación, o la atresia folicular (Gilbert, 1971a).

7. Estructura del Folículo Maduro

El término folículo (del lat. folliculus), significa cripta o pequeño saco. La parte más sobresaliente de un ovario activo

es un gran número de grandes folículos, los cuales están atravesando los estadios finales de rápido crecimiento y acumulación de vitelo. Tales ovocitos miden normalmente de 1.5 a 3.5 cm de diámetro y están encerrados dentro de folículos sostenidos por un tallo, debido a esto, los folículos se proyectan de la superficie del ovario (Hodges, 1974).

La pared del folículo maduro está constituido de adentro hacia afuera por las siguientes partes: membrana vitelina, zona radiata, lámina perivitelina, granulosa, membrana basal, teca interna, teca externa, tejido conectivo derivado del estroma ovárico, epitelio superficial y el tallo folicular (Gilbert, 1971a) Fig. 6

El tallo folicular o pedículo, consiste de vasos sanguíneos, nervios con fibras colinérgicas y adrenérgicas (Callebaut, 1988) y fibras musculares lisas intercalados en el tejido conectivo. Periféricamente, cubriendo el tallo y al folículo, se localiza el epitelio superficial cúbico o plano, por debajo de este se sitúa el tejido del estroma cortical, el cual en los folículos más grandes puede reducirse a una muy delgada lámina de tejido conectivo laxo (Gilbert, 1971a).

El estigma es una banda blanca en la superficie de los folículos, se localiza opuesta al tallo. Es normalmente una banda simple que mide cerca de 2 o 3 mm de grosor y que puede llegar a trifurcarse; en un folículo maduro es claramente visible debido a que es relativamente avascular. Es una región especializada de la pared folicular, que se rompe en el momento de la ovulación para la liberación del ovocito Fig. 6 (Gilbert, 1971a; Hodges, 1974).

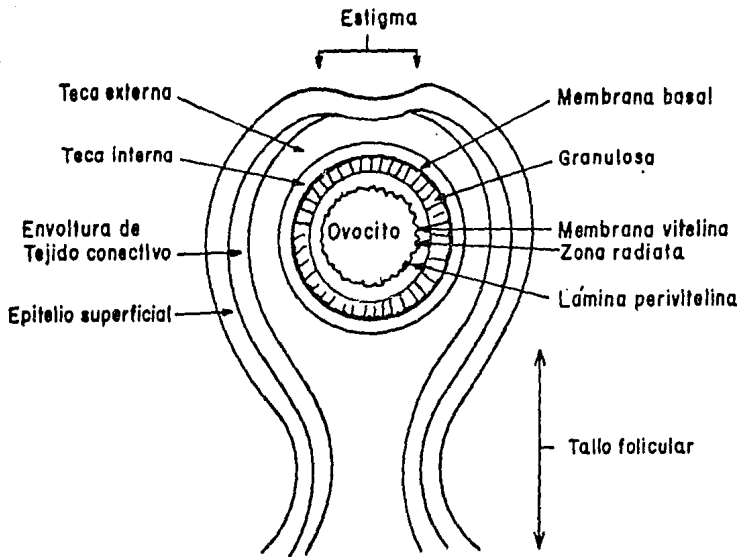


Fig. 6 Diagrama de la estructura folicular. Las dimensiones de las estructuras han sido amplificadas.

El folículo propiamente dicho, consta de: la membrana vitelina, zona radiata, lámina perivitelina, membrana granulosa o epitelio folicular, membrana basal, teca interna y teca externa (Hodges, 1974).

8. ULTRAESTRUCTURA DEL FOLICULO OVARICO (Ovocito en Interfase)

Membrana granulosa. La membrana granulosa o epitelio folicular es la lámina de células inmediatamente adyacentes al ovocito, las cuales lo rodean y es avascular (Gilbert, 1971a). Los ovocitos primordiales están asociados con algunas células

foliculares planas, cuyo citoplasma muestra un pobre desarrollo de organelos y RNA; también se aprecian algunas inclusiones lipídicas compuestas de fosfolípidos y triglicéridos (Guraya, 1978). Con el desarrollo del ovocito, en folículos previtelogénicos en crecimiento, las células foliculares se incrementan en número para formar una sola lámina de células cúbicas (Lofts y Murton, 1973). En ovocitos de tamaño intermedio (aproximadamente de 0.4 mm - 4.0 mm), el epitelio gradualmente se desarrolla a pseudoestratificado cilíndrico. Las células foliculares se tornan largas debido al desarrollo de organelos y citoplasma, su núcleo es ovoide y en él se observa un prominente nucléolo. En este estadio intermedio de crecimiento del ovocito, es cuando el epitelio alcanza su máxima altura, pero su tamaño es otra vez reducido en los grandes folículos vitelogénicos, y el epitelio pseudoestratificado cilíndrico es finalmente cambiado a una sola lámina, consistente de células cúbicas o planas. La estructura pseudoestratificada del epitelio folicular, responde a un proceso de adaptación a las demandas del ovocito en rápido crecimiento (Guraya, 1978).

En el citoplasma de los folículos previtelogénicos grandes y vitelogénicos tempranos, se aprecia una masa basófila yuxtannuclear (retículo endoplásmico rugoso y ribosomas libres, ricos en RNA y proteínas), complejo de Golgi, mitocondrias, y gránulos lipídicos de tamaño variable; consistentes principalmente de fosfolípidos y algunos triglicéridos. También se observan centriolos, filamentos finos, microtúbulos y gránulos de glucógeno. La presencia de un bien desarrollado retículo

endoplásmico rugoso, y muchos ribosomas libres en las células foliculares, es indicativo de su alta actividad de síntesis, necesarios para la secreción de las cubiertas del ovocito. El complejo de Golgi adyacente al retículo endoplásmico rugoso, muestra un menor desarrollo en la fase tardía del crecimiento del ovocito, sugiriendo que su actividad secretoria es mayor en los ovocitos previtelogénicos. El observar abundante RNA en el citoplasma de las células foliculares, es sugestivo de una gran actividad nuclear. Los gránulos lipídicos parecen ser transportados de las células foliculares al interior del ooplasma y presumiblemente son los precursores del vitelo. La acumulación de glucógeno en la superficie externa, indica que también pueda ser transportado al ovocito (Hodges, 1974; Guraya, 1978). Por tanto, las posibles funciones de las células foliculares parecen ser: secretar lípidos, glucógeno, proteínas, y RNA ; y estos migran a través de la célula folicular hasta el interior del ovocito. Esta conclusión está basada principalmente en consideraciones de sus características citológicas, autorradiográficas e histoquímicas. Es posible que estas sustancias sirvan principalmente para nutrir al ovocito, puesto que es una célula excepcionalmente grande, la cual es encapsulada por las células foliculares; y de esta forma, ayuden a preparar al ovocito para la fase final de formación de vitelo, y la embriogénesis temprana. Los procesos de pinocitosis, fagocitosis y difusión, juegan un papel esencial en la transferencia de sustancias a través de las membranas de las células foliculares y el ovocito de los folículos en crecimiento.

Simultáneamente, las células foliculares durante el período preovulatorio empiezan a desarrollar las características citológicas de células secretoras de esteroides, en lugar de células que sintetizan proteínas (Guraya, 1978).

Células teñidas de oscuro y claras han sido demostradas en el epitelio folicular de varias especies de aves. Las células oscuras, están en procesos de degeneración y son gradualmente resorbidas, sus productos consisten de DNA, RNA, proteínas y lipoproteínas, aparentemente sirven para nutrir al ovocito aviar en crecimiento. Esto constituye un proceso de adaptación interesante, mediante el cual varias células foliculares degeneran para proporcionar, directa o indirectamente, sustancias para el desarrollo del ovocito en sus procesos de crecimiento, y también para la embriogénesis temprana (Guraya, 1978).

Las células epiteliales foliculares poseen en su superficie apical protuberancias, las cuales se proyectan en el interior de la membrana del ovocito. Estas protuberancias constituyen adaptaciones poco comunes de la superficie de membrana, que dan origen a organelos membranosos altamente especializados característicos de los folículos previtelogénicos en desarrollo de los ovarios en aves, denominados <<lining bodies>>, y se considera que juegan un papel esencial en la formación temprana de vitelo. Estos <<lining bodies>> sólo se presentan en aves y tortugas, más no en otras especies de vertebrados (Hodges, 1974; Guraya, 1978).

Los <<lining bodies>> también se conocen con los siguientes nombres: transomas, premitocondrias, organelos únicos en su

género, macrocuerpos, cuerpos vesiculares y membranas terminales. Se han identificado cinco categorías de <<lining bodies>>: (1a.) vesículas pequeñas de superficie lisa (de aproximadamente 40 nm), localizadas en el citoplasma, (2a.) vesículas grandes de superficie lisa (0.5 μ m), que contienen material finamente granular, (3a.) vesículas de tamaño similar al anterior, pero que contienen material electrodensito parecido a lisosomas, (4a.) parches, los cuales son probablemente grasa neutra, y (5a.) vacuolas grandes vacías, quienes pueden formar un sistema de intercomunicación (Hodges, 1974).

Estas estructuras membranosas que se originan del epitelio folicular aumentan en número justo antes del depósito de vitelo. También se ha postulado que corresponden a bolsas de ribosomas, que al situarse en el interior del ovocito son activos en la elaboración de enzimas involucradas en la organización, modificación y eventual lisis de gránulos de vitelo. Finalmente, se sugiere que intervienen en la transferencia de materiales de las células foliculares al ovocito, donde pueden actuar como un estímulo (Guraya, 1978).

Membrana vitelina. Es la membrana limitante del vitelo, con apariencia granular y fibrilar, su principal constituyente es la membrana plasmática del ovocito. Se le considera una membrana primaria, ya que se origina del propio ovocito.

Zona radiata. En los estadios iniciales del desarrollo folicular, la membrana celular del ovocito y del epitelio folicular se encuentran unidas por medio de desmosomas. No se

observa en este momento ningún tipo de material. Con el crecimiento del ovocito, algo de sustancia PAS-positiva empieza a acumularse entre la membrana plasmática del ovocito y la membrana apical de las células foliculares; esto es el inicio de la formación de una zona de material PAS-positiva, la cual también tiñe para proteínas, consiste principalmente de glucoproteínas. En la parte más interna de esta área de material homogénea, una zona estriada se desarrolla, la cual es denominada zona radiata. Las estriaciones corresponden a las microvellosidades que se originan de la superficie del ovocito, que junto con los procesos celulares del epitelio folicular que se proyectan hacia el ovocito, forman la zona radiata (Guraya, 1978).

Wyburn et al., (1965) indica que la zona radiata se encuentra presente en todos los folículos, a partir de los 7 mm de diámetro (folículos de crecimiento rápido, 8 a 9 días preovulatorios), y que ultraestructuralmente está formada por tres elementos que son: los procesos citoplásmicos del ovocito y los de las células granulosas y entre ambas, la sustancia granular de la lámina perivitelina. Esta apariencia estriada de la membrana plasmática del ovocito, se mantiene a lo largo de todo el período preovulatorio, y se piensa que favorece la absorción de sustancias necesarias para la síntesis de vitelo.

Esta zona de aproximadamente 5 μ m de grosor, no es estrictamente una membrana, pero es la región de contacto entre el ovocito y el folículo (Gilbert, 1971a). Se piensa que la función de esta adaptación estructural es aumentar la superficie

de absorción del ovocito y facilitar el transporte de material nutritivo hacia él, directa o indirectamente, desde las proyecciones de las células foliculares, por lo que los procesos de difusión, pinocitosis y fagocitosis juegan un papel importante (Guraya, 1978).

Lámina perivitelina. Es una zona delgada acelular, probablemente secretada por las células granulosas. En el folículo temprano escasamente mide 1 μm de grosor, pero se incrementa a 3 μm en promedio antes de la ovulación (Gilbert, 1971a). La lámina está constituida por una sustancia granular y material electrodenso que le da una apariencia homogénea, por lo que se le considera una membrana secundaria del ovocito. Aparece en los folículos de 7 mm y mide 1 μm de grosor, en los folículos de 15 mm (fase de crecimiento rápido, 5 días preovulatorios), se ensancha, a cerca de 2 μm y se observan además elementos fibrilares. La lámina perivitelina separa la superficie apical del epitelio folicular de la membrana del ovocito, y se extiende dentro de la zona radiata. Se considera que es el equivalente a la zona pelúcida en mamíferos (Wyburn et al., 1965).

Membrana basal. Separando las células de la teca interna de la membrana granulosa, se localiza una membrana basal distintiva, de aproximadamente 1 μm de grosor, de composición glucoproteíca (Hodges, 1974). El desarrollo de la membrana basal varía enormemente en los diferentes estadios del crecimiento folicular, y constituye una barrera de permeabilidad selectiva entre la capa granulosa y la lámina tecal. Sus características

bioquímicas y biofísicas cambian durante la maduración de la pared del folículo, suministrando los requerimientos nutricionales y metabólicos del ovocito en crecimiento. En el análisis bioquímico se identifica un componente finamente fibrilar que corresponde a colágena y un material amorfo de glucosaminoglicanos (Guraya, 1978) y fibronectina, cuya producción es activada por la hormona luteinizante (LH) (Asem et al., 1992).

Membrana tecal. La teca consiste de células del estroma, fibras de colágena, vasos y capilares sanguíneos; la vasculatura sanguínea y la red de colágena progresivamente se incrementa con el desarrollo del folículo. En la pared de los grandes folículos, las fibras de colágena forman haces sobresalientes organizados concéntricamente. La membrana tecal se divide en, teca interna y teca externa, y está separada de la capa granulosa por la membrana basal (Guraya, 1978).

Teca interna. Esta lámina es mucho más delgada que la externa, ya que en relación con esta, solamente ocupa un tercio o un cuarto de su grosor. Consiste de una lámina compacta de células fusiformes, la mayoría de las cuales parecen ser fibroblastos con fibras de colágena entremezcladas, y células productoras de esteroides, descritas inicialmente por Dahl (1970).

Wyburn et al., (1965) divide a la teca interna en 3 láminas: una lámina interna delgada de fibras de colágena, una lámina media que consiste predominantemente de fibroblastos y una

lámina externa de células denominadas vacuoladas por sus características morfológicas. Actualmente se sabe que la principal población celular de la teca interna corresponde a las células vacuoladas, también conocidas como intersticiales, glandulares o esteroidogénicas (Nitta et al., 1991b). Con relación a la diversa nomenclatura que se emplea en la literatura para citar a estas células, considero que no es correcto denominarlas intersticiales, puesto que presentan una localización definida en la teca interna, ni tampoco glandulares ya que es obvio que son células con características secretoras; por lo que un nombre que precisa su posición y función, es el de célula esteroidogénica tecal (razón por la cual, es el término que será empleado en el presente estudio).

El grosor de las tecas interna y externa, así como su estructura, tienden a variar de acuerdo con el tamaño del folículo (Hodges, 1974). No existe diferenciación de la membrana tecal entre su porción interna y externa en el estadio de 1 mm. Hasta el momento en que el diámetro se incrementa a 2 mm, son visibles ambas capas (Wyburn et al., 1965; Hodges, 1974).

Las células esteroidogénicas tecales desarrollan gradualmente los organelos característicos de las células que secretan esteroides: incremento de retículo endoplásmico liso, mitocondrias con crestas tubulares y el aumento de vesículas lipídicas (Dahl, 1970; 1971). Estudios realizados a nivel ultraestructural e histoquímico muestran que las células esteroidogénicas tecales poseen la maquinaria citoplásmica para la biosíntesis de hormonas esteroides y constituyen elementos

esenciales durante la maduración de la pared folicular. Células similares se han observado en la teca interna del gorrión y grajo (Lofts y Murton, 1973). Las células epiteliales foliculares, sin embargo, no poseen las características de células secretoras de esteroides durante el desarrollo folicular, como ya se señaló, lo que indica que las células esteroidogénicas tecales, constituyen las células secretoras más importantes a través del proceso de maduración (Guraya, 1978).

En cuanto al origen de las células esteroidogénicas, Gilbert (1971b) sugiere que todas las células localizadas en la médula, corteza y teca derivan de un sólo tipo celular, que se origina en la médula embrionaria y migra a las otras regiones durante el desarrollo ovárico; aunado a la similitud histológica que presentan las células esteroidogénicas de la médula y la corteza. Más recientemente, se han identificado células esteroidogénicas típicas a partir de los 7 días de desarrollo embrionario; y entre los 15 a 19 días, éstas se sitúan en la porción medular y en la médula yuxtacortical del ovario (Avila et al., 1991). Por otro lado se ha descrito un compartimento epitelial en la médula yuxtacortical del ovario de pollitas recién nacidas y se han reconocido 2 tipos celulares: células esteroidogénicas típicas y células poco diferenciadas, por lo que se piensa que tal vez los precursores de las células esteroidogénicas de la teca interna, se originen de esta porción (Pedernera et al., 1988).

A través del desarrollo folicular las células poco diferenciadas migran hacia los folículos en desarrollo y originan las células esteroidogénicas típicas, que se localizan

en la teca inmediatamente después de la capa fina de fibroblastos que rodea a la capa granulosa. De esta manera las células esteroidogénicas típicas se van organizando en la lámina tecal de los diferentes tipos de folículos pequeños. En los folículos corticales y folículos pequeños blancos se aprecia una lámina tecal simple, la cual presenta células esteroidogénicas típicas, que a partir de este momento ya se pueden denominar células esteroidogénicas tecales (CET); los folículos grandes blancos con una distintiva teca interna y teca externa, muestran CET en ambas láminas, estando en mayor proporción en la teca externa; y en los folículos pequeños amarillos las CET se sitúan en la teca interna, quedando anatómicamente separadas de la teca externa. A partir de este momento la localización de las CET, en la teca interna de la pared folicular, queda perfectamente definida (Nitta et al., 1991a).

Teca externa. La teca externa normalmente comprende la mayor parte del grosor de la pared folicular. Periféricamente se fusiona con el tejido cortical adyacente e internamente linda con la teca interna. Esta constituida por tejido conectivo denso fibroso, con fibras de colágena que se organizan de manera paralela concéntricas al folículo. Las fibras son más gruesas y aparentes en la unión entre teca interna y externa. Numerosas hileras de fibroblastos se sitúan entre las fibras, y también se llegan a observar escasas fibras elásticas diseminadas en esta lámina. De acuerdo a Nitta et al., (1991b), los fibroblastos localizados en esta capa presentan una modalidad fisiológica diferente que aún no está bien definida.

La teca externa contiene además fibras musculares lisas, aunque la descripción de su distribución y organización varía considerablemente; cerca del tallo son más gruesas y se adelgazan hacia la zona ecuatorial del folículo, no siendo apreciables en la porción distal del mismo (Hodges, 1974).

Guraya (1978) reporta la presencia de células indiferenciadas parecidas a fibroblastos, las cuales muestran elementos de retículo endoplásmico granular, ribosomas libres, mitocondrias y una pequeña zona de Golgi.

En el estudio de folículos preovulatorios a nivel de teca externa, se indica la existencia de islotes de células epiteliales relativamente indiferenciadas, delimitados por una lámina basal, localizados entre las hileras de fibroblastos. Ultraestructuralmente estas células epiteliales presentan un núcleo alargado con heterocromatina periférica y un evidente nucléolo, su citoplasma muestra poco retículo endoplásmico rugoso, polisomas, mitocondrias con crestas lamelares, y ocasionalmente se observan inclusiones lipídicas (Velázquez et al., 1991). Por otro lado, en la médula yuxtacortical del ovario de pollitas recién nacidas, se ha descrito la presencia de células poco diferenciadas (Pedernera et. al., 1988). Por lo que es posible que esta subpoblación identificada en pollitas, podría ser encontrada en la teca externa del ovario adulto.

En la codorniz japonesa, entre las células superficiales de la teca externa, se ha descrito la presencia de una porción del sistema <<chordolacunar>>, el cual corresponde a espacios o lagunas que pueden estar implicados en la expansión de los

grandes folículos para el rápido crecimiento del ovocito aviar (Callebaut, 1988). En esta misma especie, se señala la existencia de <<black holes>>, que son interrupciones circulares de la teca externa y contienen una vena radial en forma de embudo. El número de <<black holes>> se incrementa paralelamente con el desarrollo folicular, parecen constituir un sistema de adaptación de la teca y sistema circulatorio para el rápido crecimiento folicular. Así mismo, podrían funcionar como válvulas locales para la regulación de la circulación sanguínea a través de la teca interna (Callebaut et al., 1990).

Callebaut et al., (1990) indica que se presenta un incremento prolongado en el número de células tecales durante el periodo de rápido crecimiento folicular. Sin embargo, no precisa si esto ocurre en teca interna o externa.

IRRIGACION SANGUINEA DEL FOLICULO MADURO

La irrigación sanguínea del folículo maduro ha sido descrita en detalle por King (1982), y corroborada por Callebaut (1988).

Sistema arterial. Las arterias foliculares son mucho más simples y espaciosas que las venas. Surgen como ramas de las arterias contorneadas en la zona vascular del ovario. Existen de dos a cuatro en cada folículo maduro. Después de pasar a través del tallo folicular las arterias se ramifican en una lámina arterial externa y media, donde existe una red de venas, fundamentalmente entre las láminas venosas externa y media a nivel del tejido conectivo del estroma. Posteriormente, las

arteriolas penetran en la teca externa y forman una importante "red capilar arterial" por debajo de la membrana basal en la teca interna. Esta red de capilares está íntimamente unida a la membrana basal de la capa granulosa, pero nunca penetra en ella. Fig. 7

Sistema venoso. Comparadas con las arterias, las venas foliculares parecen ser sumamente amplias y mucho más complejas. Forman tres capas distintas de venas interconectadas, dispuestas concéntricamente alrededor del ovocito en crecimiento: 1) Red venosa interna, formada por capilares venosos que rodean a la capa granulosa y que se continúan directamente de la red capilar arterial, drenan por vénulas a la lámina venosa media; 2) La lámina venosa media, formada por una red profusa y extensa de venas anastomóticas en el tejido conectivo del estroma que rodean la teca externa, drenan en la lámina venosa externa; 3) La lámina venosa externa o plexo venoso es la más simple y está formada de venas típicas en las regiones periféricas del estroma de la pared folicular. Drenan en dos o cuatro venas del tallo folicular. Fig. 7

Se ha demostrado que los cinco folículos preovulatorios reciben aproximadamente el 50% del flujo sanguíneo total ovárico, con un incremento progresivo del flujo sanguíneo durante la maduración folicular, del folículo F5 al folículo F1, siendo mayor en este último, mientras que en el folículo postovulatorio hay un dramático descenso. El alto flujo sanguíneo a los cinco principales folículos preovulatorios puede explicarse por, la necesidad en el transporte de precursores para la deposición de

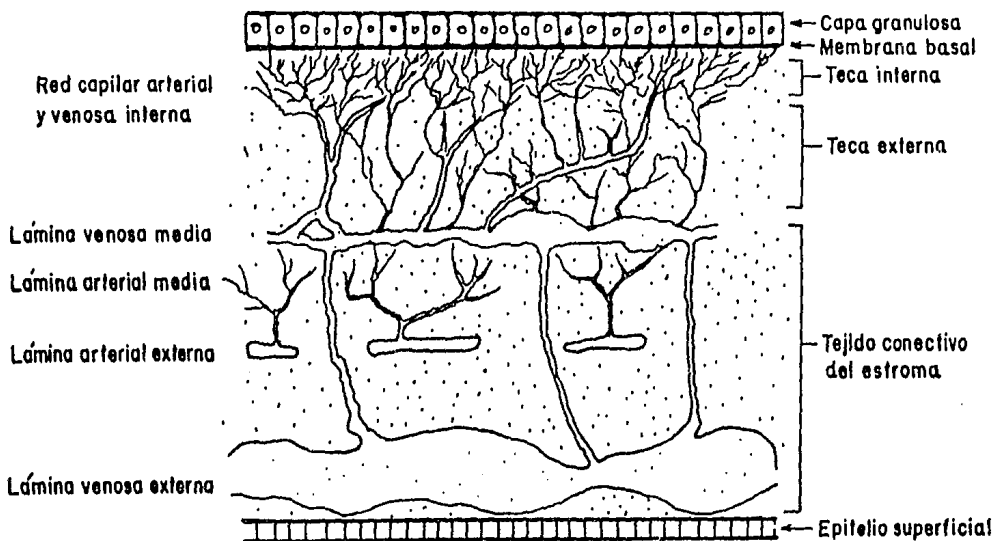


Fig. 7 Esquema del sistema arterial y venoso en la pared del folículo maduro. La localización de las partes del sistema fueron tomadas de King (1982).

vitelo, así como el suministro de oxígeno y nutrientes esenciales para la esteroidogénesis (Scanes *et al.*, 1982).

INERVACION DEL FOLICULO MADURO

El folículo se encuentra muy inervado con células y fibras nerviosas. La pared tiene una inervación similar a la del tallo folicular, pero es menos profusa. Sólo unas cuantas fibras alcanzan la capa granulosa pero ninguna lo penetra. A través de las paredes del folículo existe una extensa red de fibras colinérgicas y adrenérgicas (Callebaut, 1988). Las neuronas

ganglionares están situadas en el tallo folicular. Muchos de los nervios son eferentes a los vasos sanguíneos y músculo liso folicular, y también se presentan fibras nerviosas aferentes (King, 1982).

9. FOLICULOS ATRESICOS Y POSTOVULATORIOS

Foliculos Atrésicos. Los folículos atrésicos son normalmente encontrados en ovarios activos y se ha clasificado tres tipos diferentes de atresia. La primera es la más común y se presenta en folículos de aproximadamente 500 μm de diámetro, donde las células granulosas empiezan a proliferar hasta que llenan al folículo casi completamente y el ovocito disminuye su tamaño. Esta masa celular es invadida por células de la teca, dando origen a una masa celular heterógena. Finalmente, esta masa se hialiniza y se transforma en una cicatriz de tejido conectivo fibroso.

La segunda es la más común encontrada en aves viejas. La capa granulosa y tecal presentan hipertrofia e hiperplasia, el ovocito y la granulosa experimentan degeneración grasa. El folículo eventualmente se colapsa, hialiniza y las células foliculares migran hacia el estroma.

La tercera ocurre en ovarios jóvenes o viejos asociada a folículos de más de 1.5 mm en diámetro, en los que la capa granulosa permanece inactiva, mientras que la lámina tecal presenta una extensa vascularización e hipertrofia. Más tarde la granulosa prolifera y eventualmente llena al folículo totalmente. Posteriormente experimenta degeneración y se forma una cicatriz,

la cual es más grande que en los otros dos casos (Hodges, 1974).

Folículos Postovulatorios. Inmediatamente después de la ovulación el folículo se contrae, las células de la granulosa presentan hiperplasia y debido a esto las paredes se engrosan. El folículo experimenta una total regresión y es eventualmente reabsorbido dentro de la masa del ovario. En un ave con postura activa, de cuatro a seis folículos postovulatorios en diferentes estadios de regresión, son generalmente observables (Hodges, 1974).

Saidapur (1982) ha estudiado en detalle la estructura y función de los folículos postovulatorios en los ovarios de vertebrados no mamíferos. Las especies de aves que más se han estudiado son la paloma y la gallina, los cambios histológicos que ocurren durante el período de vida del folículo postovulatorio, son en forma general los siguientes:

Estadio 1. Después de la ovulación se forma un nuevo folículo postovulatorio, el cual se encoge rápidamente por la contracción de la teca, las células de la granulosa empiezan a hipertrofiarse y algunas se desprenden. La hemorragia de los capilares tecaes puede ocasionar que se observen eritrocitos entre las células granulosas.

Estadio 2. Las células granulosas hipertrofiadas tienen una apariencia de sincicio y dan un aspecto multilaminar; la membrana basal se rompe en algunas zonas. Las células de la granulosa y la teca interna se observan vacuoladas y debido a la hemorragia de los capilares de la teca, se aprecian eritrocitos en la granulosa así como en el lumen folicular. La teca externa se empieza a transformar en una capa más fibrosa.

Estadio 3. Se presenta contracción del folículo, su lumen ahora está ocupado por las células granulosas y el punto de ruptura folicular ya no es evidente. Las células granulosas son altamente vacuoladas y pueden contener pigmentos; la membrana basal empieza a fragmentarse y gradualmente desaparece. Los fibroblastos invaden la masa de células granulosas y la teca interna.

Estadio 4. El folículo postovulatorio disminuye en tamaño en forma notoria. Las células granulosas tienen núcleos picnóticos, incremento en las vesículas lipídicas, desintegración de varios organelos celulares y, finalmente, desaparición de la misma. Ambas láminas tecales se observan muy fibrosas y no son distinguibles. Los procesos degenerativos continúan y son difíciles de distinguir con los folículos atrésicos. Cuando concluye la regresión, los restos de los folículos postovulatorios pasan a formar parte del estroma ovárico y tal vez los elementos tecales sean reciclados.

En aves, las cuales son exclusivamente ovíparas, el folículo postovulatorio se organiza de manera simple y tiende a involucionar rápidamente, es transitorio, y aunque se mantiene activo durante 3-4 días, es más funcional las primeras 24 hs, permaneciendo reconocible por 10-15 días. Parece ser que sus funciones están asociadas con la estimulación y control de la actividad del oviducto, transporte del huevo, oviposición, y comportamiento de nidación. Al respecto, cuando el folículo postovulatorio es ligado o removido, se presenta retardo en la oviposición y el instinto de nidación es abolido.

**MADURACION Y MORFOLOGIA DE LA PARED FOLICULAR
EN MAMIFEROS**

A diferencia de las aves, los mamíferos han recibido especial interés con respecto a la estructura de su pared folicular, la cual ha sido ampliamente estudiada por medio de diversas técnicas.

Foliculogénesis. La foliculogénesis en mamíferos varía en las diferentes especies, por ejemplo en el humano, mono, ovino, vaca, caballo cerdo y cuyo, en que el ovocito se encuentra en la profase meiótica, la organización del folículo empieza en la vida embrionaria, mientras que en la rata, ratón, visón y gato, la profase meiótica se inicia durante la vida embrionaria y la formación de folículos solamente durante la primera y segunda semana después del nacimiento (Greenwald y Terranova, 1988). Un elemento sumamente importante para la foliculogénesis, es la presencia de ovocitos en la gónada, puesto que son esenciales para el establecimiento de los folículos primordiales (Merchant-Larios y Taketo, 1991), así como la presencia de un mesonefros diferenciado (Merchant-Larios y Chimal-Monroy, 1989). Por otro lado se postula que en mamíferos, las células germinales primordiales actúan como centros de diferenciación en las células granulosas y tecaes para el inicio de este proceso (Merchant, 1975).

La gónada indiferenciada XX está constituida por cordones sexuales, los cuales están formados por la asociación de células

epiteliales (pregranulosas) y células germinales primordiales, y el conjunto celular envuelto por una membrana basal (Escalante-Alcalde y Merchant-Larios, 1992). La foliculogénesis se inicia por una activa participación de las células epiteliales dentro de los cordones sexuales, quienes envían procesos citoplásmicos entre los ovocitos, se adhieren a su superficie y establecen con ellos íntimo contacto, dando origen al epitelio folicular o capa granulosa (Merchant-Larios y Chimal-Monroy, 1989). La individualización de los folículos se presenta con la formación de la membrana basal, quien durante la morfogénesis, separa células con diversas líneas de diferenciación (Merchant-Larios, 1980), segrega a los compartimientos epitelial y estromal, posteriormente surge la proliferación e invasión de células endoteliales provenientes de vasos sanguíneos y de diversos tipos celulares estromales del tejido conectivo (Merchant-Larios y Taketo, 1991).

La fragmentación de los cordones sexuales da origen a los folículos y es posible que el ovocito controle este fenómeno (Merchant-Larios, 1976). Una vez que ocurre la fragmentación de los cordones sexuales, la foliculogénesis concluye (Merchant-Larios y Chimal-Monroy, 1989). De esta manera el producto final de la foliculogénesis, es una unidad independiente denominada folículo primordial (Peters, 1978).

Desarrollo Folicular. Se inicia tempranamente durante el período fetal y continúa cíclicamente a través de la vida reproductiva, con una serie de cambios estructurales (Hirshfield y Midgley, Jr., 1978). En los mamíferos los folículos se

clasifican con base en criterios morfológicos y fisiológicos. En relación al primero, tenemos el tamaño del ovocito, el número de láminas de las células granulosas, la presencia de un antro folicular y de una teca interna y externa bien definida, y de esta forma al tener todas sus partes, se considera el tamaño total del folículo (Centola, 1983).

Conforme va transcurriendo el desarrollo folicular, la transición de un folículo primordial a un folículo en crecimiento involucra modificaciones del ovocito, las células foliculares, y del tejido conectivo del estroma periférico. Así, los folículos se clasifican en: (1) Folículos primarios, (2) folículos secundarios o antrales, y (3) folículos terciarios, de Graaf o Preovulatorios, en los cuales existe además la subdivisión de pequeños, medianos y grandes (Centola, 1983). A continuación se hará una breve descripción de estos tipos foliculares y, al mismo tiempo, se marcarán las principales características morfológicas diferenciales que existen entre el folículo de mamífero y el folículo en las aves.

Folículos Primordiales. Están localizados en la corteza ovárica, justo por debajo del epitelio superficial, formando pequeños grupos de folículos primordiales. Consisten de un ovocito primario, rodeado por una lámina simple de 3 ó 4 células foliculares planas, descansando sobre una membrana basal. Constituyen el <<pool>> de futuros folículos que ovularán o bien se convertirán en atrésicos (Bjersing, 1978). El tamaño del <<pool>> de folículos primordiales, parece ser el factor determinante en regular el número de folículos que entrarán a la

fase de crecimiento, proceso que ha sido demostrado ser independiente de gonadotropinas, por lo que se sugiere la existencia de una regulación intraovárica durante los primeros pasos de desarrollo folicular (Gougeon y Chainy, 1987). El ovocito primario se encuentra en estado de dictioteno y así se mantiene hasta el reinicio de la meiosis 36-48 h pre-ovulación. Presenta todos los organelos celulares (siendo prominentes las mitocondrias, el retículo endoplásmico rugoso y el aparato de Golgi, también se observan algunas vesículas lipídicas); en esta etapa no tiene actividad nuclear, pero sí citoplásmica (Centola, 1983).

Membrana Basal. La teca interna y su suministro vascular están separados de la capa granulosa avascular por la membrana basal (Clement, 1987). Este límite está compuesto de, colágena tipo IV, fibronectina, heparán sulfato -proteoglicano- (Lipner, 1988) y laminina (Merchant-Larios *et al.*, 1993).

Folículo Primario. Consiste de un ovocito rodeado por dos, o cuatro láminas de células foliculares. El crecimiento y transformación de un folículo primordial a un folículo primario, involucra el crecimiento del ovocito y divisiones mitóticas de las células foliculares. Las células granulosa aumentan de tamaño, su forma es poliédrica o cúbica, y se observan cambios en los organelos celulares (las mitocondrias, retículo endoplásmico rugoso, ribosomas libres y vesículas lipídicas gradualmente se incrementan en número; el aparato de Golgi se hace más notorio). En la capa granulosa del folículo humano, se han observado células claras y oscuras, las segundas contienen gran cantidad de ribosomas libres (Bjersing, 1978).

En los estadios tardíos del folículo primario, se empieza a acumular un material amorfo entre el ovocito y las células granulosas, que consiste en proteínas y carbohidratos (PAS-positiva), denominada Zona Pelúcida, la cual es sintetizada por el ovocito (Greenwald y Terranova, 1988), su función es proporcionar un medio efectivo para la transferencia selectiva de nutrientes de la granulosa hacia el ovocito (Centola, 1983).

La Teca Folicular. El crecimiento de la lámina granulosa resulta en cambios del tejido conectivo que rodea al folículo en desarrollo. La lámina tecal puede ser observada antes de la aparición de un antro, y se origina de las células situadas en la capa concéntrica de tejido estromal denso, adyacente al folículo que se está expandiendo (Roy y Greenwald, 1985). Tal vez su formación es inducida durante el desarrollo de la granulosa. La diferenciación de la teca ocurre sólo cuando el antro se ha formado (Bjersing, 1978).

Folículos Secundarios o Antrales (Antro, del gr. antron, cavidad o espacio). Continúa la proliferación de la granulosa y al mismo tiempo aparecen dentro de la capa granulosa cavidades llenas de fluido. En este momento el folículo mide más de 200 μm de diámetro, y el ovocito en promedio 120 μm . Inicialmente, el fluido folicular o licor folicular es derivado solamente de la secreción de las células granulosas; subsecuentemente, el fluido recibe contribuciones de los capilares de la teca. Contiene proteínas, esteroides, carbohidratos, y glucosaminoglicanos.

Estos espacios grandes, intercelulares, llenos de fluido coalescen en una gran cavidad esférica, el Antro Folicular. Rodeando al ovocito se encuentran las células asociadas, y el fluido folicular que continua acumulándose. En este momento, el ovocito y sus células periféricas son desplazadas excéntricamente.

Con el incremento de fluido folicular, el ovocito permanece incluido en una estructura semejante a un montecillo denominada Cúmulo Ovífero, la cual esta formada por células granulosas. Las células del cúmulo permanecen firmemente adheridas al ovocito durante el desarrollo folicular, dispersándose en los estadios tardíos de la maduración. En los folículos antrales tempranos, la capa del cúmulo es bastante delgada y el ovocito está rodeado por unas cuantas capas de células. Conforme el folículo crece, la asociación entre el ovocito y las células del cúmulo es más pronunciada. Tal vez la función del cúmulo ovífero sea proteger y aislar al ovocito de su microambiente, así como la selección de sustancias que se dirigen a él y de esta manera, es probable que se mantenga la inmadurez y el arresto meiótico del ovocito (diploteno), o se reinicie la maduración en su caso (Centola, 1983).

Capa Granulosa. En folículos antrales tempranos, las células granulosas adyacentes a la membrana basal, son altas y columnares, mientras que las de la porción superior cercanas al antro son esféricas y poliédricas (Centola, 1983).

Lámina Tecal. Con el desarrollo del antro folicular, se presenta la diferenciación de la teca folicular (Clement, 1987; Greenwald y Terranova, 1988). La región más interna de la teca, la teca interna, es caracterizada por grandes células glandulares vacuoladas, así como capilares localizados en un tejido conectivo laxo reticular. Periférico a esta lámina, una teca externa puede ser distinguida como una organización concéntrica densa de elementos del tejido conectivo estromal, donde las células que predominan son los fibroblastos (Bjersing, 1978).

Folículos Terciarios, de De Graaf o Preovulatorios. Los folículos preovulatorios grandes muestran una proliferación marcada de células granulosas, resultando en aproximadamente 8 a 18 láminas de células. El cúmulo ovífero se ha engrosado considerablemente. A nivel ultraestructural, se observa en las células granulosas un cambio a células luteínicas, lo que involucra la modificación de varios elementos citoplásmicos, por ejemplo las mitocondrias se alargan y su complejo sistema de crestas se torna tubular, el aparato de Golgi es muy prominente. Disminuye la cantidad de retículo endoplásmico rugoso y se observan ribosomas libres. Se presenta un incremento de retículo endoplásmico liso, mitocondrias e inclusiones lipídicas; por lo que se observa un aumento en el volumen citoplásmico. Finalmente, después del pico de LH, las células granulosas experimentan un cambio, entran en un período de muy activo crecimiento y diferenciación celular (Bjersing, 1978).

Teca Interna. En el folículo preovulatorio maduro, consiste de una lámina gruesa, que mide 30 a 60 μm en el humano; aunque se ha observado que en el humano, porcino y rata a nivel del cúmulo ovífero, el grosor de la teca interna resulta ser mayor que en el lado opuesto, durante todo el período de vida de los folículos en desarrollo (Zecchi y Balboni, 1981). En esta lámina se encuentran gran cantidad de capilares, los cuales se incrementan, alargan y congestionan durante el desarrollo folicular (Hiura y Fujita, 1977; Lipner, 1988). También se aprecian abundantes mitosis en las células de la teca (Clement, 1987). La forma de las células de la teca interna varía considerablemente en las distintas especies. En los bovinos se observan fusiformes y epiteloides (Priedkalns et al., 1968); en los ovinos son alargadas (Bjersing, 1978) y globulares (O'Shea et al., 1978); en el hamster son redondeadas (Martin y Talbot, 1987). Morfológicamente las células de la teca interna, tienen las características de células productoras de esteroides: presentan en su citoplasma gran número de vesículas con lípidos, mitocondrias con crestas tubulares y abundante retículo endoplásmico liso (Centola, 1983).

Erickson et al., (1985) ha descrito ampliamente la estructura y función de las células intersticiales y esteroidogénicas del ovario. Estas células se originan de una población de células mesenquimatosas, no especializadas del estroma, con capacidad de proliferación y diferenciación ulterior. Las clasifica en cuatro variedades de acuerdo a sus características histológicas y posición dentro del ovario (corteza o médula).

1. Células Intersticiales Primarias. Corresponde a una población transitoria de la médula, con escasa capacidad de síntesis de hormonas esteroides.
2. Células Esteroidogénicas Tecales. Constituyen el más importante grupo de células secretoras, se localizan en la teca interna de folículos en desarrollo, su diferenciación está asociada con la invasión de arteriolas y la formación de la espiral capilar. Se observan dos tipos de células en la teca interna, las claras y oscuras, ambas con características de células esteroidogénicas.
3. Células Esteroidogénicas Secundarias. Se localizan en los folículos atrésicos.
4. Células Intersticiales del Hilio. Se sitúan a lo largo del hilio ovárico en humanos, idénticas estructural y funcionalmente a las células de Leydig del testículo, por lo que se piensa que la célula intersticial del hilio es una célula de Leydig ovárica.

Teca Externa. Se encuentra bien delimitada con la teca interna, pero se mezcla gradualmente con el tejido conectivo circundante. Consiste básicamente de tejido conectivo fibroso, constituido por haces de fibras de colágena, los cuales se disponen paralela y concéntricamente; entre las fibras se sitúan fibroblastos así como vasos sanguíneos y linfáticos (Bjersing, 1978; Clement, 1987). También se observan células musculares lisas y células similares a fibroblastos (Hiura *et al.*, 1981). Las células musculares lisas están presentes en fascículos, en pequeños grupos, o bien como células aisladas (Lipner, 1988).

Inervación del Ovario y del Folículo

Fibras del sistema nervioso autónomo entran a través del hilio, acompañando a los vasos sanguíneos. Las fibras nerviosas simpáticas y parasimpáticas llegan a la pared del folículo ovárico, distribuyéndose en la teca externa e interna, respectivamente. Nervios adrenérgicos y colinérgicos se han observado en los folículos del humano, rata, cobayo, conejo, y gato. En el humano existe un predominio de las fibras adrenérgicas (Clement, 1987). La inervación adrenérgica se ha asociado con el crecimiento folicular, ciclicidad, pubertad, inervación de las células intersticiales en el cobayo y ovulación. Probablemente, la inervación folicular interviene en "modular" los mecanismos de ovulación y de contracción de las fibras musculares lisas, pero no juegan un papel crítico en la ovulación (Lipner, 1988).

Irrigación Sanguínea del Ovario y Folículo

En la mayoría de mamíferos la arteria ovárica se origina de la arteria aorta. La arteria ovárica se ramifica e irriga a la teca externa e interna de la pared folicular. Por debajo de la membrana basal da origen a un rico plexo capilar, de donde emergen vénulas postcapilares y venas, que posteriormente salen del hilio. Se ha observado en la teca interna una correlación paralela entre el incremento del plexo capilar y el desarrollo folicular (Kranzfelder y Maurer-Schultze, 1989; Kranzfelder et al., 1992). El aumento de este plexo en el folículo preovulatorio

puede estar bajo el control de un factor angiogénico, cuya presencia ha sido demostrada en células granulosas de porcino y rata (Greenwald y Terranova, 1988). El suministro sanguíneo a los folículos primarios es representada por una red simple capilar, cuya complejidad crece con el desarrollo del folículo, asumiendo la apariencia de un plexo capilar multilaminar sumamente denso, que se desarrolla en espiral en la porción más profunda de la teca interna, en contacto con la membrana basal (Bjersing y Cajander, 1974; O'Shea, et al., 1978; Lipner, 1988). Como se puede apreciar, un sistema vascular complejo es una característica distintiva de la teca interna de folículos ováricos maduros (Cavender y Murdoch, 1988; Macchiarelli et al., 1992). Siendo la red capilar menos densa en otras partes de la teca (O'Shea, 1981; Martin y Talbot, 1987).

Posible Origen de las Células Esteroidogénicas Tecales, en Mamíferos

A nivel de microscopía electrónica, se efectuaron estudios sobre la diferenciación de la teca en el ovario de ratón (Hiura y Fujita, 1977) y en el de humano (Hiura et al., 1981), sugiriéndose que probablemente que las células esteroidogénicas tecales deriven de la célula mesenquimatosa (Erickson et al., 1985) del tejido conectivo, la cual dará origen a una célula parecida a un fibroblasto, que se convertirá en una célula de transición. Finalmente, ésta se transformará en una célula Esteroidogénica Tecal (Hiura y Fujita, 1977; Hiura et al., 1981; Erickson et al., 1985) Fig. 8.

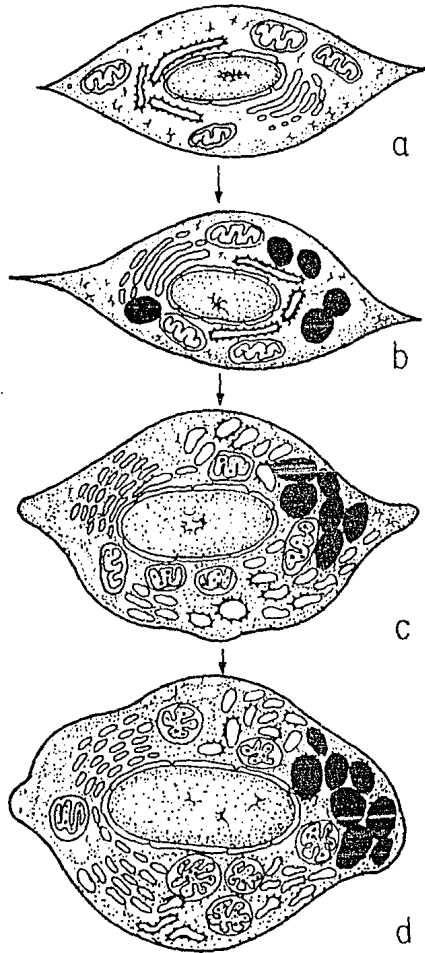


Fig. 8 Representación esquemática del proceso de diferenciación en la célula esteroidogénica tecal: **a** célula mesenquimatosa, **b** célula parecida a un fibroblasto, **c** célula de transición, y **d** célula esteroidogénica tecal.

A continuación se va hacer una breve descripción, de los procesos de diferenciación, basados en Hiura y Fujita, (1977) e Hiura et al., (1981).

Célula parecida a un Fibroblasto. Presenta en su citoplasma, desarrollo del retículo endoplásmico rugoso, ribosomas libres, moderado aparato de Golgi, mitocondrias con crestas laminares, y algunas vesículas lipídicas (Fig. 8).

Célula Esteroidogénica Tecal. Se caracteriza por un gran núcleo elipsoide, abundantes vesículas lipídicas, mitocondrias con crestas tubulares e incremento del retículo endoplásmico liso (Fig. 8).

Célula de Transición. Es considerada como una forma intermedia entre la célula tipo fibroblasto y la esteroidogénica tecal. Presenta un núcleo redondo u oval, muchas vesículas lipídicas, mitocondrias con crestas laminares o tubulares y una pequeña cantidad de retículo endoplásmico liso (Fig. 8).

En los procesos de diferenciación de la célula parecida a un fibroblasto, y su transformación en una célula esteroidogénica tecal, se considera que tres elementos citoplásmicos son de gran relevancia: la presencia de abundantes vesículas lipídicas, el cambio estructural de las crestas mitocondriales en tubulares y el marcado desarrollo del retículo endoplásmico liso. Sin embargo, no todas las células parecidas a fibroblastos tienen la capacidad de originar células esteroidogénicas tecaes: las que mantienen contacto con otras células tipo fibroblasto sí tienen

la posibilidad de diferenciarse en células secretoras de esteroides, mientras que las localizadas en el tejido conectivo, sin ningún contacto con alguna otra, no presentan esta capacidad.

En el folículo primario, se observan sólo células parecidas a fibroblastos; en el folículo secundario se aprecian los tres tipos celulares anteriormente descritos y en el folículo terciario se presentan los tres tipos, con predominio de la célula esteroidogénica tecal.

Atresia Folicular. La atresia folicular es un fenómeno universal, característico de vertebrados mamíferos y no mamíferos. Se ha estimado que aproximadamente el 99% de los folículos en el ovario del humano experimentan atresia, y cerca del 77% en el ratón. Como se observa, es mucho mayor el número de folículos atrésicos que los que se desarrollan hacia el estadio preovulatorio. Los folículos pueden convertirse en atrésicos en cualquier etapa de su desarrollo (Clement, 1987). Una vez que un folículo entra en el <<pool>> de crecimiento, puede seguir dos caminos, ovular o transformarse en atrésico, siendo este último el más común (Hirshfield y Midgley, Jr., 1978). No obstante, folículos del <<pool>> de no crecimiento pueden también degenerar (Greenwald y Terranova, 1988).

Resulta difícil precisar el momento inicial de la atresia folicular. Desde el punto de vista morfológico, los cambios observables son los siguientes: las células granulosas se empiezan a separar, pierden su integridad, presentan alteraciones histoquímicas y bioquímicas (incremento de enzimas lisosomales),

y aproximadamente el 50% de la población de células granulosas muestra un aspecto degenerativo con núcleos picnóticos. Los signos histológicos más dramáticos de atresia, se observan en las células granulosas. El ovocito disminuye de tamaño, hay pérdida de contacto con las células del cúmulo ovígeno, su núcleo exhibe cariorrexis y alteraciones en la meiosis, culminando con la muerte. Se presenta una degeneración sincrónica entre el ovocito y las células granulosas. La zona pelúcida muestra un cambio en las propiedades histoquímicas. La teca constituye la porción más resistente del folículo atrésico, observándose disminución del flujo sanguíneo sólo en la atresia avanzada (Carson *et al.*, 1986). Las células musculares lisas de la teca externa se contraen, y esto puede ser la causa del colapso folicular. Finalmente hay proliferación del tejido conectivo tecal, dando la apariencia de una cicatriz fibrosa. Existen varias hipótesis sobre la causa de la atresia folicular, y se piensa que tal vez la inmadurez bioquímica origine este proceso (Greenwald y Terranova, 1988).

PRINCIPALES DIFERENCIAS ESTRUCTURALES ENTRE EL FOLICULO DE AVE Y MAMIFERO.

Las aves a diferencia de los mamíferos son ovíparas, por lo que existen importantes características diferenciales entre ambos. Las aves presentan un ovocito y un folículo de mayor diámetro. El ovocito, con el transcurso del desarrollo, empieza a acumular vitelo, razón por la que los folículos se clasifican

en previtelogénicos y vitelogénicos, y estos últimos de acuerdo a su tamaño creciente, en folículos F5, F4, F3, F2 y F1. Su membrana granulosa es simple con morfología variable, pudiendo ser plana, cúbica o cilíndrica, dependiendo del grado de maduración folicular. Las células granulosas emiten proyecciones apicales hacia el ovocito y dan origen a estructuras exclusivas en las aves y las tortugas denominadas << lining bodies >>. La membrana granulosa no forma un antro folicular, ni un cúmulo ovífero, tampoco secreta líquido folicular. En la teca externa se presentan islotes de células epiteliales indiferenciadas, así como parte del sistema << chordolacunar >> y los llamados << black holes >>. Una vez que ocurre la ovulación, el folículo preovulatorio F1 se convierte en un folículo postovulatorio, que se caracteriza por una organización simple, es transitorio e involuciona rápidamente, sin transformarse en un cuerpo lúteo como sucede en mamíferos (Jones, 1978a).

En contraste, en mamíferos, el ovocito y el folículo son de menor tamaño. El ovocito no almacena vitelo, los folículos se clasifican en primordiales, primarios, secundarios y terciarios, siendo estos últimos los de mayor tamaño. La membrana granulosa cambia de simple a estratificada con el desarrollo del folículo. La morfología de sus células puede ser cilíndrica, esférica y poliédrica; las células granulosas secretan líquido folicular, y éste al acumularse da origen al antro folicular. El ovocito es rodeado por células granulosas y forman el cúmulo ovífero. La teca externa a diferencia de las aves, no presenta alguna característica particular. Cuando se efectúa la ovulación, el

folículo terciario empieza a estructurarse de manera compleja y se inicia la luteinización, originándose el cuerpo lúteo, el cual puede ser transitorio o no, dependiendo de si ocurre la fertilización.

ESTEROIDOGENESIS EN MAMIFEROS Y AVES

El ovario de los vertebrados, mamíferos y no mamíferos, realiza dos funciones principales: origina los gametos femeninos y produce hormonas esenciales en la reproducción. El folículo ovárico es la unidad anatómica y fisiológica del ovario, y constituye el principal elemento esteroidogénico. Sus actividades biosintéticas, y los factores que lo regulan, cambian notablemente cuando emerge del <<pool>> de folículos en reposo e ingresa a las etapas de crecimiento y desarrollo folicular, para culminar con la ovulación, y en el caso de los mamíferos, con la luteinización, o bien concluir con la atresia folicular.

M A M I F E R O S

Los folículos ováricos de mamíferos tienen la capacidad de sintetizar los tres principales clases de esteroides sexuales: progestágenos, andrógenos y estrógenos (Fortune y Armstrong, 1977). La producción esteroidogénica del folículo es esencial en todos los estadios de desarrollo, y es el resultado de la acción concertada de dos tipos celulares, las granulosa y las teca. Sus características esteroidogénicas difieren como resultado de

varios factores: distintos receptores de membrana, diferencias en actividad enzimática esteroidogénica y desigualdad en microambientes (granulosa avascular y teca vascular). Las células esteroidogénicas están bajo el control primario de dos hormonas gonadotrópicas hipofisarias (glicoproteicas), la Hormona Folículo Estimulante (FSH) y la Hormona Luteinizante (LH) (Reeves, 1988), cuyas acciones son moduladas por un gran número de factores intraováricos, principalmente los productos esteroides de los dos tipos celulares (Fig. 9). Las gonadotropinas inician su cadena de respuestas al interactuar con su receptor, localizado en las superficies celulares. Variaciones en la concentración de estos receptores determinan el destino de un folículo dado, así como el nivel de producción de esteroides en cada etapa folicular (Richards, 1977; Gore-Langton y Armstrong, 1988).

La FSH actúa específicamente sobre las células granulosas, en contraste, la LH ejerce su acción sobre las células de la teca y la granulosa. Las células granulosas poseen receptores a FSH en todos los estadios de desarrollo folicular, mientras que los de LH, los adquiere exclusivamente en las etapas tardías. Las células tecales tienen receptores a LH desde fases tempranas del desarrollo (Tsang et al., 1979). Así, la respuesta de las células granulosas y tecales a la LH es dependiente del estadio de maduración folicular (Richards et al., 1986)

La principal función esteroidogénica de la granulosa es la síntesis de estrógenos y de la teca interna de andrógenos (Fortune y Armstrong, 1977; Makris y Ryan, 1977; Richards, 1978;

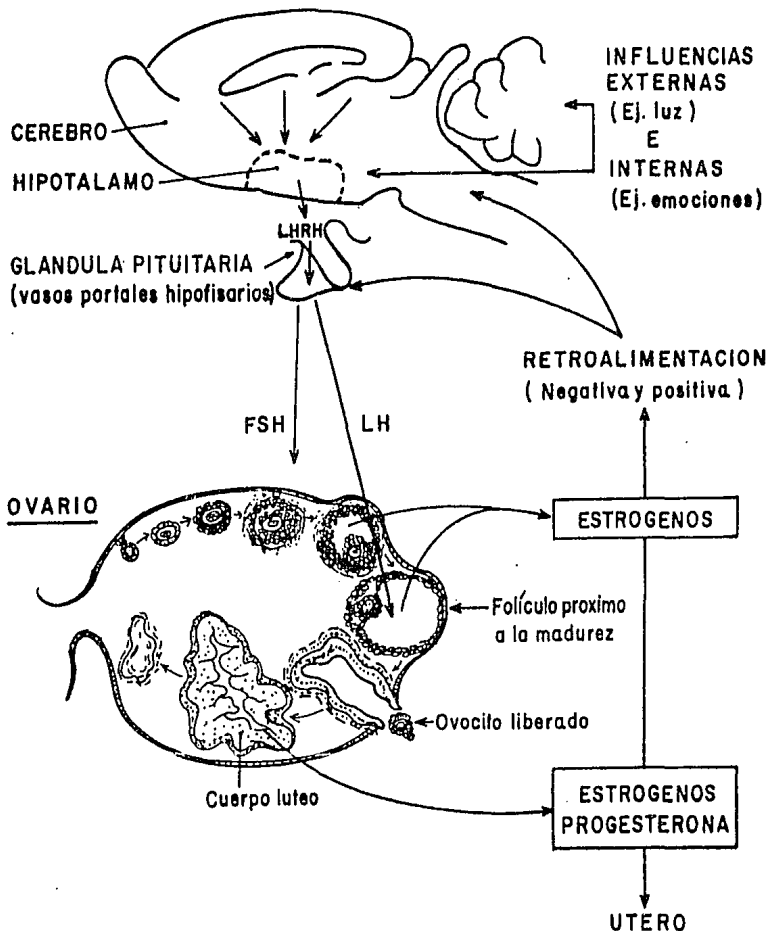


Fig. 9 Diagrama sobre el control del ciclo ovárico por la FSH y la LH secretadas por la adenohipófisis. La síntesis de FSH y LH, es controlada por el hipotálamo a través de la LHRH (Hormona Liberadora de la Hormona Luteinizante), cuya producción es influenciada por factores externos e internos vía sistema nervioso central. Por otro lado, el sistema es modulado por retroalimentación positiva y negativa que involucran a los estrógenos y progesterona, secretados en el ovario.

Richards et al., 1986; O'Shea, 1981; Gore-Langton y Armstrong, 1988).

Las células granulosas responden a FSH a partir del folículo preantral, donde induce la proliferación celular (mitosis), y estimula la función esteroidogénica (Greenwald y Terranova, 1988). Con relación a esta última, se presenta un incremento en la actividad del complejo enzimático aromatasa citocromo P-450 (P-450arom), cuya función es aromatizar al sustrato andrógeno para transformarlo en estrógenos, los cuales estimulan el desarrollo folicular (Brodie, 1983). También activa a la citocromo P-450scc (proteína de tipo hemo que hidroxila, y corta las uniones C-C del colesterol), así como al complejo enzimático 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, Δ 5-4 isomerasa (3 β -HSD); e interviene como inductor junto con los estrógenos, para que los folículos maduros adquieran receptores para LH y prolactina (PRL) (Richards, 1978; Gore-Langton y Armstrong, 1988). Una vez que las células granulosas adquieren receptores a LH, se inicia la síntesis de enzimas necesarias para la secreción de progesterona, cuya producción se incrementa marcadamente luego del pico de LH. Tanto FSH como LH estimulan la actividad de la 3 β -HSD, lo que provoca una mayor síntesis de progesterona (Leung y Armstrong, 1980).

La LH, tal vez interviene en la diferenciación de teca interna y teca externa (Richards, 1978; Greenwald y Terranova, 1988), así como en los procesos de angiogénesis, vascularización y en la estructuración del plexo vascular característico de la teca interna (Lipner, 1988). En teca interna, la LH estimula "in

vivo" e "in vitro" la esteroidogénesis en las células esteroidogénicas tecales por incremento en la conversión de colesterol, y de esta manera la síntesis de andrógenos (Fortune y Armstrong, 1977; Erickson et al., 1985), los cuales son de gran importancia, ya que suministran el sustrato necesario para la biosíntesis de estrógenos, por el complejo enzimático aromatasa en las células granulosas (Makris y Ryan, 1977; Tsang et al., 1979; Simone y Mahesh, 1993). Debido a lo anterior, se considera que la LH es un factor regulador primario en controlar la secreción de estrógenos (Gore-Langton y Armstrong, 1988; Simone y Mahesh, 1993).

La acción de la LH sobre las células de la teca interna, y de la FSH en las células granulosas, forman la base de la teoría "dos gonadotropinas, dos células", para el control de la secreción de esteroides en el folículo. Existe un sinergismo entre la teca interna que proporciona los andrógenos, que van a ser aromatizados por las células granulosas, en la biosíntesis de estrógenos, lo anterior ha sido demostrado en humanos, hamster, rata, conejo y equino (Fortune y Armstrong, 1977; Makris y Ryan, 1977; Tsang et al., 1979; Brodie, 1983).

El incremento en la secreción de andrógenos por las células esteroidogénicas tecales está bajo la estimulación LH (Erickson et al., 1985; Richards y Hedin, 1988), y son el resultado de un aumento en las actividades de dos enzimas, la citocromo P-450sc_c y la P-450 C17 (17 α -hidroxilasa, C-17,20-liasa) (Simone y Mahesh, 1993). La 3 β -HSD, también es estimulada por la LH, pero parece que no es un paso limitante en la biosíntesis, siendo la

androstenediona uno de los principales andrógenos sintetizados por estas células. (Leung y Armstrong, 1980; Richards et al., 1987). El pico de LH ocasiona hipertrofia y cambios específicos en la célula tecal de la rata, porcino, bovino y mono en folículos preovulatorios, así como la síntesis de progesterona. Estos cambios son claramente indicativos de luteinización funcional (Richards et al., 1986).

Tanto la FSH como la LH, en células granulosa y teca, son necesarias para la maduración folicular normal (estructural y fisiológicamente), así como en los procesos de foliculogénesis actuando de manera sinérgica, cuyo efecto e importancia dependen del estadio de desarrollo correspondiente (Richards, 1978; Richards et al., 1986). La FSH es esencial para el reclutamiento de los folículos en desarrollo, mientras que la maduración final, se hace más y más dependiente de LH, (Greenwald y Terranova), concluyendo con el pico de LH que estimula la ovulación y con la luteinización de folículos preovulatorios para la formación de un cuerpo lúteo (Richards, 1978).

En células granulosa, la acción de la FSH en estimular al sistema aromatasa, es aumentado por los andrógenos y también por los estrógenos, siendo inhibida por andrógenos 5 α -reducidos y altos niveles de progesterona (Gore-Langton y Armstrong, 1988).

Un incremento en la secreción de estrógenos puede inhibir la biosíntesis de andrógenos por las células teca (Simone y Mahesh, 1993), mientras que la actividad biosintética de progesterona aumenta conforme las células foliculares se luteinizan (Gore-Langton y Armstrong, 1988).

Como puede verse, las gonadotropinas hipofisiarias, al igual que las hormonas esteroides sintetizadas por las células granulosas y tecaes, realizan acciones parácrinas y autócrinas coordinadas sobre los mecanismos celulares de regulación ovárica (Fig. 9). Sin embargo, existen otras moléculas moduladoras que pueden tener acciones de importancia fisiológica como son LHRH y corticosteroides. Erickson y Case (1983) demostraron que la insulina y el factor de crecimiento epidérmico, intervienen en la diferenciación de las células esteroidogénicas tecaes. La insulina, las lipoproteínas y las catecolaminas, en presencia de LH poseen la capacidad para estimular la síntesis de andrógenos en estas mismas células (Erickson et al., 1985; Simone y Mahesh, 1993).

Atresia Folicular. Hasta el momento no se ha precisado con exactitud la posible etiología de la atresia folicular, o bien si esto es el resultado de un proceso multifactorial. Dentro de las probables causas se mencionan: inmadurez bioquímica, deficiencia de receptores a FSH o a LH en células granulosas, y de receptores LH en células tecaes; incapacidad de las células granulosas para responder a estradiol, disminución en la secreción de estrógenos y aumento en la concentración de andrógenos foliculares (Fortune y Armstrong, 1977; Richards, 1978; Brodie, 1983; Erickson y Case, 1983; Erickson et al., 1985; Greenwald y Terranova, 1988; Kitzman y Hutz, 1992, Simone y Mahesh, 1993).

De forma similar que en mamíferos, el folículo ovárico de la gallina adulta en etapa de postura produce las tres clases de hormonas sexuales, estrógenos, andrógenos y progestágenos (Huang y Nalbandov, 1979), los cuales son sintetizados por las células granulosa y teca (Gilbert *et al.*, 1977) de los cinco o seis folículos preovulatorios más grandes. Con respecto al folículo postovulatorio, este no contribuye significativamente en la síntesis de esteroides durante el ciclo ovulatorio (Saidapur, 1982).

Las hormonas esteroides tienen importantes efectos fisiológicos y anatómicos. Determinan las características de las plumas, las crestas, la deposición de grasa corporal, intervienen en el metabolismo del calcio (en el intestino y hueso), controlan la síntesis de lipoproteínas hepáticas. A nivel de oviducto inducen el crecimiento, la síntesis de proteínas y el movimiento del huevo. Además, determinan el comportamiento sexual (Gilbert, 1971b; Gilbert, 1971c; Lance y Callard, 1978; Wells y Gilbert, 1984; Nitta *et al.*, 1991a).

En los mamíferos se tiene un ciclo estral claramente definido, mientras que las aves no lo tienen, el ovario izquierdo que es el único funcional, inicia su actividad de postura entre las 18-20 semanas aproximadamente, la cual se mantiene constante durante todo el ciclo. En el caso de la gallina doméstica este período puede extenderse con el suministro de un medio ambiente adecuado (fotoperíodo). La maduración folicular es secuencial

dentro de la jerarquía folicular. El ciclo ovárico dura 24-26 h (Gilbert y Wood-Gush, 1971; Wang y Bahr, 1983; Bahr et al., 1983), y generalmente, cada día, un nuevo folículo alcanzará a madurar, y sólo este concluirá la ovulación (Jones, 1978b).

Las interacciones hormonales en el eje hipotálamo-adenohipófisis-ovario, así como los procesos de esteroidogénesis, se encuentran bien definidos en mamíferos. En las aves la situación es menos clara, puesto que, si bien existen muchas similitudes, (en cuyo caso se hacen extrapolaciones de mamíferos a aves), también hay diferencias específicas, las cuales están relacionadas con sus respectivos modos de reproducción (Lance y Callard, 1978; Wells y Gilbert, 1984).

En el folículo ovárico de las aves, participan las hormonas gonadotrópicas adenohipofisiarias FSH y LH (Lance y Callard, 1978), de gran importancia para el desarrollo folicular y la secreción endocrina (Jones, 1978b). Estas glicoproteínas se unen a receptores específicos de alta afinidad, sobre la membrana plasmática de la célula blanco (Wells y Gilbert, 1984), cuya acción varía dependiendo de la fase de desarrollo folicular: ya sean folículos corticales (menores de 1 mm de diámetro), folículos pequeños blancos (1 mm), folículos grandes blancos (2-4 mm), folículos pequeños amarillos (5-10 mm); ó folículos preovulatorios F5, F4, F3, F2 y F1 (15, 20, 25, 30 y 35 mm de diámetro en promedio) (Kikuchi e Ishii, 1992).

Las células granulosas son estimuladas por la LH (Huang y Nalbandov, 1979; Huang et al., 1979), en las que promueve la esteroidogénesis. Sin embargo, sólo responden a ella siete a

ocho días antes de la ovulación, hasta que el folículo ha alcanzado un tamaño mayor de 5 mm, cuando se transforman en enzimáticamente competentes (Robinson y Etches, 1986; Nitta et al., 1991a). En este momento, la actividad total y específica del complejo enzimático 3 β -HSD (3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, 5-4 isomerasa), se incrementa linealmente con el desarrollo folicular, de F5 a F1 (Armstrong, 1982; Nitta et al., 1993), y la célula granulosa inicia la síntesis de progesterona. Considerando la jerarquía de los folículos preovulatorios, se ha reportado mayor síntesis de progesterona en el F1 > F2 > F3. Siendo el folículo F1, el principalmente involucrado en la secreción (Marrone y Hertelendy, 1983). Mientras que la biosíntesis en las células granulosas de los folículos menos maduros, fue disminuyendo paulatinamente de F2 a F5 (Nitta et al., 1993). El pico de LH ocurre aproximadamente 6-8 h antes de la ovulación (Gilbert, 1971d; Lance y Callard, 1978), y va acompañado con un aumento en la concentración de progesterona (Huang y Nalbandov, 1979; Bahr et al., 1983). Además de la 3 β -HSD, otro complejo enzimático que participa en la secreción de progesterona por las células granulosas de las aves es el citocromo P-450_{sc}. (Wells et al., 1981).

La LH es esencial para estimular la producción de progesterona por las células granulosas de folículos preovulatorios, facilitando la conversión de colesterol a pregnenolona (Marrone y Hertelendy, 1983), y parece ser la principal hormona esteroide de este tipo celular (Huang et al., 1979; Hammond et al., 1980; Wells et al., 1981; Marrone y

Hertelendy, 1985). En contraste, las células granulosas de folículos postovulatorios, sintetizan cantidades insignificantes de progesterona (Saidapur, 1982; Nitta et al., 1993), y no responden a LH.

La LH también está implicada en el proceso de ovulación como en mamíferos (Gilbert, 1971d; Lance y Callard, 1978; Bahr et al., 1983; Wakabayashi et al., 1992).

Reportes previos demostraron la producción de andrógenos y estrógenos en la lámina tecal (Huang y Nalbandov, 1979; Wells et al., 1981; Bahr et al., 1983; Marrone y Hertelendy, 1983; Marrone y Hertelendy, 1985), sin precisar el sitio exacto de esta secreción, por lo que se comprueba que en la teca existe actividad aromatasa (Huang et al., 1979; Wang y Bahr, 1983). En los folículos preovulatorios cerca del pico de LH, la biosíntesis de androstenediona es mayor en el folículo F5, en comparación con el F1, lo que muestra una disminución en su producción a través del desarrollo folicular (Marrone y Hertelendy, 1985; Robinson y Etches, 1986; Gómez et al., 1992; 1993). Con respecto a la síntesis de 17 β -estradiol, ésta es mayor en los folículos preovulatorios más pequeños y presenta un decremento en los más grandes F2 y F1, lo que indica que mientras el folículo madura, la actividad aromatasa disminuye (Wang y Bahr, 1983; Bahr et al., 1983; Marrone y Hertelendy, 1983; Armstrong, 1984; Robinson y Etches, 1986; Porter et al., 1989a; Nitta et al., 1991b). Por otro lado, células tecaes aisladas del folículo más grande F1 (Huang et al., 1979; Marrone y Hertelendy, 1985), y del folículo postovulatorio, no secretan 17 β -estradiol (Armstrong, 1984).

En la codorniz, se ha encontrado que la LH estimula la síntesis de androstenediona y 17 β -estradiol en la teca, y que el número de receptores a LH disminuye abruptamente en el folículo F1 (Kikuchi e Ishii, 1992). En los guajolotes, se ha reportado también una reducción gradual en la sensibilidad de la teca a LH, y por tanto en la secreción de los esteroides correspondientes (Porter et al., 1989a).

En folículos pequeños (menores de 10 mm) del ovario de las aves, se han encontrado estrógenos (Armstrong, 1982; Nitta et al., 1991a), que son requeridos durante los estadios tempranos de desarrollo folicular, para inducir los receptores a gonadotropinas, lo cual permite al folículo responder a FSH y LH (Bahr et al., 1983). Estos folículos bajo estimulación de LH no producen progesterona (no tienen actividad 3 β -HSD), pero si son una fuente importante de 17 β -estradiol y androstenediona (Robinson y Etches, 1986). Se ha calculado que los folículos pequeños y el estroma ovárico contienen aproximadamente el 50% de la actividad aromatasa. La otra mitad la presentan los folículos preovulatorios F5 a F1 (Robinson y Etches, 1986). Quizás los niveles basales de 17 β -estradiol en el plasma de aves, son mantenidos por los folículos pequeños amarillos y el estroma ovárico (Nitta et al., 1991a), mientras que las variaciones durante el ciclo ovárico probablemente se originan de los folículos preovulatorios (Armstrong, 1984). Las células granulosa de folículos pequeños (menores de 10 mm), son esteroidogénicamente inactivas, por tanto, la actividad esteroidogénica depende de la lámina tecal en esta fase de

desarrollo (Kowalski et al., 1991; Nitta et al., 1991a; Nitta et al., 1993).

Un efecto sinérgico fue observado cuando células granulosas y tecaes aisladas se incubaron juntas, en presencia de LH, lo cual corroboró que las células granulosas producen progesterona en respuesta a LH, y que las células tecaes requieren la participación de las células granulosas para sintetizar andrógenos y estrógenos (Huang et al., 1979; Marrone y Hertelendy, 1983).

Sobre esta base Huang et al., (1979) postula una hipótesis, sobre la participación de " dos células ", en la biosíntesis de hormonas esteroides sexuales en la gallina de postura. La fuente ovárica de progesterona es la célula granulosa mientras que los andrógenos y estrógenos se originan del metabolismo de progesterona por las células tecaes. Un concepto hasta cierto punto similar al propuesto por Falck, (1959) en mamíferos, y que hasta nuestros días se considera veraz.

En las aves, el modelo de " dos células " es aplicable para los folículos preovulatorios, y explica el incremento en la concentración de hormonas sexuales (Marrone y Hertelendy, 1983).

Investigaciones posteriores más detalladas, sobre las propiedades esteroideogénicas de preparaciones puras de células tecaes, han sido caracterizadas, y proporcionan los siguientes resultados.

En la teca interna de folículos preovulatorios, las células esteroideogénicas tecaes son sensibles a LH y producen básicamente androstenediona, cuya producción disminuye con la

maduración folicular, no existe actividad aromatasasa (Gómez et al., 1992; 1993) y metabolizan progesterona a androstenediona (Robinson y Etches, 1986). Aunque también pueden transformar pregnenolona a progesterona y esta a su vez a androstenediona, desde luego, la primera conversión con mucho menor eficiencia, comparada con las células granulosas (Porter et al., 1989a; Johnson et al., 1991; Nitta et al., 1991b; Nitta et al., 1993). Presentan actividad enzimática 3 β -HSD, la cual se reduce linealmente con el desarrollo del folículo (Armstrong, 1982; Nitta et al., 1993). También por inmunocitoquímica se ha detectado el estímulo de la P-450 C17 (citocromo P-450 17 α -hidroxilasa, 17,20-liasa), que experimenta un decremento en el folículo F1 (Nitta et al., 1991b; Gómez et al., 1992). Con relación al número de receptores LH, en codorniz, se presenta una disminución marcada con el crecimiento del folículo (Kikuchi e Ishii, 1992).

En teca externa de folículos preovulatorios de guajolotes (Porter et al., 1989a) y pollos (Pedernera et al., 1989; Velázquez et al., 1991), se ha reportado que los andrógenos secretados por la teca interna son aromatizados a 17 β -estradiol por las células poco diferenciadas localizadas en teca externa. Por otro lado, Nitta et al., (1991b) ha descrito, por medio de inmunocitoquímica, grupos de células positivas a aromatasasa, que concuerdan con los islotes de células indiferenciadas, observadas por Velázquez et al., (1991) en teca externa.

En relación con la función de la FSH en la gallina de postura, se tienen datos limitados sobre los niveles plasmáticos

durante el ciclo ovulatorio. Se ha detectado un pico aproximadamente 11-14 h antes de la ovulación (Jones, 1978b). Los cambios observados en la LH no parecen presentarse con la FSH, ya que esta última muestra ligeras fluctuaciones a través del ciclo. Es probable que los niveles relativamente constantes de FSH en la gallina de postura se deban a que hay un permanente desarrollo folicular en estas aves (Lance y Callard, 1978). Estudios sobre el efecto de la FSH en el ovario de las aves muestran los siguientes datos: En el ovario de embriones de aves, existen evidencias de que la población de células indiferenciadas en cultivo primario, responde al estímulo con FSH, induciendo la división celular y la actividad esteroidogénica (Velázquez et al., 1993). Por otro lado se considera que la FSH interviene en la regulación de la función celular teca de folículos pequeños amarillos (Kowalski et al., 1991), así como en la estimulación del crecimiento del folículo próximo a ovular, hasta un tamaño maduro (Jones, 1978b; Lance y Callard, 1978; Wakabayashi et al., 1992). Probablemente, el pico que se presenta a mitad del ciclo está involucrado con el reclutamiento de un nuevo folículo dentro de la jerarquía folicular (Jones, 1978b). En la codorniz, se ha observado que la teca de folículos pequeños presenta mayor afinidad que la de folículos grandes, pues el número de receptores a FSH disminuye gradualmente con la maduración folicular (Kikuchi e Ishii, 1992). En las gallinas, se ha reportado que el número de receptores a FSH en las células granulosas de folículos preovulatorios disminuye con el desarrollo, siendo el folículo F5 el que más

responde a FSH que a LH, por lo que la sensibilidad a gonadotropinas parece cambiar de un sistema sensible a FSH, a uno LH con la maduración folicular (Porter, et al., 1989b).

Es esencial destacar que en las aves en etapa de postura, tres tipos celulares participan en la síntesis de hormonas esteroides, las células de la granulosa producen progesterona, las células esteroidogénicas de la teca interna pueden secretar andrógenos o metabolizar los progestágenos producidos por la granulosa; finalmente los andrógenos son aromatizados por las células indiferenciadas de la teca externa a estrógenos (Pedernera, 1993).

En el ovario inmaduro prefolicular de pollitas recién nacidas, se han identificado dos subpoblaciones celulares diferentes. Una de células esteroidogénicas típicas que sintetizan andrógenos y que muestra actividad 3 β -HSD, y otra de células somáticas indiferenciadas que secretan estrógenos (Pedernera et al., 1988).

Tal vez el proceso de cooperación celular, que se observa en la producción de estrógenos entre granulosa, teca interna y teca externa en el folículo ovárico maduro, se presente en el ovario inmaduro prefolicular, entre las dos poblaciones celulares anteriormente descritas, y que éstas constituyan, las células precursoras del folículo maduro (Velázquez et al., 1991; Pedernera, 1993).

Es importante observar que la actividad esteroidogénica disminuye en las células tecales, pero se incrementa en las células granulosas cuando un folículo se aproxima a la maduración

final y ovulación. Por lo anterior, existe un cambio en la sensibilidad y respuesta de los tipos celulares foliculares a la estimulación gonadotrópica en los diferentes tamaños foliculares, aumentando la actividad enzimática en la granulosa y disminuyendo en la teca (Huang et al., 1979; Armstrong, 1982; Bahr et al., 1983; Armstrong, 1984; Marrone y Hertelendy, 1983; Marrone y Hertelendy, 1985; Porter et al., 1991; Nitta et al., 1993).

La biosíntesis de hormonas esteroides en el folículo preovulatorio ovárico de las aves se encuentra sujeto a la participación de varios mecanismos reguladores como son: hormonas gonadotrópicas, disminución de receptores gonadotrópicos, los propios esteroides sexuales a través de procesos autócrinos y parácrinos, complejos enzimáticos, formación de andrógenos reducidos no aromatizables, (Armstrong, 1982; Wang y Bahr, 1983; Marrone y Hertelendy, 1983; Robinson y Etches, 1986; Kikuchi e Ishii, 1992). Así como cierto tipo de moléculas que están implicadas en la producción de esteroides, como son los segundos mensajeros (sistemas adenilato ciclasa AMPC y Calcio-Calmodulina) (Porter et al., 1989a; Johnson et al., 1991; Kowalski et al., 1991). Finalmente, también se considera la posible participación de la inhibina en el proceso regulador (Vanmontfort et al., 1992; Johnson et al., 1993).

**PRINCIPALES DIFERENCIAS EN EL LUGAR DE BIOSINTESIS DE
ESTEROIDES FOLICULARES, EN MAMIFEROS Y AVES**

En mamíferos se tienen bien identificados dos tipos celulares que intervienen en la secreción de hormonas esteroides, dentro del folículo preovulatorio ovárico: las células esteroidogénicas de la teca interna producen andrógenos, sustrato que es aromatizado a estrógenos por las células granulosas. Próximo a la ovulación, la capa granulosa incrementa su síntesis de progesterona, la cual es mantenida por el cuerpo lúteo.

En contraste, en los folículos preovulatorios de las aves la situación es menos clara y se postula que tres poblaciones celulares se encuentran involucradas: las células granulosas secretan progesterona, la cual es metabolizada por las células esteroidogénicas de la teca interna a andrógenos, y existen evidencias de que estos son aromatizados a estrógenos, por las células indiferenciadas localizadas en la teca externa.

JUSTIFICACION

La gallina doméstica tiene solamente un ovario funcional y ovula diariamente por varios días consecutivos. La organización precisa, jerárquica y fácilmente reconocible de los folículos preovulatorios, en un sólo ovario, convierten a la gallina en un modelo único para investigar los cambios asociados con el desarrollo folicular ovárico, en un animal sexualmente maduro.

En la gallina doméstica se han efectuado muchos estudios sobre los sitios celulares y los mecanismos de la actividad esteroidogénica en los folículos preovulatorios (15-40 mm de diámetro; F5-F6), así como de las características citológicas de la capa granulosa. Sin embargo, comparativamente, poco es conocido acerca de la morfología en la lámina tecal de folículos preovulatorios. Estudios efectuados por Wyburn et al., 1965 y Dahl, 1970, 1971; demostraron, la morfología folicular ovárica en la gallina adulta. Aunque estos estudios muestran ciertas características de la teca, los cambios estructurales específicos que se presentan en la lámina tecal, durante la maduración secuencial de los folículos preovulatorios no han sido descritos. Por lo tanto, los objetivos del presente estudio fueron los siguientes.

OBJETIVOS

1. Evaluar los cambios que se presentan en las poblaciones celulares de la lámina tecal, en los folículos preovulatorios, durante la maduración folicular en el ovario de la gallina doméstica.

2. Determinar el área de células esteroidogénicas tecales en la teca interna, islotes de células indiferenciadas en la teca externa, y vasos sanguíneos de ambas capas en los folículos ováricos.

3. Correlacionar las modificaciones estructurales observadas, a través del desarrollo folicular, con la actividad esteroidogénica, ya reportada.

Es de importancia destacar, que datos de investigación básica sobre la estructura del ovario en la gallina doméstica, han sido y continuarán siendo de utilidad y de gran interés en el fenómeno de la reproducción en mamíferos. Del conocimiento obtenido acerca de la morfología ovárica en aves, se originan hipótesis las cuales pueden ser probadas en mamíferos, y de esta forma la aplicación de métodos de analogía pueden ser de gran ayuda, en el surgimiento de ideas para la investigación en la reproducción humana.

MATERIAL Y METODO

Animales

Se emplearon gallinas adultas en etapa de postura de la raza White Leghorn, línea (Babcock B-300), de 36-50 semanas de edad, las cuales fueron enjauladas individualmente, su oviposición se registró cada 30 min. El momento de la ovulación fue estimada 1 h después de la oviposición. Estuvieron bajo un fotoperíodo de 14 h luz, 10 h de oscuridad.

Preparación de Tejidos

Las aves fueron sacrificadas por dislocación cervical, 6 a 8 h posteriores a la ovulación. Del ovario de tres gallinas, se removieron los folículos pequeños amarillos (SYF), así como los folículos preovulatorios F5, F4, F3, F2, y F1; clasificados en orden creciente de tamaño. Los folículos se sumergieron íntegros en fijador por 10 min. Se procedió a tomar un promedio de 8 muestras de la totalidad de la pared de cada folículo (excluyendo el área del estigma). Las cuales fueron fijadas por el método de inmersión con glutaraldehído al 2.5% en solución amortiguadora de cacodilato al 0.15 M, a pH 7.4, durante 2 h a 4°C; se postfijaron en tetróxido de osmio al 1%, amortiguado con cacodilato por 2 h a 4 °C, la deshidratación se llevó a cabo en series graduales de etanol y dos cambios de óxido de propileno, finalmente se incluyeron en resina Poly/Bed 812 (Polyscience Inc., Warrington, PA).

Estudio Morfológico

Por medio de un ultramicrotomo Reichert se obtuvieron cortes semifinos de 1 μm de grosor, de la parte superior e inferior de cada muestra de folículo, y se tiñeron con azul de toluidina. Todas las observaciones fueron efectuadas con un fotomicroscopio Polyvar con cámara lúcida integrada, y el empleo del objetivo 100 x. Se colocó una hoja blanca sobre la cámara lúcida y se procedió en cada una de las muestras foliculares a delimitar el área de la teca interna, considerando la membrana basal y su colindancia con la teca externa; en teca externa también se marcó el área, considerando como límite periférico los grandes vasos sanguíneos que corresponden a la lámina venosa media (King, 1982), y que separan a la teca externa del estroma ovárico adyacente. A nivel de teca interna se delimitó el área de células esteroidogénicas típicas así como de los vasos sanguíneos y en teca externa los islotes de células poco diferenciadas. Fig. 10

Una vez obtenidos los esquemas, en promedio 8 por folículo, se procedió a medir zonas de 16 cm de longitud en cada uno, para que al efectuar la digitalización cada folículo correspondiera a la misma área y esta fuera constante en todos los esquemas.

Como fueron tres ovarios, se disponía de tres folículos de cada tipo, y de estos, 8 dibujos de cada uno (Tabla I), cuya longitud medida en cm y su conversión a μm , correspondía a 265 μm Fig. 10. El estudio morfométrico se realizó con un digitalizador de imágenes Hewlett Packard 9874 A, con un programa CAD (Diseño

Asistido por Computadora). Durante la elaboración del programa se me hizo medir en una hoja milimétrica el área correspondiente a un rectángulo (dibujo que ya se encuentra establecido). La digitalización la efectué 5 veces, y de estas se obtuvo un cálculo de las ligeras variaciones en las mediciones, para poder considerar el posible error que yo introdujera a través de las digitalizaciones.

Las mediciones se efectuaron sobre un tablero, se fijó el esquema a digitalizar y se obtuvo el área de cada estructura en μm^2 y con los datos anteriores, se calcularon los valores promedio para cada animal.

Estimación del Volumen Total

Para estimar el volumen total de cada estructura dentro de la pared folicular (células esteroidogénicas e islotes de células indiferenciadas, en teca interna y teca externa), se tomaron en cuenta los valores morfométricos promedio, considerando al folículo como una esfera, y basados sobre la media de esta población particular de gallinas, los siguientes diámetros fueron considerados: F1, 3.5 cm; F2, 3.0 cm; F3, 2.5 cm; F4, 2.0 cm; F5, 1.5 cm; SYF, 1.0 cm.

Se partió del diámetro específico externo de cada tipo folicular (esfera), y debido a que las estructuras digitalizadas localizadas internamente presentan una organización en capas concéntricas, estas fueron estimadas como esferas internas de menor diámetro. De esta forma calculando esferas con calibres sucesivos de mayor a menor, se obtuvieron diferencias, lo que

permitió estimar el volumen promedio de cada capa. Los datos son expresados en mm³.

Análisis Estadístico

Todos los valores presentados son el promedio \pm DS (n=3) del total de mediciones. Las diferencias fueron probadas a través de análisis de variancia, en los distintos tamaños foliculares. La prueba de Tukey fue empleada para el estudio de contrastes múltiples de promedios significativamente diferentes. El nivel de significancia es reportado como $P < 0.05$.

T A B L A I

NUMERO TOTAL DE FOLICULOS Y MUESTRAS ESTUDIADAS EN LOS
DIFERENTES TIPOS FOLICULARES EN TRES GALLINAS DE POSTURA

Tipo de Foliculo	Número de Foliculos	Número de Muestras	Total de Muestras
SYF	3	8	24
F5	3	8	24
F4	3	8	24
F3	3	8	24
F2	3	8	24
F1	3	8	24

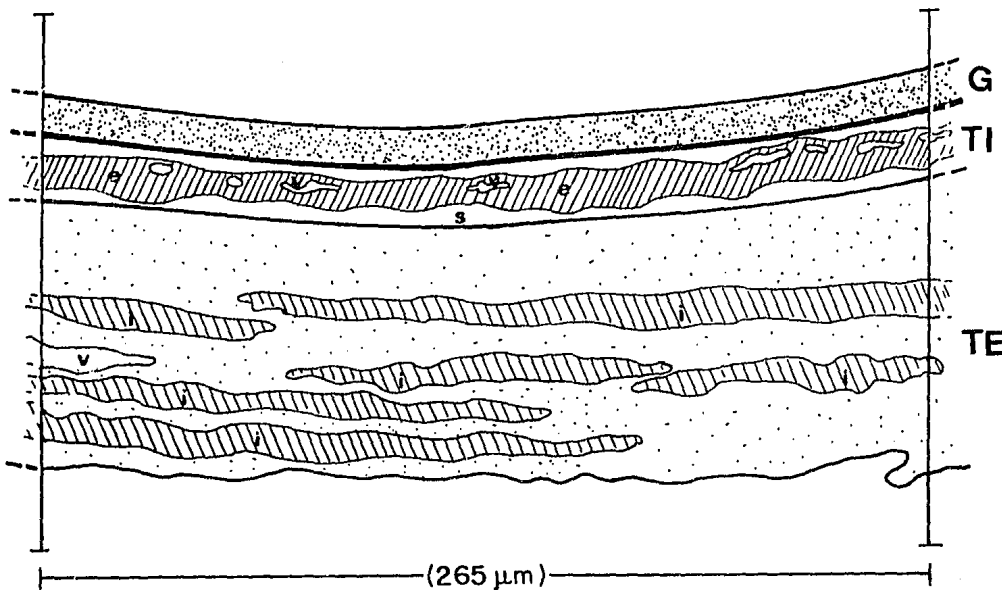


Fig. 10 Esquema de un folículo F5. En el se observa el área digitalizada correspondiente a la capa granulosa (G), teca interna (TI) y teca externa (TE). En teca interna: vasos sanguíneos (v), tejido esteroideogénico (e) y sustancia intercelular (s). En teca externa: islotes de células indiferenciadas (i) y vasos sanguíneos (v).

RESULTADOS

En el presente estudio se cuantificaron las áreas en μm^2 de teca interna y teca externa, así como de ciertas estructuras en cada una de ellas. En teca interna las células esteroidogénicas y los vasos sanguíneos; con respecto a teca externa los islotes de células indiferenciadas. Lo anterior se realizó en folículos pequeños amarillos (SYF) y folículos preovulatorios F5, F4, F3, F2, y F1.

Descripción Morfológica

Teca interna. En todos los folículos se observó que esta lámina es mucho más delgada que la teca externa, correspondiendo a un tercio o un cuarto del grosor de esta última (Fig. 1A y 2A).

Con la microscopía de luz se aprecian dos clases de células, una de apariencia fusiforme, que en su mayoría parecen ser fibroblastos (Fig. 1B y 3), y otra que muestra características de célula esteroidogénica, siendo esta última el tipo celular predominante.

Las células esteroidogénicas se encuentran organizadas constituyendo una capa, presentan abundantes vesículas lipídicas en su citoplasma, su morfología tiende a variar de poligonal a alargada con la maduración del folículo, y se aprecia un decremento en su número, del folículo pequeño amarillo (SYF) al folículo preovulatorio F1 (Fig. 1B, 3 y 6).

Los vasos sanguíneos se localizan en la zona más interna, próximos a la membrana basal (Fig. 1A, 1B, 2A, 4 y 6), y muestran un aumento durante el desarrollo folicular.

Teca externa. La teca externa normalmente comprende la mayor parte del grosor de la pared folicular (Fig. 1A y 2A), y experimenta una reducción en su espesor con el aumento en diámetro del folículo (Fig. 1A, 4 y 5).

Esta compuesta de numerosos fibroblastos aplanados y haces de fibras de colágena que se disponen en láminas paralelas a la circunferencia del folículo, los fibroblastos se alargan y extienden gradualmente del folículo SYF, al folículo preovulatorio F1 (Fig. 1A, 4 y 5).

Entre las láminas de fibroblastos se observan frecuentemente células indiferenciadas, descritas inicialmente por Velázquez et al. (1991), organizadas en grupos o islotes, los cuales son más abundantes en la periferia de la teca externa (Fig. 1A, 2A, 3 y 4). Las células son de morfología variable, presentan abundante citoplasma, y un gran núcleo ovoide con dos o más nucleólos (Fig. 2B).

La cantidad de islotes de células indiferenciadas es mayor en el folículo SYF y F5, disminuyendo en número con el crecimiento folicular. Por lo que se observa un decremento en el folículo F2, y es todavía más pronunciado en el F1 (Fig. 1A, 2A, 5 y 6).

Análisis Morfométrico

El grosor de la teca externa mostró una reducción del folículo SYF a el F1 ($P < 0.001$). Mientras que el grosor de la teca interna no disminuyó significativamente ($P > 0.05$) (Fig. 7).

Las células esteroidogénicas típicas pudieron ser reconocidas por las abundantes vesículas lipídicas en su citoplasma (Fig. 1B, 3 y 4). El área de la teca interna ocupada por las células esteroidogénicas disminuyó durante la maduración del folículo ($P < 0.01$) (Fig. 8). Sin embargo, considerando el incremento en diámetro del folículo, el volumen absoluto estimado de tejido esteroidogénico aumentó en el folículo más grande F1 (Tabla II).

Los vasos sanguíneos de la teca interna proliferaron durante la maduración folicular (Fig. 6), y el área mayor de vasos sanguíneos fue observada en los folículos F1 y F2 ($P < 0.01$) (Fig. 9).

Los islotes de células indiferenciadas localizados en la teca externa, fueron evidentes en los folículos más pequeños (Fig. 1A y 2A), y estuvieron prácticamente ausentes en el folículo F1 (Fig. 6). El área de islotes de células indiferenciadas presentó un marcado decremento conforme el folículo se desarrolla ($P < 0.001$) (Fig. 10).

La estimación del volumen total de este tipo celular en la jerarquía folicular, mostró un incremento que alcanzó el máximo valor en el folículo F3, seguido por una notable reducción en el folículo más grande F1 (Tabla II).

Para tener un concepto más claro y preciso de la estructura folicular, también se digitalizó la capa granulosa, la sustancia intercelular en la teca interna y los vasos sanguíneos en la teca externa de los folículos pequeños amarillos (SYF) y de los folículos preovulatorios (F5, F4, F3, F2, y F1). En relación a la capa granulosa, se apreció que con la maduración folicular este epitelio experimenta un cambio gradual de un epitelio pseudoestratificado cilíndrico o cúbico, a uno de tipo simple cúbico, el cual en algunos de los folículos más grandes (F1), llegó a observarse con morfología plana; similar a lo ya citado en la literatura (Guraya, 1978). Por otro lado la sustancia intercelular en la teca interna mostró una disminución en su área, como consecuencia del incremento en el área ocupada por los vasos sanguíneos y del volumen absoluto estimado del tejido esteroideogénico. Con respecto a los vasos sanguíneos de la teca externa, los resultados no se incluyeron, ya que estos se observaban muy raramente en cada una de las muestras, y por tanto sus valores no fueron representativos.

Fig. 1A. Corte transversal a través de la pared de un folículo pequeño amarillo. La capa granulosa (G) se observa en la región superior. En la teca interna (TI) se aprecian vasos sanguíneos (V), y células esteroidogénicas (CE) con abundantes vesículas lipídicas (L) en su citoplasma. La teca externa (TE) es la capa de mayor grosor, presenta fibroblastos aplanados (F), así como fibras de colágena dispuestas concéntricamente, son evidentes numerosos islotes de células indiferenciadas (CI) de localización periférica. (936 x)

Fig. 1B. Detalle de la teca interna (TI) del folículo pequeño amarillo. Se muestran las células esteroidogénicas (CE), las cuales contienen abundantes vesículas lipídicas (L), los vasos sanguíneos (V) se sitúan próximos a la membrana basal, y también son aparentes los fibroblastos (F). (1 463 x)

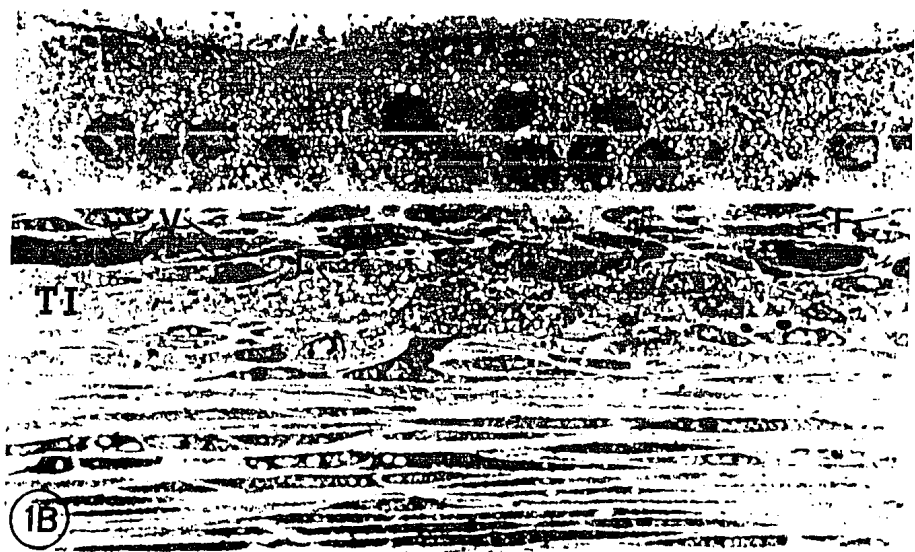
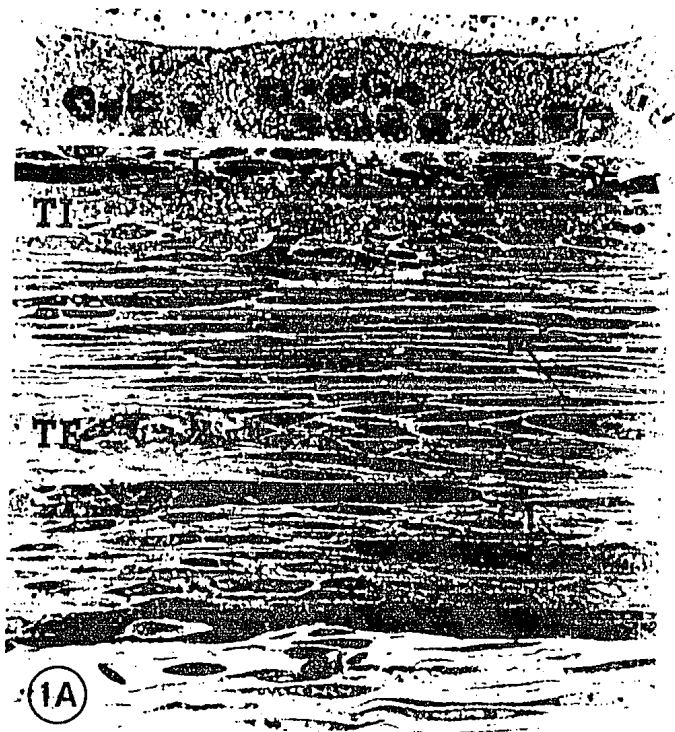


Fig. 2A. Microfotografía de un folículo preovulatorio **F5**. Se observa la capa granulosa (**G**), y por debajo de la membrana basal se localiza la teca interna (**TI**), en donde se aprecian vasos sanguíneos (**V**) y células esteroidogénicas (**CE**). En la teca externa (**TE**) están presentes varios islotes de células indiferenciadas (**CI**). (936 x)

Fig. 2B. Ampliación de un folículo preovulatorio **F5**. Grupos de células indiferenciadas (**CI**) pueden ser identificadas entre el tejido conectivo de la teca externa (**TE**). (1 463 x)

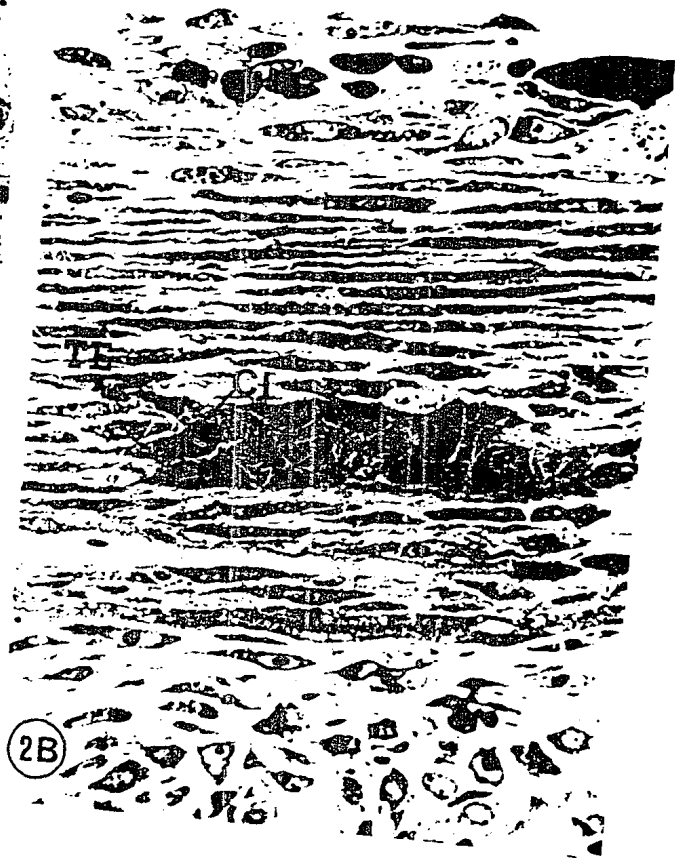
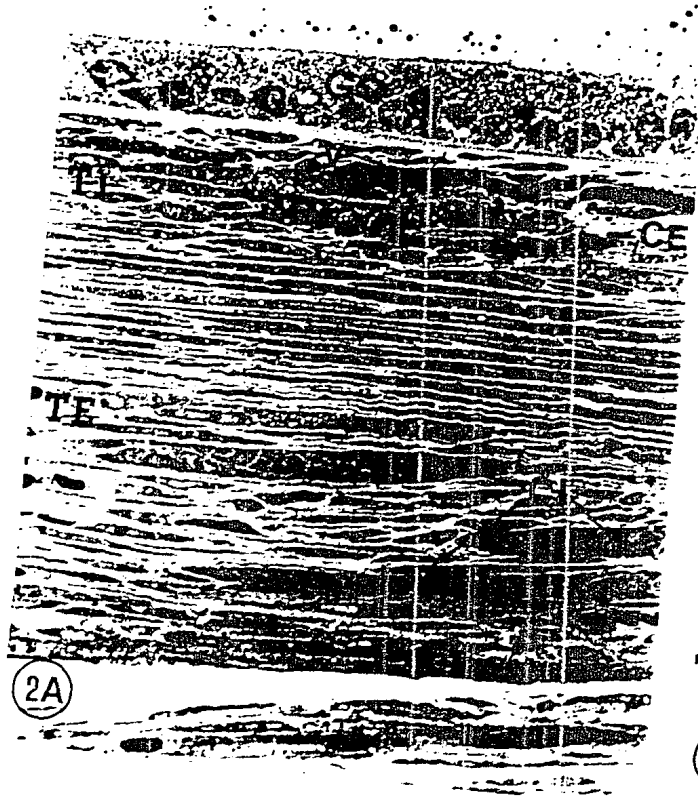


Fig. 3. Corte transversal de la pared en un folículo preovulatorio F4. A nivel de teca interna (TI) se perciben células esteroidogénicas (CE), y fibroblastos (F). En la teca externa (TE) en posición periférica, son aparentes islotes de células indiferenciadas (CI). (936 x)

Fig. 4. Microfotografía de un folículo preovulatorio F3. Note la presencia de células esteroidogénicas (CE), y vasos sanguíneos (V), localizados en teca interna (TI). La teca externa (TE) se caracteriza por los islotes de células indiferenciadas (CI), observe el alargamiento de los fibroblastos (F), y como estos se organizan en láminas paralelas con disposición concéntrica. (936 x)

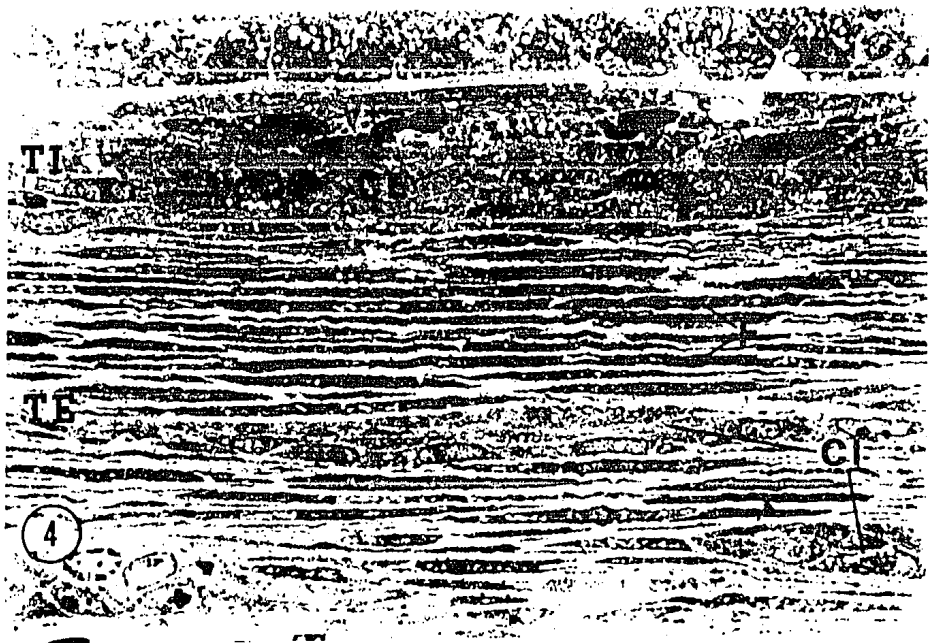
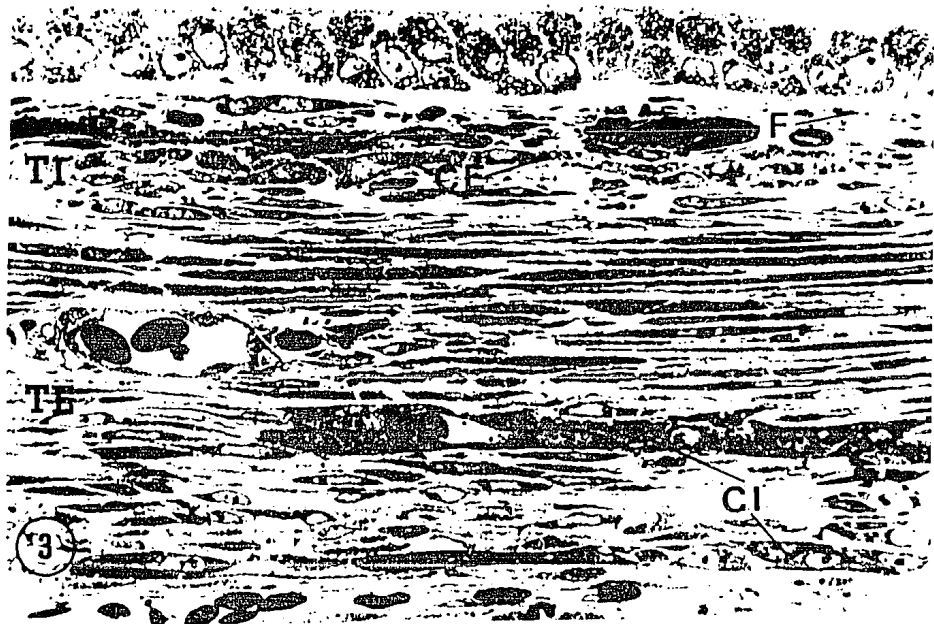
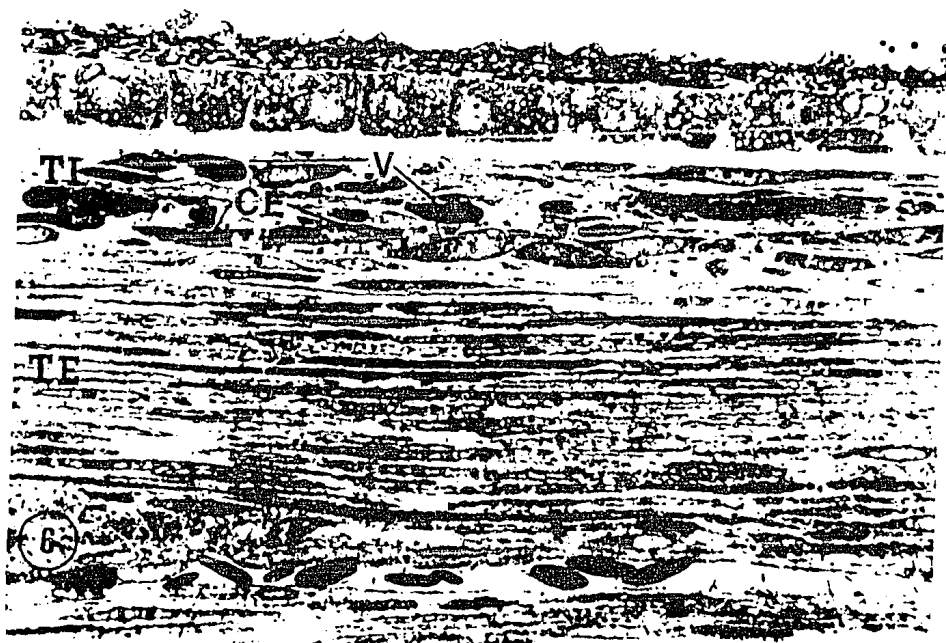
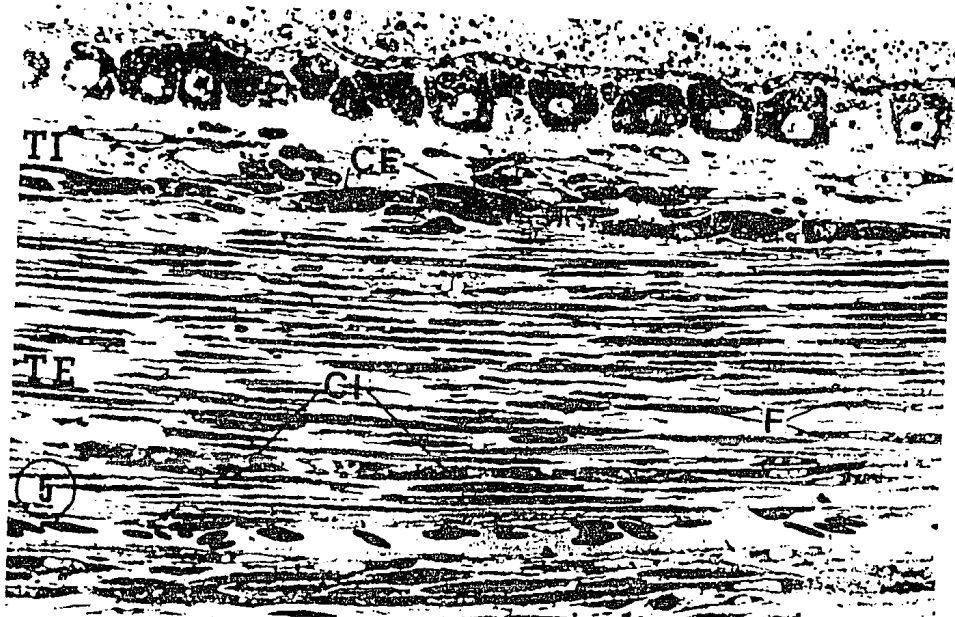


Fig. 5. Corte transversal de un folículo preovulatorio F2. Las células esteroidogénicas (CE) se aprecian alargadas, y el grosor de la teca interna (TI) ha disminuido ligeramente. Los grupos de células indiferenciadas (CI) tienden a reducir su número en la teca externa (TE), observe como los fibroblastos (F) localizados en esta capa, se tornan elongados con el incremento en diámetro del folículo. (936 x)

Fig. 6. Microfotografía del folículo preovulatorio F1. Los vasos sanguíneos (V) son abundantes al lado de las células esteroidogénicas (CE) en la teca interna (TI). La teca externa (TE) muestra tejido conectivo organizado de manera densa y los grupos de células indiferenciadas (CI) pueden observarse ocasionalmente. (936 x)



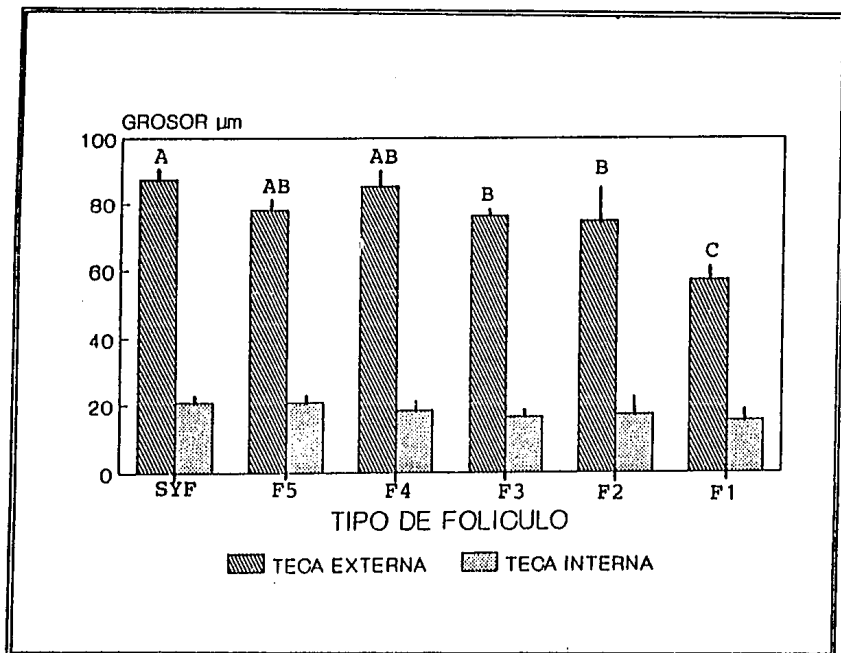


Fig. 7. Cambios en el grosor de la teca externa y teca interna, en la jerarquía de folículos preovulatorios en el ovario de la gallina doméstica. Las barras representan el promedio \pm DS, (n=3). Los promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

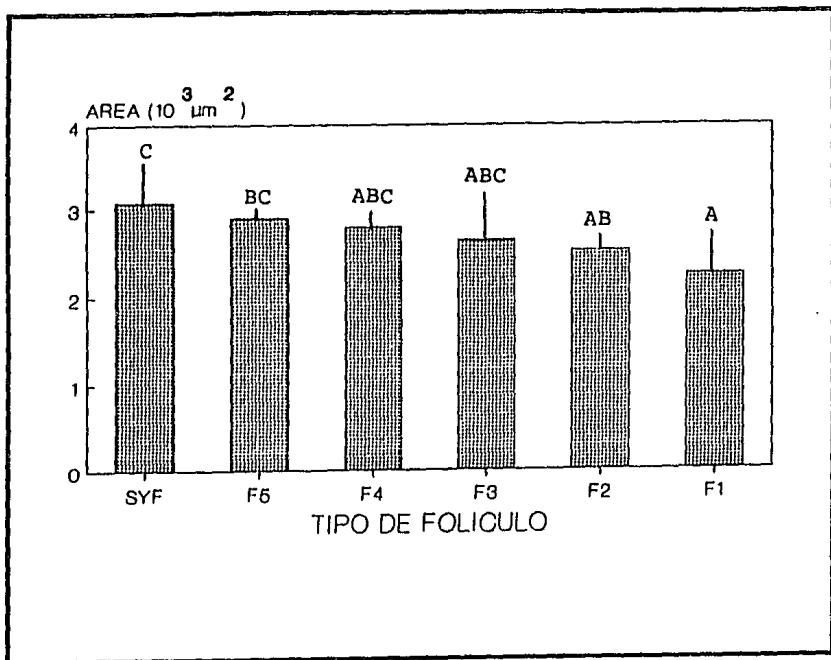


Fig. 8. Area de células esteroideogénicas típicas de la teca interna en los folículos prevulatorios del ovario de la gallina. Las barras representan el promedio \pm DS, (n=3). Los promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

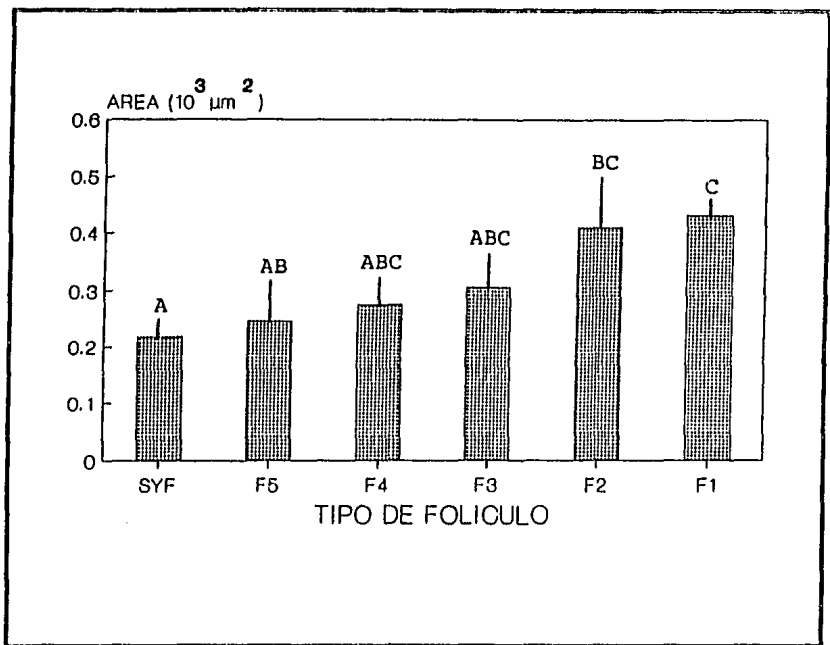


Fig. 9. Area de vasos sanguíneos presentes en la teca interna, durante el desarrollo de folículos amarillos en el ovario de la gallina. Las barras representan el promedio \pm DS, (n=3) Los promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

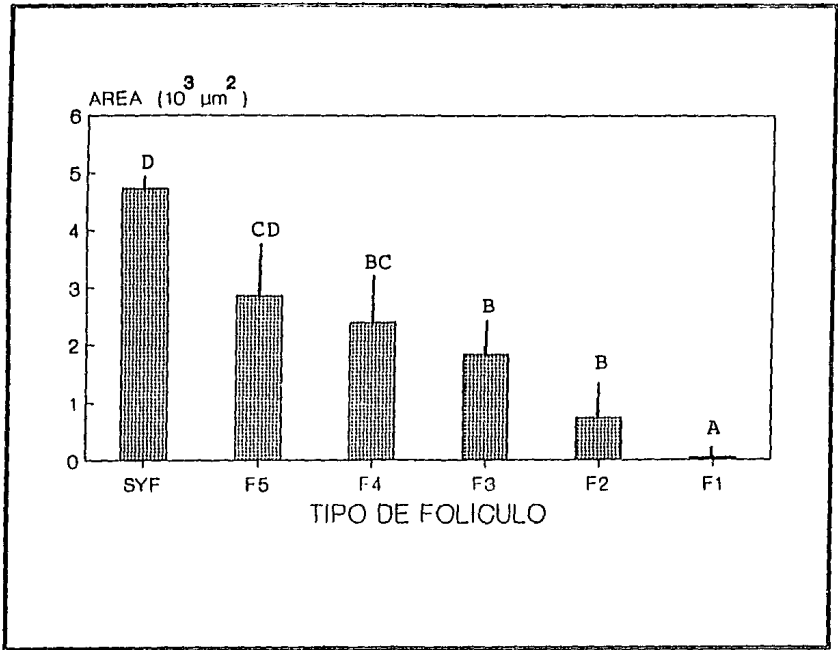


Fig. 10. Area de islotes de células indiferenciadas en la teca externa de folículos preovulatorios en el ovario de la gallina. Las barras representan el promedio \pm DS, (n=3). Los promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

T A B L A I I

VOLUMEN TOTAL ESTIMADO DE CELULAS ESTEROIDOGENICAS E
ISLOTES DE CELULAS INDIFERENCIADAS EN LA TECA INTERNA Y TECA
EXTERNA DE FOLICULOS PREOVULATORIOS EN LA GALLINA DE POSTURA.

Tipo de Foliculo	Volumen Total			
	Teca Interna	Teca Externa	Células Esteroidogénicas	Células Indiferenciadas
SYF	6.3	27.0	3.5	5.3
F5	14.2	54.5	7.5	7.6
F4	22.5	106.3	12.9	11.3
F3	32.0	148.0	19.3	13.6
F2	48.0	209.0	18.7	7.9
F1	58.0	218.0	32.0	0.6

NOTA. El volumen fue calculado de los valores morfométricos promedio, considerando al foliculo como una esfera con un diámetro promedio particular, como es descrito en Material y Método. Los datos son expresados en mm³.

DISCUSION

El análisis morfométrico permite cuantificar modificaciones en el grosor de la teca interna y teca externa, así como en los elementos histológicos que constituyen ambas capas, los cuales tienden a variar de acuerdo al grado de desarrollo folicular.

Las muestras se tomaron al azar en las distintas regiones de la pared folicular. Considerando que las muestras representan la lámina tecal de todo el folículo (excluida la región del estigma), fue posible estimar el volumen total de las células esteroideogénicas típicas en la teca interna y de las células indiferenciadas en la teca externa de cada tipo folicular.

Las células esteroideogénicas típicas de la teca interna contienen inclusiones de ésteres de colesterol (Dahl, 1970), presentan actividad citocromo P-450_{scc} (corta las uniones c-c del colesterol) (Nitta et al., 1991b), son positivas para 3 β -HSD (3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, Δ 5-4 isomerasa) (Armstrong, 1982), contienen una citocromo P-450 C17 (P-450 17 α -hidroxilasa, 17,20-liasa) (Nitta et al., 1991b), y además muestran actividad 17 β -HSD (17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa) (Gómez et al., 1993). Estas son células secretoras de andrógenos, principalmente androstenediona y en menor cantidad testosterona (Marrone y Hertelendy, 1985; Gómez et al., 1993); aunque también se ha detectado la síntesis de progesterona (Nitta et al., 1991b). Fig. 1 (Discusión)

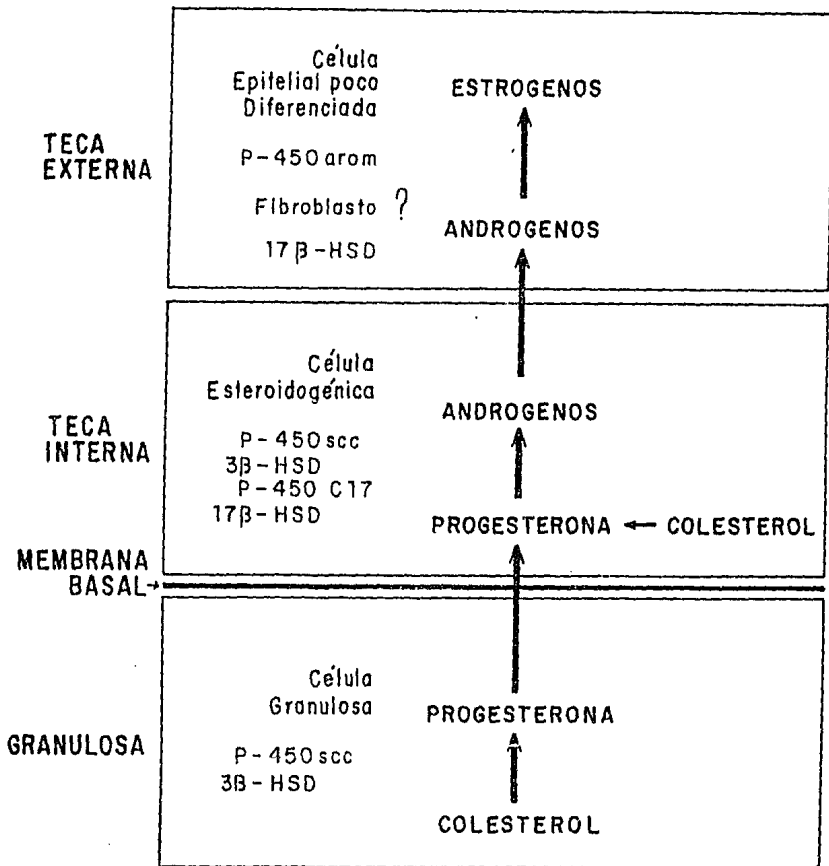


Fig. 1 Células y complejos enzimáticos que participan en la secreción de hormonas esteroides en el folículo preovulatorio. La célula granulosa a partir de colesterol constituye la fuente principal de progesterona; que es metabolizada en forma primaria por la célula esteroidogénica de la teca interna en andrógenos, aunque también ésta célula tiene la capacidad de producir progesterona. Los fibroblastos de la teca externa es probable que intervengan en convertir la androstenediona en testosterona, y las células indiferenciadas requieren de los andrógenos como sustrato, en la biosíntesis de estrógenos.

Las células esteroidogénicas tecales no disminuyen durante la maduración folicular, el folículo más grande F1, mostró el más alto volumen total estimado de células esteroidogénicas, estos resultados son consistentes a observaciones inicialmente mencionadas por Bahr et al., (1983). En contraste, con respecto a la biosíntesis de androstenediona por estas células, su producción es mayor en el folículo F5 y menor en el F1, lo que indica una disminución en la secreción con el desarrollo del folículo (Marrone y Hertelendy, 1985; Robinson y Etches, 1986; Porter et al., 1991; Gómez et al., 1992; 1993). Como puede apreciarse los hallazgos morfométricos no concuerdan totalmente con lo reportado desde un punto de vista fisiológico. Tal vez lo anterior se debe a que las células esteroidogénicas tecales se transforman en esteroidogénicamente inactivas (en cuanto a la síntesis de androstenediona) durante la maduración folicular, ya que el número de células secretoras no disminuye. Es posible que las células esteroidogénicas típicas de la teca interna en el folículo F1, cambie a una célula secretora de progesterona debido a que la 3 β -HSD permanece aún activa (Armstrong, 1982), y el citocromo P-450 C17 se reduce (Nitta et al., 1991b). Resulta de interés indicar que un cambio similar ha sido descrito en el folículo preovulatorio de mamíferos, donde las células tecales parecen modificar su capacidad esteroidogénica de una célula productora de andrógenos, a una célula productora de progesterona (Roberts y Skinner, 1990).

En relación con el desarrollo de los vasos sanguíneos localizados en la teca interna, estos mostraron un incremento del

folículo SYF al folículo más grande F1. Esto confirma observaciones previas efectuadas en aves por Scanes et al., (1982), donde se indica que los cinco principales folículos preovulatorios, reciben cerca de la mitad del flujo sanguíneo ovárico (aproximadamente el 48%). El alto y progresivo incremento en la circulación sanguínea del folículo F5 al F1 durante el proceso de maduración, concuerda con nuestros resultados, y se explica por la necesidad en el transporte de precursores para la deposición de vitelo, así como para el suministro de nutrientes esenciales y oxígeno en la función esteroidogénica. Scanes et al., (1983) encontró que el más alto flujo se presentó en el folículo F1, decayendo de manera drástica en el folículo postovulatorio, posiblemente esto se debe a que en este último se presenta una disminución en la actividad funcional y por tanto no requiere de una mayor irrigación.

En mamíferos se ha reportado que el número de capilares sanguíneos de la teca interna se incrementa linealmente con el aumento en tamaño del folículo. El crecimiento en la red capilar experimenta cambios morfológicos significativos conforme la ovulación se aproxima, y como respuesta al pico preovulatorio LH se observa a nivel del plexo capilar: un aumento en el suministro sanguíneo, hiperemia, alargamiento de vasos sanguíneos (vasodilatación), incremento en la permeabilidad vascular, extravasación y edema (Hiura y Fujita, 1977; Lipner, 1988; Maurer-Schultze, 1989; Kranzfelder, 1992). Esta red adquiere la apariencia de un plexo capilar multilaminar sumamente denso, que se desarrolla en espiral en la porción más profunda de la teca

interna, en contacto con la membrana basal (Bjersing y Cajander, 1974; O'Shea et al., 1978; Lipner, 1988). Un sistema vascular complejo, es una característica de la teca interna en los folículos ováricos maduros (Cavender y Murdock, 1988; Macchiarelli et al., 1992). Siendo la red capilar menos densa en otras partes de la teca (O'Shea, 1981; Martin y Talbot, 1987).

En el conejo y el humano hay evidencias de que los capilares de la teca interna crecen paralelamente junto con la capa granulosa (cuyo suministro metabólico depende de la red capilar). Existe correspondencia entre el número de capilares y el volumen de la capa granulosa, puesto que el desarrollo de los capilares es controlada por cierta función reguladora de la capa granulosa, ya que la red capilar no se desarrolla a menos que la capa granulosa sea estratificada (Kranzfelder y Maurer-Schultze, 1989). Se sugiere que el aumento de este plexo capilar en el folículo preovulatorio puede estar bajo el control de un factor angiogénico, el cual ha sido demostrado en células granulosas de rata y porcino (Greenwald y Terranova, 1988). En la rata también el número de capilares en la teca interna se incrementó linealmente con el aumento en el diámetro del folículo, y el número relativo de capilares se mantuvo constante (Kranzfelder, 1992).

Es probable, que el incremento en el área de vasos sanguíneos observado en la teca interna de los folículos preovulatorios ováricos SYF al folículo F1 en nuestro estudio, está asociado con el crecimiento del folículo. No obstante, se presentó un aumento en la densidad de vasos sanguíneos por unidad

de área, lo cual puede explicarse en el caso de aves por la rápida acumulación de vitelo, así como por el incremento en la actividad secretora de los folículos preovulatorios. Y en mamíferos, los cambios en la vascularización pueden relacionarse con la función esteroidogénica de la teca interna.

Con respecto al número de islotes de células indiferenciadas en la teca externa, disminuyeron durante la maduración folicular, y estuvieron prácticamente ausentes en el folículo F1. Estas células fueron descritas con actividad positiva a aromatasas por inmunocitoquímica (Nitta et al., 1991b). Por lo tanto, la reducción en la secreción de estrógenos observada en los folículos más grandes, podría ser explicada por la ausencia de células indiferenciadas en la teca externa.

Se ha demostrado previamente que la secreción de 17β -estradiol alcanza un máximo en el folículo F5 (Bahr et al., 1983; Armstrong, 1984) y estos autores proponen una alta actividad aromatasas en este estadio de maduración folicular, la cual decrece hacia el folículo F1. En nuestro estudio el área mayor de células indiferenciadas se observó en los folículos amarillos más pequeños SYF y F5, y disminuyeron de manera significativa en los folículos de mayor tamaño F2 y F1; como puede apreciarse los hallazgos fisiológicos son consistentes con el estudio morfológico.

Nitta et al., (1991b) ha descrito para los fibroblastos localizados en la teca externa, una modalidad funcional diferente, indica que tienen inmunoreactividad para el citocromo P-450 C17, la cual disminuye con la maduración

folicular. Sin embargo, esta actividad enzimática no se ha corroborado plenamente, por lo que se requieren otros estudios para confirmar este reporte. Además existen evidencias (Rodríguez-Maldonado et al., 1993) de actividad 17 β -HSD (17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa), por lo que tal vez los fibroblastos en la teca externa, puedan funcionar como un sitio adicional secundario para la conversión de andrógenos, que sumados a los andrógenos provenientes de manera primaria por las células esteroidogénicas tecales en la teca interna, constituyen el sustrato para las células indiferenciadas, en la síntesis de estrógenos. Fig. 1 (Discusión)

Las células esteroidogénicas tecales y las indiferenciadas aisladas de teca interna y teca externa, son estimuladas con el tratamiento de LH, incrementando la secreción de andrógenos y estrógenos respectivamente (Huang et al., 1979; Marrone y Hertelendy, 1983; Robinson y Etches, 1986; Nitta et al., 1991b).

Con base en los datos anteriores es posible correlacionar los resultados morfológicos con la actividad fisiológica: En las aves en etapa de postura, tres tipos celulares están involucrados en la síntesis de hormonas esteroides, las células granulosas producen progesterona, la cual es metabolizada por las células esteroidogénicas de la teca interna a andrógenos, finalmente estos andrógenos son transformados en estrógenos vía células indiferenciadas. Fig. 1 (Discusión)

Como se puede apreciar son necesarios estudios a nivel ultraestructural y bioquímico (enzimático), para la comprensión de las rutas metabólicas empleadas en la biosíntesis de hormonas

esteroides, y de esta manera poder integrar y explicar los cambios que ocurren en las células esteroidogénicas, durante el proceso de maduración de los folículos ováricos en la gallina de postura.

CONCLUSIONES

1. Las células esteroidogénicas en la teca interna tienden a aumentar considerando el volumen absoluto estimado, este incremento es proporcional de acuerdo al tamaño del folículo, por lo que su cantidad es menor en el folículo SYF y mayor en el folículo F1.

2. Los vasos sanguíneos de la teca interna proliferaron durante la maduración folicular, y el área mayor de vasos sanguíneos fue observada en los folículos F1 y F2.

3. Los islotes de células indiferenciadas localizados en la teca externa, fueron evidentes en los folículos más pequeños SYF y F5, y estuvieron prácticamente ausentes en el folículo F1.

4. Los cambios estructurales hasta aquí descritos, pudieron ser correlacionados con las modificaciones en la secreción de hormonas esteroides a nivel de teca interna y teca externa.

BIBLIOGRAFIA

- Asem, E. K., Carnegie, J. A., and Tsang, B. K. (1992). Fibronectin production by chicken granulosa cells in vitro: effect of follicular development. Acta Endocrinol. **127**, 466-470.
- Armstrong, D. G. (1982). 3 β -Hydroxy- Δ^5 -steroid dehydrogenase activity in the rapidly growing ovarian follicles of the domestic fowl (Gallus domesticus). J. Endocr., **93**, 415-421.
- Armstrong, D. G. (1984). Ovarian aromatase activity in the domestic fowl (Gallus domesticus). J. Endocr. **100**, 81-86.
- Avila, R. E., Samar, M. E. and De Fabro, S. P. (1991). Interstitial cells of the ovaries of the chick embryo: ultrastructural aspects of their innervation. Rev. Fac. Cienc. Med. Univ. Nac. Cordoba (Argentina). **49**, 13-17.
- Bahr, J. M., Wang, S. -C., Huang, M. Y., and Calvo, F. O. (1983). Steroid concentration in isolated theca and granulosa layers of preovulatory follicles during the ovulatory cycle of the domestic hen. Biol. Reprod. **29**, 326-334.
- Bjersing, L., and Cajander, S. (1974). Ovulation and the mechanism of follicle rupture. VI. Ultrastructure of theca interna and the inner vascular network surrounding rabbit Graafian follicles prior to induced ovulation. Cell Tiss. Res. **153**, 31-44.
- Bjersing, L. (1978). Maturation, Morphology, and Endocrine Function of the Follicular Wall in Mammals. En "The Vertebrate Ovary" Comparative Biology and Evolution (Richard E. Jones, ed.), pp. 181-214. Plenum Press. New York and London.
- Brodie, A. M. H. (1983). Biosynthesis, Metabolism, and Secretion of Ovarian Steroid Hormones. En "The Ovary" (G. B. Serra, ed.), pp. 1-17. Raven Press, New York.
- Callebaut, M. (1988). The ovarian chordolacunar system in birds. Arch. Biol. **99**, 1-15.
- Callebaut, M., Jan Sijens, R., and Van Nassauw, L. (1990). Evolution of the avian ovarian follicle wall during its expansion. Eur. Arch. Biol. **101**, 77-87.
- Carson, R., Findlay, J., Mattner, P., and Brown, B. (1986). Relative levels of thecal blood flow in atretic and non-atretic ovarian follicles of the conscious sheep. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. **64**, 381-387.

- Cavender, J. L., and Murdoch, W. J. (1988). Morphological studies of the microcirculatory system of periovulatory ovine follicles. Biol. Reprod. **39**, 989-997.
- Centola, G. M. (1983). Structural Changes: Follicular Development and Hormonal Requirements. En "The Ovary" (G. B. Serra, ed.), pp. 95-111. Raven Press, New York.
- Clement, P. B. (1987). Histology of the ovary. Am. J. Surg. Pathol. **11**, 277-303.
- Dahl, E. (1970). Studies of the fine structure of ovarian interstitial tissue 2. The ultrastructure of the thecal gland of the domestic fowl. Z. Zellforsch. **109**, 195-211.
- Dahl, E. (1971). Studies of the fine structure of ovarian interstitial tissue 1. A comparative study of the fine structure of the ovarian interstitial tissue in the rat and the domestic fowl. Z. Zellforsch. **108**, 275-290.
- Erickson, G. R., and Case, E. (1983). Epidermal growth factor antagonizes ovarian theca-interstitial cytodifferentiation. Mol. Cell. Endocrinol. **31**, 71-76.
- Erickson, G. F., Magoffin, D. A., Dyer, Ch. A., and Hofeditz, Ch. (1985). The ovarian androgen producing cells: A review of structure/function relationships. Endocr. Rev. **6**, 371-399.
- Escalante-Alcalde, D., and Merchant-Larios, H. (1992). Somatic and germ cell interactions during histogenetic aggregation of mouse fetal testes. Exp. Cell Res. **198**, 150-158.
- Falck, B. (1959). Site of production of oestrogen in rat ovary as studied in micro-transplants. Acta Physiol. Scand. Suppl. **47**, 163, 1-101.
- Fortune, J. E., and Armstrong, D. T. (1977). Androgen production by theca and granulosa isolated from proestrous rat follicles. Endocrinology **100**, 1341-1347.
- Gilbert, A. B. (1971a). The Ovary. En "Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl" (D.J. Bell and B.M. Freeman, eds.), Vol. 3, pp. 1163-1208. Academic Press, London and New York.
- Gilbert, A. B. (1971b). The Endocrine Ovary in Reproduction. En "Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl" (D.J. Bell and B.M. Freeman, eds.), Vol. 3, pp. 1449-1468. Academic Press, London and New York.
- Gilbert, A. B. (1971c). The Female Reproductive Effort. En "Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl" (D. J. Bell and B. M. Freeman, eds.), Vol. 3, pp. 1153-1162. Academic Press, London and New York.

- Gilbert, A. B. (1971d). Control of Ovulation. En "Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl" (D. J. Bell and B. M. Freeman, eds.), Vol. 3, pp. 1225-1235. Academic Press, London and New York.
- Gilbert, A. B., and Wood-Gush, D. G. M. (1971). Ovulatory and Ovipository Cycles. En "Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl" (D. J. Bell and B. M. Freeman, eds.), Vol. 3, pp. 1353-1378. Academic Press, London and New York.
- Gilbert, A. B., Evans, A. J., Perry, M. M., and Davidson, M. H. (1977). A method for separating the granulosa cells, the basal lamina and the theca of the preovulatory ovarian follicle of the domestic fowl (Gallus domesticus). J. Reprod. Fert. **50**, 179-181.
- Gómez, Y., Pedernera, E., Juárez-Oropeza, M. y Velázquez, P. (1992). Metabolismo de pregnenolona en la teca interna de folículos preovulatorios de aves [Resumen]. En: XXXV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas.
- Gómez, Y., Pedernera, E., Juárez-Oropeza, M. y Velázquez, P. (1993). Metabolismo de andrógenos por la teca interna de folículos preovulatorios de aves [Resumen]. En: XXXVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas.
- Gore-Langton, R. E., and Armstrong, D. T. (1988). Follicular steroidogenesis and its control. En "The Physiology of Reproduction" (E. Knobil and J. Neill et al., eds.), Vol. I, pp. 331-385. Raven Press, Ltd., New York.
- Gougeon, A., and Chainy, G. B. N. (1987). Morphometric studies of small follicles in ovaries of women at different ages. J. Reprod. Fert. **81**, 433-442.
- Greenwald, G. S., and Terranova, P. F. (1988). Follicular Selection and Its Control. En "The Physiology of Reproduction" (E. Knobil and J. Neill et al., eds.), Vol. I, pp. 387-445. Raven Press, Ltd., New York.
- Guraya, S. S. (1978). Maturation of the Follicular Wall of Nonmammalian Vertebrates. En "The Vertebrate Ovary" Comparative Biology and Evolution (Richard E. Jones, ed.), pp. 261-329. Plenum Press, New York and London.
- Hammond, R. W., Todd, H., and Hertelendy, F. (1980). Effect of mammalian gonadotropins on progesterone release and cyclic nucleotide production by isolated avian granulosa cells. Gen. Comp. Endocrinol. **41**, 467-476.
- Hirshfield, A. N., and Midgley, Jr., A. R., (1978). Morphometric analysis of follicular development in the rat. Biol. Reprod. **19**, 597-605.

- Hiura, M., and Fujita, H. (1977). Electron microscopy of the cytodifferentiation of the theca cell in the mouse ovary. Arch. Histol. Jap. **40**, 95-105.
- Hiura, M., Nogawa, T., and Fujiwara, A. (1981). Electron microscopy of cytodifferentiation and its subcellular steroidogenic sites in the theca cell of the human ovary. Histochemistry. **71**, 269-277.
- Hodges, R. D. (1974). The Female Reproductive System. En "The Histology of the Fowl" pp. 326-417. Academic Press, London, New York, San Francisco.
- Huang, S. -R. E., and Nalbandov, A. V. (1979). Steroidogenesis of chicken granulosa cells and theca cells: In vitro incubation system. Biol. Reprod. **20**, 442-453.
- Huang, E. S., and Nalbandov, A. V. (1979). Steroidogenesis of chicken granulosa and theca cells: in vitro incubation system. Biol. Reprod. **20**, 442-453.
- Huang, E. S., Kao, K. J., and Nalbandov, A. V. (1979). Synthesis of sex steroids by cellular components of chicken follicles. Biol. Reprod. **20**, 454-461.
- Hughes, G. C. (1963). The population of germ cells in the developing female chick. J. Embryol. Exp. Morph. **11**, 513-536.
- Johnson, A. L., Tilly, J. L., and Levrone, J. M. (1991). Possible role for arachidonic acid in the control of steroidogenesis in hen theca. Biol. Reprod. **44**, 338-344.
- Johnson, P. A., Wang, S. -Y., and Brooks, C. (1993). Characterization of a source and levels of plasma immunoreactive inhibin during the ovulatory cycle of the domestic hen. Biol. Reprod. **48**, 262-267.
- Jones, R. E. (1978a). Evolution of the Vertebrate Ovary: An Overview. En "The Vertebrate Ovary" Comparative Biology and Evolution (Richard E. Jones, ed.), pp. 827-840. Plenum Press, New York and London.
- Jones, R. E. (1978b). Ovarian Cycles in Nonmammalian Vertebrates. En "The Vertebrate Ovary" Comparative Biology and Evolution (Richard E. Jones, ed.), pp. 731-762. Plenum Press, New York and London.
- Kikuchi, M., and Ishii, S. (1992). Changes in luteinizing hormone receptors in the granulosa and theca layers of the ovarian follicle during follicular maturation in the Japanese quail. Gen. Comp. Endocrinol. **85**, 124-137.

- King, A. S. (1982). Sistema Urogenital de las Aves. En "Anatomía de los Animales Domésticos" (Eds., S. Sisson y J.D. Grossman), 5a. ed. Tomo II, pp. 2122-2134. Salvat editores, México, Barcelona, España.
- Kitzman, P. H., and Hutz, R. J. (1992). In-vitro effects of angiotensin II on steroid production by hamster ovarian follicles and on ultrastructure of the theca interna. Cell Tissue Res. **268**, 191-196.
- Kowalski, K. I., Tilly, J. L., and Johnson, A. L. (1991). Cytochrome P450 side-chain cleavage (P450_{scc}) in the hen ovary. I. Regulation of P450_{scc} messenger RNA levels and steroidogenesis in theca cells of developing follicles. Biol. Reprod. **45**, 955-966.
- Kranzfelder, D., and Maurer-Schultze, B. (1989). Development of the perifollicular capillary network. Autoradiographic and morphometric studies in the rabbit ovary. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. **30**, 163-171.
- Kranzfelder, D., Reich, R., Abisogun, A. O., and Tsafiriri, A. (1992). Preovulatory changes in the perifollicular capillary network in the rat: role of eicosanoids. Biol. Reprod. **46**, 379-385.
- Lance, V., and Callard, I. P. (1978). Hormonal Control of Ovarian Steroidogenesis in Nonmammalian Vertebrates. En "The Vertebrate Ovary" Comparative Biology and Evolution (Richard E. Jones, ed.), pp. 361-407. Plenum Press, New York and London.
- Leung, P. C. K., and Armstrong, D. T. (1980). Interactions of steroids and gonadotropins in the control of steroidogenesis in the ovarian follicle. Ann. Rev. Physiol. **42**, 71-82.
- Lipner, H. (1988). Mechanism of Mammalian Ovulation. En "The Physiology of Reproduction" (E. Knobil and J. Neill et al., eds.), Vol. I, pp. 447-488. Raven Press, Ltd., New York.
- Lofts, B. and Murton, R. K. (1973). Reproduction in Birds. En "Avian Biology" (D.S. Farner and J.R. King, eds.), Vol III, pp. 1-65. Academic Press, Inc. New York.
- Macchiarelli, G., Vizza, E., Nottola, S. A., Familiari, G., and Motta, P. M. (1992). Cellular and microvascular changes of the ovarian follicle during folliculogenesis: a scanning electron microscopic study. Arch. Histol. Cytol. **55**, 191-204.
- Makris, A., and Ryan, K. J. (1977). Aromatase activity of isolated and recombined hamster granulosa cells and theca. Steroids. **29**, 65-72.

- Marrone, B. L., and Hertelendy, F. (1983). Steroidogenesis by avian ovarian cells: effects of luteinizing hormone and substrate availability. Am. J. Physiol. **244**, E487-E493.
- Marrone, B. L., and Hertelendy, F. (1985). Decreased androstenedione production with increased follicular maturation in theca cells from the domestic hen (Gallus domesticus). J. Reprod. Fert. **74**, 543-550.
- Martin, G. G. and Talbot, P. (1987). Formation of the rupture site in preovulatory hamster follicles: Morphological and morphometric analysis of thinning of the granulosa and thecal layers. Gam. Res. **17**, 303-320.
- Méndez-Herrera, M. C. (1989). Estudio de la foliculogénesis en el ovario de la gallina. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, U.N.A.M.
- Méndez-Herrera, M. C., Hofmann, P., and Pedernera, E. (1993). Effect of 17 β -estradiol on somatic and germ cell subpopulations in the ovary of the newly hatched chick. Gen. Comp. Endocrinol. **89**, 182-188.
- Merchant, H. (1975). Rat gonadal and ovarian organogenesis with and without germ cells. An ultrastructural study. Dev. Biol. **44**, 1-21.
- Merchant-Larios, H. (1976). The role of germ cells in the morphogenesis and citodifferentiation of the rat ovary. En "Progress in Differentiation Research" (Muller-Berat, ed.), pp. 453-462. North-Holland., Amsterdam.
- Merchant-Larios, H. (1978). Ovarian Differentiation. En "The Vertebrate Ovary" Comparative Biology and Evolution (Richard E. Jones, ed.), pp. 47-81. Plenum Press, New York and London.
- Merchant-Larios, H. (1980). The establishment and sexual differentiation of the horse gonad. Bol. Estud. Méd. Biol., Méx. **31**, 3-23.
- Merchant-Larios, H., Villalpando Fierro, I., and Centeno Urruiza, B. (1989). Gonadal morphogenesis under controlled temperature in the sea turtle Lepidochelys olivacea. Herpetol. Monog. **3**, 43-61.
- Merchant-Larios, H., and Chimal-Monroy, J. (1989). The ontogeny of primordial follicles in the mouse ovary. En "Developments in Ultrastructure of Reproduction" (P. Motta, ed.), pp. 55-63. A. R. Liss, New York.
- Merchant-Larios, H., and Taketo, T. (1991). Testicular differentiation in mammals under normal and experimental conditions. J. Electron. Microsc. Tech. **19**, 158-171.

- Merchant-Larios, H., Moreno-Mendoza, N., and Buehr, M. (1993). The role of the mesonephros in cell differentiation and morphogenesis of the mouse fetal testis. Int. J. Dev. Biol. **37**, 407-415.
- Nitta, H., Osawa, Y., and Bahr, J. M. (1991a). Immunolocalization of steroidogenic cells in small follicles of the chicken ovary: anatomical arrangement and location of steroidogenic cells change during follicular development. Domest. Anim. Endocrinol. **8**, 587-594.
- Nitta, H., Osawa, Y., and Bahr, J. M. (1991b). Multiple steroidogenic cell populations in the thecal layer of preovulatory follicles of the chicken ovary. Endocrinology **129**, 2033-2040.
- Nitta, H., Mason, J. I., and Bahr, J. M. (1993). Localization of 3 β -Hydroxysteroid dehydrogenase in the chicken ovarian follicle shifts from the theca layer to granulosa layer with follicular maturation. Biol. Reprod. **48**, 110-116.
- O'Shea, J. D., Cran, D. G., Hay, M. F., and Moor, R. M. (1978). Ultrastructure of the theca interna of ovarian follicles in sheep. Cell Tiss. Res. **187**, 457-472.
- O'Shea, J. D. (1981). Structure-function relationships in the wall of the ovarian follicle. Aust. J. Biol. Sci. **34**, 379-394.
- Pedernera, E., Gómez, Y., Velázquez, P., Juárez-Oropeza, and González del Pliego, M. (1988). Identification of steroidogenic cell subpopulations in the ovary of the newly hatched chicken. Gen. Comp. Endocrinol. **71**, 153-162.
- Pedernera, E., Velázquez, P., Gómez, Y., and González del Pliego, M. (1989). Isolation of steroidogenic cell subpopulations in the follicular theca of the ovary in the domestic fowl. En "Growth Factors and the Ovary" (A. N. Hirshfield, ed.), pp. 351-355. Plenum, New York.
- Pedernera, E. A. (1993). Cooperación Celular en la Biosíntesis de Hormonas Esteroides. En "Comunicación Neuroendocrina", Bases Celulares y Moleculares. 1a. ed., pp. 33-46. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. México.
- Peters, H. (1978). Folliculogenesis in Mammals. En "The Vertebrate Ovary" Comparative Biology and Evolution (Richard E. Jones, ed.), pp. 121-144. Plenum Press, New York and London.
- Porter, T. E., Hargis, B. M., Silsby, J. L., and El Halawani, M. E. (1989a). Differential steroid production between theca interna and theca externa cells: A three-cell model for follicular steroidogenesis in avian species. Endocrinology **125**, 109-116.

- Porter, T. E., Hargis, B. M., Silsby, J. L., and El Halawani, M. E. (1989b). Enhanced progesterone and testosterone secretion and depressed estradiol secretion in vitro from small follicle cells of incubating turkey hens. Gen. Comp. Endocrinol. **74**, 400-405.
- Porter, T. E., Hargis, B. M., Silsby, J. L., and El Halawani, M. E. (1991). Characterization of dissimilar steroid productions by granulosa, theca interna and theca externa cells during follicular maturation in the turkey (Meleagris gallopavo). Gen. Comp. Endocrinol. **84**, 1-8.
- Priedkalns, J., Weber, A. F., and Zemjanis, R. (1968). Qualitative and quantitative morphological studies of the cells of the membrana granulosa, theca interna and corpus luteum of the bovine ovary. Z. Zellforsch. **85**, 501-520.
- Reeves, J. J. (1988). Endocrinology of Reproduction. En "Reproduction in Farm Animals". 5th. Ed. pp. 85-105. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Richards, J. S. (1978). Hormonal Control of Follicular Growth and Maturation in Mammals. En "The Vertebrate Ovary" Comparative Biology and Evolution (Richard E. Jones, ed.), pp. 331-360. Plenum Press, New York and London.
- Richards, J. S., Hedin, L., and Caston, L. (1986). Differentiation of rat ovarian thecal cells: Evidence for functional luteinization. Endocrinology **118**, 1660-1668.
- Richards, J. S., Tore, J., Hedin, L., Lifka, J., Ratoosh, S., Durica, J. M., and Goldring, N. B. (1987). Ovarian Follicular Development: From Physiology to Molecular Biology. Recent. Prog. Horm. Res. **43**, 231-276.
- Richards, J. S., and Hedin, L. (1988). Molecular aspects of hormone action in ovarian follicular development, ovulation, and luteinization. Ann. Rev. Physiol. **50**, 441-463.
- Roberts, A. J., and Skinner, M. K. (1990). Hormonal regulation of thecal cell function during antral follicle development in bovine ovaries. Endocrinology **127**, 2907-2917.
- Robinson, F. E., and Etches, R. J. (1986). Ovarian steroidogenesis during follicular maturation in the domestic fowl (Gallus domesticus). Biol. Reprod. **35**, 1096-1105.
- Rodríguez-Maldonado, E., Gómez, Y., Velázquez, P., Juárez-Oropeza, M., y Pedernera, E. (1993). Metabolismo de andrógenos por células de teca interna y teca externa de folículos preovulatorios de gallina [Resumen]. En: XXXIII Reunión Anual de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología.

- Roy, S. K., and Greenwald, G. S. (1985). An enzymatic method for dissociation of intact follicles from the hamster ovary: Histological and quantitative aspects. Biol. Reprod. **32**, 203-215.
- Saidapur, S. K. (1982). Structure and function of postovulatory follicles (corpora lutea) in the ovaries of nonmammalian vertebrates. Int. Rev. Cytol. **75**, 243-285.
- Scanes, C. G., Mozelic, H., Kavanagh, E., Merrill, G., and Rabii, J. (1982). Distribution of blood flow in the ovary of domestic fowl (Gallus domesticus) and changes after prostaglandin F-2 α treatment. J. Reprod. Fert. **64**, 227-231.
- Scheib, D. (1983). Effects and role of estrogens in avian gonadal differentiation. Differentiation Suppl. **23**, 87-92.
- Simone, D. A., and Mahesh, V B. (1993). An autoregulatory process for androgen production in rat thecal-interstitial cells. Biol. Reprod. **48**, 46-56.
- Sturkie, P. D. (1967). Reproducción en la hembra y formación del huevo. Anatomía e Histología del Sistema Reprodutor de la Hembra. En "Fisiología Aviar", pp. 359-410. Acribia, Zaragoza.
- Tokarz, R. R. (1978). Oogonial Proliferation, Oogenesis, and Folliculogenesis in Nonmammalian Vertebrates. En "The Vertebrate Ovary" Comparative Biology and Evolution (Richard E. Jones, ed.), pp. 145-179. Plenum Press, New York and London.
- Tsang, B. K., Moon, Y. S., Simpson, Ch. W., and Armstrong, D. T. (1979). Androgen biosynthesis in human ovarian follicles: Cellular source, Gonadotropic control, and adenosine 3',5'-monophosphate mediation. J. Clin. Endocrinol. Metab. **48**, 153-158.
- Vanmontfort, D., Rombauts, L., Decuypere, E., and Verhoeven, G. (1992). Source of immunoreactive inhibin in the chicken ovary. Biol. Reprod. **47**, 977-983.
- Velázquez, P., Gómez, Y., González del Pliego, M., and Pedernera E. (1991). Steroidogenic cell subpopulations obtained from the theca of preovulatory follicles in the ovary of the domestic fowl. Gen. Comp. Endocrinol. **83**, 243-248.
- Velázquez, P., Pedernera, E., Peralta, D. I., González del Pliego, M., y Nieto, B. A. (1993). Efecto de la Hormona Foliculo Estimulante en la división celular de ovarios de embriones de pollos [Resumen]. En: XXXVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas.

- Wakabayashi, S., Kikuchi, M., Wada, M., Sakai, H. and Ishii, S. (1992). Induction of ovarian growth and ovulation by administration of a chicken gonadotrophin preparation to japanese quail kept under a short-day regimen. Br. Poult. Sci. **33**, 847-858.
- Wang, S. -C., and Bahr, J. M. (1983). Estradiol secretion by theca cells of the domestic hen during the ovulatory cycle. Biol. Reprod. **28**, 618-624.
- Wells, J. W., Dick, H. R., and Gilbert, A. B. (1981). The biosynthesis of progesterone by fowl granulosa cells in vitro from ¹⁴C-labelled substrates. J. Steroid. Biochem. **14**, 651-656.
- Wells, J. W. and Gilbert, A. B. (1984). Steroid Hormone Production by the Ovary. En "Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl (B.M. Freeman, ed.), Vol 5, pp. 323-343. Academic Press, London and New York.
- Weniger, J-P., and Zeis, A. (1971). Biosynthese d'oestrogenes par les ebauches gonadiques de poulet. Gen. Comp. Endocrinol. **16**, 391-395.
- Wyburn, G. M., Aitken, R. N. C. and Johnston, H. S. (1965). The ultrastructure of the zona radiata of the ovarian follicle of the domestic fowl. J. Anat. **99**. 469-484.
- Zecchi, S., and Balboni, G. C. (1981). On the granulosa cells of ovarian follicles. I. Morphometric research on the relationship between granulosa and theca interna in evolutive follicles. Boll. Soc. It. Biol. Sper. **LVII**, 580-583.