



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO HISTOMORFOMETRICO DEL OVIDUCTO
DE POLLO RECIEN NACIDO TRATADO CON LA
HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G A
P R E S E N T A ;
ALMA DELIA LUGO PINEDA

DIRECTOR DE TESIS: DRA. GENOVEVA GONZALEZ-MORAN

1997

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

98
29j



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

"ESTUDIO HISTOMORFOMETRICO DEL OVIDUCTO DE POLLO RECIEN NACIDO
TRATADO CON LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE"
realizado por

LUGO PINEDA ALMA DELIA
con número de cuenta 8338224-8 , pasante de la carrera de BIOLOGIA

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

DRA. GENOVEVA GONZALEZ-MORAN

Propietario

DRA. MARCELA ESPERANZA AGUILAR MORALES

Propietario

M. EN I.B.B. SAUL CANO COLIN

Suplente^{1º}

M. EN C. SILVIA DEVARS RAMOS

Suplente

M. EN C. MA. TERESA BENITEZ RODRIGUEZ

Saul Cano Colín
FACULTAD DE CIENCIAS
U.N.A.M.

Consejo Interdisciplinario de Biología

M. EN C. ALEJANDRO MARTINEZ MENA

DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

**ESTUDIO
HISTOMORFOMÉTRICO
DEL OVIDUCTO DE
POLLO RECIÉN
NACIDO TRATADO
CON LA HORMONA
FOLÍCULO
ESTIMULANTE**

*A la Doctora GENOVEVA GONZÁLEZ-MORÁN
POR SU AMISTAD, APOYO Y CONFIANZA...*

*A los miembros del H. Jurado:
DRA. MARCELA ESPERANZA AGUILAR MORALES
M. EN I.B.B. SAÚL CANO COLÍN
M. EN C. SILVIA DEVARIS RAMOS
M. EN C. MA. TERESA BENÍTEZ RODRIGUEZ
POR SUS VALIOSAS SUGERENCIAS...*

*A mis padres: JUAN y DOLORES
CON TODO MI AMOR...*

*A mi esposo ALEJANDRO y mi hijo EARENDIL
POR TODO LO QUE SIGNIFICAN EN MI VIDA...*

*A mis hermanos: ARTURO y JUAN:
POR SU APOYO...*

ÍNDICE

R ESUMEN	1
INTRODUCCION	2
1.-DESARROLLO EMBRIONARIO DEL OVIDUCTO DE POLLO	2
2.-ANATOMIA DEL OVIDUCTO	4
3.-CONTROL HORMONAL DE LA REPRODUCCION EN AVES	9
3.1-EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-GONADA	9
3.2-MECANISMO DE ACCION DE LA FSH	12
ANTECEDENTES	15
HIPOTESIS	20
OBJETIVOS	21
MATERIALES Y METODOS	22
RESULTADOS	25
DISCUSION	31
CONCLUSIONES	34
BIBLIOGRAFIA	35

RESUMEN

Considerando que el estímulo de las hormonas gonadotrópicas sobre el ovario induce la síntesis de hormonas esteroides, las cuales a su vez producen cambios morfológicos en otros órganos, tales como el OVIDUCTO, el presente trabajo tuvo como objetivo determinar los cambios histomorfométricos de la región del magnum, en oviductos de pollos recién nacidos, al ser tratados *in ovo* durante los días 13, 15 y 17 del desarrollo embrionario con la Hormona Folículo Estimulante (FSH).

Se utilizaron huevos fértiles de la raza White Leghorn, mismos que se incubaron a 37°C en atmósfera de humedad y fueron tratados con FSH en concentraciones de 1µg y 40µg respectivamente; las dosis fueron aplicadas los días 13, 15 y 17 del desarrollo embrionario. A las 24 horas de la eclosión, los pollitos se sacrificaron y se disecaron los oviductos izquierdos, los cuales se procesaron por la técnica de inclusión en parafina, para su observación al microscopio de luz, obteniéndose cortes seriados del magnum para su estudio histomorfométrico.

Los resultados indican que los oviductos de los animales tratados con FSH, presentan un incremento en el área total de su sección transversal, debido principalmente al aumento en las áreas de la luz epitelial y estromática. También se observa que el tratamiento con FSH induce la formación de primordios de glándulas tubulares y cilogénesis del epitelio del oviducto, así como un mayor número de células epiteliales por unidad de área, a diferencia del estroma de la mucosa del magnum, en relación con los controles.

Con base en estos resultados, podemos concluir que la FSH provoca cambios bioquímicos en el ovario, cuyas hormonas producidas son esenciales para inducir la citodiferenciación de la mucosa del magnum.

INTRODUCCIÓN

1. DESARROLLO EMBRIONARIO DEL OVIDUCTO DE POLLO

Se han desarrollado múltiples estudios que permiten conocer el desarrollo de las gónadas en los vertebrados; sin embargo, es igualmente relevante realizar estudios de las estructuras anexas a éstas, ya que juegan un papel trascendental en lo que respecta a la culminación del proceso de reproducción.

El oviducto es una estructura anexa al ovario. Los trabajos realizados en los últimos años se han enfocado a su desarrollo embrionario, haciendo especial énfasis en su origen y la acción hormonal que propicia su diferenciación.

Durante el desarrollo embrionario, (Romanoff 1960, Getty 1982), el oviducto aparece al cuarto día de incubación, como un surco en una franja longitudinal de epitelio

peritoneal engrosado, conocido como cresta tubal, que se asienta dorsalmente sobre el mesonefros y su conducto. Al quinto día del desarrollo embrionario, los labios del surco se unen formando un tubo corto con un ostium celómico abierto cranealmente, y un extremo ciego caudalmente. Esta terminación crece caudalmente, en forma lateral al conducto mesonéfrico y adquiere su luz a medida que avanza, alcanzando la cloaca entre el séptimo y el onceavo día. Alrededor de los quince días se pueden distinguir el infundíbulo, el magnum y el útero. Finalmente, la apertura de la cloaca se produce después de la eclosión (Getty, 1982). Después de doce semanas de desarrollo posteclosión, el oviducto se alarga rápidamente, alcanzando unos 25 cm. de longitud, tal crecimiento se observa en el infundíbulo, magnum e istmo.

En los embriones machos, los conductos mesonéfricos originan los conductos deferente

y aferente, mientras que el conducto de Müller interrumpe su crecimiento hacia el onceavo día, desapareciendo por completo hacia el día 20.

En las hembras, sólo la gónada izquierda prosigue su desarrollo para formar un ovario funcional, los conductos mesonéfricos degeneran y el conducto paramesonéfrico o de Müller prosigue su desarrollo dando origen al único oviducto. De manera simultánea la gónada derecha involuciona persistiendo sólo un pequeño rudimento. El conducto de Müller pierde su luz y se reduce, quedando en la cloaca residuos de esta estructura. La regresión del conducto Mülleriano derecho ocurre el día nueve de la incubación (Yamamoto, et al, 1974).

Una de las diferencias evidentes entre la hembra y el macho durante el desarrollo en los embriones de aves, es el grado de

asimetría morfológica de las gónadas. En el pollo, ésta asimetría es perceptible a partir del séptimo día de desarrollo (Gasc, 1978). Sin embargo, las observaciones anatómicas e histológicas no son suficientes para hacer una comparación precisa entre gónadas izquierda y derecha. Para abordar este aspecto se han realizado diversos trabajos, como el reportado por Mittwoch (1971), quien demostró que a los cinco días de incubación de los embriones, el volumen de la gónada izquierda era mayor que el de la derecha, en ambos sexos.

La cantidad de proteínas en las gónadas de embriones de pollo, se incrementan progresivamente entre los días seis y once de incubación (Gasc, 1978). Uno de los procesos que ha sido de gran polémica, con relación al desarrollo embrionario del oviducto, es lo referente al desarrollo de los conductos Müllerianos en ambos sexos. Se ha reportado

ambos sexos. Se ha reportado que su desarrollo está controlado por hormonas provenientes de las gónadas (Mc Carrey y Abbott, 1982). En las hembras, la diferenciación del conducto Mülleriano izquierdo, está modulado por estrógenos sintetizados en el ovario embrionario (Wolff y Wolff, 1951; Hamilton, 1961). La regresión del conducto de Müller derecho también es ovario-dependiente (Salzgeber 1950; Wolff y Wolff 1951).

Por otra parte, la regresión de los conductos Müllerianos en los machos es inducida por una hormona protéica anti-mülleriana producida por las células de Sertoli en los testículos (Jones, 1977).

Recientemente, se ha comprobado que ambas gónadas de pollos, tanto hembras como machos, producen sustancias anti-müllerianas durante la embriogénesis y también en las aves maduras. Por otra parte

se ha observado que los estrógenos exógenos preservan los conductos Müllerianos en los pollos machos y embriones de cordóniz (Mac Laughlin et al, 1983).

2.- ANATOMÍA DEL OVIDUCTO

El oviducto es un conducto muscular muy circunvolucionado a través del cual se realiza el transporte del óvulo. Y durante este trayecto se va cubriendo por las membranas que posteriormente forman la cáscara. En las hembras adultas en etapa reproductiva mide aproximadamente 80 cm. de largo (Bradley, 1960). En las hembras sexualmente inactivas es un tubo inconspicuo de 14 a 19 cm. de largo. Este conducto se extiende del ovario hasta la cloaca (Sturkie, 1967).

El oviducto está suspendido dorsalmente en la pared abdominal por un ligamento, el cual continúa alrededor del conducto para

formar el ligamento ventral, cada uno contiene fibras musculares que son más abundantes en el borde libre del ligamento ventral, en donde éstas forman un cordón muscular insertado posteriormente a la vagina. Internamente, la cobertura peritoneal de la pared del conducto consta de músculos, lámina propia y epitelio (Atkien, 1971).

Los vasos sanguíneos y los nervios que abastecen al oviducto pasan a través de los ligamentos, dividiéndose para abastecer a varios segmentos del órgano (Hodges, 1974).

APOORTE SANGUINEO.- La sangre llega al útero por tres arterias, todas ellas surgen en el lado izquierdo del cuerpo. La arteria hipogástrica, que es una rama de la arteria ciática izquierda, lleva sangre a la porción anterior de útero (Hodges, 1974). Esta arteria se bifurca en las arterias uterinas superior y lateral. La arteria uterina anterior se divide en arterias uterina

lateral e inferior y se localizan sobre ambas superficies del útero (Sturkie, 1967).

INERVACIÓN.- Esta se lleva a cabo por fibras provenientes de ambas ramas del sistema autónomo simpático y parasimpático. La inervación simpática se deriva de varios plexos: renal, aórtico, ciático y mesentérico posterior y pélvico, con pequeña contribución desde el ovario (Hodges, 1974).

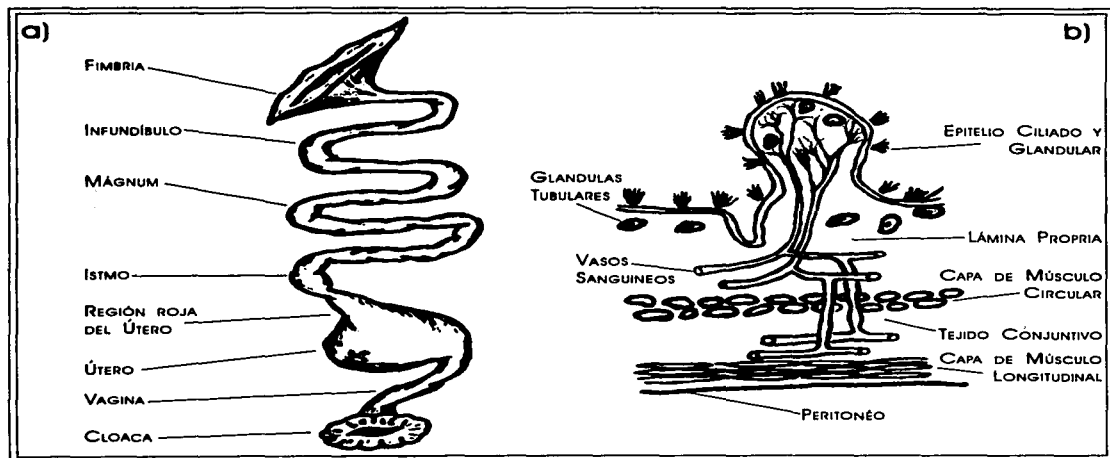
La inervación parasimpática consta de pequeños ganglios localizados hacia el final del útero y alrededor de la unión entre el útero y la vagina (Hodges, 1974).

El oviducto se divide en cinco regiones: Infundíbulo, Magnum, Istmo, Vagina y Útero. Histológicamente, cada una de estas regiones posee la misma estructura básica, la diferencia entre ellas está dada por el grado de desarrollo de sus estratos (Crawford, 1990).

Inicialmente, la división de las regiones del oviducto se hizo con base en un criterio macroscópico. Finalmente, se determinaron por cambios en la estructura

de las glándulas tubulares (Richardson, 1935).

A continuación se presenta el esquema, que muestra la morfología básica del oviducto:



a) Diagrama del oviducto de pollo doméstico. La morfología puede variar de región en región.

b) Esquema de un corte transversal de su histología básica Parte B de Gilbert, 1979)

HISTOLOGÍA.- La pared del oviducto está formada por los siguientes elementos:

- Capa externa peritoneal o serosa.
- Doble capa de músculo liso
- Tejido conjuntivo, con vasos sanguíneos y nervios.
- La mucosa, que reviste internamente todo el conducto. Esta capa consta de glándulas unicelulares y células ciliadas. El radio de estas células es variable, dependiendo de la región del oviducto en donde se localicen (Crawford, 1990).

Las glándulas tubulares se encuentran a lo largo de todo el conducto, con excepción del infundíbulo anterior (sitio de la fertilización) y la vagina caudal (Hodges, 1974).

En el animal joven, esta mucosa carece de surcos y pliegues, sin embargo a medida que se aproxima la madurez sexual y el

oviducto empieza a ser estimulado por estrógenos y progesterona, la mucosa presenta intrincados surcos y pliegues (Naitbandov, 1969).

REGIONES DEL OVIDUCTO.- El *Infundíbulo* se considera la primera porción del oviducto. En la gallina madura presenta una longitud aproximada de 9 cm, esta región recibe al óvulo y en ella tiene lugar la fertilización, así como la formación de la chalaza, que es un cordón enrollado, el cual se extiende desde la yema hasta uno de los polos del huevo. El óvulo permanece en este sitio de 15 a 30 minutos aproximadamente (Crawford, 1990).

El *Magnum*, constituye la segunda porción del conducto, siendo ésta zona de mayor longitud, estimada en 42 cm. (Surface, 1912) o 33.6 cm. (Romanoff y Romanoff, 1949).

Existe una marcada diferencia entre el oviducto de gallinas inmaduras inactivas

y gallinas maduras activas, ya que el primero aumenta 6 veces su grosor en plena actividad con respecto al otro. El magnum constituye el 50% del largo total del oviducto (De Alba, 1985), su diámetro es considerablemente mayor con respecto al infundíbulo (Hodges, 1974), ya que se incrementa el grosor de su pared, por el aumento de las capas musculares y la mucosa. Los pliegues mucosales longitudinales se incrementan en número, altura y grosor, debido al intenso desarrollo de las glándulas tubulares (Richardson, 1935).

El epitelio de la luz del oviducto está formado por células columnares ciliadas y glándulas unicelulares. Estas glándulas, conocidas como células globosas son productoras de mucina, y son muy abundantes en esta región. Durante el paso del huevo, el 75% de estas células liberan su

material y lo sintetizan a las siguientes 4 o 5 horas, para facilitar el paso sucesivo de los huevos (Guzsal, 1968).

La mucosa del oviducto presenta pliegues longitudinales, entre los cuales se encuentran las glándulas multicelulares que pueden ser de dos tipos: surcos glandulares y glándulas tubulares. En ésta región se agrega hasta un tercio del peso total del huevo, ya que se integra el albúmen constituido por agua en un 88% y el resto por sólidos (De Alba, 1985).

Durante la formación del huevo se distinguen claramente tres fases que pueden identificarse por las características de las células que recubren a las glándulas tubulares.

La primera fase inicia antes de que la yema entre en la región del magnum. La

segunda fase conocida como fase de regeneración, ocurre después de que la yema ha salido del magnum, y en la tercera fase las glándulas se regeneran y no presentan secreción durante algunas horas (Surface, 1912; Richardson, 1935).

Los movimientos peristálticos del magnum, permiten que el óvulo llegue a la siguiente región: el *Istmo*. En la gallina ponedora esta región es de 10 cm. de longitud. El epitelio constituido por glándulas tubulares, no se observa tan plegado como en el magnum, debido a que la actividad secretora es menor. En esta zona la yema se recubre de las membranas blandas de la cáscara (Hodges, 1974).

El *Útero* es la región bursiforme del oviducto que mide aproximadamente de 10 a 12 cm. Sus paredes son gruesas y musculosas, conteniendo glándulas tubulares

y unicelulares (Hodges, 1974). En ésta zona se forma la cáscara y se adicionan tanto el agua como las sales al albúmen, así como el pigmento de la misma.

La *Vagina* constituye la región final, con una longitud de 12 cm., y es la porción que conduce el huevo, del útero a la cloaca. No participa en la formación de éste, pero tiene un papel importante en su expulsión, ya que es la región donde el huevo deja al útero y además se encuentra el esfínter que lleva a cabo dicho proceso (Sturkie, 1967; Hodges, 1974).

3.- CONTROL HORMONAL DE LA REPRODUCCIÓN EN AVES

3.1.- EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-GÓNADAS.

Los eventos que se desarrollan en el aparato urogenital de las aves, están regulados por la hipófisis, la que a su vez está regida por el hipotálamo.

El hipotálamo, la hipófisis y las gónadas constituyen al eje hipotálamo-hipófisis-gónadas; sin embargo las gónadas son autónomas en cuanto a su crecimiento y diferenciación durante etapas tempranas del desarrollo embrionario, integrándose posteriormente al eje, (Willer, 1955; Woods, 1987).

Se ha demostrado que la formación del eje hipotalamo-hipófisis-gónadas se lleva a cabo durante los días 13.5 en los machos y en el día 14 del desarrollo embrionario en las hembras (Vogel, 1956; Sturkie, 1967; Woods, 1981 y 1987).

El hipotálamo es una porción del cerebro que forma el piso del tercer ventrículo, y se ubica entre el quiasma óptico y el borde superior de la protuberancia anular y por encima de la hipófisis (Quiroz, 1974), se especializa en coordinar el Sistema Endocrino, ya que recibe e integra mensajes desde el

Sistema Nervioso Central. En respuesta a estos mensajes el hipotálamo produce hormonas reguladoras, que son enviadas a través del torrente sanguíneo a la glándula hipófisis. A ésta asociación se le conoce con el nombre de sistema encéfalo-hipofisiario (Lehninger, 1984).

La hipófisis esta situada en la base del diencéfalo, protegida por una depresión en forma de silla de montar (silla turca), del hueso esfenoideas (Sturkie, 1967).

En los mamíferos la hipófisis está constituida por tres porciones de diferente origen; los lóbulos anterior o adenohipófisis e intermedio son de origen endodérmico, derivan de una evaginación de la parte dorsal de la cavidad bucal (la bolsa de Rathke), y el lóbulo posterior o neurohipófisis de origen ectodérmico, procede del infundíbulo del diencéfalo y tiene por lo tanto origen nervioso

(Nalbandov, 1969; Lehninger, 1984; Kolb, 1987).

En las aves, la glándula hipófisis carece de lóbulo intermedio; únicamente consta de adenohipófisis y neurohipófisis, que se encuentran separadas por una capa de tejido conjuntivo (Sturkie, 1967; Chester-Jones et al, 1987).

Se citarán las características y funciones de algunas de las hormonas producidas en la adenohipófisis. La actividad fisiológica de este lóbulo se relaciona con el hipotálamo, ya que al excitarse éste eléctricamente provoca aumento en la secreción de diversas hormonas adenohipofisarias. Dicha secreción está regulada por su concentración en la sangre, misma que irriga las glándulas efectoras periféricas (Kolb, 1987).

La hipófisis tiene gran importancia en el desarrollo de los órganos sexuales y en la

conservación de la capacidad reproductora del organismo. Esto se ha comprobado a través de los estudios realizados por Nalbandov, 1969; Gilbert, 1971; Bell y Freeman, 1971 y Kolb, 1987, ya que cuando se hizo la extirpación de ésta en animales jóvenes, se produjo una disminución de la velocidad de su crecimiento y del desarrollo de los órganos sexuales, los que permanecieron inmaduros. En los animales adultos se observó la atrofia de las gónadas así como la regresión de los caracteres sexuales secundarios.

De las hormonas que produce la adenohipófisis, relacionadas con el desarrollo de las gónadas, están las llamadas gonadotropinas las cuales son:

- Hormona de la maduración folicular (FSH)
 - Hormona Estimulante de las células intersticiales (LH)
 - Hormona Luteotrópica (LTH).
-

3.2.- MECANISMO DE ACCIÓN DE LA FSH (HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE)

La Hormona Folículo Estimulante (FSH), es una glicoproteína formada por dos subunidades designadas como α y β . Estas subunidades poseen muy poca actividad biológica cuando se encuentran separadas, pero al combinarse se obtiene entre 50-80% de la actividad biológica (Cole y Cupps, 1984). Se ha comprobado que biológicamente la subunidad α es común para todas las hormonas gonadotrópicas y la subunidad β es específica para cada una de ellas (Gilbert, 1971; Cole y Cupps, 1984).

La subunidad β , participa en la unión de la FSH al tejido blanco, mientras que la subunidad α es importante por unirse al receptor que activa a la enzima adenilato-ciclasa de la membrana de la célula blanco (Steiner y Cameron, 1989; Patton et al, 1989).

Estudios bioquímicos han demostrado que la FSH de pollo está formada por aminoácidos y carbohidratos. La molécula consta de 17 aminoácidos importantes para su funcionamiento (Lys, His, Arg, Asp, Thr, Ser, Glu, Pro, Gly, Ala, Cys, Val, Met, Ile, Leu, Tyr, Phe), así como ácido aspártico y ácido glutámico, con poco contenido de cisteína y metionina (Sakai e Ishii, 1980). Los primeros trabajos fueron realizados por Gooden y Scanes en 1975. Estos resultados son similares a los observados en la FSH de mamíferos, sin embargo, el contenido de cisteína en la FSH de pavo constituye la tercera parte de la molécula; mientras que en los mamíferos el contenido de este aminoácido representa la cuarta parte del total molecular (Sakai e Ishii, 1980).

En cuanto al peso molecular estimado por Sakai e Ishii en 1980 para la FSH fue de 37,000; mientras que Krishnan et al en 1992, reportaron un valor de 38,000; estos valores son

conflables ya que se encuentran dentro del intervalo obtenido para mamíferos con valores de 31,000 y 47,900 obtenido por métodos similares de aislamiento (Hashimoto et al, 1965; Braselton y Mcshan, 1970; Sakai e Ishii, 1980).

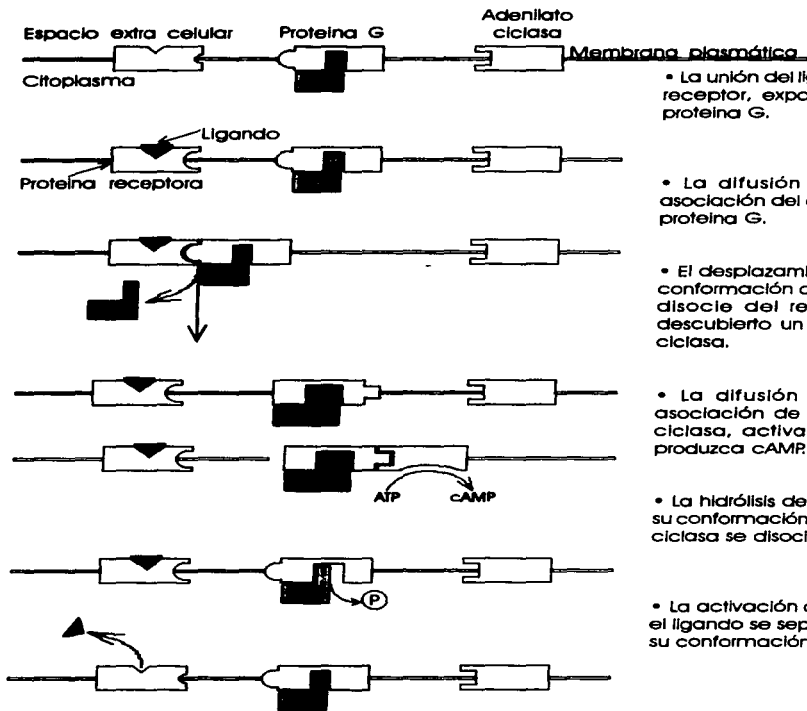
Esta hormona, por sí sola es considerada como primer mensajero cuando se libera desde la hipófisis y llega hasta el ovario, por vía sanguínea, y se une a los receptores que se localizan en la superficie de las células blanco. Esta unión genera un segundo mensajero intracelular, el AMP cíclico (AMPC), el cual lleva la señal endocrina desde la membrana hasta el citoplasma celular. El AMPC se sintetiza a partir del ATP por la acción de la adenilato ciclasa, la cual es un complejo enzimático unido a la región citoplásmica de la membrana celular. Los receptores de la superficie celular unidos a su ligando no activan directamente a la adenilato ciclasa, más bien requieren de una

tercera proteína de membrana que une GTP (proteína G) en su superficie citoplasmática. Para la generación de este sistema receptor-efector se requiere de tres proteínas de la membrana celular, tales proteínas son la receptora, la proteína G y la adenilato ciclasa. Como se representa en el diagrama 1 (pág 14)

En el ovario adulto las células blanco para la FSH son la células foliculares (Cole y Cupps, 1984).

Tanto la FSH como la LH están presentes en la adenohipófisis de embriones de pollo desde el día 18 de su desarrollo (Farner, 1973). El estímulo de la FSH sobre las gónadas provoca la producción de hormonas esteroides (derivadas del colesterol) que a su vez se ha sintetizado a partir del acetil-CoA. Tales hormonas son estrógenos, andrógenos y progesterona (Gilbert, 1971, Lehninger, 1984).

DIAGRAMA 1



- La unión del ligando, altera la conformación del receptor, exponiendo el sitio de unión para la proteína G.

- La difusión en la bicapa, conduce a la asociación del complejo ligando-receptor con la proteína G.

- El desplazamiento del GDP por el GTP altera la conformación de la proteína G, haciendo que se disocie del receptor activado, dejando al descubierto un sitio de unión para la adenilato ciclasa.

- La difusión en la bicapa conduce a la asociación de la proteína G con la adenilato ciclasa, activando así a la ciclasa para que produzca cAMP.

- La hidrólisis de la GTP devuelve a la proteína G su conformación inicial, haciendo que la adenilato ciclasa se disocie y se vuelva inactiva.

- La activación de la ciclasa se repite hasta que el ligando se separa del receptor y este recupera su conformación original. (Alberts, et al, 1983)

Modelo de "colisión-acoplamiento", para la activación de la adenilato ciclasa. (Alberts, et al 1983).

ANTECEDENTES

Se ha confirmado que la función normal del ovario de la gallina, depende de las gonadotropinas hipofisarias (FSH y LH). Fraps en 1955, observó que la inyección de 1mg de progesterona provocaba la ovulación prematura del 95% de 19 gallinas, y con una dosis similar de testosterona, ovularon el 41% de 32 gallinas, en tanto que 1mg de 17- β estradiol careció de efecto sobre la ovulación. En otro trabajo realizado por Fraps y Dury en 1942, se observó que la inyección de LH indujo la ovulación prematura. Posteriormente, Opel y Nalbandov 1961, comunicaron que la LH provocó la ovulación en gallinas hipofisectomizadas. Tanaka y col. 1970, obtuvieron resultados similares al inyectar LH ovina, provocando la madurez folicular en gallinas con bloqueo hipotalámico mediante fenobarbital sódico. (Cole y Cupps, 1984).

Los efectos de las hormonas esteroides en la reproducción juegan un papel esencial,

principalmente por el control de la función ovárica a través del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. El ovario sintetiza hormonas esteroides a partir del colesterol, con ayuda de un complejo sistema enzimático.

La LH en las células tecales del ovario de aves promueve la síntesis de andrógenos que, a través del proceso de aromatización, se transforman a estrógenos en la granulosa, todo esto bajo la acción de la FSH, la cual actúa sinérgicamente con el estradiol, y activa a las enzimas responsables de la producción de progesterona a partir de la pregnenolona (Cole y Cupps, 1984; Cabeza de Flores, 1990). Una vez que se han producido las hormonas esteroides (progesterona, estrógenos), por el ovario, estas se van difundiendo hacia sus células blanco, entre las que se encuentran las células del magnum del oviducto, formando el complejo hormona-receptor. Estos receptores son

proteínas citoplasmáticas (Zarate y Rull, 1981).

En el oviducto, el receptor citoplasmático para el estrógeno es un dímero 2S, que consta de dos subunidades 4S; el cual se aprecia desde el octavo día de incubación (Zarate y Rull, 1981). En cuanto a los receptores para progesterona Sherman en 1974, encontró que son subunidades formadas por proteínas. Tal estructura se forma en presencia o ausencia de hormonas esteroides, y de forma experimental se impidió su formación por un inhibidor proteásico como el diisopropilfluorurofosfato (Sherman, 1974).

Muchas de las actividades relacionadas a la formación del huevo están regidas por las hormonas esteroides que produce el ovario; en el caso de los estrógenos, su acción es relevante, ya que de ellos

depende el desarrollo anatómico y glandular del oviducto. Estos provocan gran crecimiento del magnum y de sus elementos glandulares en pollitas inmaduras, mientras que la formación de gránulos de albúmen está a cargo de la progesterona (Naibandov, 1969).

En el oviducto, los estrógenos inducen la citodiferenciación de las glándulas secretoras de ovoalbúmina. Kohler en 1969, observó procesos de citodiferenciación en la región del magnum, al recibir el estímulo de estrógenos exógenos, distinguiéndose tres tipos celulares:

- Células tubulares productoras de ovoalbúmina
- Células globet sintetizadoras de avidina y
- Células ciliadas.

Estos cambios también se presentaron en la zona denominada estroma. El epitelio es

de tipo columnar pseudoestratificado, con núcleos elongados y prominentes, localizados centralmente. El epitelio descansa sobre un estroma compacto de células poligonales con núcleos redondos. Entre el epitelio y el estroma se observa una banda clara con fibras de colágena (Kohler, 1969).

Los estrógenos tienen diversas funciones sobre el metabolismo de la gallina; específicamente en el metabolismo del calcio, ya que son los responsables del transporte del carbonato de calcio. Igualmente importante es su acción sobre el hígado, movilizandolas lipoproteínas esenciales para la formación de la yema y transportándolas, a través de la circulación periférica, hasta los folículos en crecimiento. Puesto que el folículo es una de las estructuras biológicas con un rápido crecimiento, la cantidad de lipoproteína depositada en el folículo puede superar los 2 gr en 24 horas (Nalbandov, 1969; Cole y Cupps, 1984).

En los vertebrados, con excepción de los mamíferos placentarios, la diferenciación de las gónadas puede modularse experimentalmente, por la acción exógena de hormonas sexuales esteroideas, ya que al disociar las gónadas y el mesonefros de embriones de pollo de ocho días de edad, los agregados de las células testiculares mostraron características similares a los grupos celulares del ovario. También se produjo la inversión sexual en cuanto a la presencia del antígeno serológico H-Y. No es extraño el hecho de que el estradiol produzca gran número de modificaciones en el tracto urogenital de las aves, ya que en éste se encuentran numerosos receptores para la hormona. En un análisis de saturación de estradiol en conductos Müllarianos de embriones con 8 días de edad, se observó que la unión del estradiol en los conductos izquierdos es más alta que en los derechos (Mac Laughlin, 1983).

A través del tratamiento prenatal y neonatal de ratones, con estrógenos sintéticos, se aceleró el inicio de la actividad secretora de las células epiteliales uterinas y vaginales (Hiroyuki y Taneaki 1993). Estos resultados apoyan el concepto de que el estrógeno actúa indirectamente sobre el epitelio del sistema genital.

Experimentalmente al aplicar inyecciones sucesivas de 17β -estradiol y progesterona, en hamsters dorados recién nacidos, se observaron cambios ultraestructurales en células indiferenciadas del epitelio del oviducto de éstos animales.

En los oviductos de animales tratados con estrógenos, se produjo la citodiferenciación de las células epiteliales indiferenciadas, ya que hubo cillogénesis, así como diferenciación de células secretoras. Observaciones similares han sido reportadas en el

oviducto de codorniz (Sandoz y Boisvieux-Ulrich, 1976). Estos estudios demostraron la presencia de "células mezcladas", las cuales están en proceso de cillogénesis y contienen gránulos mucosos. La aparición de estas células se indujo por la administración de estradiol. Estos resultados también se apreciaron en el oviducto de conejo por Merchant en 1969 y Hiroyuki y Taneaki 1993.

Kohler y Grimley 1969, administraron dietilstilbestrol, por vía subcutánea a pollos que tenían 5 días de edad. Después de 17 días de aplicaciones consecutivas, se disecaron los oviductos izquierdos, apreciándose un rápido desarrollo de las glándulas tubulares de la capa parietal de las células columnares pseudoestratificadas. Este desarrollo es precedido por una fase de edematización del estroma, habiendo disminución en la densidad de las células del mismo. Los cambios en estas células son muy

evidentes, el núcleo se extiende y el citoplasma incrementa su volumen. El epitelio columnar se invagina para dar origen a las glándulas granudas, posteriormente el estroma perdido es reemplazado por glándulas tubulares, las cuales contienen ovoalbúmina. Además, las células de la capa superficial de la mucosa, empiezan a desarrollar cilios para contribuir con la

propulsión del material a través del oviducto. El dietilestilbestrol, indujo a la observación de etapas secuenciales en el proceso de formación de gránulos secretores. El oviducto así estimulado, es un sistema útil para valorar las alteraciones diferenciales de la actividad intracelular que se presentan durante los procesos de secreción exócrina.

HIPÓTESIS

Si la Hormona Folículo Estimulante (FSH), actúa directamente sobre el ovario estimulando la producción de hormonas esteroideas, y conociendo que el oviducto es un efector de las hormonas ováricas, entonces al aplicar la FSH, a embriones de pollo en etapa prenatal, durante los días en que el eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario-Oviducto es funcional, se podrán apreciar modificaciones histomorfométricas en el Oviducto, como respuesta a la estimulación.

OBJETIVOS

El presente trabajo se ha llevado a cabo con base en los siguientes objetivos:

A) Comparar los cambios histológicos del Magnum (Oviducto), de los animales tratados con FSH en relación al grupo control.

B) Realizar mediciones morfométricas de las áreas de la luz, epitelio y estroma de la pared del cuerpo, en los cortes transversales del magnum.

C) Cuantificar la densidad celular del epitelio y del estroma de la mucosa del magnum.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron huevos fértiles de gallinas de la raza White Leghorn, los cuales se incubaron a 37°C y 68 % de humedad.

Al décimo día de incubación, se les hizo una abertura triangular a través de la cual se les aplicaron las dosis de hormona. Dicha abertura se hizo de la siguiente manera:

A los 10 días, se procedió a realizar la ovoscopia para detectar a los huevos que habían iniciado el desarrollo, los cuales se limpiaron con alcohol, y se les hizo un orificio en la cámara de aire con una aguja de disección. Posteriormente, en la porción media del huevo, con una siqueta, se les hizo una ventana triangular, desprendiendo la cáscara sin dañar la membrana sobre la cual se colocó una gota de suero fisiológico; por el orificio hecho en la cámara de aire se succionó para que la membrana corioalantoidea bajara. Después se retiró la

membrana contigua al cascarón y ambos orificios fueron tapados con cinta adhesiva.

Se prepararon tres dosis de hormona, utilizando FERTINORM H.P. 75 U.I. (Laboratorios SERONO DE MEXICO S.A. DE C. V.), diluido en medio de Dulbecco (MEM). Las dosis fueron las siguientes:

1.- Control - Medio de Dulbecco estéril

Experimentales:

2.- 1 µg de FSH / 100 µl.

3.- 40 µg de FSH / 100 µl.

Se aplicaron 100 µl de hormona por huevo, los días 13, 15 y 17 de incubación. Los animales se sacrificaron 24 horas después de su nacimiento, se disecó el oviducto izquierdo con ayuda de un microscopio de disección e instrumental de microcirugía.

Procesamiento del oviducto :

- 1.- Se fijó en Bouin durante una hora.
- 2.- Se lavó con agua corriente durante 15 minutos.
- 3.- Se deshidrató con alcoholes graduales de 50%, 70%, 80%, 96%, 100% y Xilol durante 15 minutos en cada uno.
- 4.- Enseguida se pasaron los órganos en paraplast I, II y Xilol, durante 20 minutos en cada uno.
- 5.- Finalmente se incluyeron los órganos en paraplast y con ayuda de una aguja de disección se eliminaron las burbujas y se dejó solidificar.
- 6.- Se hicieron cortes seriados de la región cefálica del Magnum.
- 7.- Los bloques se cortaron en un Micrótopo de parafina American Optical, con un grosor de 3 μ m.
- 8.- Los cortes obtenidos se colocaron en el baño de flotación, el cual contenía 1 g de grenetina disuelta, después se colocaron sobre los portaobjetos y se dejaron secar durante 24 horas.
- 9.- Los cortes se tiñeron con Hematoxilina- Eosina, (Hematoxilina de Harris-Eosina alcohólica).

Técnica de Hematoxilina-Eosina :

- 1.- Se desparafinó en xilol durante 7 min.
 - 2.- Se hidrató con alcoholes graduales de 100%, 96%, 80%, 70%, 50% y agua destilada, durante 10 min. en cada uno.
 - 3.- Los cortes se dejaron 1 min. en hematoxilina
-
-

- 4.- Se pasaron al agua corriente para permitir el viraje durante 3 min.
- 5.- Enseguida, se pasaron al agua destilada para detener el viraje y limpiarlos.
- 6.- Se introdujeron en alcoholes de 50% y 70% durante 5 min.
- 7.- A continuación se tiñeron con Eosina durante 30 seg.
- 8.- Después se pasaron las preparaciones a alcoholes de 96%, 100% y xilol, durante 10 min. en cada uno.
- 9.- Finalmente se montaron las preparaciones con bálsamo de Canadá, se dejaron secar y se etiquetaron.

Las preparaciones se observaron con un microscopio óptico, American Optical, e

interpretadas histológicamente. Para realizar el estudio morfométrico, se utilizó un sistema de procesamiento digital de imagen BIOCUM 3000, conectado al microscopio con una cámara de televisión y una tarjeta de adquisición de imagen.

Se calcularon las siguientes áreas del corte transversal del magnum:

- Área de la pared del cuerpo.
- Área del epitelio.
- Área del estroma.
- Área de la luz.

También se midió la densidad celular del epitelio y estroma de la mucosa del magnum de los animales tratados y controles.

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza y una prueba de Kruskal-Wallis, con un nivel de significancia del 5 %.

RESULTADOS

A ANÁLISIS HISTOLÓGICO

GRUPO CONTROL: A menor aumento se puede observar en la Figura 1A, que la luz del órgano es elíptica. A mayor aumento se observa que ésta se encuentra cubierta por epitelio de tipo columnar con núcleos grandes y ovalados, arreglados en una sola línea. El estroma se aprecia compacto, con gran número de células polimórficas con núcleos de forma variable, enseguida se observa la capa muscular con abundantes fibras de colágena. (Fig. 2A).

GRUPO TRATADO CON 1 μ g de FSH: En este caso la luz se amplía en comparación con el grupo control. (Fig. 1B). Histológicamente se observa que el epitelio sufre cambios, ya que muestra pseudo-

estratificación con núcleos ovalados; además se observan pliegues poco profundos hacia el estroma. El estroma es más laxo, con presencia de fibras entre los núcleos. La capa muscular no muestra cambios significativos. (Fig. 2B).

GRUPO TRATADO CON 40 μ g de FSH: Como se puede observar en la Figura 1C, la luz del órgano no es tan amplia como en el grupo tratado con 1 μ g de FSH. Histológicamente se observa que el epitelio es pseudoestratificado y cillado, así como los pliegues hacia el estroma son más profundos que en el grupo tratado con 1 μ g de FSH. El estroma es muy edematoso y, en conjunto, la pared del órgano es más gruesa que en los grupos anteriores. (Fig. 2C).

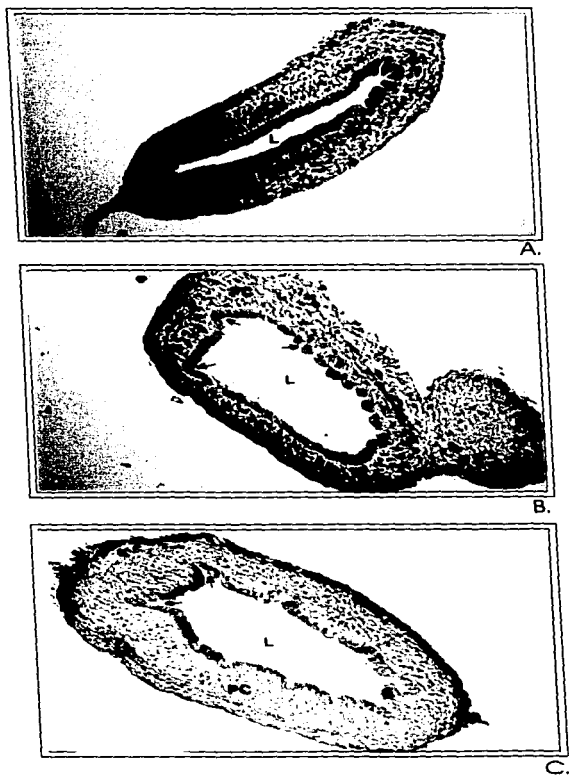


Figura 1. Corte transversal del magnum de oviductos de pollo recién nacidos, se observa que el área de luz es mayor en los grupos tratados, así como el epitelio presenta pliegues en comparación al grupo control.

A. Control

B. Tratado con $1\mu\text{g}$ de FSH

C. Tratado con $40\mu\text{g}$ de FSH

169 X: L, luz. E, epitelio. PC, pared del cuerpo

Las flechas indican la evaginación del epitelio hacia el estroma



A.



B.



C.

Figura 2. Aumento de la mucosa del magnum de pollos recién nacidos, se observa la pseudoestratificación del epitelio, y la evaginación de éste hacia el estroma, en los grupos tratados. Así como las diferencias en el grosor de la pared del cuerpo.

A. Control

B. Tratado con 1 μg de FSH

C. Tratado con 40 μg de FSH

864 X: E, epitelio. L, luz. C, cilios

Las flechas indican la evaginación del epitelio hacia el estroma

ANÁLISIS MORFOMÉTRICO

En la tabla 1, observamos que los grupos tratados con FSH mostraron un considerable incremento en su área total y en el área de la luz, en relación al grupo control, mientras que el área del epitelio y del estroma tuvieron un menor incremento con

respecto al grupo control, aunque sigue siendo significativa esta diferencia, en términos estadísticos.

En esta tabla se observa también que hubo una mayor respuesta en los animales tratados con $1\mu\text{g}$ de FSH y con $40\mu\text{g}$ de FSH, en relación a los controles.

TABLA 1

MEDIDAS MORFOMÉTRICAS DEL MAGNUM DE OVIDUCTOS DE POLLOS RECIÉN NACIDOS. TRATADOS CON FSH EN ETAPA EMBRIONARIA (ÁREA $\times 10^4 \mu\text{m}^2$)

TRATAMIENTO	N	ÁREA TOTAL	ÁREA DE LA LUZ	ÁREA EPITELIAL	ÁREA DEL ESTROMA
CONTROL	8	5.30 \pm 0.6	0.70 \pm 0.2	1.20 \pm 0.3	3.30 \pm 0.5
1 μg de FSH	7	7.54 \pm 0.7**	1.52 \pm 0.3**	1.70 \pm 0.1**	4.32 \pm 0.8**
40 μg de FSH	8	7.20 \pm 0.69**	1.40 \pm 0.2**	1.56 \pm 0.3**	4.23 \pm 0.7**

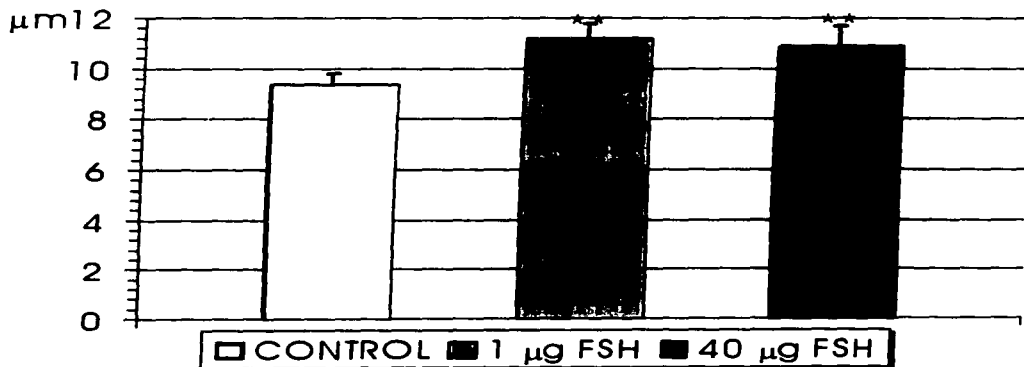
Valores expresados como la media \pm error standard
 Nivel de significancia = **
 N = Número de animales.

No habiendo diferencia significativa entre los animales tratados con $1\mu\text{g}$ y con $40\mu\text{g}$ de FSH.

En cuanto a la la altura del epitelio, encontramos que es mayor en los animales tratados que en los controles. (Gráfica 1).

GRÁFICA 1

ALTURA DEL EPITELIO

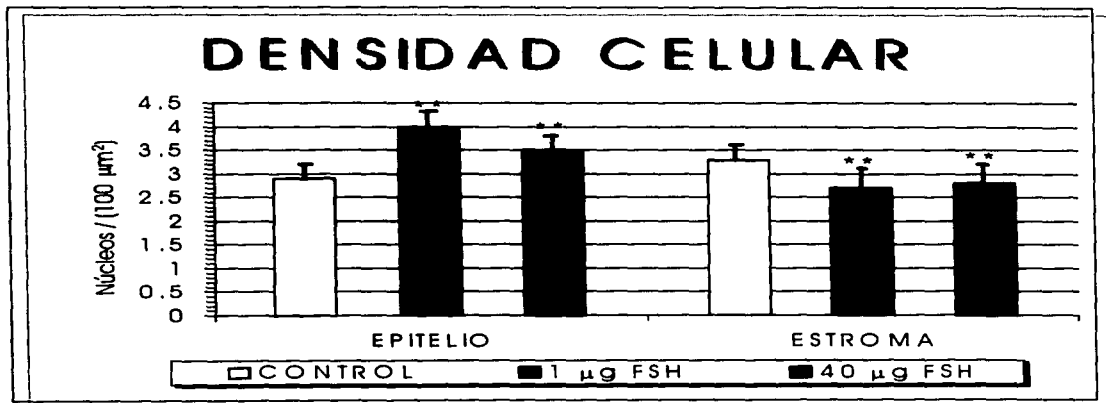


Valores expresados como la media \pm error standard
Nivel de significancia = **

En cuanto a la densidad celular, como se observa en la Gráfica 2, se aprecia que se incrementó la población celular en el epitelio de los grupos experimentales, en comparación con el grupo control, siendo mayor el valor de la media de la densidad celular del epitelio

en el grupo tratado con $1 \mu\text{g}$ de FSH. En cuanto a la densidad celular del estroma, se aprecia que ésta es menor en los grupos experimentales respecto al grupo control, obteniéndose el menor valor de la media en el grupo tratado con $1 \mu\text{g}$ de FSH. (Gráfica 2).

GRÁFICA 2



DISCUSIÓN

El presente trabajo se realizó con embriones de pollo, puesto que es un modelo biológico fácil de controlar, ya que se encuentra libre de la influencia materna y de ésta manera los resultados obtenidos son altamente confiables.

El oviducto de pollo es un modelo óptimo para el estudio de la diferenciación celular, ya que puede estimularse por hormonas exógenas (Joensu, 1990), o bien, por las que produce el ovario (hormonas esteroides), cuando éste ha sido estimulado por la FSH (Tanabe et al, 1986).

Zarate y Rull (1981), observaron que una vez que se han producido las hormonas esteroides (estrogenos y progesterona) por el ovario, llegan por difusión a sus células blanco, entre las que se encuentran las células del MAGNUM del oviducto, formándose el complejo hormona-receptor.

La presencia de estrógenos y progesterona durante el desarrollo embrionario del oviducto es muy importante, ya que ambos intervienen en su desarrollo anatómico y glandular.

Se ha reportado que los estrógenos durante la diferenciación glandular, provocan el crecimiento del magnum en pollitas inmaduras, mientras que la formación de gránulos de albúmina son responsabilidad de la progesterona (Nalbandov, 1969). También Kohler (1969), observó que los estrógenos inducen la citodiferenciación de las glándulas secretoras de ovoalbúmina, siendo estos cambios precedidos por una fase de edema estromal, habiendo reducción de su población celular.

En este trabajo se utilizaron 2 concentraciones de FSH, de 1 μ g y 40 μ g; aplicadas en tres dosis. Estas concentraciones son

fisiológicas, resultantes de una curva dosis-respuesta, obtenida anteriormente en el mismo laboratorio. La hormona se aplicó los días 13, 15 y 17 de incubación, ya que a partir del día 14 del desarrollo embrionario se forma el eje hipotálamo-hipófisis-ovario-oviducto (Wodss y Thommes, 1984). También el control de la hipófisis en la esteroidogénesis, ocurre en este tiempo (Bell y Freeman, 1971).

En los animales tratados con FSH se observaron cambios similares a los reportados con tratamiento de estrógenos, ya que el epitelio del órgano (Magnum), sufrió pseudo-estratificación y plegamientos, los cuales corresponden a los primordios de las glándulas tubulares, siendo más evidentes estos cambios en el grupo tratado con 40 μg de FSH. Además, en este grupo se observó la presencia de cilios, siendo estas estructuras propias del oviducto de gallinas ponedoras en estado adulto (Kohler, 1969). También, se

observó que el epitelio presenta una mayor densidad celular en los animales tratados, lo cual es una respuesta similar a la encontrada por González-Morán et al (1993), pero con animales tratados con 17β -estradiol.

El incremento en el área de la luz del magnum en los animales tratados, puede ser consecuencia de la retención del agua y sodio, descrito en gallinas tratadas con estrógenos (Cecil et al 1970).

El incremento en el área y altura del epitelio se debe principalmente a una tendencia hacia, un epitelio pseudoestratificado y el aumento en las áreas de la luz y estromática es debido a la retención de líquidos. Ambos fenómenos son similares a los que se inducen con 17β -estradiol.

En cuanto a las modificaciones que presentó el estroma, observamos que en

ambos grupos se incrementó su área y se redujo su densidad celular, lo cual nos indica que hubo edematización, siendo esto evidencia de la acción estrogénica.

Con base en estos resultados podemos proponer que el oviducto puede establecerse como un efector de los cambios de las hormonas esteroides producidos por el ovario.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos, podemos concluir que la Hormona Folículo Estimulante, induce un micro-ambiente hormonal adecuado para la citodiferenciación de la mucosa del magnum, con la formación de primordios de glándulas tubulares y la presencia de cilios.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Aitken, R.N.C (1971). The oviduct. In: Physiology and biochemistry of the domestic fowl. Bell, D.J. and B.M. Freeman. London, New York. p.1237-1287.
- 2.- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. Watson, J.D. (1983). Molecular Biology of the Cell. 2nd. Edition. Garland Publishing, Inc. New York/London. p.740
- 3.- Balinsky, B.J.(1982).Introducción a la Embriología. B. C. Fabian. 5ed. Barcelona. Omega. p.727 .
- 4.- Ballinas, S.O.; Gonzalez - Moran, G. (1987). Diferenciación morfológica por niveles en el magnum del oviducto de pollos recién nacidos. Congreso Nacional de Ciencias Morfológicas. Universidad autónoma de Puebla. Puebla, Pue.
- 5.- Barrington, E.J. (1970). Hormonas y Reproducción. En: Endocrinología general y comparada. (Barrington, E.J.). H. Blume. Madrid. p.119-151.
- 6.- Bell, D.J. B.M., Freeman. (1971). Physiology and biochemistry of the domestic fowl. Vol. 1. London-New York. Academic Press, London. p.601.
- 7.- Bradley, Ch.O. (1960). The Structure of the Fowl. Oliver and Boyd. Ltd. London . p.143 .
- 8.- Braselton, W. E. Jr., Mcshan, W. H. (1970). Purification and properties of follicle-stimulating and luteinizing hormones from horse pituitary glands. Arch. Biochem. Biophys. 139: 45-58.
- 9.- Cabeza de Flores, A. (1990). Ovario. En: Endocrinología (Flores, L.F.) . Editor Mendez Cervantes. Mexico. p. 359-381.
- 10.- Cecil, H. C., J. Bitman and C. S. Shaffner. (1970). Oviductal water, electrolytes and nuclei and of laying and nonlaying hens and of estradiol stimulating pullet. Poult. Sci. 49: 467-475.
- 11.- Cole, H.H. Cupps. P.T. (1984). Reproducción de los Animales Domésticos. Acribia. España.p. 551.

- 12.- Crawford, R. D. (1990). Poultry Breeding and Genetics. Canadá. Elsevier. p.75-84.
- 13.- Chester-Jones, Ingleton, P. M. ,Phillips, J. G. (1987). The structure and function of the hypothalamus and pituitary gland In: Fundamentals of Comparative Vertebrate Endocrinology. I. Chester-Jones, P.M. Ingleton, J. G. Phillips Eds. p. 281-361.
- 14.- De Alba, J. (1985). Reproducción Animal. La Prensa Médica Mexicana., S.A. México, D.F. p. 501-522
- 15.- Farner, K. (1973). Avian Biology. Academic Press, New York. p.573
- 16.- Fraps , R. M. (1955), Egg production and fertility in poultry, Chap. 15, Progress in Physiology of Farm Animals, Ed. John Hammond. Butterwort, London. p.661.
- 17.- Gasc, J.M. (1978). Growth and sexual differentiation in the gonads of Chick and Duck embryos. J. Embryol. Exp. Morph. p. 44:1-13.
- 18.- Getty R. (1982). Anatomía de los animales domésticos. Salvat. Barcelona. p.2123-2156.
- 19.- Gilbert, A.B. (1971). The female reproductive effort. In: Physiology of the domestic fowl. (Bell, D.J. and B.M., Freeman). Academic Press, London. 3: 1153-1161.
- 20.- Gilbert , A.B., (1979). Female genital organs. In: King, A., S., and J. McLelland, editors. Form and Function in Birds. Vol 1. Academic press, London.
- 21.- González, C.B.; Charreau, E.H.; Aragonés., Lantos, C.P., and Follet, B. K. (1987). The ontogenesis of reproductive hormones in the female embryo of the domestic fowl. Gen. Comp. Endocrinol. 68:369-374.
- 22.- González-Morán, G., Ballinas O. and Pedernera, E. (1993). Histomorphological changes in the chicken oviduct after 17 β -estradiol treatment during embryonic development. Rev. de Zool. (5) : 13-22.
-

-
- 23.- Gooden, P.M.M., Scanes, C. G. (1975). Studies on the purification and properties of avian gonadotrophins. *Gen. Comp. Endocrinol.* 27: 538-548.
- 24.- Guzsai, E. (1968). Histochemical study of goblet cells of the hen's oviduct. *Acta Vet.Sci. Hung.* 18: 251-256.
- 25.- Ham, W.A. y H.D., Cormack. (1983). *Tratado de histología. Interamericana, México.* p.1080 .
- 26.- Hashimoto C., Mcshan, W. H. Meyer, R. K. (1965). Preparation of follicle-stimulating hormone from sheep pituitary glands. *Biochem. Biophys. Acta.* 21: 120-125.
- 27.- Hamilton, T.H. (1961). Studies on the physiology of urogenital differentiation in the chick embryo. I. Hormonal control of sexual differentiation of Müllerian ducts. *J. Exp. Zool.* 146: 265-274.
- 28.- Hodges, R.R. (1974). *The hystology of the fowl.* Academic Press, London. p. 1149 .
- 29.- Hutson, J.M., Donahoe, P.K. 1985. Steroid modulation of Mullerian duct. Regression in the chick embryo. *General compareate Endocrinology.* 57: 88-102.
- 30.- Jones, R. (1977). *The vertebrate ovary.* Plenum Press, New York. p. 847.
- 31.- Hiroyuki, A. Taneaki O. (1993) Effects of estradiol and progesterone on the cito-differentiation of epithelial cells in the oviduct of the newborn golden hamster. *Anat. Rec.*235: 390-398.
- 32.- Joensu, T.K. (1990). Chick oviduct differentiation. The effects of estrogen and progesterone on the expression of progesterone receptor. *Cell Diff. Develop.* 30:207-218.
- 33.- Junqueira L.C. y J., Carnero. (1983). *Histología basica.* Salvat, México. p. 506 .
- 34.- Kohler, P.O., Grimley, P.M., O'Malley, B.W. (1969). Estrogen induced cytodifferentiation of
-

- ovalbumin secreting glands of the chick oviduct. *J. Cell. Biol.* 40: 8-27.
- 35.- Kolb, E. (1987). *Fisiología Veterinaria*. Vol. 1. Editorial Acribia. España. p. 86-96.
- 36.- Krishnan, K.A., Proudman, J.A: y Bahr, J.M. (1992) Purification and characterization of chicken follicle-stimulating hormone. *Comp. Biochem. Physiol.* 102B 67-75
- 37.- Lehninger, A.L. (1984). *Bloquímica*. Omega, S.A. Barcelona. p.1117 .
- 38.- Lemus, A. y G. , Perez- Palacios. (1990) *Mecanismos de acción hormonal*. En: *Endocrinología*. (Flores, L. F.) Editor Mendez Cervantes. México. p.1-32.
- 39.- Mc. Carrey, J. Abbott, U. (1982). Germ cell depletion in chick gonads. *J. Embryol Exp. Morph.* vol. 28: 61-74
- 40.- Mc Laughlin M. (1983). Specific estradiol binding in embrionic Mullerian ducts. *Endocrinology*. 113, 141-145.
- 41.- Merchant, H. (1969). Secretory granules in ciliated cells of the rabbit oviduct. *Exp. Cell Res.*, 56:171-172.
- 42.- Mittwoch, U. (1971). Gonadal grown in chick embryos. *Nature. (New-Biol)* 231:197-200.
- 43.- Nalbandov, A.V. (1969). *Fisiología de la Reproducción*. Acribia. España. p. 303
- 44.- Patton, H.D., Fuchs, A.f., Hille , Steiner, R. (1989). *Textbook of Physiology*. Vol. 2. 21st. Edition. W. B. Saunders Company. p.1596 .
- 45.- Quiroz, G., F., (1974). *Tratado de Anatomía Humana*. Tomo II. Edit. Porrúa. p. 525.
- 46.- Ruiz D. Ma. Fernanda. (1988). *Fundamentos de Embriología y Fisiología de la reproducción*.

recopilación de textos Básicos. U.N.A.M. Facultad de Ciencias. Depto. de Biología. p. 375 .

47.- Richardson, K. C. (1935). The secretory phenomena in the oviduct of the fowl, including the process of shell formation examined by microincineration technique. Philos. Trans. Roy. Soc., 225 B: 149-195.

48.- Romanoff, A. L. (1960). The Avian Embryo. Structural and functional development. The Mc Millan Company. U.S.A. p. 1306 .

49.- Romanoff, A. L. A.J. Romanoff. (1949). The avian egg. New York John Wiley & Sons. Inc. p. 1305.

50.- Sakai, h. and Ishii, S. (1980). Isolation and characterization of chicken Follicle-stimulating hormone. Gen. Com. Endoc. 42: 1-8.

51.- Salzgeber, B (1950). Sterilisation et entresexualite obtenues chez l'embryon de

poulet par irradiation aux rayons x. Bull. biol. fr. Belg. 84, 225-233.

52.- Sandoz, D., and E. Bolsvieux-Ulrich (1976). Ciliogenese dans les cellules a mucus de l'oviducte de caille. 1. Etude ultraestructurale chez la caille en ponte. J. Cell Biol., 71: 449-459.

53.- Sandoz, D., E. Bolsvieux-Ulrich., C. Laugier, and E. Brad (1976). Ciliogenese dans les cellules a mucus de l'oviducte de caille.ii. Controle hormonal. J. Cell. Biol. 71: 460-471.

54.- Selcer, K. W. (1988). Progesterone down-regulation of nuclear estrogen receptor: a fundamental mechanism in birds and mammals. Gen. Com. Endocrinol. 72: 3, 443-452.

55.- Steiner, R.A. Cameron, J.L. (1989). Endocrine control of reproduction in textbook of physiology. Chapter 68. Patton, Fuchs, Vol 2. 21 st.edition. W. B. Saunders Company. p. 1289-1324.

- 56.- Sherman, M., Atienza, S.B. (1974). Progesterone receptors of chick oviduct. *J. Biol. Chem.* Vol. 249 No. 17: 5351-5363.
- 57.- Sturkie, D. P. (1967). *Fisiología Aviar*. Acribia. España. p. 426-450.
- 58.- Surface, F.M. (1912). The histology of the oviduct of the domestic hen. *Bull. Maine. Agric. Exptl. Sta.* 206: 397-430.
- 59.- Tanabe, Y, Saito, N, Kakumura, T. (1986). Ontogenic steroidogenesis by testes, ovary, and adrenals of embryonic and postembryonic chickens. (*Gallus Domesticus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 63: 456-463.
- 60.- Teng, C. T. and Teng, C. S. (1977). Studies on sex organ development. The hormonal regulation of steroidogenesis and adenosine 3':5' cyclic mono-phosphate in embryonic chick ovary. *Biochem. J.* 162: 123-134.
- 61.- Vogel, N.M. (1956). Pituitary-Gonad. Relationship in the chick embryo. Ph.D. Dissertation. Indiana University.
- 62.- Willier, B. H. (1955). Ontogeny of endocrine correlation in Analysis of development. B. H. Willier, P. A. Weiss, and V. Hamburger, eds. W. B. Saunders, Philadelphia, Section X., p.p. 574-619.
- 63.- Wolff, Et. and Wolff, Em. (1951). The effects of castration on bird embryos. *J. Exp. Zool.* 116, 59-98
64. Woods, J.E., Mennella, J.A. Thommas, R.C. (1981). The Hypothalamic-adenohypophyseal-gonadal axes in the developing chick embryo. I. L.H. sensitivity. *Gen. Comp. Endocrinol.* 45:66-73.
- 65.- Woods, J.E. Thommes, R. C. (1984). Ontogeny of hypothalamo adenohypophyseal-gonadal (HAG) interrelationships in the chick embryo, *J. Exp. Zool.* 232: 435-441.
-

66.- Woods, J.E. (1987). Maturation of the hypothalamo-adenohypophyseal-gonadal (HAG) axis in the chick embryo. *J. Exp. Zool. Suppl.* 1:256-271.

67.- Yamamoto, M., Noumura, T. (1974). *J. Exp. Zool.* 187: 13.

68.- Zarate, A. J. Rull. (1981). *Introducción a la endocrinología.* Fco. Mendez Cervantes. México. 357.

69.- Zukerman, S., Y.T. G. Baker. (1977). In *The Ovary.* 2nd. ed., Vol. 1, p.p. 41. Academic Press, New York. 41.
