# UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON FACULTAD DE MEDICINA DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES



MORFOGENESIS DEL OVARIO DE LA RATA BLANCA
(RATTUS N. ALBINUS)

TESIS DUE EN OPCION AL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

DRA. MARIA ESTHELA MORALES PEREZ



MONTERREY, N. L. JULIO DE 1982





# UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON FACULTAD DE MEDICINA DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES

MORFOGENESIS DEL OVARIO DE LA RATA BLANCA (Rattus n. albinus)

"TESIS QUE EN OPCION AL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS"

PRESENTA

DRA. MARIA ESTHELA MORALES PEREZ

TM QL737 .M32 M6



LABORATORIO DE EMBRIOLOGIA, FACULTAD DE MEDICINA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON.

ASESOR:

DRA. GUADALUPE ARREDONDO DE ARREOLA

### DEDICADA CON TODO CARIÑO A MIS PADRES:

Sr. Inocente Morales Hernández y Sra. María Estela Pérez de Morales

#### A MIS HERMANOS:

Vicente y José y a las generaciones que de ellos procedan.

Mi eterna gratitud a todas las personas que en alguna forma - me apoyaron para realizar ésta Tesis, agradeciendo en forma - especial a la Dra. Guadalupe - Arredondo de Arreola su asesoría,
al Dr. Miguel Angel Arreola la supervisión del material que se
presenta y al Ing. Heriberto -Mora la realización de los análi
sis matemáticos.

## INDICE

	Pag.
Introducción	1
Material y Métodos	5
Resultados	15
Conclusiones	37
Resumen	47
Referencias Bibliográficas	49

#### INTRODUCCION

La información a nuestro alcance, en relación a la historia prenatal del ovario de la rata, se ha publicado en forma parcial ya que los autores han trabajado intencionadamente sobre algún elemento específico como las células germinales en el ratón (1,2,3), en la rata (4), en cobayo (5), en el humano (6,7,8); sobre el folículo en diferentes mamíferos (9,10), en ratón (11), en humano (12); sobre elementos somáticos (13,14,15); ó bien los estudios relacionan la morfología comparada entre los diferentes animales de laboratorio (16,17). Además, hay diferencias en cuanto a la edad de los productos en que se realizan las investigaciones.

Los estudios ultraestructurales prometen ser -- una poderosa ayuda en la elucidación de eventos que tienen lugar durante la diferenciación gonadal en vertebrados. -- Así Guraya Sardul (13) trabajó en tejido glandular intersticial del ovario en mamíferos; Nils Björkman (18) hizo un estudio sobre la ultraestructura de las células de la granulosa en ovario de rata; Leslie L. Franch (19) analiza la relación célula folicular-ovocito, etc.

Como se observa al revisar la literatura, éste campo de estudio ha tenido diferentes enfoques e incluso - permite emplear otro tipo de pruebas para metas específi--

BIBLICTECA

FAC DE N. J U. A. N. L

cas por ejemplo, utilizando pruebas histoquímicas ó bioquímicas se ha tratado de obtener indicación sobre los - sitios principales de metabolismo esteroideo (20,21,22,23) ó bien empleando pruebas de coloración especial: Gomori, Azul de Toluidina, PAS (8,24) se ha logrado identificar a las células germinales en las primeras etapas de la formación de la gónada, las cuales se consideraban -- eran indispensables para el desarrollo futuro de la gónada, concepto que fué desechado por Merchant (25).

Debido a los múltiples puntos de vista encontrados sobre éste tema y dado que recientemente se ha he cho hincapié en los estudios ultraestructurales, histoquímicos, etc. y no en la morfología de la gónada en desarrollo fué necesario determinar nuestros propios parámetros y compararlos con los existentes en la literatura para establecer el patrón morfológico normal en la rata blanca Rattus n. albinus (Sprague Dawley).

Dicho patrón morfológico servirá como el lote control para la línea de trabajo de investigación que se realiza en nuestro laboratorio en relación a las malformaciones congénitas producidas experimentalmente sobre el aparato genital de là rata, por la acción de progestinas sintéticas.

#### MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron ratas blancas <u>Rattus n. albinus</u> (Sprague Dawley) con iniciación de madurez sexual (adultas jóvenes) procedentes del Laboratorio del Charles - River Breeding de Massachusetts, U.S.A.

Se mantuvieron en condiciones de laboratorio - óptimas, con fotoperíodos de 12 horas. Se alimentaron - con Lab. Chow de Purina y agua ad libitum.

Se trabajó un total de 64 ratas distribuídas - en lotes de 8 ratas por cada edad de gestación comenzamo do con el 15avo. día hasta el nacimiento (22 días p.c.) obteniéndose un promedio de 85 productos por cada edad. Además se revisaron 44 productos de 14 días de gesta--ción que todavía corresponden a la etapa indiferencia-da; ver tabla 1.

El ciclo sexual se determinó mediante la técnica de Papanicolaou. Todas las observaciones fueron hechas durante la mañana (9 horas) y cuando se encontró el tapón vaginal ó bien la presencia de espermatozoides en el frotis se consideró como el inicio del embarazo contándose como el día 0.

Para la obtención de los productos de gesta---

ción programada se colocó a la rata en una cámara de vidrio; previamente dentro del recipiente se impregnó un algodón con cloroformo, y se esperaba de 5 a 10 minutos a que el ejemplar entrara en anestesia total. Se procedía a la disección haciendo una incisión en "V" para le vantar la piel y la pared muscular, exponiéndose las --vísceras; éstas eran removidas quedando los cuernos ute rinos, con los productos en su interior, en primer plano. Se procedía a la extracción de los productos y cada uno de ellos era colocado en el fijador (líquido de Bowin).

Mediante observación de los genitales fué posible separar las hembras a partir del 16avo. día hasta el nacimiento, sin necesidad de observar los genitales internos, lo que permitió procesar algunas hembras en block. Estas piezas se pasaron directamente al procesado histológico sin manipulaciones para conservar su integridad y por ésto mismo no están tomadas en cuenta edentro del número de productos que se consideraron en los análisis matemáticos que se presentan en la tabla -2.

Una vez que se separaban las hembras, se seleccionaban las piezas para seguir la técnica de cortes se riados a 10 u con coloraciones ordinarias (Hematoxilina y Eosina) y con el resto se procedía a la disección del

producto. En éste caso se hacía una ventana abdominal para que el fijador penetrara en el interior y una hora
después se procedía a la evisceración. Este procedimien
to se efectuaba bajo un microscopio estereoscópico - -Zeiss.

Localizada la gónada, se hacía la observación macroscópica y la relación con los órganos, su posición, forma y la medición se efectuó mediante el micrómetro - ocular ajustado a los factores del estereomicroscopio.

Se tomaron fotografías de un ejemplar de cada edad para seguir la secuencia ontogenética, de igual ma nera se tomaron las microfotografías necesarias.

# BIBLIOTECA FAC DE MAD GLAINLE

TABLA 1
LOTE DE TRABAJO

Edad de Gestación ( días ) *	Total de Productos Obtenidos	Machos	
15	89	4 3	46
16	69	29	40
17	90	4 1	49
18	93	46	47
19	94	46	48
20	76	39	37
21	84	49	35
R/N	86	5 2	34
Total	681	345	336

El lote de 14 días no se incluye por no presentar diferenciación sexual.

<sup>\*</sup> Cada uno de los lotes de las diferentes edades está -- constituído por ocho ratas.

TABLA 2

CONCENTRACION DE VALORES ENCONTRADOS EN LAS VARIABLES

COMPRENDIDAS EN LA MUESTRA.

Edad de Gestación (días)	Variables	Nº de Prod.	Media Arit.	Desv. Est.	Varianza
15	LCR	43	11.558	1.483	2.200
	Peso	19	0.273	0.045	0.00205
	L <b>G</b>	43	1.172	0. <b>1</b> 69	0.0285
16	LCR	24	13.083	1.349	1.819
	Peso	10	0.480	0.042	0.00178
	LG	24	1.158	0.156	0.02427
17	LCR	37	17.891	1.311	1.718
	Peso	34	0.756	0.129	0.0166
	LG	34	1.185	0.148	0.0218
18	LCR	46	23.74	2.210	4.888
	Peso	35	1.311	0.154	0.0239
	LG	39	1.049	0.145	0.0209
19	LCR	46	29.22	1.756	3.083
	Peso	46	2.052	0.321	0.103
	LG	41	0.883	0.105	0.01117
20	LCR	39	34.77	0.092	9.562
	Peso	39	3.184	0.636	0.404
	LG	33	0.842	0.073	0.00547
21	LCR	49	40.61	3.062	9.380
	Peso	49	4.461	0.815	0.665
	LG	43	0.80	0.083	0.00697
R/N	LCR	52	44.5	3.559	12.673
	Peso	52	5.960	0.792	0.627
	LG	52	0.861	0.056	0.00313

LCR= Longitud crâneo-rabadilla (mm)

PESO= Peso del producto (gms.)

LG = Longitud mayor de la Gónada (mm)

#### RESULTADOS

El establecimiento temprano del primordio gónadal en términos del origen de las células que participan en él, es, hasta ahora, objeto de controversia (2,26).

Se ha demostrado que a los 11 días se establece el inicio de la formación del blastema gonadal (27), así que para la edad en que se inicia éste estudio ya es posible observar la estructura que nos ocupa:

14 días. - El pliegue urogenital de forma ovoide alargada, de aproximadamente 1.0 mm. de longitud, ocupa - toda la región posterior de la cavidad abdominal inmediatamente a ambos lados de la línea media y se encuentra -- rodeado por fuera por los conductos de Müller y de Wolff que se extienden a lo largo y se fusionan más caudalmente para terminar en el techo de la cloaca.

Al corte, el blastema gonadal se observa proyectado en el celoma como una masa compacta de células que - carecen de una organización definida. Esta imagen es aún una etapa indiferenciada y los tipos celulares que se encuentran son: el mesotelio, que envuelve a la gónada como capa continua de células cúbicas; el mesénquima que se -- continúa con el sistema metanéfrico a cuyos túbulos en--- vuelve; el mesonefros con sus túbulos se encuentra en estrecha cercanía con la raíz de la cresta gonadal como --

vecino inmediato y las células germinales, grandes, - - bien definidas se encuentran dispersas entre el tejido - mesenquimático sin ninguna distribución específica.

15 días. - La forma de la gónada y del mesonefros se ha alargado en sentido transversal y aplanado en sentido antero-posterior. La gónada está orientada totalmen te hacia la línea media y su base de unión con el mesone fros se ha estrechado (Fig. 1). El epitelio celómico ha comenzado a proliferar y en algunos sitios se observa -- estratificado. A nivel de la base, la relación con los -túbulos del mesonefros sigue siendo estrecha. Se observa el mesénquima y las células germinales sin ningún orden específico; en ésta edad la gónada femenina no presenta vasos sanguíneos bien desarrollados a diferencia de la -gónada masculina donde sí se observan como característica diferencial de ambos sexos en ésta edad (Fig. 2).

En el extremo lateral del mesonefros, distal-mente se observa el conducto de Müller y por dentro y pa
ralelo a él, el conducto de Wolff.

16 días. - Hay avances importantes: el ovario - (promedio) consiste en una masa densa de 1.15 mm. de -- long. mayor, en forma de hoz dirigida en sentido antero- posterior y cuya concavidad interna cubre por fuera al - riñón en su totalidad y a parte de la suprarrenal.

Su base de unión con el mesonefros está orien-

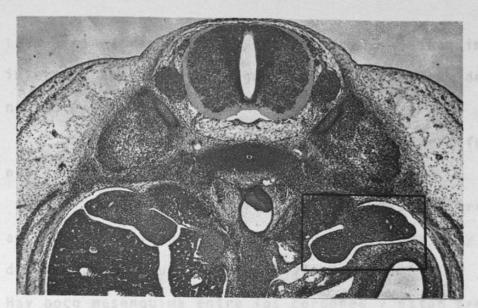


Fig. 1.- Microfotografía panorámica (25x) de un -corte transversal de un embrión de 15 días, teñido con H y E. El recuadro enmarca la cresta urogenital.

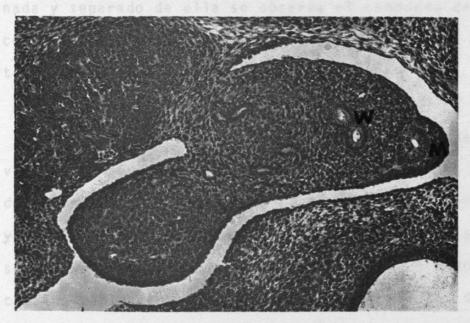


Fig. 2.- Microfotografía (63x) del área marcada - en el recuadro. Nótese la masa compacta de la gó-nada y los conductos de Müller (M) y de Wolff (W).

tada hacia atrás y una mayor cantidad de mesénquima se interpone ahora entre la gónada y los conductos del mes<u>o</u>
nefros.

En el mesotelio empiezan a insinuarse formaci $\underline{o}$  nes acordonadas (cordones sexuales primarios).

Hay muchas figuras mitósicas y se observa una actividad combinada de materiales superficiales y profundos los cuales muestran continuidad morfológica.

Hay poco mesénquima entre los cordones y están presentes unos pocos vasos sanguíneos. Las células germinales están dentro de los confines de los cordones. No hay túnica albugínea. Por delante del extremo anterior de la gónada y separado de ella se observa el conducto de Müller con una luz claramente visible y hacia afuera el conducto de Wolff, ambos envueltos en mesénquima.

17 días. - En una vista frontal se puede observar que la gónada ha aumentado en grosor y se ha redon-deado en ambos extremos como un ovoide de una long. ma-vor de 1.18 mm., en promedio. Proporcionalmente al riñón se vé más pequeña pero ésto se debe a que el riñón ha crecido rápidamente (Fig. 3). En ambos extremos de la gónada se observan el conducto de Müller y de Wolff; éste último con su luz disminuída.

La gónada presenta aspecto acordonado con tabi ques finos incompletos ya que unos parten del borde in-terno y otros vienen del borde externo sin llegar ninguno al lado opuesto (Fig. 4).

En los espacios limitados por éstos tabiques - se encuentran abundantes células germinales así como células epiteliales y mesenquimáticas. En todas éstas células se puede ver una gran actividad mitósica. Los vasos sanguíneos son pequeños y escasos.

El epitelio está dividido en dos capas: superficial y basal; ésta última crecida por agregaciones de
células germinales y epiteliales indiferentes que se mez
clan con los cordones primarios subyacentes, es decir se
mantiene la continuidad original entre tejido epitelial
y el tejido subyacente.

18 días. - La gónada se encuentra ubicada en relación con el tercio inferior del riñón cuya curvatura - sigue a manera de una pequeña concha; la gónada a su vez está apoyada por su cara convexa sobre el tercio superior del conducto de Müller. El conducto de Wolff presenta sólo un vestigio de luz.

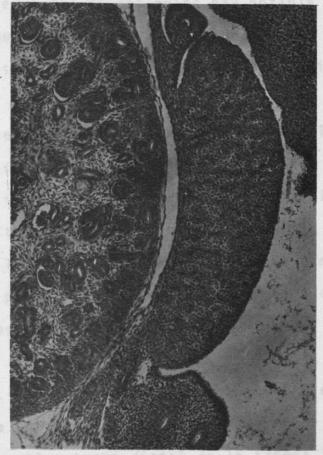
El hilio ovárico consiste escencialmente en una masa de tejido conectivo vascular a partir del cual salen radiaciones hacia la periferia lo que limita los llamados cordones sexuales a manera de columnas rectangulares. Aunque éstos tabiques parecen continuarse con la membrana basal del mesotelio, no hay tejido que propiamente puede distinguirse como una túnica.

La capa basal del mesotelio prácticamente ha -



Fig. 3.- Fotografía
estereoscópica del aparato genital de una rata hembra de 17 días de gestación.
La gónada está señalada por una flecha.

Fig. 4.- Microfoto-grafía (63x) de un corte frontal de la
gónada de 17 días de
gestación. Colora--ción H y E. Nótese el aspecto acordonado del ovario y la relación topográfica
que guarda con el ri
ñón.



desaparecido. Se observan mayor número de capilares. Las células germinales muestran escencialmente las mismas - - características de la edad anterior.

19 días. - La gónada tiene forma de frijol con - un profundo surco en la parte media del hilio que la di--vide en dos lóbulos iguales. El lóbulo superior comienza a quedar envuelto por la trompa uterina que más adelante, en las siguientes edades, lo encapsulará por completo.

La gónada está situada junto al polo inferior - del riñón (Fig. 5) y mide, en promedio, 0.88 mm de long. mayor.

A la observación microscópica hay notable invasión de vasos sanguíneos y un desarrollo del tejido conectivo que hace a las formaciones acordonadas más delimitadas.

Se mantiene la continuidad entre el epitelio superficial y los cordones epiteliales. Las células germi
nales muestran en su gran mayoría procesos de división lo
que aunado a su citoplasma claro las hace mucho más dis-tinguibles que en las edades previas. Estas divisiones -corresponden a la primera división meiótica y concuerda con las observaciones de Merchant (25).

20 días. - A ésta edad, la trompa uterina es untubo simple, forma una curva de concavidad superior donde se aloja el ovario. El extremo distal de la trompa llega

hasta el surco medio del ovario el cual se hace más pro-fundo, lo que permite ver a la gónada como doblada sobre
sí misma. Hasta éste momento la trompa no muestra flexuosidades (Fig. 6).

Tanto el aspecto del epitelio, los tabiques de -tejido conectivo que dan el aspecto acordonado al tejido ovárico, así como las células germinales, que muestran --procesos de división, tienen sensiblemente las mismas ---características histológicas de la edad anterior.

21 días. - La trompa uterina que envuelve casi to-talmente al ovario deja descubierto solo parte de su ló--bulo inferior. Además la gónada queda alojada bajo el polo
inferior del riñón, y muestra a ésta edad una franca asime
tría, observándose el izquierdo en una posición más baja que el riñón del lado opuesto.

Al corte transversal se observa claramente la separación del tejido ovárico en dos lóbulos; por su parte media, que corresponde al surco, penetra el hilio con los
vasos correspondientes. El aspecto histológico del ovario
permanece en condiciones similares al de la edad anterior.

Recién Nacidos. - El ovario de la rata recién na-cida mantiene la misma posición respecto a los polos inferiores del riñón. Se encuentra completamente encapsulada por la trompa, la cual es un tubo que todavía no posee --pliegues que tendrá en edades más avanzadas (Fig. 7).

Fig. 5 .- Fotografía estereoscópica del aparato genital de un feto hembra de -19 días de gesta--ción. La flecha indica el ovario.

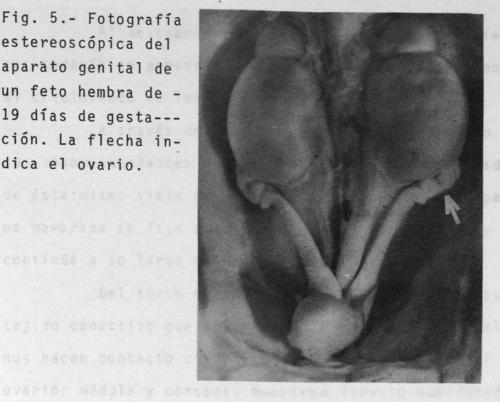




Fig. 6.- Microfotogra fía (160x) de un corte frontal de un ovario de 20 días de desarrollo, teñido con H y E. La trompa uterina le forma una cubierta.

Al descubrir el ovario se vé su superficie lisa; todavía no presenta las protrusiones que corresponden al crecimiento de los folículos.

A través del surco medio penetra el hilio con sus vasos abundantes que se distribuyen por la gónada; - de éste mismo sitio se extiende el mesovario que como una membrana se fija a la pared dorsal por un lado y se continúa a lo largo del cuerno uterino por el otro.

Del surco medio del ovario parten tabiques de tejido conectivo que atraviezan la masa ovárica y algu-nos hacen contacto con el epitelio superficial. Así el ovario: médula y corteza, muestran aspecto acordonado -- (Fig. 8). Las células germinales son abundantes y grandes, de citoplasma claro y en la mayoría de ellas se observan figuras mitósicas. El epitelio superficial se ha adelgazado y no se observa al microscopio de luz la memrana basal ni tejido conectivo equivalente a la túnica - albugínea.



Fig. 7.- Fotografía
estereoscópica del aparato genital de una rata hembra re-cién nacida. La flecha indica la posi-ción de la gónada, la cual para ésta edad está completamen
te cubierta por la trompa uterina.

Fig. 8.- Microfotografía (25x) de un corte
transversal de ovario
de rata recién nacida,
teñido con H y E. Obsérvese su forma ca-racterística, su as-pecto acordonado y có
mo se encuentra en--vuelto por la trompa uterina.



#### CONCLUSIONES

El análisis de la gónada claramente determinada, se realizó en los embriones de 15 días de gestación ya que el material de 14 días presenta una morfología indiferente. La observación que se ha llevado al cabo en la rata blanca Sprague Dawley coincide con la afirmación de Merchant para la rata blanca Wistar (25) y de Torrey en la rata blanca (27).

Desde el 15avo. día la gónada muestra aspecto diferente comenzando con la presencia de mayor vascularización en el testículo, identificándose el ovario por carecer de ella. La forma del ovario cambia desde su -- inicio como un largo ovoide que va acortándose hasta el 18avo. día. A partir del 19avo. día de gestación hasta el nacimiento el ovario ha adquirido la forma de frijol y ya no se modifica. Su superficie es lisa y no presenta el aspecto multilobulado característico del desarrollo de los folículos hasta después del nacimiento. En -el ovario de la rata de 4 días de nacida, se observan - las lobulaciones mencionadas.

Hasta el 18avo. día se encuentra libre solamen te apoyado en la pequeña curvatura que forma la trompa uterina; del 19avo. día en adelante el ovario va quedan do cubierto por la trompa hasta quedar envuelto total-- mente como se observa al nacimiento. Además se señala que en las dos edades mencionadas previamente se puede apre-ciar, incluso dentro de una misma camada, ligeras varia-ciones en la forma que dependen del mayor ó menor hundi-miento del surco medio.

El tamaño del ovario sufre una disminución pro-gresiva a través de las edades estudiadas, hasta el nacimiento; y aún cuando pudiera pensarse que ésta disminu--ción es aparente, por el aumento de tamaño de otros órganos, dicha disminución es real como puede verse en la Tabla 3 y en la gráfica de la figura 9.

El órgano en estudio cambia notablemente del -15avo. al 19avo. día: comienza enmarcando en su totalidad
el borde externo del riñón, descendiendo a medida que el
riñón aumenta de volumen hasta quedar en su situación -constante debajo del polo inferior del riñón. Esta última
posición será definitiva aún después del nacimiento.

El estudio microscópico muestra el inicio de la diferenciación sexual con estructuras importantes como - son: escasos vasos sanguíneos al 15avo. día; la proliferación del epitelio celómico al 16avo. día marca un carác ter importante así como la enorme proliferación de las -- células germinales; en contraste con ésta misma edad el -

testículo comienza a definir su capa albugínea con abun-dante vascularización.

Al 17avo. día se inicia la formación de tabiques incompletos y abundante mitosis. Estas dos característi--cas se mantendrán prácticamente hasta el nacimiento. A --partir del 19avo. día comienza la primera división meió--tica y casi hasta el nacimiento la vascularización de la gónada se hace abundante.

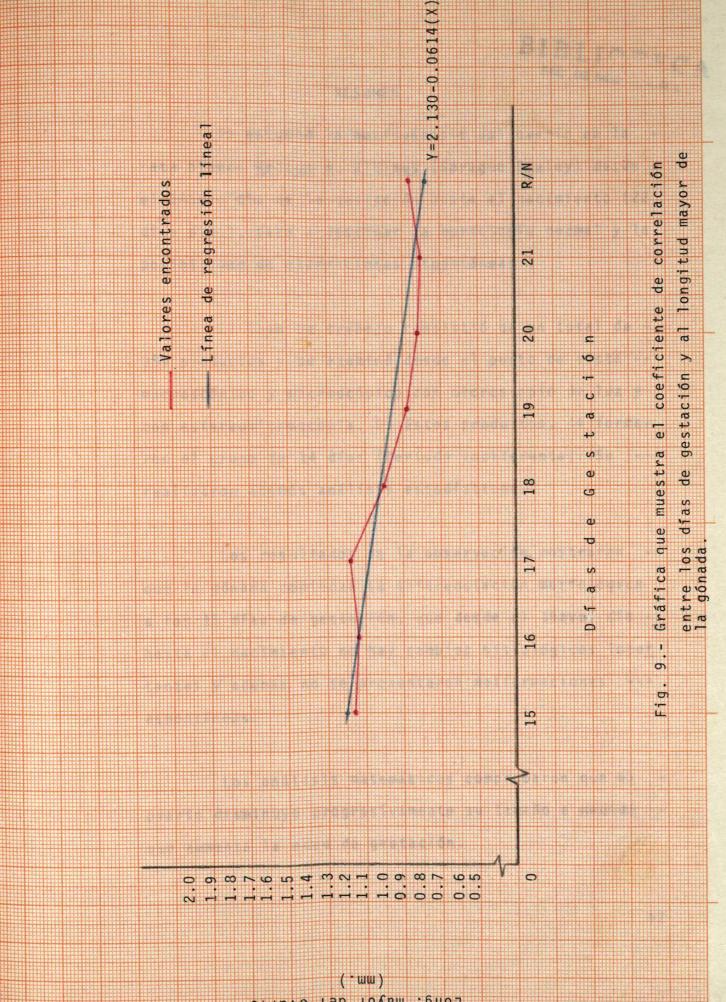
En ninguna de las piezas estudiadas se observa-ron malformaciones congénitas espontáneas y sí se pudo -apreciar variabilidad en el peso y la longitud C-R (crá-neo-rabadilla) en las crías, no solamente de una misma -edad sino aún dentro de una misma camada. No obstante se
concluye que la longitud mayor del ovario disminuye pro-porcionalmente con la edad de gestación, como se observa
en la figura 9.

TABLA 3
LONGITUD MAYOR DEL OVARIO

Edad de Gestación ( días )	Número de ratas	Media Aritmética	Desviación Estándar
15	43	1.172	0.169
16	24	1.158	0.156
17	34	1.185	0.148
18	39	1.049	0.145
19	41	0.883	0.105
20	33	0.842	0.073
21	4 3	0.80	0.083
R/N	52	0.861	0.056

r = -0.916\* ( Correlación entre los días de gestación y longitud mayor de - la gónada )

Hay correlación a un nivel de significancia del 1%.



#### RESUMEN

Se estudió la morfogénesis del ovario en la -rata blanca <u>Rattus</u> <u>n</u>. <u>albinus</u> (Sprague Dawley) desde -el 14avo. día de la gestación hasta el nacimiento (22 días p.c.), para investigar la morfología normal y la posibilidad de alteraciones espontáneas.

El lote de trabajo consistió de un total de - 389 productos y se examinó desde el punto de vista -- macroscópico y microscópico con microscopio de luz y con estereomicroscopía. De éstos productos, 44 formaron el grupo de 14 días (Período indiferente). Se -- realizaron además análisis estadísticos.

Los resultados de la observación mostraron - que la gónada comienza su diferenciación morfológica a los 15 días de gestación, que desde el 19avo. día - hasta el nacimiento no hay cambios histológicos importantes y además no se presentaron malformaciones --- espontáneas.

Los análisis matemáticos comprobaron que el ovario disminuye progresivamente su tamaño a medida -que aumenta la edad de gestación.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Chiquoine, A.D. The identification, origin, and migration of the primordial germ cells in the mou
  se embryo. Anat. Rec. 1954, Vol. 118 Nº 2 135-145.
- 2.- Merchant, H. and Zamboni, L. Fine morphology of extragonadal germ cells of the mouse. In "The Development and Maturation of the Ovary and its ---Functions". (H. Peters, ed.), Excerpta Med. Found. Amsterdam. 1973. 95-100.
- 3.- Everett, N.B. Observational and experimental evidences relating to the origin and differentiation of the definitive germ cells in mice. J. exp. --- Zool. 1943. Vol. 92 49-91.
- 4.- Tsafriri, A. and Kraicer, P.F. The time sequence of ovum maturation in the rat. J. Reprod. Fert. 1972. Vol. 29 387-393.
- 5.- Adams, E.C. and Herting, A.T. Studies on guinea pig oocytes. I. Electron microscopic observations on the development of cytoplasmic organelles in oocytes of primordial and primary follicles. The Journal of Cell Biology. 1964. Vol. 21 397-427.
- 6.- Blandau, R.J. Observations on living oogonia and oocytes from human embryonic and fetal ovaries. Am. J. Obstet. & Gynec. 1969. Vol. 104 Nº 3 310--319.
- 7.- Mc. Kay, D.G., Herting, A.T., Adams, E.C. and --

- Danziger, S. Histochemical observations on the -- germ cells of human embryos. Anat. Rec. 1953. Vol. 117 201-218.
- 8.- Falin, L. I. The development of genital glands and the origin of germ cells in human embryogenesis. Acta anat. 72. 1969. 195-232.
- 9.- Chiquoine, A. D. The development of the zona pellucida of the mammalian ovum. Am. J. Anat. 1960. Vol. 106 149-169.
- 10.~ Thibault, C. Are folicular maturation and oocyte maturation independent processes? J. Reprod. Fert.
  1977. Vol. 51 1-15.
- 11.- Lintern-Moore, S. and Moore, G. P. M. The inicia--tion of follicle and oocyte growth in the mouse -ovary. Biol. Reprod. 1979. Vol. 20 773-778.
- 12.- Herting, A. T., and Adams, E. C. Studies on the --huamn oocyte and its follicle. I. Ultrastructural and histochemical observations on the primordial -follicle stage. The Journal of Cell Biology. 1967.
  Vol. 34 647-675.
- 13.- Guraya, S. S. Interstitial gland tissue of mammalian ovary. Acta Endoc. Supplementum 171,72. 1973. 5-27.
- 14.- Mestwerdt, W., Müller, O., und Brandau, H. Die --differenzierte struktur und funktion der granulosa
  und theka in verschidenen follikelstadien - menschlicher ovarien. 1.- Mitteilung: Der - primordial-, primär-, sekundär-und rehende - -

- tertiärfollikel. Arch. Gynäk. 1977, Vol. 222 45-71.
- 15.- Blanchette, E. J. Ovarian steroid cells. II. The lutein cells. The Journal of Cell Biol. 1966. Vol. 31 517-542.
- 16.- Merchant, L. H. Ovarian Differentiation. The verte brate ovary. Cap. 2. 1978. 47-81.
- 17.- Guraya, S. S. Recent advances in the morphology, histochemistry and biochemistry of the developing
  mammalian ovary. International Review of Cytology.
  1977. Vol. 51 49-131.
- 18.- Bjökman, N. A study of the ultrastructure of the -granulosa cells of the rat ovary. Acta Anat. 1962.

  Vol. 51 125-147.
- 19.- Franch, L. L. Electron microscopy of oncyte-follicle cell relationships in the rat ovary. The J. bio--- physic. biochem. Cytol. 1960. Vol. 7 397-398.
- 20.- Hashimoto, I., Henricks, D. M., Anderson, L. L. and Melampy R. M. Progesterone and Pregn-4-en-20 ol-3-one in ovarian venous blood during various reproductive states in the rat. Endocrinology, 1968.
- 21.- Yoshinaga, K., Hawkins, R. A. and Stocker, J. F. Estrogen secretion by the rat ovary in vivo during
  the estrous cycle and pregnancy. Endocrinology. 1969. Vol. 85 103-112.
- 22.- Chatterton, R. T., MacDonald, G. J. and Greep, R.

- O. Biosynthesis of progesterone and 20 -Hidroxy-pregn-4-en-3-one by the rat ovary during the -estrous cycle and early pregnancy, Endocrinology.

  1968. Vol. 83 1-10.
- 23.- Richards, J. S., Ireland, J. J., Rao, M. C. - Bernath, G. A., Midgley. A. R. and Reichert L. E. Ovarian follicular development in the rat; Hormone receptor regulation by Estradiol, Follicle Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone. Endocrinology. 1976. Vol. 99 Nº 6 1562-1570.
- 24.- Disbrey, B. D. und Rack, J. H. Histological Labo--ratory Methods. E. & S. Livingstone, Edinburgh and
  London. 1970. 140-145.
- 25.- Merchant, H. Rat Gonadal and ovarian organogenesis with and without germ cells. An ultrastructural --Study. Developmental Biology. 1975. Vol. 44 1-21.
- 26.- Hargitt, G. T. The formation of the sex glands and germ cells mammals. J. morph. 1925. Vol. 40 517- 557.
- 27.- Torrey, T.W. The development of the urinogenital system of the albino rat. II. The gonads. Amer. J. Anat. 1945. Vol. 76 375-397.

