



ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL SOBRE LA ORGANIZACION  
DE LOS FOLICULOS PRIMORDIALES EN LA RATA

TESIS QUE EN OPCION AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA

PRESENTA :

M.C.P. M.C, MARIA ESTHELA MORALES PEREZ

ORIGINARIA DE MONTERREY, N.L.

MONTERREY, N.L.

DICIEMBRE DE 1994

Doc. Med.

17-Ene-95

MORALES PEREZ, MA. ESTHI

TD  
QP278  
.M6  
1994  
c.1



1080125986

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE MEDICINA

DIRECTOR: Dr. JESÚS ZACARÍAS VILLARREAL PÉREZ

**ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL SOBRE LA ORGANIZACIÓN  
DE LOS FOLÍCULOS PRIMORDIALES EN LA RATA**

TESIS QUE EN OPCIÓN AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA PRESENTA

**M.C.P. M.C. MARÍA ESTHELA MORALES PÉREZ**

ORIGINARIA DE MONTERREY, N.L.

ASESOR: Dr. med. CARLOS E. DE LA GARZA GONZÁLEZ  
ASESOR EXTERNO: Dr. HORACIO MERCHANT LARIOS

MONTERREY, N.L. DICIEMBRE de 1994

TD  
QP278  
-ML  
1994



Este trabajo se realizó en el Departamento de Embriología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León y en el Departamento de Biología Celular del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Aceptada por la Comisión Doctoral de la Facultad de Medicina de la  
Universidad Autónoma de Nuevo León,  
el 17 de Enero de 1995.

Impreso con autorización de la Comisión Doctoral de la Facultad de  
Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Presidente:

  
Dr. med. Carlos Enrique de la Garza González

Secretario:

  
Dr. med. Ramiro Montemayor Martínez

Primer Vocal:

  
Dr. Horacio Merchant Larios

Segundo Vocal:

  
M.C.F. Ph. D. Julio Sepúlveda Saavedra

Tercer Vocal:

  
Dr. med. Guadalupe Arredondo de Arreola

**Por su apoyo y cariño que siempre me demuestran dedico la presente**

**A la Memoria de mis Padres**

*Sr. Inocente Morales Hernández*

*Sra. Ma. Estela Pérez Leos*

**A mis Hermanos**

*Vicente y José*

*y a sus familias*



## **Mi agradecimiento sincero y eterno:**

**Al Dr. Horacio Merchant Larios y Dr. med. Carlos Enrique de la Garza González por su tiempo, su orientación y su apoyo en la realización de este proyecto. La asesoría con la que siempre me honraron me permiten ratificarlos como miembros dignos de la comunidad científica, que desempeñan su labor no solo con un profesionalismo sin reservas sino además, con un gran sentido humanitario.**

**A todos los integrantes del Laboratorio de Biología Celular del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la U.N.A.M., por su apoyo decidido durante mi estancia en esa Institución.**

**A la M.V.Z. Ruth Alvarez por proporcionar las ratas de acuerdo a edades programadas, al Ing. Heriberto Mora por el apoyo en la elaboración de la parte estadística.**

**A las autoridades de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L., a los Jefes y personal de los Departamentos de Embriología, de Histología, de la Sub-Dirección de Educación Continua, del Departamento de Informática especialmente a los Ingenieros César Aguirre López y Javier Arzola Mireles, así como a la Dra. Delia Telles, quienes me brindaron facilidades y sus conocimientos para llevar a buen término la realización de este manuscrito.**

**Para los Miembros de la Comisión de Tesis, por sus comentarios que permitieron enriquecer la calidad del presente trabajo.**

**Para todas aquellas personas que siempre mostraron disponibilidad para ayudarme a desarrollar las diferentes partes de la Tesis.**

## INDICE

	Pag.
Portada.....	I
Asesores.....	II
Comisión de Tesis.....	III
Dedicatorias.....	IV
Agradecimientos.....	V
Introducción.....	1
Material y Métodos.....	12
Resultados.....	17
Discusión.....	43
Conclusiones.....	55
Resumen.....	56
Bibliografía.....	57
Curriculum Vitae.....	63

# **ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL SOBRE LA ORGANIZACION DE LOS FOLICULOS PRIMORDIALES EN LA RATA**

## **INTRODUCCION**

Diversos autores investigando al ovario, han obtenido múltiple información sobre diferentes aspectos de este órgano (Robinson, 1887; Gondos & Zamboni, 1969; Merchant-Larios, 1978; Guraya, 1978). Pero, aún con la metodología disponible en la actualidad que ha permitido el conocimiento de eventos que tienen lugar en dicho órgano, incluso desde la época prenatal, no ha sido posible todavía aclarar otros de ellos. Al respecto, por ejemplo, destacan las discrepancias en los hallazgos relacionados con la citodiferenciación ovárica, como se menciona mas adelante en este escrito.

En una revisión que efectuaron Kofman-Alfaro et al. (1982) sobre las bases de la diferenciación sexual, se indica que el programa biológico de diferenciación sexual se realiza en tres etapas sucesivas: I) Cromosómica, II) Gonadal y III) Fenotípica. Mientras que la primera etapa ocurre en las primeras horas después que se inicia la gestación, esto es, como resultado de la fertilización, la segunda se presenta en el humano casi al final del período embrionario en la 6a. ó 7a. semana de vida intrauterina (Sadler, 1986). A partir de éste tiempo y debido a las diferencias funcionales del testículo, en comparación con el ovario, ocurre la diferenciación en el

resto de los genitales, llevando al individuo a mostrar un fenotipo definitivo que puede evidenciarse a partir del 2o. trimestre de la gestación (Moore, 1985).

El dimorfismo sexual que se presenta desde el cigoto, fue determinado por el tipo de cromosoma sexual del espermatozoide fertilizante, X o Y, ya que el cromosoma sexual del óvulo siempre es X. La combinación de los cromosomas sexuales XY desarrollará un producto masculino, en tanto que la combinación XX a un producto femenino.

En relación al desarrollo de la gónada, se encuentra que en el período embrionario temprano existen en la cresta gonadal, además de las células germinales primordiales, elementos mesodérmicos como: a) Epitelio Celómico (epitelio germinal o mesotelio), que tapiza su superficie; b) Túbulos del Mesonefros, localizados hacia la región hiliar; y c) Mesénquima, que forma el tejido de soporte para los elementos antes mencionados. El establecimiento de estos componentes celulares conforma una imagen histológica gonadal denominada "Etapa Indiferente", debido a que es posible observar una arquitectura semejante tanto en el primordio ovárico como en el primordio testicular. Durante la diferenciación sexual histológica de la gónada, se observa que el testículo en comparación con el ovario, pronto muestra adelantos. Para explicarlos, se han propuesto múltiples mecanismos (Witschi, 1951; Jost, 1972; Kofman-Alfaro et al., 1982; Paranko et al., 1983; Müller et al., 1984).

Recientemente McLaren (1991) cita que en la masculinización de la gónada primitiva el gen **Sry** (en el ratón), **SRY** (en el humano), juega un papel importante ya que este se expresa en las células somáticas gonadales, las cuales a su vez son las responsables de la determinación del testículo. El citado gen se localiza en el brazo corto del cromosoma Y, y sus siglas significan región determinante del sexo del cromosoma Y.

Koopman et al. (1991), realizando experimentos en ratón, también han demostrado que un fragmento de DNA que contenga al **Sry**, es suficiente para dirigir la formación del testículo cuando dicho fragmento se introduce a embriones de esta especie, cromosómicamente femeninos (transgénicos). Estos resultados en los que se presenta reversión del sexo, apoyan lo descrito por Kofman-Alfaro et al. (1982) en cuanto a que la tendencia natural del embrión en términos de diferenciación sexual es hacia la feminización, mientras que en el proceso de masculinización participan múltiples mecanismos reguladores. El gen **Sry/SRY** cabe considerarlo entre estos últimos, además de los que se presentan en los autosomas o en el cromosoma X (Kofman-Alfaro et al., 1982; McLaren, 1991).

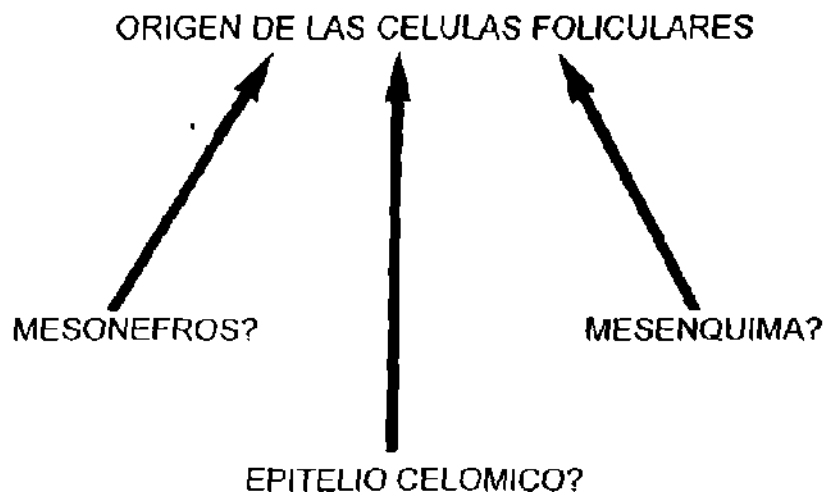
Cualesquiera que sean los mecanismos involucrados en los procesos de diferenciación sexual gonadal, la primera manifestación morfogénica de las diferentes poblaciones celulares que existen en la gónada primitiva son unas formaciones que a manera de cordones se organizan en la misma. A nivel de

microscopía de luz, a dichas formaciones acordonadas, Allen (1904) las reportó como "Cordones de Pflüger" en una revisión efectuada en gónadas de cerdo y conejo. Brambell (1927) en su trabajo con gónada de ratón las menciona como "Núcleos Epiteliales". Gruenwald (1942) con su estudio en gónadas de gato y humano las cita como "Cordones Sexuales". Ohno & Smith (1964) las consideran como "Cordones Ovíferos" en su investigación con ovarios de vaca. Jeppesen (1975) en el cobayo, utilizando además microscopía electrónica, llama a los mismos cordones celulares "Cordones Germinales". Durante la vida fetal se pierde continuidad de las formaciones acordonadas con la superficie, modificándose entonces el aspecto histológico de la gónada. Pero aunque en algunas especies lo anterior se presenta durante la diferenciación del ovario, en otras aparece una segunda generación de cordones celulares siendo considerados estos en este caso como "Cordones Sexuales Secundarios" o "Cordones Corticales" (Gruenwald, 1942; Carlson, 1981; Sadler, 1986).

En ambos sexos, un cordón celular considerando cualquiera de las denominaciones previamente mencionadas, está constituido por células germinales y células epiteliales, encontrándose delimitado por una membrana basal (Allen, 1904; Gruenwald, 1942; Jeppesen, 1975; Mota & Makabe, 1982). Las células epiteliales de dicho cordón mantienen su relación con los gametos primitivos y son las que, una vez ocurrida la diferenciación sexual de la gónada, se denominarán células de Sertoli o células foliculares según se les identifique en testículo o en ovario respectivamente.

Diversos autores han referido también a las futuras células foliculares, además de células epiteliales, como "Células de la rete granulosa" (Peters, 1978), "Células del epitelio celular interno" (Merchant-Larios, 1979), "Células no germinales" (Wartenberg, 1982) o como "Células pre-granulosas" (Konishi et al., 1986).

Aunque, en cuanto a las células germinales se ha demostrado que poseen un origen extragonadal (Chiquoine, 1954; Fujimoto et al., 1977; Alvarez-Buylla & Merchant-Larios, 1986), en relación al ovario existen diferencias de opinión en cuanto a la manera como se integran las células epiteliales (foliculares) en un cordón celular, según se ilustra en el presente diagrama:



Como se observa, mientras existen quienes postulan que las células epiteliales resultan de la proliferación de células del epitelio celómico en especies tales como

el conejo, el cerdo (Allen, 1904), el ratón (Brambell, 1927), el humano (Gruenwald, 1942; Pinkerton et al., 1961; Motta & Mackabe, 1982), la rata (Torrey, 1945), el cobayo (Jeppesen, 1975) y la rana arbórea (Tanimura & Iwasawa, 1989), cuadro 1, otros autores señalan que dicho componente epitelial se establece mediante el desarrollo de células mesodérmicas del propio blastema gonadal, siendo esto apuntado en anfibios (Witschi, 1951), vaca (Gropp & Ohno, 1966), ratón (Peters & Pedersen, 1967; Odor & Blandau, 1969), hurón (Deanesley, 1970), humano (Printz et al., 1973), cerdo (Pelliniemi & Lauteala, 1981), y el bandicot (Ullmann, 1989), cuadro 2.

**Cuadro 1.- El origen de las células foliculares a partir del Epitelio Celómico es postulado por:**

B.M.Allen	1904	Conejo, Cerdo	Microscopía de Luz
F.W.R.Brambell	1927	Ratón	Microscopía de Luz
P.Gruenwald	1942	Gato, Humano	Microscopía de Luz
T.W.Torrey	1945	Rata	Microscopía de Luz
J.H.M.Pinkerton et al.	1961	Humano	Histoquímica
Th.Jeppesen	1975	Cobayo	Microscopía de Luz y Electrónica
P.M.Motta S.Mackabe	1982	Humano	Microscopía de Luz Electrónica y de Barrido
A.Tanimura H.Iwasawa	1989	Rana arbórea	Microscopía Electrónica y Autorradiografía



**Cuadro 2.- El origen de las células foliculares a partir del Mesénquima es postulado por:**

E.Witschi	1951	Anfibios	Microscopía de Luz
A.Gropp S.Ohno	1966	Vaca	Histoquímica
H.Peters T.Pedersen	1967	Ratón	Autorradiografía
D.L.Odor R.J.Blandau	1969	Ratón	Microscopía de Luz y Electrónica
R.Deanesley	1970	Hurón	Microscopía de Luz
J.L.Printz et al.	1973	Humano	Microscopía de Luz
L.J.Pelliniemi L.Lauteala	1981	Cerdo	Microscopía Electrónica
S.L.Ullmann	1989	Bandicot	Microscopía de Luz

Existe también otra corriente que propone que en la formación de los cordones celulares, además de los gametos, participan únicamente células de los túbulos mesonéfricos, los cuales en este caso forman el llamado sistema de la rete ovarii, consignándose esto en ratón (Biskov & Lintern-Moore, 1973; Upadhyay et al., 1979), en oveja (Zamboni et al., 1979), y en rata (Satoh, 1985), cuadro 3.

**Cuadro 3.- El origen de las células foliculares a partir del Mesonefros es postulado por:**

A.G.Byskov S.Lintern-Moore	1973	Ratón	Microscopía de Luz
L.Zamboni et al.	1979	Oveja	Microscopía de Luz y Electrónica
S.Upadhyay et al.	1979	Ratón	Microscopía de Luz y Electrónica
M.Satoh	1985	Rata	Microscopía de Luz y Electrónica

Como se apunta en el caso que nos ocupa, cada uno de los elementos celulares que constituyen al ovario primitivo ha sido señalado como fuente de origen de las células foliculares, aunque cabe también aquí mencionar la posibilidad postulada por otros autores, de el origen dual para estas células no germinales (Merchant-Larios, 1979; Wartenberg, 1982; Mackay et al., 1989), cuadro 4.

**Cuadro 4.- El origen dual de las células foliculares es postulado por:**

H.Merchant-Larios *	1979	Rata	Autorradiografía
H.Wartenberg **	1982	Humano	Microscopía de Luz
S.Mackay et al. **	1989	Hamster	Microscopía de Luz y Electrónica

\* Epitelio Celómico y Mesénquima

\*\* Epitelio Celómico y Mesonefros

La interacción entre los ovocitos y las células foliculares se manifiesta de diversas maneras, citándose entre ellas:

- Las células foliculares son las encargadas de fagocitar a las células germinales cuando estas degeneran (Gondos, 1971).
- Las células foliculares ejercen un efecto inductivo para el crecimiento y síntesis de DNA del ovocito, eventos que son obligados antes de que éste inicie su división meiótica (Lintern-Moore, 1979).
- Las células foliculares evitan el pasaje de sustancias tóxicas al ovocito en crecimiento (Kang, 1974).
- Las células foliculares participan en la formación de la zona pelúcida, capa acelular de composición variable, principalmente mucopolisacáridos, que se deposita sobre el ovocito (Chiquoine, 1960).
- Las células foliculares ejercen una función de masa (volumen), favoreciendo el transporte del ovocito a través de la trompa uterina (Carlson, 1981).
- El ovocito participa en la proliferación, desarrollo y función de las células foliculares (Buccione et al., 1990).
- Los ovocitos juegan un papel importante en la diferenciación del tejido esteroideogénico del ovario (Merchant-Larios, 1976).
- Si se aceptara el origen de las células foliculares a partir de la rete ovarii, cabría que las células antedichas participen en la inducción y/o prevención de la meiosis (Grinsted & Aagesen, 1984; Byskov, 1978).
- Ambos tipos celulares constituyen la "unidad anatómica funcional" característica del ovario (Merchant-Larios, 1975).

Por lo tanto, queda consignado entonces, que la estrecha relación entre la célula germinal y las células foliculares es la base para conformar el complejo histológico folicular que confiere al ovario adulto su característica de glándula endócrina mixta, que en la época reproductiva de la mujer, tiene como función fundamental además de la secreción hormonal, aportar el ovocito de calidad óptima necesario para la fertilización.

En mamíferos y estrictamente bajo criterios morfológicos, cuando se estudian las primeras etapas de la diferenciación sexual gonadal, hay acuerdo en considerar que la organogénesis testicular ocurre antes que la ovárica, debido a que la imagen histológica dada por la organización de los cordones celulares antes mencionados, aunada a una gran vascularización anuncia la formación de los cordones testiculares (túbulos seminíferos del adulto), en cambio al ovario se le reconoce "por exclusión" porque en este caso los cambios histológicos no son tan espectaculares. En relación a esto Jost (1972) señala...."la diferenciación del testículo es temprana y rápida, en cambio la del ovario es lenta y tardía".

Por otro lado, en la vida postnatal y desde el punto de vista funcional, cabe citar aquí lo reportado por Hodgen (1982) y Padykula (1983). Ellos señalan que en los ovarios se presenta asimetría, ya que durante el ciclo menstrual dichos órganos muestran aspectos diferentes: mientras uno es pequeño no hiperémico, en el otro existe hiperemia y se lleva a cabo la maduración del folículo que culminará en

ovulación. A propósito de esto, a excepción del trabajo de Ukeshima & Fujimoto (1991), en el resto de la literatura consultada no se encontró reportado que existiera diferencia en el desarrollo entre ambos ovarios, posiblemente debido a que los estudios no se realizaron con ese propósito.

Trabajos previos realizados en diversas especies (Richards, 1978; Biskov, 1978; Hodgen 1982), citan que tanto el crecimiento como la maduración de los folículos ováricos tienen lugar a diferentes edades de la vida fetal o postnatal. Sin embargo, aún cuando se conoce el tiempo de aparición de los folículos ováricos e incluso la evolución que puedan experimentar, no se encontró descrito el proceso que lleva a la formación de una unidad folicular como tal.

Por lo citado anteriormente, se realizó el presente estudio dirigiendo especial atención hacia las formaciones acordonadas y/o laminares del ovario en desarrollo, ya que es en ellas donde se encuentran mezclados los elementos que constituyen al folículo. Para responder a la pregunta sobre como se inicia la foliculogénesis y utilizando como modelo a un roedor, se plantea la siguiente **HIPOTESIS:**

“En el ovario de la rata Sprague-Dawley hay partición de las formaciones acordonadas primitivas cuando ya existe asociación entre el ovocito y las células epiteliales, en un evento que se inicia en el período prenatal”.

Nos proponemos alcanzar los siguientes **OBJETIVOS**:

- A) Caracterizar morfológicamente el inicio de la asociación de las células epiteliales con el ovocito.
- B) Describir los eventos morfológicos que llevan a la formación de las unidades independientes (folículo primordial o unilaminar).
- C) Determinar el papel que juegan los otros tipos celulares, también presentes en el ovario primitivo, en la formación del folículo.
- D) Establecer si los hallazgos encontrados son de presentación simultánea en ambos ovarios.

## **MATERIAL Y METODOS**

Se utilizaron ratas Sprague-Dawley, las cuales se mantuvieron en condiciones estables de temperatura, con ciclos de luz-obscuridad de 12 hrs. y consumo de alimento y agua *ad libitum*. Cuando las hembras se encontraban en estro, se pusieron durante dos horas por la mañana (9:00 - 11:00 hrs.) con el macho, confirmándose el apareamiento por la presencia de espermatozoides en el frotis vaginal. Se siguió esta forma de apareamiento ya que Watanabe & Endo (1988) reportan que de esta manera hay menores posibilidades de encontrar diferencias en el desarrollo de los productos. La positividad del frotis se marcó como el día "0" de la gestación.

Se revisaron un total de 129 ovarios que comprenden ocho edades diferentes. Un mínimo de nueve gónadas por estadio en productos de 15, 17, 19, 21 días de gestación y recién nacidos [ 22 días post coito (p.c.)] así como un mínimo de cinco ovarios de tres, cinco y diez días postparto (p.p.). El día del nacimiento se consideró como el día "0" p.p. Cuando la rata gestante alcanzó la edad programada se anestesió con éter, se expusieron los cuernos uterinos, se extrajeron los productos liberándolos de sus membranas extraembrionarias y placenta. Se disecaron los embriones o productos postparto si era el caso, se reconoció el sexo por la forma macroscópica de las gónadas, fijándose inmediatamente los ovarios, separando derechos e izquierdos, en solución de Karnovsky (Karnovsky, 1965 ) para seguirse procesando según se muestra en la tabla 1.

Microscopía de Luz.- Debido a que el ovario de las diferentes edades propuestas para este estudio presenta forma variable ( Fig.1 ), se dificultó obtener secciones representativas de la región cefálica, media y caudal de manera sistemática, ya que al disecarse por completo este órgano, adopta formas y/o posiciones caprichosas durante el procesamiento. Por lo tanto, se tomó como corte representativo el obtenido a tres niveles distintos de profundidad, cuidando abarcar con ellos a todo el órgano.

Los cortes semifinos (1-2  $\mu\text{m}$  de grosor) se obtuvieron en un ultramicrotomo

MT-1 Sorval o LKB III, se tiñeron con Azul de Toluidina al 1%, o Azul de Toluidina-Rojo Pironina al 1% en proporción 3:1, obteniéndose con esta última combinación un mejor contraste. Se coloreó además un ovario por edad estudiada, con la técnica de impregnación argéntica (Merchant, 1975, modificado de De Martino & Zamboni, 1967). Los cortes se analizaron en un microscopio óptico Zeiss, tomándose fotografías demostrativas de cada edad revisada, e identificando la célula germinal se consignó la relación que guardaba con los otros tipos celulares, no considerándose para los resultados aquellas relaciones en las que la célula germinal se observaba seccionada en una mínima parte. La muerte celular fue otra observación que se cuantificó en la línea germinal.

Se confrontaron los resultados con el ovario contralateral.

**Microscopía Electrónica (ME).**- Se seleccionaron áreas representativas de los ovarios de cada etapa estudiada, para la obtención de cortes finos, los cuales fueron contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo (Reynolds, 1963), observándose en un microscopio electrónico Zeiss EM9.

**Análisis estadístico.**- Se realizaron pruebas de "t" entre cada una de las etapas de la foliculogénesis, y se llevaron a cabo pruebas de correlación lineal con respecto a mitosis y muerte celular de la célula germinal. Los valores utilizados en las pruebas mencionadas corresponden a datos encontrados en ovario derecho y en ovario izquierdo por separado, y para cada una de las edades consideradas en este estudio.



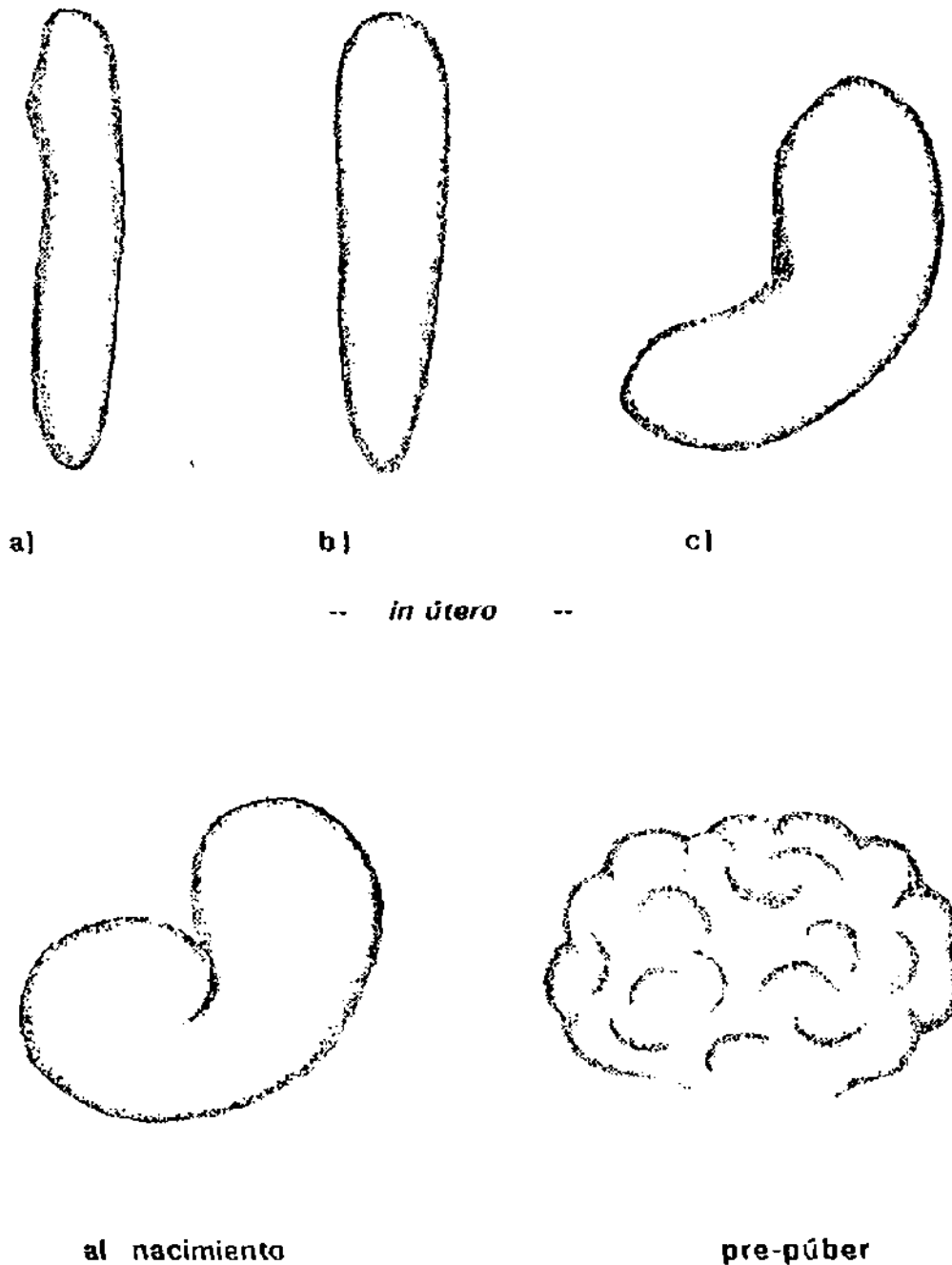
**Tabla 1.- Procesamiento de Tejidos para Microscopía Electrónica**

1.- Solución de Karnovsky (modificada *) .....	1 hora
2.- Buffer de Cacodilato de Sodio 0.1 M pH 7.3.....	15' (3 cambios)
3.- Fijador de Osmio-Zetterqvst (Zetterqvst, 1956) pH 7.3.....	1 hora
4.- Agua destilada.....	3 lavados
5.- Deshidratación	
Alcohol 70° .....	10 min.
Alcohol 80° .....	10 min.
Alcohol 90° .....	10 min.
Alcohol 95° .....	10 min.
Alcohol 100° .....	20 min.
Alcohol 100° .....	20 min.
6.- Oxido de Propileno .....	20 min.
7.- Oxido de Propileno .....	20 min.
8.- Impregnación	
Oxido de Propileno + Resina epóxica (1:1).....	1 Hora
Oxido de Propileno + Resina epóxica (1:2).....	1 Hora
Resina epóxica .....	Tiempo según la muestra
9.- Inclusión.	
En moldes, dejándose en estufa a 60°C hasta alcanzar la polimerización.	

---

\* no contiene  $\text{CaCl}_2$

# Morfología del Ovario de la Rata



**Fig. 1.-** Esquemas que muestran la forma del ovario de la rata a los 15, 17 y 19 días de gestación (a, b y c respectivamente), a los 22 días p.c. (día del nacimiento), y a los diez días de vida postnatal (pre-púber).

## RESULTADOS

En el presente trabajo, con el fin de cuantificar la asociación ovocito-célula(s) folicular(es) se describe a la foliculogénesis por etapas. Se consideró a la etapa I como inicial y es aquella en la que la célula germinal se encuentra en contacto directo con otra(s) célula(s) germinal(es), etapa II si entre dos ovocitos se interpone una o mas células epiteliales y etapa III cuando el ovocito está rodeado completamente por una capa de células foliculares y se observa como unidad independiente en el estroma (Fig.2). Cabe señalar aquí, que los hallazgos que se describen a continuación son indistintos para ovario derecho u ovario izquierdo, ya que el patrón de desarrollo que muestra este órgano, fue semejante en ambos lados, durante las edades comprendidas en el presente estudio (Fig.3).

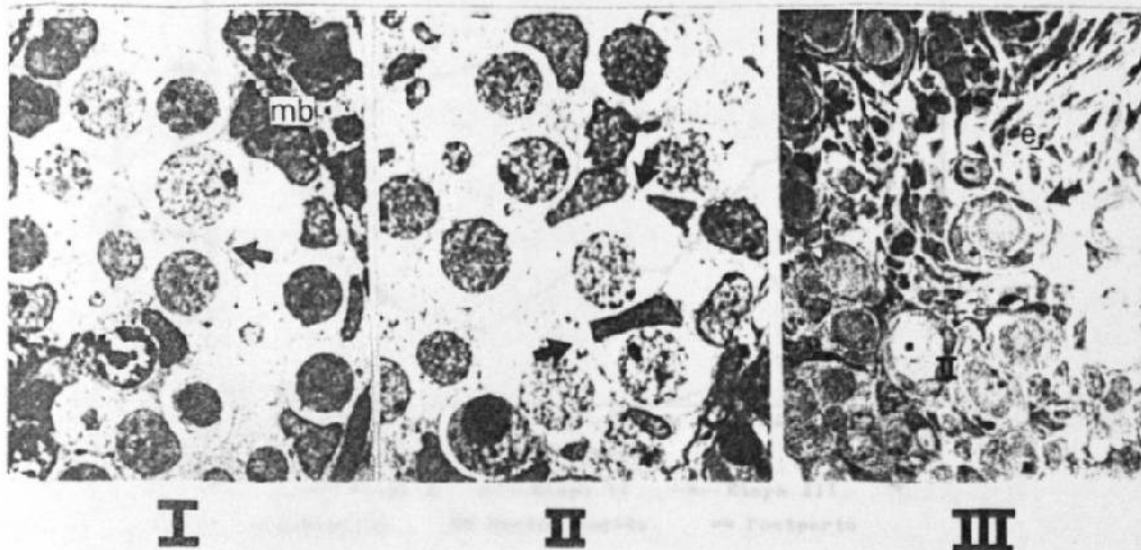
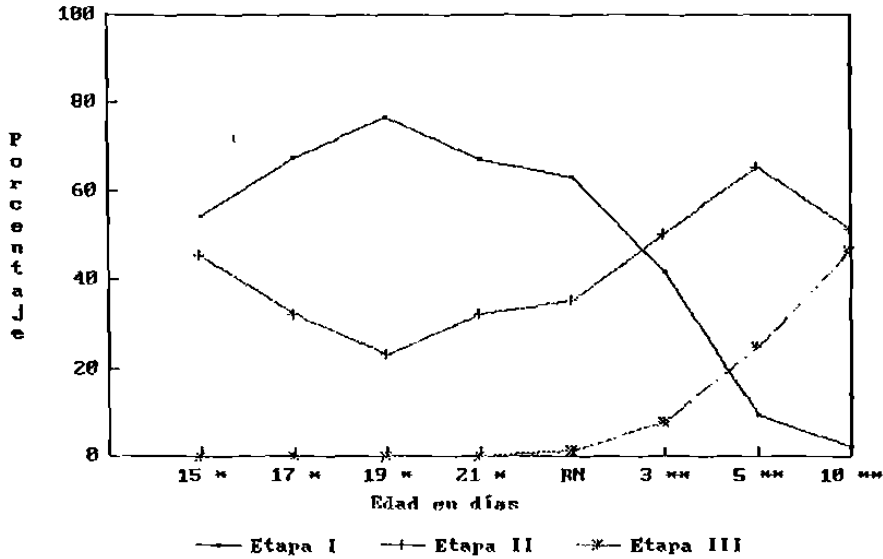


Fig.2.- Cortes de ovarios de rata de diferentes edades de la gestación para ejemplificar las tres etapas de la foliculogénesis descritas en el texto. I) Las flechas indican el contacto directo de células germinales, mb = membrana basal, II) Las flechas indican la separación entre las células germinales por células epiteliales, y III) La flecha indica un ovocito completamente rodeado por células foliculares independiente en el estroma (e).

**OVARIO DERECHO**



**OVARIO IZQUIERDO**

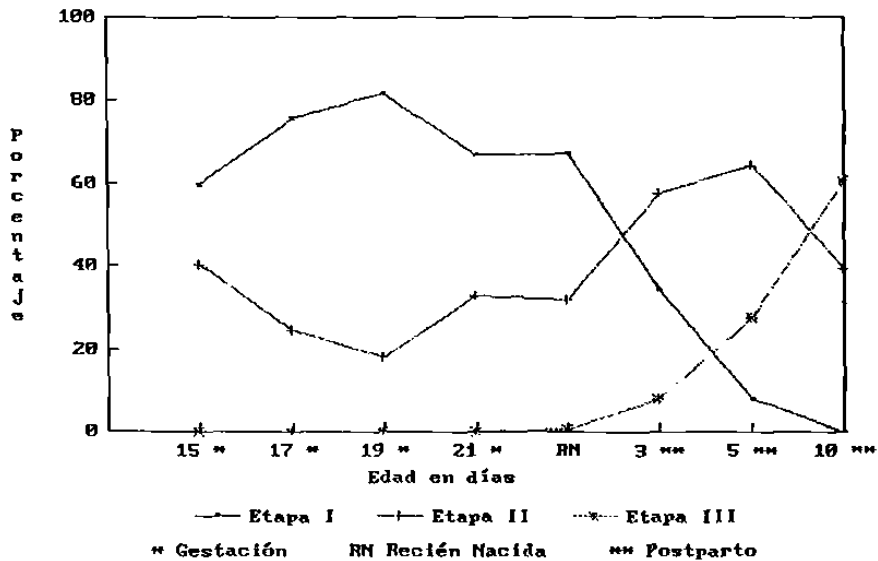


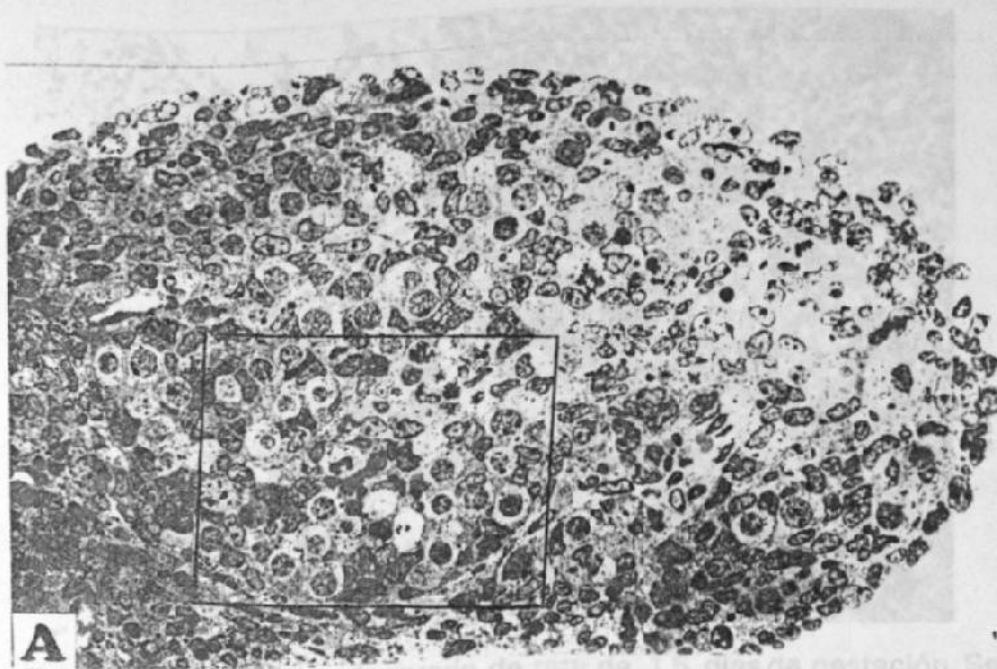
Fig. 3.- Gráficas que muestran la presentación de las diferentes etapas propuestas para la foliculogénesis. Nótese que el patrón de distribución de las mismas fue muy semejante en ambos ovarios, en las diferentes edades consideradas en el presente estudio. Ov. Der. n=196, Ov. Izq. n=185.

**15 días de gestación.-** Macroscópicamente el ovario presenta forma alargada. Histológicamente la población celular muestra una imagen semejante a la etapa indiferente (menos de 15 días de gestación). Existe una mezcla de células en la que destacan las germinales que han modificado su configuración anterior - *célula germinal primordial- para convertirse en ovogonias, y son las de mayor tamaño.* La etapa I, muestra un predominio sobre las otras dos, no observándose formadas aún unidades foliculares (Fig.4a).

Los gametos pueden observarse en mitosis o interfase, e incluso algunos muestran imágenes compatibles con muerte celular; en éste último caso se encuentran localizados preferentemente en la región de la médula ovárica (Fig.4b).

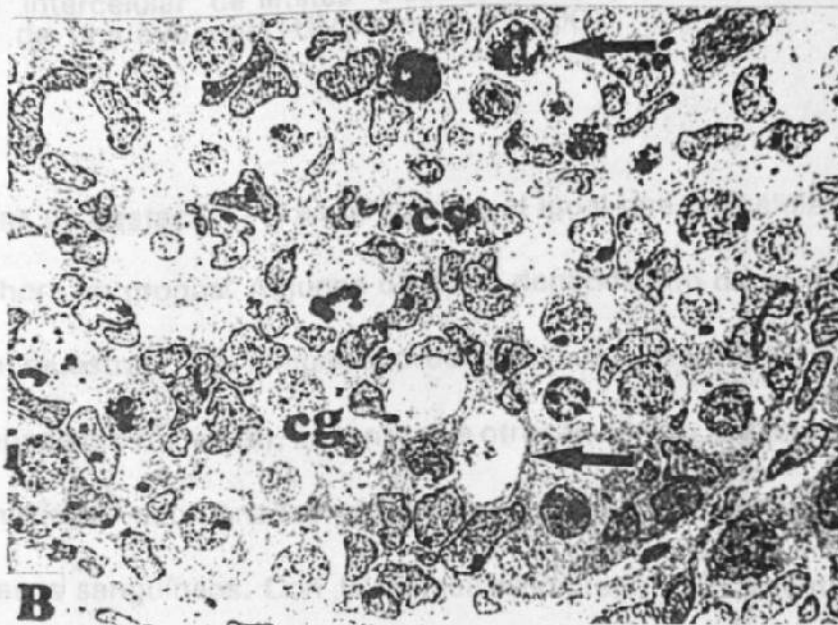
La presencia de vasos sanguíneos es escasa. Las células que se encuentran en la superficie del ovario son de forma variable, y no asientan aún sobre una membrana basal.

A nivel de ME se observó no solo el contacto directo entre las ovogonias sino también la presencia de puentes intercelulares entre ellas (Fig.5).



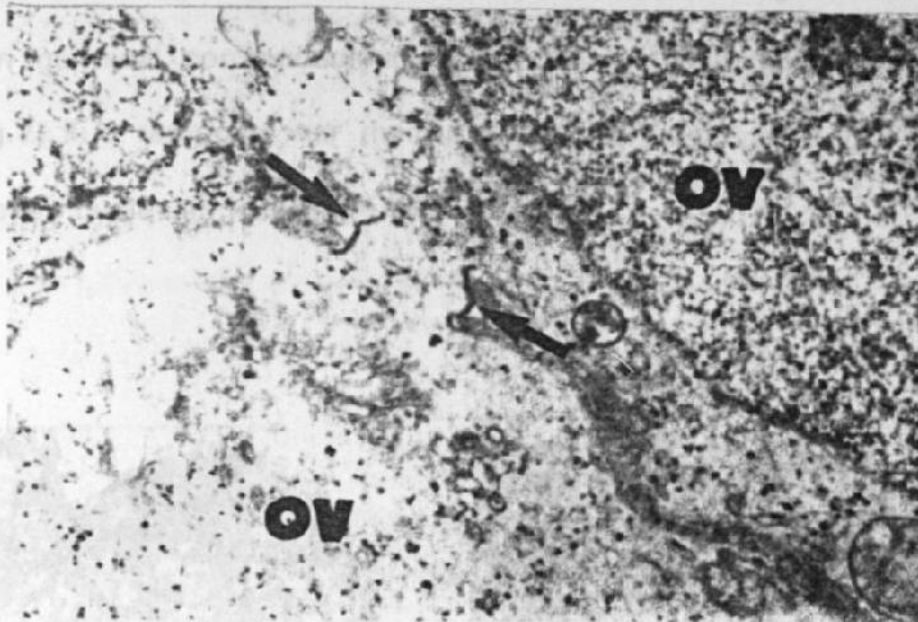
A

Fig. 6.- Micrográfico electrónico de ovario de ratón de 15 días de gestación. Se observa un puente intercelular de líneas de contacto (flechas) extendiéndose del plasmalema



B

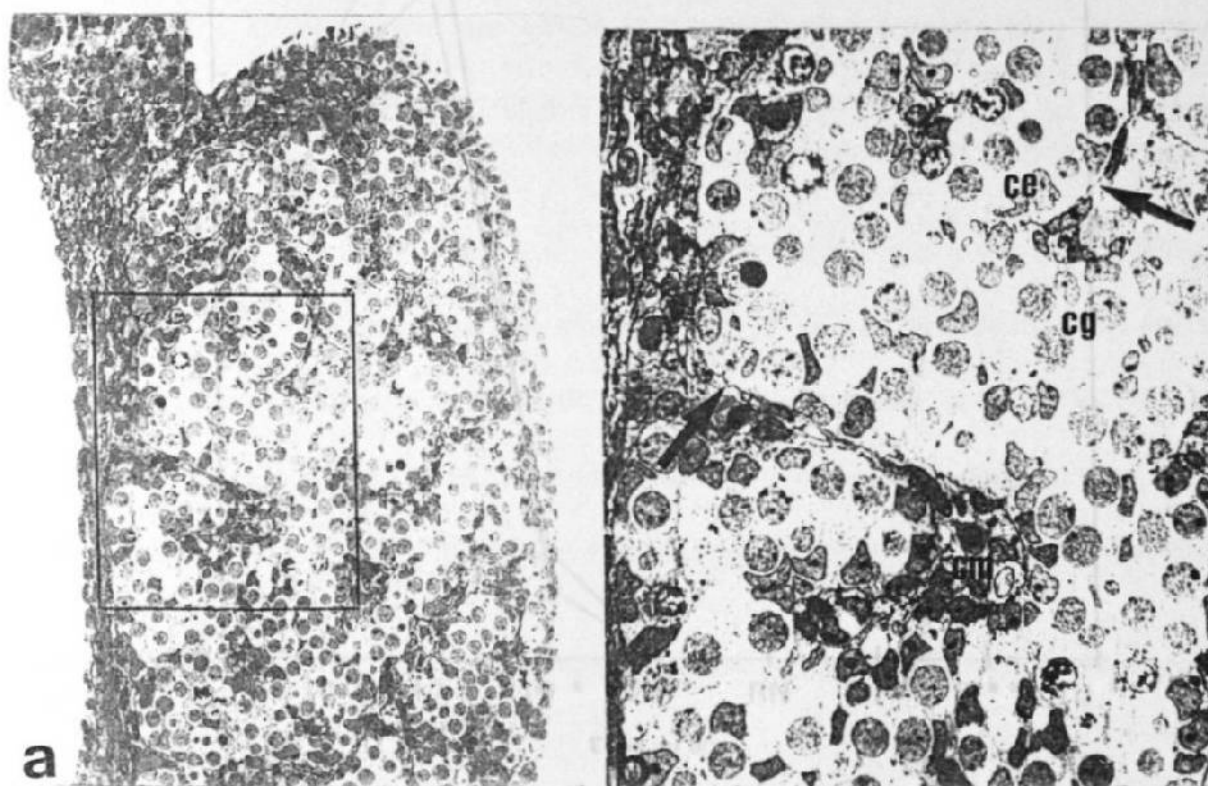
Fig. 4.- Corte semifino transversal de ovario de rata de 15 días de gestación. A) Los diferentes tipos celulares que lo conforman se presentan sin una organización definida. Nótese la escasa vascularización. B) Aumento de la figura anterior. Obsérvense entremezcladas tanto las células somáticas (cs) como las germinales (cg), estas últimas pueden presentar signos de muerte celular ( flechas ). Técnica de impregnación argéntica. A) 312X, B) 750X.



**Fig. 5.-** Micrografía electrónica de ovario de rata de 15 días de gestación. Se observa un puente intercelular de límites electrodensos (flechas), extendiéndose del plasmalema de una ovogonia (OV) a otra. 32,000X.

**17 días de gestación.-** Las ovogonias al igual que las células epiteliales se disponen ahora en grupos. Algunos de ellos, dependiendo de la manera como se seccionaron, muestran una imagen acordonada (sus diferentes denominaciones se han mencionado previamente), en tanto que otros tienen un aspecto laminar. Entre dichas formaciones acordonadas y/o laminares (FAL) se encuentra mesénquima escaso y vasos sanguíneos. Con la técnica de impregnación argéntica se presentó una positividad delimitando a las FAL (Fig.6), al igual que subyacente al epitelio. Las flechas indican la positividad en el límite de la FAL obtenida por la coloración celómico cuyas células muestran aún forma variable y en algunos sitios se presenta estratificado.

Dentro de las FAL se observó un gran número de figuras mitóticas en la población germinal, correspondiendo a esta edad el valor máximo encontrado de ellas (Fig.7). Fue raro observar muerte celular de los gametos y de presentarse puede tener cualquier localización en el ovario.

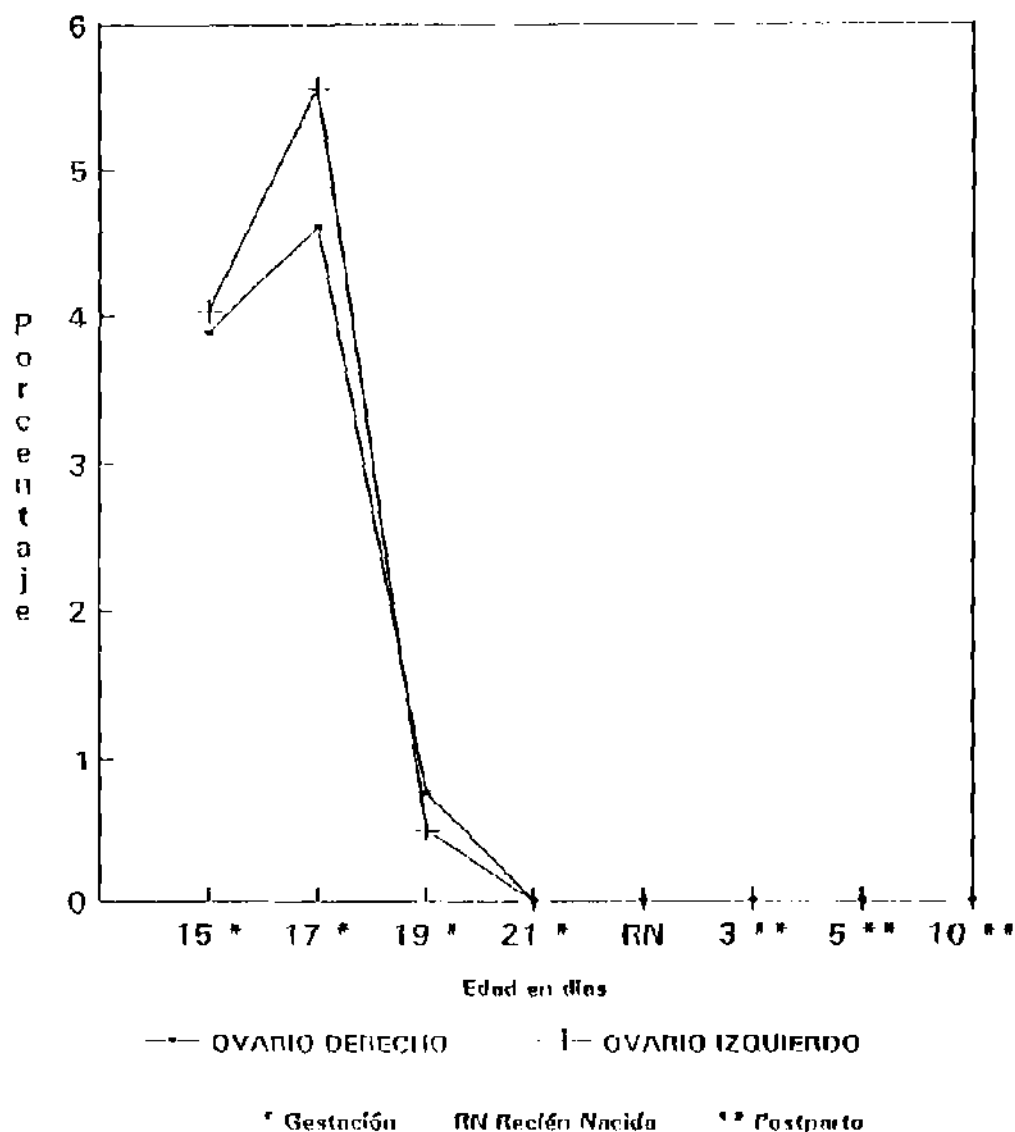


**Fig. 6.-** Corte semifino longitudinal de ovario de rata de 17 días de gestación. a) Vista panorámica que muestra el aspecto histológico ya característico para esta edad b) Mayor aumento para observar la composición de una FAL: células germinales (cg) de mayor tamaño y núcleo redondo, y células epiteliales (ce) de núcleo irregular. Las flechas indican la positividad en el límite de la FAL obtenida por la coloración empleada. Entre una FAL y otra hay escasas células del mesénquima (cm) y poca vascularización. Técnica de impregnación argéntica. a) 125 X, b) 750X.

son un par de  
muy semejante en ambos ovarios, observándose a los 17 días de gestación los  
valores máximos, en tanto que a partir de los 21 días de desarrollo no fue posible  
observarlas. (n = 166; Ov. Der. 82, Ov. Izq. 83, r = 0.971).



## OVARIO DERECHO E IZQUIERDO CELULAS GERMINALES EN MITOSIS



**Fig. 7.- Gráfica que muestra el porcentaje de células germinales en mitosis en las diferentes edades de vida prenatal, al nacimiento y vida posnatal, revisadas en el presente estudio. Nótese la presentación de las divisiones celulares con un patrón muy semejante en ambos ovarios, observándose a los 17 días de gestación los valores máximos, en tanto que a partir de los 21 días de desarrollo, no fue posible observarlas. (n = 165; Ov. Der. 82, Ov. Izq. 83. r = 0.971).**

Es notable aún la etapa I, ya que son pocos los sitios donde células epiteliales rodean a las células germinales. No hay todavía folículos.

Ultraestructuralmente, por fuera de las FAL, se presenta un depósito de fibras colágenas que se observa a bajo aumento como una zona electrodensa en el estroma (Fig.8). La presencia de dichas fibras colágenas explica la positividad que se observa a microscopía de luz, citada previamente.

Dentro de las FAL se observa que el contacto directo entre las células germinales en algunos sitios ya no es tan extenso, y que se pueden apreciar entre ellas prolongaciones citoplasmáticas de las células epiteliales, etapa II (Fig.9). Un mayor aumento a este nivel, permite observar imágenes compatibles con desmosomas entre la célula germinal y la célula epitelial, pre-folicular, (Fig.10).

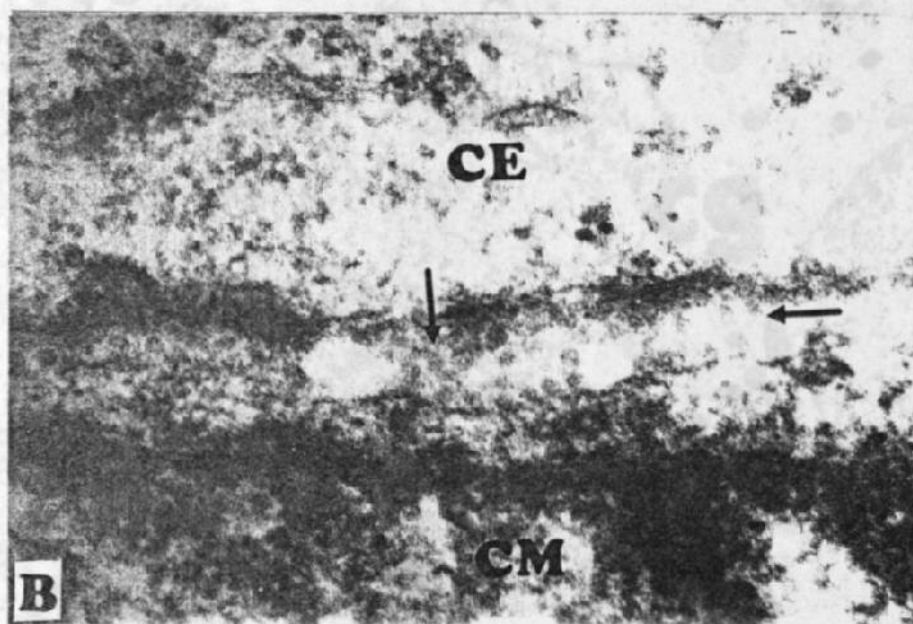
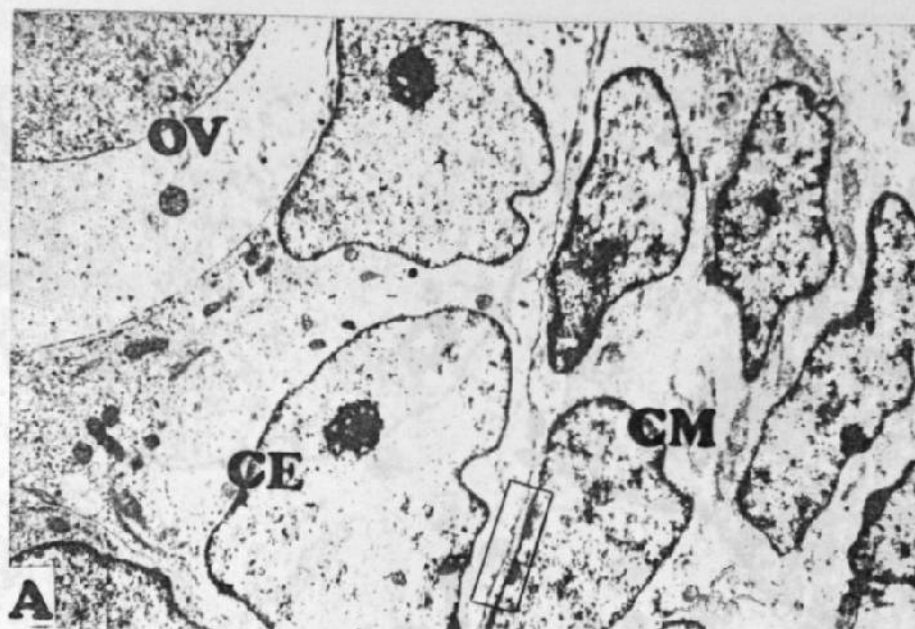


Fig.8.- Micrografía electrónica de ovario de rata de 17 días de gestación. Se observa

Fig.8.- Micrografía electrónica de ovario de rata de 17 días de gestación. A) Se muestra un ovocito (OV) y células epiteliales (CE), componentes de una FAL. Inmediatamente por fuera de ella se presenta una zona electrodensa que la separa de las células del mesénquima (CM). B) Aumento del recuadro para observar que en la zona electrodensa se encuentran fibras de colágeno cortadas transversalmente (flechas). A) 3,000X, B) 50,000X.

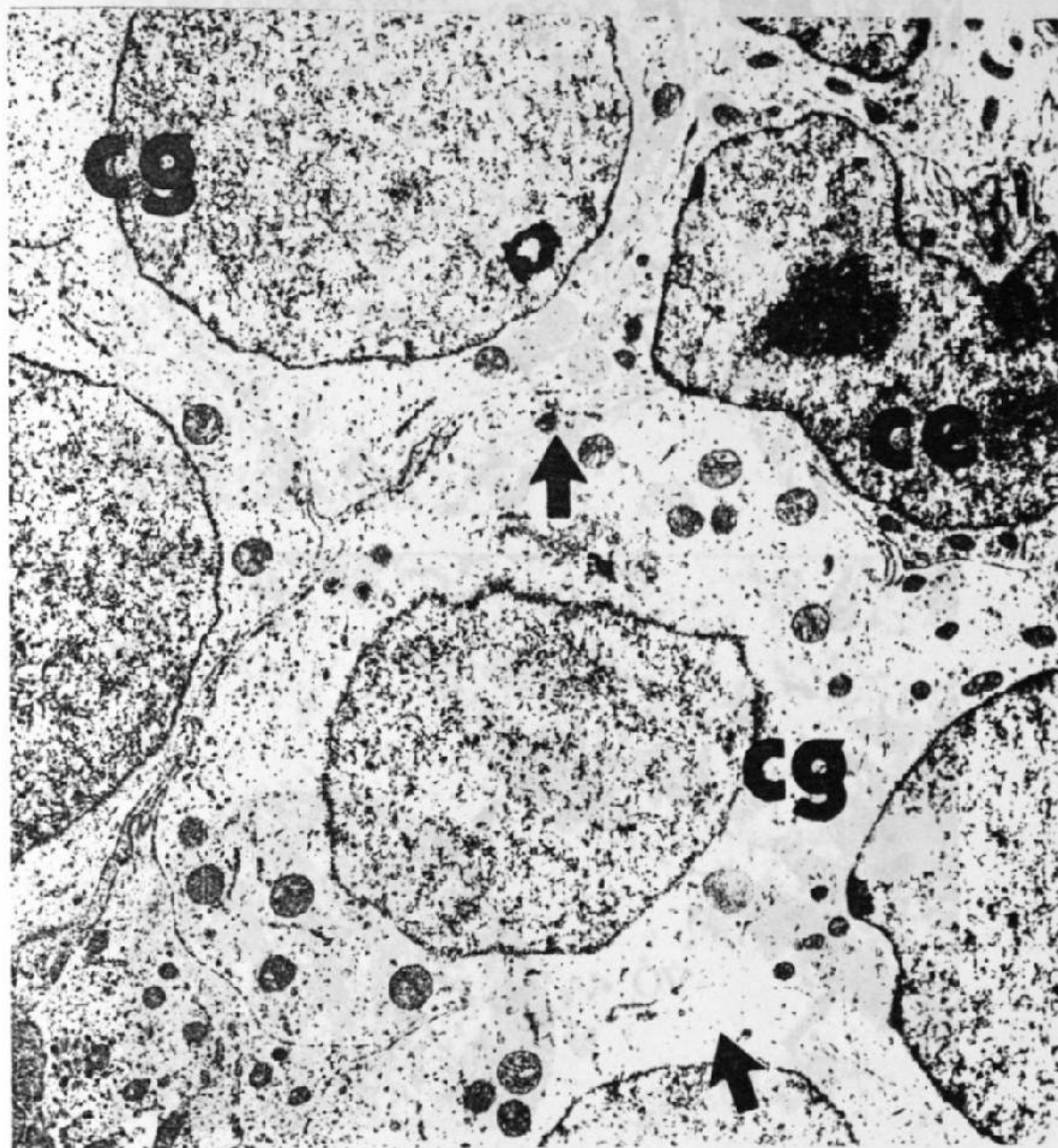
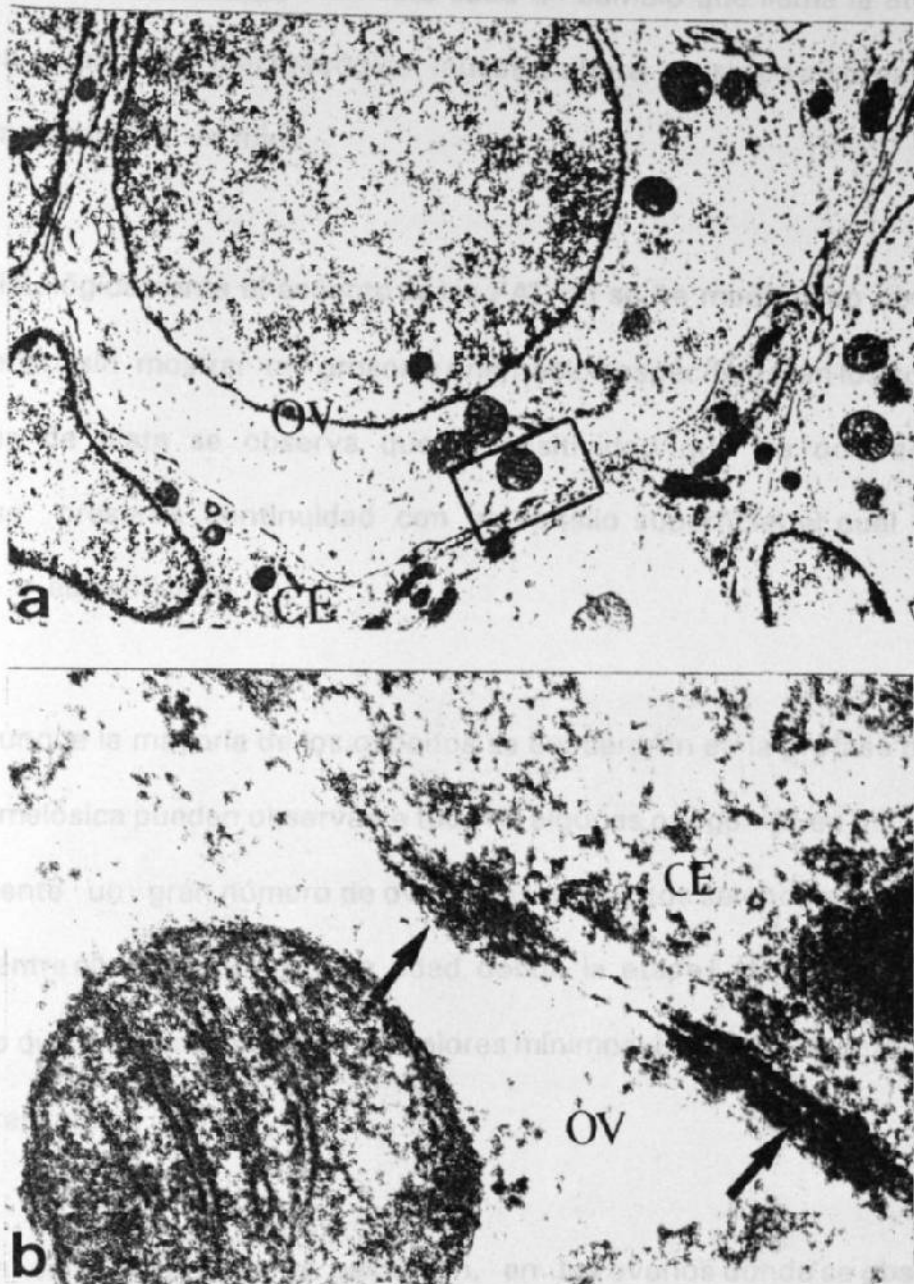


Fig.9.- Micrografía electrónica de ovario de rata de 17 días de gestación. Se observa el interior de una FAL. Las flechas indican las prolongaciones citoplasmáticas de las células epiteliales (ce) que se interponen entre las células germinales (cg) vecinas, etapa II de la foliculogénesis. 1950X.



**Fig.10.-** Micrografía electrónica de ovario de rata de 17 días de gestación. a) Se observa una extensión citoplasmática de la célula epitelial o prefolicular (CE) entre dos ovocitos (OV). b) Aumento del recuadro, las flechas señalan imágenes compatibles con desmosomas entre el ovocito (OV) y la célula epitelial (CE). a) 4,400X, b) 50,000X.

**19 días de gestación.**- En esta edad un cambio que llama la atención en el ovario es su aspecto macroscópico, muestra ahora un surco en la parte media del hilio, semejándose a un frijol.

Histológicamente el aspecto de las FAL no se ha modificado notablemente, permanecen sin mostrar un grosor u orientación específicos; en los cortes teñidos con sales de plata se observa que la positividad que las rodea se interrumpe donde se presenta continuidad con el epitelio superficial el cual se presenta pseudo- o estratificado.

Aunque la mayoría de los ovocitos se encuentran en la profase de la primera división meiótica pueden observarse todavía algunas ovogonias en mitosis (Fig.11). Nuevamente un gran número de ovogonias u ovocitos se encuentran en contacto directo entre ellos, siendo en esta edad donde la etapa I alcanzó el pico máximo, en tanto que la etapa II presentó los valores mínimos. Los folículos, etapa III, aún no están presentes (Fig.3).

En esta etapa de la gestación, en los ovarios donde se observó muerte celular en la línea germinal, su localización preferentemente fue hacia la región medular.

A nivel de ME un hallazgo llamativo fue la presencia de una lámina basal delimitando a la(s) FAL e inmediatamente por fuera de ella siguen observándose fibras colágenas (Fig.12). Lo anterior hace suponer la formación de la membrana basal, citada por diversos autores, que se observa delimitando a los cordones y que con la tinción argéntica puede evidenciarse con microscopía de luz.

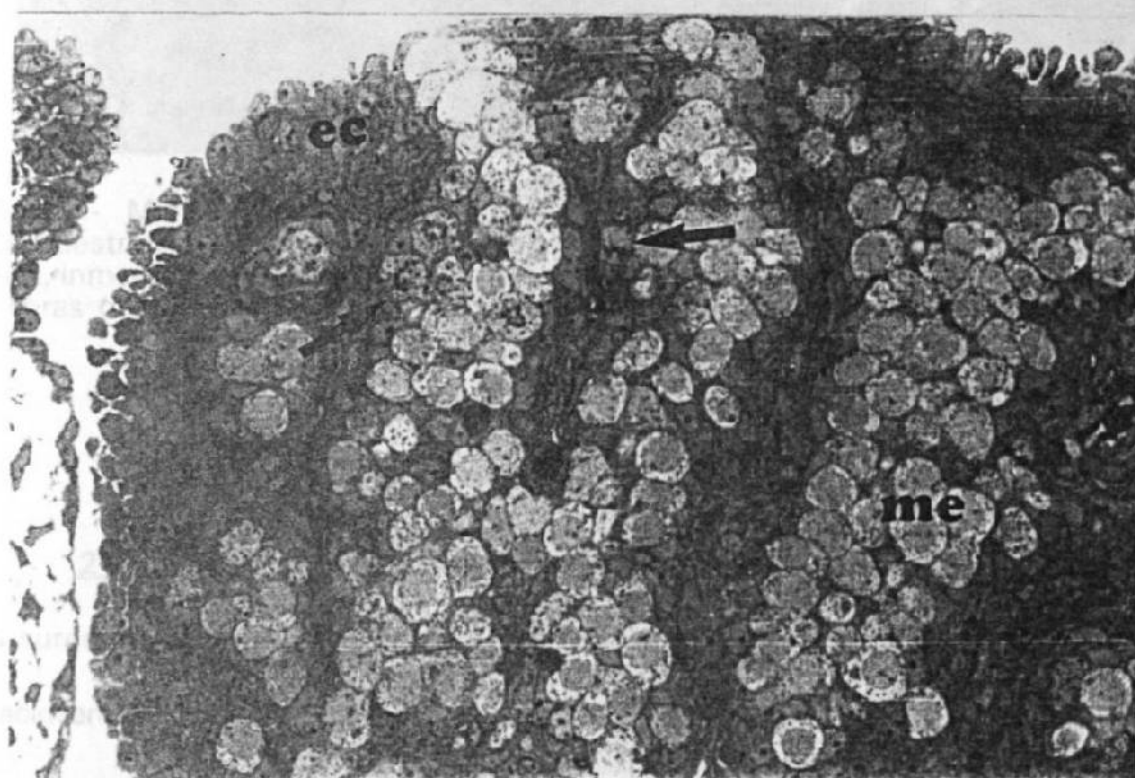
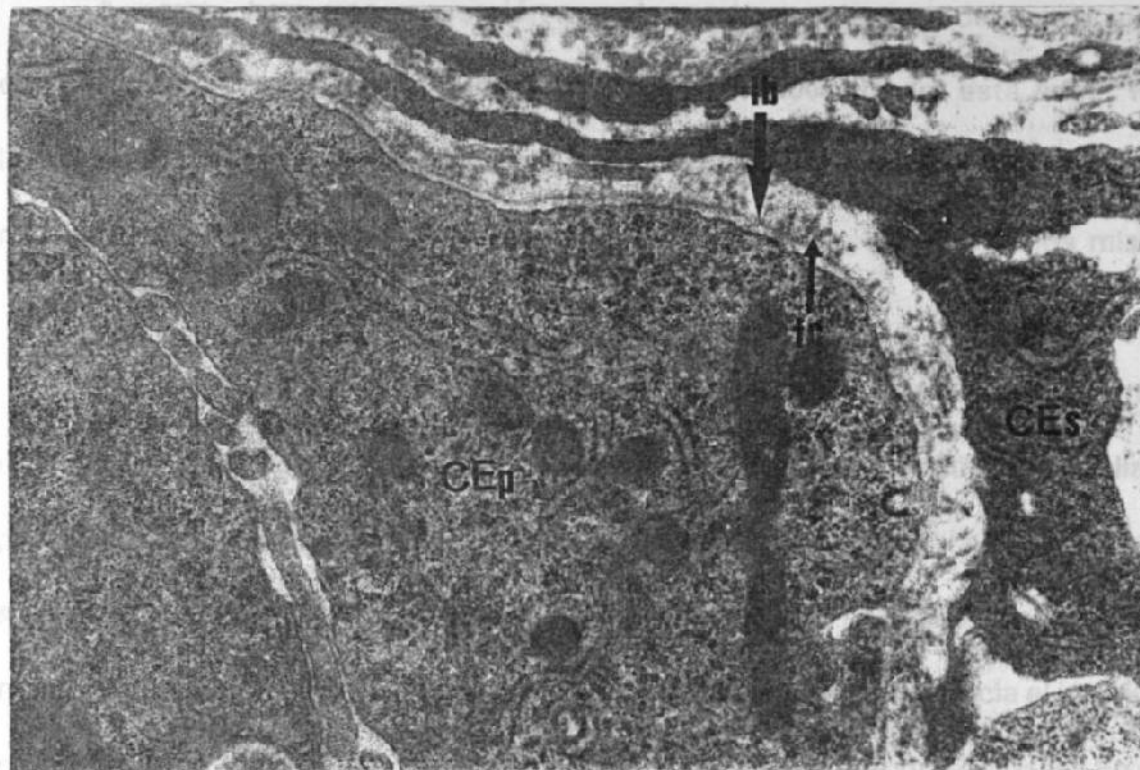


Fig.11.- Corte semifino de ovario de rata de 19 de gestación. Las células germinales se presentan en mitosis (flechas) o meiosis (me) dentro de las FAL. Nótese la continuidad de estas últimas con el epitelio celómico (ec) y el aspecto estratificado del mismo. Azul de Toluidina. 320X.

está presente.



**Fig.12.-** Micrografía electrónica de ovario de rata de 19 días de gestación. Se muestran células epiteliales (CEp) o prefoliculares las cuales forman parte de una FAL, inmediatamente por fuera de estas células se observa la lámina basal (lb) y fibras de colágena (fc) cortadas transversalmente. CEs = células del estroma. 7,500X.

el epitelio celómico por interrupciones de la membrana basal (Fig.14).

**21 días de gestación.-** Macroscópicamente se observa que se ha acentuado el surco de la región hiliar, dando al ovario el aspecto bilobulado que presenta al nacimiento.

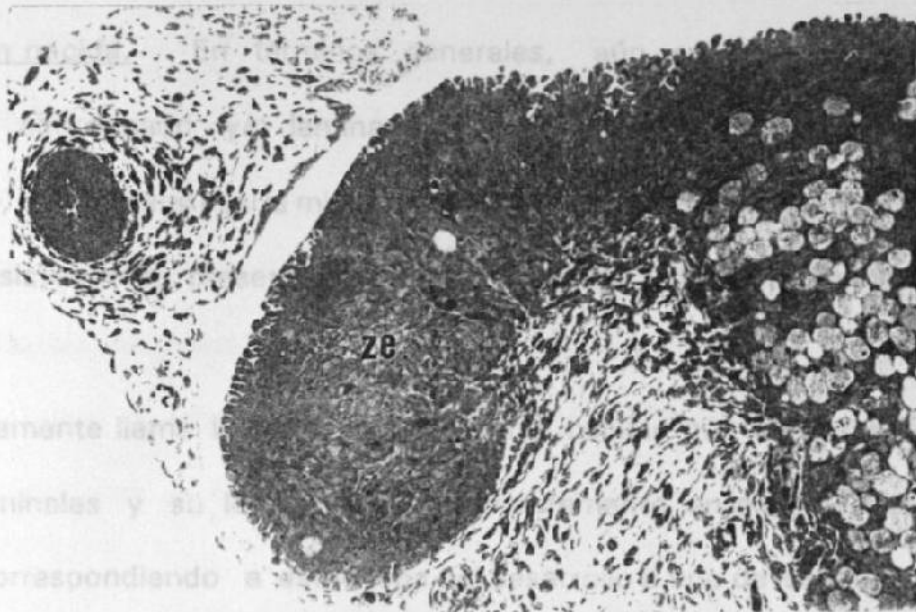
Dentro de las FAL es mayor la proporción de ovocitos que se encuentran en la etapa II de la foliculogénesis, ha disminuído la etapa I y la etapa III aún no



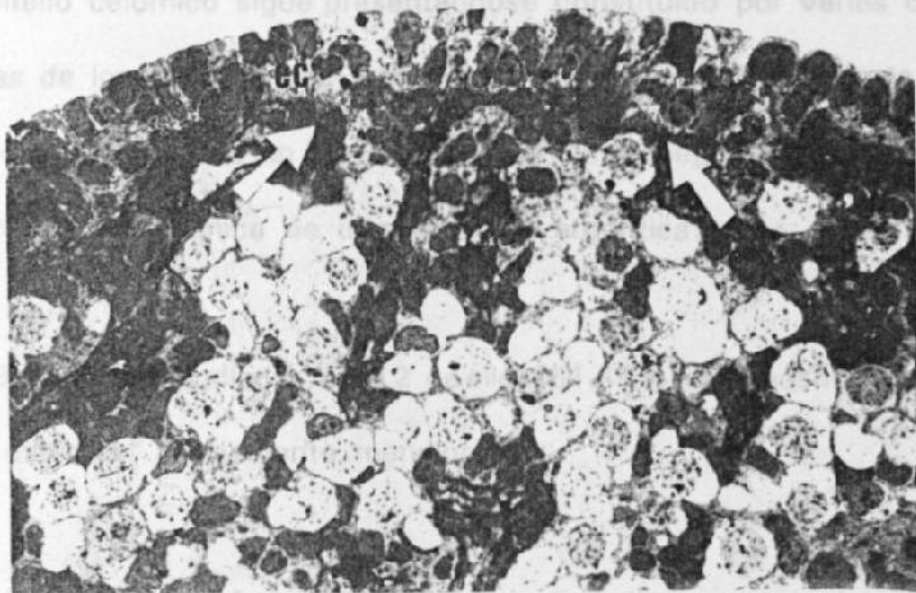
está presente.

Aunque hay una proporción semejante de ovocitos en degeneración, en comparación con la edad anterior, un hallazgo frecuente para esta edad, fue la localización de éstos preferentemente en la médula. No se observaron mas figuras mitósicas en los ovocitos siendo homogéneo el aspecto meiótico en los mismos.

De los 20 ovarios revisados para esta edad, ocho de ellos (40%) presentaron una región de extensión variable, formada por columnas de células epiteliales y pocas o ninguna célula germinal (Fig.13). Esta "zona estéril" al parecer tiene su origen en las células del epitelio celómico ya que este se presenta estratificado, muestra algunas figuras mitósicas y sus células se proyectan hacia el interior del ovario en sitios donde se observan interrupciones en la membrana basal. En otras regiones de la gónada donde la población germinal formaba parte importante de dichas hileras de células, fue frecuente observar la continuidad de las mismas con el epitelio celómico por interrupciones de la membrana basal (Fig.14).



**Fig.13.-** Corte semifino de ovario de rata de 21 días de gestación. Una región del órgano se encuentra formada casi en su totalidad por células epiteliales. En el texto se ha descrito dicha región como "zona estéril" (ze). El epitelio celómico se presenta estratificado. Azul de Toluidina. 200X.



**Fig. 14.-** Corte semifino de ovario de rata de 21 días de gestación. Obsérvese que el epitelio celómico (ec) pseudo- y estratificado en algunos puntos, se continúa con las FAL en donde la membrana basal está interrumpida (flechas). Las células germinales están en meiosis. Técnica de impregnación argéntica. 500X.

**Recién nacida.-** En términos generales, aún se conserva el aspecto histológico acordonado y/o laminado del ovario. En relación a la edad descrita previamente, se mantiene casi la misma proporción de ovocitos en la etapa I y II de la foliculogénesis, estando presentes ahora los primeros folículos unilaminares.

Nuevamente llama la atención la muerte celular que se presenta en las células germinales y su localización preferentemente en la médula del ovario (Fig.15), correspondiendo a esta etapa del desarrollo a uno de los días en que se encontraron los valores máximos de células germinales degeneradas (Fig.16).

El epitelio celómico sigue presentándose constituido por varias capas de células, y las de localización mas profunda se proyectan hacia la parte cortical del ovario en sitios donde no hay membrana basal, según se observa en los cortes teñidos con la técnica de impregnación argéntica.

De 19 ovarios estudiados, en 12 de ellos (61.15%) se presentaron también las "zonas estériles" previamente mencionadas.

Con ME se observó que las células que se disponen en columnas en las zonas estériles presentan una morfología semejante a las células que tapizan la superficie del ovario (epitelio celómico) y que están delimitadas por una membrana basal. Dichas células presentan núcleo irregular con un gran nucléolo y agrupaciones

## OVARIO DERECHO E IZQUIERDO MUERTE CELULAR

de heterocromatina principalmente en la membrana interna de la envoltura nuclear. El citoplasma de estas células contiene abundantes mitocondrias, retículo endoplásmico rugoso y polirribosomas (Fig.17).

Células con características morfológicas como las que se han citado, se observan apoyándose sobre el plasmalema de los ovocitos y enviando prolongaciones citoplasmáticas para envolverlos casi por completo, etapa II (Fig.18).

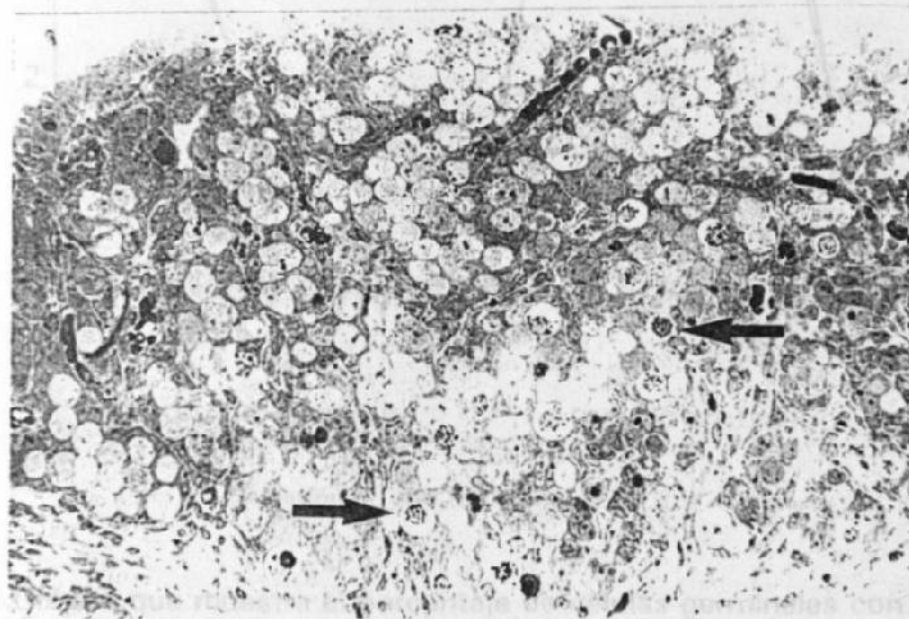


Fig. 15.- Corte semifino de ovario de rata recién nacida. Se muestra la médula, región del órgano donde se presenta gran cantidad de ovocitos en degeneración (flechas), hallazgo frecuente para esta edad. Azul de Toluidina. 200X.

## OVARIO DERECHO E IZQUIERDO MUERTE CELULAR

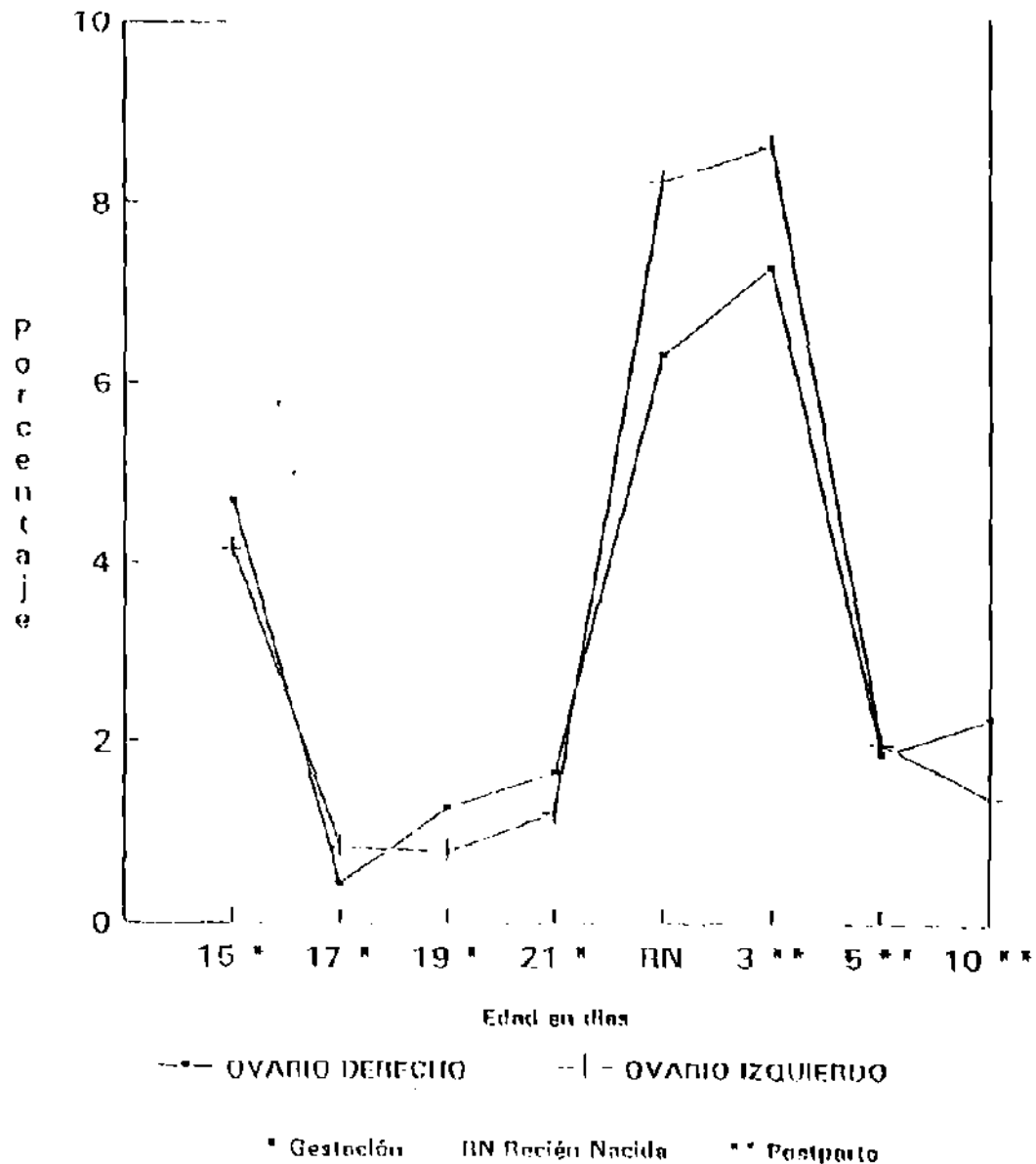
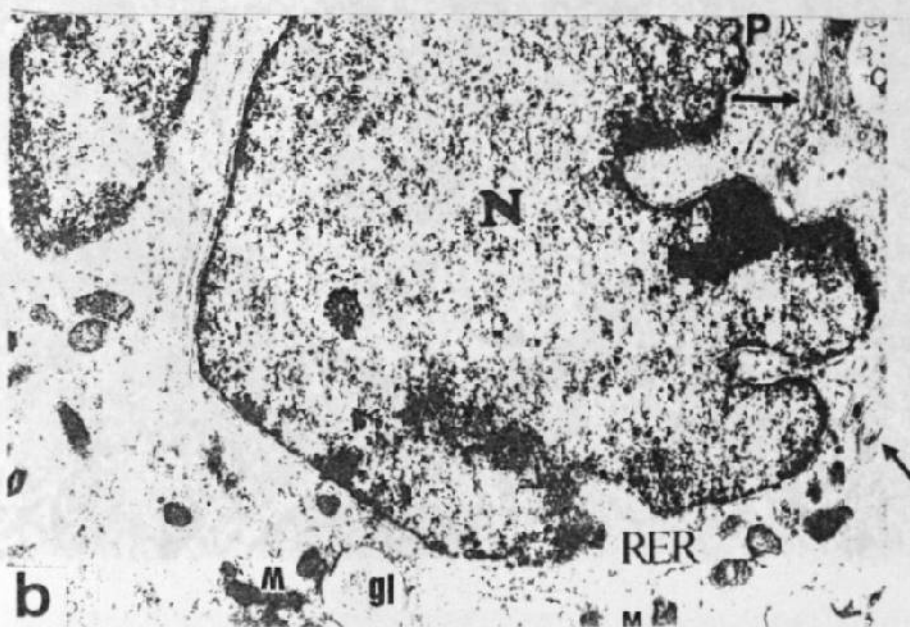
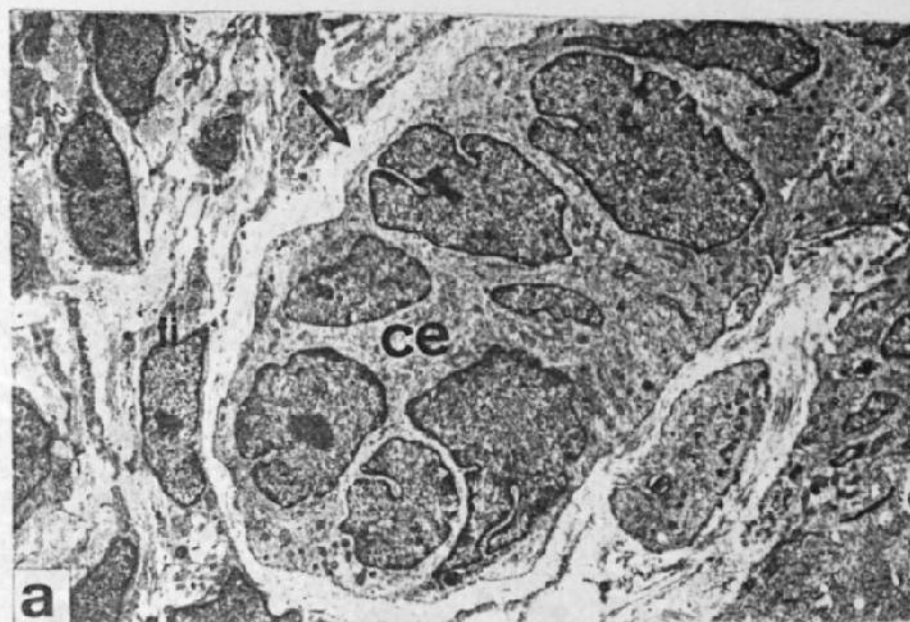
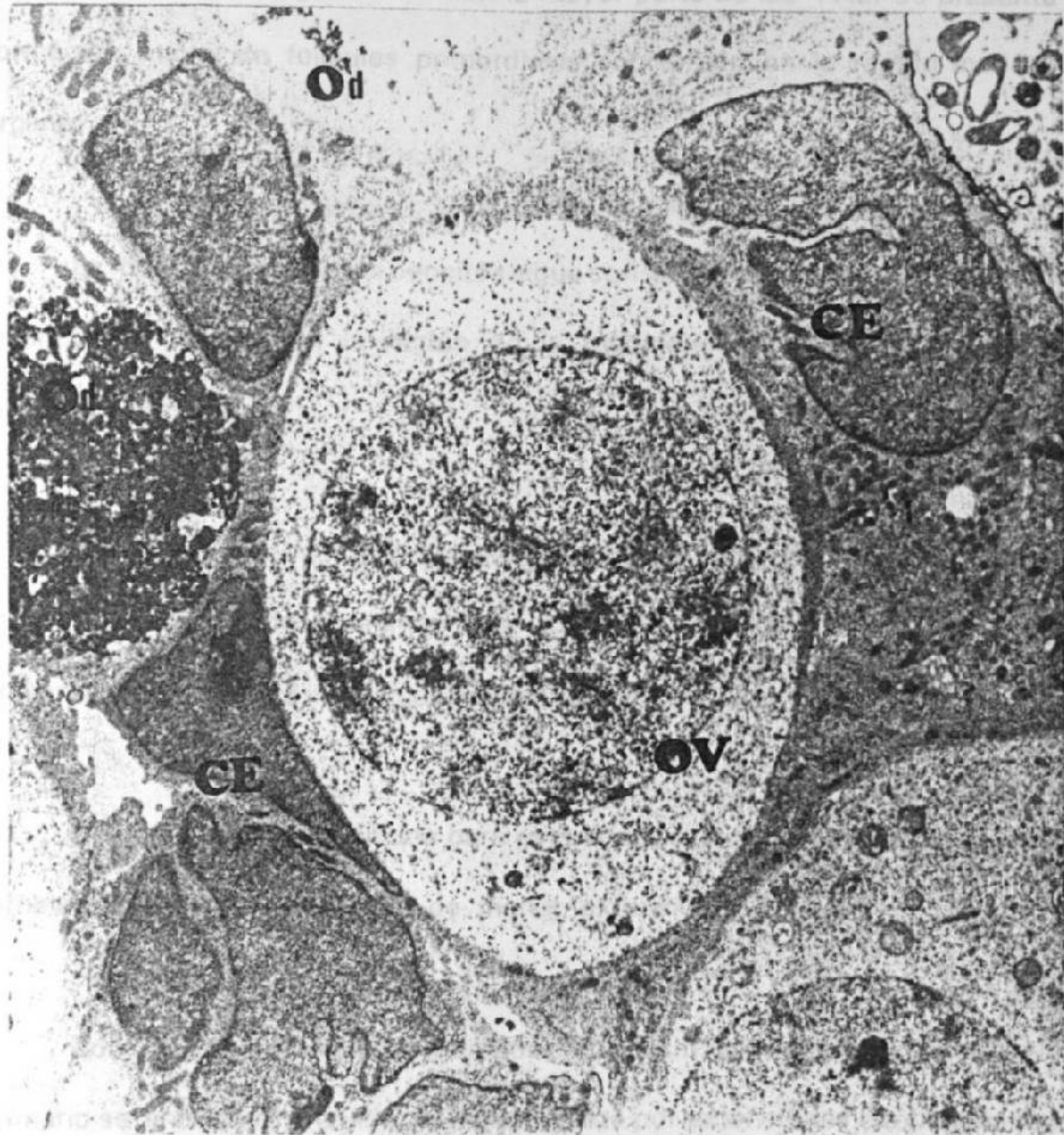


Fig. 16.- Gráfica que muestra el porcentaje de células germinales con signos de degeneración. Nótese que la muerte celular alcanzó valores máximos a los 22 días p.c. (día del nacimiento) y a los tres días p.p., en tanto que esta observación fue mínima a los 17 días de gestación. Los hallazgos fueron semejantes en ambos ovarios. (n = 381; Ov.Der. 193, Ov.Izq. 188.  $r = 0.967$ ).



**Fig. 17.-** Micrograffa electrónica de ovario de rata recién nacida. a) Se observa una formación laminar y su límite, la membrana basal ( flecha ). Nótese que en la composición de dicha lámina solo se encuentran células epiteliales (ce). Por fuera de ella, en el estroma se identifican fibroblastos ( fi ). b) Mayor aumento de una célula epitelial para observar la calidad de sus organitos. N = núcleo, RER = retículo endoplásmico rugoso, M = mitocondrias, P = polirribosomas, gl = gota lipídica. Las flechas indican las interdigitaciones entre las células epiteliales vecinas. a) 1,950X. b) 7,000X.

3 días postparto.- Para esta edad, ha cambiado el aspecto histológico del ovario; ha ocurrido fragmentación en la mayor parte de las FAL. Se presenta una



**Fig. 18.-** Micrografía electrónica de ovario de rata recién nacida. Obsérvese un ovocito (OV) cuyo plasmalema se encuentra completamente cubierto por extensiones citoplasmáticas de las células epiteliales (CE). Por fuera de este complejo ovocito-células epiteliales (prefoliculares) se encuentran algunos ovocitos en degeneración (Od). 1,950X.

su origen en el mesénquima (Fig.20).

**3 días postparto.-** Para esta edad, ha cambiado el aspecto histológico del ovario; ha ocurrido fragmentación en la mayor parte de las FAL. Se presenta una formación mayor de folículos primordiales, sobre todo en la región medular del órgano.

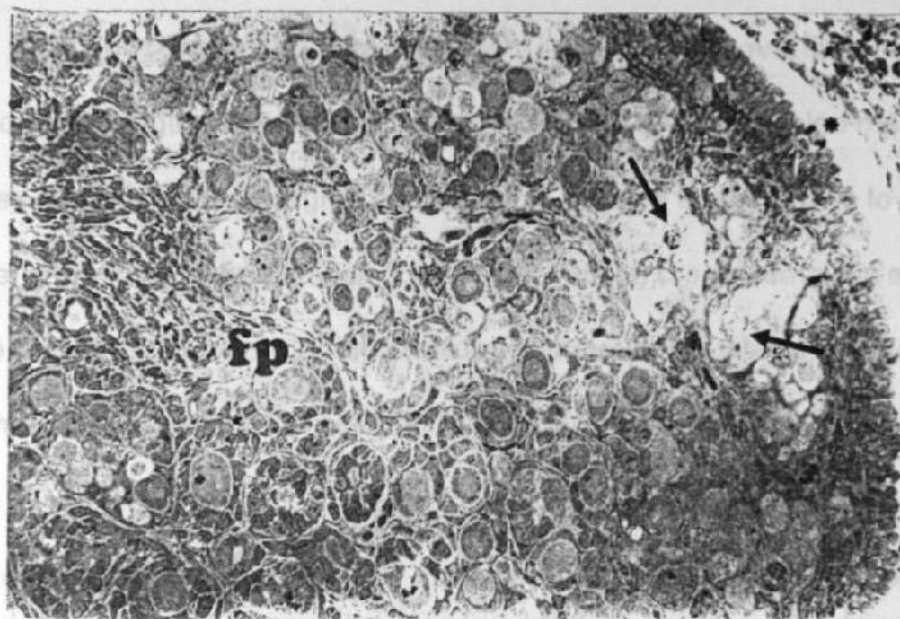
La muerte celular en los ovocitos sigue con valores importantes, destacando la localización no solo en la región de la médula sino que ahora también hacia la región cortical.

El epitelio celómico se presenta en algunos puntos pseudoestratificado, y en otros es estratificado invaginándose hacia la región subcortical del ovario. Se presentan aún figuras mitóticas en las células del citado epitelio (Fig.19).

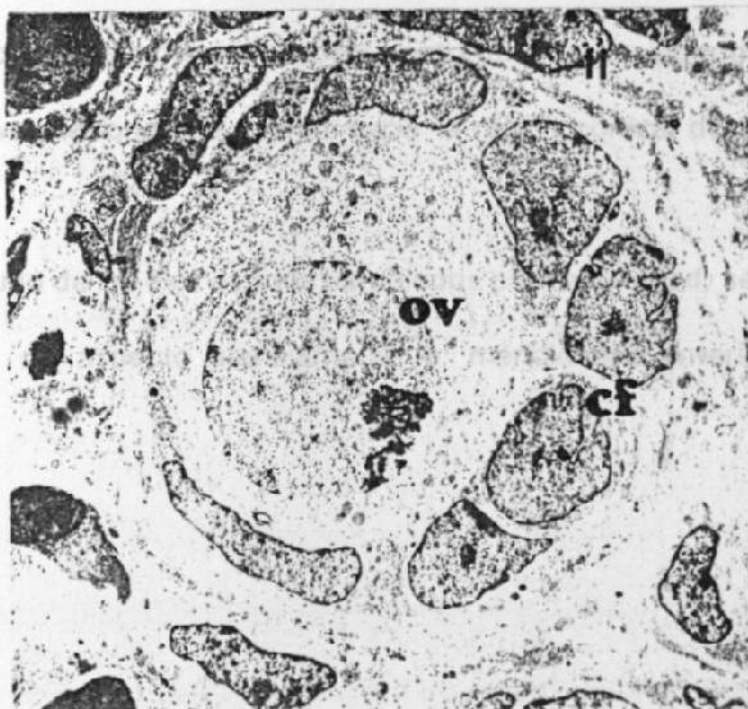
De diez ovarios estudiados para esta edad, cinco de ellos (50%), mostraron también zonas estériles, aunque de menor extensión.

Con ME se observó la composición de un folículo primordial: un ovocito primario se encuentra envuelto completamente por extensiones citoplasmáticas de células epiteliales. Algunas de dichas células se presentan aplanadas, en tanto que otras han modificado esta forma pues su grosor ha aumentado. Por fuera del folículo hay una membrana basal, y en el estroma se observan fibroblastos, células que tuvieron su origen en el mesénquima (Fig.20).





**Fig. 19.-** Corte semifino de ovario de rata de tres días p.p.. Se observan los primeros folículos primordiales (fp) en la región de la médula - etapa III -, en tanto que en la región de la corteza empieza a destacar la necrosis en las células germinales (flechas). Nótese en las células del epitelio celómico una mitosis (\*). Azul de Toluidina-Rojo Pironina. 250X.



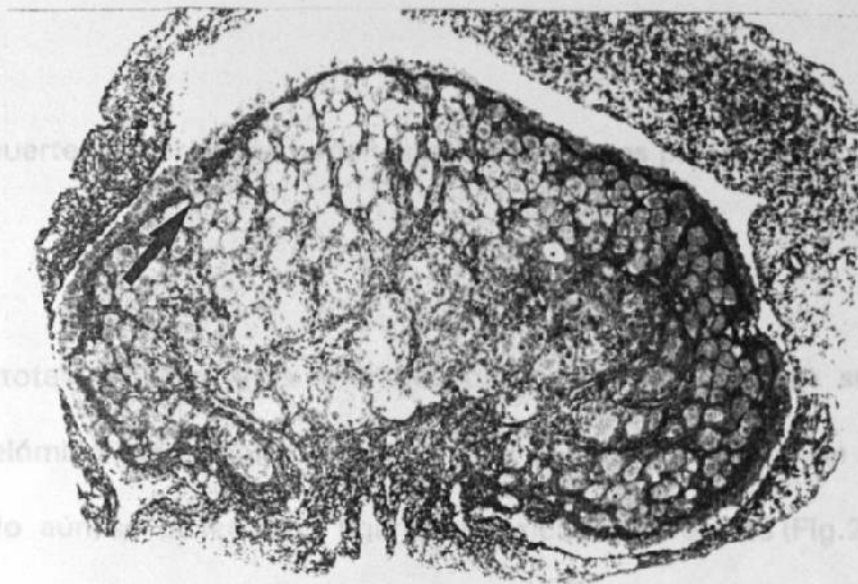
**Fig.20.-** Micrografía electrónica de ovario de rata de tres días p.p..Se observa un folículo primordial compuesto por un ovocito (ov) y células foliculares (cf) que lo rodean por completo, estas últimas muestran un núcleo irregular. En el estroma destacan los fibroblastos (fi). 1,000X.

5 días postparto.- En esta edad, la superficie del ovario se presenta aún con un contorno regular. Histológicamente la etapa II alcanza el pico máximo, su localización es sobre todo en la región de la corteza, ya que en la médula lo que mas destaca es el gran número de folículos que han iniciado su crecimiento. En este caso se consideró a dichos elementos como unidades foliculares, etapa III, aunque se presentara mas de una capa de células foliculares rodeando al ovocito.

La muerte celular muestra un considerable descenso en la población germinal, y al igual que la edad citada previamente, de presentarse, su localización es sobre todo en la región cortical.

El epitelio celómico exhibe un aspecto estratificado, en algunos sitios siguen presentándose invaginaciones del mismo hacia la región cortical del ovario (Fig.21).

Solo en uno de los diez ovarios estudiados para esta edad, se presentó una región pequeña, de aspecto semejante a lo mencionado anteriormente como "zona estéril".



**Fig. 21.-** Corte semifino de ovario de rata de cinco días p.p.. El aspecto acordonado y/o laminado del ovario primitivo casi se ha perdido. Nótese las invaginaciones del epitelio celómico hacia la corteza del órgano (flecha). Técnica de impregnación argéntica. 256X.

**10 días postparto.-** El aspecto macroscópico del ovario se ha modificado, ahora muestra en su superficie irregularidades que corresponden a las protrusiones de los folículos en crecimiento. Una gran cantidad de ellos se presenta como folículos antrales (Fig.22).

La etapa I alcanzó en esta edad, los valores mínimos, en tanto que la etapa III continúa en ascenso (Fig.3). Los ovocitos que se encuentran aún en etapa II son de localización cortical, en tanto que el resto del órgano se encuentra ocupado por completo por folículos en crecimiento.

**Fig. 22.-** Corte semifino de ovario de rata de diez días p.p.. Nótese el crecimiento macroscópico del ovario, en tanto que en la corteza se presentan en gran cantidad ovocitos en etapa II. El epitelio celómico se ha adelgazado, y sus células son cúbicas o aplanadas. Técnica de impregnación argéntica. 200X.

La muerte celular en los ovocitos alcanzó valores parecidos a los de la edad anterior.

Del total de los ovarios revisados para esta edad (12), en su mayoría, el epitelio celómico es cúbico o aplanado, y en los sitios donde se encuentra estratificado aún, se observaron figuras mitóticas ocasionales (Fig.23).

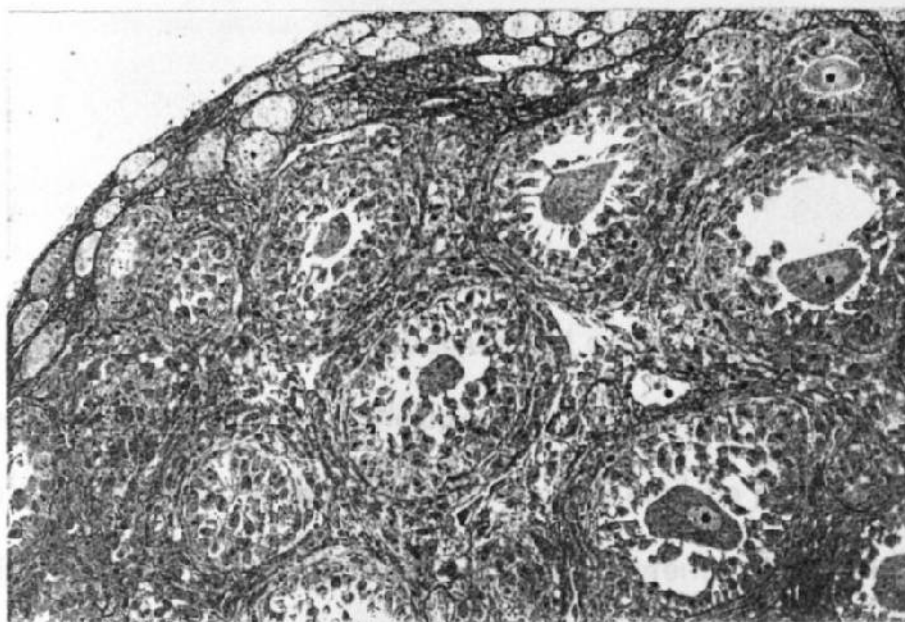


Fig. 22.- Corte semifino de ovario de rata de diez días p.p.. Nótese el crecimiento folicular que tiene lugar en la médula, en tanto que en la corteza se presentan en gran número ovocitos en etapa II. El epitelio celómico se ha adelgazado, y sus células son cúbicas o aplanadas. Técnica de impregnación argéntica. 200X.

La primera modificación evidente que se encontró en la población celular presente en el ovario primitivo...

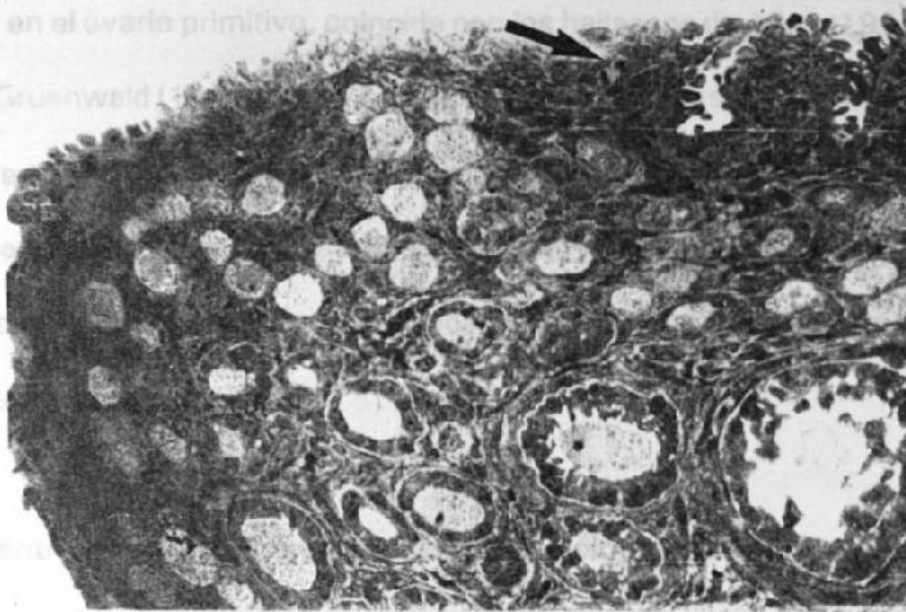
(1927), Gruenwald (1927),

en una serie

que se de

contigua

coms. 35



**Fig. 23.-** Corte semifino de ovario de rata de diez días p.p.. Nótese que en los sitios donde el epitelio celómico es aún estratificado, presenta figuras mitóticas (flecha). Azul de Toluidina-Rojo Pironina. 320X.

que tienen como finalidad la formación de un folículo unilaminar o primordial.

## El proceso que lleva a la **DISCUSION** unidad base para la formación

La revisión histológica y ultraestructural del ovario de la rata Sprague-Dawley, desde la edad a partir de la cual morfológicamente se le puede distinguir del testículo (15 días p.c.), hasta la edad postnatal de diez días, ha permitido observar la organización que se presenta a nivel de los diferentes tipos celulares que lo constituyen inicialmente, evento que tiene lugar como parte del proceso histogenético propio para este órgano.

Este sistema de análisis de la ovogénesis permitió no solo cuantificar el fenómeno que nos ocupa, sino

La primera modificación evidente que se encontró en la población celular presente en el ovario primitivo, coincide con los hallazgos de Allen (1904), Brambell (1927), Gruenwald (1942), Ohno & Smith (1964) y Jeppesen (1975) y que consiste en una segregación de las células germinales y epiteliales (futuras células foliculares) que se delimita por una membrana basal. Dicha(s) segregación(es) adopta(n) una configuración acordonada encontrándose entre ella(s), células del mesénquima y vasos sanguíneos.

Dentro de las citadas segregaciones (homólogas a los cordones testiculares y futuros túbulos seminíferos del testículo adulto) que se han descrito en el texto como FAL, y aún *in útero*, tiene lugar la foliculogénesis, entendiéndose por esta la serie de eventos que tienen como finalidad la formación de un folículo unilaminar o primordial.

El proceso que lleva a la elaboración de la unidad base para la formación de la(s) estructura(s) funcional(es) del ovario adulto, se describe por etapas. El plan morfométrico que se siguió en el presente trabajo, se tomó del diagrama original que el Dr. Merchant-Larios propone para la foliculogénesis (Merchant-Larios and Chimal-Monroy, 1989). En dicho diagrama se representa lo siguiente: El estado I (de ovocito), estado II (epitelial), y estado III (estromático), habiéndose mencionado previamente la característica de cada uno de ellos. Este sistema de análisis de la foliculogénesis permitió no solo cuantificar el fenómeno que nos ocupa, sino

además observar el papel que desempeñan los otros elementos, no foliculares, en el ovario en desarrollo.

En el presente trabajo se encontró que cuando se ha empezado a diferenciar el ovario, 15 días p.c., están presentes las células germinales como ovogonias las cuales se encuentran en constante multiplicación ya que fue notable observar en ellas un gran número de figuras mitóticas, sobre todo a los 17 días de gestación. A partir de los 21 días p.c., no se observaron más divisiones celulares. Entonces, ya que de los 15 a 19 días de gestación se estuvieron formando nuevas células germinales, al quedar en contacto directo unas con otras, o bien incluso unidas por puentes intercelulares, como se demuestra por microscopía electrónica, se observó que la etapa I tiene un predominio sobre las otras dos durante este tiempo (Fig.3), sobre todo a los 19 días de gestación, ya que como se ha mencionado, a los 17 días del desarrollo se presentó el mayor índice mitótico.

Para cuando la rata nace (22 días p.c.), la imagen histológica del ovario se mantiene en condiciones semejantes a la de los 21 días p.c., en cuanto a la proporción de ovocitos en etapa I y II; haciéndose presente solo a partir de ahora la etapa III. El hallazgo llamativo para este día del nacimiento fue la gran cantidad de ovocitos en degeneración. En los días previos considerados en este estudio, la muerte celular en la línea germinal -ovogonia u ovocito- no se presentó como un fenómeno relevante, como se observa en la Fig.1

En este estudio, la edad a la cual se pueden identificar las tres etapas que se señalan para la foliculogénesis en el mismo campo histológico, es tres días p.p. porque en esta edad aunque la etapa II empieza a presentar índices elevados, es cuando la etapa I muestra apenas un descenso y la etapa III está presentando también valores crecientes. Este esquema es semejante a los cinco días p.p., con la salvedad que los folículos que se presentan entonces ya no son propiamente unilaminares y su aspecto se ha modificado. Aunque la composición del folículo es la misma, es decir presenta un ovocito y células foliculares, estas últimas se presentan en número variable de capas o incluso, como se observa a los diez días p.p., ya en algunos se ha formado un antro.

En la rata, la estructuración de las unidades foliculares es uno de los eventos que se presenta durante la morfogénesis e histogénesis ovárica en el período prenatal. En relación a la morfogénesis, otro proceso involucrado en la adquisición de la forma de este órgano, puede ser la muerte celular programada (MCP). Saunders (1966) en su trabajo sobre muerte celular en sistemas embrionarios, ha reportado la importancia de la misma como parte del desarrollo temprano en muchos animales. El señala también necesidades para que se presente tal condición celular; por ejemplo como un evento filogenético, tal es el caso cuando se requiere eliminar órganos que no serán de utilidad en la vida adulta (el pronefros y mesonefros de los vertebrados superiores). También si se precisa remodelar el tejido o se requiere la formación de pliegues o de la confluencia de primordios, la MCP es el mecanismo



para lograrlo, considerándose en estos casos como muerte histogenética y muerte morfogénica, respectivamente.

Nuestros hallazgos están de acuerdo con lo citado en el párrafo anterior, ya que siendo el ovario un órgano que se revisó durante su desarrollo, se encontró que la muerte celular es un fenómeno que no solo está presente, sino que se observó con un cierto patrón de distribución. Hubo la presencia de necrosis en ciertas edades del desarrollo donde se presentaba un cambio espectacular en el ovario. Al respecto cabe destacar, por ejemplo, la distribución de la muerte celular en la región de la médula o hacia el hilio, a los 19 días de gestación, edad a la cual el ovario modifica su forma ya que se empieza a doblar sobre si mismo perdiendo así su forma alargada. Por otro lado, se ha tratado de explicar el porqué los folículos inician su formación en la región de la médula del ovario. Al respecto, Reeves (1979), ha reportado que es aquí donde se presenta escasa resistencia física, por lo tanto se tolera el crecimiento de estructuras, o bien que es en la médula donde se presenta la mayor irrigación. Otros autores (Byskov & Lintern-Moore, 1973), justifican la formación de los primeros folículos en la médula porque es en este sitio donde se encuentran las células de la rete ovarii, a partir de las cuales, según sus observaciones, se forman las células de la granulosa (foliculares).

En el presente trabajo, se encontró que la necrosis se presenta en forma masiva en la región de la médula, en el tiempo del desarrollo del ovario, en

que tiene lugar la formación de los primeros folículos (día del nacimiento). Este hallazgo puede representar entonces, un ejemplo de los beneficios de la muerte celular, citados por Saunders (1966). Si fuera el caso, este fenómeno corresponde a la muerte histogenética, y especulando, su utilidad sería de naturaleza mecánica, que se vuelve a poner en práctica a los cinco días p.p., ya que se observó que cuando en la corteza del ovario tiene lugar la formación de unidades foliculares, la muerte celular en esta región del órgano, se había presentado en forma importante.

*La muerte celular a la cual se ha hecho referencia se refiere a los procesos degenerativos de la célula germinal -ovogonia u ovocito- que forma parte de una formación acordonada o laminar antes de que se fragmente. Cuando esto último ocurre, entonces el fenómeno de muerte celular, cuando se presenta, se considera como uno de los cambios pertenecientes a la atresia folicular (Byskov, 1978).*

En cuanto a los túbulos mesonéfricos que se localizan inicialmente hacia el hilio del ovario primitivo, no se observó a través de las diferentes edades propuestas para este estudio, que presentara contribución alguna en la histogénesis ovárica. Aunque diversos autores como Byskov & Lintern- Moore (1973), Zamboni et al. (1979), Upadhyay et al. (1979), Satoh (1985, 1991) y Stein & Anderson (1979) han reportado que el mesonefros (a partir del cual se forma la rete ovarii) es la fuente de origen para las células foliculares, en el presente trabajo no se encontró evidencia de que los túbulos mesonéfricos tuvieran una diferenciación como la

que ha sido citada. Aunque estos túbulos estuvieron presentes en las etapas tempranas de la diferenciación ovárica, no se observó en ellos ni proliferación celular ni cambios morfológicos que indicaran su participación en la formación del folículo. Además, conforme el ovario tiene mayor edad gestacional, este sistema de la rete ovarii fue menos evidente, llegando a involucionar casi por completo después del nacimiento.

La discrepancia entre los resultados de los autores que proponen un origen mesonéfrico para las células foliculares y los del presente estudio, pudieran explicarse o bien por las diferentes especies utilizadas, o por las diferencias en las etapas estudiadas.

En relación al mesénquima, otro de los componentes celulares que constituyen al ovario primitivo, no mostró cambios significativos durante las primeras edades que se revisaron en este trabajo. En el testículo por el contrario, se ha reportado que esta capa germinativa tiene una participación importante en los estadios iniciales de la diferenciación sexual gonadal. Al respecto, se ha observado el establecimiento de una arquitectura vascular temprana a partir del mesénquima, o bien que éste separa las formaciones acordonadas que se presentan en el testículo primitivo, del epitelio celómico para la formación de la albugínea (Peters, 1970; Merchant-Larios, 1978; Paranko, 1986). A partir de este mismo tipo celular, el mesénquima, tiene lugar la diferenciación de las células encargadas de la secreción de hormonas que actúan en la época fetal para la diferenciación de los genitales externos (Sloan & Walsh, 1976).

Eventos como los citados permiten considerar entonces, que el desarrollo del testículo ocurre antes que el del ovario.

En la presente revisión, el mesénquima del ovario empieza a destacar cuando se interpone seccionando algún punto de la(s) FAL, y llega a rodear por completo al complejo formado por un ovocito que se ha asociado con varias células epiteliales. Lo anterior acontece sobre todo a partir de la época próxima al nacimiento. Las unidades foliculares están separadas del mesénquima por una membrana basal. Paranko (1986) describe a ésta última, como un soporte estructural, como barrera semipermeable y como substrato para la migración celular.

Diversos autores (Wolff, 1968; Cunha et al., 1981, 1985; Merchant-Larios, 1984; Mizuno & Yasugi, 1990) señalan que el mesénquima es un compartimento tisular, que también juega un papel importante durante la organogénesis. En este caso, su actividad se ha asociado con la epitelial, refiriéndose a ella como la relación epitelio-mesénquima en la cual éste último induce al primero a que lleve a cabo una morfogénesis y citodiferenciación específica del tejido donde tal enlace está teniendo lugar. Tal interacción no solo ocurre en tejidos embrionarios, sino que también se presenta en órganos adultos, representada en este particular por la asociación estroma-epitelio.

En el caso que nos ocupa, la interacción epitelio-mesénquima se lleva a

cabo entre las células foliculares (componente epitelial), y las futuras células de la teca (componente mesenquimático). Tal interacción se presenta cuando el complejo ovocito-células foliculares se va rodeando por completo de células del mesénquima (estroma), etapa III.

Hirshfield (1991), reporta que la expresión de la interacción epitelio-mesénquima consiste en la regulación del crecimiento y la diferenciación de las células epiteliales, vía factores de crecimiento, por parte de las del mesénquima. Otros autores, Wessells & Rutter (1969), señalan que el mesodermo estimula la síntesis de DNA y así la proliferación de células epiteliales. Tal interacción citada, explicaría el inicio del crecimiento del folículo que se observa en el período neonatal.

Por otro lado, Merchant-Larios (1975, 1978) cita también que esta interacción epitelio-mesénquima tiene lugar tardíamente en el desarrollo, comparado con el testículo. Esto es en cuanto a la diferenciación de las células que sintetizan esteroides y que se originan del estroma, evento que es mediado por las células germinales en el ovario, ya que cuando estas células son eliminadas la mencionada diferenciación no tiene lugar.

La muerte celular en las células del mesénquima no fue valorada, por no formar parte de los objetivos de este trabajo, en tanto que la ocurrencia de mitosis en estas células fue una observación esporádica.

Al epitelio germinal o celómico, Reeves (1979) lo describe como un manto celular que recubre la totalidad de la superficie del ovario, y señala además que la ultraestructura de sus células confirma su bajo grado de actividad, mostrando escaso desarrollo de sus organitos citoplasmáticos. En el presente trabajo, se observó que en este componente del ovario, en relación a su actividad mitótica fue relevante, ya que las divisiones celulares fueron frecuentes sobre todo cuando la etapa II de la foliculogénesis está teniendo lugar; ésto explica el aspecto estratificado que se describe en él durante las diferentes edades revisadas. Cabe señalar que cuando se utilizó la técnica de impregnación argéntica, se presentó en forma constante interrupciones en diferentes puntos de la membrana basal, estructura donde descansa el citado epitelio. En tales regiones se mostraba una continuidad con las FAL. Lo anterior hace suponer la contribución del epitelio celómico en la organización de éstas últimas aportando su componente epitelial.

Cuando se revisaron ovarios entre los 19 días de gestación y los tres días p.p., se encontraron regiones de extensiones variables, formadas por hileras de células epiteliales las cuales semejan a las de las láminas o cordones. En estas áreas, rara vez se observaron ovocitos, razón por la cual en este trabajo se les describe como "zonas estériles". Cabe señalar aquí, que la presencia de tales regiones estériles se pudo haber favorecido por la orientación del corte y que entonces correspondan a secciones tangenciales de la superficie del ovario.

La imagen ultraestructural de las células que se encuentran en las citadas formaciones estériles, semeja a la descripción que Taketo-Hosotani et al. (1985) reportan para las células pregranulosas. Ellos destacan la presencia de núcleo irregular con un gran nucléolo y agrupaciones de heterocromatina principalmente en la membrana interna de la envoltura nuclear; el citoplasma de estas células contiene retículo endoplásmico y abundantes mitocondrias. En virtud de que la morfología de las células del epitelio celómico semeja a la de las células de las FAL estériles, consideramos que tal epitelio contribuya al origen de dichas estructuras.

De presentarse en vertebrados superiores, la proliferación de las células epiteliales formando FAL estériles, la fragmentación de las mismas vía interacción epitelio-mesénquima pudiera explicar la existencia de folículos sin ovocito, hallazgo que fue primeramente reportado en el humano en 1986 por Coulam et al. como el Síndrome del folículo vacío.

La formación de una túnica albugínea que separara por completo la superficie del interior del ovario, no fue evidente en ninguna de las edades revisadas. Por lo anterior, las FAL que se extienden entre estas dos regiones ováricas se consideran formaciones originales que pueden recibir las denominaciones de Allen (1904), Brambell (1904), Ohno & Smith (1964) o Jeppesen (1975). Es decir, en el caso de la rata no se observó una segunda generación de cordones celulares como ha sido citado por Gruenwald (1942), Sadler (1986),

Carlson (1981) que ocurre para otras especies.

Forabosco et al. (1991), citan que la organogénesis del ovario puede ser considerada completa cuando en la corteza primitiva no se encuentran mas ovocitos "desnudos", debido a que estos están involucrados en la foliculogénesis. Sin duda, esta interpretación se debe a la limitación técnica y al material utilizado por estos autores, ya que como queda claro en el presente estudio, los ovocitos siempre están asociados con células epiteliales y una lámina basal. De manera que en ningún momento están "desnudos" como aparecen en cortes histológicos de tejidos embrionarios incluidos en parafina.

En la revisión que se ha llevado a cabo en la rata, se puede considerar que la foliculogénesis -asociación célula germinal y células epiteliales- se completa en la segunda semana p.p., cuando prácticamente todos los ovocitos se encuentran en la etapa III. Tanto la zona medular como la cortical han perdido el aspecto acordonado o laminar que las caracterizaba, aunque aún se pueden encontrar en la última región ovocitos en la etapa II, en tanto que en la primera región se presentan folículos en diferentes etapas de crecimiento.

Por otro lado, el estudio que se hizo por separado del ovario izquierdo y del ovario derecho, no mostró durante el período prenatal en los días p.p. revisados, diferencias marcadas en el desarrollo presentándose un patrón organogenético semejante en ambos lados.



## **CONCLUSIONES**

a) Se comprobó la Hipótesis. Las formaciones acordonadas y/o laminares que se observan en el ovario primitivo, fueron reduciendo su extensión a través de las diferentes edades revisadas. Se corroboró además que en este proceso se alcanzan las tres etapas que se proponen para la foliculogénesis: I.- célula germinal-célula germinal, en contacto directo; II.- células epiteliales (foliculares) interponiéndose entre células germinales, y III.- Un ovocito rodeado por células foliculares e independiente en el estroma.

b) Se sugiere que en la rata, el epitelio celómico pueda ser el contribuyente principal en la formación de las células foliculares.

c) Se requiere realizar observaciones en edades siguientes a las de este estudio, incluso hasta la etapa reproductora, para demostrar si en este modelo biológico existe la asimetría funcional reportada por otros autores.

## RESUMEN

Se revisó con microscopía de luz y electrónica, el ovario de la rata Sprague-Dawley de 15, 17, 19, 21 días de gestación, recién nacida (22 días p.c.), tres, cinco y diez días postparto. El estudio se hizo sistematizado, separando ovario derecho del izquierdo, revisando de cada uno de ellos tres niveles de profundidad. Se confrontaron los resultados, realizando pruebas de "t" y de correlación lineal.

Se encontró que en el ovario primitivo, compuesto por una masa de células que carecen de una organización definida, se lleva a cabo la segregación de las células germinales - ovogonias u ovocitos - y epiteliales conformando estructuras laminares que se delimitan por una membrana basal (sus homólogos en el testículo son los cordones sexuales). A partir de dichas formaciones se describen tres etapas para que la foliculogénesis tenga lugar, discutiéndose además el papel que juegan los otros tipos celulares también presentes inicialmente.

Los resultados revelan que *in útero* y hasta el período postnatal de diez días, ambos ovarios presentan un desarrollo muy semejante, si se toma como parámetro la cuantificación de la foliculogénesis. Se asocia a la muerte celular como un fenómeno que se presenta durante la morfogénesis e histogénesis ovárica.

## BIBLIOGRAFIA

- Allen Bennet Mills. The embryonic development of the ovary and testis of the mammals. *Am. J. Anat.* 3:89-153. 1904.
- Alvarez-Buylla Arturo and Merchant-Larios Horacio. Mouse primordial germ cells use fibronectin as a substrate for migration. *Exp. cell Res.* 165:362-368. 1986.
- Brambell F.W.Rogers. The development and morphology of the gonads of the mouse. Part I. The morphogenesis of the indifferent gonad and of the ovary. *Proc. R. Soc. London Ser. B* 101:391-409. 1927.
- Buccione Roberto, Schroeder Allen C., and Eppig John J. Interactions between somatic cells and germ cells throughout mammalian oogenesis. *Biol. Reprod.* 43:543-547. 1990.
- Byskov Anne Grete and Lintern-Moore Sue. Follicle formation in the immature mouse ovary: the role of the rete ovarii. *J. Anat.* 116,2 ,pp.207-217. 1973.
- \_\_\_\_\_ . Follicular atresia. *The Vertebrate Ovary*. Cap. 9. pp. 533-562. Richard E. Jones Ed. 1978.
- Carlson Bruce M. MD.PhD. The development of the Urogenital System. *Patten's Foundations of the Embryology*. Cap. 16, pp. 440-479. Fourth Ed. Mc.Graw-Hill Book Company. 1981.
- Cuhna R. Gerald, Shannon John M., Neubauer Blaker L., Sawyer Linwood M., Hirohiko Fujii, Osamu Taguchi and Chung Leland W.K. Mesenchymal-epithelial interactions in sex differentiation. *Hum. Genet.* 58:68-77. 1981.
- \_\_\_\_\_ , Bigsby Robert M., Cooke Paul S. and Sugimura Yoshiki stromal-epithelial interactions in adult organs. *Cell Differ.* 17:137-148. 1985.
- Chiquoine A. Duncan. The identification, origin and migration of the primordial germ cells in the mouse embryo. *Anat. Rec.* 118(2):135-146. 1954.
- \_\_\_\_\_ . The development of the zona pelucida of the mammalian ovum. *Am. J. Anat.* 106:149-169. 1960.
- Deanesly Ruth. Oogenesis and the development of the ovarian interstitial tissue in the ferret. *J. Anat.* 107(1):165-178. 1970.
- Forabosco Antonino, Sforza Chiarella, Pol Antode, Vizzotto Laura, Marzona Laura and Ferrario Virgilio F. Morphometric study of the human neonatal ovary. *Anat. Rec.* 231:201-208. 1991.
- Fujimoto Toyooki, Miyayama Yukihiro and Fuyuta Masatoshi. The origin, migration and fine morphology of human primordial germ cells. *Anat. Rec.* 188:315-330. 1977.

- Gondos Bernard, M.D., Zamboni Luciano M.D. Ovarian development: The functional importance of germ cell interconnections. *Fertil. Steril.* 20:176-189. 1969.
- \_\_\_\_\_, Bhiraleus Prapas, M.D., and Hobel Calvin J., M.D. Ultrastructural observations on germ cells in human fetal ovaries. *Amer. J. Obstet. Gynec.* Vol 110(5): 644-652. 1971.
- Grinsted Jorgen and Aagesen Lotte. Mesonephric excretory function related to its influence on differentiation of fetal gonads. *Anat. Rec.* 210:551-556. 1984.
- Gropp A. and Ohno S. The presence of a common embryonic blastema for ovarian and parenchymal (follicular, interstitial and tubular) cells in cattle, *Bos taurus*. *Z.Zellforsch.* 74:505-528. 1966.
- Gruenwald Peter. The development of the sex cords in the gonads of man and mammals. *Am. J. Anat.* Vol 70:359-368. 1942.
- Guraya Sardul S. Recent advances in the morphology, histochemistry, biochemistry and physiology of interstitial gland cell of mammalian ovary. *Int. Rev. Citol.* 55:171-245. 1978.
- Hirshfield Anne N. Theca cells may be present at the outset of follicular growth. *Biol. Reprod.* 44:1157-1162. 1991.
- Hodgen Gary D., Ph.D. The dominant ovarian follicle. *Fertil. Steril.* 38(3): 281-300. 1982.
- Jeppesen Th. Surface epithelium of the fetal guinea-pig ovary: A light and electron microscopic study. *Anat. Rec.* 183:449-516. 1975.
- Jost Alfred. A new look at the mechanisms controlling sex differentiation in mammals. *John Hopkings Med.* 130:38-53. 1972.
- Karnovsky, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy *J. Cell. Biol.* 27, pp. 137A. 1965.
- Kang Yuan-Hsu. Development of the zona pellucida in the rat oocyte. *Am. J. Anat.* 139:535-566. 1974
- Kofman- Alfaro Susana, Merchant Larios Horacio y Pérez Palacios Gregorio. Diferenciación sexual. Bases del dimorfismo sexual. *Rev. Invest. Clin. (Méx).*, 34:349-359. 1982.
- Konishi Ikuo, Fujii Shingo, Ohamura Hitoshi, Parmley Tim and Mori Takahide. Development of interstitial cells and ovigerous cords in the human fetal ovary: an ultrastructural study. *J. Anat.* 148:121-135. 1986.
- Koopman Peter, Gubbay John, Vivian Nigel, Goodfellow Peter & Lovell-Badge Robin. Male development of chromosomally female mice transgenic for Sry. *Nature* 351:117-121. 1991.

- Lintern-Moore Sue, Moore G.P.M. **The initiation of oocyte growth in the mouse ovary.** *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 19(5):1399-1407. 1979.
- Mackay Sarah, Bashir A.A. and Birnie D.H. **Primordial germ cells and gonadal development in the golden hamster.** *J. Anat.* 164:155-163. 1989.
- Martino Cesare de and Zamboni Luciano. **Silver methenamine stain for electron microscopy.** *J. Ultrastruct. Res.* 19:273-282. 1967.
- McLaren Anne. **The making of male mice.** *Nature* 351:96. 1991.
- Merchant - Larios Horacio. **Rat gonadal and ovarian organogenesis with and without germ cells. An ultrastructural study.** *Develop. Biol.* 41:1-21. 1975.
- \_\_\_\_\_, **The role of germ cells in the morphogenesis and citodifferentiation of the rat ovary.** pp.453-462. *Prog. Differ. Res.* Ed. N. Müller-Bérat. 1976.
- \_\_\_\_\_, **Ovarian differentiation.** In: *The Vertebrate Ovary . Cap. 2.* pp.47-81. Richard E. Jones Ed. 1978.
- \_\_\_\_\_, **Origin of the somatic cells in the gonad: An autoradiographic approach.** *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 19(4B):1219-1229. 1979.
- \_\_\_\_\_, **Germ and somatic cells interactions during gonadal morphogenesis.** In: *Ultrastruct. Reprod.* pp.19-30. Van Blerkom J. and Motta P.M. Eds. Martinus Nijhoff Publishers, Boston. 1984.
- \_\_\_\_\_ and Chimal-Monroy, J. **The ontogeny of primordial follicles in the mouse ovary.** In: *Develop. Ultrastruc. Reprod.* (P.M. Motta, ed.). Alan R. Liss, Inc. New York, pp.55-63. 1989
- Mizuno T. and Yasugi S. **Susceptibility of epithelia to directive influences of mesenchyme during organogenesis: Uncoupling of morphogenesis and citodifferentiation.** *Cell. Differ. Dev.* 31:151-159. 1990.
- Moore K.L. **Periodo fetal.** *Embriología Clínica.* Cap.6, pp.98-117. 3a.Ed. Nueva Editorial Interamericana. 1987.
- Motta M. Pietro and Makabe Sayoko. **Development of the ovarian surface and associated germ cells in the human fetus.** *Cell Tissue Res.* 226:493-510. 1982.
- Müller Ulrich, Schindler Hubert, Shempp Werner, Schott Klaus and Neuhoff Volker. **Gene expression during gonadal differentiation in the rat: A two-dimensional gel electrophoresis investigation.** *Dev. Genet.* 5:27-42. 1984.
- Odor D. Louise and Blandau Richard J. **Ultrastructural studies on fetal and early postnatal mouse ovaries. II. Citodifferentiation.** *Am. J. Anat.* 125:177-216. 1969.
- Ohno S. and Smith J.B. **Role of fetal follicular cells in meiosis of mammalian oocytes.** *Cytogenetics* 3:324-333. 1964.

- Padykula Helen A. *The Female Reproductive Sistem. Histology cell and Tissue Biology.* Cap.27, pp.582-879. Fifth Ed. Leon Weiss Ed. 1983.
- Paranko Jorma, Pelliniemi Lauri J., Vaheri Antti, Foidart Jean-Michel and Lakkala-Paranko Taina. *Morphogenesis and fibronectin in sexual differentiation of rat embryonic gonads.* Differ. 23(Suppl):S72-S81. 1983.
- \_\_\_\_\_ . *Extracellular matrix and intermediate filament in the morphogenesis of fetal rat internal genitalia.* Academic Dissertation. pp.1-75. 1986.
- Pelliniemi Lauri J., and Lauteala Lauri. *Development of sexual dimorphism in the embryonic gonad.* Hum. Genet. 58:64-67. 1981.
- Peters Hannah, M.D., and Pedersen Torben M.D. *Origin of follicle cells in the infant mouse ovary.* Fertil. & Steril. Vol 18(3):309-313. 1967.
- \_\_\_\_\_ . *Migration of gonocytes into the mammalian gonad and their differentiation.* Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B. 259:91-101. 1970.
- \_\_\_\_\_ . *Folliculogenesis in mammals.* In: *The Vertebrate Ovary.* Cap.4, pp.121-144. Richards E. Jones Ed. 1978.
- Pinkerton John H.M., M.D., McKay Donald G., M.D., Adams Eleanor C., B.A., and Hertig Arthur T., M.D. *Development of the human ovary. A study using histochemical technics.* Obstet. Gynecol. Vol 18(2):152-181. 1961.
- Printz Joseph L., M.D., Choate John W., M.D., Townes Philip L., M.D., and Harper Randall C., M.D. *The embryology of supernumerary ovaries.* Obstet. Gynecol. Vol 41(2):246-252. 1973.
- Reeves G. *Morfología Ovárica, Folliculogénesis y Ovogénesis. En: Reproducción.* Cap.3, pp.213-242. Edgardo Cobo, Guillermo López Escobar y Gregorio Pérez Palacios Eds. Corporación Centro Regional de Población, Bogotá Colombia. 1979.
- Reynolds Edward S. *The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy.* J. Cell Biol. 17:208-212. 1963.
- Richards Joanne S. *Hormonal control of follicular growth and maturation in mammals.* In: *The Vertebrate Ovary.* Cap.9, pp.331-358. Richard E. Jones Ed. 1978.
- Robinson Arthur, Edin C.M. *On the position and peritoneal relation of the mammalian ovary.* J. Anat. Physiol. Vol XXI:169-179. 1887.
- Sadler T.W. *Aparato Urogenital.* Lagman Embriología Médica 5a. Ed. Cap. 15, pp.249-282. Ed. Médica Panamericana. 1986.
- Satoh Masahito. *The histogenesis of the gonad in the rat embryos.* J. Anat. 143:17-37. 1985.
- \_\_\_\_\_ . *Histogenesis and organogenesis of the gonad in human embryos.* J. Anat. 177:85-107. 1991.

- Saunders John W. Jr. Death in embryonic systems. *Science* Vol 154:604-612. 1966.
- Sloan William R. and Walsh Patrick C. Familial persistent mullerian duct syndrome. *J. Urol.* 115:459-461. 1976.
- Stein Larry E. and Anderson H. Conwell. A qualitative and quantitative study of rete ovarii development in the fetal rat: correlation with the onset of meiosis and follicle cells appearance. *Anat. Rec.* 193(2):197-212. 1979.
- Taketo-Hosotani Teruko, Merchant-Larios Horacio, Thau Rosemarie B., and Koide Samuel S. Testicular cell differentiation in fetal mouse ovaries following transplantation into adult male mice. *J. Exp. Zoo.* 236:229-237. 1985.
- Tanimura A. and Iwasawa H. Origin of somatic cells and histogenesis in the primordial gonad of the Japanese tree frog *Rhacophorus arboreus*. *Anat. Embryol.* 180:165-173. 1989.
- Torrey T.W. The development of the urogenital system of the albino rat II. The gonads. *Am. J. Anat.* 76: 375-397. 1945.
- Ullmann S.L. Ovary development in bandicoots: sexual differentiation to follicle formation. *J. Anat.* 165:45-60. 1989.
- Ukeshima Atsumi and Fujimoto Toyooki. A fine morphological study of germ cells in asymmetrically development right and left ovaries of the chick. *Anat. Rec.* 230:378-386. 1991.
- Upadhyay S., Zamboni L. Luciani J.M. The role of the mesonephros in the development gonads and ovaries of the mouse. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 19(4B):1179-1196. 1979.
- Wartemberg H. Development of the early ovary and the role of the mesonephros in the differentiation of the cortex. *Anat. Embryol.* 165:253-280. 1982.
- Watanabe Toshiaki and Endo Akira. Digit development and embryonic weight in mice: analysis of sex-related time difference and mating period-related interlitter variability. *Teratology* 38:157-163. 1988.
- Wessells Norman K. and Rutter William J. Phases in cell differentiation. *Sci. Am.* Vol 220(3):36-44. 1969.
- Witschi E. Gonad development and function. *Embryogenesis of the adrenal and the reproductive glands. Rec. Prog. Hormone Res.* 6:1-23. 1951,
- Wolff Etienne. Specific interactions between tissues during organogenesis. *Curr. Top. Dev. Biol.* 3:65-94. 1968.
- Zamboni L., Bézard Jaqueline, Mauléon P. The role of mesonephros in the development of the sheep fetal ovary. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 19(4B):1153-1178. 1979.

- Zetterqvist, H. The Ultrastructural organization of the columnar absorbing cells of the mouse jejunum. Ph.D. Thesis. Kailinska Institutet, Stockholm. 1956.



## **"Curriculum Vitae"**

**Nombre** María Esthela Morales Pérez

**Fecha y lugar de nacimiento** 30 de Enero de 1951, Monterrey, N.L.

**Nacionalidad** Mexicana

**Escolaridad**

**Primaria** Escuela Monumental "Presidente Abelardo L. Rodríguez". Monterrey, N.L. 1956-1963.

**Secundaria** Escuela Secundaria No.2 "Jesús M. Montemayor". Monterrey, N.L. 1963-1966.

**Bachillerato** Preparatoria No.7. U.A.N.L. San Nicolás de los Garza N.L. 1966-1968.

**Pre-grado (Licenciatura)** Facultad de Medicina, U.A.N.L. 1969-1975.

**Post-grado** Facultad de Medicina, U.A.N.L. 1975-1979.

**Títulos obtenidos**

Médico Cirujano y Partero. U.A.N.L. Enero de 1976.

Maestría en Ciencias, especialidad Morfología. U.A.N.L. Agosto de 1982.

**Docencia**

Instructor de Pre-grado, Laboratorio de Embriología. Facultad de Medicina. U.A.N.L. 1973 a 1977.

Participación en el curso de Embriología aplicada a la Gineco-Obstetricia para los Médicos Residentes de esa especialidad. Facultad de Medicina, U.A.N.L. Febrero-Marzo de 1981.

Participación en el curso de Embriología Humana Avanzada, Programa de Maestría en Ciencias, especialidad Morfología. Facultad de Medicina, U.A.N.L. Septiembre de 1981 a Enero de 1982.

Maestro de Pre-grado de la materia de Neuroanatomía y Endocrinología. Facultad de Psicología, U.A.N.L. Agosto de 1983 a Febrero de 1984.

Maestro de la materia de Anatomía Humana de la carrera de Médico Cirujano y Partero de la Escuela de Medicina de la Universidad de Monterrey. Agosto de 1984 a Enero de 1985.

Participación en el curso diseñado por la Sub-Dirección de Educación Continua como introducción al Examen Nacional de Residencias.Facultad de Medicina,U.A.N.L. Agosto de 1988. Agosto de 1994.

Examen de oposición al puesto de Maestro del Departamento de Embriología.Facultad de Medicina,U.A.N.L.14-15 de Noviembre de 1985.

Nombramiento de Maestro Ordinario por el H.Consejo Universitario de la Universidad Autónoma de Nuevo León. 27 de Junio de 1986.

Participación en el curso de Histología para alumnos de Post-grado de la Maestría en Ciencias,especialidad Morfología. Facultad de Medicina,U.A.N.L. Enero de 1991.

#### Trabajos de Investigación

Morales,M.E. :“Morfogénesis del ovario de la rata blanca (*Rattus n. albinus* ).Tesis de Maestría.Facultad de Medicina,U.A.N.L.Julio de 1982.

Arreola,G.A.,Morales,M.E.,Arreola,M.A.,Lierse,W. Males rat internal genitalia: a Scanning Approach. Acta Anatómica 120 / 1-2. pag.8 (1984).

Arreola,G.A.,Morales,M.E.,Arreola,M.A.,Lierse,W. The rat gubernaculum testis: a Scanning Approach. Aceptado para publicación en Acta Anatómica.Mayo 1985.

Arreola,G.A.,Morales,M.E.,Arreola,M.A. Females rat internal genitalia:A Scanning Approach. Presentado en el XII Internacional Anatomical Congress. London 1985.

Talleres y Cursos de Enseñanza Continua

Taller sobre Introducción a la Sistematización de la Enseñanza y Didáctica de las Ciencias Básicas, impartido por CLATES. Enero de 1980.

Taller de Micro-Enseñanza. Facultad de Medicina, Hospital Universitario, U.A.N.L. Febrero de 1985.

Metodología de la Investigación Científica. Sub-Dirección de Investigación y Estudios de Postgrado de la Facultad de Medicina, U.A.N.L. Septiembre de 1985 a Enero de 1986.

Didáctica de la Enseñanza Superior. Sub-Dirección de Investigación y Estudios de Postgrado de la Facultad de Medicina, U.A.N.L. Marzo-Julio de 1986.

Curso de Inglés. Acreditado el 7o. curso. Departamento de Idiomas. Facultad de Medicina, U.A.N.L. Agosto de 1987.

Curso de Alemán. Acreditado el 5o. curso. Departamento de Idiomas. Facultad de Medicina, U.A.N.L. Septiembre de 1989.

Curso Taller de Redacción de Tesis. División de Estudios de la U.A.N.L., en coordinación con SEP y U.N.A.M. del 8 al 19 de Febrero de 1988 y del 18 al 22 de Abril de 1988.

Otras actividades

Miembro del Jurado para Exámenes de la materia de Embriología Humana de la carrera de Médico Cirujano y Partero. Facultad de Medicina, U.A.N.L.

Miembro del Jurado para Exámenes profesionales de la carrera de Médico Cirujano y Partero. Facultad de Medicina, U.A.N.L.

Miembro de la Comisión de Tesis de la Bióloga Rosa Patricia Penilla Navarro, alumna de la Maestría en Ciencias con especialidad en Morfología. Sub-Dirección de Investigación y Estudios de Post-grado. Facultad de Medicina, U.A.N.L. Examen de Grado Marzo de 1993.

Miembro de la Comisión de Tesis de la M.C.P. Elva Leticia Sáenz Bustamante, alumna de la Maestría en Ciencias con especialidad en Morfología. Sub-Dirección de Investigación y Estudios de Post-grado. Facultad de Medicina, U.A.N.L. Examen de Grado Diciembre de 1993.

Miembro de la Comisión de Tesis de la M.C.P. Ma. Guadalupe Moreno Treviño, alumna de la Maestría en Ciencias con especialidad en Morfología. Sub-Dirección de Investigación y Estudios de Post-grado. Facultad de Medicina, U.A.N.L. Examen de Grado Agosto de 1994.

Asesor de estudiantes de la carrera de Médico Cirujano y Partero, Plan Tutorial. Facultad de Medicina, U.A.N.L. 1993.

#### Asociaciones

Candidato a Investigador Nacional. Sistema Nacional de Investigadores. Julio de 1985-30 de Junio de 1988.

Asociación de Médicas de Nuevo León, A.C. Titular de la Secretaría de Actividades Científico Culturales, Mesa Directiva 1988-1988. Vocal, Mesa Directiva 1991-1992. Vicepresidenta, Mesa Directiva 1992-1993. Presidenta, Mesa Directiva 1993-1994.



