

TRABAJOS CIENTIFICOS DE LA UNIVERSIDAD DE CORDOBA



DONACIÓN
Prof. Dr. Infante Miranda
AÑO 2000

Alteraciones ultraestructurales del ovario irradiado

J. Adame Gamero

DEPOSITO



UNIVERSIDAD DE CORDOBA
CAMPUS RABANALES - BIBLIOTECA

R	6059
K	312152
D	312149

Servicio de Publicaciones
Universidad de Córdoba (España).

Trab. Cient. Univ. Córdoba

No. 5 (1977)

ALTERACIONES ULTRAESTRUCTURALES DEL OVARIO IRRADIADO

Por

J. ADAME GAMERO (1)

RESUMEN

En el presente trabajo, hemos descrito las alteraciones que se presentan en los ovarios de conejas vírgenes, que han sido radiadas con 1.500 r. en una sola dosis y sacrificadas a intervalos de uno, uno y medio, dos, cuatro, ocho, quince, treinta y cuarenta y cinco días.

Las lesiones han sido estudiadas con el microscopio electrónico y han consistido en procesos alterativos del óvulo y células foliculares.

Estas alteraciones del folículo las hemos descrito en los grupos correspondientes a las conejas sacrificadas durante el primer día, día y medio, dos días y cuatro días, tras la radiación y han consistido en marcada destrucción de los componentes celulares del folículo y pérdida total de la zona pelúcida; en tanto que en los días ocho, quince, treinta y cuarenta y cinco después de la radiación, hemos encontrado procesos de formación de falsos cuerpos luteos y formas de reactivación folicular.

PALABRAS CLAVE GENERICAS:

Ultraestructura, ovario, irradiación, anatomía patológica ovario.

(1) Departamento de Histología y Anatomía Patológica, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba, España.

INTRODUCCION

El estudio de las alteraciones subcelulares que se producen con la utilización de las radiaciones, cada día más empleadas en el campo de la medicina es de gran interés cuando se aprecian sobre los órganos germinativos, dentro de la ginecología. Dichas observaciones ya fueron realizadas desde principio de siglo por LACASSAGNE (1913) entre otros, pero sus descripciones se hicieron con microscopía óptica y no con la profundidad que hoy día, gracias al microscopio electrónico, se pueden conseguir.

Con el microscopio óptico se habían observado alteraciones en la arquitectura general del folículo, su destrucción, su reactivación, etc., pero detalles subcelulares de estos folículos, tanto a nivel de sus membranas como de sus organoides no eran posibles al necesitar de mayores aumentos y esto se ha podido conseguir con el microscopio electrónico.

En este trabajo, vamos a describir las lesiones producidas por las radiaciones de rayos-X en los ovarios de las conejas vírgenes y adultas. Para ello, se ha estudiado la arquitectura general del folículo y su membrana basal, y dentro del folículo los organoides nucleares y citoplasmáticos.

REVISION BIBLIOGRAFICA

Con el microscopio óptico las primeras descripciones sobre el ovario irradiado de coneja corresponde a HALBERSTAETER y BERGONIE (1905), posteriormente ampliadas por LACASSAGNE (1913). Radiosensibilidad semejante a la existente en la coneja había sido puesta de manifiesto por REIFFERCHEID (1910) en el mono. GENTHER (1931) comprobó dichos resultados en el conejillo de India y DRIPS y FORDS (1932) en la rata. Con similares resultados fueron estudiados los ovarios tratados con radium, en la especie humana por MATEWS (1923).

Más recientemente han sido investigados los diversos organoides celulares, las mitocondrias, el retículo endoplásmico y el complejo de Golgi. Por SANDRITTER (1967), DUSTIN (1969) y POLICARD y BESSIS (1968), la zona pelúcida por BACA y ZAMBONI (1967), y el núcleo por POLICARD y BESSIS (1968) y DUSTIN (1969).

MATERIAL Y METODOS

Como material de estudio en el presente trabajo hemos empleado conejas de raza parda gigante, vírgenes y adultas de 3 a 4 meses y con un peso aproximado de 2 a 2 y medio Kg. El número total de animales utilizados fue de 54, lo que permitió estudiar 108 ovarios. Siendo distribuidos estos conejos en 9 lotes de 6 animales cada uno.

Estos animales fueron obtenidos del mismo criadero, a los dos meses de nacimiento y colocados en idénticas condiciones ambientales y de alimentación, procurando que estuvieran en un sitio aislado de todo influjo del macho para evitar ovulaciones provocadas.

A los 15 días de su aislamiento se procede a fijarles los ovarios a la anterior pared abdominal, con el fin de que todos los ovarios reciban dosis muy similares de irradiación. Para ello, se coloca el animal sobre un marco rectangular, con sus cuatro extremidades fijas al mismo y, una vez anestesiado se dispone en posición Tredemburg acentuada, con el fin de que en las espiraciones no se eventren las asas intestinales. Una vez abierta la cavidad abdominal y visualizados los ovarios, se procede a fijarles, con lino, los ligamentos tubo-ováricos a un punto fijo de la pared abdominal, que posteriormente nos va a servir de referencia para sobre él, hacer incidir el foco de rayos-X, pero cuidando que dichos ovarios no toquen la pared abdominal, pues si así ocurriese, se produce una reacción peritoneal en este punto que termina englobándolos en el tejido cicatricial y haciendo posteriormente muy difícil la identificación del tejido ovárico en las muestras tomadas. A continuación se cierra la pared abdominal catgut crómico.

Dos semanas después de dicha intervención se sacrifican seis conejas de las recogidas para la prueba; las que van a servir de lote testigo. Son extraídos sus ovarios y tras ser fijados, incluidos, cortados y contrastados, son estudiados con el microscopio electrónico con el fin de comprobar si se habían producido algunas alteraciones por su desituación. Siendo las imágenes obtenidas totalmente idénticas a las observadas por nosotros, procedentes de conejas sin modificación topográfica de sus ovarios (ADAME y COL, 1974).

Inmediatamente después de este control, hemos procedido a la irradiación. Para ello, se fija la coneja en un marco cuadrangular por sus cuatro extremidades, este marco a su vez se fija a la mesa del aparato de rayos-X, por contacto directo, de la cabeza de dicho aparato a la pared abdominal, con el fin de que los ovarios queden a 40-50 cm. de distancia de la fuente generadora de rayos-X, se procede a la irradiación; para ello hemos empleado un voltaje de 230 kilovoltios, una intensidad de 15 miliamperios y un filtro de 1 mm. de Cu., con lo que se obtiene en 18 minutos y 45 segundos la cantidad de 1.500 r.

Los sacrificios de los lotes de conejas se realizan de la forma siguiente: 2.º lote a las 24 horas post-radiación; 3.º a las 36 horas; 4.º a las 48 horas; 5.º a las 96 horas; 6.º a los 8 días; 7.º a los 15 días; 8.º a los 30 días y 9.º a los 45 días.

Para ello y sujeto el animal por sus cuatro extremidades a los ángulos de la mesa operatoria, se anestesia con éter y se realiza la extracción de los ovarios para sumergirlos

inmediatamente en glutaraldehído contenido en una placa de Petri. En el interior de dicha placa se trocean, en tres fragmentos lo más finos posible (de alrededor de dos milímetros de espesor como máximo), tratando que las porciones incluyan el mayor número de folículos.

Las muestras se fijan en glutaraldehído al 5 % tamponado, según el proceder de SABATTINI y cols., y se refija después en tetróxido de osmio.

Una vez refijadas las piezas se incluyen en DURCUPAN A.C.M. (araldita), para después realizar los cortes con un grosor alrededor de 500 Å, con un Ultramicrotomo (Ultratome L.D.B. III).

Realizados los cortes, las muestras fueron contrastadas con citrato de plomo.

La visualización de las piezas y el electrografado se han obtenido con un microscopio electrónico PHILIPS, modelo 300.

RESULTADOS Y DISCUSION

Para mejor exposición de los resultados hemos dispuesto los distintos lotes en tres grupos por presentar alteraciones similares:

El grupo primero lo componen los lotes: 2.^o, 3.^o, 4.^o y 5.^o.

El grupo segundo lo componen los lotes: 6.^o, 7.^o y 8.^o.

Y el grupo tercero lo componen el lote: 9.^o.

PRIMER GRUPO. Las alteraciones que hemos encontrado en el primer grupo son de tipo degenerativo, siendo más acentuadas conforme nos acercamos al lote 5.^o. Dichas alteraciones se aprecian tanto en la distribución arquitectónica de los folículos, como a nivel de los orgánulos celulares.

A) FOLICULO PRIMARIO.— En los folículos primarios las alteraciones son más acentuadas si éstos han estado situados en lugares donde han incidido con mayor intensidad la radiación; por lo tanto, estudiaremos dos tipos de folículos primarios, unos con grandes alteraciones y otros prácticamente destruidos.

1) En el primero de los casos observamos al ovocito con un núcleo voluminoso en posición central y de escasa cromatina. Cuya alteración principal consiste en presentar un nucleolo con una primera fase de vacuolización de la masa nucleolar, mientras en una segunda existe una total separación entre la porción fibrilar y la porción granular, incluso puede llegarse a la desaparición total de la porción granular y desintegración de la porción fibrilar (fig. 1).

En el citoplasma, uno de los organoides más afectados en su complejo de Golgi (Fig. 2); experimenta en un principio un fraccionamiento con posterior desintegración del mismo, hasta tal punto que en ocasiones está representado sólo por restos de vesículas. Alteración ésta, que va a influir en los folículos secundarios en la "no" presencia de la zona pelúcida; de acuerdo con la idea de Baca y Zamboni, al considerar al complejo de Golgi, como precursor de la zona pelúcida.

Sus mitocondrias toman un aspecto muy característico, al presentar la mayoría de ellas forma globular y sus crestas disponerse de forme concéntrica, proceso conocido con el nombre de degeneración en "huella dactilar" (Sandritter 1967). Estas alteraciones mitocondriales las encontramos sobre todo en los lotes 2.^o y 3.^o; en tanto que hacia los lotes 4.^o y 5.^o son muy numerosas las figuras de mielina y su desintegración parcial, (fig. 3).

El retículo endoplásmico, a nivel del ovocito, se dispone de forma muy irregular, ya que mientras unas veces adoptan forma de estratificación concéntrica, otras lo hacen a modo de bandas paralelas, entre las que se observan una serie de vesículas tapizadas por formaciones membraniformes de morfología variable y sin contenido aparente (fig. 4).

2) En el segundo tipo de folículos primarios, aquéllos que se encuentran más afectados, se caracterizan porque el ovocito muestra un núcleo muy desplazado hacia un

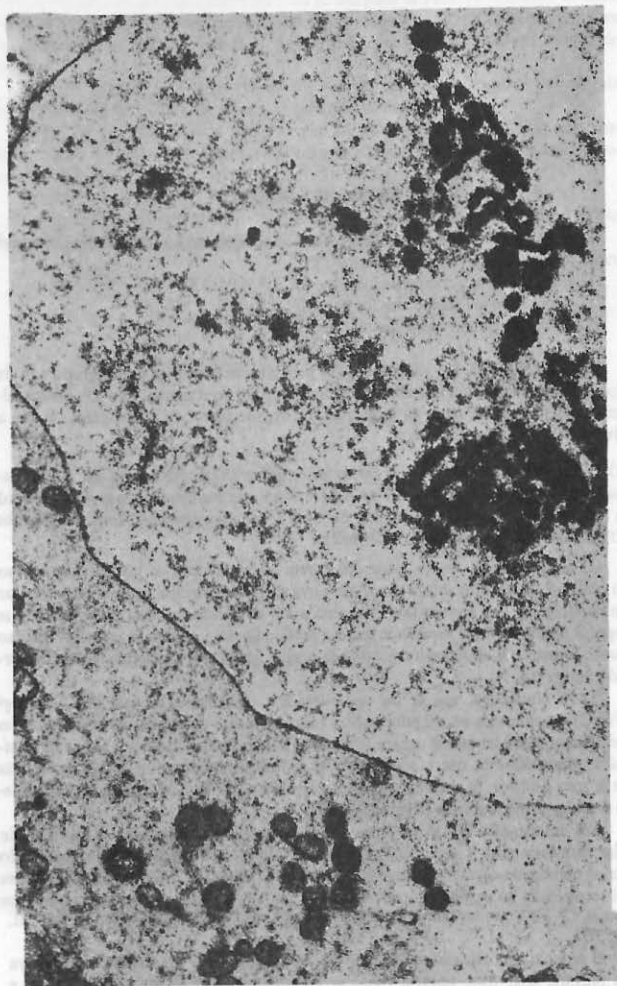


FIGURA 1. Se observa fraccionamiento de la pars fibrilar del nucleolo.
34.200 ϕ .

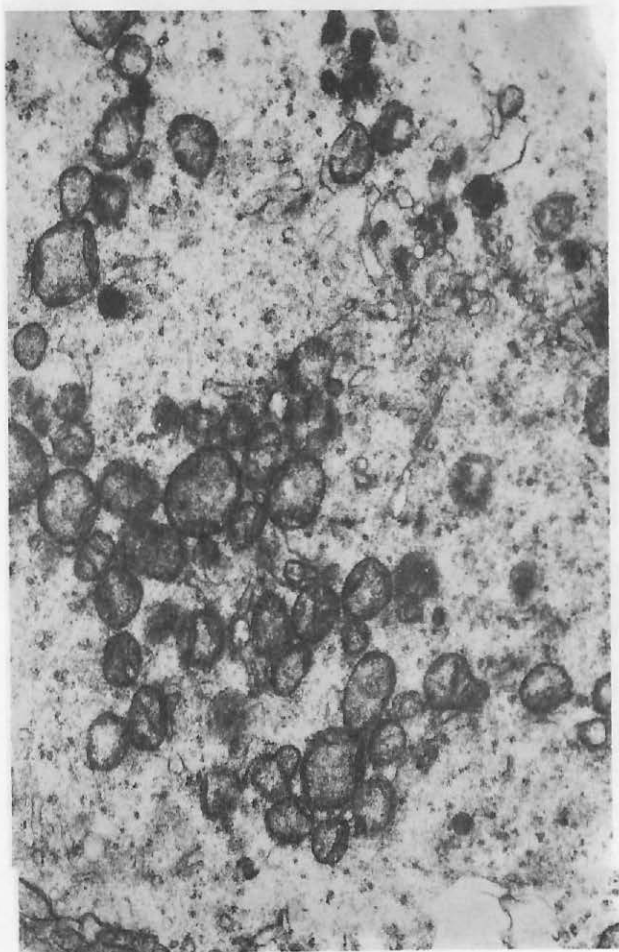


FIGURA 2. Se observa el fraccionamiento del complejo de Golgi en el ovocito del folículo primario.
18.500 ϕ .

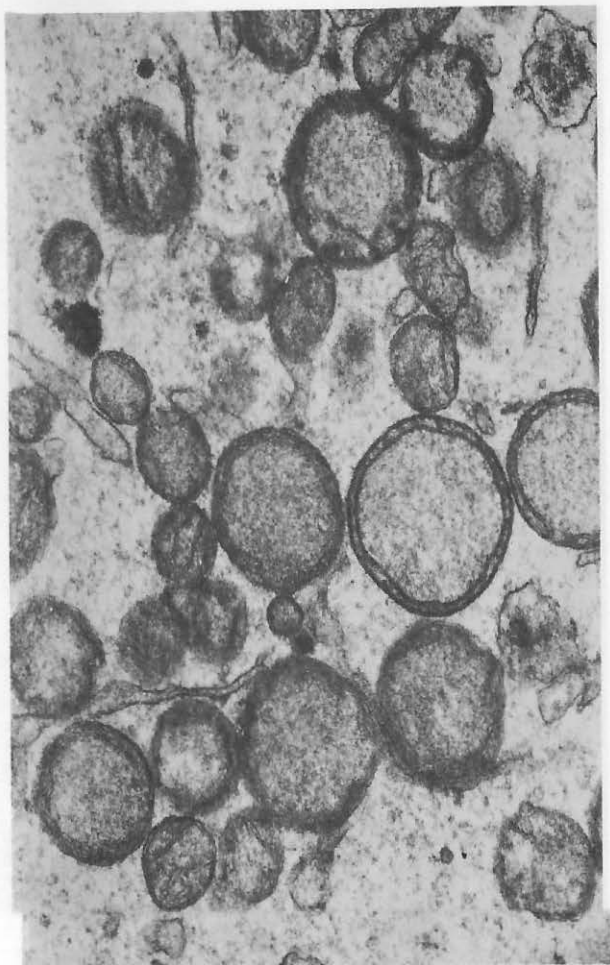


FIGURA 3. Folículo terciario. Se observan las crestas mitocondriales distribuidas concéntricamente.
92.340 ϕ .

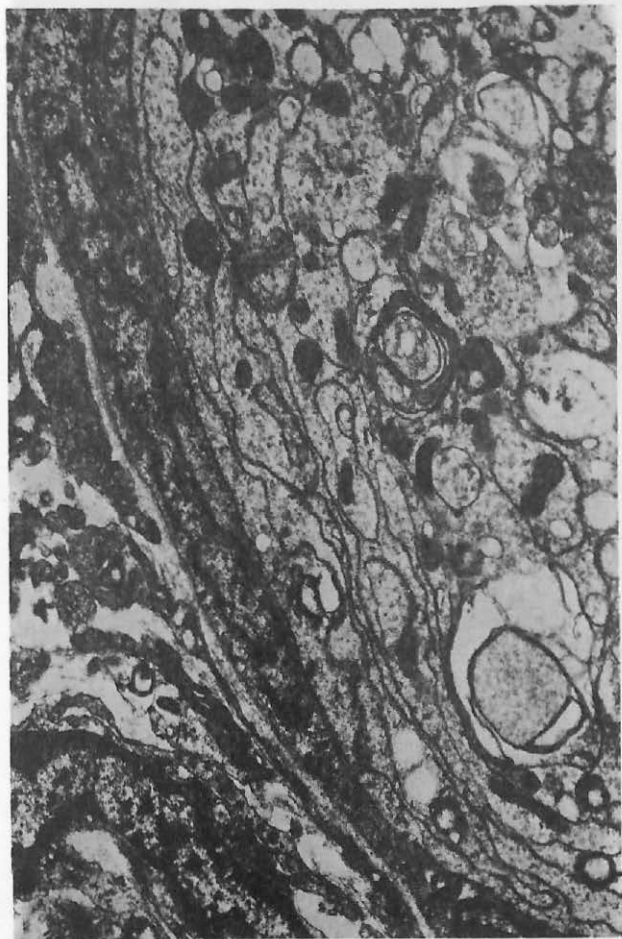


FIGURA 4. Folículo primario. Se observa la presencia del elemento membraniforme de distribución concéntrica.
23.256 ϕ .

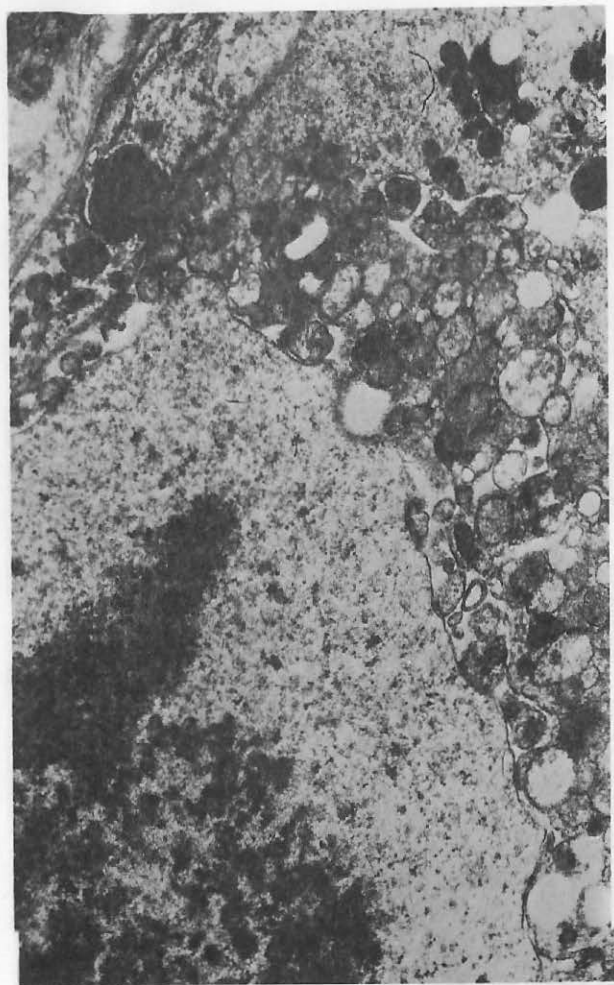


FIGURA 5. Se observa en el ovocito los organoides distribuidos en acúmulos. Sin apenas reconocerse sus estructuras.
28.094 ϕ .

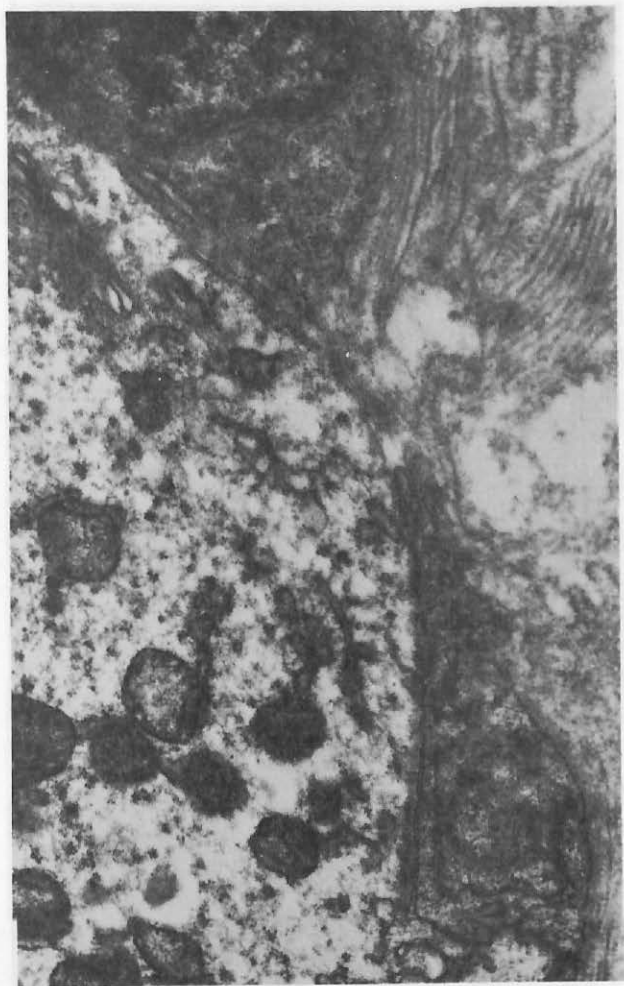


FIGURA 6. Folículo primario. Se observa el óvula contactando con la membrana basal del folículo.
23.256 ϕ .

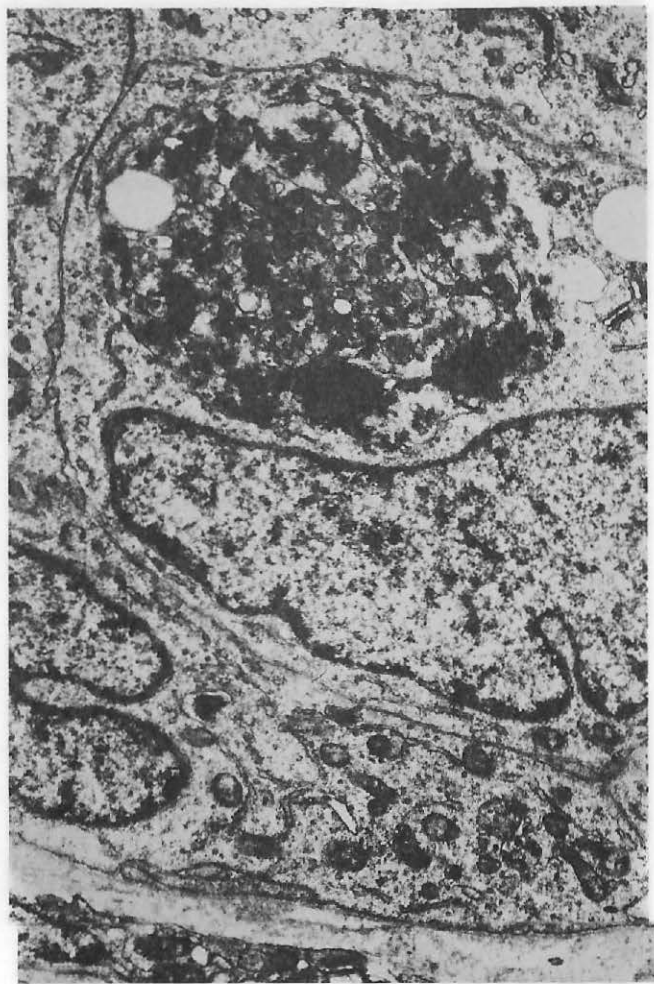


FIGURA 7. Folículo terciario. A nivel de las células foliculares, se observan vacuolas autofágicas.
34.200 ϕ .

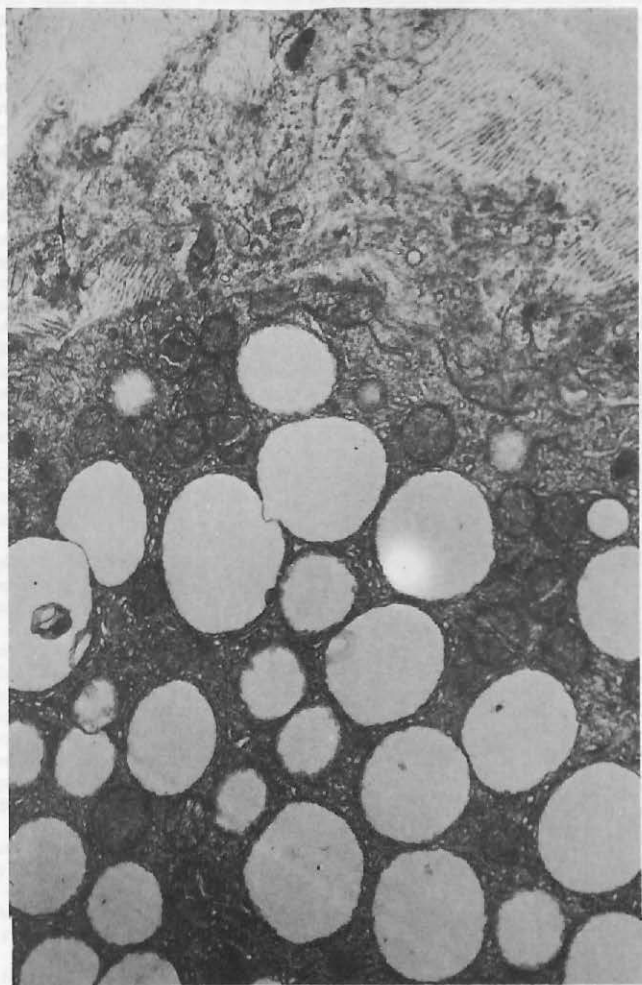


FIGURA 8. Se observa un aumento en todo el campo de fibras de colágena.
54.720 ϕ .

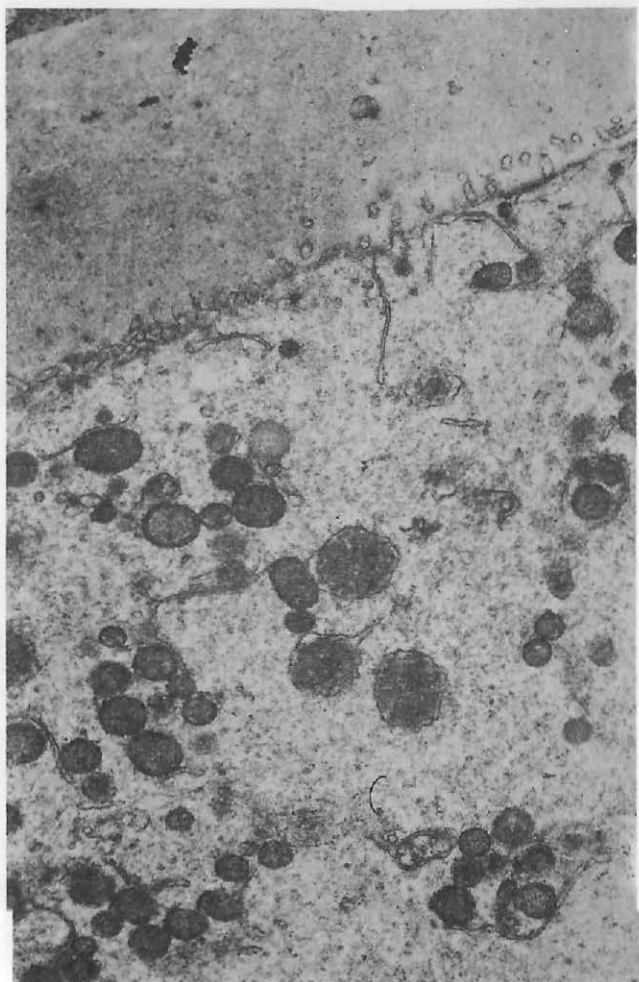


FIGURA 9. Folículo terciario en regeneración.
34.200 ϕ .

polo celular y con cambios interesantes en su morfología, como reducción de su volumen, por lo que su superficie se hace irregular y la cromatina disminuye en cantidad. También apreciamos nucleolisis.

Los organoides citoplasmáticos se encuentran desplazados hacia el polo opuesto al que está el núcleo, destacando sobre todo el proceso alterativo de su retículo endoplásmico, que se dispone mostrando dilataciones de sus cisternas. Igualmente del tipo alterativo se presentan muy alteradas sus mitocondrias y prácticamente es inexistente su complejo de Golgi.

B) FOLICULO SECUNDARIO.— En los folículos secundarios de este primer grupo, las alteraciones son más acusadas que las anteriormente descritas en el folículo primario, tanto a nivel de la arquitectura del folículo como de los orgánulos celulares, a los que hemos de agregar un dato ya apuntado, el escaso desarrollo de la zona pelúcida. Pues como ya indicáramos anteriormente, y debido al fraccionamiento y posterior desintegración del complejo de Golgi, en el transcurso de maduración de dicho folículo sólo observamos una pequeña relación de la corona ovular con el óvulo, mediante una serie de prolongaciones digitiformes, pero sin engarzarse ninguna de ellas a la sustancia de la zona pelúcida, ya que ésta es prácticamente inexistente. Aunque hemos de hacer notar que de forma muy irregular se pueden apreciar algunas formaciones de zona pelúcida, distribuidas en pequeños acúmulos de forma aislada y se caracterizan por presentar escasa densidad electrónica.

C) FOLICULO TERCARIO.— Y por último, localizamos los folículos terciarios inmersos en el interior del parénquima cortical. Son las estructuras más alteradas de todo el ovario.

La arquitectura folicular está francamente alterada, con folículos en donde el citoplasma ovular parece envolver a las células foliculares. Mientras los organoides del óvulo se muestran reunidos en acúmulos y en muchos casos, casi no se reconocen sus estructuras, (fig. 5).

Las células foliculares, (fig. 6), normalmente rodean al óvulo, pero existen territorios en los que se aprecia una pérdida de continuidad, permitiendo que el óvulo pueda llegar a contactar con la membrana basal del folículo. Su núcleo es de superficie muy irregular y cromatina también irregularmente repartida, con un nucleolo en el que se aprecian las alteraciones ya reseñadas en el ovocito primero. Su citoplasma está muy vacuolizado, característica de todo síndrome post-radiación, siendo difícil identificar en él los organoides citoplasmáticos, entre los que destaca el complejo de Golgi, que presenta fraccionamiento y la presencia de unas granulaciones muy polimorfas y de gran tamaño (vacuolas autofágicas) (Fig. 7).

Las alteraciones que hemos encontrado en el primer grupo, tienen correspondencia con las estudiadas al microscopio de luz por LACASSAGNE (1913), utilizando rayos-X y ZALAZAR (1932), con diversos agentes lesivos.

Igualmente hemos encontrado nucleolisis similar a la descrita por CARLSON y MAC MASTER (1951) con el microscopio de luz, empleando radiaciones ionizantes y calor.

También hemos observado, como lo hicieron BACA y ZAMBONI (1967), la escasa formación de la zona pelúcida, por alteración y a veces, casi desaparición del complejo de Golgi. Y, disposición concéntrica del retículo endoplásmico y de las crestas mitocondriales como los describiera ESCOURELLE (1971) y que SANDRITTER (1967) le dio la denominación en huella dactilar.

SEGUNDO GRUPO. El segundo grupo de la presente experiencia, lo constituyen los lotes 6.^o, 7.^o y 8.^o que corresponden a los días 8, 15 y 30 post-radiación. Concretamente se caracterizan por la desaparición parcial de unos falsos cuerpos lúteos.

Estos, se distribuyen en grandes acúmulos, rodeados por una fuerte banda de fibras de colágena, (fig. 8). Constituidos por células de luteina totalmente atípicas, de gran tamaño y muy polimorfas, presentando en posición central un núcleo muy voluminoso y rico en cromatina, con un nucleolo de gran tamaño.

Su hialoplasma es muy denso e inmerso en él, encontramos gran cantidad de ribosomas, y retículo endoplásmico de tipo liso. Se caracterizan estas células por tener en su citoplasma numerosas vesículas grasas de pequeño tamaño. Son numerosas sus mitocondrias, de pequeño tamaño y gran densidad electrónica en su matriz mitocondrial. También hemos de hacer notar la presencia de células gigantes.

En el segundo grupo las células de los falsos cuerpos lúteos, presentan alteraciones similares, en el citoplasma y núcleo, a las encontradas por REGAUD y LACASSAGNE (1913), con el microscopio de luz. Y, la intensa vacuolización es significativa de todo proceso post-radiación como señalara HALBERSTAETER (1906) con microscopía óptica en los tratamientos de tumores malignos por radiación.

TERCER GRUPO. Lo constituye el lote 9.^o que corresponde a los 45 días post-radiación, y se caracteriza:

— Por una disminución de los falsos cuerpos lúteos.

— Pero sobre todo por la aparición de fenómenos de reactivación de los folículos que tras la radiación permanecieron en estado de latencia, como ya los observaron en 1956 VANECK y colaboradores.

En estos folículos, de nuevo se aprecia una gruesa banda de zona pelúcida alrededor del óvulo, en la que se encuentran inmersas escasas y pequeñas formaciones digitiformes de su membrana plasmática. En cambio, no hemos encontrado relación íntima de las células de la corona ovular con la zona pelúcida; ya que estas células presentan una única y fina prolongación citoplasmática que rodea solamente a la zona pelúcida, (fig. 9).

La morfología tanto del elemento ovular como de las células foliculares de estos folículos en reactivación son aparentemente normales.

Las regeneraciones que hemos observado en el tercer grupo están de acuerdo con los señalados por LACASSAGNE (1913) y comprobados por VANECK y COLS. (1956), con el microscopio de luz.

FINE ULTRASTRUCTURAL ALTERATIONS OF IRRADIATED OVARY

SUMMARY

In the current investigation, we have described the mutations manifested in the ovaries of virgin rabbits, which have been subjected to radiation of 1.500 r. in a single dose and subsequently killed at intervals of one, one and a half, two, four, eight, fifteen, thirty and fortyfive days.

The lesions have been examined under an electronic microscope and have consisted of alterative processes in the ovule and follicular cells.

We have described these follicular variations in the groups corresponding to the rabbits killed during the first day, day and a half, two days and four days after the radiation, and they have consisted of a marked destruction of the cellular components of the follicle and total loss of the pellucid zone; while on the eighth, fifteenth, thirtieth and fortyfourth day after radiation we have found processes of formation of false luteus bodies and forms of follicular reactivation.

INDEX KEY WORDS:

Ovary, Irradiation, ultrastructure.

BIBLIOGRAFIA

- ADAME GAMERO, J. y COL., 1974.— Estudio Ultraestructural del ovario de coneja, Arch. Zootecnia, 23: 151-169.
- ALBERS-SCHONBERG, 1909.— Die Röntgentherapie in der Gynäkologie. Münch. med. Wschr. 56: 955-957.
- BACA, M. y ZAMBONI, L., 1967.— The fine structure of human follicular oocytes. J. Ultras. Research. 19: 354-81.
- BEAUMONT, H.M., 1961.— The radiosensitivity of oogonia and oocytes in the foetal rat. Int. J. Radiation Biol. 3: 59-72; 1962, *ibid*, in the pres.
- BERGONIE, J., TRIBONDEAU, L. and RECAMIER, D., 1905.— Action des rayons X sur l'ovaire de la lapine. C.R. Soc. Biol. Paris, 58: 284-286.
- BERGONIE, J. and TRIBONDEAU, L., 1907 a.— Processus involutif des follicules ovariens après roentgenisation de la glande génitale femelle. C.R. Soc. Biol., Paris, 62: 105-108.
- BERGONIE, J. and TRIBONDEAU, L., 1907 b.— Altération de la glande interstitielle après roentgenisation de l'ovaire. C.R. Soc. Biol., Paris, 62: 274-277.
- BERGONIE, J. and TRIBONDEAU, L., 1908.— Note relativa à l'influence des rayos X sur la fécondité des lapines. C.R. Soc. Biol., Paris, 63: 478-480.
- BONILLA, F., 1959.— Roentgenterapia funcional ginecológica. Editorial Faceta. Valencia.
- BOTELLA LLUSIA, J., 1965.— Enfermedades del aparato genital femenino. Editorial Científico-Médica. Barcelona.
- BOUIN, P., ANCEL, P. and VILLEMIN, F., 1906.— Sur la physiologie du corps jaune de l'ovaire. Recherches faites à l'aide des rayons X. C.R. Soc. Biol., Paris, 61: 417-419.
- BRAMBELL, F.W.R., 1927.— The development and morphology of the gonads of the mouse. Part I. The morphogenesis of the indifferent gonad and of the ovary. Proc. roy. Soc. B, 101: 391-408.
- BRAMBELL, F.W.R. and PARKES, A.S., 1927.— Changes in the ovary of the mouse following exposure to X-Rays. Part III. Irradiation of the non-parous adult. Proc. roy. Soc. B, 101: 316-328.
- BRAMBELL, F.W.R. and PARKES, A.S., 1930.— Compensatory hypertrophy of the untreated ovary after unilateral X-ray sterilisation. Proc. roy. Soc. B, 105: 36-42.
- BRAMBELL, F.W.R., PARKES, A.S. and FIELDING, U., 1927.— Changes in the ovary of the mouse following exposure to X-rays. Part. II. Irradiation at of before birth. Proc. roy. Soc. B, 101: 95-114.

- CALATRONI, J., 1946.— Terapéutica ginecológica. El Ateneo. Buenos Aires.
- CONILL MONTUBIO, V., 1960.— Tratado de Ginecología y Técnica Terapéutica Ginecológica. Editorial Labor, S.A. Barcelona.
- CHANG, M.C., HUNT, D.M. and ROMANOFF, E.B., 1958.— Effects of radiocobalt irradiation of unfertilized rabbit ova in vitro on subsequent fertilization and development in vivo. *Anat. Rec.* 132: 161-179.
- DESAIVE, P., 1935.— Effects des doses fractionnées de rayons X sur la morphologie de l'ovaire de la pigne adulte. Essai d'interprétation statistique des phénomènes observés. *Arch. Biol., Paris*, 46: 429-473.
- DESAIVE, P., 1940.— "Contribution Radiobiologique à l'Etude de l'Ovaire". Thèse d'agrégation, Liège.
- DESAIVE, P., 1941.— Contribution radiobiologique à la démonstration de la fixité dans l'ovaire de lapine adulte, des sources de développement folliculaire. *Acta neerl. morph.* 4: 10-30.
- DESAIVE, P., 1957.— Restoration of primordial follicles in the irradiated ovary. In "Advances in Radiobiology" (C.G. de Hevesy, A. G. Forsberg and J.D. Abbott, eds.), pp. 274-280. Oliver and Boyd, London.
- DRIPS, D.G. and FORD, F.A., 1932.— The study of the effects of roentgen rays on the estrual cycle and the ovaries of the whilerat. *Surg. Gynec. Obstet.* 55: 596-606.
- DUSTIN, P., 1969.— Leçons d'anatomie pathologique générale. Paris.
- ESCOURELLE, R. et SZNAJDER, 1969.— Correlations anatomiques, electromyographiques et cliniques a propos de 200 biopsies de muscles des ceintures, in: Les Atteintes des muscles des Ceintures chez l'Adulte (L'Expansion Scientifique Francaise, edit.), Paris, 1969.
- FORD, F.A., 1933.— Effect of irradiation on the ovary of the striped gopher (*Spermophilus citellus tridecemlineatus*). *Radiology*, 21: 42-46.
- FELS, E., 1935.— Ergebnisse experimentelles Eierstocks-und Nierenbestrahlung bei der weissen Ratte. *Strahlentherapie*, 54: 279-293.
- FORDS, F.A. and DRIPS, D.G., 1929.— Clinical and experimental studies of low dosage irradiation of the ovaries and hypophysis in menstrual disorders. *Radiology*, 12: 394-402.
- FRITSCHI, G., 1927.— Quantitative histologische Untersuchungen am normalen Ovar und am Röntgenovar des Meerschweinchens. *Acta radiol., Stockh.* 8: 209-239.
- GENTHER, I.T., 1931.— Irradiation on the ovaries of guinea-pigs and its effect on subsequent pregnancies. *Amer. J. Anat.* 48: 99-137.
- GENTHER, I.T., 1934.— X-irradiation of the ovaries of guinea-pigs and its effect on subsequent pregnancies. *Amer. J. Anat.* 55: 1-45.
- GILBERT, R. and EGHIAN, A., 1928.— Contribution à l'étude des troubles de la ménopause roentgenienne. Comparaison avec les troubles des ménopauses chirurgicales. *Acta radiol., Stockh.* 9: 411-433.
- GRICOUROFF, G., 1929.— Etude histologique de l'action des rayons X sur l'ovaire à la période d'ovogénèse. *Radiophysiol. et Radiothér.* 2: 1-80.

- HALBERSTAEDTER, L., 1905.— Einwirkung der Röntgenstrahlen auf Ovarien. *Berl. Klin. Wschr.* 42: 64-66.
- HALBERSTAEDTER, L. and ICKOWIEZ, M., 1947.— The early effects of X-rays on the ovary of the rat. *Radiology*, 48: 369-373.
- HUMPHREYS, E.M. and ZUCKERMAN, S., 1954.— Unilateral ovariectomy after X-irradiation of the ovary. *J. Endocrin.* 10: 155-166.
- INGRAM, D.L., 1958.— Fertility and oocyte numbers after X-irradiation of the ovary. *J. Endocrin.* 17: 81-90.
- KAPLAN, I.I., 1948.— The use of high voltage roentgen therapy in the treatment of amenorrhea and sterility in women. *Amer. J. Roentgenol.* 59: 370-377.
- KAPLAN, II., 1954.— Third generation follow up of women treated by X-ray therapy for menstrual dysfunction and sterility twenty eight years ago, with detailed histories of the grandchildren born to these women. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 67: 484-490.
- LACASSAGNE, A., 1913.— "Etude Histologique et Physiologique des Effects Produits sur l'ovaire par les Rayons X". Thèse Médecine, Lyon.
- LACASSAGNE, A., 1929.— Action des rayons X de grande longueur d'onde sur les microbes. Etablissement de Statistiques précises sur la mortalité des bacteries irradiées. *C.R. Acad. Sci., Paris*, 188: 200-202.
- LACASSAGNE, A., 1936.— Untersuchungen über die Radiosensibilität des Corpus luteum und der Uterusschleimhaut mit Hilfe eines Künstlich erzeugten Deziduoms beim Kaninchen. *Strahlentherapie*, 56: 621-625.
- LACASSAGNE, A., 1937.— Etude de la radiosensibilité du corps jaune et de la muqueuse utérine au moyen du décidoume artificiel chez la lapine. *Radophysiol. et Radiothér.* 3: 315-322.
- LACASSAGNE, A., 1946.— The influence of wavelengths on certain lesions produced by the irradiation of mice. *Proc. R. Soc. Med.* 39: 605-612.
- LACASSAGNE, A. and COUTARD, H., 1923.— De l'influence de l'irradiation des ovocytes sur les fécondations et les gestations ultérieures. *Gynéc. et Obstét.* 7: 1-25.
- LACASSAGNE, A. and GRICOUROFF, G., 1956.— "Action of Radiation on Tissue, an Introduction to Radiotherapy". Grune and Stratton, New York.
- LEVINE, W.T. and WITSCHI, E., 1933.— Endocrine reactions in female rats after X-ray treatment of the ovaries. *Proc. Soc. exp. Biol., N.Y.* 30: 1152-1153.
- LIPSCHUTZ, A., 1950.— "Steroid Hormones and Tumors". Williams & Wilkins, Baltimore.
- MANDEL, J., 1935.— An experimental study of ovarian irradiation and transplantation in the rat. *Anat. Rec.* 61: 295-309.
- MANDEL, J. and GRISEWOOD, E.N., 1934.— Ovarian irradiation and sexual precocity in the rat. *Proc. Soc. exp. Biol., N.Y.* 32: 155-157.
- MANDL, A.M., 1959 a.— A quantitative study of the sensitivity of oocytes to X-irradiation. *Proc. roy. Soc. B*, 150: 53-71.

- MANDL, A.M., 1959 c.— The oestrous cycle of the adult rat after X-ray sterilization. *J. Endocrin.* 18: 426-433.
- MANDL, A.M., 1959.— Mating behaviour of the adult rat after X-ray sterilization. *J. Endocrin.* 18: 434-437.
- MANDL, A.M. and SUCNERMAN, S.A., 1956 a.— The reactivity of the X-irradiated ovary of the rat. *J. Endocrin.* 13: 243-261.
- MANDL, A.M. and ZUCKERMAN, S., 1956 b.— Changes in the mouse after X-ray sterilization. *J. Endocrin.* 13: 262-268.
- MANDL, A.M. and ZUCKERMAN, S., 1961.— X-ray sterilization of immature female rats. *J. Endocrin.* 23: 179-192.
- MATTEWS, H., 1923.— The effect of radium upon the ovary. An experimental, pathological and clinical study. *Surg. Gynec. Obstet.* 38: 383-393.
- MINTZ, B., 1958.— Irradiation of primordial germ cells in the mouse embryo. *Anat. Rec.* 130: 341.
- MURPHY, D.P., 1929.— Radium sterilization of the female albino rat (*Mus norvegicus*). *Surg. Gynec. Obstet.* 48: 440-446.
- MURRAY, J.M., 1931.— A study of the histological structure of mouse ovaries following exposure to Roentgen irradiation. *Amer. J. Roentgenol.* 25: 1-46.
- PARKES, A.S., 1927 a.— On the occurrence of the oestrous cycle after X-ray sterilisation. Part II. Irradiation at or before birth. *Proc. roy. Soc. B.* 101: 71-95.
- PARKES, A.S., 1927 b.— On the occurrence of the oestrous cycle after X-ray sterilisation. Part. III. The periodicity of oestrus after sterilisation of the adult. *Proc. roy. Soc. B.* 101: 421-499.
- PARKES, A.S., 1928.— On the occurrence of the oestrous cycle after X-ray sterilisation. Part IV. Irradiation of the adult during pregnancy and lactation; a general summary. *Proc. roy. Soc. B.* 102: 51-62.
- POLICARD, A. et BESSIS, M., 1968.— *Éléments de pathologie cellulaire.* Masson. Paris.
- RAKOFF, A.E., 1956.— The endocrine effects of low-dosage irradiation to the ovaries and pituitary of anovulatory women. *J. clin. Endocrin.* 16: 969.
- REGAUD, C. and LACASSAGNE, A., 1913 a.— Sur les conditions de la stérilisation des ovaires par les rayons X. *C.R. Soc. Biol., Paris.* 74: 793-786.
- REGAUD, C. and LACASSAGNE, A., 1913 b.— Sur les processus de la dégénérescence des follicules dans les ovaires röntgenisés de la lapine. *C.R. Soc. Biol. Paris.* 74: 869-871.
- REGAUD, C. and LACASSAGNE, A., 1913 c.— Sur la radiosensibilité (aux rayons X) des cellules épithéliales des follicules ovariens, chez la lapine. *C.R. Soc. Biol., Paris.* 74: 1308-1311.
- REGAUD, C. and LACASSAGNE, A., 1913 d.— Sur l'évolution générale des phénomènes déterminés dans l'ovaire de la lapine par les rayons X. *C.R. Soc. Biol., Paris.* 74: 601-604.
- REIFFERSCHIED, K., 1910.— Histologische Untersuchungen über die Beeinflussung menschlicher und tierischer Ovarien durch Röntgenstrahlen. *Z. Röntgenk.* 12: 233-254.

- ROBINSON, M.R., 1927.— The effect of a castration dose of roentgen rays upon the rabbit ovary. An experimental study with a clinical evaluation of the problem of ovarian irradiation. *Amer. J. Roentgenol.* 18: 1-25.
- RUGH, R. and JACKSON, S., 1958.— Effect of fetal X-irradiation upon the subsequent fertility of the offspring. *J. exp. Zool.* 138: 209-221.
- SANDRITTER, W., 1967.— *Lerhbuch und Atlas für Studierende und Ärzte.* F.K. Schattner-Verlag Stuttgart.
- SCHMIDT, I.G., 1936.— The excretion of theelin in the urine of guinea pigs with irradiated ovaries. *Anat. Rec.* 64: 255-266.
- SCHMIDT, I.G., 1936.— Changes in the genital tracts of guinea pigs associated with cystic and "interstitial gland" ovaries of long duration. *Endocrinology*, 24: 69-81.
- SPECHT, O., 1906.— Mikroskopische Befunde an röntgenisierten Kaninchenovarien. *Arch. Gynäk.* 78: 458-472.
- STEINACH, E. and HOLZKNECHT, G., 1917.— Erhöhte Wirkungen der inneren Sekretion bei Hypertrophie der Pubertätsdrüsen. *Arch. EntwMech. Org.* 42: 490-498.
- VAN-ECK, G.J.V., 1956.— Neo-ovogenesis in the adult monkey. Consequences of atresia of oocytes. *Anat. Rec.* 125: 207-224.
- VAN-ECK, G.J.V. and FREUD, J., 1949 a.— I. Structure and function of mouse ovaries after X-raying. *Arch. int. Pharmacodyn.* 78: 49-62.
- VAN-ECK, G.J.V. and FREUD, J., 1949 b.— II. Action of gonadotrophins and of oestrogens on X-rayed mouse ovaries. *Arch. int. Pharmacodyn.* 78: 67-68.
- WAGNER, G.A. and SCHOENHOF, C., 1926.— Experimentelle und histologische Untersuchungen zum Studium des Wirkungsmechanismus kleinster Röntgendosen auf die weiblichen Keimdrüsen des Menschen. *Strahlentherapie*, 22: 125-140.
- WESTMAN, A., 1958.— The influence of X-irradiation on the hormonal function of the ovary. *Acta endocr., Copenhagen*, 29: 334-346.