

**SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE  
V REUNION ANUAL**

**SECCION BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION  
Y DEL DESARROLLO**

**UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO, VALPARAISO**

**15 al 17 de agosto de 1985**

**RESUMENES**

**SOCIEDAD DE BIOLOGIA DE CHILE  
V ANNUAL MEETING**

**SECTION: BIOLOGY OF REPRODUCTION AND DEVELOPMENT**

**UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO, VALPARAISO**

**August 15th-17th, 1985**

**ABSTRACTS**



ANTIGENOS TESTICULARES PURIFICADOS PARCIALMENTE Y SU EFECTO EN GONADAS DE HAMSTER ( Testicular antigens partially purified and their effect in hamster gonads ). Acuña H., O., Silva T., G., Díaz A., G. y Guerrero, B. Facultad Cs. de la Salud. Universidad de Antofagasta.

Animales de laboratorio inmunizados con homogeneizado testicular desarrollan lesiones en el epitelio germinativo, como resultado de una respuesta inmune.

El propósito de este trabajo es purificar parcialmente los antígenos testiculares de hamster y estudiar el efecto de la isoimmunización en gónadas de machos.

A partir de homogeneizado testicular, se realizó la separación de antígenos, según técnica descrita por Katsh y col. Se determinó la absorbancia a 280 nm y se realizó un espectrograma que permite agrupar fracciones; a la de mayor absorbancia se sometió a un espectro de barrido UV entre 200 y 300 nm. En un modelo experimental, se inyectan grupos de adultos jóvenes con: I Homogeneizado testicular liofilizado; II Fracción testicular y III PBS Control. Los animales se sacrifican para obtención de gónadas y sangre.

Los resultados indican: 1.- La obtención de tres fracciones macromoleculares que difieren en su tamaño y se agrupan en: I entre 1.0 y 2.5 u de A; II entre 0.5 y 1.0 u de A y III, menos de 0.5 u de A. 2.- El espectro de barrido, realizado a la Fracción I, muestra 2 bandas a) a las 276 nm que estaría asociada a proteínas. b) entre 220 y 224 nm, peak destacado de macromoléculas. 3.- La capacidad antigénica de la Fracción I se demuestra por evaluación histológica, observándose una disminución significativa del diámetro de los túbulos seminíferos del Grupo II en relación a los controles. Además se determinó ausencia de espermátidas, espermatoцитos y algunas gonias. El compartimento intersticial y albugínea presenta infiltración de polimorfonucleares, linfocitos y macrófagos, encontrándose estos últimos ocasionalmente en el lumen de los túbulos.

FINANCIAMIENTO PARCIAL: Depto. Ciencias Biológicas.

PRESENCIA DE ABP EN OCTODON DEGUS (Molina). (ABP Presence in Octodon Degus (Molina)). Balbontín, J., Bustos-Obregón, E. Depto. Biol.Cel.y Genét., Fac.Med., Universidad de Chile.

Varios componentes producidos por la célula de Sertoli parecen tener un rol importante en los mecanismos que determinan la producción de espermatozoides en los mamíferos. Entre éstos se cuentan la transferrina, algunas proteínas séricas y la ABP (Androgen binding protein). En este trabajo demostramos la presencia de ABP en el *O. degus*, como inicio de una investigación tendiente a estudiar la función de la célula de Sertoli en la espermatogénesis estacional.

Se determinó la presencia de proteínas ligadoras de andrógenos en extractos de epidídimo y testículo de animales adultos mantenidos en actividad gonadal, mediante la unión al equilibrio de  $1,2\text{-}^3\text{H}$ -Dihidrotestosterona en electroforesis en poliacrilamida. Se encontraron 2 picos de radiactividad en testículo y epidídimo, uno de mayor (pico I) y otro de menor movilidad electroforética (pico II). El pico I se evidenció además notablemente en el suero, correspondiendo por su movilidad a la albúmina. El pico II en cambio, estuvo presente sólo en testículo y epidídimo y tuvo una movilidad electroforética similar a la ABP de rata. El origen testicular de esta actividad ligadora de andrógenos se demostró por su ausencia en extractos de epidídimo después del ligamento de los eferentes, tal como ha sido señalado para la rata. Estos resultados comprueban la presencia de ABP en el *O. degus*, cuya caracterización será objeto de un trabajo posterior.

Financiado por UNESCO-PNUD, Programa CHI 84/003 y Proyecto B-1464/8545, Universidad de Chile.

MORFOLOGIA DEL ACROSOMA DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS DE SEMEN CON ALTA Y BAJA TERATOSPERMIA (Acrosome morphology of human spermatozoa of semen with high and low teratospermia). Agar, A.M. y Leiva, S. Depto. Biología Celular y Genética, Fac. Med., U. de Chile.

Durante la diferenciación espermática el espermatozoide adquiere la forma normal de la cabeza y el acrosoma. Sin embargo debido a causas aún no bien conocidas (enfermedades, desórdenes andrológicos, etc.), este proceso se ve alterado produciéndose formas anómalas de cabeza que afectarían al acrosoma en diversos grados. Considerando que la reacción acrosómica es un evento esencial de la fecundación en mamíferos, es importante determinar la presencia de esta estructura como un parámetro más de capacidad fertilizante. A espermatozoides de 20 pacientes con problemas de fertilidad conyugal y con una morfología entre 51/49 y 71/29 se aplicó el método de la Triple tinción (Roger et al. 1982) y la reacción de PAS tradicional. La triple tinción permitió observar nítido el acrosoma, determinándose la presencia de este en los ovales; con acrosoma pero anómalo, en el 70% de los teratospermicos y muy reducido o sin acrosoma en el 30% de los gametos anómalos. La reacción de PAS dió resultados similares. La prueba de vitalidad con Azul Tripan dió un promedio de 62% de células sin teñir.

El conocimiento de que los anómalos tienen alterada la cromatina (Leiva, Agar 1984) y además el acrosoma (el cual no desarrollaría una reacción acrosómica normal) puede ser un apoyo a la teoría de que a mayor porcentaje de formas anómalas disminuyen las probabilidades de éxito en la fecundación "in vivo" e "in vitro", sustentada por varios autores (Roger et al., 1983; Wickings et al., 1983).

Financiado por el D.I.B., Universidad de Chile # 8523.

CARACTERIZACION GONADAL DE *Paralabrax humeralis* (Gonadic characterization of *Paralabrax humeralis*). Bórquez, A.<sup>1</sup>, Olivares, A.<sup>2</sup>, y Tapia, L.<sup>1</sup>

1. Instituto de Investigaciones Oceanológicas,
2. Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Antofagasta.

*Paralabrax humeralis* (cabrilla), pez bentónico litoral ampliamente distribuido en el Norte de Chile, es una especie de importancia extractiva artesanal de la que no existen antecedentes de tipo reproductivo. En el presente trabajo se describe su histología gonadal.

Desde Julio de 1984 a Febrero de 1985 se capturaron 150 peces con longitud estándar entre 14 y 51 cm. Se observó la anatomía macroscópica de las gónadas que luego fueron disecadas y procesadas por técnica histológica corriente.

Se observó frecuentemente en el lumen de la gónada de aquellos peces con tamaño superior a 24 cm, la presencia del parásito *Philometra* sp.

En base a la histología gonadal, se deduce que las hembras producen gametos a talla sobre 35 cm en tanto que los machos sobre 24 cm. Animales con tamaño inferior al mencionado pueden ser hembras o hermafroditas; éstos últimos producen espermatozoides y no óvulos.

En futuros trabajos se analizará el mecanismo de inversión sexual y ciclo reproductivo de la especie.

INFLUENCIA DE TEMPERATURA Y ALIMENTO EN EL ESTADO REPRODUCTIVO DE *Chlamys (Argopecten) purpurata* (TEMPERATURE AND FOOD INFLUENCE IN REPRODUCTIVE CONDITION OF *Chlamys (Argopecten) purpurata* Brown, D. Departamento de Biología Celular y Genética, F. de Medicina, Universidad de Chile.

*Ch. (A.) purpurata* especie de ciclo reproductivo continuo tiene máximas evacuaciones de gametos en Verano-Otoño e Invierno. Animales con evacuación reciente puestos e. el ambiente, a 17-18°C, alcanzan condición reproductiva en 18 días. Se pretende determinar efecto de temperatura y alimento en los índices corporales como expresión actividad reproductiva en ambiente controlado.

Experimento 1. Ostiones estado gonadal A (vacía) con Índice Gonádico (I.G.)=9.0 e Índice Gónada-Glándula Digestiva (I.G.-G.D.)=21,3 a los 21 días a 19.65°C sin alimento, experimentan disminución a 6.88 y 16.31 respectivamente. Alimentos logran aumento a 10.22 y 22.25.

Experimento 2. Ostiones estado gonadal B (en recuperación) con I.G.=8.47 e I.G.-G.D.=21.85, grupos a 13.83-19.00 y 21.85°C, sin y con alimento (8.03 x 10<sup>9</sup> microalgas/día); a los 16 días muestran decremento en sus índices.

Experimento 3. Ostiones estado gonadal C (madura) con I.G.=11.31 e I.G.-G.D.=25.62, a los 27 días a 12.94 y 19.73°C sin y con alimento (1.39 x 10<sup>10</sup> microalgas/día); hay decremento en índices, siendo más marcada a 19,73°C.

Influencia de temperatura y alimentación se muestra compleja. Por el experimento 1, podría sospecharse relación alimentación-maduración gonadal. Sin embargo, decremento en 2 y 3 plantea la posibilidad que los factores analizados actúen como desencadenantes de procesos posteriores (evacuación de gametos).

NEUTRALIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD CHALÓNICA POR UN ANTISUERO ANTI-EXTRACTO TESTICULAR. (Chalonic activity neutralization by an antiserum anti-testicular extract). Castellón, E., Arenas, C., Balbontín, J. y Bustos-Obrégón, E. Depto. Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La chalona espermatogonial G<sub>1</sub> controla en gran medida, la proliferación gonial en el testículo, a través de un mecanismo inhibitorio. Dentro de las características compartidas con otras chalonas se encuentran su inespecificidad de especie y su especificidad tisular. En este trabajo, se muestra la neutralización de la actividad chalónica presente en un extracto testicular (E.T.) de ratón mediante un antisuero anti-E.T. de la misma especie. El antisuero se obtuvo en conejo, luego de 9 inyecciones entre 18 y 54 mg de E.T. (las dos primeras con coadyuvante de Freund completo). Se incubó el E.T. a 37°C por 1 hora, con distintas concentraciones de antisuero descomplementado, y luego se centrifugó a 10.000 rpm por 20 min. Los sobrenadantes se ensayaron "in vitro" para determinar la actividad chalónica. Se realizaron distintos controles con suero no inmune y E.T. hervido.

Los resultados muestran una neutralización de la actividad chalónica, dependiente de la concentración de antisuero. A las concentraciones extremas usadas (0.35 y 5.6 mg por ensayo) no se observa este efecto.

Concluimos que la chalona presenta actividad antigénica. En ambos extremos de la curva de precipitación (correspondientes a las zonas de exceso de antígeno y anticuerpo), la mayor parte de los complejos inmunes permanece soluble. El hecho de que en estas situaciones no se observe neutralización de la actividad chalónica sugiere que los anticuerpos obtenidos no estarían dirigidos hacia el centro activo de la molécula.

Financiado por Proyecto B-1464/8545 Universidad de Chile.

REPRODUCCION DE *Porphyra columbina* MONTAGNE (RHODOPHYTA, BANGIALES) EN CONDICIONES DE LABORATORIO. (Reproduction of *Porphyra columbina* Montagne (Rhodophyta, Bangiales) in laboratory culture). Candia, A. Departamento de Biología y Tecnología del Mar, Pontificia Universidad Católica de Chile, Sede Talcahuano. (Patrocinio: J. Morillas).

El conocimiento de los patrones reproductivos de un alga marina bentónica en el tiempo y espacio, constituyen una información básica para comprender la historia de vida de estos organismos.

Con la finalidad de conocer la reproducción de *P. columbina*, se realizaron cultivos uniales de carpósporas obtenidas en talos gametofíticos recolectados en Cocholgue, Ba. Concepción (36°36'S; 72° 58'W) y de Lengua, Ba. San Vicente (36°44'S; 73°11'W), en diferentes condiciones de temperatura y fotoperíodo.

La germinación y desarrollo de carpósporas observadas en cultivo, demostraron que *P. columbina* tiene la historia de vida característica del género, una generación gametofítica foliosa macroscópica y una generación esporofítica filamentosas microscópica denominada "conchochelis". Esta especie presenta además otras alternativas reproductivas como: formación de aplanosporas, germinación tipo "planlet" y una propagación similar a gemación. Se discute el significado adaptativo de estas alternativas reproductivas, observadas en *P. columbina*.

Proyecto DIUC 196/84.

VARIACIONES ESTACIONALES EN EL TRACTO REPRODUCTIVO DE LA GAVIOTA GARUMA HEMBRA, *LARUS MODESTUS*: ESTUDIO HISTOLOGICO E HISTOQUIMICO (Seasonal changes in the reproductive tract of the female Garuma Gull *Larus modestus*: Histological and histochemical study).

Cikutovic, M.A.; Fontana, P., Guerra, C., y Fitzpatrick, L.L. Facultad de Ciencias de la Salud e Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad de Antofagasta y Dept. of. Biolog. Sc. North Texas State University. U.S.A.

La histología y las variadas funciones del tracto reproductivo han sido estudiadas por lo general en aves domésticas y/o de laboratorio. El presente trabajo analiza algunos aspectos citomorfológicos de este órgano, en una gaviota de reproducción estacional.

Los oviductos fueron dimensionados en longitud y posteriormente procesados para estudio histológico e histoquímico. Mediante un micrómetro ocular se ponderó el grosor de las capas musculares y corión glandular de las porciones ovárica, media y cloacal, utilizándose para el análisis citoquímico los métodos de la Ninhidrina-Schiff para proteínas; P.A.S y Alcian Blue para mucopolisacáridos neutros y ácidos respectivamente.

La longitud oviductal se incrementa en 6 veces durante el período de postura de los huevos, debido a la hipertrofia e hiperplasia muscular y glandular del órgano. La detección de proteínas nos indica que al parecer estas son secretadas sectorial y exclusivamente en este período, mientras que los mucopolisacáridos lo son durante los meses previos, incrementándose durante este.

Se concluye que la secreción de los compuestos antes mencionados es asincrónica, discutiéndose su participación en el ciclo reproductivo estacional de esta especie.

FINANCIAMIENTO: Proyecto IO-01A. DIEXAT. Universidad de Antofagasta.

CICLO OVARICO DE LA GAVIOTA GARUMA LARUS MODESTUS TSCHUDI, 1843 (AVES, CHARADRIIFORMES: LARIDAE). (Ovarian cycle of the Garuma Gull *Larus modestus* TSCHUDI, 1843).

Cikutovic, M.A., Fontana, P., Guerra, C. y Fitzpatrick, L.L. Facultad Ciencias de la Salud e Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad de Antofagasta y Dept. of Biolog. Sc. North Texas State. University.

En un ave marina de reproducción estacional se estudia la capacidad de postura ovárica y algunas variaciones somáticas, biométricas y gonadales que la condicionan.

Con este fin, hembras adultas de *L. modestus* fueron colectadas mensualmente y el ovario procesado para estudio histológico. Se dimensionaron y cualificó la vitelogenénesis en los folículos de mayor talla según los criterios descritos por Gilbert (1971), correlacionándose este fenómeno con el desarrollo de las tecas, circulación sanguínea adyacente y granulosa foliculares.

Peso ovárico y diámetro foliculares aumentaron significativamente durante el año, asociado al incremento vitelogénico. La granulosa, constituida inicialmente por un epitelio pseudoestratificado, establecen en conjunto con el ovocito las zonas perivitelina y radiada, mientras que las estructuras adyacentes manifiestan hipertrfia e hiperplasia notables. Previo a la ovulación el epitelio disminuye su altura y las zonas mencionadas desaparecen. El análisis de frecuencia mensual de folículos vitelogénicos indica que no más de cinco de éstos alcanzarían la talla mínima de postura.

Se concluye que *L. modestus* realiza sus posturas de huevos preferentemente en Diciembre, comportándose para este efecto como "ponedora determinada". Se discute las ventajas que esta estrategia proporciona a la mencionada especie.

FINANCIAMIENTO: Proyecto IO-01A. DIEXAT. Universidad de Antofagasta.

INFLUENCIA DEL PARATHION EN EL SISTEMA REPRODUCTOR MASCULINO DE RATAS (Influence of Parathion in the reproductive tract of male rats). Espinoza, O. y Cabello, G. Departamento de Biología y Salud, Facultad de Ciencias, Universidad de Tarapacá, Arica.

En la Universidad de Tarapacá se ha demostrado que un tratamiento prolongado con Parathion, provoca una disminución en la fertilidad de ratas de laboratorio. Para determinar las causas de esta disminución, se realizaron análisis bioquímicos en próstata y vesículas seminales, además del estudio espermático en cuanto a número y forma.

El tratamiento consistió en inyecciones s.c. de Parathion en dosis de 5 mg/Kg de peso corporal, diariamente y por 13 días en machos adultos Sprague Dowley.

El análisis bioquímico se realizó en homogenizado de próstata para reconocer proteínas y fosfatasa alcalina y ácida; y en homogenizado de vesículas seminales donde se determinó proteínas y fructosa. Los métodos usados fueron los de Lowry para proteínas; Merckotest para fosfatasa y el de resorcinol-etanol para la fructosa. El recuento espermático se hizo en macerado de testículo y epidídimo. Los porcentajes de teratospermia, expresados en decondensación de cromatina del espermio, se obtuvieron en muestras de cabeza y cola de epidídimo incubados por 6 a 10 minutos con tioglicolato de sodio 0,8 M.

Los resultados obtenidos no mostraron diferencias significativas en el análisis bioquímico de próstata y vesículas seminales. Sin embargo en ratas tratadas el recuento espermático en testículo presenta una disminución significativa, además de un incremento en los porcentajes de decondensación de la cromatina.

ASPECTOS ESTRUCTURALES DE ESPERMATOZOIDES DE PEJERREY *Basilichthys australis* (Eigenmann), RELACIONADOS CON EL TIPO DE FECUNDACION.

Structural aspects of silverside's spermatozoa *Basilichthys australis* (Eigenmann) related with the form of fertilization. Correa, R. y L. Huaquín M. Laboratorio de Biología, Departamento de Silvicultura y Manejo. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad de Chile. (Patrocinio: V. Leyton).

La morfología de los espermatozoides está relacionada directamente al mecanismo de transmisión espermática. Según Franzén (1970), las especies que emiten sus gametos libremente al agua, mantienen un tipo primitivo de espermatozoides. Como en la mayoría de los teleosteos, el pejerrey chileno de agua dulce *B. australis*, presenta fecundación externa, teniendo sus espermatozoides características estructurales interesantes de destacar. Las muestras de fluido espermático obtenidas por masaje abdominal, se fijaron en glutaraldehído al 4% con postfijación en  $\text{OsO}_4$  al 1%. Se procesaron en seguida para su observación con microscopía electrónica de transmisión (MET) y de barrido (MEB).

Las observaciones con MEB nos muestran un gameto con cabeza ovalada, una pieza intermedia muy corta, característica de especies con fecundación externa, tres a cuatro mitocondrias ubicadas en la base del núcleo y un flagelo con aspecto de cinta en parte de su longitud. Con MET se observa: 1) La cromatina formando gruesas manchas poco homogéneas en la cabeza espermática. 2) Ausencia de acrosoma, relacionado con la presencia de micropilo en los ovocitos. 3) El complejo centriolar típico con los centriolos dispuestos en  $90^\circ$  ubicados en una profunda hendidura de la cara ventral del núcleo, desde donde nace el flagelo con su estructura clásica. El aspecto de cinta está dado por la proyección lateral del citoplasma y la membrana plasmática en parte del flagelo; el extremo distal carece de estas proyecciones. La membrana plasmática que envuelve el gameto está fuertemente plegada. Proyecto DIB-B-1551-8544. Universidad de Chile.

EFFECTO DE LA BROMOCRIPTINE Y EL LH-RH EN LA REGRESION TESTICULAR DEL OCTODON DEGUS. (Effect of the Bromocriptine and LH-RH on the *O. degus* testicular regression).

Fernández, P.; Arriagada, R.; Recabarren, S. y Morales-Cerda, B. Depto. de Fisiología Inst. Cs. Pedagógicas; Depto. Med. Vet. U. de Concepción y Depto. de Morf. Exp. Div. Cs. Med. Norte, U. de Chile.

Durante el período de regresión gonadal, se produce una disminución de la actividad gonadal provocado por un descenso de los niveles de FSH-LH y Testosterona y un aumento en los de PRL, plasmáticos. Está demostrado que la administración de LH-RH produce un ascenso de la FSH y LH plasmáticos. La Bromocriptine al estimular receptores dopaminérgicos disminuye la liberación de PRL hipofisiaria. Nuestro objetivo fue analizar la respuesta gonadal al revertir los parámetros hormonales existentes durante la regresión gonadal. 24 machos adultos fueron mantenidos durante 12 semanas en un vivero con fotoperíodo de días largos (14 hrs. Luz/10 hrs. de Oscuridad). Fueron distribuidos en 4 grupos: a) control: inyectados con Salino, b) Bromocriptine en dosis 100 mg/100 kg. P.C. vía s.c. c) LH-RH en dosis de 60 mg/kg PC repartido en 4 dosis vía s.c. d) LH-RH y Bromocriptine en dosis equivalentes a (b) y (c). Los animales luego de pesados fueron decapitados, se disecaron, pesaron y fijaron el tracto reproductivo, hipófisis, pineal y suprarrenales. En los cortes de testículos se determinó el diámetro tubular, (D.T.) Altura del epitelio seminífero (A.E.S.) e índice espermátogénico.

Todos los grupos tratados presentaron un mayor peso testicular y de glándulas anexas, así como un mayor, D.T., A.E.S. y no presentaron signos de regresión testicular, como los animales controles.

Estos resultados permiten suponer que la regresión testicular es producida por una disminución en el metabolismo de la Dopamina y Noradrenalina Hipotalámica lo que explicaría el aumento de la PRL, y el descenso del LH-RH hipotalámicas y de las gonadotropinas hipofisarias.

ASPECTOS DE LA EMBRIOGENESIS EN EL PINGUINO GENTOO, *PYGOSCELIS PAPUA*. (Embryogenesis in the gentoo penguin, *Pygoscelis papua*). Fuenzalida, H.; Leyton, V.A.; y Valencia, J.M. Depto. Morf. Exp., Fac. Medicina Norte y Depto. Cs. Ecológicas, Fac. Ciencias, U. de Chile (Financiamiento: INACH).

Las aves representan uno de los componentes importantes del ecosistema antártico. Dado que de la biología reproductiva de *P. papua*, el desarrollo embrionario es parte importante, hemos estudiado los cambios morfológicos del embrión de *P. papua*, durante su incubación natural.

Desde Isla Ardley se recolectaron huevos a intervalos de 3 días desde el momento de la postura. El material embrionario fue fijado en Bouin e incluido en parafina. Los estadios del desarrollo se compararon con los de otros pygoscelidos y el de pollo.

Hasta los 3 días de incubación el desarrollo alcanza la fase de embrión bilaminar. Hasta los 6 días se extiende el período somítico, el embrión adquiere una organización tubular. El período metamórfico se inicia a los 9 días con histogénesis del tubo neural y organogénesis de varios sistemas. Desde los 18 días es notable el crecimiento del pico, cuello y extremidades. A los 21 días emergen las primeras plumas sobre la región anal y los dedos son individualizables en las extremidades inferiores. A los 24 días la piel está completamente rugosa, en las patas los dedos adquieren garras; las modificaciones internas son mínimas. A los 27 días largas y finas plumas pigmentadas cubren el cuerpo. La incubación termina a los 38 días con la eclosión del polluelo.

El patrón de desarrollo embrionario es el típico de aves. A lo largo de la incubación se complementan los rasgos de morfología interna y externa.

EFFECTO DEL COMPLEJO CUMULO-CORONA-OVOCITO (CCO) HUMANO EN LA SOBREVIDA ESPERMÁTICA IN VITRO. (The effect of human cumulus-corona-oocyte complex (CCO) upon in vitro survival). Guadarrama, A., Roblero, L., Ortíz, M.E., Fernández, E., Hess, R. y Zegers, F. Depto. Obstetricia y Ginecología, Clínica Las Condes.

La mantención de la motilidad progresiva direccional de los espermatozoides, que es un requisito para que ocurra la fecundación, puede influir sobre su capacidad fertilizante tanto "in vivo" como "in vitro".

Observaciones preliminares realizadas en programas de Fertilización in Vitro y Transferencia Embrionaria sugieren que los espermatozoides que permanecen en presencia del complejo CCO, mantienen su motilidad progresiva por períodos de tiempo más prolongados que en el medio de cultivo, en ausencia del complejo CCO.

Con el propósito de evaluar la influencia del complejo CCO humano en la sobrevivencia espermática "in vitro", se comparó la motilidad progresiva de espermatozoides incubados en presencia y ausencia de CCO, usando como medio de cultivo Ham F-10 suplementado con suero preovulatorio.

Cuando los espermatozoides son incubados en Ham F-10 suplementado con suero preovulatorio, el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva disminuye en un 50% a las 16 horas de incubación. La presencia del complejo CCO humano mantiene la motilidad progresiva por períodos de tiempo más prolongados, lo cual hace suponer que el CCO interactúa con los espermatozoides favoreciendo la sobrevivencia espermática "in vitro".

ESTUDIO HISTOLOGICO DEL TESTICULO DE CICHLASOMA FACETUM (JENYNS, 1842). (Histological study on the testis of *Cichlasoma facetum*, (Jenyms 1842)

Gamonal, A. y H. Cerisola. Instituto de Biología. Universidad Católica de Valparaíso.

El presente estudio sobre el testículo de *Cichlasoma facetum* muestra que las unidades estructurales son los túbulos. Las células germinativas se encuentran distribuidas a lo largo de toda la extensión de ellos. La multiplicación y diferenciación celular ocurre en el interior de los cistos como un proceso sincrónico siendo además, asincrónico respecto a los cistos vecinos.

En gónadas activas se describen dos tipos de espermatogonias y los estados principales de la espermatogénesis. También son considerados los rasgos principales de la meiosis basándose principalmente en sus características nucleares. Al final del proceso espermatogénico las células espermáticas maduras son liberadas en el lumen del tubo por rompimiento de la pared del cisto. En testículos en recrudescencia se observa un predominio manifiesto de espermatogonias, escasos espermatozoides y ausencia de espermátides y espermios. Los cistos están delimitados por células císticas (tipo Sertoli) que carecen de modificaciones que permitan el anclaje de las células germinativas. Una capa discontinua de células limitantes tipo mioide se presenta en la pared tubular. En los espacios intertubulares se observan células intersticiales. Las características ultraestructurales de ellas nos revelarían que se trata de células comprometidas en la esteroidogénesis. En el tejido intersticial y también en el estroma cercano a los vasos sanguíneos se encuentran células cebadas en pequeña cantidad cuyo significado aun no se conoce.

Finalmente, se describen las características histológicas más importantes de los conductos eferentes, su confluencia en el ductus espermático principal y la fusión de este con el conducto urinario.

Ultraestructura del oviducto de *Caudiverbera caudiverbera* (Anura, Leptodactylidae).

(Ultrastructure of the oviduct of *Caudiverbera caudiverbera* (Anura: Leptodactylidae).

I. Hermsilla B.; L. Coloma S.; E. Reyes T. y J.F. Gavilán E.

Laboratorio de Biología del Desarrollo; Depto. Biología Molecular; Facultad Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales, Universidad de Concepción, Concepción.

Una serie de investigaciones en torno a la gelatina que envuelve a los óvulos de los anfibios, ha permitido otorgar a ésta un papel significativo en el proceso de fusión gamética. Los estudios han estado dirigidos hacia la pars convoluta del oviducto por ser ésta la región secretora de gelatina. Recientemente se ha informado de otras sustancias que rodean al óvulo antes del encuentro con el espermatozoide. Esto ha suscitado la atención sobre la arquitectura interna del oviducto para localizar nuevos elementos que pudiesen explicar el origen de otras sustancias además de la gelatina, la información es aún escasa o parcial para deducir el rol funcional de este largo trayecto. El presente estudio intenta reforzar el conocimiento del sistema oviductal en los anfibios ovíparos durante su actividad reproductiva.

La presente investigación consideró hembras de *Caudiverbera caudiverbera* (Anura; Leptodactylidae) en plena oviposición. Los oviductos fueron tratados con las técnicas para microscopía de barrido. El epitelio luminal se caracteriza por abundancia de células ciliadas y células secretoras en su porción recta y convoluta. Las células ciliadas conforman pliegues longitudinales distribuidos desde la p. recta. Cada pliegue posee un corto eje que se bifurca para implantarse al conectivo subyacente. Entre cada eje se extienden surcos o valles tapizados de microvellosidades; elementos glandulares diversos son detectados en la p. recta y en la p. convoluta.

Los resultados son comparados a investigaciones previas realizadas utilizando TEM y SEM y se discute el rol funcional del oviducto durante la reproducción.

-Proyecto 20.31.03. Dirección Investigación. Universidad de Concepción.

**CARGAS NEGATIVAS EN LA SUPERFICIE DE ESPERMATOZOIDES DE POTRO EN VIA SEMINAL Y EYACULADO.** (Negative charges on the surface of stallion spermatozoa in the seminal pathway and in the ejaculate). Herrera G., Bustos-Obregón, E. Universidad Arturo Prat, Iquique y Depto. Biol.Cel. y Gen., Fac. Medicina, Universidad de Chile.

Los espermatozoides de mamíferos muestran cambios en las cargas negativas de su superficie durante el tránsito epididimario. En hamster y toro éstas aumentan hacia caudal (Yanagimachi et al, 1972).

Espermatozoides de potro del tracto genital y eyaculados se fijaron en glutaraldehído y se incubaron en fierro coloidal a pH 1,8 y 2,5. Post fijación en Os O4 al 1%. Inclusión en Epon. Observación en MET Zeiss 109.

El patrón de depósito de fierro coloidal fue diferente para los diferentes segmentos del espermatozoide y del tracto genital e incrementa hacia caudal. El depósito es grueso en el tracto y finamente granular en el eyaculado, lo que posiblemente refleja una interacción de la superficie espermática con dos medios diferentes: fluido epididimario y plasma seminal. No se detectaron diferencias según el pH. La diferente afinidad de las regiones acrosómica, postacrosómica, pieza intermedia y región principal del flagelo sugiere que las cargas negativas de la superficie forman un mosaico diferenciado regionalmente en el espermatozoide.

Financiado por Conicyt 1087/84 y U. de Chile D.I.B. # B 1464/8545.

**EFEECTO DEL ENVEJECIMIENTO DE OVOCITOS DE HAMSTER SOBRE LA FECUNDACION IN VITRO Y LA DECONDENSACION DE LA CROMATINA ESPERMATICA.** (Effect of egg aging on in vitro fertilization and sperm chromatin decondensation in the hamster). Jedlicki, A., Salgado, A. y Barros, C. Laboratorio Embriología, P. Universidad Católica de Chile.

La vida fértil de ovocitos de mamíferos es muy corta después de la ovulación. Se ha demostrado que ovocitos de hamster envejecidos in vivo y fecundados in vitro sufren un deterioro después de la ovulación que se refleja en una disminución y anomalías en la fecundación. Estos ovocitos envejecidos, generalmente están en estado de pronúcleo por una activación espontánea. Por otro lado se ha demostrado que la decondensación de la cromatina espermática en el citoplasma del huevo no ocurre en huevos fecundados en estado de pronúcleo.

En este trabajo se estudió el efecto del envejecimiento de huevos de hamster in vivo sobre la fecundación in vitro de los ovocitos sin zona pelúcida. Se observó que ovocitos con 18 y 24 hrs post ovulación estaban en estado de pronúcleo por activación espontánea. Observaciones efectuadas con microscopía electrónica demuestran que ovocitos de hamster envejecidos se fusionan in vitro con espermatozoides de hamster capacitados, pero no decondensan la cromatina espermática. Por lo tanto se demuestra que los huevos envejecidos presentan un patrón similar a los huevos fecundados en los cuales la activación se gatilla por la fusión del espermio fecundante. Los huevos envejecidos con pronúcleos en el vitelo, se presentarían en un estado del ciclo celular similar al de huevos fecundados al estado de pronúcleo y por lo tanto incapacitados de decondensar la cromatina espermática. Estas observaciones permiten explicar, en parte, el daño que sufre el huevo con el envejecimiento lo que impide una fecundación normal.

Financiado por Grants #91/85 DIUC y #1204/84 CONYICIT.

**EFEECTO DE DISTINTOS FRAGMENTOS DE GnRH SOBRE NIVELES BASALES Y ESTIMULADOS DE LH.** (Effect of different GnRH fragments on basal and stimulated LH levels).- Leal, J., Ramírez, S., De la Lastra, M.- Laboratorio de Endocrinología, Facultad Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

En trabajos anteriores hemos descrito, en tejido hipotalámico de ratas y bovinos, la presencia de un factor peptídico (PM: 750 daltons) capaz de inhibir la liberación de LH en respuesta a GnRH, sin afectar significativamente la liberación de FSH.

Sobre la base de estos estudios y considerando que el factor presenta reacción cruzada con anticuerpos monoclonales específicos para GnRH, decidimos utilizar diferentes fragmentos de GnRH con el fin de analizar si alguno de ellos era capaz de reproducir el efecto del factor encontrado en tejido hipotalámico.

Ratas macho inmaduras fueron inyectadas ip con los fragmentos GnRH5-10, GnRH1-6 y GnRH1-5 en dosis de 50-200-800 y 3200 ng, seguida a los 15 min. de 200 ng de GnRH (condición estimulada) o de buffer fosfato (condición basal).

Con GnRH5-10 y GnRH1-6 no se encontró efecto sobre los niveles basales de LH ni sobre la respuesta a GnRH, en ninguna de las dosis estudiadas. Sin embargo, GnRH1-5 inhibió significativamente la secreción de LH estimulada por GnRH, cuando se empleó en dosis de 50ng. A mayores dosis el fragmento no fue efectivo. Tampoco se encontró efecto sobre los niveles basales de LH en ninguna de las dosis utilizadas.

Los resultados sugieren que GnRH1-5, que es un producto natural de degradación de GnRH, podría tener un efecto modulador sobre los niveles de LH.

**EFEECTO INHIBIDOR DEL FRAGMENTO GnRH1-5 SOBRE LA SECRECIÓN DE LH Y OVULACION.** (Inhibitor effect of GnRH1-5 fragment over LH secretion and ovulation). Leal, J., Ramírez, S., De la Lastra, M.- Laboratorio de Endocrinología, Facultad Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile.

Habiendo demostrado que el fragmento correspondiente a la primera mitad de GnRH (GnRH1-5) tiene efecto inhibidor de la secreción de LH inducida con GnRH, decidimos estudiar la dosis y tiempo óptima que provocase la máxima inhibición. Además, se pretendió estudiar si el descenso de LH se traducía en una disminución de la ovulación.

El fragmento se inyectó ip en ratas machos inmaduros en dosis desde 25 hasta 3.200 ng seguido a los 15 min. de GnRH (200ng). Posteriormente, GnRH fue inyectado a distintos tiempos, desde 0 a 30 min. después de la administración de la dosis óptima del fragmento. Además, GnRH1-5 se inyectó en la tarde del proestro a ratas bloqueadas con clorpromazina (1mg/100g) o hipofisectomizadas e inducidas a ovular con GnRH (220ng) o LH (3ug/100g), respectivamente.

Las dosis de 50 y 100 ng disminuyeron los niveles de LH ( $p = 0.02$ ), mientras que dosis mayores no mostraron efecto. Ningún grupo presentó cambios significativos de los niveles de FSH. Además, se encontró que los valores de testosterona eran un reflejo de los niveles de LH. La dosis de 50ng, pero no de 800ng de GnRH1-5 inhibió la ovulación inducida con GnRH ( $p = 0.48$ ). La dosis activa en cambio, no tuvo efecto sobre la ovulación inducida con LH en rata hipofisectomizada.

Se comprueba que GnRH1-5 tiene una acción moduladora de LH, a nivel hipofisiario, pudiendo afectar al proceso ovulatorio.

La falta de relación dosis-efecto no puede atribuirse a una acción de testosterona, y parece corresponder a su mecanismo de acción.

Rol del Zinc en la fisiología del espermatozoide humano (Rol of the zinc in the physiology of human sperm). Leiva, S.; Muñoz, J.L. y Guadarrama, A. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se ha considerado al zinc como un factor de regulación de la motilidad y capacidad de descondensación nuclear (NDC) del espermatozoide proceso que debe producirse en el momento de la fecundación, siendo esencial para la formación y desarrollo normal del cigoto.

Con el objeto de evaluar la acción del zinc y el comportamiento de los espermatozoides normales (oval) y teratospermicos se incubó semen "in vitro" en medio conteniendo zinc en diferentes concentraciones con posterior evaluación de la motilidad y detección citoquímica del zinc con Detizone.

Se observó un mayor porcentaje de espermatozoides anormales que dieron positiva la reacción de zinc, en los diferentes tiempos de incubación. La motilidad se modificó dependiendo de la concentración de este ión y del tiempo de incubación; se detectó un porcentaje menor de células afectadas al ser analizado semen de baja teratospermia.

Con los resultados obtenidos junto a otros (Kvist, 1980; Leiva y Guadarrama, 1982) se puede deducir que el zinc se ha unido a grupos SH libres (entre otros), siendo los anormales los que evidencian este fenómeno en mayor grado, el cual reflejaría una menor estabilización de la cromatina en base a enlaces S-S y un estado de inmadurez espermática.

La motilidad estaría reducida por una acción bloqueadora a nivel de la cadena respiratoria, u otro mecanismo que provoca la disminución de la motilidad, más evidente en semen con alta teratospermia.

Los fenómenos observados serían indicadores de que el zinc juega un rol importante en la fisiología del espermatozoide humano.

(Financiado por el D.I.B., Universidad de Chile # 8523).

EFFECTO DE AGENTES ANABOLIZANTES (Compudose 200<sup>r</sup>), SOBRE LA FUNCION ENDOCRINA TESTICULAR DE TOROS. (Effect of an anabolizing agent (compudose 200<sup>r</sup>) on the testicular endocrine function of bulls). T. María, P. Zúñiga, J.I. Egaña, L. Valladares, A.M. Pino. División Ciencias Básicas. INTA. U. de Chile y Fac. Med. Veterinaria. U. de Chile.

La utilización en Chile de agentes anabolizantes de naturaleza esteroidea en la producción bovina es relativamente reciente. Esta comprobado tanto en rata como en el hombre, que el 17 $\beta$ -estradiol (E<sub>2</sub>) ejerce una función inhibitoria sobre la endocrinología testicular. Dado el amplio uso de anabolizantes naturales y/o sintéticos es de interés estudiar el efecto de implantes de E<sub>2</sub> sobre el nivel de Testosterona plasmática, receptores para LH/hCG y la capacidad de síntesis de testosterona por el testículo "in vitro".

De 42 toritos post-púberes (170 kg, peso promedio inicial) de raza doble propósito, la mitad recibió un implante de 24 mg de E<sub>2</sub> (Compudose 200<sup>r</sup>) y el resto permaneció como grupo control. A distintos tiempos de recibido el implante se extrajo sangre para cuantificar los niveles de E<sub>2</sub>, T y globulina ligante de hormonas sexuales (SHBG); algunos animales (experimentales y controles) fueron castrados con el propósito de estudiar la producción de testosterona "in vitro", la capacidad de unión frente a <sup>125</sup>I-hCG, y el correspondiente control histológico.

La concentración plasmática de esteroides mostró una gran variación individual. El nivel máximo de E<sub>2</sub> se observó a los 7, 15 y 30 días después del implante, normalizándose a partir de los 90 días, mientras que la concentración de T estuvo disminuida en ese mismo período. La SHBG aumentó levemente a los 15 y 30 días después del implante, recuperándose posteriormente.

Se observa un 50% de reducción del peso testicular, inhibición en la síntesis "in vitro" de T y disminución del número de sitios ligantes para HCG, sin variación en la constante de unión. (Fondo Nacional de Investigación Proyecto 1168/84 y DIB Proy. B-2020-8523. U. de Chile).

EFFECTOS DE LA INGESTA DE ETANOL SOBRE LA MORFOLOGIA Y ACTIVIDAD ENDOCRINA DE LAS CELULAS DE LEYDIG: MODELO DE ALCOHOLISMO PERMANENTE Y FILIAL. (Effects of ethanol intake on morphology and endocrine function of Leydig cells). Leyton, V.A., Egaña, J.E. y Valladares, L. E. Depto. Morfol. Exp., Fac. Med., INTA. U. de Chile.

Está demostrado que el etanol interfiere en la funcionalidad del eje hipotálamo-hipófisis-testículo alterando la secreción de GnRH, LH y Testosterona, con modificación de la fisiología y el comportamiento reproductivo. En un modelo de alcoholismo permanente y filial en ratas Wistar AG/25 por 12 generaciones, se analizaron los efectos del etanol (25% v/v) sobre la morfología y actividad esteroideogénica del testículo.

La sangre obtenida por decapitación del animal se utilizó para la determinación de LH y T. Los testículos, medidos y pesados, fueron descapsulados y homogenizados para cuantificar el número de sitios receptores de LH/hCG. En aquellos experimentos en que se utilizaron células intersticiales o de Leydig, los testículos fueron tratados con colagenasa y las células purificadas en gradiente de Metrizamide. Trozos de testículo fueron procesados para análisis óptico y submicroscópico de la función gonadal.

Morfológicamente se encontraron ratas alcohólicas atroficas y alcohólicas no-atroficas, constatándose diferencias en el peso y tamaño testicular así como en el epídimo, vesículas seminales y epitelio seminífero; los niveles basales de LH y T están disminuidos respecto a ratas normales; el número y morfología de las células de Leydig no está afectado, sin embargo su funcionalidad es diferente, con variación en el número de receptores para LH/hCG que se traduce en una desviación a la derecha de la capacidad de sintetizar T frente a distintas dosis de hCG.

El etanol produce atrofia gonadal con disminución de receptores de LH/hCG y daño morfológico y funcional.

Financiamiento: B-2020-8413 Universidad de Chile y Fondo Nacional de Investigación # 1168/84.

INFLUENCIA DEL PARATHION EN EL NUMERO DE CRIAS NACIDAS VIVAS Y EN LA REABSORCION DE EMBRIONES EN RATAS. (Influence of Parathion on living fetuses and dead implants in rats). Olivares, V.; Ortega, A. y Cabello, G. Departamento de Biología y Salud, Facultad de Ciencias, Universidad de Tarapacá Arica.

Se ha observado en Estados Unidos que el contacto directo de obreros con ciertos insecticidas provoca una disminución en la fertilidad masculina. Esto y el hecho de que la ciudad de Arica haya sido fumigada desde el aire en varias oportunidades con Malathion nos indujo a tratar de determinar los efectos de un tratamiento con un insecticida organofosforado en la fertilidad de ratas de laboratorio, basándose en: a) el número de crías nacidas vivas en un grupo de animales y b) la reabsorción de embriones en otro. El trabajo se realizó con ratas Sprague Dowley, en el primer caso se trató ratas hembras y machos de tres meses de edad con 5 mg de Parathion/kg de peso durante 13, 26 y 39 días. Después de 10 días se cruzó a las hembras tratadas o normales con machos tratados o normales y se compararon los promedios de crías nacidas vivas usando el test t. de Student.

En el grupo que se está estudiando reabsorción, el tratamiento es de 5 mg/kg de peso, s.c. y se inicia 13 días antes de que cumplan 21, 42 y 84 días de edad, sólo en machos. A los tres meses se cruzan con hembras normales y a los 13 días de gestación se realiza una laparotomía-exploratoria para observar embriones vivos y reabsorbidos.

Los resultados indican que un tratamiento con Parathion provoca una reducción significativa en el número de crías nacidas vivas y esto podría deberse a un aumento en la reabsorción de embriones hijos de machos tratados con Parathion.



ESFUERZO REPRODUCTIVO EN *Diplodon chilensis chilensis* (Gray, 1828). UNA PROPOSICION PARA SU DETERMINACION. (REPRODUCTIVE EFFORT IN *Diplodon chilensis chilensis* (Gray, 1828). A PROPOSITION FOR ITS DETERMINATION). E. PARADA y S. PEREDO. Depto. CC.NN. Pontificia Universidad Católica de Chile-Temuco.

Un problema central en ecología ha sido comprender la diversidad de estrategias reproductivas mostradas por los organismos y sus relaciones con el habitat. Para ello se han utilizado varios parámetros de los cuales el más importante es el Esfuerzo Reproductivo (ER) definido como la proporción de Energía que un organismo o población destina al proceso reproductivo (Pianka, 1970; Stearns, 1976).

Las características biológicas de *D. ch. chilensis* (Vega et al, 1983; Parada y Peredo 1984-1985) permiten proponer un índice: Índice Branquiosomático (IBS) que determina numéricamente el valor del E.R. Este índice que relaciona el peso seco de las branquias grávidas con el peso seco de las partes blandas, permite conocer la Energía que las hembras destinan al proceso reproductivo (incubación) en un tiempo t. Este índice se complementa con el propuesto por Haukoja y Hakala (1972) para unioidos del Hemisferio Norte.

Con el objeto de determinar el valor numérico del ER, se hizo un muestreo al azar hasta obtener 100 individuos en un banco natural del Lago Villarrica; los especímenes fueron trasladados a 2°C en un recipiente ad-hoc al laboratorio donde fueron procesados para determinar características biométricas: peso seco de las branquias con y sin gloquidios y de las partes blandas, longitud de las valvas y proporción sexual.

Se discuten los resultados obtenidos.

Proyecto 1-84 financiado por C.I.P.U.C.- Temuco.

CICLO REPRODUCTIVO DE *Mesodesma donacium* (Lamarck, 1818) EN LA BAHIA DE QUEULE (BIVALVIA: MESODESMATIDAE), (REPRODUCTIVE CYCLE IN *Mesodesma donacium* (Lamarck, 1818) IN QUEULE BAY (BIVALVIA: MESODESMATIDAE)). S. PEREDO, E. PARADA e I. VALDEBENITO. Depto. CC.NN. Pontificia Universidad Católica de Chile - Temuco.

Con el fin de determinar la influencia de la latitud en los procesos reproductivos de invertebrados marinos y en especial sobre sus ciclos reproductivos, se estudió una población de *Mesodesma donacium* presente en la Bahía de Queule (39°24'S; 73°13'W).

Mensualmente se analizaron cortes de gónada procesados con técnicas rutinarias para microscopía óptica, de individuos de las tallas modales de muestras extraídas del litoral de Queule desde Agosto de 1983 - Noviembre de 1984.

Se confeccionó una escala de madurez sexual, de acuerdo a la cual, *M. donacium* presenta en el lugar de estudio un período de evacuación comprendido entre Diciembre-Marzo, con dos máximas (Diciembre-Febrero) seguidas de un corto período de recuperación o reposo (Abril-Mayo) para luego iniciar el período de maduración entre Junio y Octubre.

Los resultados del presente estudio se comparan con los obtenidos en anteriores estudios realizados en *M. donacium* en diferentes latitudes.

Proyecto 1-83-2 financiado por Comisión Investigación P.U.C - Temuco.

PROBABLE COTRANSMISION EN TERMINALES NERVIOSOS AUTONOMICOS EN PEJESAPO *Sicyases sanguineus* (Teleostei): Análisis ultraestructural.

FH PEREZ; H. CERISOLA; AM. FUENZALIDA y E. MENDEZ Inst. de Biología. Universidad Católica de Valparaíso.

En algunos teleosteos se ha descrito terminales nerviosos en el tejido intersticial testicular. En base a sus características ultraestructurales se ha dicho que podrían ser autonómicos y sus vesículas sinápticas podrían contener tanto acetilcolina como noradrenalina. Sin embargo esto no es completamente aceptado. En este trabajo se describen nuevos aspectos de los terminales nerviosos testiculares en un pez teleosteo de hábitos anfibióticos: el pejesapo, y se sugiere la existencia de una probable cotransmisión nerviosa a este nivel.

Las muestras se obtuvieron de 20 ejemplares adultos y se procesaron para microscopía electrónica mediante técnicas convencionales. Secciones ultrafinas fueron examinadas en un microscopio electrónico Zeiss EM 9.

Se identificaron dos tipos de terminales: uno que contenía sólo vesículas sinápticas elípticas claras de 30-50 nm en diámetro y otro que además de vesículas similares a las anteriores contenía vesículas de 100-120 nm con densidad electrónica variable, entre las cuales se destacaban algunas que poseían un núcleo denso.

Las vesículas claras descritas aquí tienen una estrecha similitud estructural con aquellas descritas como colinérgicas, mientras que las de mayor tamaño se sugiere que podrían contener algún neuropéptido. Creemos que este material podría resultar muy útil como modelo biológico, para el estudio de los mecanismos implicados en la modulación de la transmisión nerviosa. (Financiado por la DGI-UCV).

USO DE UN ANALOGO DE LH-RH EN EL TRATAMIENTO DE LOS MIOMAS UTERINOS (Use of an LH-RH analogue in the treatment of the uteri myomas).

Perl, V.; Márquez, J.; Schally, A.; Comaru-Schally, A.M.; Gómez, C.V.; Leal, G.; Zacharias, S. Depto. Obstetricia y Ginecología, Hospital José Joaquín Aguirre.

La administración continua de un análogo de LH-RH, por un Down Regulation, inhibe la liberación de gonadotropinas, suprimiendo temporalmente la actividad gonadal. Estamos evaluando su aplicación en los miomas uterinos. Un grupo de 4 pacientes con uno o más miomas, les fue administrado vía subcutánea 100-500 ug/día de D-TRP 6-LH-RH. La evaluación de la terapia fue clínica, hormonal (estradiol, FSH, LH.) y ecográfica. En todas ellas sucedió una significativa reducción del o los miomas. La droga fue bien tolerada, apareciendo ocasionalmente leves bochornos. Se concluye que la terapia con D-TRP 6-LH-RH, es una buena alternativa para el manejo de miomas uterinos, especialmente cuando la histerectomía no es aconsejable (infertilidad) o está contraindicada.

Agradecimientos a Laboratorio Recalcine.

MADUREZ SEXUAL DE *Pudu puda* Y MORFOLOGIA EXTERNA DEL ES PERMATOZOIDE CON MICROSCOPIA DE BARRIDO. (Sexual Maturity in *Pudu puda* and external morphology of spermatozoon with scanning microscopy). Reyes, E., Hermosilla, I., Santa María, A., Guzmán, R., Cox, J. Angulo, A. Depto. Biología Molecular. Facultad de Cs. Biológicas y Facultad de Cs. Agropecuarias, U. de Concepción.

El conocimiento de la biología reproductiva de *P. puda* es escaso. Nuestro interés ha sido estudiar su madurez sexual. Esta especie autóctona se encuentra actualmente en vías de extinción por ello el gran interés de conocer su biología con el fin de ayudar a la preservación de la especie. La madurez sexual se estudió en gónadas obtenidas de machos recién nacidos y adultos. Las gónadas fueron procesadas para microscopía óptica y electrónica de barrido. Los resultados indican que la madurez sexual se alcanza entre 17 - 18 meses de edad fecha en que inician sus montas. Analizadas las muestras con microscopía de barrido se determinó que el tamaño del espermatozoide es cercano a 60  $\mu$ m, presenta una cabeza plana con forma de paleta. En la primera porción del epidídimo se encuentran los espermatozoides inmaduros. Espermatozoides obtenidos de la vagina después de la cópula difieren morfológicamente de los anteriores.

Patrocinado por : CONAF VIII Región.

Dirección de Investigación. U. de Concepción.

CULTIVOS DE CELULAS DE TESTICULO (Testicular cells in culture). Juan Pablo Rodríguez y José Minguel. Unidad de Biología Celular e Inmunología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. U. de Chile.

Con el objeto de estudiar las interrelaciones entre los distintos fenotipos celulares del testículo, se diseña un sistema de cultivo de células.

En este sistema se establece una capa de células adherentes que no corresponden a células de la línea germinal y que está formada fundamentalmente por células de Sertoli, Leydig, peritubulares, fibroblastos y otras.

Testículos de ratas inmaduras (18-21 días) se decapsulan y se disgregan por tratamiento con colagenasa. La población total de células de testículo se cultiva en Medio 199 suplementado con suero fetal de bovino, suero de caballo e hidrocortisona y se mantienen a 33°C en una atmósfera de 5% CO<sub>2</sub>. Cada cuatro días se cambia la mitad del medio por medio fresco.

En estas condiciones a las 24 horas de cultivo se establece una capa de células adherentes cuya capacidad proliferativa es estimada por periódicos recuentos celulares y mediciones de síntesis de DNA por incorporación de timidina tritiada. Se observa un aumento en el número de células hasta las tres semanas de cultivo, momento en que el crecimiento se hace estacionario, lo que coincide con la medición de síntesis de DNA.

La capa adherente contiene células productoras de andrógeno (reacción histoquímica para la enzima 3  $\beta$ -OH esteroide deshidrogenasa) y células que sintetizan y liberan al medio ABP (ensayo radioisotópico).

Este sistema de cultivo permite la proliferación y mantención de una población heterogénea de células testiculares, entre las cuales están presentes células de Sertoli y Leydig.

El uso de similar sistema es analizado en la perspectiva de la existencia de un microambiente celular en el testículo apto para la espermiogénesis.

Financiamiento: Subvención a Proyectos de Investigación de Tesista de Doctorado Proyecto PNUD-CHI 84/003

PARTICIPACION DE LISOFOSFOLIPIDOS EN LA REACCION ACROSOMICA DE ESPERMATOZOIDES DE MAMIFERO. (The role of lysophospholipids in the mammalian sperm acrosome reaction). Riffo, M. y Llanos M. Depto. Cs. Med. Biol. Bas. Div. Cs. Médicas-Sur y Div. Cs. Bas. INTA. Univer. de Chile.

La capacitación (CAP) y reacción acrosómica (RA) en espermatozoide de mamífero son esenciales para la fertilización. Este trabajo pretende dar mayores evidencias acerca del mecanismo molecular de la RA, específicamente del rol desempeñado por Fosfolipasa A<sub>2</sub> (FLA<sub>2</sub>) y uno de sus productos, los Lisofosfolípidos (LFL<sub>s</sub>). Para esto se utiliza un sistema "in vitro", inductor de CAP y RA en espermatozoides de hamster. Espermatozoides epididimarios, lavados y separados en una columna de perlas de vidrio son incubados (37°C) a diferentes tiempos en un medio que incluye: Epinefrina, Taurina, Albúmina libre de ácidos grasos. Se estudia el comportamiento de los espermatozoides (motilidad, hiperactivación y RA), tratados o no con diferentes LFLs, o bien con inhibidores de FLA<sub>2</sub>: Mepacrina (M) y Bromuro de p-bromo-fenacilo (pBPB). Si los espermatozoides son preincubados por 3 y 3.5 h y a este tiempo se agrega Lisofosfatidilcolina (LFC) a concentraciones entre 0.6 y 50  $\mu$ g/ml y la incubación se mantiene por 12 min. más, este agente acelera sincronizadamente las RA por sobre los controles, sin modificar motilidad ni hiperactivación; dicho efecto no se observa en menores tiempos de preincubación. La estimulación de la RA por LFC se observa ya a 1 min de coincubación. Lisofosfatidiletanolamina y Lisofosfatidilinositol, produjeron resultados similares, a excepción de Lisofosfatidilserina que no induce RA. La adición de M o pBPB inhibe las RA significativamente; dicho efecto es revertido por la adición de LFC al medio de incubación. Los resultados sugieren que LFLs podrían ser marcadores de la CAP en mamíferos, postulándose además que FLA<sub>2</sub> y LFL<sub>s</sub> endógenos podrían estar involucrados en los eventos finales de membrana asociados a la RA.

Fin. DIB. Proyecto # B-2015-8522 y OMS Grant # 83010.

UNION DE ESCHERICHIA COLI AL ESPERMATOZOIDE HUMANO POST MIGRACION A TRAVES DE MOCO CERVICAL ESTROGENICO. (Binding of Escherichia coli to human spermatozoa after migration through estrogenic cervical mucus). Sánchez, R., Concha, M., Cornejo, R., Villagrán, E. Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Instituto de Histología y Patología, Universidad Austral de Chile.

Los procesos inflamatorios pélvicos (PIP) predisponen la ocurrencia de Infertilidad, por oclusión o restricción de la Trompa de Falopio. Recientemente se ha asociado al espermatozoide humano (EH) en la génesis de PIP actuando como vector en el transporte del bacterio a través del moco cervical estrogénico.

Para caracterizar el tipo de unión entre bacterio-espermatozoide, se realizó lavado espermático con medio TMPA (4mg. de BSA x ml), colocando 0.4 ml de EH (concentración de 10<sup>6</sup> x ml) a un tubo que se agrega 0.01 ml de E. coli (concentración de 10<sup>6</sup> x ml) se contactan capilares con moco cervical estrogénico y TMPA en su tercio superior, dejando migrar los EH por 3 horas. El capilar se corta en la interfase moco cervical-TMPA fijando alicuotas del medio para microscopía electrónica de transmisión.

La unión más frecuente encontrada tanto en los espermatozoides migrados como no migrados fue la de fimbria bacteriana, compuesto polipeptídico que asociado a una manosa (lectina simi) une la célula procariótica al carbohidrato de la membrana plasmática del EH, y el segundo tipo demuestra un contacto íntimo, sin observarse fusión de ambas células.

La ultraestructura demuestra que el tipo de unión de la E. coli no difiere de los descritos para otros tipos celulares.

Financiado por Grant UFRO.

CITOTOXICIDAD INDUCIDA POR CFA EN Mus musculus (Balb/c x Snell). (Induced cytotoxicity by CFA in Mus musculus (Balb/c x Snell)). Soto-Miranda, J., Orellana, M., Lafuente-Indo, N. Lab. de Genética Toxicológica, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

Ensayos mutagénicos como Dominantes letales, tranlocaciones heredables y teratospermia entregan información del daño genético inducido por agentes químicos en células germinales. Esta es sólo evidencia indirecta del estado en que dichas células fueron dañadas por el mutágeno. Es por esto necesario correlacionar dicha información con aquella evidencia directa del daño citotóxico sufrido por las diferentes poblaciones celulares frente a la acción del agente.

Se usaron ratones de entre 10 y 17 semanas de edad, fueron inyectados intraperitonealmente con 200mg/Kpc de CFA. Se sacrificaron 2 individuos por cada tiempo: 14, 26 y 35 días post-inyección, por dislocación cervical. Se realizaron cortes del testículo por métodos histológicos corrientes y se obtuvieron espermatozoides por maceración de la zona caudal del epididímo. Las preparaciones fueron teñidas con H-E. Se revisaron 1000 espermatozoides por individuo.

Histológicamente se aprecia, a los diferentes tiempos, depletación de los túbulos, desorganización de los citos y falta de espermatidas en maduración. La teratospermia aumenta a los 26 días post-inyección.

Los resultados muestran que las poblaciones celulares más afectadas son los citos y las espermatidas, los primeros tanto en el estudio citotóxico como teratospermico.

Los resultados concuerdan con los obtenidos anteriormente para Sch. cancellata (Acrididae)

SEGMENTO ECUATORIAL Y FUSION GAMETICA. (Ecuatorial segment and gamete membrane fusion). Vigil, P. y Barros, C. Laboratorio Embriología, P. Universidad Católica de Chile.

La reacción del acrosoma provoca un cambio en la membrana plasmática del espermatozoide que cubre el segmento ecuatorial y/o la región post-acrosómica, lo que permite la fusión con la membrana plasmática ovocitaria. El objetivo del presente trabajo fue determinar la capacidad de fusión gamética de espermatozoides con segmento ecuatorial vesiculado. Espermatozoides de hamster se capacitaron in vitro en medio de cultivo TAPL 10K, y se les evaluó el porcentaje de reacción acrosómica a diferentes intervalos de tiempo entre 120 y 480 minutos. De la observación de 4.500 espermatozoides móviles se determinó, mediante un estudio de correlación el "porcentaje máximo de reacción acrosómica". Este valor se estableció en  $82,79\% \pm 1,69$  SEM ( $p=0,27$ ;  $r=0,21$ ). Estudios de réplica de superficie de los mismos espermatozoides mostraron que un 84,9% de ellos presentaba el segmento principal y ecuatorial del acrosoma reaccionado. El porcentaje de fecundación para espermatozoides que habían alcanzado el "porcentaje máximo de reacción acrosómica" fue de 98,8% (408/412), con un promedio de 10,1 dispersiones por ovocito fecundado. Para el grupo utilizado como control (espermatozoides que aún no alcanzaban el porcentaje máximo de reacción acrosómica) el promedio de fecundación fue de 90,1% (394/423), con un promedio de 5,7 dispersiones por ovocito fecundado. Los resultados apoyarían la hipótesis de que espermatozoides con segmento ecuatorial vesiculado conservan la capacidad de fusionarse a la membrana plasmática ovocitaria.

Financiado por Grants PNUD-UNESCO 1026/5; DIUC; CONICYT 1204/84.