

**ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DE GONADAS DE UN ADOLESCENTE CON SÍNDROME DE INSENSIBILIDAD A ANDRÓGENOS.** (Ultrastructural study of gonads of an adolescent with the androgen insensitivity syndrome).

Ahumada, A., Devoto, L., Pino, A.M., Ronco, A.M., Sepúlveda, M.S. (\*) y Valladares, L.  
Fac. Ciencias, Fac. Medicina e INTA, U. de Chile.

Se estudió mediante microscopía de luz y electrónica la estructura de las gonadas de un adolescente (cariotipo 46 XY, fenotipo femenino) con síndrome de insensibilidad a andrógenos (o síndrome de feminización testicular). El diagnóstico se apoyó por niveles de testosterona en el suero, que corresponden a los rangos masculinos normales.

De la cavidad abdominal se obtuvo la gónada derecha, la cual presentaba características de testículo. Fue fijada en glutaraldehído y osmio y procesada para microscopía de luz y electrónica.

Al microscopio de luz es posible reconocer cordones celulares rodeados de gran cantidad de tejido intersticial y colágeno. Al microscopio electrónico se observa que estos cordones están compuestos de solo un tipo celular, que correspondería a células de Sertoli por sus características morfológicas. En el tejido intersticial es posible reconocer células mioideas, fibroblastos y células de Leydig, con abundante retículo endoplásmico liso.

La ausencia de células de la línea germinal podría ser una consecuencia de la insensibilidad a andrógenos y de la posición anormal de la gónada.

Financiado por: U. Chile (B-2532), Conicyt (1988), Fondecyt (1171/88). (\*) becario Fundación Andes.

**Aislamiento y caracterización metabólica de mitocondrias de túbulo seminífero de rata.**

(Isolation and metabolic characterization of rat seminiferous tubule mitochondria). Raquel Araya y Juan Reyes Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso y Depto. Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, U. de Chile.

Las mitocondrias de células espermatogénicas se diferencian durante la meiosis dando origen a mitocondrias morfológicamente distintas de aquellas de otros tejidos. Se ha sugerido que estas mitocondrias serían poco sensibles a desacoplantes (Vásquez-Memije et al, Arch. Biochem. Biophys 260:67(1988)). Nuestros estudios con *gsyppol*, un desacoplante bivalente, indican que esta sensibilidad parece ser función del tipo de sustrato que las mitocondrias transportan y metabolizan y que su insensibilidad puede deberse a presencia de ácidos grasos libres. Con el fin de estudiar en más detalle los sistemas de transporte y el metabolismo asociado con mitocondrias del tipo espermatogénico, hemos aislado por centrifugación diferencial y gradientes de sacarosa, así como caracterizado con marcadores enzimáticos una población de mitocondrias capaces de utilizar lactato como fuente de equivalentes reductores, que presentan un control por aceptor de  $\frac{1}{2}$  y una razón ADP/O de 2,8. Estas propiedades metabólicas validan el posible uso de esta preparación de mitocondrias en posteriores estudios de transporte y metabolismo. (Financiado por Grant GAPS 8721, Fund. Rockefeller y Proyecto 125.712/87 UCV).

**LA REACCIÓN ACROSÓMICA EN ESPERMATOZOIDE DE HAMSTER: DE LO MORFOLÓGICO A LO MOLECULAR.** (The hamster sperm acrosome reaction: Relationship between a morphological and molecular view). Avendaño, C. y Llanos, M. Universidad de Chile. INTA. Unidad de Biol. de la Reproducción.

Desde cuando morfológicamente fue descrita la reacción acrosómica (RA) en el espermatozoide de mamífero, como un proceso en el cual ocurre la fusión y posterior fenestración de las membranas plasmáticas y acrosómica externa de la cabeza, nuevos indicios y aproximaciones científicas derivaron de evidencias experimentales obtenidas de la utilización de sistemas de incubación "in vitro" de los espermatozoides. Así en la RA, desde un punto de vista bioquímico, fue determinada la participación y relación de una serie de moléculas e iones tanto de origen interno como externo a la unidad espermática. De esta manera, iones como  $Ca^{++}$ ,  $K^+$  y moléculas lipídicas y proteicas en forma independiente como también las interacciones entre sí, constituyen actualmente la base fundamental de los modelos y mecanismos hipotetizados para la secuencia de eventos de la RA, proceso inherentemente unido a los cambios previos que el espermatozoide presenta y que ha sido denominado capacitación. Basados en la utilización de un sistema de incubación "in vitro" de espermatozoides de hamster; sistema inductor de capacitación y RA, al cual es posible incorporarle elementos experimentales como B-agonistas, inhibidores de reacciones de transmetilación de fosfolípidos, activadores directos del sistema adenilato ciclasa, etc., se obtienen resultados que sugieren una activa participación e interrelación de los sistemas fosfolípidometiltransferasas y adenilato ciclasa del espermatozoide, tanto en capacitación como en la RA. Dichas actividades originan un incremento en el AMPc intraspermático y por consecuencia una serie de reacciones bioquímicas condicionantes de ambos procesos ya mencionados. Se discute la participación de otros transductores. (Fin.: Proyecto DTI, U. de Chile # 2396-8833 y Proyecto OMS # 87111.

**ROL DE LOS ANDRÓGENOS EN LA MANTENCIÓN DE LA ACTIVIDAD GONADAL DEL HAMSTER DORADO.** (Role of androgens in the maintenance of gonadal activity in Golden Hamster). Balboa, J.B. y Ferrario, M.L. Depto. Biología Celular y Genética, Fac. de Medicina, U. de Chile.

La actividad gonadal en los mamíferos estacionales está regulada principalmente por el fotoperíodo. Se sugiere que esta acción sería mediada por mecanismos que involucran fluctuaciones en los niveles de FSH y testosterona durante el ciclo estacional.

El objetivo de este trabajo fue analizar la participación de la testosterona en la mantención de la actividad gonadal en el hamster dorado. Con este fin se estudiaron los efectos de la inhibición de la acción androgénica con acetato de ciproterona (2.5 mg inyectados subcutáneamente por 30 días) sobre algunas características morfofuncionales del testículo y epidídimo en animales en actividad gonadal. Se compararon estos resultados con los obtenidos en animales en actividad y en reposo gonadal.

Los resultados mostraron una leve disminución del peso de testículos y epidídimos en los animales tratados respecto de los controles en actividad. El cambio más notable ocurrió en el recuento espermático epididimario, disminuyendo en cabeza a un 4%, en cuerpo a un 2% y en cola a un 5% de los controles en actividad. El análisis histológico mostró una ligera disminución en el diámetro de los túbulos y altura del epitelio seminífero, manteniéndose la línea germinal completa. La ABP (androgen binding protein) presente en epidídimo disminuyó levemente en comparación con los controles. Todas estas características en cambio mostraron una marcada disminución en los animales en reposo gonadal.

Se concluye que la neutralización de la actividad androgénica produce una marcada disminución de la actividad espermatogénica, mientras otras características morfológicas y funcionales no son afectadas notoriamente. Esto sugiere que los intensos cambios ocurridos durante la regresión gonadal, podrían ser explicados en parte por la disminución de los niveles androgénicos registrados en este período.

Financiado por Fondecyt/0509 y DTI B-2685/8822

HORMONA UTEROTRÓFICA PLACENTARIA (UTPH). (Uterotrophic Placental Hormone (UTPH)). Beas, F., Boric, M. A., Iñiguez, G., Capurro, M. T., Roblero, L., Salinas, A., Rojas, I. Instituto de Investigaciones Materno Infantil. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

La Hormona Uterotrófica Placentaria (UTPH) (Beas et al. 1969) es una proteína obtenida de placentas humanas por filtración en Sephadex y Concanavalina A. UTPH presenta al menos 3 formas moleculares obtenidas por 2 métodos cromatográficos y geles de acrilamida (29, 70 y 440 KD). Se ha encontrado que los niveles plasmáticos en embarazadas muestran un valor máximo en las primeras semanas de gestación y se ha descrito la producción de UTPH tanto por el trofoblasto como por la decidua humana.

Las acciones biológicas descritas para UTPH son:

a. En útero: Al inyectar UTPH en ratonas prepúberes se observa un aumento significativo en el peso de los úteros ( $p < 0.001$ ); esta acción es debida fundamentalmente a un aumento en el contenido de DNA; el antisuero UTPH inhibe la acción uterotrófica de UTPH y no la acción uterotrófica de hCG, estrógenos y progesterona. Esta acción uterotrófica se expresa en UI de hCG equivalentes, mediante un programa computacional basado en el sistema de líneas paralelas de Bohr.

b. En glándula mamaria: El efecto de estrógeno más progesterona en ratas es inhibido por UTPH ( $p < 0.001$ ); además similar efecto inhibitorio se encuentra en ratonas vírgenes en los brotes terminales de la glándula mamaria observada in toto ( $p < 0.0005$ ).

c. En desarrollo preimplantacional: Se observa que al incubar embriones de rata (2-4 células) con antisuero UTPH disminuye la velocidad de clivaje (mórula a blastocisto). La administración intrauterina local de UTPH favorece la implantación de embriones tanto en ratas como en ratones. La administración de antisuero UTPH disminuye el número de implantes en las mismas especies. Se concluye que de acuerdo a las condiciones experimentales descritas UTPH presenta un importante rol en los primeros estadios del embarazo.

SEGREGACION DE ANTIGENOS DE SUPERFICIE CELULAR EN EL DESARROLLO INICIAL DE RATON (Segregation of cell surface antigens in the early mouse development). Becker, M.I., De Ioannes, A. e Izquierdo, L. Fac. Cs., U. Chile, Fac. Cs. Biol., U. Católica.

En el blastocisto de mamíferos se reconocen dos tejidos diferenciados - masa celular interna (MI) y trofoblasto (T) - de los cuales el último está determinado. Aunque esta diferenciación se haya remitido a la posición interna o externa de las células en la mórula avanzada, no se ha informado de marcadores de linaje celular que permitan un análisis de los mecanismos que operan antes que se manifieste la diferenciación.

Con el propósito de reconocer antígenos de superficie celular que sirvan como marcadores de linaje, hemos producido anticuerpos monoclonales (AMC) contra mórulas de ratón o células de teratocarcinoma de la línea F9. Los AMC obtenidos fueron clasificados de acuerdo con la distribución temporal y espacial de los antígenos en oocitos y en MI o T de blastocistos implantados in vitro, mediante inmunofluorescencia indirecta.

Nuestros resultados revelan la existencia de 9 AMC que reconocen antígenos en el oocito que más tarde segregan sólo a T y de 14 AMC que reconocen antígenos cuya expresión surge durante la segmentación y que más tarde se encuentran sólo en MI. Además, hemos obtenido 38 AMC que reconocen antígenos que están en el oocito o que aparecen durante la segmentación y que más tarde se encuentran tanto en MI como en T.

En conclusión, disponemos de 9 AMC que son marcadores del linaje T, sugiriendo que la especificación para la determinación de T se inicia durante la ovogénesis; y además disponemos de 14 AMC que son marcadores de MI, sugiriendo que la diferenciación de MI se inicia durante la segmentación.

Financiado por FONDECYT y U. de Chile.

EFFECTO DE LA CICLOFOSFAMIDA SOBRE LA ESPERMATOGÉNESIS DEL RATON (Cyclophosphamide effect on mouse spermatogenesis) Belammi, M., Guadarrama, A. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La ciclofosfamida (CFA) es una droga de amplio uso como antineoplásico. Este trabajo analiza su efecto sobre la espermatogénesis en ratones cuyas madres se trataron durante la preñez o la lactancia. 3 grupos de 30 ratones hembras preñadas se inyectaron intraperitonealmente con dosis única de CFA de 50, 100 ó 200 mg/kg de peso a las 6, 13 y 21 días de preñez.

Animales controles se inyectaron con suero fisiológico. Otros 30 ratones hembras lactantes se inyectaron 50 mg/kg de CFA a las 6, 13 y 18 días de lactancia, las crías se destetaron a los 21 días, la espermatogénesis se analizó en la descendencia a los 60 días de edad.

Todas las dosis de CFA utilizadas produjeron aborto en la casi totalidad de los casos. En los machos provenientes de madres tratadas con CFA (50 mg/kg) durante su lactancia, se observaron anomalías a nivel de los túbulos seminíferos (vacuolización epitelial, anomalías morfológicas intraspiteliales y descamación masiva de elementos germinales al lumen) a pesar de presentar espermatogénesis completa. Estas anomalías variaron en magnitud de acuerdo al tiempo de exposición a la droga.

Se concluye que la CFA administrada en dosis de 50, 100 y 200 mg/kg de peso corporal induce pérdida embrionaria cuando se administra durante la preñez. Cuando se administra durante la lactancia, los efectos sobre la morfología de los túbulos seminíferos varían de acuerdo al período de exposición de las crías a la droga, siendo mayores las anomalías a mayor exposición a la CFA.

(Proyecto DTI # B2685-8712; Fondecyt).

DESARROLLO POST LARVAL DE LA GONADA EN Calyptreaa (Trochita trochiformis) (MOLLUSCA, MESOGASTROPODA). (Post larval gonadal development in Calyptreaa (Trochita trochiformis) (MOLLUSCA, MESOGASTROPODA)). Brown, D. Depto. Biol. Cel. y Genética, Fac. de Medicina, U. de Chile.

El desarrollo gonadal en C. (T.) trochiformis, hermafrodita protándrica, es un proceso que resulta en la diferenciación de la línea germinal masculina y femenina en el mismo órgano. En Crepidula plana se han descrito células germinales primordiales (C.G.P.) masculinas y femeninas desde el inicio del período post larval. En este trabajo se propone que C.G.P. indiferenciadas son compartimentalizadas por las células somáticas sustentaculares, diferenciándose en masculinas adluminales y femeninas basales.

Para el análisis del desarrollo gonadal, se procesaron animales post larvales de diferentes tamaños, por técnica corriente de M.E.T. obteniéndose cortes semifinos seriados teñidos con azul de toluidina para M.O. y finos para M.E.T.

Un esbozo germinal compacto con células somáticas oscuras rodeando a C.G.P. indiferenciadas pálidas se proyecta hacia la región gonadal definitiva. De las C.G.P. que proliferan algunas son rodeadas por células somáticas sustentaculares y la mayoría permanecen adluminales al formarse ramificaciones tubulares que organizan su peritúbulo. Consecuentemente las células somáticas establecen complejos de uniones septadas constituyendo un epitelio sustentacular que en su porción basal contiene C.G.P. a diferenciarse en ovogonias, y en su porción adluminal C.G.P. a diferenciarse en espermatogonias.

Así, durante el desarrollo gonadal de C. (T.) trochiformis, las células sustentaculares (Sertoli) crearían un compartimento adluminal donde se desarrolla la espermatogénesis y uno basal, donde permanecen ovogonias quiescentes. El desarrollo consecutivo de la ovogénesis sería posible luego de un período de transición, en que se reactivarían las ovogonias. Expresándose así el componente gonadal de la sexualidad hermafrodita protándrica.

**BLOQUEADORES  $\beta$  ADRENERGICOS Y SU ACCION SOBRE LA IMPLANTACION.** ( $\beta$  adrenergic blockers and their implantation action). Bruzzone M.E. y Chávez N. Depto. Fisiología y Biofísica, Fac. de Medicina, Universidad de Chile.

Anteriormente se demostró que el DL-propranolol inhibe la implantación en la rata cuando es administrado localmente en el útero. Con el fin de dilucidar si este efecto se debería a su actividad antagonista de receptores  $\beta$  adrenergicos o a su acción estabilizadora de membrana (MSA), se estudió el efecto de otros  $\beta$  bloqueadores: Nadolol y Timolol (sin MSA), Atenolol (MSA débil) y Oxprenolol (con MSA).

Se utilizaron ratas hembras adultas de la cepa Sprague-Dawley, cruzadas con machos el día del proestro. El día 1 postcoital se constituyeron 11 grupos de ratas y se les administró por vía endouterina: Nadolol en concentraciones crecientes de 4 a 150 mM (grupos 1 al 5); Timolol (grupos 6 y 7), Atenolol (grupos 8 y 9) y Oxprenolol (grupos 10 y 11) en concentraciones de 37,5 y 150 mM. Estos bloqueadores fueron instilados en el cuerno uterino derecho de las ratas y se utilizó como control el cuerno izquierdo tratado con suero fisiológico. Al noveno día, se cuantificó el número de implantaciones presentes en ambos cuernos.

Se encontró que Timolol, Atenolol y Oxprenolol no alteraron la implantación, mientras que Nadolol produjo una inhibición dosis dependiente. Considerando que algunos de estos bloqueadores poseen actividad simpático-mimética intrínseca (Oxprenolol y Timolol) y Atenolol es un bloqueador selectivo  $\beta_1$ , los resultados obtenidos sugieren que la inhibición de la implantación producida por DL-propranolol y Nadolol se debería a su potencia como betabloqueadores siendo independiente de su MSA.

**TINIDAZOL: UN POSIBLE AGENTE ESPERMICIDA.** (Tinidazol; a possible spermicide agent). Bruzzone M.E., Román E. y León E.M. Depto. Fisiología y Biofísica, Fac. Medicina, Universidad de Chile.

El Tinidazol, es utilizado como antiprotozoario y pertenece a la familia de los imidazoles que poseen la capacidad de inhibir la esteroidogénesis testicular. En este trabajo se investigó: a) su efecto sobre la motilidad de espermatozoides de rata y humanos in vitro y b) el efecto de su administración vaginal en ratas.

Los espermatozoides de rata fueron obtenidos de la cola del epidídimo de machos de la cepa Sprague-Dawley de fertilidad probada (n=6) y recibieron en buffer fosfato pH 7.4. Las muestras de semen fueron obtenidas de dadores con espermograma normal (n=6). En cada experimento se mezcló 0,1 ml de la muestra con 0,3 ml de concentraciones crecientes de Tinidazol disueltas en buffer (1 a 5 mg/ml). La motilidad espermática se observó al microscopio durante 1 hr a los 0, 15, 30 y 60 min, utilizando como control 0,1 ml de muestra + 0,3 ml de buffer. El efecto por vía vaginal se estudió en 5 grupos de hembras adultas, (n=7) tratadas el día del proestro, con distintas concentraciones de Tinidazol (0,25 a 5 mg/ml) y luego cruzadas con machos. En estas ratas se determinó el % de cruzamiento y el % de preñez. Como control se utilizó un grupo tratado con buffer.

Se encontró que el Tinidazol inhibió la motilidad espermática de los espermatozoides de rata y humanos en forma dosis dependiente; disminuyó el % de cruzamiento de las ratas en proestro y el % de ratas que quedaron preñadas, siendo éste menor aún que el % de cruzamiento. Estos resultados sugieren que el Tinidazol administrado por vía vaginal, podría actuar como espermicida.

**COMPORTAMIENTO ELECTROFORÉTICO DE SUSTANCIAS CON ACTIVIDAD FEROMONAL.** (Electrophoretic pattern of substances with pheromonal activity). Bruzzone M.E., Carmona M.T., Cabrera C. y Pérez F. Depto. Fisiología y Biofísica, Fac. de Medicina, Universidad de Chile.

En trabajos publicados anteriormente se demostró que epinefrina y otros agonistas  $\beta$  adrenergicos provocan la producción de feromonas urinarias en la rata, que estimulan su comportamiento sexual. Se postuló que el sitio de origen de éstas sería la hipófisis posterior, puesto que macerados de neurohipófisis de rata tratada previamente con epinefrina, poseen actividad feromonal significativa.

Con el fin de investigar si estas feromonas estarían asociadas a alguna proteína, se estudió el comportamiento electroforético de las siguientes muestras de orina y homogenizados de hipófisis provenientes de ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley (peso: 200-250 g): a) orina de rata en diestro; b) orina de rata en proestro; c) orina de rata tratada con epinefrina (0,2 mg/día x 2 ds., S.C.); d) macerado de hipófisis anterior de rata en diestro; e) macerado de hipófisis anterior de rata tratada con epinefrina; f) macerado de hipófisis posterior de rata en diestro y g) macerado de hipófisis posterior de rata tratada con epinefrina.

Las muestras previamente denaturadas fueron analizadas por electroforesis en geles de SDS-poliacrilamida. Los resultados encontrados muestran que en la orina y en la hipófisis posterior de rata tratada previamente con epinefrina aparece una banda diferente que correspondería a una proteína de mayor peso molecular que la albúmina. Esto sugiere la posibilidad de que la alta actividad feromonal de estas muestras esté asociada a dicha proteína.

**EXPRESION DE FOSFATASA ALCALINA EN EL DESARROLLO INICIAL DE MAMIFEROS** (Expression of alkaline phosphatase in early mammalian development). Cashion, V., Imarai, M., De Ioannes, A., Izquierdo, L., Becker, M.L. Fac. Cs., U. Chile, Fac. Cs. Biol., U. Católica.

Durante el desarrollo preimplantacional la actividad de fosfatasa alcalina (FAL) se reconoce regionalizada en la membrana basolateral de los blastómeros desde el estado de 4-células en adelante. Sin embargo, no se sabe cual o cuales isoenzimas de FAL se expresan en esta etapa del desarrollo. Es posible que se trate de una o varias formas de FAL que podrían ser exclusivas del desarrollo inicial de mamíferos.

Para estudiar este problema se utilizó anticuerpos monoclonales (AMC) que reconocen antígenos de superficie comunes a células de teratocarcinoma-F9 (TC-F9) y embriones iniciales de ratón. Mediante un ensayo de ELISA modificado, se seleccionó un grupo de 10 AMC que retienen la actividad de FAL presente en un extracto de células TC-F9. La localización de estos AMC en oocitos y embriones tempranos mediante inmunofluorescencia indirecta mostró que 3 AMC reconocen epítopes de FAL presentes desde el estado de oocito y 7 AMC reconocen otros cuya expresión surge durante la segmentación. Al examinar la actividad de FAL mediante un microensayo enzimático en extractos de oocitos y embriones de diferente estado, se encontró actividad de FAL en los oocitos, la cual disminuye hasta el estado de 2-células y luego aumenta en estados más avanzados. Midiendo la actividad de FAL en presencia de L-fenilalanina, se observa que la actividad de estados de 1-célula es levemente inhibida y la actividad de estados de 8-células disminuye a la mitad.

Los resultados presentados permiten proponer la presencia de al menos dos isoenzimas de FAL en estados preimplantacionales, una de origen materno y otra producto de la embriogénesis.

Financiamiento parcial proyecto FONDECYT 1171/88.

**EOSINÓFILOS EN ENDOMETRIO Y MIOMETRIO UTERINO BAJO EFECTOS DE EPINEFRINA Y ESTROGENOS.**

R. Cartes-Witto.  
Depto. Morfología Experimental, Facultad de Medicina Norte, Universidad de Chile.

Se ha propuesto que los eosinófilos están involucrados en respuestas estrogénicas; migran al útero a consecuencia de una interacción de la hormona con receptores estrogénicos en el eosinófilo; poseen además receptores de catecolaminas y se sugiere una posible interacción entre estrógeno y catecolaminas.

Para comprobarlo se describe el efecto de dosis altas de Epinefrina sobre la migración de eosinófilos al útero inducida por estrógenos en ratas impúberes.

Se demuestra que la Epinefrina aumenta la proporción de eosinófilos en endometrio y miometrio circular en relación a aquellos ubicados en miometrio longitudinal y mesometrio.

Las catecolaminas aumentarían la movilidad de los eosinófilos modificando las respuestas estrogénicas mediadas por estos.

**CARBÓN COLOIDAL Y ESTROGENOS. EFECTO EN EOSINOFILIA UTERINA Y RELACION ENTRE EOSINÓFILOS DEGRANULADOS Y RESPUESTA EDEMATOSA.**

Castrillón, M.A. Dpto. Morf. Exp., Fac. Med. U. de Chile.

Los estrógenos inducen una migración de leucocitos eosinófilos al útero, donde mediarían varias respuestas de esta estimulación hormonal.

Para investigar el mecanismo de reconocimiento del útero por los eosinófilos, se estudió el efecto del bloque del sistema fagocítico mononuclear con carbón coloidal sobre la eosinofilia uterina inducida por estrógenos, algunas respuestas supuestamente mediadas por los eosinófilos, y la relación entre estas respuestas y la cantidad de eosinófilos degranulados en las distintas capas histológicas del útero.

Se utilizaron 6 grupos experimentales de ratas impúberes. Se inyectaron intravenosamente 4 grupos con carbón coloidal y 2 grupos con suero fisiológico. 1 hora después, 3 de los 6 grupos fueron inyectados con estradiol. Los otros 3 grupos, con su vehículo.

El carbón coloidal induce en ausencia de estrógenos, un aumento en el número de eosinófilos sólo en mesometrio y una leve reacción edematosa en endometrio profundo; en presencia de estrógenos, disminuye la eosinofilia uterina inducida por ellos, en endometrio y miometrio, y disminuye drásticamente el aumento en el peso húmedo y la respuesta edematosa, 6 h. después de la administración de la hormona.

Estos resultados están en concordancia con la hipótesis de la mediación de los eosinófilos en más imbibición acuosa en el útero y sugiere un posible mecanismo de interacción entre carbón coloidal y migración de eosinófilos al útero.

**CAMBIOS CICLICOS DE LA BARRERA HEMATO-TESTICULAR EN LA GALEA MUSTELOIDES, ESTUDIOS CON CRIOFRACTURA Y TRAZADORES ELECTRON-OPACOS.** (Cyclic changes in the blood-testis barrier of the Galea musteloides. A freeze fracture and tracer studies.) Cavicchie, J.C., Gutierrez, L. Instituto de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Médicas. U.N.C. Mendoza, Argentina.

La Galea musteloides, roedor de nuestra fauna local, presenta profunda regresión invernal de la espermatogénesis, periodo en el que persisten solo espermatogonias y espermatoцитos preleptotenes y leptotenes. Los trazadores electrónicos opacos (hidróxido de lantano y nitrato de níquel) demuestran cambios profundos en las características de permeabilidad de las uniones intersertolianas. Durante los periodos de espermatogénesis completa, una típica barrera hemato-testicular, con espermatogonias, leptotenes y preleptotenes en el compartimento basal del tubo seminífero, están presente. Sin embargo durante la regresión estacional, los trazadores penetran libremente al compartimento adluminal rodeando a los espermatoцитos remanentes e incluso a otras células germinales en involución. Las uniones estrechas intersertolianas, numerosas, y de orientación en forma de cinturón paralelo a la membrana basal, se hacen escasas y adoptan posición desordenada durante la regresión estacional. La Galea musteloides parece ser, por lo tanto un buen modelo para el estudio de los cambios conformacionales de las uniones intersertolianas en relación a las células germinales vecinas.

**EFECTOS DEL ACETATO DE CIPROTERONA EN LA ULTRAESTRUCTURA DE EPIDIDIMO HUMANO** (Ultrastructure of the human epididymis treated with cyproterone acetate) Cerda, M.C. y López, M.L. Deptos. Med. Exp., Div. Sur y Biol. Cel. y Genet., Div. Norte, Fac. de Med., U. de Chile.

Diversos investigadores han demostrado que acetato de ciproterona (AC) es un antiandrógeno que deprime el peso y la función de glándulas sexuales accesorias, inhibe la espermatogénesis e impide la unión de andrógenos a células blanco. Sin embargo, su mecanismo de acción molecular no está bien establecido y asimismo escasa es la información sobre el efecto de esta droga en la histología del tracto reproductor. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de AC en la ultraestructura de epidídimo, órgano blanco de la acción androgénica, mediante M.O. y M.E.T. Las muestras provienen de individuos tratados y no tratados con AC y fueron gentilmente cedidas por el Prof. A. Holstein de la Universidad de Hamburgo.

Los cortes finos y ultrafinos de conducto eferente y epidídimo muestran una serie de alteraciones citológicas, especialmente a nivel de las células principales del epitelio. Entre ellas, podemos mencionar una disminución de la altura del epitelio y de las microvellosidades, así como del número de vesículas micropinocitóticas de la superficie adluminal. El complejo de unión está también afectado. Aparentemente R.E.R. y Golgi se encuentra disminuidos y si bien se observan granulos de secreción éstos presentan modificaciones estructurales. Llama la atención la presencia de gran número de lisosomas y/o cuerpos multivesiculares.

Los efectos de este antiandrógeno son más drásticos en cabeza que en cuerpo y cola epididimaria y son similares a los descritos post-castración. Las observaciones ultraestructurales antes indicadas podrían relacionarse con una alteración de la función secretora y de absorción de las células principales lo que a su vez podría influir en el proceso de maduración espermática que se desarrolla en epidídimo.

**EFFECTO DE HISTAMINA Y SEROTONINA SOBRE LA CONTRACTILIDAD DEL MIOMETRIO HUMANO GESTANTE Y NO GESTANTE.** Effect of histamine and serotonin on contractility of isolated pregnant and non-pregnant human myometrium. Cruz, M.A., González, C., Acevedo, C.G., Sepúlveda, W. y Rudolph, M.I. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Se postula que las aminas vasoactivas, Histamina (H) y Serotonina (5-HT) son responsables de los efectos tempranos de la acción estrogénica en el aparato reproductor femenino, especialmente en el útero. Además existen evidencias que estos autacoides regulan la actividad contráctil uterina en varias especies. El objetivo de este trabajo, es estudiar la acción de H y 5-HT sobre la contractilidad del útero humano gestante y no gestante.

El presente estudio se realizó con biopsias de miometrio de mujeres no-gestantes (histerectomía) y gestantes (operación cesárea). Se empleó la técnica de órgano aislado y se midió la tensión isométrica desarrollada por las preparaciones uterinas frente a H y 5-HT y sus antagonistas selectivos.

Los resultados muestran que H y 5-HT inducen fuertes contracciones de gran amplitud y duración sólo en preparaciones de útero gestante, siendo mucho menor la capacidad de respuesta del tejido uterino no-gestante (20% de T gestante). El efecto contráctil inducido por H fue bloqueado competitivamente por Pirilamina ( $10^{-8}$  -  $10^{-6}$  M). Por otro lado, el efecto contráctil de 5-HT fue bloqueado en forma no-competitiva por Metisergeide ( $10^{-7}$  -  $10^{-6}$  M), antagonista 5-HT<sub>1</sub> y 5-HT<sub>2</sub>. Ketanserina ( $10^{-8}$  -  $10^{-6}$  M) no modificó la respuesta inducida por 5-HT. Las marcadas diferencias en la capacidad de respuesta del útero gestante y no-gestante sumadas a las significativas variaciones en la concentración de H, nos permiten sugerir una participación de estas aminas en la regulación de la actividad uterina en el proceso del parto.

Financiado Proyecto 20.33.37 Dirección Investigación Universidad de Concepción.

**EFFECTO DE ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTIACROSINA SOBRE LA UNIÓN ESPERMATOZOIDE-ZONA PELUCIDA** (Effect of monoclonal antibodies to acrosin on spermatozoa binding to zona pellucida). De la Landa, A., Capote, C. y Blanco, L., Unidad de Inmunología y Laboratorio de Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Acrosina es una serina proteinasa que se ubica en el acrosoma del espermatozoide de mamífero. Debido a su actividad proteolítica esta enzima puede jugar un papel importante en el proceso de la fecundación al participar en la unión y penetración de la zona pelúcida por los espermatozoides. Para estudiar el papel funcional de la acrosina se prepararon anticuerpos monoclonales contra la enzima (Biochem. Cell Biol. 64: 1242, 1986).

El anticuerpo monoclonal Acr-C2E5 está dirigido contra la acrosina de bovino y presenta reacción cruzada con la humana, de ratón y hamster. Este anticuerpo inhibe la disolución de la zona pelúcida del ovocito de hamster por acrosina humana purificada. Además en experimentos de unión y penetración de la zona pelúcida humana por espermatozoides humanos se determinó que en presencia de Acr-C2E5 disminuye el número de espermatozoides unidos a la zona pelúcida con respecto a los controles. Mediante microscopía electrónica de barrido de los ovocitos de hamster fecundados *in vitro*, hemos observado efecto inhibitorio de la unión de los espermatozoides a la zona pelúcida por el anticuerpo monoclonal Acr-C2E5.

Bleil & Wasserman (JCB102:1363, 1986) presentaron evidencia que indicaría que la unión del espermatozoide se podría disecar en dos etapas, en la primera el espermatozoide se uniría a la glicoproteína ZP3 de la zona pelúcida, la que se ha visto tiene propiedades para inducir la reacción del acrosoma, y en la segunda etapa y como resultado de este proceso el espermatozoide expondría sus receptores para ZP2 ubicados en la membrana interna acrosomal.

Estos resultados permiten proponer la hipótesis que acrosina al producir una degradación selectiva de las glicoproteínas de la zona, permitiría la unión entre los receptores espermáticos presentes en la membrana interna del acrosoma y ZP2.

Financiado por Proyecto 74/87 DIUC.

**ESTABILIDAD NUCLEAR, ZINC Y CAPACIDAD FECUNDANTE DEL ESPERMATOZOIDE BOVINO.** (Nuclear stability, zinc and fertilizing ability of bovine sperm). De los Reyes, M. y Leiva, S. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se ha asociado el zinc con la estabilidad nuclear y adecuada capacidad de decondensación de la cromatina del espermatozoide, característica que debe exhibir el gameto fecundante una vez que ha ingresado al citoplasma ovular.

Con el propósito de conocer las características de estabilidad de la cromatina de los espermatozoides de bovino, su relación con el zinc y capacidad fertilizante se analizaron 10 semenes obtenidos por electroeyaculación provenientes de 5 toros de 2 a 5 años de edad. Cada eyaculado fue dividido en alícuotas las cuales se incubaron en medios que contenían zinc (ZnSO<sub>4</sub>, 2 mM) y EDTA (6 mM) por diferentes tiempos (15, 30 y 45 minutos) y luego sometidas al test de decondensación nuclear "in vitro" con tioglicolato alcalino (2,4 M). La estabilidad nuclear (núcleos condensados) de la población de espermatozoides se evaluó mediante recuento de las cabezas espermáticas condensadas (CEC) ( $\leq 28 \mu^2$ ) y decondensadas (entre 28 y 60  $\mu^2$ ) contabilizando 200 células en cada situación experimental. No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) al analizar todos los semenes en las distintas condiciones de tratamiento. Al analizar los eyaculados de acuerdo a la fertilidad de los animales, con fertilidad probada (FP) y no probada (FNP) se obtuvo una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) al comparar los valores de la población espermática condensada de ambos controles (X 147,0  $\pm$  13,3 y X 58,0  $\pm$  2,8 respectivamente). Asimismo se obtuvo diferencias ( $p < 0,05$ ) en tratamientos con EDTA (30'-45') y con zinc (15'-45') al comparar los gametos de FP y FNP. No se observó aumento de células con estabilidad nuclear (condensadas) en los semenes con FP y FNP, al ser tratadas con zinc.

Se puede concluir que el Test de decondensación "in vitro" se correlaciona con fertilidad en bovino, evidenciando un alto porcentaje de células con estabilidad nuclear. Esto es, gametos con una adecuada organización físico-química de la cromatina que implica una óptima concentración S-S/SH más zinc, en las nucleoproteínas, signo de madurez espermática y capacidad fecundante potencial. El test fisiológico utilizando suabido al espermiograma de rutina puede permitir una mayor aproximación de diagnóstico de fertilidad potencial en bovino y otros mamíferos.

(Financiado Proyecto # 2687/8823, DTI, Universidad de Chile).

**EFFECTO DE LA 4 HIDROXIANDROSTENODIONA SOBRE LA ESTEROIDOGENESIS DE CELULAS LUTRAS HUMANAS** (Effect of 4 Hydroxyandrostenedione on steroidogenesis of human luteal cells). DEVOTO L., VEGA M. Depto. Ob/Gin. Inst. Invest. Mat. Inf. Hospital Paula Jaraquemada. Depto. Biología Celular y Genética, Fac. Medicina - U. de Chile.

La 4 Hidroxiandrostenediona (4OHA) es un inhibidor selectivo de las aromatasas. En trabajos previos hemos demostrado que la secreción de Estradiol (E2) y Progesterona (P4) en el Cuerpo Lúteo humano (CLh) es dependiente de la edad del tejido y de la hCG. El objetivo de este trabajo es evaluar en cultivo (24-48 hrs.) de células lúteas de fase secretora intermedias la acción de la 4OHA sobre la síntesis de E2-P4. Los CL se dispersaron en M199, NaHCO<sub>3</sub> (26mM), BSA 0,1% peso/vol, Hepes 25 mM, Penicilina 50 U/ml, Colagenasa 370 U/100 mg., tejido-DNase 14 U/mg. La secreción de E2-P4 (ng/10<sup>6</sup> células) se evalúa en presencia y ausencia de 1  $\mu$ M de 4OHA, HCG en dosis crecientes de 1 a 500 UI/ml. E2-P4 se deteminan por RIA. Nuestros resultados confirman la inhibición de la síntesis de E2 por la 4OHA. Secreción basal de E2 en 24 h. 4.91  $\pm$  0.15 ng/E2 x 10<sup>6</sup> cel. v/s 0,63  $\pm$  0.022 ng/E2 x 10<sup>6</sup> cel. en presencia de 4OHA  $p < 0.005$ . La HCG en dosis de 1 a 500 UI/ml no revirtió el efecto de 4OHA en 48 hrs. Se destaca la significativa inhibición de P4 por la 4OHA. Secreción basal de P4 53.1  $\pm$  10.4 ng de P4 x 10<sup>6</sup> cel. v/s 25.7  $\pm$  4.3 ng/10<sup>6</sup> cel. en presencia de 4OHA  $p < 0.025$ . El efecto estimulador de HCG (1-10 UI) en síntesis de P4 es inhibido por 1  $\mu$ M de 4OHA. Dosis mayores de HCG (100-500 UI) en presencia de 4 OHA solamente restablecen las concentraciones de P4 observadas en los controles. Andrógenos en dosis de 10-500 ng/ml no inhiben la síntesis de P4. Estos resultados indican una inhibición de 100% de la síntesis de E2 y una de 50% de P4, esto último sugiere que la 4OHA además de inhibir el complejo enzimático de aromatasas actuaría en otro sitio de la esteroidogénesis.

DTI M 2701 - FORDCYT 870.

PREVALENCIA DE LAS VARIANTES DE HISTONAS TIPO CS DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO EN ERIZO DE MAR (The histone variants CS are conserved during embryogenesis in sea urchin). Díaz F., Puchi M., Imschenetzky M., Bustos A., Deptos. Biología Molecular y Bioquímica Aplicada, U. Concepción.

La cromatina de cigotos al comienzo del desarrollo embrionario está constituida por nucleopartículas formadas por siete proteínas mayoritarias: CSA, CSB, CSC, CSD, CSE, CSF y CSG. Estas fracciones tiene movilidad electroforética semejante a histonas, pero su composición en aminoácidos difiere notablemente. A medida que avanza el desarrollo, se asocian a la cromatina otras variantes de histonas, predominando al estado de pluteus las variantes tardías ( $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  y  $\epsilon$ ). Estas histonas tienen una composición en aminoácidos semejante a las encontradas en células somáticas. Este cambio en la composición de la cromatina va acompañado con una disminución en la velocidad de replicación.

Con el objeto de investigar el destino de las variantes de histonas CS durante el desarrollo embrionario, se detectó la presencia de estas proteínas en cromatina de embriones recolectados a diferentes tiempos post fecundación, por métodos inmunobioquímicos. Las histonas obtenidas de los diferentes embriones fueron analizadas en gels de poliácridamida al 18%-SDS, transferidas a papel de nitrocelulosa e incubadas con anticuerpos policlonales anti CS obtenidos en conejos, cuyo título fue determinado por ELISA. Los Western blots fueron revelados con el sistema streptovidina-peroxidasa biotinilada-HRP color.

Los resultados obtenidos indican que las variantes de histonas tipo CS presentes en ovas no fecundadas y en cigotos se conservan en la cromatina hasta estados larvales. Esto sugiere que durante las sucesivas divisiones celulares estas proteínas segregarían junto al ADN replicado y que las variantes expresadas posteriormente tipo  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$  se asociarían al ADN produciendo la dilución de las variantes CS en la composición global de cromatina obtenida en estados tardíos de desarrollo. Proyecto 203111 y 203117, Universidad de Concepción y 0789/88 FONDECYT.

EFFECTO DE LA RETENCION DE ESPERMATOZOIDES EN EL MOCO CERVICAL ESTROGENICO, SOBRE LA CAPACIDAD DE FUSION GAMETICA HETEROLOGA. (Effect of sperm retention in estrogenic cervical mucus on the heterologous gamete membrane fusion). Ducci, P., Salgado, A.M., Argüello, B., Leontic, E., Barros, C., Laboratorio de Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El papel del moco cervical en la capacitación espermática ha sido objeto de controversia. Por una parte, se ha postulado que los espermatozoides son capacitados mientras permanecen en el moco, debido a que una vez recuperados de él, serían capaces de fecundar oocitos sin zona pelúcida, sin una preincubación previa. También se ha propuesto que el moco impediría la capacitación, prolongando así su vida fértil. De esta manera se asegura un flujo constante de espermatozoides fecundantes. En este trabajo se estudió el efecto del almacenamiento de los espermatozoides en el moco, sobre su capacidad fecundante. Los espermatozoides se mantuvieron en moco estrogénico por 3, 24, 48 y 72 horas, a temperatura ambiente, se recuperaron del moco y luego se incubaron con oocitos de hamster sin zona pelúcida. Los resultados mostraron que en general, el porcentaje de adherencia y de descondensación de la cromatina espermática disminuye a mayor tiempo de retención de los espermatozoides en el moco. Así por ejemplo, espermatozoides mantenidos por 3 horas fecundaron un 35% de los oocitos, mientras que los que se almacenaron por 24 horas fecundaron un 15%. Los que estuvieron por 48 horas fecundaron un 13%, mientras que aquellos que permanecieron por 72 horas, no fecundaron los oocitos. Los resultados del presente trabajo reforzarían la hipótesis que el moco cervical no capacita a los espermatozoides, sino que previene la ocurrencia de este fenómeno.

Financiado por DIUC 74/87 y GAPS 8710 Fundación Rockefeller.

ASPECTOS INMUNOLOGICOS Y FUNCIONALES DE LA SECRECIÓN DE LAS VESICULAS SEMINALES DE RATAS NORMALES E INMUNIZADAS. (Immunological and physiological aspects of the seminal vesicles secretion in normal and immunized rats). Esponda, P., Carballada, M.R. y Gómez Lahoz, E. Centro de Investigaciones Biológicas. CSIC. Madrid. España.

El tamaño y la abundante secreción de las vesículas seminales (VS) de muchos mamíferos, parecen indicar papeles importantes de estas glándulas en el proceso reproductivo, papeles estos hasta ahora poco definidos. En este sentido hemos intentado conocer ciertos aspectos de las VS de rata aplicando métodos bioquímicos, inmunológicos, quirúrgicos y de análisis de la fertilidad. La secreción de las VS está mayoritariamente constituida por 5 bandas proteicas ( $PM = 80, 42, 37, 18.5$  y  $15 \times 10^3$ ). Cuando se utilizó la secreción completa como antígeno se apreció que los anticuerpos obtenidos reconocían la mayoría de las proteínas de la secreción, y que dichos anticuerpos daban reacciones cruzadas frente a las secreciones de otros roedores, pero no con la de lagomorfos y primates. Por otra parte el 100% de las hembras que fueron aloinmunizadas con secreciones de VS desarrollaron anticuerpos y su fertilidad apareció en estos casos claramente disminuida. Un hecho semejante ocurrió cuando se inmunizaron con secreciones de VS de ratón. En estas hembras estériles, el número de espermatozoides presente en el útero a la mañana siguiente de la cópula aparecía muy bajo en comparación con los normales. Este último hecho refleja en parte lo que ocurría cuando se cruzaban hembras normales con machos a los cuales se les habían extirpado previamente las VS.

RELACION GAMETO EPIDIDIMARIA: NUEVAS FORMAS EN LA RATA. (Gamete-epididymal interaction: new findings in the rat). Fornés, H. y de Rojas, J.L. IINEN, FCN, U. de Cuyo, Mendoza, Argentina.

El epidídimo de mamíferos genera un microambiente que promueve la maduración espermática. Este fenómeno se lleva a cabo por la acción de "factores de maduración" producidos fundamentalmente por las células principales, siendo en general proteínas. Se conocen varios tipos de factores y su posible rol, pero poco conocemos acerca del mecanismo de transporte de estos hasta las gametas en tránsito.

El epidídimo de ratas machos adultos fue fijado por perfusión aórtica y los diferentes segmentos (cauda y caput) se procesaron por técnicas habituales para Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) y de Barrido (SEM). También se desarrolló la metodología para aislamiento y posterior análisis bioquímico de "Vesículas Epididimarias" (VE), las que estarían involucradas en los mecanismos de relación gameto-epididimaria.

Las células principales del epitelio epididimario mostraron abundantes estereocilias y una alta formación de VE. Estas VE se producen por un mecanismo de "Pinching-Off" desde la membrana plasmática que cubre el borde luminal de estas células y las estereocilias. Las VE son de tamaño variable, contenido electrón-clara, y se distribuyen por canales preferenciales, a través de estereocilias, dispersándose hacia el lumen. Estas, luego de su aislamiento, de la zona de la cola del epidídimo y procesado para TEM, muestran iguales características que por fijación in situ; revelando además de su tamaño variable un contenido variable.

En el análisis bioquímico demostraron tener 0.135  $\mu\text{g/ml}$  de proteínas mientras que en el fluido epididimario, sometido a igual metodología demostró tener 0.036  $\mu\text{g/ml}$  de proteínas.

La observación en TEM y SEM demostró un íntimo contacto de VE con la pieza intermedia de los espermatozoides en maduración y algunas de ellas fueron fusionadas con dicho sector. Además, con igual metodología, se ha observado un íntimo contacto entre las estereocilias y los espermatozoides, en los diferentes sectores del epidídimo.

Postulamos que estas VE y la relación entre estereocilias y gametas son posibles vías de interrelación gameto-epididimaria. Y que las VE transportarían algún factor de orden proteico.

DIFERENCIACION DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA DURANTE LA ES - PERMIOGENESIS DE INSECTOS ORTOPTEROS. (Differentiation of the plasmic membrane during spermiogenesis in Orthoptera insects). Guerra-M., R.L., Esponda, P. Departamento de Biología, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso; Centro de Investigaciones Biológicas (C.S.I.C.), Madrid, España.

Las membranas plasmáticas de los gametos tienen un pa - trón fundamental durante la fecundación, ya sea de una u otra forma, dependiendo del tipo de gametos que cada especie posea, deben interactuar y reconocerse de forma específica. Estudios realizados sobre la regionalización de las glicoproteínas de la membrana en espermatozoides de invertebrados, así como las variaciones de estas moléculas durante la espermiogénesis son prácticamente desconocidas.

Mediante el uso de dos lectinas fluorescentes, como la Concanavalina A-FITC y la Aglutinina del Germen del Trigo-FITC que reconocen específicamente los radicales alfa-D-manosa y N-acetil-D-glucosamina, respectivamente, se estudió comparativamente la localización y variación de estos azúcares durante la espermiogénesis y el espermatozoo de tres especies de insectos ortópteros: *Pymogaster jugicola* y *Platypleis albopunctata* (tetigónidos) y de *Arcyptera tornosi* (acrídido).

En los casos analizados se observó que: a) en espermatozoides, espermatozoides jóvenes, existen radicales de alfa-manosa y ácido siálico en toda la superficie de la membrana; b) en espermátidas avanzadas el marcado de la superficie celular disminuye notablemente, apareciendo una fluorescencia discreta en la región cefálica; c) en espermátidas en estadios finales de la espermiogénesis y en los espermatozoides el marcado ocurre sólo en el área acrosomal.

Se concluye que: 1) la membrana sufre grandes modificaciones en sus territorios durante la espermiogénesis, ya sea perdiendo, cambiando o movilizándose glicoproteínas; 2) el patrón final en los espermatozoides concuerda con lo que ocurre en mamíferos, en que sólo la superficie acrosomal posee una gran cantidad de estos radicales glucídicos.

CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD INTRAOVÁRICA DE *Trichomycterus areolatus* Valenciennes (1846), UN BAGRE DE AGUAS DULCES. (Intraovarian changes in *Trichomycterus areolatus* Valenciennes, 1846, a freshwater catfish). Hualqui, L., Monasterio, V., Manríquez, A. y Arellano, M. Depto. de Silvicultura, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales y Laboratorio de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

La actividad de recrudescimiento ovárico en el bagre de agua dulce, *Trichomycterus areolatus* se inicia durante el mes de Julio, teniendo su mayor incremento en Septiembre y Octubre y declinando en la temporada de verano, tal como lo refleja el índice gonadosomático previamente estudiado.

Dado que *Trichomycterus areolatus* es una especie con poblaciones numerosas y de amplia distribución y gran densidad en aguas de Chile continental, se analizaron los cambios intraováricos de varios ejemplares con el objeto de recopilar mayores antecedentes reproductivos de esta exitosa especie.

Se obtuvieron muestras de ovarios en las diferentes etapas del ciclo para su análisis mediante técnicas histológicas y ultraestructurales.

Los cambios observados en las 5 fases del ciclo ovárico, reposo, preparación, pre-desove, desove y post-desove, están relacionados directamente con los porcentajes de ovocitos existentes en diferentes estadios de maduración, definidos como ovocitos previtelogénicos, en vitelogénesis, preovulatorios y maduros en los cuales se observaron complejos cambios del núcleo, del ovoplasma, de la zona pelúcida y de la cubierta folicular.

Proyecto D.T.I. B-2415-8833. Universidad de Chile.

EVOLUCION ULTRAESTRUCTURAL DE LA LAMINA PROPIA DEL TUBULO SEMINIFERO DEL GATO. (Ultrastructural evolution of the lamina propria in cat's seminiferous tubule). Meyn, R. y Morales, B.A. Depto. de Morfología Experimental, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La lámina propia (lp) del túbulo seminífero presenta un patrón de organización común en la escala filogenética, existiendo variaciones intra e interespecíficas. Las células peritubulares (PT) forman parte de ella, y constituyen un elemento morfofuncional importante en la barrera hematotesticular, así como en el transporte espermático intraductal.

Nuestro objetivo fue profundizar y complementar el estudio evolutivo ultraestructural de la lámina propia del túbulo seminífero del gato.

Se analizaron testículos de 20 gatos (prepuberes, puberes y adultos), procesados para M.E. convencional. Para evidenciar tejido fibrilar elástico se usó orceína y ácido tánico. Los cortes ultraestructurales se observaron en un M.E.T. Zeiss.

La lp del gato está organizada, desde el túbulo hacia el intersticio, por la membrana basal (con 1-2 láminas densas), 2-3 capas concéntricas de cél. PT (y a veces, 1 capa de fibroblastos), alternadas con manojos colágenos y elásticos, y externamente el endotelio de un linfático sinusoidal y fenestrado. En los prepuberes predominan fibras oxitalánicas, y en los adultos, fibras elásticas. Tanto el número de capas de cél. PT como el contenido y madurez de las fibras elásticas van en gradual aumento con la edad hasta la madurez sexual.

El patrón de organización de la lp del gato es análogo al descrito en mamíferos superiores, pero presenta mayor proporción de fibras elásticas y colágenas, adquiriendo reales características de un sistema "fibromioelástico", organizado precozmente. Esto reflejaría una mayor eficiencia anatómico-funcional testicular en esta especie.

ACTIVIDAD LIGANTE DE HORMONAS ESTEROIDALES EN CELULAS DE LEYDIG Y SU RELACION FUNCIONAL. Ibáñez, M.P., Pino, A. M., Valladares, L.E. Unidad de Biología de la Reproducción, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile.

Una respuesta característica de las células de Leydig a la acción de LH es la secreción de testosterona. En la vía esteroidogénica se sintetizan también otros esteroides que tienen una reconocida acción hormonal, como estradiol y progesterona. Se ha descrito en la célula de Leydig la presencia de receptores específicos para todos estos esteroides. En este trabajo se estudia algunas propiedades de los receptores para estradiol (E2) testosterona (T) y progesterona (P), así como su posible interrelación funcional. El estudio se realizó en células intersticiales obtenidas de ratas inmaduras y adultas; para algunos estudios las células de Leydig se purificaron en gradientes de Percoll. Se obtuvieron fracciones de citoplasma y núcleo que se incubaron en concentraciones apropiadas de 3H-esteroide en presencia o ausencia de un exceso del esteroide correspondiente no marcado. La radioactividad unida se determinó por adsorción a hidroxipatita. Los resultados obtenidos demuestran que la actividad ligante para E2, T y P se encuentra presente en las células, en todas las edades analizadas; encontrándose una menor capacidad ligante en los animales inmaduros. Se estudió la concentración intracelular de los distintos receptores esteroideos luego de la acción estimulante de una dosis farmacológica de LH en ratas adultas. Los resultados permiten proponer una relación funcional entre los receptores para E2, P y T.

Financiado por FONDECYT proyecto 973-88 y DTI U.de Chile B-2531-88.

**EVALUACION DEL ZINC PRESENTE EN EL SEMEN HUMANO.** (Zinc evaluation of human semen). Leiva, S.; Vera, A. y Astudillo, J. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Se sabe que el Zinc es importante co-factor de la actividad de ciertas enzimas, pero al parecer en el espermatozoide tiene un rol importante en la regulación del metabolismo de estas células, como podría ser la motilidad espermática.

Con el propósito de detectar la localización del Zinc y conocer si el Zinc espermático y/o del plasma seminal influyen sobre la motilidad del espermatozoide humano, se estudiaron 20 semenos humanos con buena (BM = > 50%) y mala motilidad (MM < 40%). Se determinó la concentración de Zinc espermático y del plasma seminal por espectrofotometría de absorción atómica en muestras sin tratamiento y preincubadas con solución de albúmina (quelante) al 4% durante 5', 15', 30', 45' y 60 minutos. Durante el período de incubación se analizaron los cambios de motilidad (M) y de vitalidad espermática con el test de Eosina. La localización del Zinc espermático se determinó con un fluorocromo. (8-quinolinol) a pH 8,0.

Se detectó Zinc localizado en la cabeza (acrosona) y pieza intermedia / región mitocondrial. En los semenos de BM se obtuvo menor concentración de Zinc intracelular respecto a los de MM, ( $\times 13,0 \text{ ng}/10^7 \text{ esp.}$ ;  $\times 16,0 \text{ ng}/10^7 \text{ esp.}$  respectivamente). Por el contrario semenos de MM ( $\times 57,0$ ) evidenciaron mayor (1) de Zinc plasmático ( $\times 182,3 \text{ ng/ml}$ ) comparado con las de MM ( $\times 157,9 \text{ ng/ml}$ ).

La incorporación de albúmina al semen no modificó la motilidad de muestras con BM, detectándose la disminución de Zinc intracelular a los 60' de tratamiento, en cambio en los MM provocó un incremento de MIZ de la motilidad a los 5' de tratamiento, manteniéndose sin variaciones significativas durante el resto del período de incubación. No se observó variaciones en el porcentaje de vitalidad durante el período experimental (0' 20-22%; 60' 18-20%).

Los resultados muestran que el Zinc tiene una localización bien definida, esta es cabeza y segmento intermedio del flagelo regiones de la célula que acumularían Zinc, tomado en último término desde el fluido prostático, durante la eyaculación. El Zinc espermático y no el del plasma seminal estaría jugando un rol en la motilidad bloqueando el sistema de óxido reductor mitocondrial o inhibiendo reacciones enzimáticas que tengan relación con la actividad flagelar. Con nuevos experimentos podremos determinar si es posible aumentar la motilidad retirando zinc del gameto. (Financiado Proyecto # 2687/8823, DTI, Universidad de Chile).

**MORFOLOGIA DE LA LARVA PEDIVELIGER DEL OSTION DEL NORTE** Argopecten purpuratus (Morphology of the pediveliger larva of the scallop Argopecten purpuratus). Lohmann, K. Belloio, G., Dupré, E. Departamento de Biología Marina, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad del Norte, Coquimbo.

Con anterioridad se realizó un estudio de los estados tempranos del desarrollo del A. purpuratus. El objetivo del presente trabajo es conocer estados posteriores del desarrollo de esta especie, por lo cual se realizó un estudio de la larva pediveliger de A. purpuratus.

Las larvas obtenidas de cultivos de ambiente controlado se anestesiaron con MgCl<sub>2</sub> y se fijaron según Turner y Boyle. Para microscopía óptica se tñieron in toto con orange G o se incluyeron en glicol metacrilato para cortes semifinos.

El velo está rodeado por 4 corridas de cilios, en su región central se observa un grupo de cilios que señala la localización del órgano apical. La cavidad del manto alberga el pié y las branquias. El pié se muestra altamente ciliado en su superficie ventral y con actividad secretora en larvas cercanas a la metamorfosis. A ambos lados de la base del pié se observan los conductos de los estatocistos. Los primeros branquiales aparecen en la región izquierda y derecha del manto. Al mismo tiempo se esbozan los ojos del manto a partir de grupos de cilios. El aparato digestivo se encuentra ya bien desarrollado y consta de boca, esófago, estómago con saco del estilete, glándula digestiva, intestino y ano. El músculo aductor posterior se forma a partir de haces de fibras musculares, permaneciendo aún los dos aductores anteriores. La musculatura del velo está formada por fibras oblicuas que se insertan en la región dorsal de las valvas.

Se describe la estructura interna de la larva pediveliger de A. purpuratus y se observa que su patrón de desarrollo es similar al de otros moluscos bivalvos filibranquios.

**EFFECTOS DEL D-L PROPRANOLOL SOBRE LA HISTOLOGIA UTERINA DE LA RATA DURANTE EL PERIODO PREIMPLANTACIONAL.** (Effect of D-L Propranolol on the rat uterine histology during the pre-implantational period). Leyton V., Fuenzalida H., Carmona M.T., Becerra M., Chávez M. y Bruzzone M.E., Departamento Morf. Exp. y Depto. Fisiol. y Biof., U. de Chile.

Trabajos anteriores han demostrado que el D-L Propranolol interfiere la implantación del blastocisto al ser instilado localmente en el útero de la rata el día 1 post-coito (pc). Para verificar los efectos que este fármaco induce en la morfología uterina de la rata, se instiló D-L Propranolol en día 1 pc en el cuerno uterino de recho, y suero fisiológico en similar volumen en el cuerno izquierdo que sirvió de control. Los animales fueron sacrificados diariamente desde el día 1 al 10 pc. Los úteros fueron extraídos y procesados para técnicas histológicas de rutina y para análisis cuali y cuantitativo de los principales cambios del endometrio. Modificaciones notorias ocurren a nivel del estroma, epitelio uterino y glándulas endometriales. Al día 1 aparecen amplias lagunas hemorrágicas en el cuerno tratado, células inflamatorias cuya densidad es mayor cerca del lumen y edema intersticial leve. En los días siguientes la destrucción epitelial es mayor, aumenta la cantidad de células inflamatorias, el edema es moderado y aparece material necrótico en el lumen endometrial. Tales modificaciones son máximas en los días 4 y 5 pc, (período normal de implantación). Al 6° día reaparece el epitelio y las glándulas endometriales y el estroma se asemeja histológicamente al útero normal del día 1°. A los 9 días la regeneración del endometrio es total, mostrando el aspecto típico del útero normal no-gestante.

Los resultados indican que el D-L Propranolol altera profundamente la histología endometrial, impidiendo el proceso normal de implantación. Los cambios conducen a una reacción inflamatoria aguda y necrosis endometrial masiva. Se asume que la recuperación de la histología uterina a su carácter normal no altera futuras implantaciones. Financiamiento parcial: B-2682-8823, DTI, U. de Chile.

**EFFECTO DE EXTRACTO TESTICULAR SOBRE EL DESARROLLO DE GONADAS FETALES DE HAMSTER TRANSPLANTADAS BAJO CAPSULA RENAL.** (Effect of testicular extract on development of fetal hamster gonads grafted under kidney capsule). Luna, L., Bustos-Obregón, E., Arrau, J. (\*) y Brown, D. Dpto. Biol. Cel. y Genét., Fac. de Medicina, U. de Chile y (\*) Cat. Biol. Reprod. y Desarr., Fac. de Medicina, U. de Valparaíso.

Arrau y cols. (1988) evidenciaron una acción inhibitoria del testículo adulto de hamster sobre gónadas fetales de la misma especie, transplantadas bajo la albugínea del adulto. Tal inhibición se hace inversamente proporcional al daño de la línea germinal cuando el transplantante es en testículos criptorquídicos experimentales. Estos resultados llevaron a postular a la chalona espermatogonial como responsable del efecto inhibitorio.

En el presente trabajo se ensayó el efecto de un extracto testicular (E.T.), con actividad de chalona, obtenido de un homogenado de testículos de hamster adultos, libre de esteroides, sobre testículos fetales (15 días p.c.) transplantados bajo capsula renal de machos adultos castrados.

Grupo I: Inyección i.p. de E.T. desde el día 1 al 10 posterior al transplantante. Grupo II: Idem desde el día 15 al 25. Grupo Control: Inyecciones de solución salina. A los 35 días de realizado el transplantante se sacrificaron los animales.

En los grupos I y Control las gónadas alcanzaron un desarrollo similar. Se observaron túbulos seminíferos con la línea germinal establecida solamente hasta espermatidas en fase de elongación. Con frecuencia se encontraron células germinales anómalas. En el grupo II, aun cuando los tipos celulares coinciden con los grupos anteriores, es evidente una menor densidad en la población de células germinales.

Estos resultados apuntarían a confirmar la hipótesis de participación de la chalona espermatogonial en el desarrollo gonadal temprano. En base a ellos se discute el rol de la línea germinal preespermátogónica, que en hamster normalmente se encuentra presente hasta el día 10 posterior al nacimiento, así como el posible efecto de la temperatura abdominal. Financiado por DTI B-2685/8822



Ca<sup>++</sup> y K<sup>+</sup>. UN MECANISMO INTEGRATIVO PARA SUS FUNCIONES EN LA REACCION ACROSOMICA DE ESPERMATOZOIDE DE HAMSTER (Ca<sup>++</sup> and K<sup>+</sup>. an integrative mechanism for their roles in the hamster sperm acrosome reaction). Llanos, M. y Riffo, M. Universidad de Chile. INTA. Unid. Biol. Reprod. Fac. de Medicina. Depto. Biol. Celular y Genética.

La reacción acrosómica (RA) del espermatozoide de mamífero, es un particular proceso exocitótico. Varias hipótesis se han planteado para explicar el mecanismo molecular de este evento. Para esto se ha correlacionado factores exógenos y endógenos (iones Ca<sup>++</sup> y K<sup>+</sup>, hormonas, enzimas hidrolíticas, etc.). En este trabajo se proporcionan mayores antecedentes acerca del mecanismo de entrada, secuencia de acción, función y relación de iones Ca<sup>++</sup> y K<sup>+</sup> con la enzima fosfolipasa A2 que participa también en la RA. Para ello, utilizando un sistema "in vitro" de capacitación y RA en espermatozoides de hamster, se llevaron a cabo experimentos que combinaron en forma secuencial el efecto de bloqueadores de canales de Ca<sup>++</sup> y de K<sup>+</sup> dep. Ca<sup>++</sup>, ionóforos de ambos iones y lisofosfatidilcolina (LFC). Los resultados indican que la acción de Diltiazem y posteriormente el ionóforo A23187 no induce RA; sin embargo, estas RA son estimuladas con la posterior adición de LFC. En presencia de bloqueadores de canales de Ca<sup>++</sup>, ni la Nigericina ni la LFC estimulan la RA significativamente. El A23187 estimula la RA en presencia de bloqueadores de canales de K<sup>+</sup> dep. Ca<sup>++</sup>. Los resultados sugieren que la acción y entrada de Ca<sup>++</sup> es anterior y multifactorial en relación a la entrada y acción de K<sup>+</sup>. Ca<sup>++</sup> puede estar relacionado con la activación de canales de K<sup>+</sup> dep. Ca<sup>++</sup>, con la activación de enzimas hidrolíticas participantes en la RA, y con la permisividad de contacto íntimo entre las membranas previa a la RA. El K<sup>+</sup> tendría una función crucial en este último evento probablemente al estar relacionado con la salida de H<sup>+</sup> y la entrada de agua del acrosoma; contribuyendo al contacto entre las membranas, lo cual facilita la fusión entre ellas y el posterior desarrollo total de la RA. (Financiado por FONDECYT #510/1987).

RELACION ENTRE LA EXPRESION DE LOS GENES PARA VARIANTES DE HISTONAS TARDIAS Y LA REPLICACION DEL GENOMA EMBRIONARIO DE TETRAPYGUS NIGER. (Relationship between late histone genes expression and replication in Tetrapygus niger embryos). Merino, V.; Imshenetzky M.; Puchi, M. y Massone, R. Depto. Biología Molecular, Universidad de Concepción.

Durante el desarrollo embrionario del erizo de mar se expresan tres tipos de genes para histonas que codifican a las variantes CS, típicas de los estados de segmentación, las variantes tempranas tipo  $\alpha$  que se expresan desde 16 blastómeros hasta la eclosión y las variantes tardías  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  y  $\epsilon$ , particulares de los estados larvales.

La traducción de las variantes CS es dependiente cuantitativamente de la replicación, en cambio la transcripción de estos genes es independiente, a diferencia de células somáticas en que la expresión de genes para histonas está acoplada a la fase S, tanto en su transcripción como en su traducción. Se desconoce, sin embargo, la relación existente entre la expresión de los genes tardíos y la replicación del genoma.

Con el objeto de investigar esta relación se analizó el efecto de emetina, inhibidor de la traducción sobre la expresión de las variantes tardías de histonas y sobre la incorporación de <sup>3</sup>H-timidina en el ADN.

Los resultados obtenidos indican que la inhibición de la síntesis de proteínas inhibe la incorporación de <sup>3</sup>H-timidina, sugiriendo una relación casual entre ambos procesos.

Proyectos: 0789/88 FONDECYT, 20.31.17 y 20.31.11 Universidad de Concepción.

POLI ADP-RIBOSILACION DE PROTEINAS CROMOSOMALES EN ESTADOS TEMPRANOS DEL DESARROLLO EMBRIONARIO DEL ERIZO DE MAR TETRAPYGUS NIGER. (poly ADP-Ribosylation of chromosomal proteins in early stages of sea urchin development) Montecino M., Puchi M., Imshenetzky M., Massone R., González M., Gamboa S. Depto. Biología Molecular y Depto. Biología Aplicada, Universidad de Concepción.

La poli ADP-Ribosilación constituye una modificación post traduccional de proteínas cromosomales a la que se le ha reportado una importancia vital en los procesos de replicación y reparación del DNA así como en la diferenciación celular dada su importancia en la compactación y relajación de la cromatina.

Se estudió la existencia y magnitud de esta modificación en proteínas cromosomales histónicas y no histónicas obtenidas de cigotos recolectados a 30, 60 y 90 minutos post fecundación en condiciones normales y de inhibición de la poli-ADP-Ribosa Sintetasa con nicotinamida. Estas proteínas fueron analizadas en geles bidimensionales detectándose la modificación con anticuerpos anti poli ADP-Ribosa por Western-blot. Para la obtención del anticuerpo se sintetizó el polímero de poli ADP-Ribosa incubando núcleos de hígado de rata con el sustrato inicial NAD y se purificó desde proteínas nucleares. Para la inmunización se formó un complejo entre poli ADP-Ribosa purificada y metilalbúmina y se inoculó en conejos con coadyudante completo de Freund.

Los resultados obtenidos, tanto por movilidad electroforética como por reacciones inmunológicas, indican que las proteínas cromosomales histónicas y no histónicas se encuentran poli ADP-Ribosiladas, siendo esta modificación mayor en las no histónicas.

Financiado por Proyectos: 203111 y 203117, Universidad de Concepción y FONDECYT 0789/88.

ACETILACION DE PROTEINAS CROMOSOMALES DURANTE EL PRIMER CICLO DE SEGMENTACION DE ERIZO DE MAR. (Acetylation of chromosomal proteins during the first cell cycle of sea urchin development). Mora G., Imshenetzky M., Massone R., Puchi M., Inostroza D. Depto. Biología Molecular, Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales, Universidad de Concepción.

La acetilación de proteínas cromosomales, se ha postulado como un mecanismo para regular la actividad génica, en diferentes sistemas eucarióticos.

Con el objeto de investigar la existencia de esta modificación postraduccional durante el primer ciclo de desarrollo embrionario del equinodermo Tetrapygus niger se realizó un estudio in vivo, determinándose la acetilación de proteínas cromosomales no histónicas y de variantes de histonas tipo CS particulares a los primeros estados de desarrollo embrionario. Se realizaron experimentos de incorporación de <sup>3</sup>H-acetato a proteínas cromosomales básicas y ácidas determinadas independientemente. La radioactividad asociada a estas proteínas fue evaluada por fluorografía de geles de PAA que contenían las proteínas cromosomales básicas y ácidas respectivamente. Se investigó además, en este modelo biológico, el efecto de butirato de sodio, agente que inhibe desacetilación en otros sistemas eucarióticos.

Los resultados obtenidos indican que la acetilación de proteínas cromosomales no histónicas ocurre preferentemente en la fase S del primer ciclo celular. La acetilación de variantes de histonas de tipo CS ocurre fundamentalmente en la fase pre replicativa, fase G<sub>1</sub> de este ciclo. El efecto de butirato de sodio en este sistema es inesperado por cuanto se obtiene una disminución cuantitativa de la acetilación de proteínas cromosomales en contraposición a lo observado previamente por otros autores en células somáticas.

Financiado por Proyectos: 20.31.11; 20.31.17, Universidad de Concepción y FONDECYT 0789/88

**CICLO ESTRAL Y TIPO DE OVULACION EN *Octodon degus*.** (Estrous and ovulation type in *Octodon degus*). Morales, C. B.; Maringovic, S. Depto. de Morfología Experimental, Div. Cs. Médicas Norte, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El *Octodon degus* es un roedor chileno que presenta un ciclo reproductivo estacional tanto en estado silvestre como en cautiverio; ciclo que es dependiente del fotoperíodo. Nuestro objetivo fue estudiar la existencia de ciclo estral, determinar el tipo de ovulación y analizar la importancia del macho en la aparición del estro durante el período reproductivo del ciclo anual.

Se utilizaron 50 hembras *degus* que fueron mantenidas en un vivero con luz natural entre marzo 1986 y enero 1987. Se distribuyeron en 4 grupos 1) Control inicial 2) hembras solas 3) hembras con machos 4) hembras con macho. El grupo C.I. fue sacrificado en el mes de mayo. Las hembras restantes fueron sometidas a revisión diaria de la vulva y sacrificadas a las 48, 96 y 144 horas post-abertura vaginal. Al sacrificio se colectó la sangre para la determinación de progesterona plasmática por RIA. Además se diseccionó, pesó y fijó el tracto reproductivo. En los cortes seriados de ovarios se cuantificó el N° de folículos secundarios (F.S.), folículos hemorrágicos y cuerpos luteos.

Las hembras con machos presentaron una apertura vaginal más precoz. Tanto en el grupo de hembras con macho como en el de hembras con machos se constató un incremento en el peso ovárico, N° de cuerpos luteos, folículos hemorrágicos, peso uterino y niveles plasmáticos de Progesterona al aumentar el número de días de apertura vaginal. No se observaron diferencias en el N° de folículos secundarios.

Estos resultados sugieren que el *O degus* no presenta un ciclo estral típico, observándose un crecimiento folicular constante en los ovarios durante el período reproductivo. Además permiten concluir que este roedor presenta una ovulación semi-inducida y que al igual que en otros roedores el macho juega un rol importante en la aparición temprana del estro durante la estación reproductiva.

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA COMPOSICION LIPIDICA DE VITELO, OVARIOS Y HEPATOPANCREAS EN EL CAMARON DE ROCA *Rhyncocinetes typus*.** (Comparative study on the lipids of yolk, ovary and hepatopancreas from the crayfish *Rhyncocinetes typus*) Muñoz, G., Donghi, S. y Cerisola, H. Lab. de Genética Molecular y Laboratorio de Embriología, Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso.

Numerosas especies animales poseen huevos ricos en vitelo, material de reserva para la embriogénesis. Se postula en varios sistemas que la vitelogénesis se asocia a la incorporación de material exógeno y de probable origen hepático. Sin embargo, la información existente para crustáceos es escasa. Al observar ovarios de *R. typus* en diferentes estados de maduración se detectan cambios en tamaño y coloración, indicando una relación con el tipo de vitelo. Se estudia así la composición de lípidos en hepatopáncreas, vitelo y ovarios de camarones en diferentes estados de desarrollo.

El contenido de lípidos totales de camarones en 4 estados de maduración se estudian cualitativamente mediante cromatografía en capa fina. Las cromatoplasmas se revelan para lípidos totales, aminolípidos, esteroides y grupos colina. Los fosfolípidos se estudian mediante fosforilación in vivo inyectando  $H_2^{32}PO_4$  a camarones de diferentes estados. Los cromatogramas se revelan por autoradiografía y vapores de  $I_2$ . Los lípidos se identifican tentativamente comparando sus  $R_f$  con aquellos de marcadores comerciales.

Las muestras analizadas indican la presencia de fosfatidil-colina, -etanolamina, -serina y colesterol en todas las muestras analizadas, a excepción de vitelo estado I, y no se observaron variaciones cualitativas entre los diferentes estados. Los experimentos de fosforilación indican un enriquecimiento de fosfolípidos para vitelo de estados más maduros, observación que no se relaciona con el contenido de fosfolípidos marcados de ovarios pero sí de hepatopáncreas. Además este parece ser más activo que ovarios pues a tiempo corto de incubación se detecta incorporación de  $^{32}P$ .

Los resultados muestran la presencia de colesterol y fosfolípidos en vitelo y que su síntesis ocurriría en hepatopáncreas y no en ovario.

**COMPARACION DE LA CINETICA DE LA REACCION DEL ACROSOMA DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS Y FECUNDACION DE OVOCITOS DE HAMSTER SIN ZONA PELUCIDA.** (Comparison of the kinetics of the human sperm acrosome reaction and the gamete membrane fusion test). Moreno, R., Herrera, E., Leontic, E., y Barros, C., Laboratorio de Embriología, Facultad de Ciencias Biológicas y Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

La reacción del acrosoma es prerequisite para la fusión de los gametos por lo tanto este hecho se ha utilizado como una medida indirecta de la tasa de reacción, particularmente para el espermatozoide humano cuyo acrosoma es demasiado pequeño para ser observado en espermatozoides vivos. En este trabajo hemos comparado la tasa de fecundación con la de reacción del acrosoma, evaluada por microscopía electrónica de barrido, utilizando espermatozoides recién eyaculados con aquellos mantenidos por 48 horas en TEST-yema. Los resultados mostraron que tanto en espermatozoides frescos como en los mantenidos en TEST-yema a las 2 horas había huevos fecundados, y con un aumento lineal a las 4, 6 y 8 horas. No obstante al usar espermatozoides almacenados en TEST-yema la tasa de fecundación era mayor. Las observaciones con el microscopio electrónico de barrido mostraron que a medida que aumenta el tiempo de preincubación de los espermatozoides hay una tendencia de aumento en la tasa de reacción desde las 2 a las 4 horas de incubación para mantenerse constante hasta las 6 u 8 horas no llegando nunca a sobrepasar el 30%. La misma tendencia mencionada se mantiene para los espermatozoides almacenados en TEST-yema. Estos resultados indicarían durante la permanencia de los espermatozoides en TEST-yema éstos no sufrirían la reacción del acrosoma y aparentemente tampoco se vería favorecida durante la preincubación. El efecto más probable del TEST-yema estaría asociado a la supervivencia espermática.

Financiado por DIUC 74/87 y GAPS 8710 Fundación Rockefeller.

**COMPARACION DEL EFECTO TOCOLITICO DE BLOQUEADORES DE CALCIO, B-MIMETICOS Y SULFATO DE MAGNESIO EN UTERO AISLADO DE RATA.** (Comparative effect of calcium blockers, B-mimetics, and magnesium sulfate in rats uterus). Muñoz, H., Muñoz, S. y Lobos M. V. Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Depto. Ginecología Obstetricia, Hospital Clínico J. J. Aguirre, Universidad de Chile.

Se estudio el efecto tocolítico de los bloqueadores de canales de calcio, fármacos B-miméticos y sulfato de magnesio, que corresponden a los tres grupos de fármacos utilizados en clínica para el tratamiento de la amenaza de parto prematuro.

Se utilizó miometrio de rata Sprague Dowley en período estro; y se midió contractilidad en tira aislada con transductor y polígrafo de Grass N° 7.

Los fármacos fueron ensayados en tres concentraciones diferentes, y se midió su efecto frente dosis crecientes de ocitocina en un ensayo de droga de tipo acumulativo. Los resultados obtenidos fueron analizados midiendo el área bajo la curva de contracción y expresados en porcentaje de la contracción obtenida con dosis máxima de ocitocina.

De acuerdo a los resultados obtenidos concluimos que los tres grupos de fármacos inhiben efectivamente la contractilidad uterina, y que el efecto de sulfato de magnesio es inversamente proporcional a la concentración de calcio utilizada.

Financiado por Proyecto FONDECYT N° 0053/88 y 605.

NEUROMODULACION DE LA ACTIVIDAD CONTRACTIL UTERINA POR SEROTONINA (Neuromodulation of uterine contractility by serotonin). Neumann, V.; Rudolph, M.I. Dpto. Ciencias Fisiológicas, Universidad de Concepción.

Ultimamente trabajos realizados en nuestro laboratorio han comunicado que el número de células cebadas observadas en útero de ratón, se incrementan paulatinamente durante la gestación y depende del estado hormonal del animal. En el presente trabajo se analiza la acción de uno de los autacoides más abundantes de ellas, la serotonina (5-HT), a fin de contribuir a desentrañar la posible función de dichas células y de sus mediadores.

Para lograr contracciones reproducibles y constantes se trabajó con cuernos aislados de ratón en solución Jalon, bajo oxigenación continua y estimulación eléctrica de 2 msec de duración, freq. 30 Hz, voltaje supramáximo por 5 seg cada min. Se observó que 5-HT aumenta en forma dosis-dependiente (0.01-1  $\mu$ M) la fuerza y la frecuencia de las contracciones. Este efecto depende del estado hormonal del animal, siendo la respuesta en estro > metaestro > diestro (n = 8). Dichos efectos son postsinápticos pues no son bloqueados por TTX  $10^{-6}$  M. El efecto contráctil depende de  $Ca^{++}$ , por cuanto Nifedipina, bloqueador de canales de  $Ca^{++}$ , la reduce significativamente. Ketanserina, bloqueador selectivo de receptor 5-HT<sub>2</sub> inhibe el aumento de frecuencia y contracción fásica inducida por 5-HT. Atropina  $10^{-6}$  M bloquea en un 35% (n=6) el aumento de la frecuencia contráctil inducida por 5-HT  $10^{-7}$  M, no afectando significativamente el aumento de la fuerza contráctil. Por otra parte, 5-HT también modifica la respuesta beta adrenérgica y potencia el efecto de histamina.

En resumen, se describe y caracteriza la respuesta del útero de ratón a 5-HT, proponiéndose a este autacoide como neuromodulador de la actividad contráctil uterina.

Proyecto DI. 20.33.39 y DI. 20.33.28, U.de Concepción.

EFFECTO DIRECTO DE MELATONINA SOBRE LA ESTEROIDOGENESIS TESTICULAR. Olivares, A.; Núñez, S.; Ronco, A.M.; Pino, A.M. y Valladares, L. Universidad de Chile/INTA/Unidad de Biología de la Reproducción.

En este trabajo se estudió el efecto de la melatonina ( $10^{-10}$  a  $10^{-5}$  M), *in vitro*, sobre la producción de testosterona (T) en preparaciones de células de Leydig de ratas de 25, 30, 55, 40, 60 días de edad. Melatonina ( $10^{-7}$  M) inhibió la producción basal de T sólo en las células provenientes de ratas inmaduras. Así mismo, en condiciones de estímulo máximo, con hCG (50 m UI) o dibutiril-cAMP ( $10^{-3}$  M), el mayor efecto inhibitorio (70%) de melatonina se observó en las células de Leydig provenientes de animales de 35 y 40 días de edad. La incubación de las células con diferentes concentraciones de hCG (0.5 - 50 m UI) produjo un aumento en la producción de T que fue dependiente de la dosis de hCG agregada al medio. La concentración de hCG necesaria para producir la mitad de la producción máxima de T (EC<sub>50</sub>) fue aproximadamente de 4 m UI. Con concentraciones saturantes de hCG (50 m UI) y en presencia de melatonina ( $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$  y  $10^{-6}$  M), la producción de testosterona fue inhibida en un 52%, 64% y 73%, respectivamente. Sin embargo, ninguna de las concentraciones de melatonina agregada afectó el EC<sub>50</sub> para hCG.

Estos resultados indicarían que melatonina ejerce un efecto directo sobre la esteroideogénesis testicular, el cual dependería del desarrollo sexual de la rata.

Financiado por Proyecto B-2531 Universidad de Chile y Proyecto de Enlace CONICYT 1988.

CONTRACTILIDAD DE LA TUNICA ALBUGINEA DEL CERDO. (Contractility of the testicular capsule of the boar). Qhanian, C. Departamento de Histología y Embriología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay. (Patrocinio: E. Bustos-Obrégón).

Estudiando la contractilidad "in vitro" de la túnica albugínea (ta) de diversos mamíferos domésticos, comprobamos que la ta del cerdo presenta contracciones espontáneas y además es muy sensible a diversos agentes neurohumorales. Las características de su contractilidad se describen en el presente trabajo.

Se obtuvieron fragmentos longitudinales del borde posterior de la ta de 18 cerdos sanos de la raza Duroc-Yersey. Con un método descrito antes para la glándula mamaria se registraron las contracciones isométricas espontáneas y luego de la adición de noradrenalina (na), acetilcolina (ac) y ocitocina (oc). Se procesó con métodos de rutina de microscopía óptica y electrónica material para la observación de las células musculares lisas (cml).

Los fragmentos de ta presentaron contracciones rítmicas de 20 a 70 mg de amplitud y 5 a 30/10 minutos de frecuencia. La na, ac y oc produjeron un aumento del tono, acompañado o no de un aumento de la amplitud y frecuencia. Se hallaron cml distribuidas individualmente o formando capas entre los fibroblastos, fibras colágenas y vasos sanguíneos de la ta; se disponían predominantemente paralelas al eje longitudinal del testículo y su cantidad era máxima en la capa interna de la ta. Al microscopio electrónico aparecieron como células de forma muy irregular, rodeadas por una lámina externa y unidas por numerosos nexos; su citoplasma contenía abundantes miofilamentos finos, cuerpos densos, vesículas de micropinocitosis y demás organelos usuales de las cml típicas.

Los fragmentos de ta de cerdo muestran abundantes cml y presentan contracciones rítmicas espontáneas, cuyo tono aumenta por adición de na, ac y oc. La importancia de esta actividad contráctil se discute en relación con las funciones testiculares.

CAMBIOS INDUCIDOS POR ANDROGENOS EN EL NUMERO DE POROS NUCLEARES Y UNIONES ESTRECHAS EN EPITELIO DE VESICULA SEMINAL EN LA RATA. (Androgen induced changes in nuclear pore number and in tight junctions in rat seminal vesicle epithelium). Ortiz H.E., Cavicchia J.C. Instituto de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Médicas. U.N.C., Mendoza Argentina.

Se conoce que los poros nucleares y las uniones estrechas intercelulares son diferencias dinámicas cuya formación puede inducirse por los diversos cambios en los requerimientos metabólicos celulares. El número de poros nucleares y uniones estrechas fueron cuantificados en las células epiteliales de vesículas seminales de ratas castradas y castradas con posterior estimulación androgénica con pellets subcutáneos de testosterona (1mg/kg). Las muestras fueron procesadas para microscopía de luz y con técnicas de criofractura. Las áreas nucleares aumentaron significativamente en los castrados con posterior estimulación androgénica. La densidad de poros nucleares (poros/ $\mu$ m<sup>2</sup>) medidos en las réplicas de criofractura, aumentó significativamente en los castrados seguido de estimulación androgénica. Hay un incremento significativo de trazos de uniones estrechas que se desprenden del cinturón apical hacia la superficie lateral, observado en los castrados seguido de estimulación androgénica. Se concluye que los andrógenos inducen la formación de poros nucleares y uniones intercelulares estrechas en células epiteliales de órganos blanco.

USO DEL TEST-YEMA EN LA PRESERVACION DEL SEMEN DE EQUINO PARA INSEMINACION INSTRUMENTAL. (The use of Test-yolk for the preservation of stallion semen for instrumental insemination). Palacios, A., Lossino, L., Tisera, J., Runge, R., Herrera, E. y Barros, C., Laboratorio de Embriología, Pontificia Universidad Católica de Chile y Departamento Producción Animal, Universidad de Río Cuarto, Argentina.

Los espermatozoides de equino eyaculados sobreviven poco tiempo lo que presenta serias dificultades para inseminaciones instrumentales. La posibilidad de obtener un medio de cultivo de uso fácil para prolongar la sobrevivencia espermática sería de gran utilidad en la inseminación instrumental así como su uso con fines diagnósticos. En el presente trabajo se investigó el uso del TEST-yema en la preservación de los espermatozoides de potro y su uso posterior en las inseminaciones instrumentales. El semen se obtuvo por medio de una vagina artificial, y la muestra seminal después de evaluada su motilidad se envasó y los tubos colocados en un termo a 37° C para ser trasladada al laboratorio. De cada muestra se tomó 0,5 ml y se mezcló con un volumen igual de TEST-yema, almacenándose a 4° C por diferentes tiempos. Espermatozoides almacenados por hasta 120 horas no mostraron disminución observable de su motilidad. En otra serie experimental muestras de semen mezcladas con TEST-yema se almacenaron por tiempos variados y se usaron para inseminar, por una vez, 24 yeguas encontrándose a la fecha de preparación de este resumen siete yeguas preñadas. Estos resultados harían recomendable el uso del TEST-yema como un método simple para la preservación del semen de potro a fin de facilitar su traslado para inseminaciones instrumentales o fines de estudio.

Financiado por DIUC 74/87 y GAPS 87/10 Fundación Rockefeller.

BIOLOGIA REPRODUCTIVA DE *Galaxias maculatus* (JENYNS) (PUYE). I. ORGANIZACION GONADAL Y GAMETOGENESIS. (Reproductive biology of *Galaxias maculatus*. I. Gonadal organization and gametogenesis). Peredo, S., Sobarzo, C. y Valdebenito, I. Depto. Biología. P. Universidad Católica. Sede Temuco.

Diversos antecedentes que muestran una aparente amenaza de extinción de distintas especies de la fauna icti-ca nativa de agua dulce, han motivado el estudio de peces nativos de agua dulce a fin de reunir antecedentes básicos acerca de su biología los que en general son escasos.

El presente estudio tuvo como objetivo conocer aspectos de la biología reproductiva de *Galaxias maculatus* (puye) especie nativa de aguas continentales chilenas, tales como sexualidad, organización gonadal, ciclo reproductivo entre otros.

En ejemplares de *G. maculatus* capturados en el río Cautín (IX Región) desde junio de 1987 a mayo de 1988, se determinaron parámetros biométricos e índice gonado-somático. Posteriormente las gonadas fueron fijadas en Bouin acuoso y procesadas para microscopía óptica mediante técnicas de rutina.

En esta oportunidad se dan a conocer antecedentes en relación a la organización gonadal y gametogénesis de esta especie. Los resultados muestran que ovario y testículo son órganos alargados y pares ubicados a ambos lados del tracto digestivo, envueltos por una delgada albugínea. El testículo presenta una organización de tipo lobular (sensu Billard, 1982); los lóbulos están orientados en distintas direcciones, observándose hacia la región del hilio anastomosis constituyendo sus lumenes conductos secundarios o eferentes los que se visualizan con gran cantidad de espermios; en el interior de los lóbulos, las células germinales constituyen cistos. En el ovario se distinguen delgados pliegues conectivos que envuelven a los ovocitos. En ovario y testículo se describen las características de los distintos elementos de la línea germinal y somática.

¿HAY UN ROL PARA LOS ANTIGENOS HLA EN EL ESPERMIO CAPACITADO?; (Is there any role for HLA antigens in the capacitated sperm?). Povea H. y Blanco L. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Católica de Chile. La presencia de antígenos HLA en espermios humanos motivó en la literatura un sostenido debate producto de resultados iniciales que luego no se confirmaron. La evidencia actual, corroborada por varios autores, confirma que tales antígenos solo se encuentran en un 10 a 20% de los espermios de eyaculado. Dado que hasta la fecha no ha habido estudios en espermios previamente capacitados, se investigó la presencia de antígenos HLA clase I y clase II mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta, usando los anticuerpos monoclonales w6/32 y L227; (anticlase I y anticlase II, respectivamente). Se sometió espermios de donantes a capacitación en el contexto de un test de fusión de membranas gaméticas. Se tomaron muestras de espermios a tiempo 0 y 4 horas, se los fijó por desecación en portaobjetos y se efectuó inmunofluorescencia indirecta. La capacitación se validó mediante el test de hamster. Los resultados muestran una clara tendencia a una mayor concentración de la fluorescencia en la cabeza de los espermios a tiempo 4 a partir de una imagen tenue y borrosa en su periferia a tiempo 0, usando ambos monoclonales aunque mas notoriamente con L227. Conclusión: Los espermios capacitados presentan antígenos HLA clase I y clase II a inmunofluorescencia indirecta en forma distinta a aquellos no incubados. Si ello implica una mayor densidad de estas moléculas en la cabeza del espermio, o una suerte de mayor concentración antigénica a consecuencia del proceso de capacitación, está aún por determinarse. Las proyecciones de tal evento, implicarían un eventual rol de los antígenos de histocompatibilidad, u otro ligado a ellos, en la interacción del espermio con el tracto genital femenino y/o el oocito. (Financiado por proyecto DIUC N° 7487).

MADURACION DE LA CELULA DE SERTOLI DURANTE LA PUBERTAD DEL MONO CEBUS. (Sertoli cell maturation during puberty in the Cebus monkey). Rey, R., Campo, S., Manni, J.F., Nagle, C., Chemes, H. Centro de Investigaciones Endocrinológicas (Hospital de Niños "R. Gutiérrez") y CEMIC, Buenos Aires, Argentina. (Patrocinio: E. Bustos-Obregón). El objeto del presente trabajo fue estudiar los parámetros morfológicos y funcionales de la célula de Sertoli durante la maduración puberal en un primate subhumano, el mono Cebus. Se estudió dos grupos de monos: G1 representó el comienzo del período puberal (edad: 2±0.2 años, peso: 1.5±0.1 kg) y G2, el fin de la pubertad (edad: 6.25±0.5 años, peso: 2.4±0.2 kg). En el período estudiado el volumen testicular aumentó 6 veces (G1: 0.27±0.02 ml, G2: 1.53±0.2), debido fundamentalmente al incremento del sector tubular (G1: 0.15±0.02 ml, G2: 1.34±0.2). Esto fue motivado por un aumento del diámetro tubular (G1: 81±4 μm, G2: 170±9) y longitud tubular (G1: 29±3 mts, G2: 59±5). Estudios histológicos cuantitativos no mostraron diferencias en la cantidad de células de Sertoli por testículo total (G1: 131±17 millones, G2: 108±27 millones). Se estudió la liberación de ABP en incubaciones de tejido fresco en Medium 199 durante 1 hora. Las determinaciones de ABP se realizaron por la técnica de binding, usando concentraciones saturantes de dihidrotestosterona (DHT) tritiada. La liberación de ABP por testículo fue mayor en el grupo de fin de pubertad (G1: 4.9±1.6 pmol DHT/h/testículo, G2: 10.7±2.7), siendo también mayor la liberación de ABP por cada célula de Sertoli (G1: 37±8 fmol DHT/h/10<sup>6</sup> cél. Sertoli, G2: 87±9). La observación al microscopio óptico y electrónico reveló cambios madurativos en los parámetros de morfología nuclear y nuclear y en la riqueza de organelas citoplasmáticas hasta al canzar en el grupo de fin de pubertad el fenotipo adulto. Los datos presentados demuestran que el número de células de Sertoli no se modifica durante el período puberal, indicando que su actividad proliferativa se ha completado en el período prepuberal. Durante la pubertad la célula de Sertoli sufre cambios madurativos que se reflejan a nivel morfológico en la microscopía óptica y electrónica y a nivel funcional en el aumento de la producción de ABP.

ESTUDIO CUANTITATIVO DE LA ESPERMATOGÉNESIS EN MONOS DE FIN DE PUBERTAD. (Quantitative study of spermatogenesis in late pubertal monkeys). Rey, R., Nagle, C., Chemes, H. Centro de Investigaciones Endocrinológicas (Hospital de Niños "R. Gutiérrez") y CEMIC, Buenos Aires, Argentina. (Patrocinio: E. Bustos-Obregón).

Nuestro objetivo fue estudiar cuantitativamente la dinámica espermatogénica en la fase final del período puberal del mono Cebus, período caracterizado por la existencia de notables diferencias individuales. Se utilizó 6 monos de entre 5 y 8 años de edad, de peso corporal entre 1.7 y 2.9 kg. Se midió los volúmenes testiculares que oscilan entre 1 y 2.1 ml; el tejido fue fijado en glutaraldehído y osmio e incluido en Epon-Araldita. En cortes de 1  $\mu$ m se calculó el volumen ocupado por los tubos seminíferos (VT) que osciló entre 75 y 86%, se midió los diámetros tubulares (DT) que fueron entre 146 y 205  $\mu$ m, se calculó las longitudes tubulares (LT) entre 43 y 67  $\mu$ m. Se encontró una correlación lineal positiva entre VT y DT, no así entre VT y LT. Se realizó el conteo de espermatozoides A (A), B (B), espermocitos paquiténicos (P) y espermátides redondas (E). Se encontró una cantidad similar de A y también de B en los 6 monos, pero hubo diferencias en los valores de P y de E. Se halló una correlación lineal positiva entre n° de P y de E con VT y DT, pero no con LT. El estudio de la eficiencia de la dinámica espermatogénica mostró diferencias individuales en las relaciones E/P y P/B, que correlacionaron positivamente con VT y DT, pero no con LT. Como conclusión vemos que al entrar en la fase final de la pubertad la LT y el n° de A y B han llegado a valores estables. En cambio la dinámica espermatogénica mejora su eficiencia en dos puntos: 1) fin de meiosis -comienzo de espermiogénesis, junto con aumento de VT y DT.

Efecto de glucosa en el metabolismo de espermátides de rata. (Effects of glucosa on rat spermatid metabolism).

J. Reyes, M.V. Velarde, R. Ugarte y E. Llorens Instituto de Química, Universidad Católica de Valparaíso y Depto. Fisiología/Biofísica, Facultad Medicina, Universidad de Chile. La importancia del metabolismo glicolítico en espermátides de rata se evidencia por la activación de tres eventos al adicionar glucosa al medio con espermátides en suspensión: 1) Disminución de los niveles intracelulares de ATP. 2) Producción y salida de lactato de la célula y, 3) Producción y salida de equivalentes ácidos de las células. Nuestros resultados acerca de estos fenómenos indican que: a) Producción de lactato, disminución de los niveles de ATP intracelular y salida de equivalentes ácidos son consecuencia del metabolismo de glucosa, transporte de análogos de glucosa no metabolizables no producen estos fenómenos, b) La hidrólisis neta de ATP intracelular es un evento que no guarda relación con la salida de equivalentes ácidos de la célula, c) Producción y salida de lactato no son causas de la disminución de los niveles de ATP intracelular dependiente de glucosa, d) La velocidad de salida de equivalentes ácidos ocurre en exceso (2x) a la salida de lactato y por lo tanto el flujo de equivalente ácidos no es debido sólo a una difusión de ácidos láctico de la célula. (Financiado por Grant GAPS 87-21, Fund. Rockefeller y 125.712/87 UCV).

UN MODELO DE PREDICCIÓN DE EDAD PARA INDIVIDUOS JUVENILES EN PUDU PUDA (MOLINA). (A model for predicting age in juvenile specimens of Pudu Puda (Molina)). Reyes, E., González, U., Naveas, R. y Mella, P. Facultad de Ciencias Biológicas y de Recursos Naturales y Facultad de Ciencias, Universidad de Concepción. (PATROCINIO: G.Cea).

Aproximadamente cada 2 meses se registraron mediciones en animales juveniles de la especie Pudu Puda por un período de tres años y hasta una edad aproximada de 11 meses, con el fin de usar este método para detectar la edad aproximada, en terreno. Las variables usadas fueron: peso, largo, tórax, altura a la cruz, mano, antebrazo, pie, caña para cada uno de 10 individuos, pudes juveniles pertenecientes al criadero ubicado en el campus de la Universidad de Concepción, Chile. El análisis descriptivo de los datos muestra un alto grado de correlación lineal entre las posibles variables capaces de predecir la edad, lo que hace recomendable su reducción, utilizando por ejemplo el método de componentes principales. La primera componente correspondiente a las 8 variables, explica el 83,55% de la variabilidad total y dado que los coeficientes son todos positivos, puede interpretarse con un índice que caracteriza el tamaño de cada individuo.

Al graficar la primera componente versus la edad se observa una relación exponencial. En consecuencia se ajustó un modelo del tipo:

$$\ln(T) = a + b \cdot (\text{Edad})$$

donde la variable T corresponde a la primera componente principal. Se construyó un intervalo de confianza para la edad de un individuo cuando se conoce el valor de T (regresión inversa). La metodología presentada podría usarse también para predecir la edad de individuos juveniles de otras especies de mamíferos.

(Patrocinio: CONAF VIII Región Proyecto N° 20.30.09 U. de Concepción Proyecto N° 20.31.16)

CANALES IONICOS REGULAN LA ENTRADA DE Ca<sup>++</sup> y K<sup>+</sup> PARA LA INDUCCION DE LA REACCION ACROSOMICA DE ESPERMATOZOIDES DE HAMSTER. (Ionic channels regulate K<sup>+</sup> and Ca<sup>++</sup> influx, important for the occurrence of the hamster sperm acrosome reaction). Riffo, M. y Llanos, M. Universidad de Chile/Fac. de Medicina/Depto. Biol. Cel. y Genet./INTA/Unidad Biología y Reproducción.

La fecundación requiere por parte del gameto masculino que desarrolle los procesos de capacitación y reacción acrosómica (RA). Estudios "in vitro", han demostrado que los iones Ca<sup>++</sup> y K<sup>+</sup> son esenciales para la inducción de dichos eventos. En este trabajo se analiza el posible mecanismo de entrada de ambos iones y su participación en la RA. Espermatozoides de hamster de la región caudal del epidídimo fueron incubados en un medio de capacitación "in vitro" por determinados períodos de tiempo a 37°C en una atmósfera humidificada de 5% CO<sub>2</sub>/95% aire. Luego de 2:45 h. se les adicionó bloqueadores de canales de Ca<sup>++</sup> (Co<sup>++</sup>, La<sup>++</sup>, Ni fedipina, Diltiazem, Verapamil) o de K<sup>+</sup>-dependiente de Ca<sup>++</sup> (Cs<sup>+</sup>, Ba<sup>++</sup>, Toxina de escorpión (L. quinquestratus)). Las suspensiones de espermatozoides incubados en presencia o ausencia de cada bloqueador específico fueron tratados posteriormente con el correspondiente ionóforo (Nigericina o A23187), o con el fusógeno lisofosfatidilcolina (LFC). Tanto los bloqueadores de canales Ca<sup>++</sup> y de K<sup>+</sup>, inhiben las RA en 50-80% a diferentes tiempos de incubación. La adición posterior de LFC no estimuló la RA. Cuando se adicionó ionóforo de Ca<sup>++</sup> en presencia de bloqueadores de canales de Ca<sup>++</sup>, tampoco se revierte el efecto inhibitorio. Sin embargo, la adición de Nigericina estimula las RA en valores iguales a los controles, aún en presencia de bloqueadores de canales K<sup>+</sup>-dep.-Ca<sup>++</sup>. Se concluye que uno de los posibles mecanismos de entrada de Ca<sup>++</sup> y K<sup>+</sup> (necesarios para los eventos propios de la RA "in vitro") serían mediados por la apertura de algún canal de Ca<sup>++</sup> y posteriormente uno de K<sup>+</sup>-dep.-Ca<sup>++</sup>. En el interior del acrosoma dichos iones contribuirían a procesos de carácter físico y bioquímico que condicionan los eventos de membrana propios de la reacción acrosómica. Fin.: FONDECYT+510/87.DT1, U. de Chile B2396-8833.

EFFECTO DE LA VASECTOMIA SOBRE LA HISTOLOGIA DEL CONDUCTO DEFERENTE DE RATA (Effect of vasectomy on the histology of the rat vas deferens). Rodríguez, A. y Bustos-Obrégón, E. Departamento Morfología Experimental y Departamento Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

El conducto deferente jugaría un papel no sólo en el transporte sino en la viabilidad y fisiología del espermatozoide. La morfología (y posiblemente la función) varían a lo largo del deferente. Se estudian estas variaciones en ratas adultas vasectomizadas, comparando con controles sometidos a vasectomía simulada, con el fin de averiguar de que manera la sección proximal del deferente altera su morfología distal cuando se interrumpe el flujo normal del fluido seminal. La histología del deferente se estudió cuali y cuantitativamente mediante morfometría.

La vasectomía produjo cambios en parámetros histológicos tales como el tamaño, constitución y migración celular que afectaron principalmente al epitelio, que como se sabe absorbe desde y secreta hacia el lumen sustancias, que al igual que en el epidídimo participarían en la modificación del fluido seminal, repercutiendo sobre la fisiología espermática y la homeostasis local.

(Parcialmente financiado por DTI # B2685-8712; Fondecyt).

INICIO DE LA RECRUDESCENCIA DE *Oryzomys longicaudatus* MACHO EN LA VIII Y X REGION. Comparison in male recrudescence of *O. longicaudatus* in VIII and X Region.

Rojas M.A., Domínguez, S., Murúa R., González L. Depto. Morfología Exp. Fac. Medicina U. de Chile e Instituto de Ecología y Evolución. U. Austral de Chile.

La laucha arrocera (*O. longicaudatus*) es un roedor cricétido, que se reproduce estacionalmente entre los meses de noviembre y abril. Nuestro objetivo fue el de conocer si existen diferencias en el inicio del período de recrudescencia, en los animales que habitan la VIII Región y los que se encuentran en la X Región.

Se capturó mensualmente un promedio de 4 animales durante los meses de mayo a agosto. Las zonas de captura fueron las siguientes. La VIII Región 35°75' L.S. y 73°10' L.W. correspondiente a un área mixta de árboles nativos con plantaciones de pino, el clima es mediterráneo húmedo con un período seco variable entre 5 a 6 meses, mientras la X Región corresponde a un bosque higrofilo templado 39°38' L.S. y 73° 7' L.W. que presenta un promedio de pp anual de 2472 mm con un 75% de agua caída entre abril y septiembre. Los animales fueron pesados, medidos, sus gónadas luego de medidas y pesadas fueron procesadas para técnicas histológicas corrientes. En los testículos se consignó el diámetro tubular, altura del epitelio seminífero, índice espermatogénico y celular intersticial.

No se observaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros analizados entre las dos poblaciones de animales estudiados, encontrándose indistintamente un período de reposo en los meses de abril a junio, iniciando la recrudescencia gonadal en el mes de agosto.

Se concluye que no existen diferencias latitudinales en la estacionalidad del período reproductivo para *O. longicaudatus* en las VIII y X Región.

Financiado por Proyecto Fondecyt 1074 y. B 2682-8823

ESTUDIO DE FERTILIDAD EN POTROS RAZA PESADA, USADOS EN PROGRAMA DE EXTENSION. (Fertility study in stallions of heavy race used in agroextension). Rodríguez, H. Departamento Silvoagropecuaria, Ilustre Municipalidad de Curepto. (E. Bustos-Obrégón : patrocinante).

Con el afán sustitutivo de la maquinaria Agrícola, por la tracción Animal, para pequeños Agricultores, se ha creado el Plan Nacional de Remonta Equina con Potros de Raza Pesada.

Se evaluará la potencialidad reproductiva, en potros, a través del espermiograma convencional (EC) y concentración de ATP, estudiando el efecto de período de monta y reposo sexual además de los efectos de la congelación seminal en pajuelas.

Se usó 4 potros, raza pesada sometidos a 8 extracciones de semen, en los meses de Junio-Julio y Octubre-Noviembre, fuera y dentro del período reproductivo. En cada eyaculado se analizó el EC, y la concentración de ATP.

Al análisis estadístico, no se encontró diferencias significativas para las características evaluadas, tanto para semen fresco como congelado, en ambos períodos de muestreo, excepto para la característica de vitalidad espermática. La concentración de ATP, en el semen congelado disminuyó a valores cercanos al 50%.

Se concluye : los valores del EC, no se alteran con el proceso de congelación, dentro y fuera del período reproductivo y la concentración de ATP, eyaculados de potro, sufre una importante disminución, y ello puede ser uno de los factores del porqué la inseminación artificial con semen congelado, presenta resultados pobres en la especie equina.

REGIONALIZACION INDUCIDA EN EL HUEVO DE 2 CELULAS (Induced regionalization in 2-cell ova) Sepúlveda, M.S. (\*) e Izquierdo, L. Depto. Biología, Fac. Ciencias, U. de Chile.

Aunque en el huevo de 2 células no se reconoce la regionalización de la membrana plasmática, demostrada citológicamente por la actividad de fosfatasa alcalina o 5'-nucleotidasa, hemos observado que agregando 2 huevos de 2 células se gatilla la activación de estas enzimas, primeramente en el contacto natural (CN) entre las células de un huevo y luego en el contacto artificial (CA) entre los huevos. Estos resultados plantean el problema de como el contacto induce regionalización y de como la señal de contacto se transmite de CA a CN.

Para analizar el problema de inducción hemos substituido el inductor por una solución de lectinas (WGA, SBA, Con A) o hemos agregado el huevo de 2 células con una microesfera de agarosa revestida de lectinas. En ambos casos se observó regionalización en CN. En el primero no es posible discriminar entre inducción y transmisión de la señal de contacto pero si es posible hacerlo en el segundo.

Para el análisis de la transmisión se ha utilizado modificadores que afectan la vía de mensajeros intracelulares (diacilglicerol (DG) e inositol trifosfato (IP3)). Activando proteína quinasa C hemos obtenido regionalización en CN.

Los resultados sugieren que el contacto celular artificial es reconocido por receptores, probablemente carbohidratos, y que DG e IP3 podrían participar en la transmisión de la señal de contacto.

Financiado por: Fondecyt y U. de Chile. (\*) : becario Fundación Andes.

CAPACIDAD FERTILIZANTE DEL SEMEN HUMANO. PARAMETROS CLASICOS Y TEST HIPOSMOTICO (Fertilizing ability of human semen. Conventional parameters and the hypoosmotic swelling (HOS) test). Smith, R.; Madariaga, M. Depto. Biología Celular y Genética. Instituto de Investigaciones Materno-Infantil, Facultad de Medicina, Univ. de Chile.

En la actualidad se dispone de una serie de métodos que permiten evaluar el potencial de fertilidad del semen. Entre ellos, el test Hiposmótico introducido por Jayendran y col. (1984) parece ser un buen indicador de la actividad funcional de espermatozoides humanos.

En el presente trabajo se estudió la integridad funcional de la membrana del espermatozoide mediante el test-HOS en 160 muestras de individuos normospermicos (N), oligospermicos (OL) y/o astenospermicos (OL/AS, AS). El porcentaje promedio ( $\pm$  ES) de espermatozoides HOS (+) en el grupo N ( $75 \pm 1.3$ , rango 40-93) fue significativamente superior al de los grupos con parámetros alterados (OL:  $49.3 \pm 4.0$ ; AS:  $46.8 \pm 5$ ; OL/AS:  $41.3 \pm 5.0$ ). En el 90% de los eyaculados N el % de espermatozoides HOS (+) fue  $\geq$  al 60%.

Al evaluar el patrón de respuesta (formas b a g) en los diferentes tipos de eyaculados sólo se observaron diferencias significativas en el % de gametos con formas b (N:  $35 \pm 1.1$ ; OL/AS  $16 \pm 1.7$ ).

Estos resultados indicarían que el test-HOS tiene valor como estudio complementario de otros métodos de evaluación de función espermática. Sin embargo, es necesario determinar su valor predictivo como indicador de fertilidad/infertilidad tanto in vitro como in vivo. (DTI # M-2334/8822 Parcialmente)

DETECCION DE ZINC EN EPIDIDIMO DE POTRO (The zinc content of stallion epididymis). Tobella, L.; López, M.L. Depto. Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Altas concentraciones de zinc se han demostrado en próstata, plasma seminal y espermatozoides de mamíferos. En plasma seminal y líquido prostático la concentración de zinc es 100 y 300 veces mayor que en plasma sanguíneo. En espermatozoides la concentración de este ión es un 33% mayor que en plasma seminal. Aún cuando se ha postulado que el zinc es un importante cofactor en la actividad de algunas enzimas y en la estabilización de macromoléculas biológicas su rol en la célula espermática pareciera estar más relacionado con el metabolismo energético, con el proceso de condensación y descondensación de la cromatina y probablemente con la capacitación espermática. El propósito de este estudio es determinar la presencia y concentración de zinc en los diferentes segmentos de epididimo y espermatozoides de potros adultos, utilizando técnicas de espectrofotometría de absorción atómica, citoquímicas y ultraestructurales.

Nuestros resultados indican un aumento significativo en la concentración promedio de zinc ( $\mu\text{g/g}$  de peso húmedo) a lo largo del conducto epididimario (Ca:  $17 \pm 3.5$ ; Cpo:  $24.3 \pm 3.9$ ; Co:  $31 \pm 4.8 \mu\text{g}$ ). En espermatozoides se observa una drástica reducción de este ión entre espermios obtenidos de cabeza y cola epididimaria ( $53 \pm 8.7 \mu\text{g}/10^6$  cel y  $20.1 \pm 4.6 \mu\text{g}/10^6$  cel; en tanto que en fluido epididimario la concentración aumenta proximo-distalmente. Las diversas técnicas histoquímicas realizadas no permitieron detectar este ión a nivel de M.O. o de MET; pudiendo sólo detectarse en el epitelio glandular de la próstata, órgano utilizado como control positivo. Se discute el(los) posible(s) rol(es) del zinc tanto en espermatozoides como en epididimo y su posible participación en el proceso de maduración espermática. (Proyecto DTI B-1687/8713 Universidad de Chile).

CICLO REPRODUCTIVO DE *Chilina* sp (BASSOMATOPHORA: CHILINIDAE). [Reproductive cycle in *Chilina* sp (Bassomatophora: Chiliniidae)]. Valdebenito, I., Peredo, S., Parada, E. y Berland, M. Depto. CC.NN.-Biología, P. Universidad Católica de Chile-Temuco.

Los caracoles del género *Chilina* constituyen uno de los organismos más abundantes de los cuerpos de aguas continentales del sur de Chile. No obstante, los antecedentes sobre la biología reproductiva son escasos. En estudios preliminares, hemos caracterizado la organización gonadal y gametogénesis de *Chilina* sp. En la presente investigación se determina el ciclo reproductivo de una población del río Cautín (IX Región-Chile).

Mediante muestreos mensuales realizados al azar, se obtuvieron especímenes que fueron procesados con técnicas histológicas de rutina para microscopía óptica, realizándose cortes seriados de  $7 \mu\text{m}$  de grosor y teñidos con Hematoxilina-Eosina.

El estudio microscópico de la ovotestis de *Chilina* sp presenta una actividad gonádica continua a lo largo del año en todos los individuos estudiados, sin observarse un período de regresión gonadal. La porción masculina de los folículos se observa prácticamente en la totalidad de los individuos (92.6% en promedio mensual) en estado de maduración máxima, encontrándose los folículos gonadales con el lumen ocupado por flagelos de espermátidas alargadas, ubicándose el resto de la línea germinal hacia las paredes foliculares. La porción femenina se observa casi en la totalidad de los individuos (92% promedio mensual) en estado de maduración inicial, visualizándose los folículos gonadales con numerosos ovocitos previtelogénicos, siendo los ovocitos vitelogénicos y vitelinos escasos a través del año.

Se discuten los resultados obtenidos a la luz de las diferencias observadas en las porciones masculina y femenina de los folículos gonadales.

EFFECTO DE LA COMPOSICION DEL MEDIO EN CAPACIDAD FECUNDANTE DEL ESPERMATOZOIDE HUMANO. (Effect of medium composition on the human sperm fertilizing ability). Valdez, E., Moreno, R., Jullian, M., Leontic, E. y Barros, C. Laboratorio de Embriología, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El test humster ha sido desarrollado para evaluar la capacidad fecundante de los espermatozoides humanos. Se ha observado respuestas variadas, que en muchos casos parecen estar asociadas a la composición del medio de cultivo. En el presente trabajo se estudió la capacidad fecundante en tres grupos diferentes. En el grupo I (36 casos) se usó TEST-yema de huevo a  $4^\circ\text{C}$  por 48 horas. En el grupo II (13 casos) se usó medio de cultivo BWW suplementado con yema. En el tercero (10 casos) se usó BWW con PVP al 30%. Para los tres grupos se usó como control BWW con albúmina sérica humana (HSA) al 30%. En el primero, se observó que 33 (92%) de los 36 casos el porcentaje de fecundación fue mayor en TEST-yema que en el control. En nueve casos (25%), el valor del test de 0,0% (control) subió a valores que fluctuaron entre 2,8 y 100%. En el grupo II la fecundación fue mayor para el control, 42,3% (192/454), rango 6,4 y 100%, que para el experimental (BWW-yema) que fue de 31,6% (77/243), con rango de 5,2 y 80%. En dos casos que en el control eran negativos se hicieron positivos en el experimental. Del grupo III que utilizó PVP el porcentaje de fecundación en los controles y experimentales fue de 28,7% (52/181) y 30,4% (50/164) respectivamente. Los resultados indicarían que en general el TEST-yema aumentaría la capacidad fecundante al permitir la preservación de una buena motilidad espermática. Por otro lado el PVP podría ser un buen sustituto del HSA, el que tendría además la ventaja de ser una macromolécula inerte.

Financiado por DIUC 74/87 y GAPS 87/10 Fundación Rockefeller.

UN CASO DE SÍNDROME DE RESISTENCIA A ANDRÓGENOS (SRA): FUNCIONALIDAD, *in vitro*, DE LA GONADA. Case report of androgen insensitivity syndrome: *In vitro* functionality of the gonad. Valladares, L., Ronco, A.M., Pino, A.M., Núñez, S., Ahumada, A., Sepúlveda, S.\* y Devoto, L. Universidad de Chile/INTA/ Fac. Medicina/Fac.de Ciencias.

El síndrome de resistencia a andrógenos se caracteriza por la ausencia de la proteína receptora para los andrógenos en los tejidos blancos. En este trabajo presentamos algunos aspectos funcionales-endocrino de la gonada proveniente de un paciente con esta patología. Un individuo de 17 años, talla 1.74 mt y 60 kg de peso, consultó por una amenorrea primaria. El examen físico reveló: fenotipo femenino, desarrollo sexual Grado IV de Tanner y ausencia de ovario, útero y trompas de falopio; y un cariotipo 46/XY. Se observó presencia de testículos intra-abdominales. Niveles plasmáticos: LH 45 m UI/ml; FSH 3.7 m UI/ml; estrógenos 58 pg/ml y testosterona 2.9 ng/ml.

Trozos de testículo, post-orquidectomía, fueron usados para medir: esteroidogénesis, receptores para LH y receptores para testosterona y estradiol. Los resultados fueron: a) Síntesis de testosterona (ng/mg proteína/3h): basal  $2.48 \pm 0.1$ ; en presencia de hCG (1 UI/ml)  $6.4 \pm 0.6$ ; b) Síntesis de estradiol (pg/mg proteína/3h): basal  $9.4 \pm 1.7$ ; en presencia de hCG  $17.1 \pm 0.6$ ; c) No se detectó unión específica, de  $^3\text{H}$ -testosterona y  $^3\text{H}$ -estradiol, a proteínas citosólicas; d) Unión de  $^{125}\text{I}$ -hCG a membranas: 9.5 ng/mg proteína. Niveles hormonales post-cirugía; LH:75 m UI/ml, FSH 114 m UI/ml; testosterona 0.21 ng/ml, estrógeno 27 pg/ml. Estos resultados demuestran la alta capacidad esteroideogénica del testículo, de pacientes con SRA, a pesar del reducido número de receptores para hCG/LH.

Financiado por Universidad de Chile B-2531 y CONICYT 1988.

\* Becario Fundación Andes

SÍNTESIS DE ESTRADIOL EN CELULAS LUTEAS HUMANAS. ¿SINERGISMO ENTRE TESTOSTERONA Y GONADOTROFINAS? (Estradiol synthesis by human luteal cells. Synergism between testosterone and gonadotrophins?). Vega, M.; Navarro, V.; Castro, O. y Devoto, L. Deptos. Biol.Cel. y Genet., Div. Norte y Ob./Gin., Div. Sur, Inst.Inv.Clin., Hosp. Paula Jaraquemada, U. de Chile.

Previamente hemos demostrado que la síntesis de estradiol ( $\text{E}_2$ ) aumenta con testosterona (T), hCG o dibutilil cAMP (dbcAMP) en células de mitad de fase lútea. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto sinérgico de andrógenos sobre la acción de gonadotrofinas en la síntesis de  $\text{E}_2$ , en cultivo de células lúteas humanas provenientes de distintos momentos de la fase lútea. CL,  $\pm 4$  ds post peak LH (CL temprano) y entre 5-9 ds post peak LH (CL intermedio) fueron tratados con colagenasa y DNasa. Luego, las células cultivadas en medio 199 por 24 y 48 h, a  $37^\circ\text{C}$  en 5%  $\text{CO}_2$ -aire. El efecto sinérgico de T ( $10^{-6}$  M) sobre la actividad esteroideogénica se midió con o sin hCG, FSH o dbcAMP. Se observó que la concentración de T, en controles 24 h, fue de  $18,6 \pm 4,1$  en CL temprano y de  $7,4 \pm 1,4$  ng/ $10^6$  cel en CL intermedio ( $p < 0,05$ ); sin embargo, la síntesis de  $\text{E}_2$  con T fue 2 veces mayor en CL intermedio (2.9 vs 1.5). Por otro lado, FSH no afectó la síntesis de  $\text{E}_2$  (C:  $8,5 \pm 1,2$ ; FSH:  $8,1 \pm 2,8$  ng/ $10^6$  cel), en cambio, FSH más T aumentó en 4 veces la síntesis de  $\text{E}_2$ , a las 24 y 48 h en CL intermedio ( $p < 0,05$ ), no así en tempranos. Estos resultados sugerirían que la mayor capacidad de respuesta del CL intermedio se debería a que el sistema aromatasa puede ser regulado por señales extracelulares y/o a la existencia de un sinergismo entre T y gonadotrofinas, actuando en distintas poblaciones celulares.

(Financiado por Rockefeller GAPS 8523, DTI M-2701, U. de Chile, FONDECYT 00870-88).

ANTICUERPOS ANTIESPERMÁTICOS : INCIDENCIA Y LOCALIZACIÓN. (Antisperm antibodies : Incidence and localization). Vigil, P., Gormaz, C., Herrera, E., Rubio, V., De Ioannes, A., Becker, M.I., Leontic, E., Cafatti, C. Unidad de Reproducción y Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile y Hospital San José.

La infertilidad conyugal, en un 3-5% de los casos estaría asociada a factores inmunológicos. En el hombre, una alteración de la barrera hemato-testicular lleva a la formación de anticuerpos antispermatozoides. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la incidencia de anticuerpos antispermáticos en varones cuyas parejas cursaban un embarazo de primer trimestre (grupo control) versus varones miembros de una pareja infértil. La presencia de anticuerpos se determinó mediante el kit SpermMar Test (Ortho Diagnostic) y la región antigénica del espermatozoide se localizó con inmunofluorescencia indirecta (IFI). Se evaluó además, el efecto de la presencia de anticuerpos antispermáticos en la fusión de las membranas gaméticas. En catorce muestras seminales de varones del grupo control se encontró un SpermMar  $\leq$  de 10 (100%). De 43 muestras seminales de varones miembros de una pareja infértil, se obtuvo en 33 (76,8%) un SpermMar Test  $\leq$  de 10, en 7 (16,3%) un SpermMar entre 10-19% y 3 (6,9%) presentaron un SpermMar entre 40-100%. La localización más frecuente (60%) de los anticuerpos fue hacia sitios antigénicos de la cabeza del espermatozoide. En 4 pacientes con anticuerpos antispermáticos se efectuó el bioensayo de fusión gamética heteróloga y se obtuvo un % de penetración de ovocitos de hamster entre 4,8 y 63,6%. Los resultados obtenidos permiten concluir que la incidencia de anticuerpos antispermáticos es mayor en la población infértil ( $p < 0,05$ ) y que utilizando la técnica de IFI pueden detectarse las regiones antigénicas del espermatozoide. Los anticuerpos detectados no impiden la fusión de las membranas gaméticas.

Financiado por GRANT DIUC 74/88 y Rockefeller Foundation

ESPERMATOZOIDES DE LA CABEZA REDONDA : PARTICIPACION DEL ACROSONA EN LA INTERACCION DE GAMETOS (Round head spermatozoa. Role of the acrosome in gametic interaction). Vigil, P.; von Bernhardi, R.; Herrera, E.; Blanco, L.P.; Bustos-Obrador, E. Fac. de Cs. Biol., P. U. Católica y Fac. de Med., U. de Chile.

Los espermatozoides de cabeza redonda se caracterizan por la ausencia de acrosoma y vaina post-acrosomal y por ser totalmente infértiles.

Nuestros objetivos han sido: 1) Caracterizar su morfología como modelo de diferenciación y especialización terminal de gametos masculinos, mediante microscopía de transmisión y técnicas inmunológicas para estructuras subcelulares y presencia y ubicación de antígenos relacionados con la interacción de gametos. 2) Determinar el nivel de alteración de su capacidad fértil utilizando el test de unión a zona pelúcida humana (ZP), test de hamster (TH); obteniéndose material para microscopía de transmisión y de barrido.

Los estudios de microscopía demuestran la ausencia de estructuras acrosomales o relacionadas. Ambos test biológicos fueron negativos, demostrándose que estos espermatozoides son incapaces de unirse tanto a la zona pelúcida como a ovocitos de hamster desnudos.

Se ha propuesto que la interacción de gametos involucra en su primera etapa receptores presentes en la membrana externa del espermatozoide y ZP3, una glicoproteína de la zona pelúcida.

El ZP negativo sugiere que los receptores que participan inicialmente no se encontrarían en la membrana plasmática. Junto al resultado negativo del TH sugieren que también existen alteraciones en la región post-ecuatorial del espermatozoide, dominio que está involucrado en la unión al ovocito. En relación a esta observación se plantean dos hipótesis: que la alteración de la diferenciación terminal del Golgi a acrosoma se asocia a alteraciones en distintas proteínas de membrana; o que la reacción del acrosoma será indispensable en cuanto determine cambios de conformación o reordenamiento de proteínas de membrana.

De esta manera, el espermatozoide de cabeza redonda tiene importancia no sólo para el estudio de su especialización celular, sino que representa además un sistema excepcional durante el proceso de fertilización.



PATRONES DE OSIFICACION Y CRECIMIENTO POSTNATAL EN *ABROTHRIX* (RODENTIA:CRICETIDAE). (Pattern of postnatal growth and ossification in *Abrothrix* species). Zuleta, C.A., Depto. Biología Celular y Genética, Fac. Medicina, Univ. de Chile (Patrocinio: L.I. Walker).

Los cambios temporales en el desarrollo del esqueleto (heterocronía), han sido importantes en la evolución de varias líneas de vertebrados. En *A. longipilis* el retraso en la osificación del báculo peneano, y las alteraciones en la capacidad craneana y longitud del rostro, sugieren disociación entre crecimiento y forma para distintos órganos durante la ontogenia.

Este trabajo describe el crecimiento y osificación normal del esqueleto apendicular en *Abrothrix longipilis* (Al), *A. andinus* (Aa), *A. olivaceus* (Ao), *A. berlepschii* (Ab) y de *Mesocricetus auratus* (Ma) como extragrupo. Los ejemplares se fijaron a distintas edades y diafanizaron en Alcian Blue y Rojo Alizarina. Los elementos óseos se dibujaron en una lupa Wild con cámara lúcida.

En todas las especies, los primeros centros osteogénicos aparecen en las diáfisis de metacarpos y falanges. La osificación avanza sincrónicamente hacia las epífisis, alcanzando un 80% de extensión a los 3, 4, 6 y 15 días de edad en Aa, Ao y Ab, Al y Ma, respectivamente. Las tasas de crecimiento relativo en *Abrothrix* son similares, con excepción de Al que presenta una tasa mucho menor. Estos datos indican que las morfologías adultas observadas en *longipilis* pueden haber evolucionado por pedamorfosis.

Financ. por Fondecyt 68-1413 y DTI B2689-8713