

MODIFICACIONES EN EL OVIDUCTO DURANTE EL CICLO REPRODUCTIVO DEL VAMPIRO *DESMODUS ROTUNDUS* ¹

Fernando Quintero Hoyos ²

EXTRACTO

"En vampiros hembras de una colonia establecida en el laboratorio, se estudiaron histológicamente los cambios del oviducto y las fases iniciales del desarrollo embrionario. Se encontró que como en el vampiro el desarrollo embrionario es relativamente lento, fue posible observar las mórulas avanzadas y los primeros blastocistos en el oviducto hacia los días 15 a 16 después del coito. La reacción del oviducto aparece en el lado que contiene el huevo y el cuerpo amarillo en desarrollo. Casi toda esta reacción se registró durante los días 3 a 13 después del coito.

Tanto en las células ciliadas como en las células secretoras del epitelio del oviducto hay materiales PAS* positivos y negativos en las vacuolas. Las vacuolas positivas indican que el glicógeno aparece como material secretor. Es bastante probable que las vacuolas PAS negativas correspondan a sustancias lipoideas que se disuelven con el alcohol y el benceno empleados en las técnicas histológicas de estos estudios".

Entre los mamíferos del orden Chiroptera, ocupan un lugar aparte los miembros de la familia Desmodontidae que únicamente tiene 3 géneros: *Desmodus*, *Diaemus* y *Diphylla*, cada uno con una sola especie: *rotundus*, *youngi* y *ecaudata*, respectivamente (Walker 1968). Estos quirópteros se apartan del resto del orden por varias características morfológicas, pero principalmente por sus hábitos alimenticios. En efecto, hasta donde se sabe, son hematófagos estrictos y constituyen el grupo natural de los vampiros, conocidos también como "chupasangres" o "mordedores". En algunas regiones colombianas el nombre común "chimbilaco", aunque puede incluir a los vampiros, se aplica en general con mayor propiedad a los demás murciélagos.

(1) Esta investigación ha sido auspiciada por PLAMIRH N° 11.22.1.75 y por la Facultad de Medicina de la Universidad del Valle.

(2) Profesor Auxiliar, Departamento de Morfología, División de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

(*) PAS = Acido peryódico de Schiff.

En Colombia, durante los últimos años, ha surgido cierto grado de interés por profundizar el conocimiento de algunos aspectos biológicos tanto del vampiro *Desmodus rotundus* como de otros quirópteros, en unidades investigativas universitarias y también en entidades como el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), el Centro Internacional de Investigaciones Médicas (CIDEIM), así como en organismos relacionados con la salud pública. Como resultados de estos estudios están los trabajos de Grose y Tamsitt (1965), Marinkelle (1965, 1966, 1968) Tesh *et al* (1968), Rasweiler (1972, 1976), Ayala y Wells (1974), Bonilla y Rasweiler (1974), Quintero y Rasweiler (1974), McMurray y Thomas (1976), Greer y Bolaños (1977), Ramírez y Neutra (1977), etc.

El vampiro común *Desmodus rotundus* se distribuye desde el norte de México hasta el centro de Chile, el centro de Argentina y Uruguay (Cabrera 1957, Méndez 1972). Habita tanto las regiones húmedas como las áridas de los trópicos y subtropicos. Anida generalmente en cuevas pero también en árboles huecos, pozos viejos, minas abandonadas; puede vivir en casas o edificios desocupados. En estos sitios también se han encontrado cerca de otras 20 especies de quirópteros que comparten la vivienda con *Desmodus*. Las colonias pueden estar constituidas por unos pocos individuos, pero es frecuente encontrar cerca de un centenar de ejemplares y más raramente hasta un millar de vampiros. En tales lugares hay un fuerte olor a amoníaco proveniente de los restos de sangre digerida que se acumula en las grietas, paredes y piso del refugio. Si a los vampiros se les perturba el reposo, se mueven rápidamente caminando hacia partes más protegidas; cuando se desplazan así, parece que se tratara de arañas grandes (Walker 1968).

Los vampiros son de hábitos nocturnos. Poco después de oscurecer abandonan sus nidos con un vuelo lento y silencioso, casi siempre a un metro por encima del suelo. Su alimento habitual es la sangre de ganado, caballos, burros y, ocasionalmente, seres humanos. Sin embargo, en la práctica, cualquier animal de sangre caliente que esté quieto puede ser atacado. A menudo los vampiros eligen sus víctimas entre los animales domésticos a causa de su fácil accesibilidad, pero rara vez se alimentan sobre perros, pues estos perciben sonidos de alta frecuencia que otros mamíferos no captan y así pueden descubrir cuando se acercan los vampiros y escapar. El levante de ganado puede ser anti-económico en ciertas zonas, a causa de los vampiros.

Estos, una vez que seleccionan una presa, se posan directamente sobre ella o en las cercanías y luego caminan o trepan hacia ella. Los vampiros muerden en áreas sin plumas o sin pelos, o donde éste sea escaso. Aquí se incluyen en el ganado las orejas, el cuello, y la piel desnuda alrededor del ano y de la vulva; y en las aves de corral, la rabadilla y la cresta (Walker 1968).

Cuando el vampiro encuentra un sitio adecuado, da un mordisco rápido y superficial con sus dientes muy cortantes que retiran un trocito de piel. Esta operación es prácticamente indolora y por regla general no perturba el sueño de la víctima, hombre o animal. En contra de la creencia popular, el vampiro no muerde profundamente ni tampoco lucha con su presa (Villa 1966).

La herida que produce el vampiro tiene 3 a 6 mm. de ancho, 5 a 10 mm. de largo y 1 a 5 mm. de hondo. Villa (1958) describió el mecanismo por el cual se hace la comida: La lengua se aplica a la herida y con el surco que hay en la parte media del labio inferior, forma un tubo por donde pasa la sangre. Para esto los bordes laterales de la lengua se doblan hacia abajo y forman una superficie de concavidad inferior. De esta manera la cara dorsal de la lengua permanece libre de sangre. Además, la lengua hace protrusión y se retrae lentamente para producir un vacío parcial en la cavidad de la boca y ayudar así a que la sangre fluya. A veces los vampiros ingieren tanta sangre en una comida que no pueden levantar el vuelo inmediatamente. Casi siempre el período de alimentación no alcanza a 30 minutos, pero como la saliva del vampiro tiene un anticoagulante, se ha visto que la sangre sigue saliendo por la herida varias horas después del ataque (Walker 1968). Una vez que se ha alimentado, el vampiro abandona a su víctima y reposa en algún árbol cercano hasta digerir parte de la sangre y luego, antes del amanecer, vuelve al refugio habitual (Méndez 1972).

La hemorragia que causan los vampiros puede tener consecuencias graves, sobre todo si varios se alimentan sobre un mismo animal, por la costumbre que tienen de visitar de nuevo a la víctima y reabrir las heridas hechas antes. Se producen así pérdidas repetidas de sangre que llevan a la anemia. Además, hay lesiones cutáneas vulnerables a infecciones bacterianas y a la acción de moscas productoras de miasis que depositan en ese terreno ideal sus huevos o su larvas (Méndez 1972).

Sin embargo, el peligro verdadero de las mordeduras de los vampiros reside en las enfermedades que pueden transmitir, principalmente la rabia paralítica o paresiante (conocida con los nombres comunes de "mal de caderas", "renquera", "tronchado", "derriengue", etc.), originada por el mismo virus filtrable que causa la hidrofobia en perros, seres humanos y otros mamíferos y la tripanosomiasis equina ("murriña", "huequera", "peste boba", "secadera" etc.), que se debe al *Trypanosoma hippicum*. La monografía de Méndez (1972) hace un recuento histórico y epidemiológico de estas enfermedades que atacan sobre todo, pero no en forma exclusiva, al ganado vacuno y al caballo, respectivamente.

Conviene advertir que además de los vampiros, en muchos murciélagos insectívoros, en algunos frugívoros y en dos especies lamedoras de néctar, se ha comprobado la presencia, tanto del virus rábico como del agente de la "murriña", enfermedades que

atacan también a los mismos quirópteros entre los cuales causan morbilidad elevada con una alta tasa de mortalidad (Méndez 1972).

Asimismo, en relación con el habitat que ocupan los vampiros y otros murciélagos, hay ciertas entidades patológicas como la histoplasmosis. Esta infección se debe al hongo *Histoplasma capsulatum* que se encuentra en el suelo de los sitios donde viven los murciélagos; ataca los pulmones principalmente y se confunde con la tuberculosis (Marinkelle 1968). También el hongo *Paracoccidioides brasiliensis*, que provoca infecciones sistémicas severas en los seres humanos, se ha asociado en su ecología y disseminación con quirópteros colombianos (Grose y Tamsitt 1965), aunque los trabajos experimentales de Greer y Bolaños (1977) no confirman estas conclusiones.

Por otra parte, según comunica D'Alessandro (1977), en Cali se investigaron tripanosomas en 2056 ejemplares de quirópteros colombianos correspondientes a 29 especies, entre las cuales había representantes de *Desmodus rotundus* y *Diaemus youngi*. De esa cifra total, 180 (8.75%) fueron positivos para flagelados. De estos, varias muestras por su aspecto morfológico y su comportamiento biológico eran indistinguibles de *Trypanosoma cruzi* que produce en el hombre la enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana. Se sabe que los vectores de estos protozoarios en los quirópteros son triatomíneos ("pitos") como *Cavernicola pilosa* (D'Alessandro et al 1975) y quizás otros como *Panstrongylus rufotuberculatus*, que se encontraron positivos para tripanosomas en los mismos sitios donde anidaban los murciélagos infectados (Dr. Pablo Barreto, Departamento de Microbiología, División de Salud, Universidad del Valle, Cali, observación no publicada).

Según Walker (1968) los vampiros tienen por regla general un hijo en cada parto, después de una gestación que oscila entre 90 y 120 días. Una hembra cualquiera puede dar a luz más de una cría por año. No hay datos precisos sobre la duración de la vida en la naturaleza, pero Trapido (1946) logró mantener en el laboratorio un ejemplar de *Desmodus* durante casi 13 años.

Desde el punto de vista de la morfología del aparato reproductor en las hembras de los quirópteros, se mencionará aquí lo referente al oviducto, según los conceptos de Hafez y Blandau (1969). El oviducto del vampiro, largo y bastante convoluto, está suspendido del ligamento lato, conectándose al ovario en la cara posterior de este ligamento. La fimbria (F) envuelve al ovario íntimamente por medio de la bursa ovarii que es prolongación del meso-salpinx. La ampolla es el segmento más largo y más dilatado de la tuba; está adyacente a la fimbria y se continúa por el istmo para conectarse a la pared lateral del útero por medio de la unión útero-tubaria (Figura 17).

En buena parte de los mamíferos la fimbria hace un embudo que envuelve el ovario, más o menos completamente. En ciertos roedores (*Rattus*, *Mus*) constituye alrededor del ovario una forma-

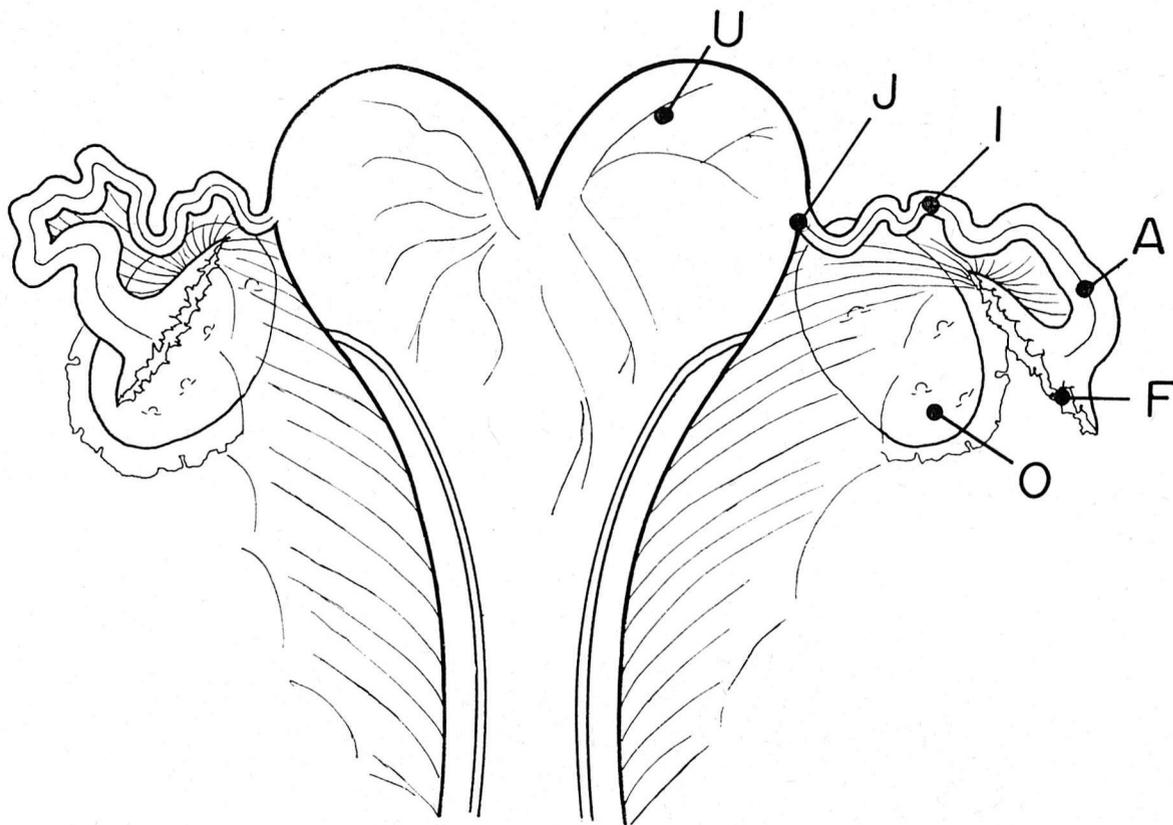


FIGURA 17. Representación esquemática de la morfología del aparato reproductor de la hembra del vampiro *Desmodus rotundus*. El útero (U) se une al oviducto por medio de la unión útero-tubaria (J); se continúa con el istmo (I), la ampolla (A) y la fimbria (F). En la cara posterior y parcialmente oculto por el meso-salpinx, aparece el ovario (O).

ción denominada bursa ovarii, que está perforada por un pequeño agujero. En algunos cánidos, como el perro doméstico (*Canis*) o el grupo de las zorras (*Vulpes*, *Alopex*, *Urocyon*), la bursa presenta una ranura por la cual puede salir el ovario. La función de la bursa no se conoce con claridad. En efecto, en algunos animales (cerdos, *Sus*; conejos, *Sylvilagus* y *Oryctolagus*) donde hay fimbria abierta, la reproducción es tan eficiente como en otros que tienen bursa.

El útero en *Desmodus* es de tipo bidelfo, es decir, no está dividido totalmente como en los roedores (*Rattus*) o los logomorfos (*Sylvilagus*). La implantación se hace en uno de los segmentos, bien en el derecho o en el izquierdo. Durante el proceso de la gestación el lado opuesto a aquel que recibió el huevo, puede sufrir gran dilatación.

Según el trabajo de Nilsson y Reinius (1969) en el estudio microscópico de los segmentos del oviducto, se emplea una nomenclatura que correlaciona mejor el aspecto morfológico con datos de bioquímica y fisiología. De acuerdo con la estructura del epitelio de la mucosa, se distinguen cuatro segmentos: pre-ampolla, ampolla, istmo y juntura.

La **pre-ampolla** incluye dos partes, la fimbria y el infundíbulo, que se unen gradualmente con la ampolla. Aparentemente no hay distinción entre los dos tipos de células que existen en la pre-ampolla y la ampolla, pues la diferencia radica en el número de células ciliadas y secretoras o no ciliadas (Fredricsson 1969).

Las características generales del oviducto son las siguientes:

1. **Pre-ampolla.** Paredes musculares delgadas; epitelio casi completamente cubierto de células ciliadas. Su principal función es el transporte del óvulo desde el ovario hasta la ampolla.
2. **Ampolla.** Musculatura un poco más gruesa que en el segmento precedente; epitelio con menor número de células ciliadas pero con abundancia de células secretoras. Es el sitio habitual de la fertilización del óvulo por el espermatozoide.
3. **Istmo.** Capa muscular más pronunciada; epitelio con células ciliadas escasas. Aquí se cumple la movilización de los espermatozoides y huevos.
4. **Juntura.** Posee mayor desarrollo muscular; el lumen es aquí bastante estrecho (Nilsson y Reinius 1969).

Conviene advertir que en el aspecto reproductivo se obtuvo información sobre ejemplares de *Desmodus*, colectados en el campo en épocas diferentes por Wimsatt y Trapido (1952), con aportes adicionales de Wimsatt (1954). Estos autores comunicaron algunos datos fragmentarios del ciclo reproductivo del vampiro, desconociendo el tiempo que requieren los fenómenos de fecundación, pre-implantación, implantación, así como las condiciones citológicas y bioquímicas necesarias para su adecuado cumplimiento.

Más tarde, los estudios de Rasweiler (1972) y de Bonilla y Rasweiler (1974) sobre murciélagos de la familia Phyllostomatidae, *Glossophaga soricina* y *Carollia perspicillata*, demostraron un de-

desarrollo de pre-implantación relativamente largo, 12-14 días, con respecto a casi todos los mamíferos en los cuales tarda alrededor de 5 días. En algunas observaciones preliminares sobre *Desmodus rotundus* se pudieron visualizar ciertas relaciones morfológicas con *Glossophaga* y *Carollia*, que permitieron establecer patrones reproductivos semejantes (Quintero y Rasweiler 1974).

La caracterización de este tipo de organización celular del oviducto y el estudio del contenido de sustancias de dichas células, es de gran importancia para conocer las condiciones bioquímicas en que se desarrolla el clivaje del huevo y sus requerimientos durante este período. Por tanto, en este trabajo se comunican los resultados del estudio seriado del ciclo reproductor durante la fase de pre-implantación, los primeros 16 días post-coitum, en vampiros *Desmodus* mantenidos en cautividad, para determinar así los estados de fecundación y de desarrollo del huevo en sus primeras etapas celulares hasta alcanzar las fases de mórula y blástula. Además, se estudian los cambios que se observan en el epitelio del oviducto durante el paso del ovocito fecundado a través de él, haciendo énfasis en sus secreciones y la relación con el desarrollo embrionario.

MATERIALES Y METODOS

En el laboratorio del Departamento de Morfología de la División de Salud en Cali, a 1.000 m. de altura sobre el nivel del mar y con una temperatura promedio de 26° C, se organizó una colonia de *Desmodus*, a partir de ejemplares colectados en diversos sitios de los alrededores de la ciudad. Para estas capturas se utilizaron mallas de nylon, tipo "mist net", dispuestas en los lugares de acceso a los sitios de vivienda de los vampiros, cuyas entradas se taponaron con una tela gruesa y donde se penetraba con lámparas para forzar el abandono del refugio. Los murciélagos prisioneros en las redes se retiraban tomándolos con guantes de cuero grueso para trasladarlos al laboratorio donde se instalaron en jaulas de diseño apropiado. En cada una de éstas, y separadas de los machos, se introducían de 12 a 15 hembras que se mantuvieron en cautiverio por un período de 6 meses antes de comenzar su estudio. Durante este tiempo se obtuvo la adaptación a las condiciones de laboratorio y se logró saber con absoluta seguridad que no se iría a trabajar con hembras gestantes.

Para alimentar estos animales se utilizó sangre de bovinos obtenida periódicamente en el matadero municipal de Cali. Como anticoagulante se recurrió a una solución de citrato trisódico (Sigma Chemical Co.) al 3.0%, agregando siempre 10 partes de solución anticoagulante por 90 partes de sangre. Para transportar la sangre se usaron recipientes plásticos de 20 lts. de capacidad y una vez en el laboratorio se repartía en frascos plásticos de 800 ml. y se almacenaba a -20° C hasta por 20 días. Tanto los recipientes

para la sangre como las jaulas, cada semana se lavaban y desinfectaban con soluciones de soda cáustica y de hipoclorito sódico.

Al terminar los 6 meses de adaptación, en cada jaula se introdujeron 2 machos para obtener la fecundación de las hembras. La impregnación se determinó mediante frotis vaginales tomados diariamente para evidenciar al microscopio la presencia de espermatozoides. Se considera que una hembra en estas condiciones se halla en el primer día post-coitum y así sucesivamente hasta llegar al día 16 después de la cópula. Se estudiaron 37 hembras en total.

Estos animales posiblemente fecundados se anestesiaron con pentobarbital sódico (Nembutal^(R) Abbott) al 20%. Seguidamente se practicó una laparotomía para extraer completamente el tracto reproductor. Estos tejidos se fijaron en líquido de Zenker durante 10-12 horas; luego se lavaron y se procedió a deshidratar en etanol; después se aclararon con benceno para incluirlos posteriormente en parafina. Los tejidos incluidos en parafina, útero, tuba y ovario, se seccionaron seriadamente a 6 micras con el micrótomó y se montaron en láminas para proceder a las reacciones histoquímicas y de coloración.

Se hizo coloración de Giemsa en fosfato tamponado (pH 4.5) para descubrir material nuclear en las células epiteliales del oviducto y la cromatina en los huevos para contabilizar el número de células presentes en los mismos. También se utilizó coloración tricrómica de Masson con el objeto de definir la lámina propia y la capa mucosa y así determinar los cambios en la altura del epitelio con las células secretoras y ciliadas. Asimismo se usó la coloración histoquímica del ácido peryódico de Schiff (PAS) a fin de revelar material secretor, pues de este modo se ponen de manifiesto el glucógeno, las glucoproteínas y los mucopolisacáridos.

Para efectuar la coloración PAS se dividió el total de láminas que se iba a tratar en 3 grupos, así: Las primeras preparaciones (esto es 1...4...7... etc.) se llevaron directamente al ácido peryódico al 1% para constatar la presencia de mucopolisacáridos. El segundo grupo (o sea 2...5...8... etc.) se incubó durante 1 hora a 37 °C en alfa amilasa al 1% en fosfato tamponado 0.02 M (pH 6.0) y luego se pasó al ácido peryódico al 1% y reactivo de Schiff con objeto de remover los mucopolisacáridos de las células secretoras. Las últimas láminas (esto es 3...6...9 etc.) se incubaron durante 60 minutos a 37 °C en fosfato tamponado 0.03 M (pH 6.0) para llevarlas al ácido peryódico y al reactivo de Schiff, como control de la reacción PAS en los grupos 1 y 2. Después todas las láminas se contrastaron con hematoxilina, se montaron en permount y se estudiaron al microscopio de luz. Finalmente, se hicieron microfotografías de los aspectos más destacados. (Véanse figuras 18, 19, 20 y 21, páginas 68-69).

RESULTADOS

En las hembras de *Desmodus rotundus* que fueron capturadas en estado de embarazo temprano, se pudo observar que la gestación duró alrededor de 6 meses. Se confirmó uno de los resultados expuestos por Quintero y Rasweiler (1974) y se justificó de esta manera el período de 6 meses para tener la certeza de trabajar con hembras no gestantes. El peso promedio de los animales al llegar a la laparotomía fue de 35.5 gramos.

De las 37 hembras estudiadas, en 29 (78%) se produjo la fecundación en cautiverio, después de permanecer durante 6 meses separadas de los machos. Casi en 10% (4 de 37) fue posible apreciar ovocitos de ovulación reciente (Cuadro 1). En el estado ovulatorio se vio en el ovocito abundancia de células foliculares y de licor folicular.

El estado de pronúcleo, o sea el que sucede a la fecundación, se realizó en la ampolla cuya luz, distendida por líquido, mostraba una dilatación muy notoria. Esta distensión sólo se pudo observar en el oviducto donde ocurrió la fecundación. El epitelio del oviducto donde se encontraba el ovocito, óvulo fecundado o huevo, exhibía vacuolización marcada en sus células. La vacuolización correspondía al grado de secreción que se almacenó en estas estructuras. En el oviducto contrario la vacuolización fue muy leve. Como en el epitelio de la ampolla hubo un mayor desarrollo de vellosidades y mayores variaciones en cuanto a la presencia de vacuolas se refiere, se tomó este segmento como representativo para calcular la secreción por el sistema de cruces. Así, objetivamente se asignaron 4 cruces (++++) a la mayor vacuolización observada y el signo negativo (—), cuando no fue posible percibir esta característica (Cuadro 1) (Véase página 70).

Las coloraciones de Giemsa y hematoxilina sirvieron para determinar el número de células presentes en los huevos durante su paso por el oviducto y además para definir formas nucleares o cromosómicas en las células.

Casi todas las células epiteliales en el oviducto, ya fuesen secretoras o ciliadas, reaccionaron positivamente al PAS. Sin embargo, hubo algunas células que presentaron vacuolas negativas con esta coloración. En los cortes tratados con alfa amilasa se rompió casi todo el material secretor y se obtuvo un resultado totalmente negativo en las células o solo un ligero tinte acidófilo, resto del material secretor ya digerido por la enzima. Aunque esta reacción fue muy notoria en la región de la ampolla, también se pudo notar en otros segmentos como el istmo.

Según el Cuadro 1 la reacción fue más intensa en el oviducto que contenía el ovocito fecundado, pero conviene advertir que la reacción se visualizó desde el momento de ocurrir la ovulación, en fecha tan temprana como el día tercero después de la cópula.

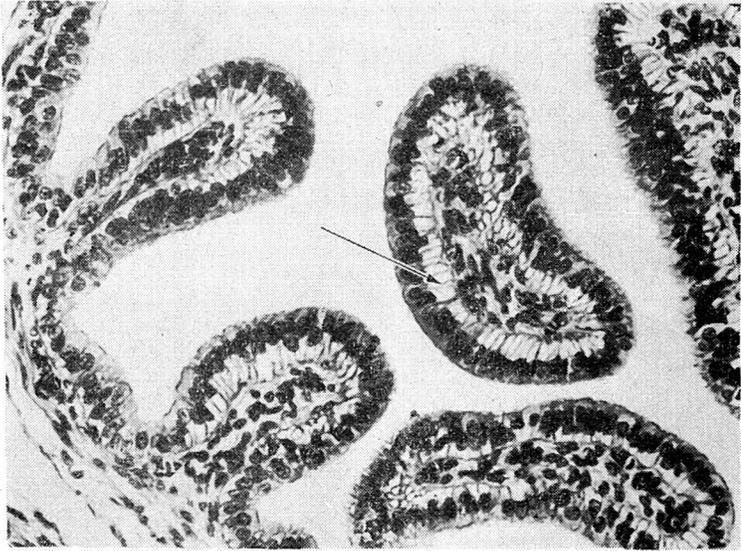


FIGURA 18. Región de la ampolla en el oviducto del vampiro *Desmodus rotundus*, con abundantes vacuolas en la región subnuclear de las células secretoras y ciliadas (día 4º post-coitum). Coloración tricrómica de Masson x 200.

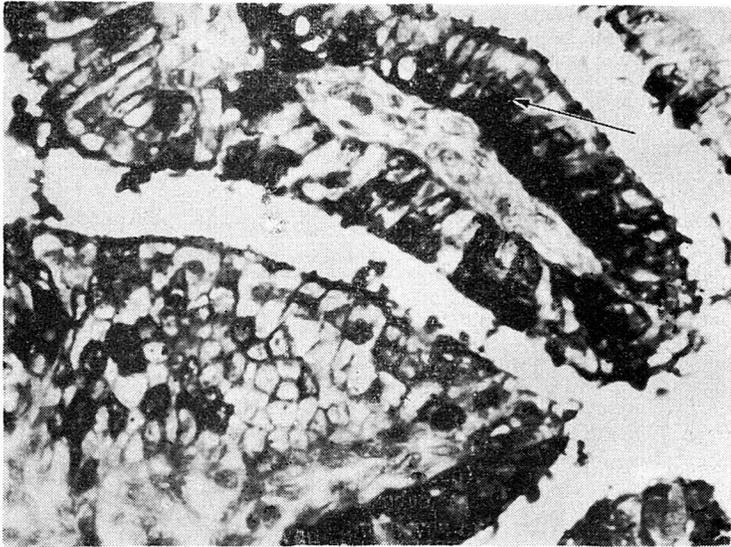


FIGURA 19. Vellosidades en la ampolla, con células positivas (con flecha) y negativas a la reacción PAS (día 10º post-coitum). Coloración Hematoxilina y PAS x 400.

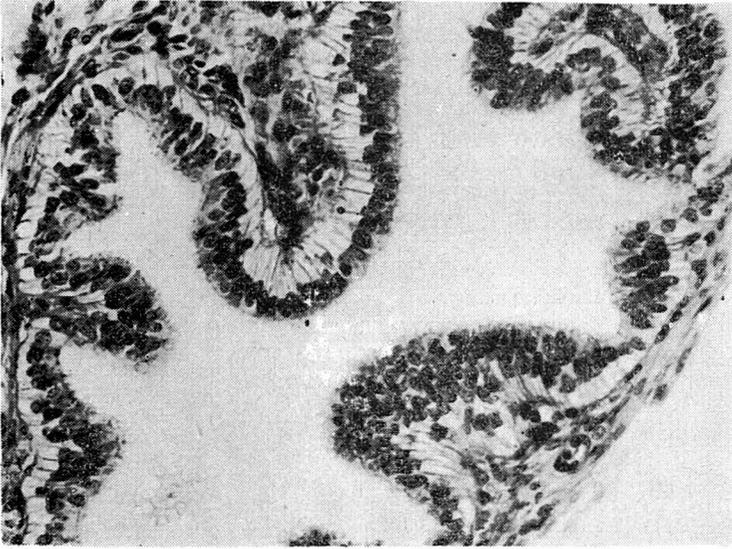


FIGURA 20. Vellosidades en la ampolla, tratadas previamente con alfa amilasa y reactivo de PAS (día 10º post-coitum). Coloración Hematoxilina PAS x 200.

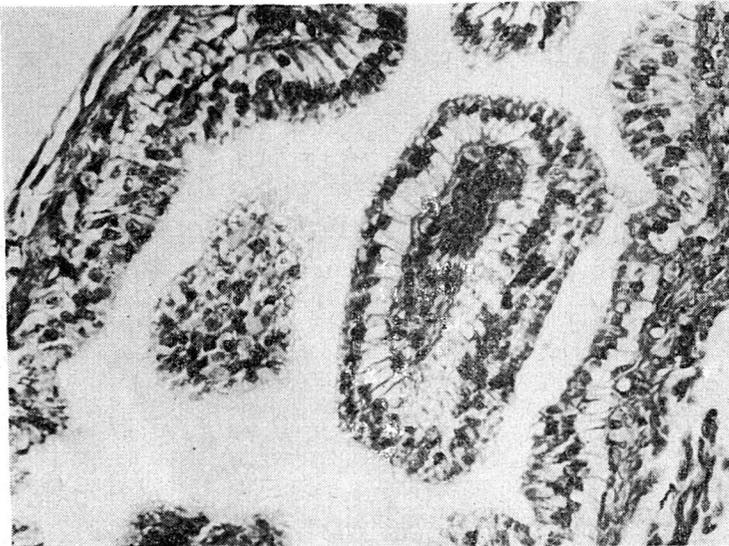


FIGURA 21. Ampolla del oviducto durante el día 13º post-coitum, que muestra el desarrollo del epitelio. Coloración tricrómica de Masson x 200.

El mayor grado de la reacción se obtuvo en el estado de 12 a 42 células, es decir, durante los días 10 a 13 post-coitum y desapareció cuando el huevo progresaba de la fase de mórula a blástula.

La mayoría de la vacuolización positiva al PAS se localizó en la zona subnuclear de las células epiteliales; obviamente, en algunos pocos casos la reacción se evidenció en el área supranuclear de las células. En la zona pelúcida de todos los huevos encontrados, lo mismo que el licor folicular que rodeaba los ovocitos en estado ovulatorio, hubo reacción PAS positiva.

CUADRO 1

DESMODUS ROTUNDUS. REPRODUCCION EN CAUTIVERIO DE 37 HEMBRAS CALI, COLOMBIA

Nº animales	Estado del desarrollo	Días post-coitum	Grados de vacuolización en el epitelio del oviducto	
			Con huevo	Sin huevo
4	Pre-ovulatorio	1 — 2	—	—
4	Ovulatorio	1 — 2	++	++
3	Pronúcleo	2 — 5	++	++
8	2-10 células	3 — 8	+++	+
12	12-42 células	10 — 13	++++	+
4	Mórula	12 — 14	+	—
2	Blastocistos	14 — 16	—	—

DISCUSION

La observación inicial de este trabajo sobre la duración del embarazo en *Desmodus rotundus*, 180 días como mínimo, difiere de los datos de Walker (1968), quien fija esa época entre 90 y 120 días, y está más de acuerdo con los hallazgos de otros autores (Wimsatt y Trapido 1952, Quintero y Rasweiler 1974): un poco más de 5 meses. Como comenta Villa (1966), es probable que el período de gestación sea más largo en las zonas tropicales que en las templadas, por causas que aún se ignoran.

Aunque Dickson y Green (1970) utilizan citrato sódico al 3.8% como anticoagulante para la sangre que sirve de alimento a los vampiros en el laboratorio, la concentración que se empleó en Cali (3.0%), no alteró las condiciones de la sangre, pues no se observó la formación de coágulos.

El aumento en el tamaño de las células epiteliales en un solo oviducto, similar al descrito en este estudio para el vampiro *Desmodus*, es mencionado por Rasweiler (1972) y por Bonilla y Rasweiler (1974) en otros quirópteros, *Glossophaga* y *Carollia*.

La reacción progestacional, aumento en tamaño celular y secreción en la parte terminal del cuerno uterino adyacente al cuerpo lúteo recién formado, la describieron Gopalakrishna (1955) en *Taphozous longimanus* y Gopalakrishna y Karim (1971) en *Rousettus leschenaulti*. Tal tipo de respuesta no se evidenció totalmente en esta oportunidad en *Desmodus rotundus*, pues a pesar de tener útero bidelfo, sólo hubo muy leve dilatación en el lado donde se formó el cuerpo lúteo.

En las células que constituyen el epitelio del oviducto con reacción progestacional marcada, la coloración PAS positiva demuestra la presencia de glucógeno principalmente. Esta sustancia permanece en los tejidos animales después de la fijación acuosa y la inclusión en parafina. Según Pearse (1968) la fijación en formol preserva las proteínas, de tal modo que retienen el glucógeno sin que se disuelva fácilmente en el agua; la insolubilidad del glucógeno se debe, en parte, a su precipitación bajo la forma de componente de los complejos proteicos.

Como se observa en el Cuadro 1, el grado de vacuolización del epitelio durante los estados ovulatorio y pronúcleo no muestra una reacción unilateral, pues aparece en los dos oviductos con igual grado de secreción. La diferencia se manifiesta mientras el clivaje del huevo está en la etapa de 2 a 10 células y aparece en los días 3 a 8 después de la cópula, para llegar al máximo de secreción cuando el huevo tiene 12 a 42 células, durante los días 10^o a 13^o post-coitum.

En otros mamíferos como logomorfos (*Sylvilagus*), roedores (*Mus*, *Rattus*), bovinos (*Bos*), la presencia de glucógeno con frecuencia se refiere a los dos tipos de células, ciliadas y no ciliadas, con algunas diferencias durante las fases de los diversos ciclos; según Fredricsson (1969) en el ser humano los niveles máximos de glucógeno aparecen en la mitad de la fase luteínica, mientras que en *Rattus* y *Sylvilagus* ocurren durante la fase pre-ovulatoria, bajo la influencia del estrógeno, en los epitelios del infundíbulo y de la ampolla.

Si se tiene en cuenta que el desarrollo de pre-implantación para el vampiro *Desmodus rotundus* es de 15 días (Quintero y Rasweiler 1974), la presencia de la máxima vacuolización en el epitelio ampular corresponde a la mitad de la fase luteínica. Por consiguiente, la aparición de glucógeno en el área basal de las células ciliadas del vampiro es señal de hormono-dependencia, al igual que las variaciones regionales en el oviducto, a medida que el cuerpo lúteo se desarrolla y avanzan los estados de clivaje del huevo.

Por otra parte, la presencia de algunas células PAS negativas admite la posibilidad de encontrar lípidos como parte del contenido celular. En efecto, estas sustancias se pueden remover fácilmente con los tratamientos a que se sometieron los tejidos de los vampiros en este estudio.

De acuerdo con Wordinger *et al* (1977), en el oviducto humano hay lípidos presentes en pocas cantidades, mientras que en los bovinos aparecen en las regiones de la ampolla y del istmo, usualmente en la porción apical de las células epiteliales, sin que el estado de estro y la proximidad del cuerpo lúteo en el folículo maduro tengan algún efecto sobre el contenido de gotas lipídicas en el epitelio. Otros autores (Jorkman y Fredricsson 1961, Weed y Herman 1962), sostienen que en los bovinos no hay diferencias regionales en el contenido de lípidos.

Las vesículas PAS negativas en las células, que suponen la presencia de lípidos en el epitelio del oviducto de *Desmodus rotundus*, pueden representar precursores de hormonas esteroideas como sugieren Marinov y Lovell (1968), al encontrar lípidos en las células epiteliales del endometrio en bovinos. Por otra parte, estos lípidos pueden estar en relación con la síntesis de prostaglandinas en el endometrio (Dickman *et al* 1975). Como corroboración de esta hipótesis se ha demostrado que en el tejido testicular, en el ovárico, en los folículos maduros y en el cuerpo lúteo, a partir de ácidos grasos, hay posibilidad de sintetizar prostaglandinas, sustancias que tienen efecto luteolítico *in vivo*, además de estimular la esteroidogénesis, la gametogénesis y la regulación de las diferenciaciones celulares (Singh y Booth 1978).

Los blastocistos en estado de pre-implantación, lo mismo que el líquido uterino, contienen cantidades significantes de progesterona y estrógenos. Se ha aceptado que la progesterona presente, tanto en el blastocisto como en el fluido uterino de la coneja, es de origen materno. Dickman *et al* (1975) sugieren, con base en pruebas histoquímicas, que los embriones de conejos sintetizan el estrógeno requerido para el desarrollo embrionario, interviniendo así en la transformación de mórula a blástula, en la pérdida de la zona pelúcida y en la inducción de la implantación. Por su parte, Singh y Booth (1978) concluyeron que en los conejos los blastocistos de 6 días tienen la capacidad de metabolizar la progesterona materna y que el estrógeno del blastocisto puede ser parcialmente de origen materno.

El estudio de Carpenter (1974) sobre la síntesis de prostaglandinas en el testículo de *Rattus*, muestra que en este tejido hay ácidos grasos, como el ácido poliénoico, precursores de la síntesis. Aunque no se conoce con claridad su influencia en el caso del aparato genital masculino, sí se han logrado establecer algunas de sus funciones en las estructuras reproductoras de las hembras, como son:

A) Actúan sobre la síntesis de esteroides en el tejido ovárico. Este efecto es similar al de las gonadotropinas hipofisarias y es mediado por vía de la adenil-ciclasa. B) Según Kischer, citado por Carpenter (1974), las prostaglandinas pueden regular la diferenciación celular, como se deduce de observaciones de cultivos de piel de pollo. C) Asimismo, de acuerdo con Hsie *et al* en Carpenter

(1974), las prostaglandinas en cultivos de células de ovario de hamster, promueven el desarrollo normal de los fibroblastos.

En el vampiro *Desmodus rotundus* el transporte del huevo por el oviducto es bastante prolongado, en comparación con otros mamíferos. Como se ve, son características propias de este animal, si se comparan los resultados del presente estudio con otras investigaciones sobre movilización del huevo. Por ejemplo, Harper *et al* (1976) se refieren a las fuerzas propulsoras generadas por la musculatura lisa, en asocio con la función de las células ciliadas del oviducto. Black y Asdell (1959) y Edgar y Asdell (1960) demostraron en conejas y ovejas, respectivamente, que si se liga la porción de la fimbria, el líquido se acumula en el oviducto, hasta el día tercero después de la ovulación. Estos trabajos sugieren que el edema en el istmo o región de la unión útero-tubaria, puede ocasionar bloqueo en el flujo del líquido hacia el útero.

Hodson (1978) estableció que la pérdida del edema en el oviducto durante el transporte del huevo y su paso al útero, se asocia con la pérdida de agua por el tejido. La disminución en la cantidad de agua da como resultado un aumento en el diámetro del lumen, con lo cual decrece la resistencia a los movimientos del líquido y del huevo a través del istmo o unión útero-tubaria. Finalmente, la disminución del edema se controla por hormonas y el transporte del huevo puede normalizarse después de administrar gonadotropina coriónica humana (HCG), o se puede retardar con el suministro de estrógenos, o acelerarse mediante progesterona. El líquido presente en el oviducto resulta ser una mezcla compleja de agua, iones, carbohidratos, lípidos, aminoácidos y proteínas, sustancias que se deben secretar en contra de la presión hidrostática que se crea en el lumen del oviducto.

Leese y Jeffries (1977) afirman que al lumen del oviducto no solo ingresa la glucosa por difusión pasiva sino también que hay la mediación de un componente que además de transferir al lumen le facilita su difusión. Asimismo sugieren que la glucosa proviene del plasma y que la mucosa del oviducto es responsable de la transferencia. Se ha demostrado que esta sustancia es un sustrato potencial para la viabilidad del espermatozoide en el tracto reproductivo femenino y para mediar los estados de clivaje en el embrión.

Aunque en el presente trabajo no hubo evidencias directas del paso de sustancias al lumen del oviducto en el vampiro *Desmodus rotundus*, las modificaciones que se encontraron en las células del oviducto durante la pre-implantación, sugieren que hay una participación íntima en el sostenimiento del desarrollo temprano del huevo.

CONCLUSIONES:

Todos estos cambios morfológicos del epitelio del oviducto nos sugieren que debe jugar un papel fundamental durante el paso del huevo fecundado por esta estructura anatómica.

Sabemos que el huevo fecundado durante sus primeras etapas de desarrollo posee una alimentación histotrófica (a base de tejidos y de sus secreciones), lo cual nos hace pensar que la secreción que presentan las células debe ser utilizada por la mórula y sugerimos que los posibles lípidos tengan mucha relación con los cambios hormonales que afectan el aparato reproductor de la hembra fecundada. Además, el hecho que la reacción es unilateral, nos habla mucho en favor de nuestra hipótesis hormonal, la cual sugerimos sea desencadenada por el mismo huevo y sus células acompañantes.

Creemos que si se continúan estos estudios y se llega a saber concretamente cuál es la causa de esta reacción, posiblemente se pueda llegar a un bloqueo de ella y por este mecanismo controlar la fecundidad de estos animales.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mis agradecimientos al Dr. PABLO BARRETO, por su valiosa colaboración en la preparación del manuscrito y sus estimulantes sugerencias en el tema. Extiendo mis agradecimientos al Dr. JORGE A. ARAGON, quien impulsó la elaboración del presente trabajo, y a los demás miembros del personal del Departamento de Morfología, que con su ayuda y experiencia facilitaron muchas tareas que no hubiesen sido superadas sin su colaboración.

Esta investigación fue posible gracias a la financiación de PLAMIRH, en especial mediante la colaboración de su secretario ejecutivo, Dr. MANUEL ENRIQUE RUBIO, y de la Universidad del Valle.

SUMMARY

In vampire bats *Desmodus rotundus* from a laboratory colony, several aspects of the oviduct and early development of the embryo were histologically investigated. Because vampires have a very slow rate of embryonic development, advanced morulae and early blastocysts could be observed in the oviduct on days 15 to 16 post-coitum.

On the side containing the egg and the developing corpus luteum a reaction of the oviduct was registered. This reaction had its maximum on days 3 to 13 post-coitum. Although both ciliated and secretory cells of the oviduct epithelium mainly exhibited a PAS positive reaction, a few other cells had PAS negative vacuoles. The positive vacuoles suggest that glycogen is present as a secretory material. It is hypothesized that PAS negative vacuoles are concerned with lipid droplets since lipids are dissolved by alcohol and benzene which are used in the different histological techniques of this study.

REFERENCIAS

1. Ayala, S. C. & E. Wells. 1974. "Disappearance of *Trypanosoma evansi* from a vampire bat colony in western Colombia". **Trans. Roy Soc. Trop. Med & Hyg.**, 68: 76.
2. Black, D. L. & S. A. Asdell. 1959. "Mechanisms controlling entry of ova into rabbit uterus". **Am. J. Physiol.**, 197: 1275-1278.
3. Bonilla H. & J. J. Rasweiler. 1974. "Breeding activity, preimplantation, development, and oviduct histology of the short-tailed fruit bat *Carollia* in captivity". **Anat. Rec.**, 179: 385-404.
4. Cabrera, A. 1957-1961. "Catálogo de los mamíferos de América del Sur". **Rev. Mus. Argentino Bernardino Rivadavia, Cienc. Zool.**, 4: xxii + 732 pp.
5. Carpenter, M. P. 1974. "Prostaglandins of rat testis". **Lipids**, 9: 397-406.
6. D'Alessandro, A. 1977. "Trypanosomiasis of man and animals in Colombia". **ICMR Annual Progress Report**: 19-29.
7. D'Alessandro, A., P. Barreto & C. A. Duarte. 1975. "Distribución de tripanosomiasis transmitidas por triatominos en Colombia y nuevos registros de "pitos" e infecciones". **Acta Med. Valle**, 6: 7-18.
8. Dickman, Z., S. K. Dey & J. S. SenGupta. 1975. "Steroidogenesis in rabbit preimplantation embryos". **Proc. Nat. Acad. Sci.**, 72: 298-300.
9. Dickson, J. M. & D. G. Green. 1970. "The vampire bat *Desmodus rotundus*. Improved methods of laboratory care and handling". **Lab. Animal**, 4: 37-44.
10. Edgar, D. G. & S. A. Asdell. 1960. "The valve-like action of the utero-tubal junction of the ewe". **J. Endocr.**, 21: 315-321.
11. Fredricsson, B. 1969. "Histochemistry of the oviduct". In **The Mammalian Oviduct**. E. S. F. Hafez & R. J. Blandau, eds. University of Chicago Press, pp: 311-332.
12. Gopalakrishna, A. 1955. "Observations on the breeding habits and ovarian cycle in the Indian sheath-tailed bat *Taphozous longimanus* (Hardwicke)". **Proc. Nat. Inst. Sci. India**, B, 21: 29-32.
13. Gopalakrishna, A. & K. B. Karim. 1971. "Localized progesterational reaction in the uterus of the Indian fruit-bat *Rousettus leschenaulti* (Desmaret)". **Current Science**, 49: 490-491.
14. Greer, D. H. & B. Bolaños. 1977. "Role of bats in the ecology of *Paracoccidioides brasiliensis*. Survival of *P. brasiliensis* in the intestinal tract of fructivorous bat *Artibeus lituratus*". **Sabouraudia**: 15: 273-282.
15. Grose, E. & J. R. Tamsitt. 1965. "*Paracoccidioides brasiliensis* recovered from the intestinal tract of three bats *Artibeus lituratus* in Colombia S. A.". **Sabouraudia**, 4: 124-125.
16. Hafez, E. S. F. & R. J. Blandau. 1969. "**The Mammalian Oviduct**". University of Chicago Press, xiii + 546 pp.
17. Harper, M. J. K., C. J. Pauerstein, C. E. Adams, E. M. Coutinho,

- H. B. Croxato, & D. M. Patton. 1976. "Ovum Transport and Fertility Regulation". WHO Symposium, Scriptor, Copenhagen.
18. Hodson, B. J. 1978. "Post-ovulatory changes in the water content and inulin space of the rabbit oviduct". *J. Reprod. Fert.*, 53: 349-351.
 19. Jorkman, N. & B. Fredricsson. 1961. "The bovine oviduct epithelium and its secretory process as studied with electron microscope and histochemical tests". *Zell. Mikros. Anat.*, 55: 500-513.
 20. Leese, H. J. & K. S. Jeffries. 1977. "Evidence for the facilitated diffusion of glucose into rabbit oviductal fluid". *J. Reprod. Fert.*, 51: 93-97.
 21. Marinkelle, C. J. 1966. "Observations on human, monkey and bat trypanosomes and their vectors in Colombia S. A.". *Trans. Roy. Soc. Trop Med. Hyg.*, 60: 109-116.
 22. ———. 1968. "Murciélagos del trópico americano en la salud pública". In "Medicina Tropical". Ed. Fournier, México, pp: 142-168.
 23. Marinkelle, C. J. & E. Grose. 1965. "Histoplasma capsulatum from liver of a bat in Colombia". *Science*, 147: 1039-1040.
 24. Marinov, V. & J. E. Lovell. 1968. "Citology of the bovine uterine epithelium during the estrous cycle". *Am. J. Vet. Res.*, 29: 13-20.
 25. McMurray, D. N. & M. E. Thomas. 1976. "A method for measuring footpad swelling in bats". *Lab. Anim. Sci.*, 26: 960.
 26. Méndez, E. 1972. "Murciélagos hematófagos y su importancia médica en Panamá". Monografía N° 3. Serie de Monografías Científicas y Técnicas del Centro Panamericano de Zoonosis, Buenos Aires, 39 pp.
 27. Nilsson, O. & S. Reinius. 1969. "Light and electron microscopic structure of the oviduct". In *The Mammalian Oviduct*. E.S.F. Hafez & R. J. Blandau, eds. University of Chicago Press, pp: 57-83.
 28. Pearce, A. G. E. 1968. "Histochemistry Theoretical and Applied". Churchill, London 3rd Ed.
 29. Quintero F. & J. J. Rasweiler. 1974. "Ovulation and early embryonic development in the captive vampire bat *Desmodus rotundus*". *J. Reprod. Fert.*, 41: 265-273.
 30. Ramírez, G. H. & M. Neutra. 1977. "Estudio comparativo del intestino delgado e intestino grueso en cuatro especies del orden Chiroptera". *Rev. UIS (Bucaramanga)*, 7: 35-52.
 31. Rasweiler, J. J. 1972. "Reproduction in the long-tongued bat *Glossophaga soricina* I. Preimplantation, development and histology of the oviduct". *J. Reprod. Fert.*, 31: 249-262.
 32. ———. 1976. "Interesting features of the female reproduction biology of the little bulldog bat "Noctilio labialis". *Anat. Rec.*, 184: 509-510.
 33. Singh, M. M. & W. D. Booth. 1978. "Studies on the metabolism of neutral steroids by preimplantation of rabbit blastocysts in

- vitro* and the origin of blastocyst oestrogen". **J. Reprod. Fert.**, 53: 297-304.
34. Tesh, R. B., A. A. Arata & J. D. Schneidau. 1968. "Histoplasmosis in Colombian bats". **Amer. J. Trop. Med. Hyg.**, 17: 102-106.
 35. Trapido, H. 1946. "Observations on the vampire bat with special reference to longevity in captivity. **J. Mammal.**, 27: 217-219.
 36. Villa, B. 1958. "El acto de tomar la sangre en los murciélagos hematófagos (Familia Desmodontidae)". **An. Inst. Biol. México**, 27: 339-343.
 37. ———. 1966. "Los Murciélagos de México". Instituto de Biología, México, xvi + 491 pp.
 38. Walker, E. P., F. Warnick, S. E. Hamlet, K. I. Lange, M. A. Davis, H. E. Uible, P. F. Wright & J. H. Paradiso. 1968. **Mammals of the World**. The John Hopkins Press. Baltimore, Ind. Ed., 1: 322-326.
 39. Weed, H. J. & H. A. Herman. 1962. "A histological and histochemical study of the bovine oviducts, uterus and placenta". **Res. Bull. Mo. Agric. Exp. Stat.**, Nº 501: 1-54.
 40. Wimsatt, W. A. 1954. "The fetal membranes and placentation of the Tropical American vampire bat *Desmodus rotundus murinus*". **Acta Anat.**, 21: 285-341.
 41. Wimsatt, W. A. & H. Trapido. 1952. "Reproduction and the female reproductive cycle in the tropical American vampire bat *Desmodus rotundus murinus*". **Amer. J. Anat.**, 91: 415-445.
 42. Wordinger, R. J., J. F. Dickey & A. R. Ellicott. 1977. "Histochemical evaluation of the lipid droplet content of bovine oviductal and endometrial epithelial cells". **J. Reprod. Fert.**, 49: 113-114.

